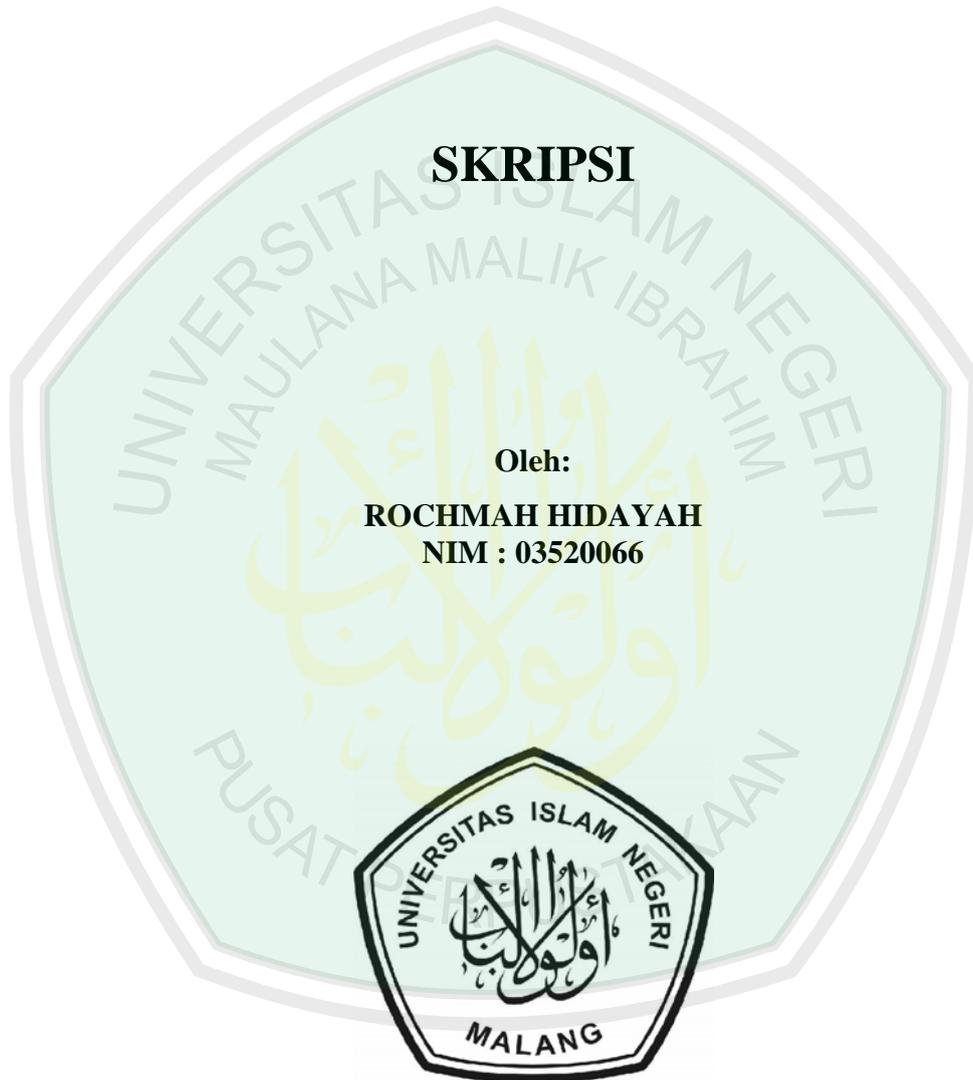


**PENGARUH LAMA PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees.) TERHADAP
GLUKOSA DARAH DAN GAMBARAN HISTOLOGI
PANKREAS TIKUS (*Rattus norvegicus*) DIABETES**

SKRIPSI

Oleh:

**ROCHMAH HIDAYAH
NIM : 03520066**



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG
MALANG**

2008

**PENGARUH LAMA PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* Nees.) TERHADAP
GLUKOSA DARAH DAN GAMBARAN HISTOLOGI
PANKREAS TIKUS (*Rattus norvegicus*) DIABETES**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

Universitas Islam Negeri Malang

Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Oleh:

Rochmah Hidayah
NIM : 03520066

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MALANG
MALANG
2008**

**PENGARUH LAMA PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata* Nees.) TERHADAP GLUKOSA DARAH DAN
GAMBARAN HISTOLOGI PANKREAS TIKUS (*Rattus norvegicus*)
DIABETES**

SKRIPSI

Oleh:
ROCHMAH HIDAYAH
NIM : 03520066

Telah disetujui oleh:

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 150 299 505

Ahmad Barizi, M.A
NIP : 150 283 991

Tanggal, Maret 2008

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi

Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 150 299 505

**PENGARUH LAMA PEMBERIAN EKSTRAK DAUN SAMBILOTO
(*Andrographis paniculata* Nees.) TERHADAP GLUKOSA DARAH DAN
GAMBARAN HISTOLOGI PANKREAS TIKUS (*Rattus norvegicus*)
DIABETES**

SKRIPSI

Oleh:
ROCHMAH HIDAYAH
NIM : 03520066

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: April 2008

Susunan Dewan Penguji :

Tanda Tangan

- | | | |
|------------------|--|-----|
| 1. Penguji Utama | : Dra. Retno Susilowati, M.Si
NIP. 132 083 910 | () |
| 2. Ketua | : Ir. Lilik Harianie
NIP. 150 290 059 | () |
| 3. Sekretaris | : Dr.drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 150 299 505 | () |
| 4. Anggota | : Ahmad Barizi, M.A
NIP. 150 283 991 | () |

**Mengetahui dan Mengesahkan
Ketua Jurusan Biologi**

Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si
NIP. 150 299 505

MOTTO

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بُرَأَ بِإِذْنِ

اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ
(رَوَاهُ الْمُسْلِمُ)

”Setiap penyakit itu ada obatnya. Apabila obat suatu penyakit telah tepat sembuhlah ia dengan ijin Allah”

(HR. Muslim)

LEMBAR PERSEMBAHAN



*“Untuk semua orang
yang mencintai dan peduli
kepada ilmu pengetahuan
dan untuk setiap orang
yang selalu bersemangat
dalam mencari makna kehidupan”*

Urusan kita dalam kehidupan ini **BUKAN** untuk mendahului orang lain, tetapi untuk melampaui diri kita sendiri, untuk memecahkan rekor kita sendiri dan untuk melampaui hari kemarin dengan hari ini

(Situart B. Johnson)

KATA PENGANTAR



Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Swt atas segala rahmat dan hidayah yang telah dilimpahkan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si). Penulis menyadari banyak pihak yang telah berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Untuk itu, iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan, utamanya kepada:

1. Prof. Dr. H. Imam Suprayogo selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
2. Prof. Drs. Sutiman Bambang Sumitro, S.U., DSc selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
3. Dr. drh. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang dan sekaligus dosen pembimbing akademik, yang dengan penuh kesabaran dan keikhlasan di tengah-tengah kesibukannya meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan dan pengarahan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. Ahmad Barizi, M.A. selaku pembimbing integrasi sains dan Islam yang telah bersedia membimbing dalam penyelesaian skripsi ini.
5. Semua Dosen serta staf pegawai Kantor Jurusan Biologi, terima kasih atas segala bantuannya.

6. Bapak dan Ibu serta nenekku tercinta yang telah memberikan kasih sayang, do'a yang tulus serta dukungan moral maupun material.
7. Kakak dan adikku tersayang mas Makki, neng Fat, neng Fut, Fais dan Hikmah yang selalu memberikan dukungan maupun do'a sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
8. Sahabatku Binti, Anjar, Lilik, Lifa, Atul, Susi, Rosi dan Eva yang selalu menemaniku dalam suka maupun duka.
9. Teman-teman seperjuangan angkatan 2003 Biologi, aku yakin semua pasti akan menuai hasil yang terbaik dengan usaha yang keras dan maksimal.
10. Teman-teman HMI (Himpunan Mahasiswa Islam) khususnya teman-teman Komisariat Tarbiyah dan Komisariat Saintek UIN Malang, yang telah banyak memberikan pengalaman serta ilmunya untukku.
11. Semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan, yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu.

Penulis berharap semoga kebaikan yang telah diberikan mendapat balasan yang lebih baik dari Allah Swt.

Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan bagi penulis khususnya. Amin

Malang, Maret 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN MOTTO	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
ABSTRAK	x
BAB I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Masalah	7
1.6 Hipotesis	7
BAB II. KAJIAN PUSTAKA	
2.1 Konsep Kesehatan dalam Pandangan Islam	8
2.2 Tinjauan Umum Diabetes Mellitus	10
2.2.1 Diabetes Mellitus	10
2.2.2 Penyebab Penyakit Diabetes Mellitus.....	11
2.2.3 Klasifikasi Diabetes Mellitus	14
2.2.4 Gejala Penyakit Diabetes Mellitus.....	15
2.3 Pankreas, Insulin, dan Insulitis	17
2.4 Mekanisme Homeostasis Glukosa	25
2.5 Hubungan antara Radikal Bebas dan Autoimun	27
2.5 Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> Ness.)	29
2.6 Tikus Putih Sebagai Bahan Uji Klinis	32
2.7 Aloksan Sebagai Diabetogen	34
2.8 Metode Pewarnaan Preparat.....	38
BAB III. METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	40
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	40

3.3 Variabel Penelitian	40
3.4 Populasi dan Sampel	41
3.5 Alat dan Bahan	41
3.6 Prosedur Kerja	42
3.6.1 Persiapan Hewan Coba	42
3.6.2 Ekstraksi dan Penyiapan bahan uji	42
3.6.3 Preparasi Aloksan	42
3.6.4 Perlakuan Tikus.....	43
3.6.5 Injeksi Aloksan Pada Tikus.....	43
3.6.6 Pengambilan Sampel.....	44
3.6.7 Pembuatan Preparat Pankreas	45
3.7 Analisis Data	48
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Hasil Penelitian	49
4.2 Pembahasan.....	56
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan	70
3.2 Saran	71
DAFTAR PUSTAKA	72
LAMPIRAN	78

DAFTAR TABEL

	Hal
Tabel 2.1 Ringkasan efek insulin pada berbagai jaringan	23
Tabel 4.1 Kadar Glukosa darah (mg/dl) tikus diabetes sebelum dan sesudah perlakuan lama pemberian ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kg bb perhari.....	49
Tabel 4.2 Ringkasan ankova pengaruh lama pemberian ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kg bb terhadap kadar glukosa darah tikus diabetes	51
Tabel 4.3 Ringkasan uji jarak duncan (UJD) 5 % dari penurunan glukosa darah tikus dengan perlakuan lama pemberian ekstrak daun sambiloto	52

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Organ Pankreas	18
Gambar 2.2 Islet Langerhans	20
Gambar 2.3 Mekanisme Kerja Aloksan	38
Gambar 4.1 Grafik nilai rerata kadar glukosa darah	50
Gambar 4.2 Gambar histologi pankreas (hasil pengamatan)	53
Gambar 4.3 Diagram batang rerata kerusakan pulau langerhans pankreas	55

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema kerja penelitian	78
Lampiran 2. Prosedur ekstraksi daun sambiloto	79
Lampiran 3. Preparasi aloksan monohidrat	80
Lampiran 4. Perhitungan analisis anova	81
Lampiran 5. Analisis <i>kruskal-wallis</i>	87
Lampiran 6. Alat dan bahan penelitian	88
Lampiran 7. Kegiatan penelitian	89

ABSTRAK

Hidayah, Rochmah. 2008. **Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) Terhadap Glukosa Darah dan Gambaran Histologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes**

Pembimbing : Dr. Drh. Bayyinatul Muchtaromah, MSi., dan Ahmad Barizi, MA.

Kata Kunci : Ekstrak, daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness), glukosa darah, histologi pankreas, tikus (*Rattus norvegicus*)

Penderita penyakit diabetes mellitus di Indonesia menduduki urutan keempat terbesar di dunia setelah India, Cina dan Amerika Serikat. Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang disebabkan karena gangguan produksi insulin. Kurangnya jumlah dan daya kerja insulin menyebabkan glukosa tidak dapat dimanfaatkan oleh sel sehingga hanya berakumulasi dalam darah. DM dapat menjadi penyebab aneka penyakit seperti hipertensi, stroke, jantung koroner, gagal ginjal, katarak, dll.

Rasulullah Saw. bersabda “*Setiap penyakit itu ada obatnya. Apabila obat suatu penyakit telah tepat sembuhlah ia dengan ijin Allah*” (HR. Muslim). Salah satu tanaman yang dipakai masyarakat Indonesia sebagai bahan obat tradisional adalah herba sambiloto. Herba sambiloto yang mengandung *andrographolida* yaitu suatu glikosida diterpenoid dapat digunakan sebagai diuretika, antipireutik, analgesik dan antiulserogenik. Sebagai obat untuk menurunkan kadar gula darah (antidiabetik), penggunaan herba sambiloto dalam jangka waktu yang lama dan gambaran histologi kelenjar pankreasnya belum diketahui. Oleh karena itu, dilakukan penelitian tentang tingkat reversibilitas ekstrak daun sambiloto dalam memperbaiki kerusakan pulau langerhans pankreas tikus diabetes hasil paparan aloksan monohidrat dengan dosis 64 mg/kg bb.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental yang dilakukan pada bulan Januari-Februari 2008 di laboratorium Biokimia Universitas Muhammadiyah Malang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dalam 4 ulangan. Perlakuan terdiri dari kontrol negatif (tikus normal), kontrol positif (tikus diabetes tanpa terapi) dan lama pemberian ekstrak sambiloto; 7 hari (I); 14 hari (II); 21 hari (III) dan 28 hari (IV). Hasil perhitungan anкова kadar glukosa dan lama pemberian ekstrak menunjukkan $F_{hitung} = 54,11$ dan $F_{tabel} = 2,83$; $F_{hitung} > F_{tabel}$, ini berarti ada pengaruh lama pemberian dengan kadar glukosa. Hasil uji lanjut UJD 5% menunjukkan pada perlakuan 28 hari paling berbeda daripada perlakuan yang lain dengan nilai rerata terkoreksi sebesar 79,1. Sedangkan hasil analisis secara non-parametrik dengan uji *chi-square K-independent sample* pada derajat 95% untuk histologi pankreas menunjukkan $P = 0,01$; $P < 0,05$, berarti ada pengaruh lama terapi dengan perbaikan pada islet pankreas.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Allah menciptakan makhluk-Nya dalam kejadian tubuh yang seimbang. Manusia adalah makhluk yang paling indah bentuknya, sempurna ciptaannya dan seimbang posturnya. Demikian juga keberadaan akal dan ruhnya tersusun rapi dan sempurna dalam dirinya. Organ-organ tubuh kita juga telah diciptakan sedemikian rupa hingga dapat melakukan berbagai fungsi dengan sempurna (Shihab, 2002). Sebagaimana firman-Nya:

الَّذِي خَلَقَكَ فَسَوَّنَكَ فَعَدَّلَكَ ﴿٧﴾

“Yang Telah menciptakan kamu lalu menyempurnakan kejadianmu dan menjadikan (susunan tubuh)mu seimbang”(Qs. al-Infithar [82]:7).

Dalam fisiologi, keseimbangan sangat penting dalam semua mekanisme tubuh, termasuk dalam mekanisme keseimbangan kadar glukosa darah yang berperan penting dalam aktifitas hidup seluruh sel tubuh. Jika keseimbangan ini terganggu maka akan menimbulkan abnormalitas fungsi tubuh sehingga dapat menyebabkan datangnya penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus. Penderita penyakit ini tidak mampu secara otomatis mengendalikan tingkat gula (glukosa) dalam darah. Kelebihan gula yang kronis di dalam darah (hiperglikemi) akan menjadi racun bagi tubuh.

Dalimartha (2005) melaporkan bahwa peningkatan penderita penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus salah satunya disebabkan pola makan yang

tidak seimbang. Pola makan yang tidak seimbang atau berlebihan akan menyebabkan obesitas. Anonimous (2001) menambahkan bahwa obesitas adalah faktor terpenting dari penyakit diabetes mellitus tipe II, karena lebih dari 90 persen penderita diabetes tipe II mengalami kelebihan berat badan.

Penderita penyakit diabetes mellitus di Indonesia menduduki urutan ke empat terbesar di dunia setelah India, Cina dan Amerika Serikat. Berdasarkan hasil survey yang dilakukan oleh WHO pada tahun 2006 menunjukkan bahwa Sebanyak 14 juta orang menderita diabetes mellitus, tetapi baru 50 persen yang telah sadar mengidapnya dan di antara mereka baru sekitar 70 persen yang berobat secara teratur (Anonimus, 2005).

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang disebabkan karena gangguan produksi insulin. Kurangnya jumlah dan daya kerja insulin menyebabkan glukosa tidak dapat dimanfaatkan oleh sel sehingga hanya berakumulasi dalam darah. DM dapat menjadi penyebab aneka penyakit seperti hipertensi, stroke, jantung koroner, gagal ginjal, katarak, glaukoma, destruksi retina mata yang dapat membuat buta, impotensi gangguan fungsi hati, luka yang lama sembuh dan mengakibatkan infeksi hingga akhirnya harus diamputasi, terutama pada kaki dan sebagainya (Pho, 2005).

Menurut Iwahasi (1998) terdapat dua kategori DM yaitu DM tergantung insulin (DMTI/DM tipe I) dan DM tidak tergantung insulin (DMTTI/DM tipe II). DM tipe I merupakan tipe penyakit DM yang ditandai dengan adanya destruksi sel β pankreas yang akan mengarah pada defisiensi insulin yang absolut. DM tipe I juga bersifat diperantarai imun (autoimun) yang menunjukkan karakter spesifik,

yaitu adanya infiltrasi sel-sel mononuklear pada islet langerhans (insulitis) yang akan mengakibatkan terjadinya destruksi yang progresif pada sel β pankreas yang mensekresi insulin, sehingga hasil akhirnya, terjadi defisiensi insulin dan kegagalan homeostasis glukosa. Kerusakan sel umumnya disebabkan oleh reaksi autoimun, yaitu serangan dari antibodi terhadap sel-sel tubuh sendiri (sel pankreas).

Diabetes mellitus tipe 2 (DMTTI) merupakan tipe penyakit DM yang ditandai dengan penderita yang mengalami kegemukan, resistensi insulin pada jaringan periperal dan defisiensi insulin oleh sel beta serta ketoasidosis. Pada tipe ini kondisi sel beta pankreas masih cukup baik sehingga masih mampu mensekresi insulin namun dalam kondisi relatif defisiensi. Resistensi insulin adalah kondisi dimana sensitivitas insulin menurun. Sensivitas insulin adalah kemampuan dari hormon insulin menurunkan kadar glukosa darah dengan menekan produksi glukosa hepatic dan menstimulasi pemanfaatan glukosa dalam otot skelet dan jaringan adiposa. Obesitas adalah salah satu penyebab resistensi insulin. Perkembangan tipe penyakit ini adalah suatu bentuk umum dari diabetes mellitus dan sangat terkait dengan sejarah keluarga yang pernah mengalami diabetes (Anonymous, 2001).

Masyarakat di Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tanaman berkhasiat obat sebagai salah satu upaya menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tanaman berkhasiat obat berdasarkan pada pengalaman dan keterampilan yang secara turun temurun telah diwariskan dari satu generasi ke generasi berikutnya (Kumalasari, 2006).

Penggunaan bahan alam sebagai obat tradisional di Indonesia telah dilakukan oleh nenek moyang kita sejak berabad-abad yang lalu terbukti dari adanya naskah lama pada daun *Lontar husodo* (Jawa), *Usada* (Bali), *Lontarak pabbura* (Sulawesi Selatan), dokumen serat *Primbon jampi*, *Serat racikan boreh Wulang*, *Dalem* dan *Relief candi borobudur* yang menggambarkan orang sedang meracik obat (jamu) (Sukandar, 2006 dalam Kumalasari, 2006).

Obat herbal telah diterima secara luas di hampir seluruh Negara di dunia. Menurut WHO, negara-negara di Afrika, Asia dan Amerika Latin menggunakan obat herbal sebagai pelengkap pengobatan primer. Bahkan di Afrika, sebanyak 80% dari populasi menggunakan obat herbal untuk pengobatan primer (WHO, 2003 dalam Kumalasari, 2006). Faktor pendorong terjadinya peningkatan penggunaan obat herbal di negara maju adalah usia harapan hidup yang lebih panjang pada saat prevalensi penyakit kronik meningkat, adanya kegagalan penggunaan obat modern untuk penyakit tertentu diantaranya kanker serta semakin luas akses informasi mengenai obat herbal di seluruh dunia (Sukandar, 2006 dalam Kumalasari, 2006).

WHO merekomendasikan penggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker. WHO juga mendukung upaya-upaya dalam peningkatan keamanan dan khasiat dari obat tradisional (WHO, 2003 dalam Kumalasari 2006).

Kumalasari (2006) menambahkan bahwa penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman daripada penggunaan obat modern. Hal ini

disebabkan karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit daripada obat modern. Hal ini menunjukkan bahwa Allah telah menciptakan berbagai macam tanaman-tanaman yang baik dan selalu terdapat manfaat bagi makhluknya. Sebagaimana firman-Nya yang berbunyi:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

"Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi ini berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik" (Qs. al-Syu'arâ [26] : 7).

Salah satu tanaman yang dipakai masyarakat Indonesia sebagai bahan obat tradisional adalah herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness). Dalam buku resmi tanaman obat Indonesia, herba sambiloto yang mengandung *andrographolida* yaitu suatu glikosida diterpenoid dapat digunakan sebagai diuretika, antipireutik, analgesik dan antiulserogenik. Ekstrak etanol *androgofolida* dari herba sambiloto juga menunjukkan aktivitas pada hepatitis yang disebabkan oleh *Plasmodium berghe* (Yuliah, dkk., 2001).

Soetarno (1999) melaporkan bahwa pada pengujian dengan menggunakan uji toleransi glukosa, komponen non-polar dari herba sambiloto tidak menunjukkan adanya aktivitas sebagai penurun gula darah. Efek sebagai penurun gula darah ditunjukkan oleh komponen polar, yaitu ekstrak etanol yang diperoleh dari serbuk yang telah diekstraksi secara berturut-turut dengan heksana dan etilasetat. Yuliah, dkk. (2001) menambahkan bahwa ekstrak etanol herba sambiloto mempunyai efek menurunkan glukosa darah mencit diabetes yang diinduksi aloksan pada dosis 2,1 g/kg bb.

Sebagai obat untuk menurunkan kadar gula darah (antidiabetik), penggunaan herba sambiloto dalam jangka waktu yang lama dan gambaran histologi kelenjar pankreasnya belum diketahui. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang kemampuan ekstrak daun sambiloto dalam memperbaiki atau mengembalikan kerusakan pulau langerhans pankreas hasil paparan aloksan monohidrat dengan dosis 64 mg/kg bb ke bentuk normal (tingkat reversibilitas).

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka perlu dikaji tentang:

1. Apakah ada pengaruh lama pemberian ekstrak sambiloto terhadap glukosa darah tikus diabetes ?
2. Apakah ada pengaruh lama pemberian ekstrak sambiloto terhadap gambaran histologi pankreas tikus diabetes ?

1.3. Tujuan

1. Untuk mengetahui pengaruh lama pemberian ekstrak sambiloto terhadap glukosa darah tikus diabetes
2. Untuk mengetahui pengaruh lama pemberian ekstrak sambiloto terhadap gambaran histologi pankreas tikus diabetes

1.4. Manfaat

1. Dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan di bidang biologi, khususnya di bidang fisiologi hewan

2. Dapat memberi informasi kepada masyarakat tentang pengaruh lama pemberian ekstrak sambiloto terhadap glukosa darah dan gambaran histologi pankreas tikus diabetes, sehingga dapat digunakan sebagai dasar pengobatan penyakit diabetes mellitus yang lebih efektif.

1.5. Batasan Masalah

1. Bagian tanaman yang diekstrak adalah daun dari tanaman Sambiloto yang diperoleh dari kebun tanaman obat Dayang Sumbi Kecamatan Puri-Mojokerto
2. Pelarut yang digunakan dalam pengekstrakan daun sambiloto adalah etanol 95 %
3. Indikator kemampuan kerja antidiabetik ekstrak sambiloto adalah dengan menghitung kadar glukosa dalam darah dan mengamati gambaran histologi pankreas tikus.

1.6. Hipotesis

1. Ada pengaruh lama pemberian ekstrak sambiloto terhadap glukosa darah tikus diabetes.
2. Ada pengaruh lama pemberian ekstrak sambiloto terhadap gambaran histologi pankreas tikus diabetes.

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1. Konsep Sehat dalam Pandangan Islam

Sehat merupakan nikmat Allah yang sangat berharga, namun baru kita rasakan ketika kita sakit sehingga kita sering melupakannya. Rasulullah Saw. mengingatkan kita dalam hadits riwayat al-Hakim yang berbunyi; “*Jagalah lima perkara sebelum datang lima perkara, sehat sebelum sakit, muda sebelum tua, kaya sebelum miskin, lapang sebelum sempit dan hidup sebelum mati*”. Hadits ini mengisyaratkan pada kita agar kita memanfaatkan sebaik-baiknya nikmat sehat, muda, kaya, lapang dan hidup. Meskipun dalam Islam orang sakit akan berguguran dosa-dosanya, namun manusia wajib berdo’a dan berikhtiar dengan berobat untuk mencari kesembuhan. Sebagaimana Allah berfirman dalam al-Qur’an:

لَهُر مُعَقَّبَتٌ مِّنْ بَيْنِ يَدَيْهِ وَمِنْ خَلْفِهِ يَحْفَظُونَهُ مِنْ أَمْرِ اللَّهِ
إِنَّ اللَّهَ لَا يُغَيِّرُ مَا بِقَوْمٍ حَتَّىٰ يُغَيِّرُوا مَا بِأَنْفُسِهِمْ ۗ وَإِذَا
أَرَادَ اللَّهُ بِقَوْمٍ سُوءًا فَلَا مَرَدَّ لَهُ ۗ وَمَا لَهُمْ مِّنْ دُونِهِ مِنْ

وَالِ ﴿١١﴾

”Bagi manusia ada malaikat-malaikat yang selalu mengikutinya bergiliran, di muka dan di belakangnya, mereka menjaganya atas perintah Allah. Sesungguhnya Allah tidak merobah keadaan sesuatu kaum sehingga mereka merobah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri. dan apabila Allah menghendaki keburukan terhadap sesuatu kaum, Maka tak ada yang dapat menolaknya; dan sekali-kali tak ada pelindung bagi mereka selain Dia”. (Qs. al-Ra’d [13]: 11).

Islam adalah agama untuk semesta alam yang selalu mengajarkan tentang nilai-nilai kebaikan dan mengajak manusia untuk beribadah, berusaha dan beramal yang dilandasi keimanan kepada Allah. Sebagai agama yang rahmatan lil'alamin, Islam mempunyai aturan-aturann atau hukum syari'at yang melindungi agama, jiwa, akal, jasmani, harta dan keturunan. Jiwa, jasmani dan akal sangat erat dengan kesehatan, oleh karena itu ajaran Islam sangat sarat dengan tuntunan memelihara kesehatan jasmani dan kesehatan rohani (Mubarok, 2000).

Pepatah dalam Islam mengatakan di dalam Iman yang kuat terdapat jiwa yang sehat dan tubuh yang kuat. Hal inilah yang mendasari bahwa manusia bisa selalu sehat jika selalu melakukan beberapa upaya dan cara untuk bisa menjaga kesehatannya yakni dengan cara menjaga kesehatan fisik dan jiwa yang dilandasi dengan keimanan (Anwar, 2008).

Semua penyakit memang datang hanya dari Allah, tetapi Allah juga yang akan menyembuhkannya. Sebagaimana firman Allah yang berbunyi:

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

“Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku” (Qs. al-Syu’arâ [26]: 80).

Menurut Shihab (2002) dalam tafsir al-Misbah menyatakan bahwa kata “*wa idza maridltu*” berbeda dengan redaksi lainnya. Redaksinya menyatakan “apabila aku sakit” bukan “apabila Allah menjadikan aku sakit”. Sedangkan dalam hal penyembuhan beliau secara tegas menyatakan bahwa yang melakukannya adalah Allah. Dengan demikian terlihat dengan jelas bahwa segala sesuatu yang buruk seperti penyakit tidaklah pantas disandarkan kepada Allah, sedangkan penyembuhan penyakit adalah hal yang terpuji sehingga pantas untuk

disandarkan kepada Allah. Namun perlu digaris bawahi bukan berarti upaya penyembuhan itu sudah tidak diperlukan lagi. Bahkan Rasulullah pun memerintahkan kita untuk berobat sebagaimana dikatakan dalam sabda beliau sebagai berikut:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بُرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ (رَوَاهُ الْمُسْلِمُ)

“Diriwayatkan dari Jabir r.a, dari Rasulullah SAW bersabda;”Setiap penyakit itu ada obatnya. Apabila obat suatu penyakit telah tepat sembuhlah ia dengan ijin Allah” (HR. Muslim).

Qardhawi (1998) menambahkan, menurut Islam hak tubuh ini tidak boleh dilupakan dan diabaikan demi kepentingan yang lain sebagaimana sunnah menetapkan bahwa tubuh memiliki nilai yang sangat berharga dan ia mempunyai hak atas pemilikinya; *“Sesungguhnya tubuhmu mempunyai hak atas dirimu”*. Termasuk hak tubuh atas dirinya adalah hendaklah membersihkannya apabila kotor dan mengobatinya apabila lelah atau sakit.

2.2 Tinjauan Umum Diabetes Mellitus

2.2. 1. Diabetes Mellitus

Penyakit diabetes mellitus disebabkan karena menurunnya hormon insulin yang diproduksi oleh kelenjar pankreas. Penurunan hormon ini mengakibatkan seluruh gula (glukosa) yang dikonsumsi tubuh tidak dapat diproses secara sempurna, sehingga kadar glukosa di dalam tubuh akan meningkat. Kekurangan insulin disebabkan karena terjadinya kerusakan sebagian besar sel-sel beta pulau langerhans dalam kelenjar pankreas. Diabetes mellitus seringkali dikaitkan dengan

faktor resiko terjadinya kegagalan jantung seperti hipertensi dan kolesterol tinggi (Utami, 2003; Holt, 2005).

Diabetes Mellitus merupakan salah satu gangguan pada sistem endokrin yang dicirikan dengan berbagai tanda dan gejala antara lain dengan adanya keberadaan hiperglikemia yang disebabkan karena berkurangnya sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Adanya hiperglikemia kronis pada diabetes mellitus berhubungan dengan komplikasi jangka panjang disfungsi dan kelainan beberapa organ, terutama mata, ginjal, saraf, hati dan pembuluh darah (ADA, 2000).

2.2.2. Penyebab Penyakit Diabetes Mellitus

Terjadinya penyakit diabetes mellitus disebabkan terganggunya keseimbangan tubuh mengendalikan tingkat gula (glukosa) dalam darahnya. Penderita tidak mampu memproduksi insulin dalam jumlah cukup, sehingga terjadi kelebihan gula dalam tubuh. Ketidakseimbangan dalam sistem metabolisme tubuh inilah yang dapat menimbulkan penyakit. Sebagaimana Dalimartha (2005) melaporkan bahwa Meningkatnya penderita penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus salah satunya disebabkan pola makan yang tidak seimbang. Pola makan yang tidak seimbang atau berlebihan akan menyebabkan obesitas. Obesitas inilah yang akan menimbulkan penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus, jantung koroner, hipertensi dan lain-lain.

Allah berfirman dalam al-Qur'an:

﴿ وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا ۚ إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴾

“Makan dan minumlah dan jangan berlebih-lebihan. Sesungguhnya Allah tidak senang terhadap orang yang berlebih-lebihan” (Qs. al-A’raf [07]: 31).

Rosulullah Saw. bersabda:

قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ: مَا مَلَأَ أَدَمِيَّ وَعَاءٌ شَرًّا مِنْ بَطْنِهِ بِحَسَبِ ابْنِ آدَمَ
لِقِيمَاتٍ يَفْمَنُ صَلْبِهِ فَإِنْ كَانَ لَا مَحَالَةَ فَتُلْتُ لِطَعَامِهِ وَتُلْتُ لِشَرَابِهِ وَتُلْتُ لِنَفْسِهِ (رَوَاهُ
التِّرْمِذِيُّ)

“Tidak ada yang dipenuhi manusia lebih buruk dari perut, cukuplah bagi putra Adam beberapa suap yang dapat menegakkan tubuhnya. Kalaupun harus (memenuhi perut), maka hendaklah sepertiga untuk makan, sepertiga untuk minum, dan sepertiga untuk pernafasan” (HR. Ibnu Majah dan Ibnu Hibban, dan At-tirmidzi melalui sahabat Nabi Miqdam bin Ma’di Karib).

Menurut Shihab (2008) bahwa ayat dan hadits di atas menjelaskan tentang perlunya sikap proporsional ketika makan dan minum sehingga terhindar dari siksaan baik di dunia maupun di akhirat akibat melanggar hukum-hukum di alam ini. Menderita sakit adalah merupakan hukuman Tuhan di dunia bagi manusia yang makan dan minum secara berlebih-lebihan sebagaimana Allah menegaskan kembali dalam surat al-Maidah ayat 88 yang berbunyi:

وَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَلًا طَيِّبًا ۚ وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي أَنْتُمْ بِهِ
مُؤْمِنُونَ

“Dan makanlah dan apa yang dirizekikan Allah kepada kamu, dan bertaqwalah kepada Allah yang kamu percaya terhadap-Nya” (Qs. al-Maidah [05]: 88).

Menurut Ahani (2008) bahwa penyakit kronik yang sering menyertai obesitas adalah diabetes tipe II, hipertensi dan hiperkolesterolema. Mekanisme yang diduga menjadi predisposisi diabetes tipe II adalah terjadinya pelepasan

asam-asam lemak bebas secara cepat yang berasal dari suatu lemak visceral. Hal ini menyebabkan terjadi sirkulasi tingkat tinggi dari asam-asam lemak bebas di hati sehingga kemampuan hati untuk mengikat dan mengekstrak insulin dari darah menjadi berkurang. Hal ini dapat mengakibatkan hiperinsulinemia. Akibat lainnya adalah peningkatan glukoneogenesis sehingga glukosa darah meningkat.

Berdasarkan hal tersebut, kemunculan penyakit seperti diabetes mellitus disebabkan karena ulah manusia sendiri yang mengabaikan hak-hak tubuhnya dengan seimbang. Allah menciptakan makhluknya dalam mekanisme tubuh dengan sempurna dan seimbang sebagaimana dijelaskan dalam al-Qur'an surat al-Infithar [82] ayat 7.

Menurut Utami (2003), faktor-faktor yang menyebabkan terjadinya diabetes mellitus adalah: 1) genetik; 2) Virus dan bakteri, Virus yang diduga dapat menyebabkan diabetes mellitus adalah *Rubela*, *Mump* dan *Human coxsackievirus B4*. Hasil penelitian menyebutkan bahwa virus dapat menyebabkan diabetes melalui mekanisme infeksi sitolitik pada sel beta yang mengakibatkan desruksi atau perusakan sel dan melalui reaksi autoimunitas yang menyebabkan hilangnya autoimun pada sel beta; 3) bahan toksik, beberapa bahan toksik yang mampu merusak sel beta secara langsung yaitu *alloxan*, *pyrinuron* (rodentisida), *streptozotcin* (produk dari sejenis jamur) dan *glikosida sianogenik* yang terdapat pada singkong. Penelitian menunjukkan bahwa sianida yang dilepaskan oleh glikosida sianogenik dapat menyebabkan kerusakan pankreas yang dapat menimbulkan gejala diabetes jika disertai kekurangan protein; 4) Nutrisi, overnutrisi merupakan faktor resiko yang diketahui dapat menyebabkan diabetes

mellitas. Semakin berat obesitas akibat over nutrisi, maka semakin besar kemungkinan terkena diabetes mellitus.

2.2.3. Klasifikasi Diabetes mellitus

Klasifikasi diabetes mellitus (DM) terbaru tahun 1999 oleh *American Diabetes Association (ADA)/World Health Organization (WHO)* lebih ditekankan pada penggolongan berdasarkan penyebab dan proses penyakit. Empat jenis diabetes mellitus berdasarkan klasifikasi terbaru, yaitu:

1. Diabetes Mellitus/DMTI (Diabetes Mellitus Tergantung Insulin), disebabkan oleh kerusakan sel-sel beta pankreas penghasil insulin.
2. Diabetes mellitus tipe 2/DMTTI (Diabetes Mellitus Tidak Tergantung Insulin), disebabkan oleh resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin.
3. Diabetes mellitus tipe spesifik lain, disebabkan oleh berbagai kelainan genetik spesifik (kerusakan genetik sel beta pankreas dan kerja insulin). Penyakit pada pankreas, gangguan endokrin lain, obat-obatan atau bahan kimia dan infeksi (*Rubela kongenital* dan CMV).
4. Diabetes kehamilan, yaitu diabetes mellitus yang hanya muncul pada kehamilan.

Menurut Mayfield (1998), diabetes mellitus tipe 1 (DMTI/diabetes juvenil) biasanya berkembang pada usia anak-anak, namun termanifestasi dan menjadi parah saat pubertas. Diabetes mellitus tipe I memiliki ciri adanya destruksi sel β pankreas melalui mekanisme *celluler mediated autoimmune*. Destruksi autoimun sel β pankreas berhubungan dengan predisposisi genetik dan

faktor lingkungan. Penderita diabetes mellitus tipe 1 sangat tergantung pada insulin untuk kelangsungan hidupnya akibat defisiensi insulin yang absolut, maka akan terjadi komplikasi metabolisme yang serius seperti ketoasidosis akut dan koma (Marble, 1971 dalam Wuragil, 2006).

Diabetes mellitus tipe 2 (DMTTI atau permulaan pendewasaan) ditandai dengan kondisi sel β pankreas masih cukup baik sehingga masih mampu mensekresi insulin namun dalam kondisi relatif defisiensi. Perkembangan tipe penyakit ini adalah suatu bentuk umum dari diabetes mellitus dan sangat terkait dengan sejarah keluarga yang pernah mengalami diabetes. Resistensi insulin dan *hyperinsulinemia* biasanya menyebabkan melemahnya toleransi glukosa, destruksi sel-sel β , menjadi penyebab utama terjadinya siklus intoleransi glukosa dan *hyperglycemia* (Mayfield, 1998).

Dampak negatif menderita diabetes mellitus antara lain: (1) berkurangnya pemakaian glukosa oleh sel-sel tubuh, yang mengakibatkan naiknya konsentrasi glukosa darah (*hyperglycemic*) yakni pada manusia sampai setinggi 300 sampai 1200 mg/dl; (2) sangat meningkatnya mobilitas lemak dari daerah penyimpanan lemak, sehingga menyebabkan terjadinya metabolisme lemak yang abnormal disertai dengan endapan kolesterol pada dinding pembuluh darah, yang mengakibatkan timbulnya gejala *arterosklerosis* dan (3) berkurangnya protein dalam jaringan tubuh (Guyton dan Hall, 1997).

2.2.4. Gejala Penyakit Diabetes Mellitus

Gejala utama diabetes Mellitus biasanya dikenali dengan 3P yaitu: poliuria (banyak kencing), polidipsia (banyak minum) dan polifagia (banyak makan). Banyak makan dan minum menyebabkan berat badan terus meningkat. Jika keadaan ini tidak lekas diobati, nafsu makan justru akan berkurang sementara sering minum dan kencing masih terus akan berlangsung, selanjutnya akan menimbulkan rasa mual dan penderita tidak sadarkan diri atau mengalami koma diabetik akibat kadar glukosa darah terlalu tinggi, kadang-kadang penderita diabetes mellitus tidak menunjukkan gejala akut tetapi sering gejala muncul beberapa bulan atau tahun sesudah mengidap diabetes mellitus. Gejala kronik atau menahun yang sering timbul adalah semutan, rasa kulit panas, kram, mudah mengantuk, mata kabur, gatal sering alat kemaluan, gigi mudah goyah dan lepas serta kemampuan seksual menurun (Anonimus, 2004).

Gejala yang sering muncul pada diabetes tipe 1 adalah tidak dapat mengendalikan keinginan untuk buang air kecil (poliuria), berat badan menurun drastis, kadar glukosa tinggi dalam darah dan urin, mual dan muntah, nyeri perut, dehidrasi, mudah lelah, mudah terinfeksi, daya penglihatan berkurang dan ketoasidosis (kondisi fatal akumulasi keton). Sedangkan pada penderita diabetes mellitus tipe 2 gejala yang sering muncul antara lain: impotensi, mudah lelah, luka yang susah sembuh dan mati rasa. Dalam beberapa kasus gejala yang muncul bisa mirip dengan diabetes mellitus tipe 1 seperti poliuria dan polidipsia (banyak minum), infeksi, gatal pada seluruh tubuh dan koma (Utami, 2003 dan Maryland Medical Center, 2002).

Menurut Dalimartha (2005) bahwa keadaan poliuria oleh penderita diabetes terjadi karena kadar glukosa darah yang tinggi. Pada saat glukosa darah melebihi ambang ginjal (*renal threshold*) maka glukosa yang berlebihan ini akan dikeluarkan (ekskresi) melalui kencing. Keluhan polidipsia terjadi karena rasa haus yang berlebihan akibat kencing yang terlalu banyak. Akibatnya timbul rangsangan ke susunan saraf pusat sehingga penderita merasa haus dan ingin minum terus (polidipsi). Keluhan polipagia terjadi karena adanya rangsangan ke susunan saraf pusat karena kadar glukosa di dalam sel berkurang. Kekurangan glukosa ini terjadi akibat tubuh kekurangan insulin sehingga glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel. Akibat kekurangan glukosa intraseluler maka timbul rangsangan ke sistem saraf pusat sehingga penderita merasa lapar dan ingin makan.

Menurut Utami (2003) dan Dalimartha (2005), parameter umum yang digunakan untuk mendiagnosis diabetes mellitus adalah:

1. Seseorang dikatakan menderita diabetes mellitus jika kadar glukosa darah ketika puasa > 120 mg/dl atau 2 jam setelah minum larutan glukosa 75 g menunjukkan glukosa darah > 200 mg/dl.
2. Seseorang dikatakan terganggu toleransi glukosanya, jika kadar glukosa darah ketika puasa 100-125 mg/dl atau 2 jam setelah minum larutan glukosa 75 g menunjukkan glukosa 140 – 199 mg/dl
3. Seseorang dikatakan normal (tidak menderita diabetes mellitus), jika kadar glukosa darah ketika puasa < 110 mg/dl dan kadar glukosa darah 2 jam setelahnya < 140 mg/dl.

2.3. Pankreas, Insulin dan Insulitis

Menurut Sheerwood (2005) dan Pettepher (2002), Pankreas merupakan suatu organ berupa kelenjar dengan panjang dan tebal sekitar 12,5 cm dan tebal \pm 2,5 cm. Pankreas terbentang dari atas sampai ke lengkungan besar dari perut dan biasanya dihubungkan oleh dua saluran ke *duodenum* (usus 12 jari). Visualisasi pankreas dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1. Pankreas (Arisandi, 2004).

Organ ini dapat diklasifikasikan ke dalam dua bagian yaitu kelenjar endokrin dan eksokrin. Pankreas terdiri dari :

a. Kepala pankreas

Merupakan bagian yang paling lebar, terletak di sebelah kanan rongga abdomen dan di dalam lekukan *duodenum*.

b. Badan pankreas

Merupakan bagian utama, letaknya di belakang lambung dan di depan *vertebra lumbalis* pertama.

c. Ekor pankreas

Merupakan bagian yang runcing di sebelah kiri dan menyentuh limpa.

Pada pankreas terdapat dua saluran yang mengalirkan hasil sekresi pankreas ke dalam duodenum :

- a. *Ductus Wirsung*, yang bersatu dengan *duktus choledukus*, kemudian masuk ke dalam *duodenum* melalui *sphincter oddi*.
- b. *Ductus Sartorini*, yang lebih kecil langsung masuk ke dalam *duodenum* di sebelah atas *sphincter oddi*. Saluran ini memberi petunjuk dari pankreas dan mengosongkan *duodenum* sekitar 2,5 cm di atas *ampulla hepatopankreatik*.

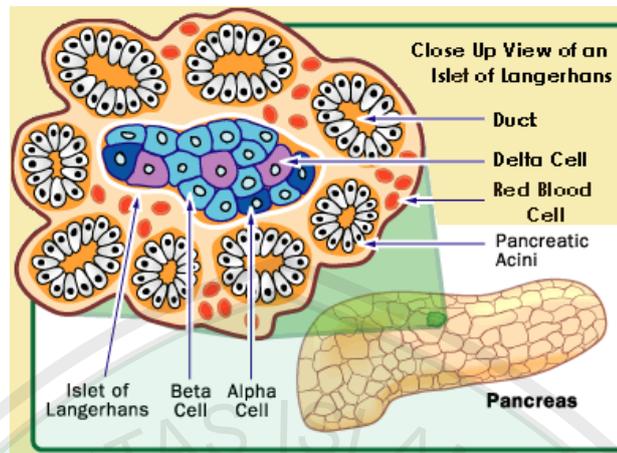
Menurut Arisandi (2004) Pankreas terdiri atas dua jaringan utama yaitu (1) asini, yang mensekresi getah pencernaan ke duodenum dan (2) *islet langerhans*, yang tidak mengeluarkan sekretnya keluar, tetapi mensekresikan insulin dan glukagon langsung ke darah. *Islet langerhans* mengandung tiga jenis sel utama, sel alfa, sel beta dan sel delta yang satu sama lain dibedakan dengan struktur dan sifat pewarnaannya. Sel beta mensekresikan insulin, sel alfa mensekresi glukagon dan sel delta mensekresikan somatostatin.

Pulau Langerhans adalah kumpulan sel berbentuk ovoid, berukuran 76 x 175 mm dan berdiameter 20 sampai 300 mikron tersebar di seluruh pankreas, lebih banyak ditemukan di ekor daripada kepala dan badan pankreas. Pulau-pulau ini menyusun 1-2% berat pankreas. Sel-sel dalam pulau dapat dibagi menjadi

beberapa jenis bergantung pada sifat pewarnaan dan morfologinya (Arisandi, 2004).

Pada manusia paling sedikit terdapat empat jenis sel pada pulau langerhans yaitu: sel A (alfa), B (beta), D (delta), dan sel F. Sel A mensekresikan glukagon, sel B mensekresikan insulin, sel D mensekresikan somastostatin, dan sel F mensekresikan polipeptida pankreas. Sel B yang merupakan sel terbanyak membentuk 60-70%, umumnya terletak di bagian tengah pulau. Sel-sel ini cenderung dikelilingi oleh sel A yang membentuk 20% dari sel total, serta sel D dan sel F yang lebih jarang ditemukan. Pulau-pulau yang kaya akan sel A secara embriologis berasal dari tonjolan pankreas dorsal, dan pulau yang kaya akan sel F berasal dari tonjolan pankreas ventral. Kedua tonjolan ini berasal dari tempat yang berbeda di duodenum (Sheerwood, 2005; Pettepher, 2002).

Carlk (2004) menambahkan, Islet langerhans tersusun atas 4 tipe sel utama diantaranya sel beta, memproduksi insulin yang membentuk 60-80% massa sel, sel alfa yang mensekresi glukagon sebanyak hampir 25% dan sel delta sebagai penghasil somatostasin sebanyak 2-8%, selain itu terdapat *pancretic polypeptide-cells* (PP-cells) yang keberadaannya sangat jarang. Visualisasi irisan pankreas dapat dilihat pada gambar 2.2.



Gambar 2.2. Irisan Histologis Pankreas (Guyton, 1997).

Menurut Pettepher (2002) bahwa granula sel B adalah paket-paket insulin dalam sitoplasma sel. Di dalam sel B molekul insulin membentuk polimer yang berikatan dengan seng. Granula A yang mengandung glukagon berbentuk relatif seragam dari spesies ke spesies. Sel D juga mengandung banyak granula yang relatif homogen.

Sel beta yang ada di pulau langerhans memproduksi hormon insulin yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah dan secara fisiologi memiliki peranan yang berlawanan dengan glukagon. Insulin menurunkan kadar gula darah dengan beberapa cara. Insulin mempercepat transportasi glukosa dari darah ke dalam sel, khususnya serabut otot rangka glukosa masuk ke dalam sel tergantung dari keberadaan reseptor insulin yang ada di permukaan sel target. Insulin juga mempercepat perubahan glukosa menjadi glikogen, menurunkan *glycogenolysis* dan *gluconeogenesis*, menstimulasi perubahan glukosa atau zat gizi lainnya ke dalam asam lemak (*lipogenesis*), dan membantu menstimulasi sintesis protein (Arisandi, 2004).

Menurut Guyton (1976), insulin adalah suatu polipeptida yang mengandung dua rantai asam amino yang dihubungkan oleh jembatan disulfida. Terdapat perbedaan kecil dalam komposisi asam amino molekul dari satu spesies ke spesies lain. Perbedaan ini biasanya tidak cukup besar untuk dapat mempengaruhi aktivitas biologi suatu insulin pada spesies tetapi cukup besar untuk menyebabkan insulin bersifat antigenik. Insulin dibentuk di retikulum endoplasma sel B. Insulin kemudian dipindahkan ke aparatus golgi, tempat insulin mengalami pengemasan dalam granula-granula berlapis membran. Granula-granula ini bergerak ke dinding sel melalui suatu proses yang melibatkan mikrotubulus dan membran granula berfusi dengan membran sel, mengeluarkan insulin ke eksterior melalui eksositosis. Insulin kemudian melintasi *lamina basalis* sel B serta kapiler dan endotel kapiler yang berpori mencapai aliran darah.

Waktu paruh insulin dalam sirkulasi pada manusia adalah sekitar 5 menit. Insulin berikatan dengan reseptor insulin lalu mengalami internalisasi. Insulin dirusak dalam endosom yang terbentuk melalui proses endositosis. Enzim utama yang berperan adalah insulin protease, suatu enzim di membran sel yang mengalami internalisasi bersama insulin (Pearce, 1979).

Menurut Arisandi (2004) bahwa efek faali insulin bersifat luas dan kompleks. Efek-efek tersebut biasanya dibagi menjadi efek cepat, menengah dan lambat.

a. Efek cepat (detik)

Peningkatan transpor glukosa, asam amino dan K^+ ke dalam sel peka insulin.

b. Efek menengah (menit)

Stimulasi sintesis protein, penghambatan pemecahan protein, pengaktifan *glikogen sintetase* dan enzim-enzim glikolitik, penghambatan fosforilase dan enzim-enzim glukoneogenik.

c. Efek lambat (jam)

Peningkatan mRNA enzim lipogenik dan enzim lain.

Turner dan Bagnara (1976) menyebutkan Efek insulin pada berbagai jaringan adalah sebagai berikut:

Tabel 2.1 Ringkasan efek insulin pada berbagai jaringan

Jaringan	Efek
Jaringan Adiposa	Meningkatkan masuknya glukosa
	Meningkatkan sintesis asam lemak
	Meningkatkan sintesis gliserol fosfat
	Meningkatkan pengendapan trigliserida
	Mengaktifkan lipoprotein lipase
	Menghambat lipase peka hormon
	Meningkatkan ambilan K ⁺
Otot	Meningkatkan masuknya glukosa
	Meningkatkan sintesis glikogen
	Meningkatkan ambilan asam amino
	Meningkatkan sintesis protein di ribosom
	Menurunkan katabolisme protein
	Menurunkan pelepasan asam-asam amino glukoneogenik
	Meningkatkan ambilan keton
	Meningkatkan ambilan K ⁺
Hati	Menurunkan ketogenesis
	Meningkatkan sintesis protein
	Meningkatkan sintesis lemak
	Menurunkan pengeluaran glukosa akibat penurunan glukoneogenesis dan peningkatan sintesis glukosa
Umum	Meningkatkan pertumbuhan sel

Dalam proses metabolisme, insulin memegang peranan penting yaitu memasukkan glukosa ke dalam sel yang digunakan sebagai bahan bakar. Insulin

adalah suatu zat atau hormon yang dihasilkan oleh sel beta pankreas, bila insulin tidak ada maka glukosa tidak dapat masuk kedalam sel. Glukosa akan tetap berada dalam plasma darah yang artinya kadar glukosa di dalam darah meningkat (Guyton dan Hall, 1997).

Pada diabetes mellitus tipe 1 terjadi kelainan sekresi insulin oleh sel beta pankreas. Penderita diabetes tipe ini mewarisi kerentanan genetik yang merupakan predisposisi untuk kerusakan autoimun sel beta pankreas. Respon autoimun dipacu oleh aktivitas limfosit yang merupakan antibodi terhadap sel pulau langerhans dan terhadap insulin itu sendiri (Defronzo, dkk, 2004).

Perubahan islet menunjukkan adanya insulitis, yaitu sel-sel mononukler (makrofag dan sel dendritik) terakumulasi pada islet. Hal ini mengakibatkan sel beta pankreas mengalami penurunan imunoreaktivitas dalam memproduksi insulin sehingga mengalami destruksi secara progresif. Imunoreaktivitas HLA-DR dapat ditemukan, namun penampakkannya tidak mempengaruhi. Perusakan sel beta pankreas dapat terjadi setelah satu minggu hingga beberapa bulan, bahkan tahun dimana terjadi penurunan jumlah sel beta pankreas, tetapi sel yang lain tidak terpengaruh (Clark, 2004).

Insulitis ditandai dengan adanya infiltrasi sel mononuklear pada islet langerhans. Sel-sel mononuklear yang menginfiltirasi islet-islet langerhans terutama adalah limfosit T dan makrofag. Hal tersebut akan mengakibatkan terjadinya destruksi yang progresif pada sel beta pankreas yang mensekresi insulin. Sehingga hasil akhirnya adalah terjadinya defisiensi insulin dan kegagalan homeostatis glukosa (Iwahasi, 1998).

Insulitis dibedakan pada beberapa kelas berdasarkan struktur pada islet langerhans yang dapat dianalisis secara histologi yaitu (Zhang, dkk., 2005 dalam Damayanthi, 2006):

- Klass A : Struktur normal
- Klass B : Infiltrasi sel mononuklear di bagian perifer/tepi islet
- Klass C : Infiltrasi sel mononuklear pada hampir seluruh bagian islet, mengalami insulitis
- Klass D : Hanya tersisa sedikit islet pankreas, mengubah struktur histologi secara umum, diantaranya "*pyncotic sell nuclei*"

2.4. Mekanisme Homeostasis Glukosa

Mekanisme homeostatis berperan untuk memasukkan glukosa ke dalam sel dan penggunaannya oleh jaringan tubuh. Bila kadar glukosa turun, mekanisme pelepasan glukosa simpanan berupa glikogen dalam sel akan diuraikan dan dilepas kembali dalam darah sehingga kadar glukosa normal tetap terpelihara. Mekanisme homeostatik kadar glukosa darah melibatkan kerja hormon. Hormon utama pengendali metabolisme bahan bakar adalah insulin yang berfungsi untuk menurunkan glukosa darah serta glukagon dan epinefrin untuk meningkatkan gula darah (Fox, 2006; Campbell, 2003).

Menurut Defronzo (1992), terdapat tiga mekanisme utama homeostasis glukosa yang terkoordinasi secara ketat. Ketiga mekanisme tersebut adalah: 1) Biosintesa dan sekresi insulin; 2) Pengambilan glukosa oleh jaringan; 3) Produksi glukosa hepar.

a. Biosintesa dan sekresi insulin

Insulin merupakan protein kecil dengan berat molekul 5080 yang berpengaruh pada metabolisme karbohidrat, protein dan lemak. Insulin erat kaitannya dengan pembentukan energi. Berdasarkan senyawa kimia pembentuknya, insulin termasuk hormon golongan polipeptida rantai A yang terdiri dari 21 asam amino dan rantai B yang terdiri dari 30 asam amino dengan reseptor berupa *heterotetramer* ($\alpha_2\beta_2$) terikat dengan ikatan disulfida yang multiple (Fox, 2006; Lehninger, 1994; Indah, 2004).

b. Pengambilan (*uptake*) glukosa oleh sel jaringan

Glukosa merupakan bahan utama pemicu sekresi insulin. Glukosa melewati dan masuk ke dalam sel beta pankreas secara difusi pasif dengan memanfaatkan fasilitas protein membran yang disebut GLUT-2 (*Glukose Transport-2*). GLUT-2 ini mempunyai afinitas yang rendah terhadap glukosa, sehingga saat konsentrasi glukosa darah tinggi, glukosa akan lebih mudah masuk ke dalam sel beta pankreas. Setelah glukosa masuk ke dalam sel akan terjadi rangkaian mekanisme seluler sehingga insulin disekresikan (Rujianto, 1997). Oksidasi mitokondria sel beta pankreas akan memperluas potensial fosfat sel karena kenaikan rasio ATP^{4-} atau $MgADP^{2-}$ Sehingga menyebabkan saluran K_{ATP} pada membran menutup, dan saluran Ca^{2+} membuka. Tingginya kadar Ca^{2+} pada sitoplasma akan menstimulasi sekresi insulin (Sheerwood, 2005).

c. Produksi Glukosa hepar

Hati merupakan organ yang sensitif terhadap insulin. Pada keadaan normal glukagon akan menghambat pemecahan glikogen dan menurunkan pembentukan

glukosa (Wiyono dan Sinta, 2004). Berkebalikan dengan kerja insulin yang meningkatkan ambilan glukosa dari darah, glukagon meningkatkan proses *glikogenolisis* maupun *glukoneogenesis* oleh hepar (Turner dan Bagnara, 1998). Glukagon akan meningkatkan proses pemecahan glikogen yang tersimpan dalam jaringan dan juga meningkatkan produksi glukosa oleh hepar melalui proses glukoneogenesis. Aktifitas glukagon berupa penyediaan energi yang dibutuhkan sel dalam keadaan puasa (Rujianto, 1997). Kadar glukosa darah yang tinggi akan menghambat sekresi glukagon dari sel alfa pankreas.

Terdapat faktor lain yang berpengaruh dalam keseimbangan glukosa darah di antaranya adalah *insulin like growth factors* dan *glukagon like peptides*. Insulin dan glukagon bekerja sebagai umpan balik untuk menjaga keseimbangan glukosa darah tetap pada nilai normal (Turner, 1998; Fox SI, 2006; Campbell, 2003).

Insulin like growth factor (IGF-I dan IGF-II) merupakan salah satu faktor yang mempunyai kemampuan menurunkan glukosa dalam darah. Kekuatan menurunkan kadar glukosa 6% dari kekuatan insulin. Peran regulasi glukosa darah oleh IGF-I dimungkinkan adanya struktur dan fungsi yang sangat berkaitan dengan insulin. *Glukagon like peptides* (GLP-I) merupakan suatu transmitter endokrin yang diproduksi di lambung. Transmitter ini akan dikeluarkan pada saat makan dan berpengaruh pada sekresi insulin. GLP-I juga dapat mengakibatkan penurunan sekresi glukagon, memperlambat pengosongan lambung, merangsang biosintesa proinsulin dan mungkin juga meningkatkan kepekaan terhadap insulin (Gutniak dan Nauck (1997) dalam Rujianto, 1997).

2.4. Hubungan Radikal Bebas dan Autoimun

Radikal bebas adalah molekul yang kehilangan elektron, sehingga molekul tersebut menjadi tidak stabil dan selalu berusaha mengambil elektron dari molekul atau sel lain. Radikal bebas dapat dihasilkan dari hasil metabolisme tubuh dan faktor eksternal seperti asap rokok, hasil penyinaran ultraviolet, zat kimia dalam makanan dan polutan lain (Anonimous, 2008^b).

Menurut Soeatmadji (1999) dalam Arjita (2002), penderita diabetes mellitus atau hiperglikemia berkaitan erat dengan terjadinya resiko komplikasi kardiovaskuler. Hiperglikemia dikaitkan dengan glikasi protein dan makromolekul, memungkinkan terjadinya komplikasi makroangiopati dan mikroangiopati yang melibatkan peranan sel endotel pembuluh darah. Pengaruh toksik hiperglikemia terhadap pembuluh darah antara lain diduga berlangsung melalui proses glikasi nonenzimatik, perubahan *sorbitol-myoinositol*, gangguan redokstase intrasel dan pertahanan antioksidan yang berkurang, serta aktivasi jalur reaksi *diasilgliserol-protein kinase*. Mekanisme-mekanisme tersebut dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas dan menimbulkan stres-oksidatif. Selanjutnya, radikal bebas yang terbentuk akan mengakibatkan kerusakan pada protein, lipid membran dan DNA sebagai makromolekul di dalam sel endotel.

Rosdiana, N dan Soewoto, H (2008) menambahkan bahwa endotel adalah selapis sel yang melapisi pembuluh darah bagian dalam. Endotel mempunyai peranan yang sangat penting dalam memelihara homeostasis pembuluh darah.

Menurunnya respon vasodilatasi pembuluh darah akibat tingginya pembentukan radikal bebas terjadi melalui mekanisme kerusakan reseptor untuk

vasodilatasi di permukaan sel endotel, deaktivasi sintesis *nitric oxide* serta penurunan aktivitas *second messenger* di dalam sel endotel dan sel otot polos pembuluh darah. Di samping itu, tingginya pembentukan radikal bebas dapat berinteraksi dengan *nitric oxide* membentuk peroksinitrit yang pada konsentrasi tinggi merupakan oksidan yang kuat. Sedangkan penurunan responsifitas terhadap sintesa *nitric oxide* dapat terjadi melalui pembentukan *plaque ateroma* dan penebalan dinding pembuluh darah akibat proliferasi sel otot polos pada arterosklerosis (Widodo, 1996).

Radikal bebas yang mengambil elektron dari sel tubuh manusia dapat menyebabkan perubahan DNA sehingga timbulah sel-sel mutan. Apabila kerusakan genetik itu terjadi pada sel-sel pankreas maka akan terjadi penyakit diabetes mellitus tipe I yang diperantarai imun (autoimun; sistem imun merusak sel-sel) karena sistem imun tidak mengenali lagi sel-sel tersebut sehingga terjadi apoptosis (Naim, 2006).

2.5. Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) sebagai antidiabetik

Menurut Utami (2003), cara alami untuk mengatasi diabetes mellitus yaitu dengan terapi herbal menggunakan ramuan tanaman yang berkhasiat obat. Terapi seperti ini dinilai sebagai pengobatan yang memiliki sedikit efek samping, murah dan mudah diperoleh. Terapi herbal dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif atau dapat pula dijadikan sebagai suatu tindakan penegasan terhadap suatu penyakit.

Imani (2005) menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan segala macam tanaman sebagai tanda-tanda kekuasaan Allah dan bahan berfikir bagi kemaslahatan umat sebagaimana Allah menciptakan tanaman sambiloto yang banyak memberikan manfaat bagi umat manusia. Allah telah berfirman:

وَالْبَلَدُ الطَّيِّبُ يَخْرُجُ نَبَاتُهُ بِإِذْنِ رَبِّهِ ۗ وَالَّذِي خَبثَ لَا يَخْرُجُ
إِلَّا نَكِدًا ۗ كَذَلِكَ نُصَرِّفُ الْآيَاتِ لِقَوْمٍ يَشْكُرُونَ ﴿٥٨﴾

“Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran (Kami) bagi orang-orang yang bersyukur” (Qs. al-A’raf [7]: 58).

Berdasarkan ayat di atas, terdapat tiga hal yang terkandung di dalamnya yaitu Allah telah menciptakan berbagai macam jenis tanaman dan berbagai tanah termasuk tanah yang subur maupun tidak subur yang merupakan tanda-tanda kebesaran bagi orang yang bersyukur. Sebagaimana tanaman sambiloto, Allah telah menciptakannya baik di tanah yang subur maupun tidak. Hal ini sesuai dengan penjelasan Yusron (2005) bahwa sambiloto tergolong tanaman teras (perdu) yang tumbuh di berbagai habitat, seperti pinggiran sawah, kebun atau hutan. Sambiloto mampu tumbuh hampir di setiap jenis tanah. Sebagai tanaman yang dapat tumbuh di berbagai tanah, ternyata sambiloto mampu memberikan manfaat bagi umat manusia, apabila manusia selalu bersyukur dengan selalu memikirkan ciptaan Allah termasuk memikirkan bagaimana memanfaatkan sambiloto sebagai tanaman obat. Penjelasan diatas didukung dengan firman Allah dalam al-Quran surat al-Syu’arâ [26] ayat 7

Shihab (2002) memberikan tafsir bahwa Allah menumbuhkan dari bermacam-macam tumbuhan yang baik yaitu subur dan bermanfaat. Menurut Hendrik (2007), tumbuhan dapat dijadikan sebagai obat yang memiliki fungsi farmologis untuk mempengaruhi fisiologi atau reseptor baik secara sistemik maupun lokal sehingga diperoleh efek yang dikehendaki sebagaimana Dalimartha (2006) menyebutkan, sambiloto dapat dimanfaatkan sebagai obat antidiabetik.

Praparanza dan Marianti (2003) dalam Damayanthi (2006) menambahkan, sambiloto merupakan salah satu tanaman obat unggulan selain pegangan, temulawak, tempuyung, mengkudu daun jinten dan pasak bumi yang digunakan sebagai bahan terapi berbagai penyakit. Kandungan bahan aktif pada tanaman ini di antaranya *Andrographolide*, *alkalin*, *keton*, *aldehid*, minyak atsiri, lakton dan *flavonoid* yang memiliki berbagai efek farmologis.

Kandungan *Andrographolide* dalam tanaman ini banyak terdapat pada batang dan daun memberikan rasa pahit. Efek farmologis yang ditimbulkan bahan ini adalah sebagai antiradang (antiinflamasi), antiinfeksi, merangsang daya tahan sel, antibakteri, penghilang rasa nyeri, antihistamin, serta menurunkan kadar glukosa darah. Sambiloto juga terkenal dalam pengobatan penyakit hati, berdasarkan penelitian yang dilakukan aktivitas *andrographolide* dapat menghasilkan *diterpen laktone* yang menghambat aktivitas *karbon tetraklorida* (sebagai pemicu penyakit hati) (Sigh, 2000 dalam Wuragil, 2006).

Selain adanya kandungan *Andrographolide* sebagai bahan aktif dalam daun sambiloto yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah dan

antiinflamasi, terdapat pula antioksidan yang dapat menekan radikal bebas. Kusumowadhani (2005) menyebutkan, bahan kimia yang mengandung antioksidan dan dapat menurunkan radikal bebas dapat melindungi islet langerhans melawan efek sitotoksik. Kandungan antioksidan dalam tanaman ini menghambat terbentuknya *Reactive Oxygen Spesies (ROS)* yang mengandung sitokin dalam meningkatkan apoptosis sel. Menurut Ardjita, dkk (2002), adanya kaitan antara diabetes dengan glukosa tinggi yang menjadi katalis terbentuknya *lipid peroksidase* dan *Advanced Glycation End Product (AGEs)* yang menyebabkan timbulnya radikal bebas. Terhambatnya pembentukan *AGEs* dan pengurangan produksi *ROS* berkaitan dengan kemampuan antioksidan dalam menghambat migrasi insulin yang difasilitasi oleh neutrofil; yang merupakan awal terjadinya peradangan. Efek farmologis lain yang dihasilkan tanaman ini berkaitan dengan daya penekanan reaksi autoimun, akibat infiltrasi sel mononuklear yang menyebabkan insulinitis sehingga dapat menghambat insulinitis.

Secara taksonomi sambiloto dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Prapazan dan Marianto, 2003 dalam Damayanthi, 2006):

Devisi Angiospermae
 Class Dicotyledoneae
 Ordo Personales
 Familia Acanthaceae
 Genus *Andrographis*
 Spesies *Andrographis paniculata*, Ness

2.6. Tikus Putih Sebagai Bahan Uji Klinis

Tikus merupakan spesies ideal untuk uji toksikologi karena berat badannya dapat mencapai 500 gram. Dengan ukuran itu menjadikan tikus lebih

mudah dipegang, dikendalikan atau diambil darahnya dalam jumlah relatif besar. Organ-organ tikuspun relatif besar sehingga materi dapat diberikan melalui berbagai rute. Reaksi yang ditunjukkan tikus pada umumnya serupa dengan yang terjadi pada mencit, anjing dan kera (Kusumawati, 2004).

Kusumawati (2004) menambahkan, pengambilan darah pada ekor tikus relatif mudah dikerjakan dan membutuhkan sedikit peralatan. Biasanya dilakukan amputasi pada ujung ekor dan darah yang mengalir dapat dikumpulkan dalam jumlah cukup besar. Kerugian utama pengambilan darah dari ekor ini adalah terjadinya pembekuan darah sebelum volume darah yang dibutuhkan tercapai atau bahkan tidak dapat mengalir dari luka. Untuk dapat meningkatkan aliran darah, dianjurkan untuk menghangatkan ekor terlebih dahulu. Tikus memiliki kadar glukosa darah normal 50-135 mg/dl.

Menurut Boolation dan stikes (1991) dalam Wuragil (2006), tikus yang biasa digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian adalah *Rattus norvegicus* strain Wistar yang memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Phylum Chordata
 Kelas Mammalia
 Ordo Rodentia
 Famili Muridae
 Genus Rattus
 Spesies *Rattus norvegicus* strain Wistar

Berdasarkan kegunaan tikus sebagai bahan uji klinis dalam penelitian, membuktikan bahwa sesungguhnya Allah menciptakan kekayaan alam ini diperuntukkan manusia. Semua yang diciptakan Allah mempunyai fungsi dan tujuan. Tidak ada kesia-siaan Allah menjadikan lautan yang terhampar luas yang

memudahkan untuk dilayari dan dipenuhi berbagai jenis ikan yang indah dan segar untuk dinikmati dagingnya. Semua itu diperuntukkan bagi manusia, agar manusia menikmati dan memanfaatkan kekayaan bumi ini dengan penuh tanggung jawab. Sebagaimana Allah Swt. berfirman:


 وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَطْلًا

“Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah” (Qs. al-Shaad [38]: 27).

Berdasarkan ayat di atas, dapat dipahami bahwa Allah menciptakan langit, bumi dan segala yang ada di sekitarnya seperti binatang, tanaman dan makhluk-makhluk tidaklah sia-sia, tetapi dengan hikmah-hikmah yang nyata dan amat berguna bagi manusia apabila manusia selalu memikirkan dan memanfaatkan ciptaan-Nya dengan sebaik-baiknya dan dengan penuh tanggung jawab.

2.7. Aloksan Sebagai Diabetogen

Menurut Suharmiati (2003) pada uji farmakologi atau bioaktivitas pada hewan percobaan, keadaan diabetes mellitus dapat diinduksi dengan cara pankreatomi dan pemberian zat kimia. Zat kimia sebagai induktor (diabetogen) bisa digunakan aloksan, streptozotocin, diaksosida, advenalin, glukagon, EDTA yang diberikan secara parenteral. Diabetogen yang lazim digunakan adalah aloksan karena obat ini cepat menimbulkan hiperglikemi yang permanen dalam waktu dua sampai tiga hari. Aloksan (2,4,5,6,- tetraoxypyrimidin) secara selektif merusak sel beta dari pulau langerhans dalam pankreas yang mensekresikan hormon insulin.

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Efek diabetogennya bersifat antagonis dengan glutathione yang bereaksi dengan gugus Sh-nya. Mekanisme aksi dalam menimbulkan kerusakan yang selektif belum diketahui dengan jelas. Beberapa hipotesis tentang mekanisme aksi yang telah diajukan antara lain: pembentukan *khelat* terhadap Zn, interferensi dengan enzim-enzim sel beta serta deaminasi dan dekarboksilasi asam amino. Kerusakan sel beta pankreas secara selektif oleh aloksan belum banyak diketahui. Penelitian terhadap mekanisme kerja aloksan secara invitro menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria ini mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel (Gutteridge dan Halliwell, 1994 dalam Kumalasari, 2005).

Aloksan menjalankan aksi diabetogeniknya ketika obat ini diberikan secara parenteral, intravena, intraperitoneum dan subkutan. Dosis aloksan yang dibutuhkan untuk menginduksi diabetes tergantung pada jenis spesies, status gizi dan jalur pemberian. Islet pada manusia lebih resisten terhadap aloksan daripada islet tikus. Dosis obat yang paling sering digunakan secara intravena untuk menginduksi diabetes pada tikus adalah dosis 65 mg/kg BB. Jika aloksan diberikan secara intraperitoneal atau subkutan maka dosis yang diberikan 150 mg/kg BB (Katsumata, 1992 dalam Kumalasari, 2005).

Pemberian aloksan dosis tertentu akan menyebabkan kerusakan seluruh sel-sel beta pulau langerhans. Bila terjadi kerusakan seluruh sel beta pankreas

maka akan terjadi diabetes permanen. Untuk menghindari hal tersebut digunakan dosis yang lebih rendah, sehingga hanya merusak sebagian sel beta pankreas pulau langerhans dosis 70 mg/Kg BB (Yuliah, 2001).

Freknel (1994) dan Prabowo (1997) menambahkan bahwa Peningkatan kadar gula darah akibat pemberian aloksan, bekerja langsung pada sel beta pankreas, merangsang terbentuknya H_2O_2 dan merusak lisosom sel dan dapat menyebabkan degenerasi dan reabsorpsi sel pankreas sehingga dapat terjadi defisiensi insulin. Sedangkan sel alpha dan jaringan sinus dari pankreas tidak terjadi perubahan. Menurut Okomoto (1990), Aloksan dapat menghambat aktifitas calmodulin sehingga dapat terjadi hambatan sekresi insulin.

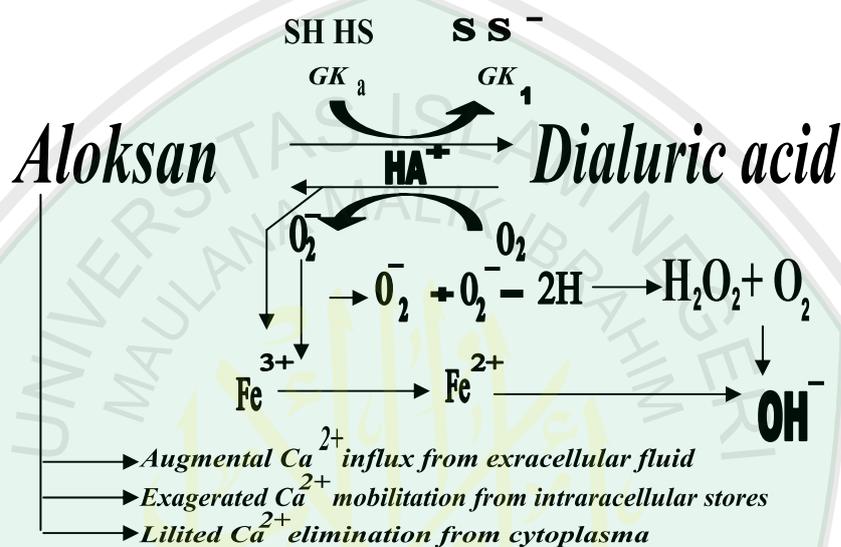
Aloksan dapat menyebabkan pembentukan spesies oksigen reaktif yang berasal dari O_2 , oksigen yang bermanfaat untuk pembentukan ATP juga dapat bersifat toksik sehingga menyebabkan kematian sel, spesies oksigen reaktif yang dihasilkan antara lain: superoksida (O_2^-), radikal bebas hidroksil (OH^\cdot) dan hidrogen peroksida (H_2O_2) (Kumalasari 2005).

Pembentukan spesies oksigen reaktif didahului oleh reduksi aloksan, dalam sel beta pankreas. Reaksi reduksi ini terjadi dengan adanya agen pereduksi yang berbeda, sejak itu aloksan menampakkan afinitas yang tinggi pada senyawa seluler yang mengandung gugus SH (*Sulfilhydri*) yang direduksi oleh glutathion (GSH), sistein dan ikatan protein pada kelompok SH yang sangat mudah terkena reaksinya. Walaupun demikian, senyawa pereduksi yang lain seperti askorbat mungkin berperan serta dalam reduksi ini. Diketahui bahwa senyawa penting yang mengandung gugus SH untuk glukosa merangsang pelepasan insulin adalah

glukokinase yang menjadi sangat rentan terhadap aloksan. Aloksan bereaksi dengan 2 gugus SH yang terdapat pada sisi ikatan gula glukokinase menghasilkan bentuk ikatan disulfide dan enzim yang inaktif. Glukosa bisa melindungi glukokinase menghalangi jalan masuk aloksan pada sisi -SH dari enzim ini. Asam dialurik dibentuk dari hasil reduksi aloksan. Asam dialurik dioksidasi kembali menjadi loksan melalui siklus redoks untuk membentuk radikal superoksida. Reaksi antara aloksan dan asam dialurik merupakan suatu proses dimana radikal aloksan (HA^\cdot) dibentuk ketika aloksan direduksi oleh GSH. Radikal superoksida dapat membebaskan ion ferric dan feritin dan mereduksinya menjadi ion ferro (Fe^{2+}). Fe^{3+} juga bisa dioksidasi oleh radikal aloksan (Szkudelski, 2001 dalam Kumalasari 2005).

Kerusakan sel beta pankreas akibat dari induksi aloksan dikarenakan aloksan merupakan penghasil radikal yang menginduksi kerusakan sel beta melalui pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) selama metabolisme aloksan. Aloksan direduksi menjadi asam dialurik. Spesies oksigen reaktif yang dibentuk selama metabolisme aloksan melalui autooksidasi membentuk asam dialurik menjadi aloksan kembali. Aloksan dan hasil reduksinya (asam dialurik) mengalami siklus redoks dengan membentuk superoksida (O_2^\cdot) yang kemudian superoksida ini dapat mengawali pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) lain seperti hidrogen peroksida (H_2O_2) dan radikal bebas hidroksil (OH^\cdot) melalui reaksi fenton. Spesies oksigen reaktif yang paling berbahaya bagi organ adalah radikal bebas hidroksil (OH^\cdot) karena spesies ini yang paling reaktif menyerang molekul biologis, karena adanya serangan spesies oksigen reaktif yang berasal

dari aloksan inilah maka sel-sel beta pankreas mengalami kerusakan dan berdampak pada penurunan insulin sehingga kadar glukosa dalam darah meningkat (*hiperglikemia*) karena tidak ada yang merubah glukosa menjadi glikogen (Makrs dkk, 2000 dalam Kumalasari 2005).



Gambar 2.3. Mekanisme kerja aloksan (Kumalasari, 2005).

2.8. Metode Pewarnaan Hematoxylen-Eosin

Zat warna mempunyai kemampuan khusus dalam mewarnai jaringan sesuai dengan sifat-sifatnya. Kadang-kadang dua macam zat warna dengan sifat yang sama memberikan kemampuan yang berbeda dalam mewarnai jaringan. Dengan mengenali sifat-sifat setiap bagian dari sel dan juga mengenali setiap macam zat warna akan memberikan hasil yang lebih baik dalam memilih dan menggunakan zat warna. Menurut Suntoro (1983) dalam Kusumowardhani (2005), metode pewarnaan *hematoxylen-eosin* merupakan metode rangkap yang menggunakan 2 macam zat warna yakni zat warna *hematoxylen* dan zat warna

Eosin. Pewarnaan ini umum digunakan untuk mewarnai jaringan yang memerlukan kontras antara sitoplasma dan inti.

Hematoxylen adalah zat warna basa yakni garam dari basa-basa pewarna dengan radikal asam yang tidak berwarna. Selain itu *hematoxylen* merupakan zat warna ajektif yang dapat mewarnai dengan baik apabila diberikan pertolongan suatu mordan (Substansi yang dapat memfiksasi atau mengikat zat warna pada jaringan yang diwarnai). Pada jaringan, *hematoxylen* mewarnai bagian inti sel dengan warna ungu. Sedangkan Eosin adalah zat warna yang bersifat asam sehingga pada sel akan mewarnai sitoplasma merah. Eosin sebagai zat warna golongan xanthene, banyak digunakan sebagai *background stain* atau *counterstain*. *Counterstain* berfungsi untuk memberikan warna yang kontras dengan zat warna yang diberikan terlebih dahulu. Zat warna ini dipakai sebagai pewarna imbang untuk warna *hematoxylen* buatan Erlich atau Mayer (Suntoro, 1983 dalam Kusumowardhani, 2005).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam perlakuan dan empat ulangan. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar) untuk mengetahui efek lama pemberian ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) terhadap kadar gula darah dan gambaran histologi pankreas tikus (*Rattus norvegicus* strain wistar) diabetes hasil paparan Aloksan monohidrat dosis berulang 64 mg/kg bb.

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari sampai Februari 2007 di Laboratorium Biokimia Universitas Muhammadiyah Malang.

3.3. Variabel Penelitian

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

a. Variabel bebas

Variabel bebasnya berupa lama pemberian ekstrak sambiloto.

b. Variabel tergantung

Variabel tergantungnya berupa kadar glukosa darah tikus dan gambaran histologi pankreas tikus

c. Variabel kendali

Variabel kendali berupa jenis tikus, kelamin, umur, berat badan, makanan dan minuman.

3.4. Populasi dan Sampel

Hewan uji yang dipakai adalah tikus putih jenis kelamin jantan. umur 2-3 bulan, dengan berat 195-230 gram.

3.5. Alat dan Bahan

3.5.2. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah kandang hewan coba (bak plastik), tempat minum menci, glukometer (*accu check active*), alat pencekok syringe (jarum gavage), timbangan analitik, kaos tangan, blender, ayakan tepung, mikroskop, spluit insulin, spluit 3 ml, gelas ukur 10 ml, *rotary evaporator*, spektrofotometer, beaker glass 500 ml dan strip glukotest.

3.5.2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus* strain Wistar) jenis kelamin jantan, umur 2-3 bulan dengan berat badan 195-230 gram. Aloksan monohidrat, kapas, NaCl Fisiologis, daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.), aquadest steril, etanol 95%, pakan tikus BR 1, Air PAM, Glukosa Tehnis, formalin 10% dan strip glukotest.

3.6. Prosedur Penelitian

3.6.1. Persiapan hewan coba

Sebelum penelitian dilakukan, diperdiapkan tempat pemeliharaan hewan coba yaitu: kandang (bak plastik), sekam, tempat makan dan minum tikus, pakan tikus. Kemudian dilakukan aklimatisasi di laboratorium selama 1 minggu.

3.6.2. Ekstraksi dan penyiapan bahan uji

Herba sambiloto diperoleh dari perkebunan tanaman obat Dayang Sumbi kecamatan Puri-Mojokerto dan diidentifikasi sebagai *Andrographis paniculata* Ness. Daun sambiloto dikeringkan dengan menggunakan oven, kemudian digiling untuk menghasilkan serbuk.

Pada percobaan ini, serbuk diekstraksi langsung dengan cara perkolasi menggunakan etanol 95 % dan ekstrak yang diperoleh dipekatkan pada tekanan diperendah pada suhu tidak lebih dari 60°C menggunakan alat penguap putar (*Rotary evaporator*). Bahan uji dibuat dengan mensuspensikan ekstrak kental dalam larutan tragakan 1% dalam air (Yulinah, dkk., 2001).

3.6.3. Preparasi Alokсан

Pembuatan larutan Alokсан monohidrat dilakukan sesaat sebelum injeksi, yaitu dengan melarutkan 1,6 mg alokсан dalam 100 ml NaCl fisiologis hingga homogen. Kemudian masing-masing tikus diinjeksi sebanyak 1 ml alokсан secara subkutan.

3.6.4. Perlakuan Tikus Diabetes

Tikus dibagi menjadi 6 kelompok yaitu: (1) Kelompok 1 sebagai kontrol negatif yaitu tikus yang tidak mendapat perlakuan apapun (2) Kelompok 2 sebagai kontrol positif yaitu tikus diabetes yang tidak diberi ekstrak sambiloto; (3) Kelompok 3 yaitu tikus diabetes yang diberi ekstrak etanol daun sambiloto selama 7 hari; (4) Kelompok 4 yaitu tikus diabetes yang diberi ekstrak sambiloto selama 14 hari; (5) Kelompok 5 yaitu tikus diabetes yang diberi ekstrak sambiloto selama 21 hari. ; (6) Kelompok 6 yaitu tikus diabetes yang diberi ekstrak sambiloto selama 28 hari Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus sebagai ulangan. Dosis pemberian ekstrak adalah 2,1 g/kg bb.

3.6.5. Injeksi Aloksan pada Tikus

Injeksi Aloksan monohidrat pada tikus dilakukan secara subkutan. Injeksi secara subkutan dilakukan pada daerah punggung atau leher. Tehnik yang umum adalah dengan memegang lipatan kulit dengan satu tangan sementara jarum dimasukkan di bawah kulit pada dasar lipatannya. Pada bagian tersebut ditusukkan jarum suntik lalu diinjeksi Aloksan monohidrat dengan dosis 64 mg/kg bb perhari selama 10 hari.

3.6.6. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel darah dilakukan dua kali yaitu pada saat sebelum perlakuan ekstrak daun sambiloto dan setelah perlakuan ekstrak daun sambiloto.

Pengukuran kadar glukosa sebelum perlakuan dilakukan dengan menggunakan glukometer dengan prosedur sebagai berikut:

- a. Strip dimasukkan pada glukometer, dipersiapkan untuk mengukur
- b. Tikus diletakkan pada sungkup, ekor tikus dipegang diurut dan diberi alkohol. Kemudian ujung ekor dipotong, darah yang keluar diteteskan pada strip glukotest
- c. Hasil perhitungan kadar glukosa darah yang terbaca pada glukometer dicatat sebagai data.

Pengukuran darah setelah perlakuan pemberian ekstrak daun sambiloto, yaitu dilakukan dengan cara pembedahan terlebih dahulu dan darah diambil dari organ jantung tikus. Pembedahan dilakukan pada hari ke-7, ke-14, ke-21 dan ke-28. Penentuan konsentrasi glukosa darah ditentukan secara enzimatik dengan pereaksi GOD-PAP. Selain itu, juga diambil organ pankreas tikus untuk pengamatan histologi.

3.6.7. Pengukuran Kadar Glukosa darah (GOD-PAP)

Sampel darah diambil dari organ jantung dengan menggunakan spluit 3 ml, kurang lebih 3 ml darah disentrifugasi pada 300 rpm selama 20 menit. Pada 0,02 ml (20 μ l) ditambahkan larutan pereaksi warna (GOD-PAP) sebanyak 1 ml. Kemudian dicampurkan dan diinkubasi pada suhu kamar (25⁰C) selama 20 menit atau 10 menit pada suhu 37⁰C. Setelah diinkubasi, larutan ditambahkan 1 ml NaCl Fisiologis. Kemudian, diukur absorbansinya pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 500 nm.

Perhitungan:

$$\text{Kadar glukosa} = \frac{A_s}{A_{st}} \times \text{kadar Standart}$$

Keterangan : diketahui $A_{\text{standart}} = 0.487$, kadar standart untuk pengenceran 1 kali (1 ml NaCl fisiologis) sama dengan 100 mg/dl (Staff laboratoium biokimia, 2006).

3.6.8. Pembuatan Preparat Pankreas

Tikus kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan hasil terapi ekstrak sambiloto masing-masing dibedah setelah satu hari setelah terapi terakhir yaitu pada hari ke-7, ke-14, ke-21 dan ke-28. Posisi organ pankreas terletak diantara akhir usus 12 jari (duodenum) dan lien dengan warna coklat terang keputihan serta memiliki bentuk seperti rangkaian pulau-pulau kecil.

Langkah-langkah pembuatan preparat adalah sebagai berikut:

1. Tahap pertama adalah *coating*. Dimulai dengan menandai objek glass yang akan digunakan dengan kikir kaca pada area tepi lalu direndam dalam alkohol 70 % minimal semalam. Kemudian objek glass dikeringkan dengan tissue dan dilakukan perendaman dalam larutan gelatin 0,5% selama 30 sampai 40 detik per slide, lalu dikeringkan dengan posisi disandarkan sehingga gelatin yang melapisi kaca dapat merata.
2. Tahap kedua, organ pankreas yang telah disimpan dalam larutan formalin 10% dicuci dengan alkohol selama 2 jam. Dan dilanjutkan dengan pencucian secara bertingkat dengan alkohol yaitu dengan 90%, 95%, etanol absolut (3 kali), xylol (3 kali) masing-masing selama 20 menit.

3. Tahap ketiga adalah proses infiltrasi yaitu dengan menambahkan parafin 3 kali 30 menit.
4. Tahap keempat, *embedding*. Bahan beserta parafin dituangkan ke dalam kotak karton atau wadah yang telah dipersiapkan dan diatur sehingga tidak ada udara yang terperangkap di dekat bahan. Blok parafin dibiarkan semalam dalam suhu ruang kemudian diinkubasi dalam freezer sehingga blok benar-benar keras.
5. Tahap pemotongan dengan mikrotom. *Cutter* dipanaskan dan ditempelkan pada dasar blok sehingga parafin sedikit meleleh. *Holder* dijepitkan pada mikrotom putar dan ditata sejajar dengan mata pisau mikrotom. Pengirisan atau penyayatan diawali dengan mengatur ketebalan irisan. Untuk pankreas dipotong dengan ukuran 5 μ m. Kemudian pita hasil irisan diambil dengan menggunakan kuas dan dimasukkan air dingin untuk membuka lipatan lalu dimasukkan air hangat dan dilakukan pemilihan irisan yang terbaik. Irisan yang dipilih diambil dengan gelas objek yang sudah dicoating lalu dikeringkan di atas *hot plate*.
6. Tahap deparafisasi yakni preparat dimasukkan dalam *xilol* sebanyak dua kali lima menit.
7. Tahap rehidrasi, preparat dimasukkan dalam larutan etanol bertingkat mulai dari etanol absolut (2 kali), etanol 95%, 90% 80% dan 70% masing-masing selama lima menit. Kemudian preparat direndam dalam aquades selama 10 menit

8. Tahap pewarnaan. Preparat ditetesi dengan hematoxilen selama tiga menit atau sampai didapatkan hasil warna yang terbaik. Selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 30 menit dan dibilas dengan aquadest selama lima menit. Setelah itu preparat dimasukkan dalam pewarnaan eosin alkohol selama 30 menit dan dibilas dengan aquadest selama lima menit.
9. Tahap berikutnya adalah dehidrasi dengan memasukkan preparat pada seri ethanol bertingkat dari 80%, 90% dan 95% hingga ethanol absolut (2 kali).
10. Tahap *clearing* dilakukan dengan memasukkan preparat pada xylol dua kali selama lima menit dan dikeringkan.
11. Selanjutnya dilakukan mounting dengan *entellan*. Hasil diamati di bawah mikroskop dan dipotret kemudian dicatat data skor kerusakan eslet pankreas.

3.7. Analisis Data

Data hasil pemeriksaan kadar glukosa darah yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji statistik anakova (Analysis of Covariance) dalam RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan data pengukuran sebelum perlakuan sebagai variabel kovariat atau konkomitan. Apabila diperoleh $T_{hitung} > T_{tabel}$, hal ini menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara perlakuan dan kontrol. Maka untuk mengetahui perbedaan tersebut, dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan (UJD) dengan parameter $\alpha = 0,05$ derajat kepercayaan 95%.

Untuk mengetahui derajat insulinitis dilakukan melalui perhitungan tingkat kerusakan pulau langerhans pada lima luas bidang pandang untuk tiap kelompok

perlakuan. Nilai skor=0, jika tidak terdapat kerusakan. Nilai skor=1 jika terdapat $\frac{1}{8}$ kerusakan, nilai skor=2 untuk $\frac{2}{8}$ kerusakan, nilai skor=3 untuk kerusakan $\frac{3}{8}$ dari islet, nilai skor = 4 untuk kerusakan $\frac{1}{2}$ dari islet, nilai skor = 5 untuk kerusakan $\frac{5}{8}$, nilai skor 6 untuk kerusakan $\frac{1}{3}$ islet, skor 7 untuk kerusakan $\frac{7}{8}$ islet dan skor 8 untuk kerusakan lebih dari $\frac{7}{8}$ islet. Kemudian data skor tingkat kerusakan islet pankreas dianalisis secara non-parametrik dengan uji *chi-square K-independent sample* pada derajat 95%.



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Data perubahan kadar glukosa darah pada tikus diabetes sebelum dan sesudah perlakuan lama pemberian ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kgbb disajikan pada Tabel 4.1.

Table 4.1 Kadar glukosa darah (mg/dl) tikus diabetes sebelum dan sesudah perlakuan lama pemberian ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kgbb

Perlakuan	Ulangan								Rerata (mg/dl)	
	1		2		3		4			
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y
K -	150	105.1	173	168	112	92.1	138	122	143.25	121.75
K+	345	302.2	444	452	359	332	308	336	364.5	355.5
I	315	173.1	339	191.2	303	173.1	325	196.1	320.5	183.375
II	450	159.1	407	153.1	377	180.2	417	154.1	412.75	161.625
III	433	147.2	396	144	402	144.2	579	198.1	452.5	158.375
IV	487	120.1	488	122	486	118.2	485	116.4	486.5	119.325
Total									2189	1099.95

Keterangan:

K- : Kelompok Kontrol negative, tikus normal tanpa perlakuan

K+ : Kelompok Kontrol positif, tikus diabetes tanpa perlakuan ekstrak daun sambiloto

I : Kelompok tikus diabetes dengan pemberian 2,1 g/kg bb selama 7 hari

II : Kelompok tikus diabetes dengan pemberian 2,1 g/kg bb selama 14 hari

III : Kelompok tikus diabetes dengan pemberian 2,1 g/kg bb selama 21 hari

IV : Kelompok tikus diabetes dengan pemberian 2,1 g/kg bb selama 28 hari

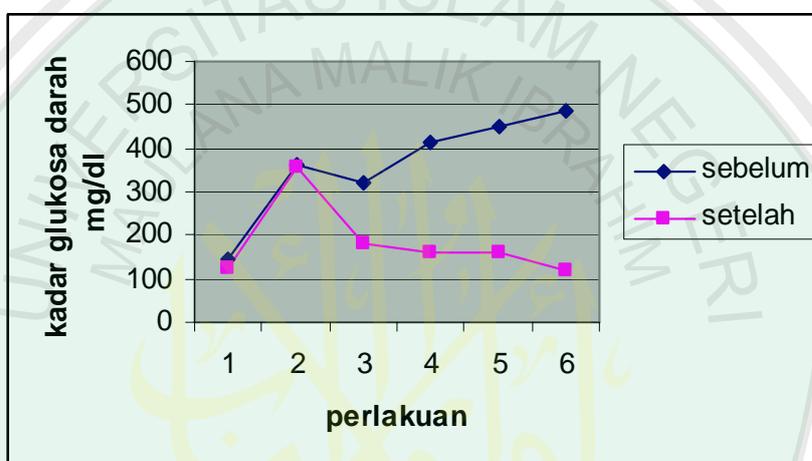
X : Data sebelum perlakuan

Y : Data setelah perlakuan

Berdasarkan data di atas dapat diketahui bahwa kisaran kadar glukosa darah tikus diabetes sebelum perlakuan adalah 308 mg/dl sampai dengan 579

g/dl. Setelah perlakuan ekstrak daun sambiloto selama 7 hari (pada perlakuan I), kadar glukosa darah tikus diabetes mengalami penurunan berkisar antara 180,1 mg/dl sampai dengan 182 mg/dl. Sedangkan pada kontrol positif kadar glukosa darah mencit relatif tetap pada kisaran di atas 300 mg/dl.

Rerata kadar glukosa darah tikus diabetes sebelum dan sesudah perlakuan sebagaimana pada gambar grafik di bawah ini:



Gambar 4.1. Nilai rerata kadar glukosa darah sebelum dan sesudah perlakuan ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kgbb perhari

Data yang diperoleh kemudian diuji dengan menggunakan analisis kovarian dengan dengan taraf signifikansi 5%. Hasil analisis kovarian yang dilakukan adalah untuk mengoreksi atau membandingkan kadar glukosa darah sebelum dan sesudah perlakuan lama pemberian ekstrak daun sambiloto. Berdasarkan hasil ankova dengan taraf signifikansi 5 % menunjukkan bahwa lama pemberian ekstrak daun sambiloto memberikan hasil yang signifikan dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes dengan kadar dosis perhari 2,1 g/kgbb. Hasil ringkasan hasil perhitungan ankova disajikan pada Tabel 4.2.

Table 4.2 Ringkasan ankova Pengaruh lama pemberian ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2.1 g/kgbb terhadap kadar glukosa darah tikus diabetes

SK	Db	JK	KT	F hit	F(5%)(5,17)
Perlakuan	5	161410,9	32282,19	54,11246	2,83
Galat	17	10141,79	596,5758		
Total	22	171552,7			

Berdasarkan Tabel 4.2. dapat diketahui bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ pada taraf signifikansi 5%, dengan demikian hipotesis H_0 ditolak dan H_1 diterima sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan nyata pengaruh lama pemberian ekstrak daun sambiloto terhadap kadar glukosa darah tikus diabetes yang diinduksi aloksan monohidrat. Pada uji efisiensi relatif (Lampiran 5) dihasilkan $ER > 1$, maka analisis peragam (dengan ankova) lebih efisien atau derajat ketelitiannya meningkat, sehingga analisis peragam secara relatif lebih teliti daripada analisis ragam (anova).

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap-tiap perlakuan maka dilakukan uji lanjut yaitu UJD (Uji Jarak Duncan) pada taraf signifikansi 5%, yang disajikan pada lampiran 5. Tabel 4.3 di bawah ini adalah ringkasan uji jarak duncan (UJD) 5% dari penurunan kadar glukosa darah tikus diabetes yang diterapi

Tabel 4.3 Ringkasan uji jarak duncan (UJD) 5% dari penurunan kadar glukosa darah tikus diabetes yang diterapi ekstrak daun Sambiloto dengan dosis 2,1 g/kg bb

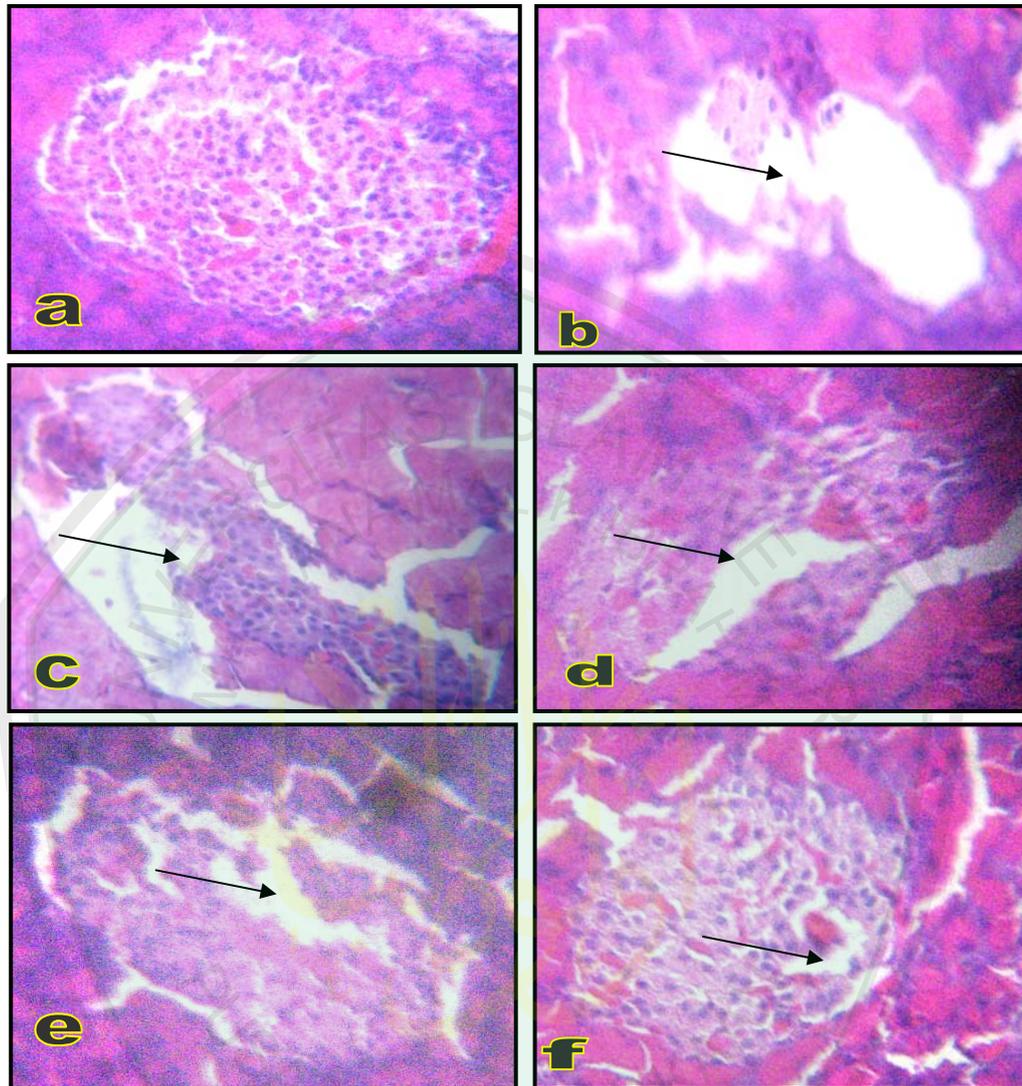
Perlakuan	Rerata Terkoreksi	Notasi
K +	355,306	a
K -	193,325	b
I	169,481	bc
II	145,537	cd
III	129,450	de
IV	79,35	f

Berdasarkan hasil Uji Jarak Duncan (UJD) 5% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada penurunan kadar glukosa darah tikus diabetes yang diinduksi aloksan kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan.

Berdasarkan hasil notasi yang didapat, bahwa perlakuan IV (lama pemberian 28 hari) menunjukkan hasil yang paling berbeda dengan kontrol positif. Hal ini berarti bahwa perlakuan IV yang menunjukkan hasil yang paling berpengaruh. Sehingga dapat disimpulkan bahwa lama pemberian ekstrak daun sambiloto dengan lama pemberian 28 hari memberikan efek yang paling besar dalam penurunan glukosa darah tikus diabetes.

Pada penelitian ini, pengukuran kadar glukosa darah sebelum perlakuan dengan menggunakan strip glukotest. Sampel darah diambil dengan memotong ekor hewan coba. Pengukuran kadar glukosa darah setelah perlakuan dengan menggunakan metode GOD-PAD. Sampel darah diambil dari jantung hewan coba dengan melakukan pembedahan terlebih dahulu. Pembedahan dilakukan pada hari ke-8, ke 15, ke-22, ke 29 paska terapi.

Pada penelitian ini diamati pula histologi pankreas hewan coba yang diambil pada hari ke-8, ke-15, ke-22 dan 29 paska terapi. Preparat histologi dibuat dengan metode blok paraffin dengan pewarnaan *Hematoxylen-Eosin* disajikan pada Gambar 4.2



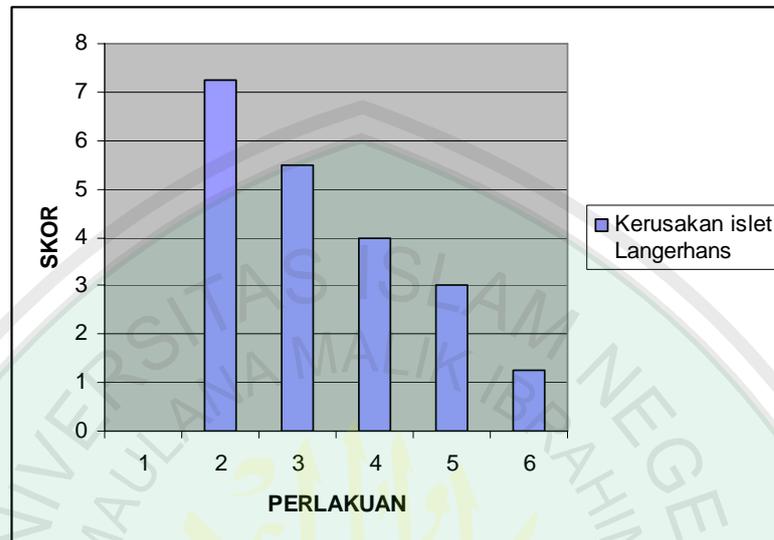
Gambar 4.2 Hasil Foto preparat dengan perbesaran 400 kali; (a) Kontrol negatif (tikus normal); (b) Kontrol Positif (tikus diabetes); (c) Perlakuan I (terapi 7 hari); (d) Perlakuan II (terapi 14 hari); (e) Perlakuan III (terapi 21 hari);(f) Perlakuan IV (terapi 28 hari). Keterangan gambar selengkapnya ada di dalam teks.

Tanda panah yang terdapat pada Gambar 4.2 yaitu pada Gambar (a), (b), (c), (d) dan (f) menunjukkan nekrosis atau kerusakan sel yang ditandai dengan adanya ruang kosong pada islet langerhans. Pada Gambar (a) nampak tidak ada atau tidak terjadi nekrosis dan terlihat inti sel (warna ungu pada islet) sangat padat serta tidak terdapat sel-sel yang mengalami edema (pembengkakan), sehingga

mengindikasikan bahwa islet langerhans dalam keadaan normal (tidak terjadi kerusakan). Pada Gambar (b) nampak terjadi nekrosis yang relatif parah yang ditunjukkan dengan luas ruang kosong islet hingga mencapai 7/8 islet atau sebesar 90% dari islet, selain itu juga terlihat adanya sel yang mengalami edema. Edema adalah kumpulan masa cair (pembengkakan) inti sel yang merupakan fase sebelum terjadinya nekrosis. Hal ini yang mengindikasikan bahwa tikus mengalami gangguan sekresi insulin yang mengarah pada gangguan homeostasis glukosa darah akibat kerusakan sel-sel pankreas sehingga tikus mengidap penyakit yang disebut diabetes. Pada Gambar (c), (d) dan (e) nampak terjadi nekrosis tetapi persentase luas areanya relatif berkurang dan lebih sempit dari pada Gambar (b) dan terlihat adanya perbaikan jaringan yang ditandai dengan adanya penambahan jumlah inti sel islet langerhans. Sedangkan pada Gambar (f), nekrosis yang terjadi relatif tidak ada dan luas areanya hanya sekitar 10% dari islet langerhans, selain itu juga terlihat inti sel yang mulai memadat dan semakin berkurangnya sel yang mengalami edema.

Berdasarkan Gambar 4.2 ditentukan derajat insulitis melalui hitungan tingkat kerusakan pulau, kemudian dianalisis secara nonparametrik yaitu dengan uji *K-independen sample (Kruskal-wallis)* pada $\alpha = 0,05$. Analisis ini bertujuan untuk menentukan keputusan tingkat kondisi kerusakan pankreas yang dihubungkan dengan kemampuan menurunkan kadar glukosa darah oleh sambiloto. Berdasarkan analisis tersebut dapat diketahui bahwa ada perbedaan nyata antar perlakuan ($p > 0,05$) sebagaimana disajikan pada lampiran 5. Pada

Gambar 4.3 di bawah ini adalah diagram batang rata-rata kejadian kerusakan pulau langerhans pankreas pada hewan coba.



Gambar 4.3 Diagram batang rata-rata kejadian kerusakan pulau langerhans pankreas pada hewan coba

Keterangan:

- 0 : Tidak ada kerusakan pada pulau langerhans
- 1 : kerusakan 1/8 pulau langerhans
- 2 : kerusakan 1/4 pulau langerhans
- 3 : kerusakan 3/8 pulau langerhans
- 4 : kerusakan 1/2 pulau langerhans
- 5 : kerusakan 5/8 pulau langerhans
- 6 : kerusakan 3/4 pulau langerhans
- 7 : kerusakan 7/8 pulau langerhans
- 8 : kerusakan lebih dari 7/8 pulau langerhans

Berdasarkan hasil pengamatan histologi pankreas tikus perlakuan (pada Gambar 4.2) menunjukkan bahwa pada tikus normal (kontrol negatif), kondisi islet langerhans dalam keadaan yang relatif baik dengan ditandai tidak ditemukannya ruang-ruang kosong pada islet langerhans. Sedangkan pada diagram batang (Gambar 4.3) menunjukkan nilai reratanya adalah nol, karena pada setiap ulangan memiliki skor nol.

Pada tikus diabetes (kontrol positif) menunjukkan adanya ruang-ruang kosong pada islet langerhans. Hal ini mengindikasikan bahwa aloksan monohidrat mampu merusak sel-sel pada islet langerhans termasuk sel beta pankreas sebagai penghasil insulin. Rusaknya sel beta pancreas dapat mengakibatkan terjadi defisiensi insulin yang mengarah pada terjadinya penyakit diabetes. Berdasarkan hasil rerata skornya menunjukkan nilai 7,25. Artinya, sebagian besar pada masing-masing ulangan menunjukkan skor kerusakan islet langerhans berkisar 7-8.

Berdasarkan Gambar 4.3, pada perlakuan lama pemberian 7 hari, 14 hari, 21hari dan 28 hari (I, II, III dan IV) menunjukkan adanya perbaikan pada sel pada islet langerhans meskipun masih belum kembali ke bentuk yang normal. Berdasarkan hasil rerata skornya pada tiap perlakuan menunjukkan ada kenaikan perbaikan yang ditunjukkan dengan semakin berkurangnya nilai skor pada masing-masing perlakuan. Pada perlakuan I (7 hari) rerata skornya adalah 5,5, pada perlakuan II (14 hari) rerata skornya adalah 4, Perlakuan III (21 hari) adalah 4 dan perlakuan I (28 hari) adalah 1,25.

4.2. Pembahasan

Menurut Daud (2007), agama adalah metabolit primer yang dijadikan sebagai penerang akal untuk memproduksi sains dan pengetahuan (metabolit sekunder) sehingga nilai perpaduan antara ayat-ayat qauliyah dan kauniyah harus ada dalam kehidupan ini.

Allah telah menciptakan berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang bermanfaat bagi kehidupan manusia. Terbukti diciptakannya tumbuhan sambiloto

yang banyak memiliki manfaat bagi kesehatan yaitu sebagai bahan terapi herbal berbagai macam penyakit. Salah satunya adalah sebagai antidiabetik sebagaimana dijelaskan dalam al-Qur'an surat al-Syuarâ [26] ayat 7.

Penelitian ini, ingin mempelajari tentang penggunaan sambiloto sebagai bahan uji dengan variasi lama terapi dalam upaya mendapatkan penyembuhan yang maksimal, karena setiap penyakit pasti ada obatnya dan penyakit akan sembuh jika telah ditemukan pengobatan yang tepat sebagaimana rasulullah Saw. bersabda "*Setiap penyakit itu ada obatnya. Apabila obat suatu penyakit telah tepat sembuhlah ia dengan ijin Allah*".

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar, berumur 3-4 bulan. Peneliti memilih tikus karena menurut Kusumowardani (2004) tikus merupakan spesies ideal untuk uji toksikologi karena berat badannya dapat mencapai 500 gram. Dengan ukuran itu menjadikan tikus lebih mudah dipegang. Dikendalikan atau diambil darahnya dalam jumlah relatif besar. Organ-organ tikuspun relatif besar sehingga materi dapat diberikan melalui berbagai rute. Reaksi yang ditunjukkan tikus pada umumnya serupa dengan yang terjadi pada mencit, anjing dan kera. Pengambilan darah pada ekor tikus relatif mudah dikerjakan dan membutuhkan sedikit peralatan.

Kondisi diabetes pada hewan coba didapat dengan menginjeksi tikus dengan aloksan monohidrat. Injeksi aloksan diberikan secara subkutan dengan dosis rendah berulang 64 mg/kg bb. Kondisi diabetes pada tikus ditentukan dengan mengukur kadar glukosa darah menggunakan glukometer. Tikus dikatakan

diabetes jika kadar glukosa lebih dari 300 mg/dl (Nurdiana, 1998). Pada penelitian ini selain glukometer digunakan pula urin-glukotest sebagai indikator terjadinya diabetes pada hewan coba. Hewan coba yang telah mencapai kondisi diabetes adalah jika didapat warna coklat pada strip urin-glukotest. Warna coklat dibandingkan dengan melihat skala warna setara dengan kadar glukosa urin diatas 1000 mg/dl atau 55 mmol. Hewan coba yang diperlakukan adalah yang telah mencapai kondisi patologis diabetes dengan kadar glukosa darah diatas 300 mg/dl.

Pemberian aloksan dosis tertentu akan menyebabkan kerusakan seluruh sel-sel beta pulau langerhans. Bila terjadi kerusakan seluruh sel beta pankreas maka akan terjadi diabetes permanen. Untuk menghindari hal tersebut digunakan dosis yang lebih rendah, sehingga hanya merusak sebagian sel beta pankreas pulau langerhans dosis 70 mg/kg bb (Yuliah, 2001).

Diabetes mellitus diindikasikan dengan tingginya kadar glukosa dalam darah. Pengaturan kadar glukosa dalam darah berkaitan erat dengan jumlah insulin dan seinsitifitas reseptor insulin. Rendahnya produksi insulin mengakibatkan terganggunya keseimbangan kadar glukosa dalam tubuh. Insulin meningkatkan penyimpanan lemak maupun glukosa sebagai sumber energi di dalam sel target serta mempengaruhi pertumbuhan sel dan fungsi metabolisme berbagai jenis jaringan (Katzung, 1995).

Freknel (1994) dan Prabowo (1997) menambahkan bahwa peningkatan kadar gula darah akibat pemberian aloksan, bekerja langsung pada sel beta pankreas, merangsang terbentuknya H_2O_2 dan merusak lisosom sel dan dapat menyebabkan degenerasi dan resorpsi sel pankreas sehingga dapat terjadi

defisiensi insulin Sedangkan sel alpha dan jaringan sinus dari pankreas tidak terjadi perubahan. Selain itu menurut Okomoto (1990), aloksan dapat menghambat aktifitas calmodulin sehingga dapat terjadi hambatan sekresi insulin.

Pada penelitian ini, penentuan lama terapi berdasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Winarno dan Sundari (2003) untuk mengetahui gambaran histologi kelenjar pancreas akibat infus daging buah pare (*Momordica charantica* L.) pada tikus putih. Selain itu menurut Nio (2007) bahwa tikus laboratorium dalam keadaan sehat dapat hidup 2-3 tahun. Satu minggu umur tikus ekuivalen dengan 30 minggu umur manusia, sehingga penentuan 28 hari atau 4 minggu tikus untuk terapi herba sama dengan 120 minggu atau 30 bulan pada manusia.

Metode ekstrak yang digunakan adalah dengan cara perkolasi. Hal ini selain merujuk pada penelitian Yuliah (2001) juga berdasarkan pada efektifitas ekstraksi. Menurut Anonymous (1986), Perkolasi adalah cara penyaringan yang dilakukan dengan mengalirkan cairan melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsipnya serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinder yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cara perkolasi lebih baik dibandingkan cara maserasi karena aliran cairan penyari menyebabkan pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi dan ruangan di antara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran kapiler kecil sehingga kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas yang akibatnya dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi.

Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus sebelum terapi ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kg bb sebagaimana yang disajikan pada tabel 4.1. menunjukkan bahwa kadar glukosa normal (kontrol negatif) adalah berkisar 168-112 mg/dl atau rata-rata 143,700 mg/dl sebagaimana Kusumowardhani (2004) menyatakan bahwa kadar glukosa normal tikus adalah 62,800-176 mg/dl. Sedangkan menurut Nurdiana, dkk (1998), kadar glukosa darah tikus diabetes adalah diatas 300 mg/dl. Pada tikus yang diinduksi aloksan monohidrat (kontrol positif, I, II, III dan IV), memiliki rerata kadar glukosa darah sebelum perlakuan sebesar 353,350 mg/dl. Meningkatnya kadar glukosa darah ini disebabkan karena pemberian aloksan monohidrat yang menyebabkan nekrosis sel beta pankreas sehingga insulin yang dihasilkan kelenjar pankreas menurun. Akibatnya, terjadi gangguan homeostasis glukosa dalam tubuh.

Pada penelitian ini, pengukuran kadar glukosa darah sebelum perlakuan dilakukan dengan mengambil sampel darah dari ekor tikus dan kemudian diukur kadar glukosanya dengan menggunakan strip glukotest. Pengukuran kadar glukosa setelah perlakuan dengan mengambil sampel darah dari jantung tikus. Pengambilan darah jantung dengan melakukan pembedahan pada tikus kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah dengan metode GOD-PAP. Pembedahan dilakukan pada hari ke-8, ke 15, ke-22 dan ke 29. Sampel darah sebanyak 3 ml dirotari selama 20 menit kemudian diambil serumnya sebanyak 0,02 ml, kemudian dicampur dengan reagen sebanyak 1 ml, dan didiamkan pada suhu kamar (25⁰C) selama 20 menit atau 10 menit pada suhu 37⁰C. Lalu, dilakukan pengenceran dengan NaCl fisiologis diukur absorbansinya pada

spektrofotometer dengan λ 500 nm dengan larutan blako sebagai titik nol. Hasil adsorbansi dengan spektrofotometer dapat dilihat pada lampiran 5.

Kadar glukosa darah tikus diabetes pada kelompok perlakuan lama pemberian selama 7 hari (I) ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kg bb mengalami penurunan sebesar 13,070% (dari 320,500 mg/dl menjadi 183,375 mg/dl). Pada perlakuan lama pemberian 14 hari (II) mengalami penurunan sebesar 23,930%(dari 320,500 mg/dl menjadi 183,375 mg/dl), lama pemberian 21 hari (III) mengalami penurunan sebesar 28,020 % (dari 452,500 mg/dl menjadi 158,375 mg/dl), sedangkan pada pemberian 28 hari (IV) mengalami penurunan sebesar 34,980 % (dari 486,500 mg/dl menjadi 119,325 mg/dl).

Berdasarkan perhitungan anкова menunjukkan terdapat pengaruh yang nyata lama pemberian ekstrak daun sambiloto terhadap kadar glukosa darah tikus diabetes yang diinduksi aloksan monohidrat dengan dosis berulang 64 mg/Kg BB. Sedangkan hasil uji lanjut UJD 5% dapat dilihat pada lampiran 5 menunjukkan bahwa keempat lama pemberian perlakuan ekstrak daun sambiloto menunjukkan perbedaan nyata dari rerata terkoreksi dari tiap perlakuan.

Berdasarkan hasil notasi yang didapat, bahwa perlakuan IV (lama pemberian 28 hari) menunjukkan hasil yang paling berbeda dengan kontrol positif. Hal ini berarti bahwa perlakuan IV yang menunjukkan hasil yang paling berpengaruh. Sehingga dapat disimpulkan bahwa lama pemberian ekstrak daun sambiloto dengan lama pemberian 28 hari memberikan efek yang paling besar dalam penurunan glukosa darah tikus diabetes.

Pengamatan histologi jaringan pankreas dilakukan dengan blok parafin menggunakan metode pewarnaan *hematoxylen-eosin* (HE). Pengamatan sel melalui pewarnaan HE dapat diketahui bagian eksokrin (kelenjar asini) dan bagian endokrin (islet langerhans) dari pankreas. Namun, kondisi sel-sel pankreas dalam islet tidak dapat dibedakan. Pulau langerhans di kelenjar pankreas merupakan kumpulan sel ovoid yang tersebar di seluruh pankreas. Di dalam pulau tersebut terdapat beberapa jenis sel berdasarkan sifat pewarnaan dan morfologinya. Dengan pulasan khusus diketahui ada 3 jenis sel endokrin yaitu sel alpha (20%) yang berisi granul tidak larut alkohol, sel beta granul larut dalam air (75%) dan sel terbesar yaitu sel delta (5%) tetapi granul yang kurang padat dibandingkan sel alpha. Sel beta umumnya lebih banyak dan terletak di tengah, sedangkan sel alpha serta sel delta yang jumlahnya lebih sedikit dan terletak di perifer serta beberapa sel C (Leeson dkk.,1996).

Sel-sel beta di dalam pulau Langerhans dengan tehnik pewarnaan *hematoksilin eosin* (HE) sulit dibedakan dengan sel-sel lain. Junqueira, LC dan J Carneiro (1992), menyatakan untuk melihat sel-sel beta sebaiknya dengan pewarnaan *victoria-blue*. Dengan pewarnaan tersebut sitoplasma mempunyai granula yang seragam berwarna biru, sedang sel-sel alfa, sitoplasmanya terlihat granula-granula yang tidak seragam berwarna kemerahan.

Kondisi islet pankreas dari keenam perlakuan dalam penelitian ini ditunjukkan pada gambar 4.2 dan rerata perubahan kondisi islet pankreas dapat dilihat pada gambar 4.3. Pulau langerhans pankreas pada tikus normal terlihat terisi penuh oleh sel endokrin yang tersebar di area pulau. Pada Kelompok kontrol

positif yaitu tikus diabetes yang diinduksi aloksan monohidrat terlihat nampak terjadi nekrosis terbukti dengan adanya ruang-ruang kosong pada islet langerhans. Menurut Nurdiana (1998) bahwa ruang-ruang kosong pada islet langerhans disebabkan karena nekrosis dari sel beta. Penurunan jumlah sel beta pankreas tersebut menunjukkan adanya gangguan metabolisme insulin pada pankreas menyebabkan penghancuran selektif sel beta (apoptosis) dan mengakibatkan penurunan volume sel beta dalam pulau langerhans.

Menurut Wang (2000), kondisi insulinitis akibat penyusupan sel inflamator (limfosit mononuklear) oleh antigen sel beta, makrofag, sel T-helper, sel T-*cytotoxic* (CTL) dan sel inflamator semacamnya, berkaitan dengan serangan diabetes mellitus, sedangkan oksigen radikal bebas atau sitokin dari penyusupan limfosit bertanggung jawab untuk membinasakan sel beta sehingga muncul kondisi kerusakan selular yang jelas (Yu, dkk., 2004). Selain itu, kondisi tersebut juga menunjukkan terjadinya defisiensi insulin berat pada kasus diabetes yang berakibat pada terjadinya peningkatan sekresi hormon kontra insulin (stress hormon) seperti glukagon, somatostatin oleh sel beta delta dan katekolamin.

Peninjauan selanjutnya dilakukan pada tikus yang diberi terapi ekstrak daun sambiloto dan diketahui menunjukkan adanya pemulihan kondisi kerusakan pulau langerhans yang terlihat dengan semakin berkurangnya luas area kosong (Lumen) dan peningkatan jumlah sel beta di dalam pulau langerhans (Gambar 4.3). hal ini dapat dikaitkan dengan kemampuan sambiloto sebagai antiinflamasi atau anti radang dan antioksidan sehingga mampu memperbaiki kondisi radang, menghambat infiltrasi serta kemudian menetralkan oksigen radikal bebas atau

sitokin yang membinasakan sel beta. Kajian lebih lanjut untuk mendukung asumsi tersebut dilakukan dengan penentuan derajat insulitis untuk mengetahui tingkat kerusakan pulau pankreas pada suatu individu sebagai indikator tingkat serangan diabetes.

Penentuan derajat insulitis dilakukan melalui penghitungan jumlah pulau langerhans yang mengalami kerusakan dengan tingkat tertentu perluas bidang pandang dari 5 seri pemotongan untuk setiap kelompok perlakuan. Penghitungan dilakukan dalam batasan skor sehingga dapat ditentukan keseragaman persepsi mengenai tingkat kerusakan pulau.

Berdasarkan hasil penelitian dapat diketahui bahwa dengan perlakuan lama pemberian ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kg bb pada tikus diabetes nilai kadar glukosa darah dapat kembali normal. Pada pengamatan histologi kerusakan islet pankreas dengan analisis nonparametrik uji *chi-square k independent sample* ($\alpha = 0,05$) dari tingkat kerusakan islet pankreas kelompok tikus perlakuan (K+, I, II, III, dan IV) dapat diketahui bahwa ada perbedaan.

Pemberian ekstrak daun sambiloto dengan lama terapi 7 hari, 14 Hari, 21 hari dan 28 hari (I, II III dan IV) terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah. Pada treatment pemberian selama 28 hari sambiloto 2,1 g/kg bb telah mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga mencapai nilai normal yaitu dari rerata glukosa darah 364,830 mg/dl hingga pada nilai 119,500 mg/dl.

Pada pengamatan kerusakan islet pankreas, score tingkat kerusakan pada perlakuan kontrol positif rata-rata 7,25 sedangkan rerata score tingkat kerusakan islet pankreas pada kelompok perlakuan (I, II, III dan IV) adalah 1,25. Sehingga

dapat diambil kesimpulan bahwa terdapat hubungan antara perbaikan islet pankreas dengan kembali normalnya kadar glukosa. Hal ini tidak lepas dari peran insulin dalam menjaga homeostasis glukosa darah sebagaimana Iwahasi (1998) menyatakan bahwa apabila terjadi kerusakan pada sel beta pankreas maka akan terjadi gangguan homeostasis kadar glukosa dalam darah.

Berdasarkan hasil analisis data *Kruskal-Wallis* pada lampiran 5 menunjukkan bahwa ada perbedaan nyata perubahan islet pankreas pada masing-masing perlakuan, meskipun islet pankreas belum bisa kembali pada keadaan normal. Perbaikan islet pankreas ini mampu mengatasi kondisi hiperglikemia pada hewan coba terbukti dengan adanya perubahan atau penurunan kadar glukosa darah tikus pada masing-masing perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kg bb memiliki potensi efek farmologis yang baik.

Berdasarkan hasil penelitian ini, pemberian ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kgbb selama 28 hari pada tikus dapat dijadikan dasar pengobatan penyakit diabetes pada manusia. Menurut Nio (2007) bahwa satu minggu umur tikus ekuivalen dengan 30 minggu umur manusia, sehingga penentuan 28 hari atau 4 minggu tikus untuk terapi herba sama dengan 120 minggu atau 30 bulan pada manusia. Berdasarkan hal tersebut, pada manusia membutuhkan lama terapi minimal 30 bulan terapi sambiloto dosis 2,1g/kg bb dalam pengobatan diabetes untuk mengembalikan islet pankreas pada bentuk normal sehingga kadar glukosa dapat mencapai normal.

Menurut Praparanza dan Marianto (2003) dalam Damayanthi (2006), Sambiloto merupakan salah satu tanaman obat unggulan selain pegangan, temulawak, tempuyung, mengkudu daun jinten dan pasak bumi yang digunakan sebagai bahan terapi berbagai penyakit. Kandungan bahan aktif pada tanaman ini diantaranya Andrographolide, alkaline, keton, aldehid, damar, minyak atsiri, laktone dan flavonoid yang memiliki berbagai efek farmologis. Sambiloto sudah dikenal sebagai antidiabetik, namun belum diketahui dosis dan lama terapi untuk penyembuhan yang maksimal.

Kandungan *andrographolide* dalam tanaman ini banyak terdapat pada batang dan daun memberikan rasa pahit. Efek farmologis yang ditimbulkan bahan ini adalah sebagai antiradang (anti inflamasi), antiinfeksi, merangsang daya tahan sel, antibakteri, pengambat reaksi imunitas, penghilang rasa nyeri, antihistamin, serta menurunkan kadar glukosa darah. Sambiloto juga terkenal dalam pengobatan penyakit hati, berdasarkan penelitian yang dilakukan aktivitas andrographolide dapat menghasilkan diterpen laktone yang menghambat aktivitas karbon tetraklorida sebagai pemicu penyakit hati (Sigh, 2000 dalam Wuragil, 2006).

Selain adanya kandungan *Andrographolide* sebagai bahan aktif dalam daun sambiloto yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah dan antiinflamasi, terdapat pula antioksidan yang dapat menekan radikal bebas. Kusumowadhani (2005), menyebutkan bahan kimia yang mengandung antioksidan dan dapat menurunkan radikal bebas dapat melindungi islet langerans melawan efek sitotoksik. Kandungan antioksidan dalam tanaman ini menghambat terbentuknya *Reactive Oxygen Spesies (ROS)* yang mengandung sitokin dalam

meningkatkan apoptosis sel. Menurut Arjita (2002), adanya kaitan antara diabetes dengan glukosa tinggi yang menjadi katalis terbentuknya lipid peroksidase dan *Advanced Glycation End Product (AGEs)* yang menyebabkan timbulnya radikal bebas. Terhambatnya pembentukan *AGEs* dan pengurangan produksi *ROS* berkaitan dengan kemampuan antioksidan dalam menghambat migrasi insulin yang difasilitasi oleh neutrofil, hal tersebut merupakan awal terjadinya peradangan. Efek farmologis lain yang dihasilkan tanaman ini berkaitan dengan daya immunosupresi yaitu penekanan reaksi imun. Akibat infiltrasi sel mononuklear yang menyebabkan insulinitis. Dengan demikian dapat menghambat insulinitis sehingga insulin oleh sel beta pankreas tidak terganggu.

Pemberian ekstrak daun sambiloto ke dalam tubuh tikus yang menderita IDDM mengakibatkan munculnya serangkaian proses sebagai suatu perwujudan kerjasama yang sinergis diantara komponen-komponen farmologis yang terkandung dalam daun sambiloto. Menurut Dalimartha (2005), sifat kimia dan efek farmologis sambiloto adalah rasa pahit dan dingin sehingga dapat berfungsi sebagai antipiretik, analgetik, menghilangkan panas dalam, detoksifikan dan antiradang.

Sambiloto mengandung beberapa zat aktif yang bekerja secara sinergis yaitu unsur-unsur mineral seperti Kalium, Natrium, Kalsium, Damar dan Asam Kersik, Alkana, keton, Aldehida, dan minyak atsiri yang bermanfaat sebagai antiradang, 4 macam lakton yaitu *deoxyandrographolid*, *andrographolid*, *neoandrographolid* dan *14-deoksi-11, 12-didehidrographolid* yang berfungsi sebagai antipiretik, serta flafonod (*polymethoxyflavone*, *andrographin*, *paniconlin*,

monomethylwightin dan apigenin-7-4-dimethyl ethers) yang paling banyak diperoleh dari akar untuk mencegah penggumpalan darah (Utami, 2003).

Menurut Rujianto (1997), *insulin like growth factor* (IGF I dan II) dan *glukagon like peptide* (GLP) telah diketahui merupakan faktor lain yang berpengaruh dalam pengaturan keseimbangan kadar glukosa darah. Kerja dari kedua faktor ini dipengaruhi oleh pengaturan enzim yang erat kaitannya dengan keseimbangan ion kalium dan natrium. Ion-ion kalium dan natrium yang terkandung dalam sambiloto diduga dapat peran pula dalam keseimbangan kerja enzim ini.

Efek farmologis sambiloto yang paling berperan dalam perbaikan insulinitis adalah sebagai antioksidan dan antiradang. Struktur molekul sambiloto bekerja memecah rantai oksida sehingga mampu meningkatkan status antioksidan endogenous tikus diabetes. Hal ini akan menyebabkan terhambatnya reaksi autooksidasi akibat peradangan dan dapat menetralkan radikal bebas (*Reactive oxygen Species*) atau sitokin yang membinasakan sel beta pankreas pada saat terjadinya insulinitis. Kemudian sebagai detoksikan, Sambiloto mampu menghentikan reaksi autoimun akibat serangan sel-sel inflamator (limfosit mononuklear) dan meningkatkan ketahanan sel sehingga mampu mengadakan proses penyembuhan terhadap infeksi. Kondisi tersebut mendukung proses terjadinya perbaikan jaringan dan pembentukan kembali sel-sel beta yang baru sehingga insulin dapat diproduksi kembali untuk mengendalikan kadar glukosa darah yang tinggi. Selain itu, proses glikogenolisis dan glukoneogenesis dari hasil mobilisasi cadangan glikogen, lemak dan protein menurun. Akibatnya terjadi

kerjasama yang harmonis antara glukagon dan insulin dalam metabolisme karbohidrat untuk mengendalikan kadar glukosa darah tetap dalam batas yang sempit.

Coskun dkk (2004) menambahkan, bahan yang mengandung antioksidan dan dapat menurunkan radikal bebas terbukti dapat melindungi islet pankreas dari efek agen STZ. Dengan pemberian suatu antioksidan alkaloid dan flavonoid dapat merangsang pengeluaran insulin dari sel beta pankreas.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa:

1. Lama pemberian ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kg bb berpengaruh dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes yang diinduksi dengan aloksan monohidrat. Lama pemberian 28 hari memberikan efek yang paling besar dalam penurunan glukosa darah tikus diabetes.
2. Lama pemberian ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kg bb berpengaruh terhadap perbaikan histologi pankreas tikus diabetes. Walaupun masih belum dapat mengembalikan islet pankreas ke bentuk normal.

5.2. Saran

Saran yang diajukan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan adalah

1. Untuk melihat sel-sel beta sebaiknya dengan pewarnaan *victoria-blue*. Dengan pewarnaan tersebut sitoplasma mempunyai granula yang seragam berwarna biru, sedang sel-sel alfa, sitoplasmanya terlihat granula-granula yang tidak seragam berwarna kemerahan.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjut dengan memperpanjang waktu pemberian perlakuan dan menambah dosis perlakuan sehingga dapat diketahui penyembuhan maksimal dari bahan terapi yang digunakan.

3. Parameter pemeriksaan perlu ditambahkan misalnya pemeriksaan hormon insulin, hispatologi jaringan hepar atau organ-organ yang lain yang nantinya diharapkan akan mengarah pada suatu kesimpulan bahwa pemberian ekstrak daun sambiloto benar-benar mampu dan aman digunakan sebagai alternatif pengobatan diabetes serta komplikasinya.
4. Penggunaan ekstrak daun sambiloto dengan dosis 2,1 g/kg bb perhari (yang dikonversikan pada manusia terlebih dahulu) dapat dipakai sebagai salah satu alternatif terapi herbal dalam pengobatan penyakit diabetes mellitus.



DAFTAR PUSTAKA

- ADA (American diabetes Association). 2000. *Report of The Commite on Diagnosa and Classification of Diabetes Mellitus*. Clinical Practice recommendation 2000. 23 (1).
- Ahani. 2008. *Obesitas Sebagai Suatu Penyakit Kronik*. [www.drahani.wordpress.com / 2008 /03/05/ obesitas- sebagai- suatu-penyakit-kronik](http://www.drahani.wordpress.com/2008/03/05/obesitas-sebagai-suatu-penyakit-kronik). Diakses tanggal 15 Maret 2008.
- Al-Qur'anul-Karim dan terjemahan.
- Anonimous. 1986. *Sediaan Galenik*. Departement Kesehatan RI: Jakarta
- Anonimous. 2001. *Obesitas dan Diabetes Mellitus Tipe II*. www.gizinet/cgi-bin/berita/fullnews.cgi?newsid100942101227746. Diakses tanggal 15 Maret 2008
- Anonimous. 2004^a. *Diabetes Mellitus*. [http://www. Itek. Net/id/ind/ cakrawala_index.php?id = penyakit2. html](http://www.Itek.Net/id/ind/cakrawala_index.php?id=penyakit2.html). Diakses tanggal 21 mei 2007.
- Anonimous. 2004^b. *Diabetes*. [http://:emedicinehealth.com](http://emedicinehealth.com). diakses tanggal 03 September 2007
- Anonimous. 2005. *Jumlah Penderita Diabetes Indonesia Rangking Ke-empat di Dunia*. [http: kompas.com/kompas cetak/0410/29/ilpeng/1351379.html](http://kompas.com/kompas_cetak/0410/29/ilpeng/1351379.html). Diakses tanggal 03 September 2007.
- Anonimous. 2008^a. *Tinjauan Molekuler Obesitas dan Kaitannya dengan Diabetes Mellitus*. [www. alat_kesehatan. com/ articles. php? articles_id = 32&csid= fff5ec 4817037bfd6d9c0fqb0b 5a33d9](http://www.alat_kesehatan.com/articles.php?articles_id=32&csid=fff5ec4817037bfd6d9c0fqb0b5a33d9). Diakses tanggal 15 Maret 2008.
- Anonimous. 2008^b. *Radikal Bebas*. http://Wikipedia.org/wiki/Radikal_Bebas. Diakses tanggal 16 Maret 2008
- Arisandi, R. 2004. *Anatomi dan Fisiologi Pankreas*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Arjita, I.P.D., Widodo, M.A., Widjajanto, E. 2002. *Pengaruh Kadar Glukosa Tinggi Terhadap Sintesis Nitric Oxide dari Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEs) Culture dengan Tehnik Bioassay*. Biosain, Vol., No. 1, April 2002.

- Anwar, Dian M. 2005. *Konsepsi Kesehatan dalam Islam*. <http://psikolog2.tripod.com/konsepikesehatan.htm>. diakses pada tanggal 20 Nopember 2008.
- Campbell. N.A. 2003. *Biologi Jilid 3*. Jakarta: Erlangga.
- Carlk, A. 2004. *Morphologi Of Pancreas in Normal and Diabetic States: International Text Book of Diabetes Mellitus, Third Edition*. John Wiley and Sons, Ltd. New York.
- Coskun, O., Kanter., A. Korkaz dan S, Oter. 2004. *Quercetin, A Flavonoid Antioxidant, Prevent and Protects Streptozotocin Induced Oxidative Stress and Beta Cell Damage in Rat Pancreas*. Pharmacological research. Academic press. Turkey.
- Dalimartha, S. 2006. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Diabetes Mellitus*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Damayanthi, F. C. 2006. *Pengaruh Ekstrak Daun Sambiloto Terhadap Perbaikan Kondisi Insulitis Tikus Diabetes Tipe 1 (IDDM) Melalui Konfirmasi Keberadaan Interleukin-2*. Skripsi Jurusan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Malang: Universitas Brawijaya.
- Daud, H. 2007. *Agama (Ilmu primer) Merupakan Lampu Penerang Buat Akal Memproduksi Ilmu Sekunder (Sains dan Teknologi)*. http://www.prn.usm.my/mainsite/bulletin/kosmik/1996/kosmik_4.html. Diakses pada tanggal 05 Oktober 2007.
- Defronzo, R.A. 1992. *Pathogenesis of NIDDM*. Diabetes care, 15: 318-368.
- Defronzo., R.A., Ferrannini, E., Keen., H dan Zimmet, P. 2004. *International Textbook of Diabetes Mellitus Vol 1 dan 2*. West Sussex: John Wiley and Sons, Ltd.
- Departemen Kesehatan RI. 2005. *Jumlah Penderita Diabetes Indonesia Ranging Ke-4 di Dunia*. <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task>. Diakses tanggal 11 Maret 2007.
- Ebel, S. 1999. *Obat Sintesis*. New York: Gajah Mada University. CRC Press.
- Flekel, HJ. 1994. *The Laboratory Rat Reserch Aplication*. Academic Press Inc San Diego: 8-21
- Fox, Stuart I. 2006. *Human Physiology 9th edition*. New york: Mc Graw-Hill

- Guyton, A.C dan Hall, i.t. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Penerbit buku kedokteran, EGC. Jakarta.
- Hendri. 2007. *Produk Farmasi dalam Islam*. <http://hendriapt.blogspot.com/2007/08/produk-farmasi-dalam-islam.html>. Diakses tanggal 05 Oktober 2007.
- Holt, S. 2005. *Menopause: Diabetes Mellitus and Síndrome X*. http://power_surge.com/educate/holt_diabetes_syndronex.htm. Diakses tanggal 11 Maret 2007.
- Imani. 2005. *Tafsir Nurul Qur'an; Sebuah Tafsir Sederhana Menuju Cahaya Al-Qur'an*, penerjemah Salman Nano. Jakarta: Al-Huda
- Indah, M. 2004. *Mekanisme Kerja Hormon*. USU Digital Library.
- Iwahasi, H. 1998. *Molecular Mechanism of Pancreatic Beta Cell Destruction in Autoimmun Disease; Potensial Target for Preventive Therapy*. Cytokines, cellular dan mollecular therapy (4): 45-51
- Junquiera, LC, Cerneiro J. 1992. *Histologi Dasar*, diterjemahkan oleh Adjidarma. Jakarta: Penerbit EGC.
- Kumalasari, N.D. 2005. *Pengaruh Berbagai Dosis Filtrat Daun Putri Malu (Mimosa pudica) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus (Rattus norvegicus)*. Skripsi Jurusan MIPA. Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan. Universitas muhamadiyah malang.
- Kumalasari. L.O.R. 2006. *Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya*. Majalah Ilmu Kefarmasian, Vol. III, No. 1, April 2006, 01-07
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gajahmada University Press.
- Kusumowardhani, I, Y. 2005. *Uji Potensi Labu Siam Sebagai Antidiabetik: Kajian Terhadap Kadar Gula Darah, Radikal Bebas dan Aktivitas Transaminase Hepar Pada Tikus Diabet*. Skripsi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Malang: Universitas Brawijaya.
- Leeson, R.C., T. S., Leeson, Paparo., A.A.. 1996. *Buku Ajar Histologi*, diterjemahkan : Tambajong, J dkk. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

- Maryland medical Center.2002. *Diabetes Mellitus*. University Of Maryland Medical Center, Baltimore. <http://www.umm.edu>. Diakses tanggal 05 Maret 2006
- Mayfield, J. 1998. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus; New Criteria*. <http://www.aafp.org/afp/981015ap/mayfield.html> Diakses 07 Maret 2007 .
- Mubarok, A. 200. *Konseling Agama: Teori dan Kasus*. PT. Bina Rena Pariwara, Cetakan I.
- Naim, R. 2006. *Penyakit yang Berhubungan dengan Penghambatan Apoptosis*. Cermin Dunia Kedokteran No. 153, 2006.
- Nio, O.K. 2007. *Cara Penentuan Kualitas Protein Suatu Bahan Makanan*. [Srv/www/prtalkalbe/files/cdk/file/15_caramenentukualitaspotein.pdf](http://www.prtalkalbe/files/cdk/file/15_caramenentukualitaspotein.pdf)/. Diakses tanggal 30 September 2007.
- Nurdiana, N.P., Setyawati dan M. Ali. 1998. *Efek Streptozotocin Sebagai Bahan Diabetogenik Pada Tikus Wistar dengan Cara Pemberian Intraperitoneal dan Intravena*. Majalah Kedokteran Unibraw. Vol XIV, No 2: hal 66-77
- Okomoto, H. 1990. *Molekular Biology of Islet Langerhans*. Chambridge University Press.
- Pearce, E.C. 1979. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Jakarta: PT Gramedia.
- Petterpher, Dr. Cathleen. 2002., *Endocrine Pancreas*. Medical Cell and Tissue Biology. April 8, 2002.
- Pho, K. 2005. *Diabetes Mellitus*. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/article/000305.html>. Diakses tanggal 11 Maret 2007
- Prabowo, HS. 1997. *Hubungan Peningkatan kadar Glukosa Darah dengan Jumlah Sel Pulau Langerhans Kelenjar Pankreas*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
- Price, Sylvia, Schteingart, David, E. 1995. *Patofisiologi Penyakit Dalam*. Jakarta: EGC
- Rujianto, Ahmad. 1997. *Pengendalian Glukosa pada Tingkat Seluler*. Majalah Kedokteran Unibraw Vol. XIII No. 3, 97-101.

- Sheerwood, L., Klandorf, H., Yancey, PH. 2005. *Animal Physiology*. Thomson Books/Cole.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah, Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Q. 2008. *Wawasan Al-Qur'an; Tafsir Maudhu'i atas Berbagai Pemecahan Umat*. Jakarta: Penerbit Mizan.
- Soetarno., Sukandar, EY., Sukrasno dan Yuwono, A.. 1993. *Aktivitas Hipoglikemik Ekstrak Herba Sambiloto (Andrographis paniculata Ness.)*. JMS Vol 4, No. 2, 42-69
- Siswandono., dan B. Soekaji. 1995. *Kimia Medisial*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Staff Laboratorium Biokimia. 2006. *Paket Modul dan Penuntun Praktikum Biokimia*. Malang: Laboratoium Biokimia Fakultas Kedokteran Unibraw-PPD.UMM
- Sudjarwo, S.A dan Ramadhani. 2001. *Efek Anti Diabetes dari Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda citrifolia) Pada Tikus yang Direduksi dengan Alloxan*. Jurnal Penelitian Medika Eksakta Vol.2, No. 3, Desember 2001.
- Suharmiati. 2003. *Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat*. Cermin Dunia Kedokteran No. 140, 2003.
- Turner dan Bagnara. 1976. *Endokrinologi Umum Edisi 6*. Yogyakarta: Airlangga University Press.
- Utami, P dan Tim Lentera. 2003. *Tanaman Obat untuk Mengatasi Diabetes Mellitus Cetakan Ketiga*. Yogyakarta: PT. Agromedia.
- Wang, H., Li, Y., Sun Qi, Yang, G. 2000. *Oral Administration of Insulin to Female Nonbase Diabetic Mice Inhibited diabetes An Induced Fasn Ligand Expression on Islet Langerhans*. Chin med. J.2000: 113 (5).
- Widodo, M.A. 1999. *Disfungsi Endotel dan Penyakit Kardiovaskuler*. Makalah dalam Symposium "Emergency Concepts of Endothelial Dysfunction in Artherosclerosis" IDI, Malang.
- Winarno, M.W dan Sundari, D. 2003. *Gambaran Histologi Kelenjar Pankreas Akibat Pemberian Daging Buah Pare (Momordica charantia L.) pada Tikus Putih*. Cermin dunia kedoktean No.140, 2003

- Wiyono P dan Shinta M. 2004. *Glimepiride: Generasi Baru Sulfonilurea Subag Endokrinologi dan Metabolik*. Ilmu Penyakit dalam FK UGM. RS dr. Sardjito, Yogyakarta. *DEXAMEDIA*, No. 2, Vol. 17, April-Juni 2004
- Wuragil, D.K. 2006. *Potensi Ekstrak Sambiloto (Andrographis paniculata) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Keberadaan Tumor Nekrosis Faktor Alfa Pada Pankreas Tikus (Rattus norvegicus) Diabetes Hasil Paparan MLD-STZ*. Skripsi Jurusan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Malang: Universitas Brawijaya.
- Yu, L., dkk. 2004. *Direct Transfer of A20 Gene into Pancreas Protected Mice From Streptozotocin-Induced Diabetes*. Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences
- Yulinah, E., Sukrasno., Fitri, A. 2001. *Aktivitas Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (Andrographis paniculata Ness.)*. Jurusan Farmasi FMIPA, ITB
- Yusron, M, dkk. 2005. *Budidaya Tanaman Sambiloto*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Balai Tanaman Obat dan Aromatik.
- Zimmet, 2004. *Latent Autoimun Diabetes Mellitus in A dult (LADA): The Role to GAD in Diagnosis and Prediction of Insulin Dependency*. *Diabetes Medicine*, 11:229-303.

Lampiran 1. Skema kerja Penelitian

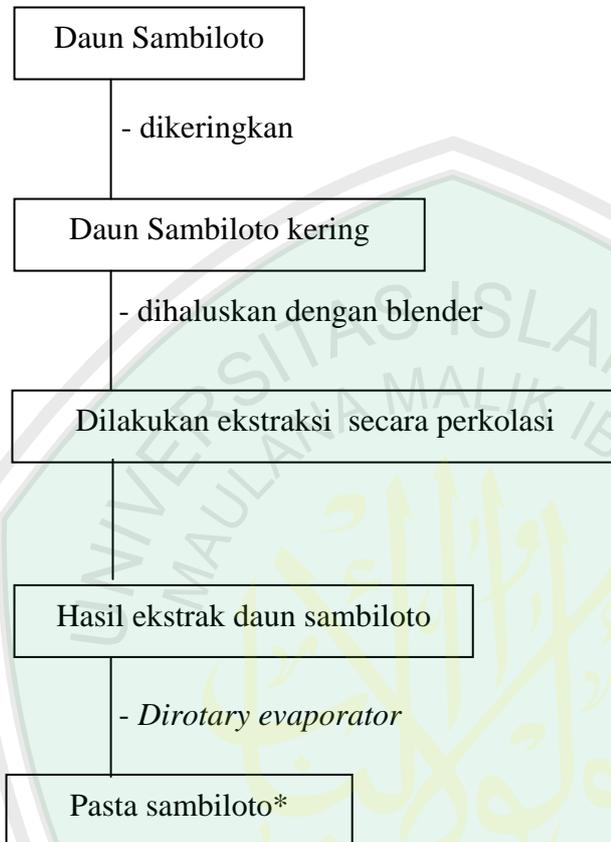


Keterangan:

* data yang didapat sebagai data perlakuan I

** Hari ke-14, hari ke-21 dan hari ke-28, juga dilakukan pembedahan untuk pengukuran glukosa darah jantung dan pengambilan organ pankreas

Lampiran 2. Prosedur Ekstraksi Daun Sambiloto



Keterangan:

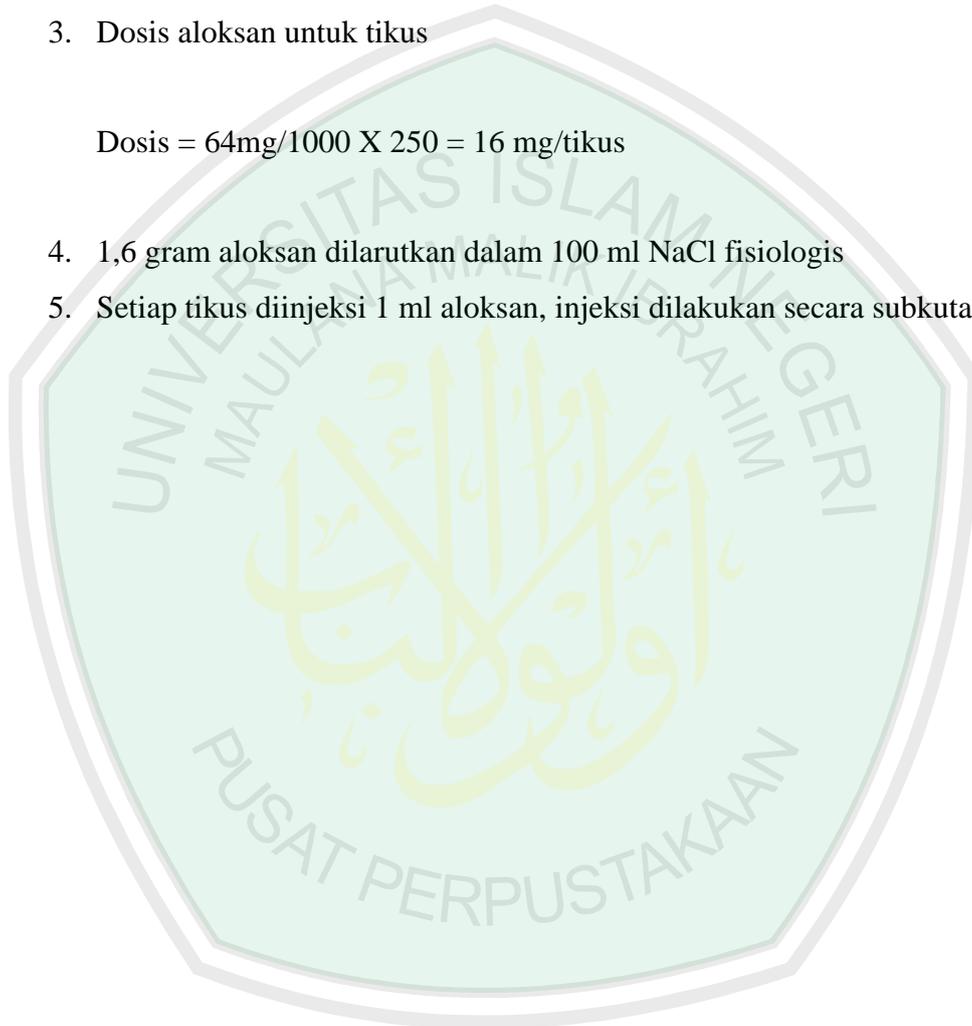
- * Hasil pasta, dilarutkan ke dalam aquadest
Setiap 0,5 mg pasta sambiloto dilarutkan ke dalam 3 ml aquadest

Lampiran 3. Pereparasi Larutan Aloksan Monohidrat

1. Dosis aloksan yang digunakan adalah 64 mg/kg bb
2. Bobot tikus berkisar antara 198-250 mg
3. Dosis aloksan untuk tikus

$$\text{Dosis} = 64\text{mg}/1000 \times 250 = 16 \text{ mg/tikus}$$

4. 1,6 gram aloksan dilarutkan dalam 100 ml NaCl fisiologis
5. Setiap tikus diinjeksi 1 ml aloksan, injeksi dilakukan secara subkutan.



Lampiran 4. Perhitungan Analisis Kovarian (Ankova)

DATA KADAR GLUKOSA DARAH (mg/dl) SEBELUM PERLAKUAN

Perlakuan	Ulangan				Total (mg/dl)
	1	2	3	4	
K-	150	173	112	138	573
K+	345	444	359	308	1456
I	315	339	303	325	1282
II	450	407	377	417	1651
III	433	396	402	579	1810
IV	487	488	486	485	1946
Total	2180	2247	2039	2252	8718

DATA KADAR GLUKOSA DARAH SETELAH PERLAKUAN

HASIL GOD-PAP

Perlakuan	Ulangan			
	1	2	3	4
K-	0,512	0,818	0,448	0,594
K+	1,472	2,201	1,162	1,636
I	0,843	0,931	0,824	0,955
II	0,775	0,746	0,878	0,750
III	0,717	0,701	0,702	0,965
IV	0,588	0,594	0,576	0,567

DATA KADAR GLUKOSA DARAH (mg/dl) SETELAH PERLAKUAN

Perlakuan	Ulangan				Total (mg/dl)
	1	2	3	4	
K-	105,2	168	92,1	122	487,3
K+	302,2	452	332	336	1422,2
I	173,1	191,2	173,1	196,1	733,5
II	159,1	153,1	180,2	154,1	646,5
III	147,2	144	144,2	198,1	633,5
IV	120,7	122	118,2	116,4	477,3
Total	1007,5	1230,3	1039,8	1122,7	4400,3

A. Data Kadar Glukosa Darah (mg/dl) Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Perlakuan	Kelompok								$\sum X_i$	$\sum Y_i$
	1		2		3		4			
	X	Y	X	Y	X	Y	X	Y		
-	150	105,2	173	168	112	92,1	138	122	573	487,3
K+	345	302,2	444	452	359	332	308	336	1456	1422,2
I	315	173,1	339	191,2	303	173,1	325	196,1	1282	733,5
II	450	159,1	407	153,1	377	180,2	417	154,1	1651	646,5
III	433	147,2	396	144	402	144,2	579	198,1	1810	633,5
IV	487	120,7	488	122	486	118,2	485	116,4	1946	477,3
Total	2180	1007,5	2247	1230,3	2039	1039,8	2252	1122,7	8718	4400,3

r (kelompok) 4
t (perlakuan) 6

$$\sum_i \sum_j X_{ij} = 150 + 173 + \dots + 485 = 8718$$

$$\sum_i \sum_j Y_{ij} = 105,2 + 168 + \dots + 116,4 = 4400,3$$

$$\sum_i \sum_j X_{ij}^2 = 150^2 + 173^2 + \dots + 485^2 = 3507554$$

$$\sum_i \sum_j Y_{ij}^2 = 105,2^2 + 168^2 + \dots + 116,4^2 = 980710,2$$

$$\sum_j X_j^2 = 2180^2 + 1007,5^2 + \dots + 1122,7^2 = 19030434$$

$$\sum_j Y_j^2 = 1007,5^2 + 1230,3^2 + \dots + 1122,7^2 = 4870334$$

$$\sum_i X_i^2 = 573^2 + 1456^2 + \dots + 1946^2 = 13880606$$

$$\sum_i Y_i^2 = 487,3^2 + 1422,2^2 + \dots + 477,3^2 = 3845236$$

$$\sum_i \sum_j X_{ij} Y_{ij} = (150 \times 105,2) + (173 \times 168) + \dots + (485 \times 116,4) = 1626891$$

$$\sum_i X_i Y_i = (573 \times 487,2) + (1456 \times 1422,2) + \dots + (1946 \times 477,3) = 6433125$$

$$\sum_j X_j Y_j = (2180 \times 1007,5) + (2247 \times 1230,3) + \dots + (2252 \times 1122,7) = 9603907$$

1. Perhitungan Jumlah Hasil Kali Total

$$JK_{T(X)} = \sum_i \sum_j X_{ij}^2 - \frac{(\sum_i \sum_j X_{ij})^2}{rt} = 3507554 - \frac{8718^2}{4 \times 6} = 340740,5$$

$$JK_{T(Y)} = \sum_i \sum_j Y_{ij}^2 - \frac{(\sum_i \sum_j Y_{ij})^2}{rt} = 980710,2 - \frac{4400,2^2}{4 \times 6} = 173933,5$$

$$JP_{T(XY)} = \sum_i \sum_j X_{ij} Y_{ij} - \frac{(\sum_i \sum_j X_{ij})(\sum_i \sum_j Y_{ij})}{rt} = 1626891 - \frac{(8718 \times 4400,2)}{4 \times 6} = 28482,13$$

2. Perhitungan Jumlah Hasil Kali Perlakuan

$$JK_{P(X)} = \frac{\sum_i X_i^2}{r} - \frac{(\sum_i \sum_j X_{ij})^2}{rt} = \frac{13880606}{4} - \frac{8718^2}{4 \times 6} = 303338$$

$$JK_{P(Y)} = \frac{\sum_i Y_i^2}{r} - \frac{(\sum_i \sum_j Y_{ij})^2}{rt} = \frac{3845236}{4} - \frac{4400,2^2}{4 \times 5} = 154532,4$$

$$JP_{P(XY)} = \frac{\sum_i X_i Y_i}{r} - \frac{(\sum_i \sum_j X_{ij})(\sum_i \sum_j Y_{ij})}{rt} = \frac{6433125}{4} - \frac{(8718 \times 4400,2)}{4 \times 6} = 9872,375$$

3. Perhitungan Jumlah Hasil Kali Galat

$$JK_{G(X)} = JK_{T(X)} - JK_{P(X)} - JK_{K(X)} = 340740,5 - 303338 = 37402,5$$

$$JK_{G(Y)} = JK_{T(Y)} - JK_{P(Y)} - JK_{K(Y)} = 173933,5 - 154532,4 = 19401$$

$$JP_{G(XY)} = JP_{T(XY)} - JP_{P(XY)} - JP_{K(XY)} = 28482,13 - 9872,375 = 18609,75$$

4. Rumus JKG Analisis Peragam

$$JK_{R(Y)} = \frac{(JP_{G(XY)})^2}{JK_{G(X)}} = \frac{18609,75^2}{37402,5} = 9259,349$$

$$JK_{GD} = JK_{G(Y)} - JK_{R(Y)} = 19401 - 9259,349 = 10141,79$$

5. Rumus JKP Analisis Peragam

$$JK_{RPG} = \frac{(JP_{P(XY)} + JP_{G(XY)})^2}{JK_{P(X)} + JK_{G(X)}} = \frac{(9872,375 + 18609,75)^2}{303338 + 37402,5} = 2380,79$$

$$JK_{PG} = JK_{T(Y)} - JK_{RPG} = 173933,5 - 2380,79 = 171552,7$$

$$JK_{PD} = JK_{PG} - JK_{GD} = 171552,7 - 10141,79 = 161410,9$$

6. Pemeriksaan Ketepatan Model

$$\begin{aligned} F_{hit} &= \frac{(JP_{G(XY)})^2 / JK_{G(X)}}{KT_{Galat}} \\ &= \frac{18609,75^2 / 37402,5}{596,5758} \\ &= 15,520825 \end{aligned}$$

7. Pengujian Keefektifan Peragam

$$\begin{aligned} KT_{Galat\ sblm\ dikoreksi} &= \frac{JK_{G(Y)}}{dbg} \\ &= \frac{19401}{18} \\ &= 1077,841 \\ KT_{Galat\ efektif\ stlh\ koreksi} &= KT_{Galat} + \left[1 + \frac{JK_{P(X)/(t-1)}}{JK_{G(X)}} \right] = 596,5758 + \left[1 + \frac{303338/5}{37402,5} \right] = 599,19782 \\ ER &= \frac{KTG_{\text{sebelum dikoreksi}}}{KTG_{\text{efektif setelah dikoreksi}}} = \frac{1077,841}{599,19782} = 1,7988066 \end{aligned}$$

8. Uji UJD 5%

$$\begin{aligned} UJD(\alpha) &= q_{\alpha}(t, dbg) s_{\bar{y}} \\ &= q_{\alpha}(t, dbg) \sqrt{\frac{KT_{Galat}}{r}} \end{aligned}$$

Karena ada tujuh perlakuan maka nilai UJD ada lima buah, yaitu:

1. Membandingkan dua nilai tengah tanpa selingan nilai tengah lain

$$\begin{aligned} UJD(5\%) &= q_{0.05}(2,17) \sqrt{\frac{596,5758}{4}} \\ &= 2,98 \times 12,2 \\ &= 36,356 \end{aligned}$$

2. Membandingkan dua nilai tengah dengan satu selingan nilai tengah lain

$$\begin{aligned} UJD(5\%) &= q_{0.05}(3,17) \sqrt{\frac{596,5758}{4}} \\ &= 3,13 \times 12,2 \\ &= 38,186 \end{aligned}$$

3. Membandingkan dua nilai tengah dengan tiga nilai selingan nilai tengah lain

$$\begin{aligned} UJD(5\%) &= q_{0,05}(4,17) \sqrt{\frac{596,5758}{4}} \\ &= 3,22 \times 12,2 \\ &= 39,28 \end{aligned}$$

4. Membandingkan dua nilai tengah dengan empat nilai selingan nilai tengah yang lain

$$\begin{aligned} UJD(5\%) &= q_{0,05}(5,17) \sqrt{\frac{596,5758}{4}} \\ &= 3,28 \times 12,2 \\ &= 40,02 \end{aligned}$$

5. Membandingkan dua nilai tengah dengan lima selingan nilai tengah yang lain

$$\begin{aligned} UJD(5\%) &= q_{0,05}(6,17) \sqrt{\frac{596,5758}{4}} \\ &= 3, \times 12,2 \\ &= 40,504 \end{aligned}$$

9. Menghitung Perlakuan Rata-rata Terkoreksi

$$\beta = \frac{JK_{(XY)}}{JK_{XX}} = \frac{9872,375}{30333,8} = 0,325$$

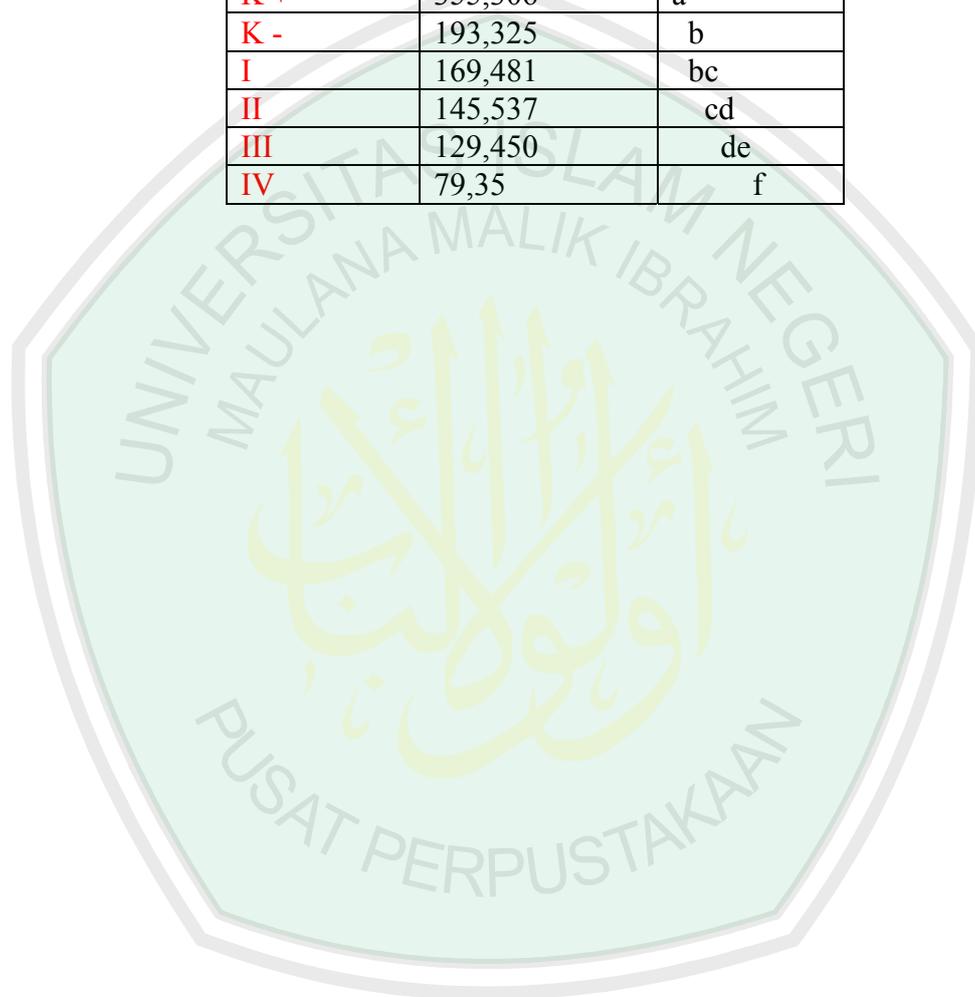
$$\bar{X}_i = \frac{\sum X}{rt} = \frac{8718}{24} = 363,25$$

$$\bar{Y}_i = \frac{\sum Y}{rt} = \frac{4400,3}{24} = 183,35$$

Perl.	Jumlah rumpun \bar{X}_i	Penyimpangan $\bar{X}_i - \bar{X}$	Koreksi $\beta(\bar{X}_i - \bar{X})$	Rata-rata \bar{Y}_i	Rata-rata hasil $\bar{Y}_i - \text{koreksi}$
K-	143,25	143,25 - 363,25	-220(0,325)= -71,5	121,825	193,325 (E)
K+	364	364 - 363,25	0,75 (0,325)= 0,244	355,55	355,306 (F)
I	320,5	320,5 - 363,25	-42,75(0,325)= -13,894	183,375	169,481 (D)
II	412,75	412,75 - 363,25	49,5 (0,325)= 16,925	161,625	145,537 (C)
III	452,5	452,5 - 363,25	89 (0,325)= 28,925	158,375	129,450 (B)
IV	486,5	486,5 - 363,25	123 (0,325)= 39,975	119,325	79,35 (A)

Notasi Hasil Uji Jarak Duncan 5 %

Perlakuan	Rata-rata hasil $\bar{Y}_i - koreksi$	Notasi
K +	355,306	a
K -	193,325	b
I	169,481	bc
II	145,537	cd
III	129,450	de
IV	79,35	f



**Lampiran 5. Analisis non-parametrik untuk preparat histologi
Kruskal-Wallis Test**

Ranks			
	perl	N	Mean Rank
skor	1	4	2.75
	2	4	22.50
	3	4	18.12
	4	4	13.50
	5	4	11.88
	6	4	6.25
	Total	24	

Test Statistics ^{a,b}	
	skor
Chi-Square	21.789
df	5
Asymp. Sig.	.001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: perl

H_0 = Distribusi semua perlakuan identik

H_1 = Paling sedikit satu populasi menunjukkan nilai yang lebih besar daripada populasi lainnya

Harga signifikansi $0,001 < 0,05$, maka H_0 ditolak. Artinya, distribusi semua perlakuan tidak identik. Ini berarti ada perbedaan yang nyata dari keenam perlakuan.

Lampiran 7. Gambar Alat dan Bahan Penelitian



(a)



(b)



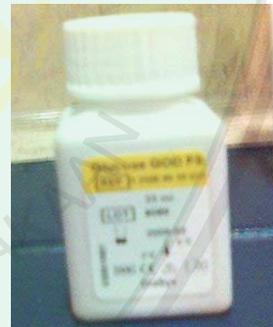
(c)



(d)



(e)



(f)

Keterangan:

- a. Timbangan Analitik
- b. Spluit Insulin dan Alat Pencekok
- c. *Sentrifuge*
- d. Aloksan Monohidrat dan Strip
- e. glukotest
- f. Ekstrak daun sambiloto
- g. Reagen GOD-PAP



Gambar hewan coba; Tikus (*Rattus norvegicus*)

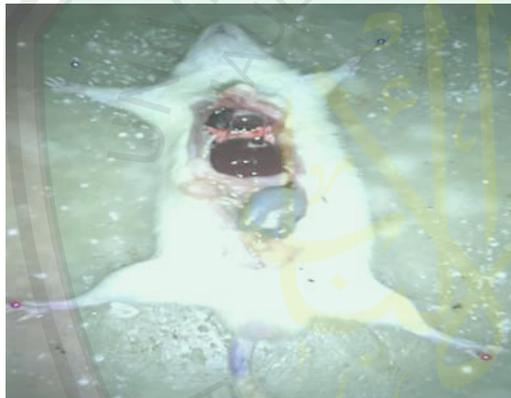
Lampiran 8. Gambar Penelitian.



Penyuntikan aloksan monohidrat secara subkutan



Penyekokan ekstrak sambiloto



Pembedahan



Darah jantung



Organ pankreas dalam formalin 10 %



Serum darah