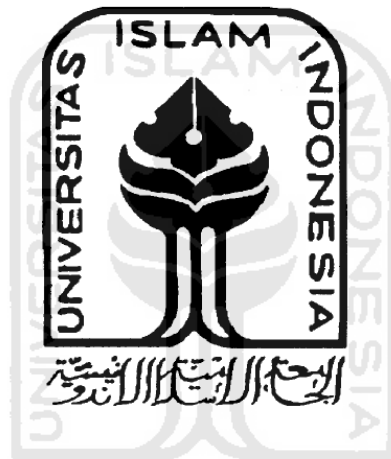


**AKTIVITAS EKSTRAK ETANOLIK DAUN KANGKUNG
DARAT (*Ipomoea reptans* Poir.) TERSTANDAR SEBAGAI
ANTIHIPERGLIKEMIA TERHADAP KADAR HbA_{1c} DAN
KADAR ALT PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG
DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN**

SKRIPSI



Oleh:

TRİYONO

12613257

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
DESEMBER 2016**

**AKTIVITAS EKSTRAK ETANOLIK DAUN KANGKUNG
DARAT (*Ipomoea reptans* Poir.) TERSTANDAR SEBAGAI
ANTIHIPERGLIKEMIA TERHADAP KADAR HbA_{1c} DAN
KADAR ALT PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG
DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm.) Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan
Alam Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh:

TRİYONO

12613257

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA

YOGYAKARTA

DESEMBER 2016

SKRIPSI

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOLIK DAUN KANGKUNG
DARAT (*Ipomoea reptans* Poir.) TERSTANDAR SEBAGAI
ANTIHIPERGLIKEMIA TERHADAP KADAR HbA_{1c} DAN
KADAR ALT PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG
DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN



Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Farida Hayati, S.Si., M.Si., Apt


Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt

SKRIPSI

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOLIK DAUN KANGKUNG DARAT
(*Ipomoea reptans* Poir.) TERSTANDAR SEBAGAI ANTIHIPERGLIKEMIA
TERHADAP KADAR HbA1c DAN KADAR ALT PADA TIKUS JANTAN
GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN

Oleh:
TRIYONO
12613257

Telah lolos uji etik penelitian
dan telah dipertahankan dihadapan panitia penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 19 Desember 2016.

Ketua Penguji : Dr. Farida Hayati, S.Si., M.Si., Apt

(.....)

Anggota Penguji : 1. Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil., Ph.D., Apt

(.....)

2. Arba Pramundita Ramadani, S. Farm., M.Sc., Apt (.....)

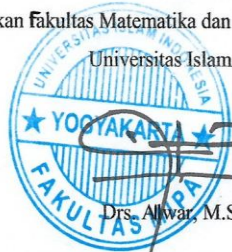
3. Rochmy Istikharah, M.Sc., Apt

(.....)

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Drs. Alwar, M.Sc., Ph.D

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 19 Desember 2016



HALAMAN PERSEMBAHAN



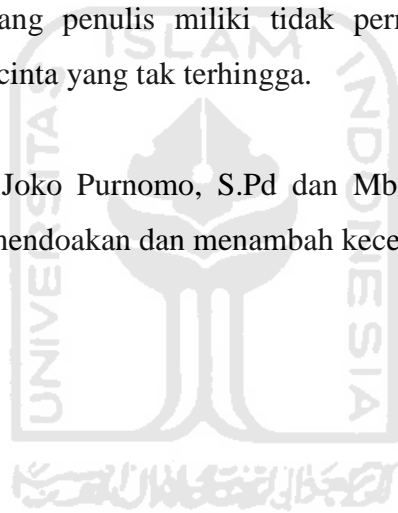
Penulis persembahkan karya ini kepada :

Allah Subhanahuwata'ala

Rasulullah Shalallahu 'Alaihi Wassalam

Kedua orang tuaku, Ayah dan Ibu yang telah sabar dan percaya kepada penulis. Segala yang penulis miliki tidak pernah mampu menandingi ketulusan doa dan cinta yang tak terhingga.

Saudaraku, Mas Joko Purnomo, S.Pd dan Mbak Surantini yang selalu bersedia berbagi, mendoakan dan menambah keceriaan dihari-hari penulis.



KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Alhamdulillah Rabbil 'Alamin, segala puji dan syukur ke hadirat Allah SWT atas limpahan kasih sayang-Nya yang telah memberi karunia, petunjuk dan kemudahan bagi penulis sehingga penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul **“AKTIVITAS EKSTRAK ETANOLIK DAUN KANGKUNG DARAT (*Ipomoea reptans*, Poir) TERSTANDAR SEBAGAI ANTIHIPERGLIKEMIA TERHADAP KADAR HbA1c DAN KADAR ALT PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN”** akhirnya dapat diselesaikan oleh penulis.

Adapun maksud penulisan skripsi ini adalah untuk memenuhi syarat kelulusan strata-1 Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

Selama pelaksanaan dan penyusunan serta penyelesaian laporan, penulis telah banyak mendapat bimbingan, bantuan, dukungan dan saran dari banyak pihak. Dengan segala kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

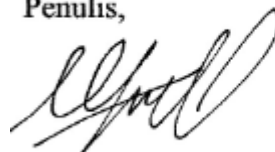
1. Bapak Drs. Allwar, M.Sc., Ph.D., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
2. Bapak Pinus Jumaryatno, S.Si., M.Phil.,Ph.D., Apt., selaku Kepala Program Studi Farmasi Universitas Islam Indonesia.
3. Bapak Bambang Hermawan Nugroho, M.Sc., Apt., selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) atas waktu, saran dan dukungan yang diberikan kepada penulis.
4. Ibu Dr. Farida Hayati, S.Si., M.Si., Apt., selaku pembimbing utama dan Bapak Pinus Jumaryatno, S.Si., M. Phil., Ph. D., Apt., selaku pembimbing pendamping, yang telah memberikan dukungan penuh dan bimbingan yang berarti bagi penulis.
5. Ibu Arba Pramundita Ramadani, S.Farm., M.Sc., Apt dan Ibu Rochmy Istikharah, M.Sc., Apt selaku penguji, yang telah memberikan saran dan masukan untuk penyusunan skripsi ini.

6. Kedua orang tuaku, Ayah dan Ibu yang telah sabar dan percaya kepada penulis. Segala yang penulis miliki tidak pernah mampu menandingi ketulusan doa dan cinta yang tak terhingga.
7. Kedua saudaraku, Mas Joko Purnomo, S. Pd dan Mbak Surantini yang selalu bersedia berbagi, mendoakan dan menambah keceriaan dihari-hari penulis.
8. Semua civitas akademik, yang telah memberikan pelayanan dengan sepenuh hati.
9. Keluarga 8 KM (Adri, Fadil, Ponda, Purna, Rahmah, Azuya, Aya dan Geni) dan teman-teman S-Kos (Afif, Budi, Rio, Dede, Sastra, Fajar dan Aziz) terimakasih atas bantuan, mimpi, semangat dan waktu kebersamaan kita selama diperantauan.
10. Tim kangkung (Pratomo, Zul Masri, Diah dan Adin) semoga kita selalu bisa mempersembahkan karya terbaik lagi, baik bersama ataupun sendiri-sendiri nantinya.
11. Semua teman-teman INJECTIO (Farmasi angkatan 2012) dan keluarga KKN unit 390 terimakasih atas kebersamaan dan kenangan kita selama belajar bersama, semoga kelak kita dipertemukan kembali dalam keadaan yang lebih baik, Aamiin.

Dengan sebuah karya menjelang akhir masa perkuliahan ini, Penyusun menyadari bahwa penyusunan skripsi ini jauh dari kesempurnaan dan tidak terlepas dari kekurangan, oleh karena itu dengan segenap kerendahan hati, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dengan segala kekurangannya dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang kefarmasian.

Yogyakarta, 19 Desember 2016

Penulis,



Triyono

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Masalah.....	1
1.2 Perumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Pustaka	4
2.1.1 Diabetes Mellitus	4
2.1.2 Kangkung Darat (<i>Ipomoea reptans</i> Poir.).....	8
2.1.3 Standarisasi Ekstrak	9
2.1.4 Model Hewan Uji Diabetes Mellitus	11
2.1.5 Streptozotosin	12

2.1.6 Hemoglobin A1c (HbA1c).....	14
2.1.7 Enzim Alanin Aminotransferase (ALT)	15
2.1.8 Metode Uji Diabetes Mellitus dan Penetapan Kadar Glukosa Darah	15
2.2 Landasan Teori.....	16
2.3 Kerangka Konsep Penelitian.....	17
2.4 Hipotesis	17
BAB III METODE PENELITIAN	18
3.1 Bahan dan Alat.....	18
3.1.1 Bahan	18
3.1.2 Alat.....	19
3.2 Cara Penelitian	19
3.2.1 Determinasi Tanaman Kangkung.....	19
3.2.2 Pengajuan <i>Ethical Clearance</i>	20
3.2.3 Koleksi Tanaman	20
3.2.4 Pembuatan Ekstrak Etanolik Daun Kangkung Darat.....	20
3.2.5 Standarisasi Ekstrak.....	20
3.2.6 Penentuan Dosis.....	22
3.2.7 Pemeliharaan Hewan Uji	24
3.2.8 Induksi Hiperglikemia Pada Tikus.....	24
3.2.9 Pembagian Kelompok Perlakuan	24
3.2.10 Desain dan Perlakuan Terhadap Hewan Uji	25
3.2.11 Proses Pengambilan Sampel	26
3.2.12 Pengukuran Kadar Glukosa Darah.....	26
3.2.13 Pengukuran Alanin Aminotransferase	26
3.2.14 Pengukuran Kadar HbA1c	26

3.2.15 Proses Pemusnahan Hewan Uji	27
3.3 Analisis Hasil	27
3.3.1 Data Kadar Glukosa Darah Puasa	27
3.3.2 Data Kadar Alanin Aminotransferase	28
3.3.3 Data Kadar HbA1c	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Penyiapan Ekstrak Etanolik Daun Kangkung Terstandar	30
4.1.1 Determinasi Tanaman Kangkung Darat	30
4.1.2 Pembuatan Simplisia Daun Kangkung darat	31
4.1.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kangkung Darat	32
4.2 Standarisasi Ekstrak Etanolik Daun Kangkung Darat	32
4.2.1 Parameter Spesifik	33
4.2.2 Parameter Non-Spesifik	35
4.3 Pengaruh Induksi Alanin Aminotransferase Dosis Tunggal 40mg/ KgBB Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Jantan Galur Wistar	38
4.4 Pengamatan Perubahan Berat Badan Tikus Jantan Galur Wistar	39
4.5 Pengamatan Perubahan Kadar Alanin Aminotransferase	40
4.6 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kangkung Darat Terhadap Kadar HbA1c Tikus	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
Daftar Pustaka	47
Lampiran	

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Diagnosis DM.....	6
Tabel 2.2	Hasil standarisasi ekstrak etanol daun kangkung darat hasil budidaya petani Kelurahan Muruh, Kecamatan Gantiwarno, Kabupaten Klaten.....	10
Tabel 4.1	Hasil standarisasi ekstrak etanol daun kangkung darat	37
Tabel 4.2	Peningkatan rata- rata KGDP tikus jantan galur Wistar sebelum induksi STZ (hari ke-0) sampai setelah induksi STZ (hari ke-4).....	38
Tabel 4.3	Rata- rata perubahan berat badan tikus jantan Galur Wistar sebelum perlakuan (hari ke-0) dan setelah induksi STZ (hari ke-18).....	39
Tabel 4.4	Rata-rata pengukuran kadar ALT (U/L) tikus jantan galur wistar setelah pemberian ekstrak daun kangkung darat.....	40
Tabel 4.5	Hasil uji analisis statistik perubahan kadar ALT pada hari ke-0 dibandingkan dengan hari ke-18 pada masing-masing kelompok.....	42
Tabel 4.6	Rata-rata kadar Hba1c (%) pada kelompok tikus jantan galur Wistar setelah 14 hari pemberian ekstrak etanol daun kangkung darat terstandar.....	43

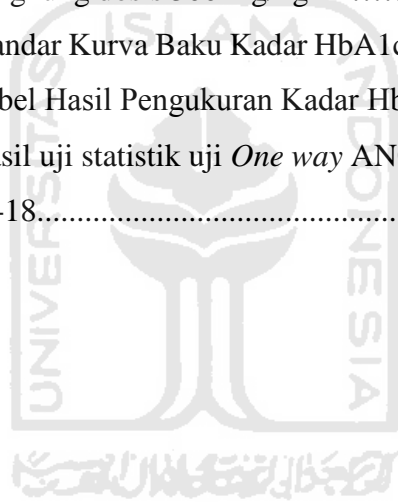
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Kangkung darat (<i>Ipomoea reptans</i> Poir.).....	8
Gambar 2.2	Struktur Streptozotosin.....	13
Gambar 2.3	Kerangka konsep penelitian.....	16
Gambar 3.1	Skema penelitian.....	29
Gambar 4.1	Proses pengeringan daun kangkung (a) dan serbuk daun kangkung darat (b).....	31
Gambar 4.2	Proses maserasi pembuatan ekstrak etanol daun kangkung darat (a), dan hasil ekstrak kental daun kangkung darat (b).....	32
Gambar 4.3	Hasil elusi Kromatografi Lapis Tipis	34
Gambar 4.4	Hasil kromatogram standar etanol 1% menggunakan instrumen <i>Gas Chromatography</i> (GC).....	35
Gambar 4.5	Hasil kromatogram uji sisa pelarut etanol ekstrak etanol daun kangkung darat (<i>Ipomoea reptans</i> Poir) menggunakan instrumen <i>Gas Chromatography</i> (GC).....	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	<i>Ethical clearance</i>	52
Lampiran 2.	Surat keterangan kesehatan hewan.....	53
Lampiran 3a.	Surat determinasi.....	54
Lampiran 3b.	Hasil determinasi.....	55
Lampiran 4a.	Hasil pembacaan kromatogram standar β -karoten dengan <i>TLC- Scanner</i>	56
Lampiran 4b.	Hasil pembacaan kromatogram ekstrak replikasi 1 dengan <i>TLC- Scanner</i>	57
Lampiran 4c.	Hasil pembacaan kromatogram ekstrak replikasi 2 dengan <i>TLC- Scanner</i>	58
Lampiran 4d.	Hasil pembacaan kromatogram ekstrak replikasi 3 dengan <i>TLC- Scanner</i>	59
Lampiran 5.	Perhitungan hasil rendemen ekstrak kental daun kangkung	60
Lampiran 6.	Perhitungan penetapan kadar air.....	61
Lampiran 7.	Tabel hasil penimbangan berat badan.....	62
Lampiran 8a.	Tabel hasil pembacaan KGDP.....	63
Lampiran 8b.	Hasil uji statistik <i>Paired Samples Test</i> kadar KGDP antara H ke-0 dengan H ke-4 pada kelompok kontrol negatif.....	64
Lampiran 9a.	Tabel hasil pengukuran kadar kadar ALT.....	65
Lampiran 9b.	Hasil uji statistik uji <i>One way ANOVA</i> kadar ALT hari ke-18.....	66
Lampiran 9c.	Hasil uji statistik uji <i>Paired Samples Test</i> kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok kontrol normal.....	67
Lampiran 9d.	Hasil uji statistik uji <i>Paired Samples Test</i> kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok kontrol positif.....	68

Lampiran 9e.	Hasil uji statistik uji <i>Paired Samples Test</i> kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok kontrol negatif.....	69
Lampiran 9f.	Hasil uji statistik uji <i>Paired Samples Test</i> kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok ekstrak kangkung dosis 100 mg/kgBB.....	70
Lampiran 9g.	Hasil uji statistik uji <i>Paired Samples Test</i> kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok ekstrak kangkung dosis 200 mg/kgBB.....	71
Lampiran 9h.	Hasil uji statistik uji <i>Paired Samples Test</i> kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok ekstrak kangkung dosis 300 mg/kgBB.....	72
Lampiran 10a.	Standar Kurva Baku Kadar HbA1c.....	73
Lampiran 10b.	Tabel Hasil Pengukuran Kadar HbA1c.....	74
Lampiran 10c.	Hasil uji statistik uji <i>One way ANOVA</i> kadar HbA1c hari ke-18.....	75



**AKTIVITAS EKSTRAK ETANOLIK DAUN KANGKUNG DARAT
(*Ipomoea reptans* Poir.) TERSTANDAR SEBAGAI ANTIHIPERGLIKEMIA
TERHADAP KADAR HbA1c DAN KADAR ALT PADA TIKUS JANTAN
GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN**

Triyono

Prodi Farmasi

INTISARI

Kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) merupakan obat tradisional yang memiliki aktivitas sebagai antihiperглиkemia. Obat tradisional dapat ditingkatkan kualitasnya dengan pembuatan obat herbal terstandar. Agen antihiperглиkemia perlu dinilai efektivitasnya dalam pengendalian glikemia dan keamanannya terhadap organ tubuh. Kadar HbA1c dapat mencerminkan rata-rata kadar glukosa darah dan ALT (*Alanine Aminotransferase*) merupakan enzim indikator yang sensitif terhadap kerusakan hepar. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanolik daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terstandar sebagai antihiperглиkemia terhadap kadar HbA1c dan kadar ALT pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi streptozotosin (STZ). Daun kangkung darat di ekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Tikus jantan 30 ekor dibagi menjadi 6 kelompok (n=5), yaitu kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif (STZ), kelompok kontrol positif (STZ + glibenklamid 0,09mg/200gBB), kelompok perlakuan I (STZ + ekstrak daun kangkung 100 mg/kgBB), kelompok perlakuan II (STZ + ekstrak 200 mg/kgBB) dan kelompok perlakuan III (STZ + ekstrak 300 mg/kgBB). Pemberian ekstrak etanol daun kangkung secara oral satu kali sehari selama 14 hari. Kadar HbA1c diukur pada hari ke-18 menggunakan *Enzim-Linked immune sorbent assay* (ELISA) kit E1435Ra, teknik *sandwich enzyme immunoassay* dengan pengujian secara duplo. Kadar ALT diukur pada hari ke-0, 11, dan 18 menggunakan metode kinetik, aktivitas ALT diukur menggunakan pereaksi ALT *Fluitest*[®] GPT ALT. Hasil analisis statistik kadar HbA1c uji *One-way ANOVA* kadar HbA1c menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok uji ($p>0,05$) dan juga hasil analisis statistik kadar ALT uji *paired-sample t-test* menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan kadar antara sebelum dengan sesudah perlakuan. Ekstrak etanolik daun kangkung darat terstandar mempengaruhi peningkatan kadar enzim ALT namun peningkatan kadar tersebut diduga disebabkan karena induksi streptozotosin dan faktor stres yang dialami hewan uji. Ekstrak etanolik daun kangkung darat terstandar secara klinis memiliki aktivitas pengendalian hiperглиkemia ditandai dengan penurunan kadar HbA1c.

Kata Kunci: Diabetes Mellitus, kadar HbA1c, kadar ALT, kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.), streptozotosin.

ACTIVITY OF STANDARDIZED *Ipomoea reptans* Poir. LEAF ETHANOL EXTRACT AS ANTIHYPERGLYCEMIA BASED ON HbA1c AND ALT LEVELS IN MALE WISTAR RATS INDUCED BY STREPTOZOTOCIN

Triyono

Departement of Pharmacy

ABSTRACT

Ipomoea reptans Poir. is a traditional medicine plant which had activity as antihyperglycemia. The quality of traditional medicine can be improved by standardized it. Antihyperglycemia agent needed to be assessed its effectiveness in glycemic control and its safety to the organs. HbA1c levels represents the average of blood glucose levels and ALT (alanine aminotransferase) is an enzyme-sensitive indicator of hepatic damage. The aims of this research were to know the activities *I. reptans* Poir. leaf extract as antihyperglycemia based on HbA1c and to know ALT levels in male Wistar rats induced by streptozotocin. *I. reptans* Poir. leaf was extracted with maceration method by ethanol 96%. Thirty male Wistar rats were divided into 6 groups (n=5): Group I as the normal control, Group II as the negative control (STZ), group III as positive (STZ + glibenclamide 0,09 mg/200gBW), group IV as the first treatment (STZ + extract 100 mg/kgBW), group V as the second treatment (STZ + extract 200 mg/kgBW) and group VI as the third treatment (STZ+ extract 300 mg/kgBW). Ethanol extract of *I. reptans*, Poir leaf was orally administered once daily for 14 days. HbA1c levels was measured on day 18 used enzym-linked immune sorbent assay (ELISA) kit E1435Ra, sandwich enzyme immunoassay technique and duplicate testing. The ALT levels was measured on days 0, 11, and 18 using reagent Fluitest[®] GPT ALT by kinetic method. The result of statistical analysis HbA1c levels One-way ANOVA test showed no significantly different between the test group ($p>0,05$) and ALT levels paired-sample t-test showed no significantly different between before and after treatment. Standardized ethanolic extract of *I. reptans*, Poir. leaf affected the increase levels of the ALT enzyme, but the increase was caused by the streptozotocin induction and stress factors experienced by the animal test. Standardized ethanol extract of *I. reptans*, Poir. leaf clinically have an activity to controlling of hyperglycemia which was marked by decrease levels of the HbA1c.

Keywords: Diabetes Mellitus, HbA1c levels, ALT levels, *kangkung darat* (*Ipomoea reptans* Poir), streptozotocin.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang Masalah

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang semakin meningkat prevalensinya. *International Diabetic Federation* (IDF) melaporkan bahwa di seluruh dunia pada tahun 2015 terdapat 415 juta jiwa penderita DM umur 20-79 tahun dengan angka kematian mencapai 5 juta jiwa dan penderita diabetes di Indonesia mencapai 10 juta jiwa, menempati urutan penderita DM terbanyak ke-7 dunia. Studi epidemiologi tersebut memperkirakan bahwa pada tahun 2040 penderita DM didunia akan meningkat menjadi 642 juta jiwa dan DM di Indonesia mencapai 16,2 juta jiwa⁽¹⁾.

Terapi utama pengobatan DM selama ini menggunakan insulin dan agen hipoglikemik oral. Terapi alternatif dengan bahan alam juga digunakan dan terus meningkat penggunaannya. Pengobatan tradisional telah menjadi budaya masyarakat Indonesia sejak berabad silam sebagai bagian dari upaya menjaga kesehatan, menambah kebugaran, dan merawat kecantikan, sebelum obat modern ditemukan dan dipasarkan⁽²⁾. Sekarang ini di tengah banyaknya jenis obat modern yang beredar di pasaran, terdapat kecenderungan global untuk kembali ke alam (*back to nature*). Faktor yang mendorong masyarakat untuk mendayagunakan obat bahan alam antara lain relatif mahalnya harga obat modern atau sintetis dan banyaknya efek samping⁽³⁾.

Potensi kekayaan alam Indonesia bagi pengembangan obat tradisional cukup tinggi, mengingat Indonesia merupakan salah satu pusat keragaman hayati terbesar (*mega biodiversity*) di dunia⁽⁴⁾. Wilayah yang tropis ini ditemukan berbagai jenis tanaman salah satunya kangkung. Tanaman Kangkung kaya akan kandungan β -karoten, flavonoid, polifenol dan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi⁽⁵⁾. Beberapa penelitian ilmiah tentang aktivitas kangkung untuk DM telah dilakukan. Malalavidhane et al. melaporkan bahwa ekstrak kangkung air dari Srilanka secara signifikan dapat menurunkan konsentrasi glukosa darah pada tikus jantan⁽⁶⁾. Efektivitasnya dilaporkan setara dengan tolbutamid⁽⁷⁾. Kangkung memiliki 2

varietas yaitu kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) dan kangkung air (*Ipomoea aquatica* F.). Kangkung darat sebagai sayuran lebih banyak dikonsumsi dibandingkan dengan kangkung air. Kangkung darat sebagai sayuran lebih banyak dikonsumsi dibandingkan dengan kangkung air. Penelitian efektivitas kangkung darat sebagai antihiperglikemia telah dilakukan. Kangkung darat dilaporkan efektif menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi streptozotisin⁽⁸⁾. Ekstrak metanol dari daun kangkung juga dilaporkan memiliki aktivitas hipoglikemik yang ampuh pada mencit dengan dosis 200 mg dan 400 mg /KgBB⁽⁹⁾. Hasil penelitian yang dilakukan Hayati *et al.*, melaporkan bahwa infusa kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) mampu menurunkan kadar glukosa darah⁽¹⁰⁾. Pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar selama 14 hari pada mencit dengan dosis 759 mg/kg tidak mengakibatkan gejala toksik dan hasil uji histopatologi menunjukkan tidak ada perubahan yang membahayakan pada organ hepar dan ginjal⁽¹¹⁾. Uji toksisitas tersebut juga melaporkan peningkatan kadar ALT dan AST tergantung dosis ekstrak etanolik kangkung darat yang diberikan, semakin tinggi dosis ekstrak maka fungsi hati semakin menurun⁽¹¹⁾.

Berbagai jenis pengobatan untuk mengatasi DM terus dikembangkan, baik obat konvensional maupun penggunaan obat tradisional. Terapi untuk pengobatan DM memerlukan jangka waktu yang relatif lama. Suatu terapi perlu dinilai kualitas pengendalian glikemik jangka panjang dan efektivitasnya untuk mengurangi resiko terjadinya komplikasi DM serta keamanannya terhadap organ tubuh. Penilaian kondisi DM umumnya dengan mengukur kadar glukosa darah, namun beberapa faktor seperti usia, asupan karbohidrat, aktivitas fisik diketahui dapat mempengaruhi hasil tes ini⁽¹²⁾. Kadar HbA1c dapat mencerminkan kadar glukosa darah rata-rata dalam 6-8 minggu terakhir dan tidak terpengaruh oleh diet⁽¹³⁾. Pengukuran HbA1c tepat untuk memberikan keterangan dalam penatalaksanaan DM dan juga untuk menilai efektivitas obat antihiperglikemia yang diberikan⁽¹³⁾. Hepar salah satu organ penting dalam tubuh, detoksifikasi zat-zat yang dianggap asing oleh tubuh terjadi di hepar sehingga hepar merupakan organ yang rentan terjadi kerusakan. Manifestasi klinik terjadinya kerusakan hepar salah satunya adalah peningkatan kadar enzim *aminotransferase* (transaminase) yaitu enzim ALT (*Alanine Aminotransferase*) dan AST (*Aspartate Aminotransferase*). ALT

merupakan enzim spesifik ada di hati, sehingga lebih akurat untuk menilai fungsi hati⁽¹⁴⁾.

Berdasarkan permasalahan yang telah diuraikan, maka penting untuk dilakukan penelitian mengenai aktivitas ekstrak etanolik daun kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar sebagai antihiperglikemia melalui pengukuran kadar HbA1c dan kadar ALT pada tikus jantan galur Wistar yang dibuat kondisi hiperglikemia.

1.2 Perumusan Masalah

Bagaimana aktivitas ekstrak etanolik daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terstandar sebagai antihiperglikemia terhadap kadar HbA1c dan kadar ALT pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi streptozotosin?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui aktivitas ekstrak etanolik daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terstandar sebagai antihiperglikemia terhadap kadar HbA1c dan kadar ALT pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi streptozotosin.

1.4 Manfaat Penelitian

Akhir dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, berupa:

1. Menambah informasi mengenai aktivitas antihiperglikemia dari ekstrak etanolik daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terstandar.
2. Khasanah ilmu pengetahuan bagi tenaga kesehatan khususnya dan bagi masyarakat pada umumnya mengenai kangkung sebagai obat tradisional.
3. Ekstrak etanolik daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terstandar terbukti memiliki aktivitas antihiperglikemia, maka ekstrak tersebut dapat dijadikan sebagai terapi alternatif bagi penderita diabetes mellitus.

BAB II

STUDI PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Diabetes Mellitus (DM)

2.1.1.1 Tinjauan Umum

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang semakin meningkat prevalensinya, DM merupakan masalah kesehatan masyarakat di seluruh dunia. Penyakit ini sekarang tidak hanya dialami penduduk di negara-negara makmur, namun di negara-negara berkembang yang dulu penduduknya sedikit yang mengalami DM, kini justru jumlah penderita DM semakin meningkat. Penyebab utamanya adalah karena perubahan gaya hidup. Prevalensi DM di Indonesia pada laki- laki lebih tinggi dibanding pada wanita⁽¹⁵⁾.

2.1.1.2 Definisi Diabetes Mellitus

Menurut *American Diabetes Association* (ADA) tahun 2014 DM didefinisikan sebagai sekelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia yang disebabkan karena penurunan sekresi insulin, penurunan kerja insulin, atau keduanya. Manifestasi utamanya mencakup gangguan metabolisme lipid, karbohidrat, dan protein. Kelainan metabolisme tersebut karena kekurangan insulin pada jaringan target, yaitu hasil dari berkurangnya aksi insulin karena sekresi insulin tidak memadai dan/ atau respon jaringan terhadap insulin berkurang. Insulin adalah hormon yang diproduksi di pankreas yang membawa glukosa dari makanan masuk ke dalam sel-sel tubuh untuk diubah menjadi energi yang dibutuhkan oleh otot-otot dan jaringan. Seseorang menderita DM tidak dapat menyerap glukosa dengan baik, dan glukosa tetap beredar di darah (kondisi yang dikenal sebagai hiperglikemia) yang dari waktu ke waktu dapat menyebabkan penyakit komplikasi, seperti gangguan mikrovaskular dan makrovaskuler⁽¹⁵⁾.

2.1.1.3 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus diklasifikasikan menjadi 4, yaitu DM tipe 1 (IDDM = *insulin dependent diabetes mellitus*) dan DM tipe 2 (NIDDM = *non- insulin*

dependent diabetes mellitus), DM gestasional dan DM lain-lain⁽¹⁵⁾.

1. Diabetes Mellitus tipe 1

Diabetes mellitus tipe 1 merupakan jenis DM tergantung insulin atau IDDM, diperantarai oleh degenerasi sel β Langerhans pankreas akibat infeksi virus, pemberian senyawa toksin, diabetogenik (streptozotosin, aloksan) atau secara genetik (*wolfarm syndrome*) yang mengakibatkan produksi insulin sangat rendah atau berhenti sama sekali⁽¹⁶⁾. Sekitar 5-10% penderita DM merupakan penderita tipe ini. Secara patofisiologi, penyakit ini terjadi lambat dan membutuhkan waktu bertahun-tahun, biasanya terjadi sejak anak-anak atau awal remaja. Diabetes mellitus tipe 1, kadar glukosa sangat tinggi, tetapi tubuh tidak dapat memanfaatkannya secara optimal untuk membentuk energi. Energi diperoleh melalui peningkatan katabolisme protein dan lemak, akibatnya banyak badan-badan keton yang terbentuk sehingga sering dijumpai ketosis pada penderita DM tipe 1 yang tidak terkontrol⁽¹⁵⁾.

2. Diabetes Mellitus tipe 2

Diabetes mellitus tipe 2 merupakan jenis DM tidak tergantung insulin (NIDDM), secara patofisiologi disebabkan karena 2 hal yaitu (1) penurunan respon jaringan perifer terhadap insulin, peristiwa tersebut dinamakan resistensi insulin, dan (2) penurunan kemampuan sel β pankreas untuk mensekresi insulin sebagai respon terhadap beban glukosa⁽¹⁶⁾. Sebagian besar penderita DM yaitu 90-95% merupakan penderita tipe ini. Diabetes mellitus tipe 2 umumnya diawali dengan kegemukan karena kelebihan makan. Pemberian obat-obatan oral antidiabetes seperti sulfonilurea masih dapat merangsang kemampuan sel β -Langerhans pankreas untuk mensekresi insulin⁽¹⁵⁾.

3. Diabetes Mellitus Gestasional

Dinyatakan DM gestasional jika terjadi intoleransi glukosa pada saat pertama kali kehamilan. Penyakit ini terjadi kira-kira 7% dari seluruh kejadian kehamilan. Wanita dengan DM gestasional yang tidak dikelola memiliki resiko akan keguguran spontan, kecacatan bayi, kelebihan berat badan bayi atau kematian perinatal dan resiko pengembangan diabetes tipe 2 pada ibu dan anak⁽¹⁾.

4. Diabetes Mellitus lain- lain

Diabetes mellitus tipe ini relatif tidak diketahui penyebabnya. Kemungkinan disebabkan oleh faktor yang spesifik yaitu secara genetik dan atau karena *drug related problem* atau akibat penggunaan obat. Pada pasien ditunjukkan adanya hiperglikemia ringan pada usia dini⁽¹⁷⁾.

2.1.1.4 Gejala Diabetes Mellitus

Gejala diabetes antara lain: rasa haus yang berlebihan (polidipsi), sering kencing (poliuri) terutama malam hari, sering merasa lapar (poliphagi), penurunan berat badan dengan cepat, keluhan mudah lemah, kesemutan pada tangan dan kaki, penglihatan jadi kabur, luka sulit sembuh, keputihan, penyakit kulit akibat jamur di bawah lipatan kulit, dan pada ibu-ibu sering melahirkan bayi besar dengan berat badan >4 kg. Menderita sebagai DM jika pernah didiagnosis menderita kencing manis oleh dokter atau belum pernah didiagnosis menderita kencing manis oleh dokter tetapi dalam 1 bulan terakhir mengalami gejala: sering lapar, sering haus, sering buang air kecil jumlah banyak dan berat badan turun⁽¹⁵⁾.

2.1.1.5 Diagnosis Diabetes Mellitus

Menurut *American Diabetes Association* (ADA) 2014, untuk mendiagnosis kriteria diabetes mellitus seseorang perlu dilakukan pengukuran kadar glukosa darah melalui pengukuran seperti glukosa darah puasa (GDP), glukosa darah sewaktu (GDS) dan pengukuran kadar HbA1c⁽¹⁵⁾. Berikut ini tabel kriteria diagnosis DM:

Tabel 2.1 Kriteria diagnosis DM ⁽¹⁵⁾.

Status	Glukosa Darah Puasa (GDP) atau HbA _{1c}	Glukosa Darah Sewaktu (GDS)
Diabetes Mellitus (DM)	GDP \geq 126 mg/dl (7 mmol/L) pada 2x pemeriksaan atau HbA _{1c} \geq 6,5% dan GDP \geq 126 mg/dl (7 mmol/L). HbA _{1c} \geq 7% pada 2x pemeriksaan	Glukosa darah sewaktu \geq 200 mg/dl (11,1 mmol/L) ditambah gejala diabetes .
Pre-DM	GDP \geq 100 dan <126 mg/dl pada 2x pemeriksaan atau HbA _{1c} \geq 5,7% dan GDP \geq 100 dan <126 mg/dl (7 mmol/L).	-
Normal	GDP <100 mg/dl, HbA _{1c} <5,7% .	-

2.1.1.6 Terapi Diabetes Mellitus

(1) Diet

Pasien dengan hiperglikemia ringan, terapi yang efektif adalah dengan cara mengurangi/ membatasi asupan kalori. Rekomendasi menurut *International Diabetic Federation* (IDF) diet untuk membatasi pemasukan gula terutama dalam makanan dan minuman olahan. Salah satu faktor yang dapat menyebabkan kondisi hiperglikemia tidak terkontrol⁽¹⁾.

(2) Terapi oral

Pengurangan berat badan, latihan fisik dan modifikasi diet dapat menurunkan resistensi insulin dan memperbaiki kondisi hiperglikemia pada DM tipe 2 pada beberapa penderita. Pengendalian hiperglikemia, kebanyakan masih tergantung pada obat-obat antihiperglikemia oral. Sulfonilurea dan metformin merupakan obat-obat antihiperglikemia oral yang pertama dan banyak digunakan. Selain itu banyak obat antihiperglikemia oral yaitu golongan penghambat α -glukosidase, golongan thiazolidinedion. Efek samping dari obat-obat ini yaitu penambahan berat badan (kecuali pada metformin), hipoglikemik, edema, dan gangguan gastrointestinal⁽¹⁶⁾.

(3) Insulin

Hormon insulin disekresi secara alami pada tubuh manusia oleh sel- β pankreas. Insulin merupakan obat antihiperglikemia yang paling ampuh, namun hanya direkomendasikan pada terapi DM tipe 1 karena mempunyai efek samping berupa penambahan berat badan, reaksi alergi dan hipersensitivitas. Tujuan pemberian insulin pada DM tipe 1 adalah untuk memelihara konsentrasi glukosa darah mendekati kadar normal dan mencegah belokan kadar glukosa darah yang dapat menyokong timbulnya komplikasi jangka panjang⁽¹⁶⁾.

2.1.2 Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir)

2.1.2.1 Klasifikasi Dan Morfologi Tanaman Kangkung

Kangkung merupakan tanaman yang mudah di temui di Indonesia, memiliki nama yang berbeda-beda di tiap daerah di Sumatra disebut rumpun, kalayau, kangkueng, lalidih. Jawa: kangkung. Nusa Tenggara: pangpung, lara, angodono. Sulawesi: kangko, kanto, tatanggo, tango, naniri. Maluku: utangko, beehob, takako⁽¹⁸⁾. Kangkung memiliki daun panjang, ujung agak runcing, warna hijau keputih-putihan dan bunga putih. Kangkung dapat tumbuh lebih dari satu tahun, di dataran rendah sampai dataran tinggi 2000 mdpl, karena itu kangkung dapat tumbuh subur hampir diseluruh kawasan nusantara⁽¹⁹⁾.



Gambar 2.1 kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir) yang diperoleh dari daerah Sidorejo, Muruh, Gantiwarno, Klaten, Yogyakarta.¹

Klasifikasi tanaman kangkung yaitu⁽²⁰⁾:

- Kingdom : Plantae (tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (berpembuluh)
- Superdivisio : Spermatophyta (menghasilkan biji)
- Divisio : Magnoliophyta (berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua atau dikotil)
- Sub kelas : Asteridae
- Ordo : Solanales
- Familia : Convolvulaceae (suku kangkung-kangkungan)
- Genus : *Ipomoea*
- Spesies : *Ipomoea reptans* Poir.

¹ Dokumen peneliti

2.1.2.2 Kandungan dan khasiat kangkung

Kandungan gizi daun kangkung yang hijau yaitu air 90%, karbohidrat 4,3%, protein 3%, lemak 0,4%, serat 0,9%. Daun kangkung juga kaya mengandung zat-zat metabolit sekunder seperti zat mineral 2% (kalsium, fosfor dan zat besi), asam nikotik 0,6 mg/100g, riboflavin 120 mg/100g, vitamin A 6300 SI/100g, vitamin C 137 mg/100g, vitamin E 11 mg/100g, karotenoid, dan polifenol⁽²⁰⁾. Kandungan flavonoid seperti polifenol (myricetin, quercetin, luteolin, apigenin, dan kaempferol), vitamin C dan vitamin E yang terkandung dalam daun kangkung dapat memelihara fungsi sel β -pankreas dan mencegah terbentuknya radikal bebas (*reactive oxygen species*) yang merupakan faktor utama terjadinya diabetes mellitus⁽²¹⁾.

Secara tradisional daun dan batang kangkung telah dimanfaatkan oleh masyarakat di nusantara untuk mengatasi keracunan makanan, kencing nanah, mimisan, batuk berdarah, terkilir, digigit ular, dan serangga⁽¹⁸⁾. Masyarakat di Yunani menggunakannya sebagai obat untuk mengatasi demam, inflamasi, bronkhitis dan gangguan hati. Jus batang dan daun kangkung di negara Laos digunakan sebagai emetik pada keracunan arsenik atau opium. Uji farmakologi kangkung menggunakan ekstrak menunjukkan aktifitas potensial sebagai antidiabetik dan aktifitas antioksidan yang baik, ekstrak metanol daun kangkung juga memiliki aktifitas hipolipid poten terhadap tikus hiperlipid⁽²⁰⁾.

2.1.3 Standarisasi Ekstrak

Standarisasi dalam kefarmasian adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait paradigma mutu kefarmasian, yaitu memenuhi syarat standar secara kimia, biologi, dan farmasi, termasuk batas-batas stabilitas sebagai produk kefarmasian umumnya. Tujuan dari standarisasi ekstrak adalah untuk mempertahankan konsistensi kandungan senyawa aktif dalam ekstrak⁽²²⁾.

Persyaratan mutu ekstrak terdiri dari berbagai parameter spesifik dan nonspesifik. Parameter spesifik adalah aspek yang terkait dengan kandungan kimia baik secara kualitatif maupun kuantitatif yang bertanggung jawab terhadap aktifitas farmakologi, yang termasuk parameter ini diantaranya yaitu identitas ekstrak,

organoleptik ekstrak, senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, dan kandungan senyawa kimia. Sedangkan parameter nonspesifik merupakan parameter yang berkaitan dengan aspek keamanan dan kestabilan ekstrak, diantaranya kadar air, kadar abu, susut pengeringan dan bobot jenis, sisa pelarut, residu pestisida, cemaran logam berat, cemaran mikroba, cemaran kapang dan khamir serta aflatoxin⁽²²⁾.

Hasil standarisasi ekstrak etanol daun kangkung darat dari daerah dukuh Sidorejo, Kelurahan Muruh, Kecamatan Gantiwarno, Kabupaten. Klaten yang telah dilakukan, secara lengkap hasilnya terdapat pada tabel 2.2^(23,24):

Tabel 2.2 Hasil standarisasi ekstrak etanol daun kangkung darat hasil budidaya petani Kelurahan Muruh, Kecamatan Gantiwarno, Kabupaten Klaten^(23,24).

No	Parameter	Hasil	Acuan	Keterangan
1	Rendemen	9,36%	-	Sesuai
2	Organoleptik	Kental Hitam kehijauan	Endah, 2003	Sesuai
	Bentuk		Kental	
	Warna		Hitam kehijauan	
	Bau	Khas kangkung	Khas kangkung	
	Rasa	Asam, pahit	Asam, pahit	
3	Pola kromatogram	R_f : 0,94	R_f : 0,88	Sesuai
4	Kadar β - karoten	$3,2 \pm 1,6\%$ b/b	-	-
5	Bobot jenis	$0,82 \pm 4,50 \times 10^{-3}$	-	Sesuai
6	Kadar air	$11,05 \pm 0,13\%$ b/b	Saifudin, A., 2011. 5-30% b/b	Sesuai
7	Kadar abu		MMI Edisi V, 1989	
	Total	$7,10 \pm 0,35\%$ b/b	Tidak lebih dari 8,6% b/b	Sesuai
	Tidak larut asam	$0,0057 \pm 1,6398$ %b/b	Tidak lebih dari 1% b/b	Sesuai
8	Cemaran logam berat: Pb dan Cd	<LoD	SNI 7387-2009: Pb: < 10 mg/Kg Cd: < 0,5 mg/Kg	Sesuai
9	Cemaran mikroba: uji angka cemaran mikroba	ND	SNI 7388-2009: mikroba : < 10^5 koloni/g	Sesuai
10	Uji sisa pelarut etanol	Negatif	-	Sesuai

2.1.4 Model Hewan Uji Diabetes Mellitus

Model hewan uji untuk studi DM telah berkontribusi besar, memberikan kesempatan pada para peneliti untuk mengkaji lebih dalam secara *in vivo* faktor genetik dan faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi perkembangan penyakit dan pembentukan komplikasi DM, dengan demikian banyak informasi baru yang didapatkan untuk penanganan dan pengobatan pada manusia⁽²⁵⁾. Meskipun demikian, kondisi patologis hewan percobaan tersebut tidak sepenuhnya menggambarkan kondisi patologis secara riil pada manusia. Hal ini disebabkan karena beberapa hal antara lain: perbedaan kondisi fisiologi, perbedaan patologis dari beberapa model diabetes mellitus, ragamnya penyakit diabetes mellitus, serta adanya komplikasi yang menyertai dari penyakit tersebut⁽²⁶⁾. Model hewan yang digunakan dalam penelitian biomedis dapat diklasifikasikan ke dalam lima kelompok: 1) model spontan, dimana penyakit atau kondisi terjadi secara spontan pada hewan seperti pada manusia, 2) eksperimen, 3) model rekayasa genetika di mana penyakit atau kondisi diinduksi secara kimia /pembedahan atau dengan manipulasi genetik, 4) model negatif, hewan tahan terhadap kondisi atau penyakit tertentu dan 5) model orphan, yaitu model hewan dengan penyakit yang tidak diketahui oleh peneliti. Penggunaan hewan harus mengikuti mengikuti asas *4R* yaitu: *Replacement* (penggantian), mengganti hewan dengan alternatif model non-hewani, *Reduction* (Pengurangan), mengurangi jumlah hewan yang digunakan dalam penelitian; dan *Refinement* (perbaikan), dengan perawatan terbaik yang dapat diberikan kepada hewan dan *Responsibility* (penuh tanggungjawab). Meskipun ada banyak perdebatan tentang nilai sebenarnya dari menggunakan model hewan dalam studi diabetes, namun model eksperimental penting sebagai alat untuk memahami dasar molekuler, patogenesis, komplikasi dan kegunaan dari agen terapeutik pada penyakit multifaktorial seperti diabetes mellitus⁽²⁵⁾. Model hewan uji diabetes dikategorikan dalam tiga tipe yaitu:

a) Model diabetes tipe 1

Lima tipe hewan uji untuk studi diabetes mellitus tipe 1 yang sering digunakan yaitu: mencit NOD, tikus BB rentan diabetes, tikus LETL, tikus KDP dan tikus LEW-iddm. Selain model-model tersebut yang dapat mempresentasikan penyakit karena modifikasi secara genetic, para ilmuwan mengembangkan model lain

seperti induksi dengan virus (*the encephalomyelitis virus variant D*) dan agen diabetogenik seperti streptozotosin atau aloksan⁽²⁵⁾.

b) Model diabetes tipe 2

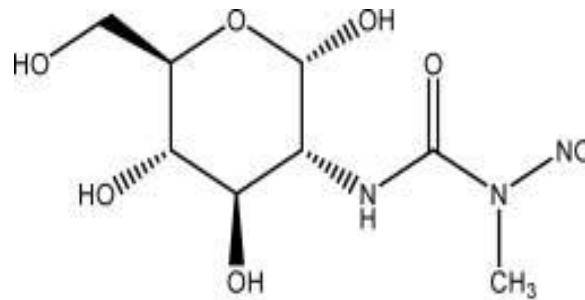
Diabetes mellitus tipe 2, adalah gangguan metabolisme yang sangat kompleks di mana latar belakang genetik dan faktor lingkungan (misalnya obesitas dan usia) berinteraksi dan berkontribusi pada pembentukan penyakit⁽²⁵⁾.

Terbagi menjadi 3 kelompok model yaitu⁽²⁵⁾:

1. Model tikus obesitas seperti tikus ob/ob, tikus db/db, tikus fa/fa. Model-model diabetes mengembangkan obesitas karena mutasi pada gen leptin (ob/ob) atau reseptor leptin (db/db dan fa/fa), yang akhirnya dapat menyebabkan munculnya diabetes.
 2. Model tikus non- obesitas seperti tikus GK, tikus mutan C57BL/6, tikus yang diinduksi kimia dengan STZ atau aloksan, pada saat setelah berumur 3-4 minggu tikus mengalami kondisi polidipsia, poliuria, hiperinsulinemia progresif dan akhirnya hiperglikemia. Pemberian senyawa diabetogenik seperti STZ menurunkan kemampuan sel β Langerhans pankreas dalam mensekresi insulin, mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah seperti pada kondisi DM tipe 2.
 3. Model non-tikus, seperti babi, primata, dan kucing.
- c) Model tidak dikategorikan menurut jenis diabetes, model hewan diabetes tidak selalu bisa dikategorikan ke dalam DM tipe 1 atau DM tipe 2 digunakan untuk menggambarkan dan mempelajari gejala umum diabetes seperti efek hiperglikemia atau komplikasi diabetes⁽²⁵⁾.

2.1.5 Streptozotosin

Streptozotosin (STZ) merupakan salah satu agen antibiotik golongan nitrosurea, senyawa yang dihasilkan dari *Streptomyces acromogenes*. Streptozotosin (STZ) digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 maupun DM tipe 2 pada hewan uji. Mekanisme kerja dari senyawa ini yaitu degenerasi dan nekrosis sel β -pankreas yang menyebabkan penurunan sekresi insulin⁽²⁶⁾.



Gambar 2.2 Struktur Streptozotocin (STZ)⁽²⁶⁾.

Streptozotocin merupakan donor NO (*nitric oxide*) yang mempunyai kontribusi terhadap kerusakan sel tersebut melalui peningkatan aktivitas guanil siklase dan pembentukan cGMP. Selain itu, STZ juga mampu membangkitkan oksigen reaktif, yang berperan penting pada kerusakan sel β -pankreas⁽²⁶⁾.

Streptozotocin menembus sel β langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Aksi STZ intraseluler menghasikan perubahan DNA sel β pankreas. Alkilasi DNA oleh STZ melalui gugus nitrosourea mengakibatkan kerusakan pada sel β pankreas. Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktifasi poli ADP-ribosilasi yang kemudian mengakibatkan penekanan NAD⁺ seluler, selanjutnya penurunan jumlah ATP, dan akhirnya terjadi penghambatan sekresi dan sintesis insulin⁽²⁶⁾. Kondisi hiperglikemia (kadar glukosa darah puasa >200mg/dl) secara permanen terjadi pada hewan uji setelah 10-12 jam pemberian induksi, ditandai dengan gejala klinis pada hewan uji berupa polifagia, polydipsia, poliurea dan pengurangan berat badan⁽²⁶⁾.

Dosis STZ yang biasa digunakan untuk menginduksi DM tipe I pada hewan uji tikus yaitu 40-50 mg/kgBB (intravena) dan lebih dari 40 mg/kgBB pemberian secara intraperitoneal. Pemberian STZ secara berulang dapat menginduksi DM tipe I yang diperantarai aktivasi sistem imun. Diabetes Mellitus tipe II dapat diinduksi dengan STZ 100 mg/kgBB (intravena atau intraperitoneal) pada tikus yang berumur 2 hari kelahiran⁽²⁶⁾. Induksi dosis rendah STZ 40mg/kgBB secara intraperitoneal menghasilkan diabetes tipe 2 (*diabetes mellitus non-insulin dependent*), namun beberapa laporan perkembangan selanjutnya biasa menjadi DM tipe 1⁽²⁷⁾.

2.1.6 Hemoglobin A1c (HbA1c)

Hemoglobin A1c (HbA1c) telah digunakan selama beberapa dekade untuk memantau kontrol glikemia pada diabetes. Pada tahun 2010 ADA memasukkan kadar HbA1c dalam kriteria diagnosis diabetes⁽¹⁵⁾. Badan kesehatan dunia WHO juga menyimpulkan bahwa HbA1c dapat digunakan sebagai tes diagnostik untuk diabetes⁽²⁸⁾. Hemoglobin A1c (HbA1c) merupakan komponen minor paling besar dari sel darah manusia, normalnya 4% dari total hemoglobin, ditemukan peningkatan komponen tersebut sebanyak dua sampai tiga kali lipat pada pasien diabetes⁽²⁹⁾. HbA1 memiliki tiga jenis yaitu HbA1a, HbA1b dan HbA1c. Hemoglobin A1c merupakan ikatan antara hemoglobin dengan glukosa, sedangkan fraksi-fraksi lain merupakan ikatan antara hemoglobin dan heksosa lain. Struktur molekuler HbA1c adalah *N-(1-deoxy)-fructosyl-hemoglobin* atau *N-(1-deoxyfructose-1-yl) hemoglobin beta chain*⁽¹³⁾.

Glikasi hemoglobin tidak dikatalisis oleh enzim, tetapi melalui reaksi kimia akibat paparan glukosa yang beredar dalam darah terhadap sel darah merah. Pada penderita DM kadar glukosa darah lebih tinggi dari normal, laju sintesis HbA1c meningkat sesuai dengan konsentrasi glukosa yang terikat pada eritrosit, selama pemaparan. Konsentrasi HbA1c tergantung pada konsentrasi glukosa darah dan usia eritrosit. Kadar HbA1c normal adalah 3,5%-5%. Kadar rata-rata glukosa darah 30 hari sebelumnya merupakan kontributor utama HbA1c. Kontribusi bulanan rata-rata glukosa darah terhadap HbA1c adalah: 50% dari 30 hari terakhir, 25% dari 30-50 hari sebelumnya dan 25% dari 50-120 hari sebelumnya. Hubungan langsung antara HbA1c dan rata-rata glukosa darah terjadi karena eritrosit terus menerus terglykasi selama 120 hari masa hidupnya dan laju pembentukan glikohemoglobin setara dengan konsentrasi glukosa darah. Kadar HbA1c 6% sama dengan konsentrasi glukosa rata-rata 126 mg/dl dan setiap peningkatan kadar HbA1c 1% sama dengan peningkatan kadar glukosa rata-rata 29 mg/dl. Hasil HbA1c dilaporkan dalam unit *International Federation for Clinical Chemistry/ IFCC* (mmol/mol) dan unit *National Glycohemoglobin Standardization Program /NGSP* (%)⁽¹³⁾.

2.1.7 Enzim Alanin aminotransferase (ALT)

Enzim *aminotransferase* (transaminase) merupakan salah satu parameter biokimia hepar yang dapat dijadikan pertanda fungsi hepar, ada 2 golongan enzim tersebut yaitu aspartat aminotransferase (AST/SGOT) dan alanin aminotransferase (ALT/SGPT). Enzim-enzim tersebut merupakan indikator yang sensitif terhadap adanya kerusakan hepar. Peningkatan kadar enzim-enzim tersebut mencerminkan adanya kerusakan hepar. Infeksi virus, konsumsi alkohol, dan gangguan metabolisme dapat menyebabkan terjadinya kerusakan hepar. Kondisi DM memerlukan terapi dalam jangka waktu relatif lama. Penggunaan obat terus menerus dapat mempengaruhi fungsi organ tubuh terutama hepar, karena metabolisme di hepar dapat terganggu. Alanin aminotransferase merupakan enzim yang lebih dipercaya dalam menentukan adanya kerusakan hepar dibandingkan AST, karena ALT terutama ditemukan di hepar, sedangkan enzim AST dapat ditemukan di hepar, otot jantung, otot rangka, ginjal, pankreas, otak, paru, sel darah putih, dan sel darah merah⁽¹⁴⁾. Nilai normal ALT pada manusia yaitu pada pria 10-32 U/L dan wanita 9-24 U/L⁽³⁰⁾. Nilai normal ALT pada hewan uji tikus jantan umur 8-16 minggu 35-80 U/L⁽³¹⁾.

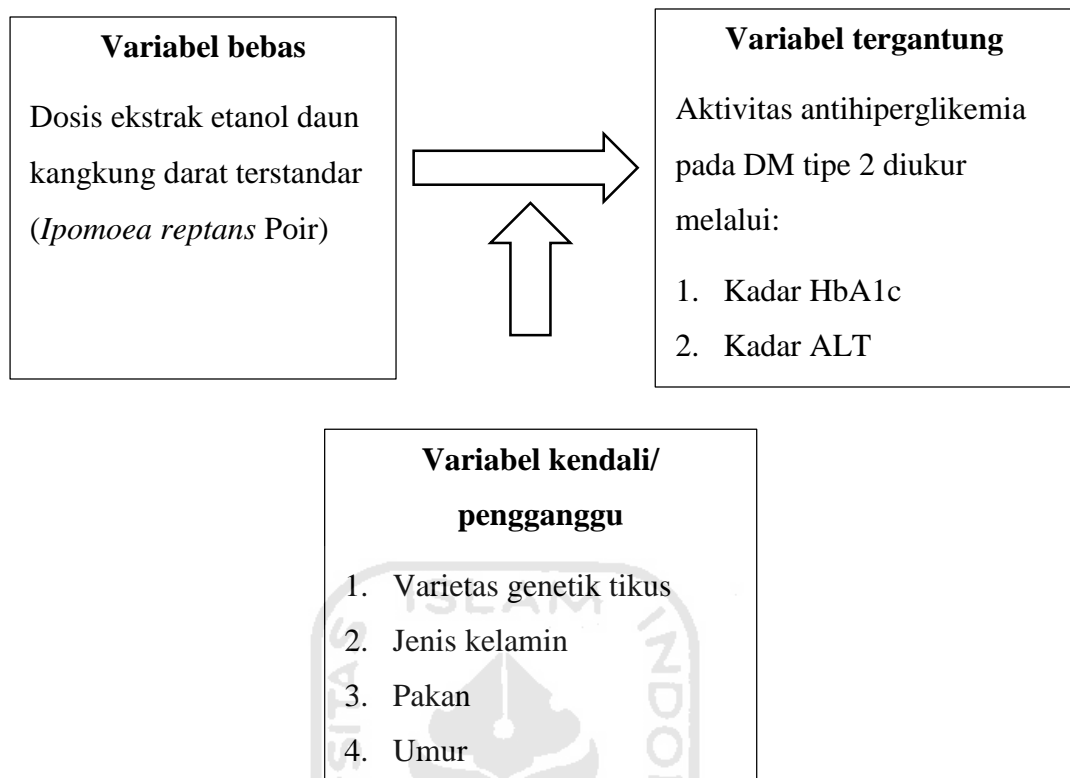
2.1.8 Metode Uji Diabetes Mellitus dan Penetapan Kadar Glukosa Darah

Glukosa merupakan sumber energi utama sel suatu organisme. Glukosa suatu monosakarida, setelah makan konsentrasinya di dalam darah sebanyak 5mmol/L. Menurunnya kadar insulin akibat kerusakan sel β pankreas menyebabkan terganggunya penggunaan glukosa darah oleh sel. Penentuan konsentrasi glukosa penting dalam diagnosis dan pengobatan gangguan metabolisme karbohidrat seperti DM. Metode yang dapat digunakan untuk menetapkan kadar glukosa darah ada beberapa macam salah satunya adalah metode enzimatik (GOD-PAP). Prinsip kerja enzim GOD-PAP yakni serum darah yang mengandung glukosa akan bereaksi dengan enzim glukosa oksidase (GOD) membentuk asam glukonat dan H_2O_2 . Hidrogen peroksida yang terbentuk dalam reaksi ini bereaksi dengan 4-*aminoantipirin* (4-asam *hidroksibenzoat*) akan membentuk *N-(4-antipiryl)-P benzoquinone imine* yang di katalis oleh enzim peroksidase (POD). Jumlah zat warna merah yang terbentuk sebanding dengan jumlah konsentrasi glukosa. Semakin pekat warna merah yang terbentuk, artinya kadar glukosa darah juga tinggi⁽³²⁾.

2.2 Landasan Teori

Kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) mengandung β -karoten, flavonoid, vitamin E dan C memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. aktivitas antioksidan dapat menghambat *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang menyebabkan stress oksidatif. Stress oksidatif akan memberikan kontribusi terhadap kerusakan sel β pankreas dan terjadi resistensi insulin sehingga memperburuk kondisi diabetes. Beberapa penelitian ilmiah tentang kangkung telah melaporkan aktivitas kangkung sebagai antihiperqlikemia pada hewan model diabetes eksperimental. Malalavidhane *et al.* melaporkan ekstrak kangkung dari Srilanka secara signifikan dapat menurunkan konsentrasi glukosa darah pada tikus jantan. Efektivitasnya dilaporkan setara dengan tolbutamid. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dilaporkan bahwa kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir) dari Indonesia mampu menurunkan kadar glukosa darah. Konsentrasi HbA1c tergantung pada konsentrasi glukosa darah, pada individu yang memiliki kadar glukosa darah tinggi, seperti pada diabetes mellitus didapatkan kadar HbA1c lebih tinggi. Pemberian berulang ekstrak etanolik kangkung darat terstandar selama 14 hari menunjukkan hasil uji toksisitas tidak ada gejala toksik pada organ hepar mencit dan selanjutnya uji histopatologis menunjukkan tidak adanya perubahan yang membahayakan pada organ hepar dan ginjal. Berdasarkan pemaparan tersebut diduga ekstrak etanolik daun kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar dapat mengontrol kadar glukosa darah ditandai dengan penurunan kadar HbA1c dan pada dosis terapi yang diberikan tidak mempengaruhi fungsi hati yang ditandai dengan kadar ALT normal.

2.3 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.3 Kerangka Konsep Penelitian

2.4 Hipotesis

Ekstrak daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terstandar dapat mengontrol kadar glikemia dengan ditandai penurunan kadar HbA1c dan tidak mempengaruhi fungsi hati pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi streptozotosin.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan

3.1.1.1 Bahan uji

Bahan uji yang digunakan berupa ekstrak etanol daun kangkung darat terstandar (*Ipomoea reptans* Poir.). Tanaman kangkung darat diperoleh dari petani kangkung di daerah Dukuh Sidorejo, Kelurahan Muruh, Kecamatan Gantiwarno, Kabupaten Klaten, Jawa Tengah.

3.1.1.2 Hewan uji

Hewan uji tikus jantan galur Wistar diperoleh dari peternak hewan Suryodineratan MJ II/636 YK Jogjakarta. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.

1. Kriteria Inklusi dan Eksklusi pada hewan uji
 - a. Kriteria Inklusi
 - 1) Umur 8- 10 minggu.
 - 2) Tikus dengan berat badan 150-220 gram.
 - 3) Secara makroskopis tidak ada kelainan anatomik.
 - 4) Kadar Glukosa Darah Puasa 70-208 mg/dl⁽³³⁾.
 - b. Kriteria Eksklusi
 - 1) Tikus mati selama perlakuan.
 - 2) Tikus gagal menjadi DM setelah diinduksi STZ.
2. Perhitungan besar sampel.

Besar sampel keseluruhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 30 ekor. Dimana 30 ekor tikus putih tersebut dibagi dalam 6 kelompok uji, yang masing-masing kelompok uji terdiri dari 5 ekor tikus jantan galur Wistar. Perhitungan besar sampel dihitung dengan rumus Federer sebagai berikut:

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

$$(6-1) (n-1) \geq 15$$

$$(n-1) \geq 3$$

$$n = 4$$

Keterangan:

t: Jumlah kelompok uji

n: Besar sampel per kelompok

Besar sampel ideal menurut hitungan rumus Federer diatas adalah 4 ekor tikus atau lebih. Peneliti memilih untuk menggunakan 5 ekor tikus jantan galur Wistar.

$$\begin{aligned} \text{Besar sampel (N)} &= t \times n \\ &= 5 \times 6 = 30 \text{ ekor tikus jantan galur Wistar} \end{aligned}$$

3.1.1.3 Bahan lain

Kertas saring, *microtube*, spuit oral, spuit injeksi, *eppendorf*, *blue tip*, *yellow tip*, reagen HbA1c, reagen ALT, reagen GOD-PAP, etanol 96%, akuabidestilata, standar β -karoten, etanol, natrium klorida 0,9%, akuades, streptozotosin serbuk, buffer Na. sitrat pH 4,5, glibenklamid, ketamin, Na. CMC, petroleum eter, aseton, sillica GF₂₅₄.

3.1.2 Alat

Alat- alat yang digunakan adalah neraca analitik (METTLER TOLEDO), pH meter (METTLER TOLEDO), alat-alat gelas, mikropipet, oven, *waterbath*, grinder, instrument spektrofotometer UV-Vis, instrument GC (MODEL 910 GC), densitometer (CAMAG TLC Scanner 3), alat *Karl Fischer*, *chamber* KLT, timbangan tikus (OHAUSS), *rotary evaporator*, *sentrifuge*, pipa kapiler, mikropipet, *eppendorf*, spatula, kandang tikus, sarung tangan, dan masker.

3.2 Cara Penelitian

3.2.1 Determinasi tanaman kangkung

Determinasi kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

3.2.2 Pengajuan *Ethical Clearance*

Pengajuan surat permohonan kepada komite etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dan disertai dengan proposal penelitian.

3.2.3 Koleksi tanaman

Penelitian ini menggunakan kangkung darat yang berasal dari dukuh Sidorejo, Kelurahan Muruh, Kecamatan Gantiwarno, Kabupaten Klaten. Pemanenan dilakukan pada usia tanaman ± 30 hari. Waktu pemanenan dipilih pagi hari agar tanaman masih tampak segar. Kriteria pemilihan daun kangkung darat adalah yang segar, berwarna hijau, dan tidak rusak dimakan hama.

3.2.4 Pembuatan ekstrak etanolik daun kangkung darat

Daun kangkung darat dikeringkan di lemari pengering pada suhu 40 °C hingga menjadi simplisia kering. Simplisia kering kemudian diserbuk menggunakan grinder. Maserasi menggunakan serbuk simplisia sebanyak 1,5 kg dilarutkan ke dalam 15 liter etanol 96% (1:10) dan dilakukan pengadukan satu kali sehari selama 30 menit. Maserasi dilakukan selama 6 hari dan 1 kali remaserasi selama 6 hari. Remaserasi dilakukan dengan penambahan pelarut yang baru dengan proses yang sama seperti pada proses maserasi. Hasil ekstraksi yang telah diperoleh kemudian disaring menggunakan kertas saring dan penyaring *Buchner*. Setelah diperoleh maserat cair, kemudian dilakukan pemekatan agar diperoleh ekstrak kental menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 60 °C dengan kecepatan 60 rpm. Ekstrak kental yang diperoleh dikemas di dalam wadah tertutup rapat dan disimpan di dalam desikator⁽²⁴⁾. Perhitungan persentase rendemen dilakukan dengan cara membandingkan antara bobot ekstrak kental dengan bobot serbuk daun kangkung (lampiran 6).

3.2.5 Standarisasi Ekstrak

3.2.5.1 Parameter Spesifik

a. Deskripsi tanaman

Deskripsi tanaman dibimbing tenaga botani berpengalaman yang dilakukan secara visual dengan mendeskripsikan nama latin, morfologi tumbuhan dan nama Indonesia yang mengacu pada buku *Flora of Java*⁽³⁴⁾.

b. Organoleptik

Uji organoleptik menggunakan pancaindra untuk mendeskripsikan bentuk, warna, bau, dan rasa dari suatu tumbuhan atau simplisia. Uji organoleptik dilakukan dengan pengenalan awal yang sederhana dan objektif. Ekstrak diambil sebanyak tidak lebih dari 25 g, dan dibiarkan terkena udara selama 15 menit, kemudian diamati⁽²³⁾.

c. Uji R_f senyawa marker (β -karoten)

Ekstrak dibuat dengan konsentrasi 3% menggunakan pelarut etanol 96%. Fase diam yang digunakan adalah silika GF₂₅₄, sebelum digunakan diaktifkan terlebih dahulu di dalam oven suhu 100 °C selama 1 jam. Fase gerak yang digunakan adalah campuran petroleum eter: aseton (7:3). Senyawa marker yang digunakan untuk pengujian pola kromatogram adalah β -karoten dengan konsentrasi 1%. Setelah penotolan ekstrak dan standar β -karoten pada plat KLT, kemudian plat dimasukkan untuk dielusi ke dalam *Chamber* yang telah dijenuhkan dengan fase gerak. Spot yang terbentuk dibaca dibawah sinar UV₂₅₄, dihitung nilai R_f senyawa β -karoten dibandingkan dengan R_f β -karoten standar^(22,23).

3.2.5.2 Parameter Non-Spesifik

a. Kadar Air

Pengukuran kadar air di dalam ekstrak dilakukan dengan metode *Karl Fischer*. Titrasi dengan alat *Karl Fischer* menggunakan reaksi reduksi iodin oleh sulfurdioksida dengan adanya air. Ekstrak diambil ± 3 ml dan ditimbang bobotnya. Alat *Karl Fischer* diatur bobot dan volume ekstrak. Ekstrak dimasukkan pada alat dan dilihat presentasi kadarnya. Untuk mendapatkan hasil yang presisi dilakukan 3 kali replikasi pengukuran kadar air⁽³⁵⁾.

b. Uji sisa pelarut etanol

Ekstrak kental etanolik daun kangkung darat ditimbang sebanyak 0,1 gram kemudian dilarutkan menggunakan metanol. Larutan sampel dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan pelarut metanol hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi 0,1%. Instrumen yang digunakan untuk uji sisa pelarut adalah *Gas Chromatography* (GC). Fase gerak berupa gas nitrogen dan menggunakan kolom RISTEK 30METER MTX (*Dimethylpolysiloxan*). Program temperatur yang

digunakan suhu awal 60°C suhu akhir 80°C dan kenaikan temperatur 5 dek/menit Senyawa etanol di analisis melalui pola kromatogram yang dihasilkan⁽²³⁾.

3.2.6 Penentuan Dosis

1. Penentuan Dosis Ekstrak Kangkung Darat

Dosis ekstrak etanol daun kangkung darat yang digunakan berdasarkan hasil pada penelitian Wijayanti, M., 2013. Hasil penelitian tersebut dosis 200 mg/kgBB dapat menurunkan kadar gula darah jauh lebih baik (64,769%) dibanding dengan kontrol positif (13,38%) (glibenklamid 0,09 mg/200 gBB), sedangkan Dosis 500 mg/kgBB tidak memberikan aktivitas antihyperglykemic yang baik⁽³⁶⁾. Jadi pada penelitian ini menggunakan dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB. Volume pemejanan p.o tikus 2 ml/200gBB.

1) Dosis I :

$$\text{Dosis } 100 \text{ mg/kgBB} = 20 \text{ mg/200 gBB}$$

$$\text{Stok} = \frac{20 \text{ mg/200gBBtikus}}{2 \text{ ml/200gBBtikus}} = 10 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Jumlah tikus} = 5, \text{ sehingga dibuat stok } 5 \times 2 \text{ ml} = 10 \text{ ml}$$

$$\text{Labu takar } 25 \text{ ml} = 10 \text{ mg/ml} = 250 \text{ mg/25 ml}$$

2) Dosis II :

$$\text{Dosis } 200 \text{ mg/kgBB} = 40 \text{ mg/200 gBB}$$

$$\text{Stok} = \frac{40 \text{ mg/200g BB tikus}}{2 \text{ ml/200 g BB tikus}} = 20 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Jumlah tikus} = 5, \text{ sehingga dibuat stok } 5 \times 2 \text{ ml} = 10 \text{ ml}$$

$$\text{Labu takar } 25 \text{ ml} = 20 \text{ mg/ml} = 500 \text{ mg/25 ml.}$$

3) Dosis III:

$$\text{Dosis } 300 \text{ mg/kgBB} = 60 \text{ mg/200 gBB}$$

$$\text{Stok} = \frac{60 \text{ mg/200gBBtikus}}{2 \text{ ml/200gBBtikus}} = 30 \text{ mg/ml}$$

$$\text{Jumlah tikus} = 5, \text{ sehingga dibuat stok } 5 \times 2 \text{ ml} = 10 \text{ ml}$$

$$\text{Labu takar } 25 \text{ ml} = 30 \text{ mg/ml} = 750 \text{ mg/25 ml}$$

2. Penetapan dosis dan pemberian glibenklamid sebagai kontrol positif pada penelitian.

Dosis glibenklamid pada manusia 5 mg/ 70 kgBB

Dosis untuk tikus = 5 mg/70 kgBB x 0,018 = 0,09 mg/ 200gBB

3. Pembuatan larutan stok glibenklamid

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok} &= \frac{\text{dosis konversi}}{\text{volume pemejanaan}} \\ &= \frac{0,09 \text{ mg}/200\text{g}}{2 \text{ ml}/200 \text{ g}} \\ &= 0,045 \text{ mg/ml} = 1,125 \text{ mg}/25 \text{ ml}. \end{aligned}$$

Glibenklamid berupa tablet, sehingga perhitungan dosisnya adalah:

$$\text{Berat tablet yang ditimbang} = \frac{\text{larutan stok}}{\text{Zat aktif}} \text{ bobot tablet}$$

Tablet glibenklamid digerus, serbuk yang kemudian dilarutkan dalam Na. CMC 0,5% hingga tanda batas labu ukur 25 ml.

4. Penetapan dosis dan pemberian STZ sebagai induksi DM pada tikus jantan galur wistar.

Dosis STZ adalah 40 mg/kgBB, sehingga pada tikus bobot 200 g, yaitu: Dosis streptozotosin= 40 mg/kgBB

$$= 40 \text{ mg}/1000 \text{ g} = 8 \text{ mg}/200 \text{ gBB}$$

$$\text{Stok} = \frac{8 \text{ mg}/200 \text{ gBB tikus}}{2 \text{ ml}/200 \text{ gBB tikus}} = 4 \text{ mg/ml}$$

Jumlah tikus= 25, sehingga dibuat stok 25 x 2 ml = 50 ml

Labu takar 50 ml = 5 mg/ml = 250 mg/50 ml.

5. Pembuatan dapar Na- Sitrat 50 mM pH 4,5

Larutan dapar Na-sitrat 50 mM dibuat dengan menggunakan asam sitrat dan Na. sitrat. Larutan dapar ini digunakan untuk melarutkan STZ.

1) Asam sitrat

$$50 \text{ mM} = 0,05 \text{ molar}; \text{ Molar} = \text{mol}/\text{V (L)}$$

$$0,05 \text{ molar} = \frac{\text{gram}}{210,14}: 1 \text{ L}$$

$$\text{Garam asam sitrat} = 10,507 \text{ g dalam 1 L}$$

2) Natrium sitrat

$$50 \text{ mM} = 0,05 \text{ molar}; \text{ Molar} = \text{mol}/\text{V (L)}$$

$$0,05 \text{ molar} = \frac{\text{gram}}{294,1}: 1 \text{ L}$$

$$\text{Garam Na sitrat} = 14,705 \text{ g dalam 1 L}$$

Selanjutnya, dilakukan pembuatan larutan dapar dengan pH 4,5 yang di buat dengan cara menambahkan larutan asam sitrat sedikit demi sedikit ke dalam larutan natrum sitrat hingga pH yang dihasilkan 4,5.

6. Pembuatan Suspensi Na CMC 0,5%

Serbuk CMC ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian dilarutkan sedikit demi sedikit dengan akuades panas, diaduk sambil tetap dipanaskan diatas *hot plate* hingga semua serbuk larut, kemudian ad 100 ml dengan akuades.

3.2.7 Pemeliharaan hewan uji

Selama berjalannya masa penelitian, tikus dipelihara dengan ventilasi udara yang cukup dan dengan penerangan selama 12 jam sehari. Suhu ruangan berkisar 28-32 °C. Seluruh tikus diberikan pakan setiap harinya berupa pakan BR-II dan minum ad libitum. Tikus diletakkan dalam kotak plastik berukuran 40 cm x 30 cm x 10 cm yang ditutup dan diberi alas sekam serta dialiri oleh udara. Setiap kandang dihuni oleh 2 ekor tikus yang masih dalam satu kelompok, setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

3.2.8 Induksi Hiperglikemia Pada Tikus

Pada hari ke-0, kadar glukosa darah puasa diukur dengan metode GOD-PAP, kemudian tikus kelompok negatif, positif dan perlakuan (I, II dan III), pada hari ke-1 diinduksi dengan STZ dosis 40 mg/kgBB (*single dose*) yang sebelumnya telah dilarutkan dengan buffer Na sitrat pH 4,5 secara intraperitoneal. Hari ke-4, kadar glukosa darah puasa diukur ⁽²⁷⁾.

3.2.9 Pembagian kelompok Perlakuan

Penelitian akan dilakukan dengan menggunakan 30 ekor tikus jantan galur Wistar dibagi ke dalam 6 kelompok perlakuan yaitu:

Kelompok I : kelompok normal

Kelompok II : kontrol negatif

Kelompok III : kontrol positif (glibenklamid dosis 0,45 mg/kgBB)

Kelompok IV : ekstrak daun kangkung dosis 150 mg/kgBB

Kelompok V : ekstrak daun kangkung dosis 200 mg/kgBB

Kelompok VI : ekstrak daun kangkung dosis 300 mg/kgBB

3.2.10 Desain dan Perlakuan Terhadap Hewan Uji

a. Kelompok I (Normal)

Hari ke-0, tikus diukur kadar glukosa darah puasa, kadar ALT dan berat badannya. Hari ke-4 diukur kadar glukosa darah puasa. Tikus tidak diberi perlakuan apapun hingga hari ke-18, kemudian hari ke-18, tikus diukur kadar HbA1c, ALT dan berat badannya.

b. Kelompok II (Kontrol Negatif)

Hari ke-0 tikus diukur kadar glukosa darah puasa, kadar ALT dan berat badan, kemudian hari ke-1 diinduksi STZ 40 mg/kgBB i.p. Tikus tidak diberi terapi, kemudian hari ke-4 diukur kadar glukosa darah puasa. Hari ke-18 diukur kadar kadar HbA1c, ALT dan berat badan.

c. Kelompok III (Kontrol Positif)

Hari ke-0 tikus diukur kadar glukosa darah puasa, kadar ALT dan berat badan, kemudian hari ke-1 diinduksi STZ 40 mg/kgBB i.p, kemudian hari ke-4 diukur kadar glukosa darah puasa dan hari ke-4 diberi glibenklamid 0,09mg/200gBB p.o hingga hari ke-17. Hari ke-18, tikus diukur kadar HbA1c, ALT dan berat badan.

d. Kelompok IV (perlakuan I)

Hari ke-0 tikus diukur kadar glukosa darah puasa, kadar ALT dan berat badan, kemudian hari ke-1 diinduksi STZ 40 mg/kgBB i.p. Hari ke-4 diukur kembali kadar glukosa darah puasa dan hari ke-4 mulai diberikan ekstrak kangkung darat terstandar 100 mg/kgBB p.o. hingga hari ke-17. Hari ke-18 tikus diukur kadar HbA1c, ALT dan berat badan.

e. Kelompok V (perlakuan II)

Hari ke-0 tikus diukur kadar glukosa darah puasa, kadar ALT dan berat badan, kemudian hari ke-1 diinduksi STZ 40 mg/kgBB i.p. Hari ke-4 diukur kembali kadar glukosa darah puasa dan hari ke-4 mulai diberikan ekstrak kangkung darat terstandar 200 mg/kgBB p.o. hingga hari ke-17. Hari ke-18 tikus diukur kadar HbA1c, ALT dan berat badan.

f. Kelompok VI (perlakuan III)

Hari ke-0 tikus diukur kadar glukosa darah puasa, kadar ALT dan berat badan, kemudian hari ke-1 diinduksi STZ 40 mg/kgBB i.p. Hari ke-4 diukur kembali kadar glukosa darah puasa dan hari ke-4 mulai diberikan ekstrak kangkung darat terstandar 300 mg/kgBB p.o. hingga hari ke-17. Hari ke-18 tikus diukur kadar HbA1c, ALT dan berat badan.

3.2.11 Proses Pengambilan Sampel

Tikus dipuasakan selama 10-12 jam, tikus dianestesi menggunakan ketamin dosis 40 mg/KgBB secara i.m. Sampel darah tikus berupa serum diperoleh dengan cara mengambil darah sebanyak 1ml melalui sinus orbitalis mata. Sampel darah disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm, selama 10 menit. Supernatan dipindahkan ke tabung baru.

3.2.12 Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Pemeriksaan kadar glukosa darah puasa (KGDP) dilakukan dengan metode enzimatis yaitu GOD-PAP. Sampel plasma sebanyak 10 µl ditambahkan reagen 1000µl, dicampur masing-masing hingga homogen. Sampel diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit. Pengukuran dilakukan dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 546 nm⁽³⁷⁾.

3.2.13 Pengukuran Alanine Aminotransferase (ALT)

Pemeriksaan ALT (Alanine Aminotransferase) dilakukan dengan metode kinetik untuk penentuan aktivitas ALT menggunakan pereaksi ALT Fluitest® GPT ALT. Larutan pereaksi dibuat dengan cara mencampurkan larutan R1 dengan larutan R2 (5:1) dan larutan terlindungi dari cahaya. Eppendorf diisi sebanyak 1000 µl pereaksi ALT ditambahkan sampel serum 100 µl, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 1 menit dibaca pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 365nm pada menit ke-1, menit ke-2 dan menit ke-3. ALT(U/L) dihitung menggunakan rumus $\Delta A/\text{menit} \times 3235$ ⁽³⁸⁾.

3.2.14 Pengukuran kadar HbA1c

Pemeriksaan kadar HbA1c menggunakan *Enzim-Linked immune sorbent assay* (ELISA) kit E1435Ra. Reagen ini dengan teknik *sandwich enzyme immunoassay*. Pengujian dilakukan secara duplo. Larutan standar dibuat dengan

mencampurkan 120 μ l *original standard* dengan 120 μ l standard diluents yang menghasilkan konsentrasi 480ng/ml. Larutan standar diencerkan untuk membuat seri kadar standar dengan konsentrasi 240ng/ml; 120ng/ml; 60ng/ml; 30ng/ml; dan 15ng/ml. Sampel 40 μ l dimasukkan ke dalam plat microtiter (sumuran) yang telah berisi antibodi monoklonal untuk HbA1c. Antibodi anti Hba1c 10 μ l ditambahkan yaitu biotin terkonjugasi, selanjutnya ditambahkan 50 μ l streptavidin-*Horseshoe Radish Peroxidase* (HRP) pada masing-masing plat dan membentuk kompleks imun. Sumuran larutan standar diisi dengan standar 50 μ l dan streptavidin-HRP 50 μ l. Plat ditutupi dengan membran segel, di goyang-goyang untuk menghomogenkan kemudian di inkubasi kedalam oven suhu 37°C selama 60 menit. Pencucian dilakukan sebanyak 5 kali menggunakan larutan pencuci yang telah diencerkan 30 kali dengan air suling untuk menghapus konjugat antibodi-enzim yang tidak terikat setelah inkubasi. Larutan *chromogen A* 50 μ l dan *chromogen B* 50 μ l ditambahkan, kemudian plat di goyang-goyang untuk menghomogenkan, plat diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit terhindar dari cahaya untuk pembentukan warna. Larutan *stop solution* 50 μ l ditambahkan untuk menghentikan reaksi. Sumur yang mengandung HbA1c akan menunjukkan perubahan warna dari biru menjadi kuning karena efek asam. Perubahan warna diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm \pm 2 nm. Konsentrasi HbA1c dalam sampel kemudian ditentukan dengan membandingkan sampel pada kurva standar⁽³⁹⁾.

3.2.15 Proses pemusnahan hewan uji

Setelah perlakuan selama 18 hari, hewan uji dikorbankan dengan menggunakan metode *cervical dislocation*. Hewan uji dimusnahkan dengan cara dikubur. Lokasi tempat penguburan tikus terletak jauh dari sumber air dengan kedalaman galian \pm 0,5 m, lebar \pm 0,5 x 0,5 m kemudian di timbun lagi galian hingga rata tanah.

3.3 Analisis Hasil

3.3.1 Data Kadar Kadar Glukosa Darah Puasa (KGDP)

Kadar KGDP hari ke-0, dan hari ke-4 di analisis dengan uji statistik, diawali dengan analisis *kolmogorov-smirnov*. Jika data terdistribusi normal dilanjutkan uji

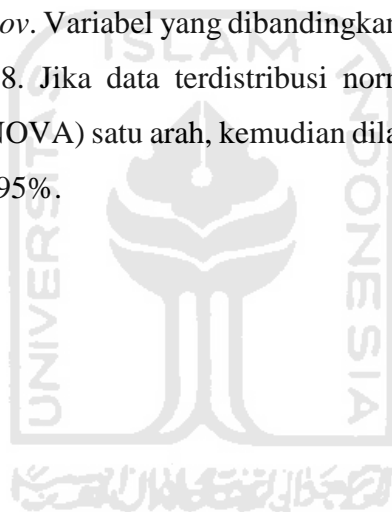
paired-sample t-test, untuk mengetahui perubahan kadar KGDP sebelum di induksi STZ (hari ke-0) dengan setelah di induksi STZ (hari ke-4)

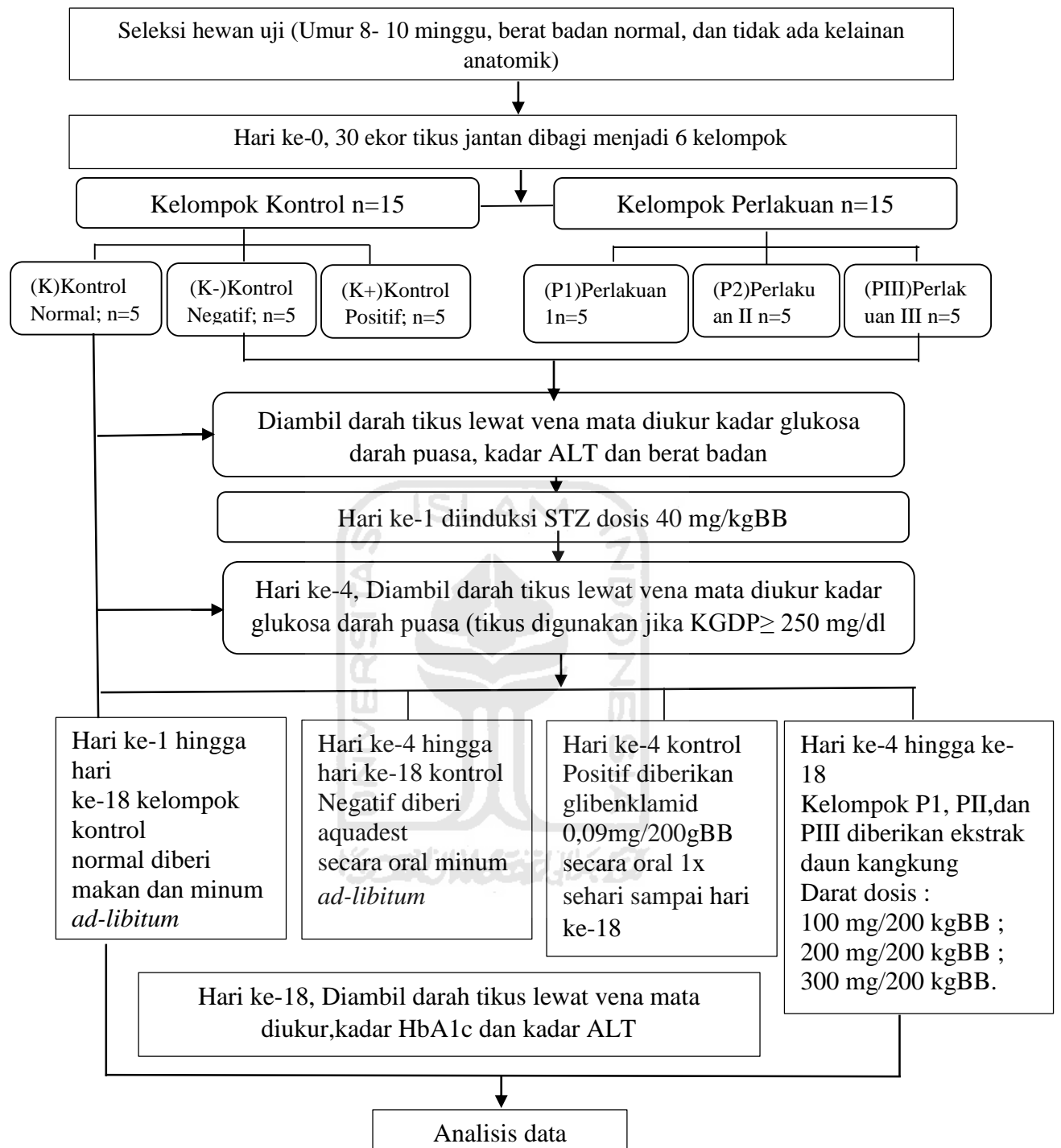
3.3.2 Data kadar Alanine Aminotransferase (ALT)

Peningkatan kadar enzim ALT antara sebelum perlakuan (hari ke-0), dengan setelah perlakuan (hari ke-18) di analisis dengan uji statistik. Uji statistik diawali uji dengan analisis *kolmogorov-smirnov*, jika data terdistribusi normal ($p>0,05$) dilanjutkan dengan analisis uji *paired-sample t-test*, dengan taraf kepercayaan 95%.

3.3.3 Data kadar HbA1c

Analisis statistik HbA1c di analisis dengan uji statistik, diawali dengan analisis *kolmogorov-smirnov*. Variabel yang dibandingkan yaitu kadar HbA1c antar kelompok pada hari ke-18. Jika data terdistribusi normal ($p>0,05$) dilanjutkan dengan analisis varian (ANOVA) satu arah, kemudian dilanjutkan dengan uji *Tukey* dengan taraf kepercayaan 95%.





Gambar 3.1 Skema penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanolik daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terstandar sebagai antihiperglikemia terhadap kadar HbA1c dan kadar ALT pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi streptozotosin. Keterbaruan dari penelitian ini adalah penilaian keamanan pemberian ekstrak etanolik daun kangkung darat sebagai terapi dan penilaian pengendalian kadar glikemik melalui pengujian parameter kadar HbA1c pada tikus Wistar dalam kondisi hiperglikemia belum dilakukan.

Penelitian ini menggunakan glibenklamid sebagai kontrol positif yang berfungsi sebagai pengontrol uji yang dilakukan, memastikan metode yang digunakan baik. Pemilihan glibenklamid sebagai kontrol positif karena glibenklamid merupakan obat konvensional yang sudah beredar luas di masyarakat dan memiliki aktifitas antihiperglikemia yang baik. Glibenklamid bekerja secara spesifik di pankreas yaitu peningkatan sekresi insulin dari sel β -pankreas sehingga konsentrasi dalam plasma meningkat. Glibenklamid dapat diberikan pada hewan uji 1x sehari karena lama kerjanya cukup panjang yaitu 24 jam⁽¹⁶⁾. Glibenklamid memiliki sifat tidak larut dalam air sehingga digunakan suspensi CMC 0,5% untuk melarutkan serbuk glibenklamid sebelum diberikan secara peroral pada tikus.

Penelitian ini menggunakan hewan uji 30 ekor tikus jantan galur Wistar dengan umur rata-rata 2-2,5 bulan yang diperoleh dari peternak hewan Suryodineratan MJ II/636 YK Jogjakarta. Penelitian ini telah mendapat *ethical clearance* (kode etik penelitian) yang dikeluarkan oleh komite etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia (Lampiran 1).

4.1 Penyiapan Ekstrak Etanolik Daun Kangkung Terstandar

4.1.1 Determinasi Tanaman Kangkung Darat

Determinasi tanaman kangkung darat dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Islam Indonesia. Tujuan dari determinasi tanaman adalah untuk membuktikan dan memastikan kebenaran bahwa tanaman dalam penelitian

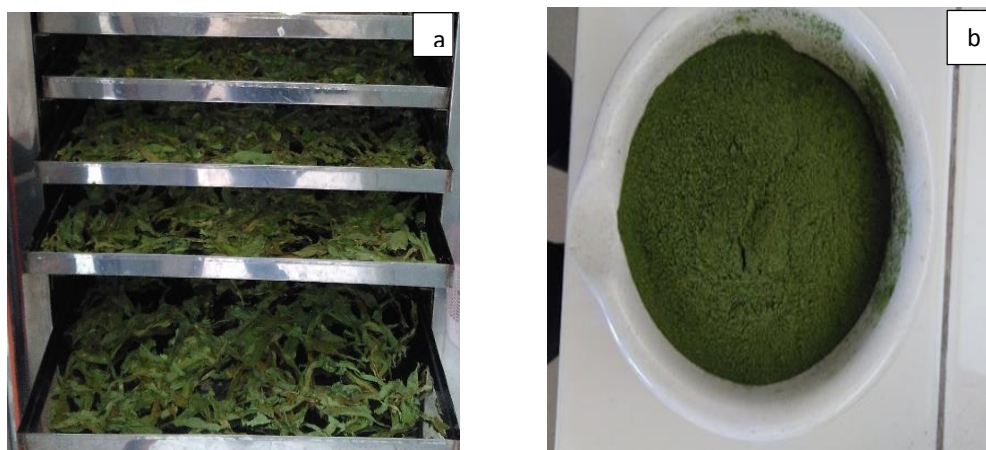
ini adalah jenis tanaman kangkung darat dengan spesies *Ipomoea reptans* Poir. Tanaman kangkung darat dideterminasi menurut cara dalam buku *Flora of Java*⁽³⁴⁾ sebagai acuan dalam menentukan kunci determinasi. Kunci determinasi yang di peroleh adalah sebagai berikut:

1b-2b-3b-4b-6b-7b-10b-11b-12b-13b-14a-15a (golongan 8)
 109b-119b-120a-121a-122b-123b (famili Convolvulaceae)
 107
 1b (genus *Ipomoea*)
 1b-2b-3b-4b-5b-6a (*Ipomoea reptans*, Poir).

Dari hasil kunci determinasi diatas dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini merupakan tanaman kangkung darat dengan spesies *Ipomoea reptans* Poir. (lampiran 3a).

4.1.2 Pembuatan Simplisia Daun Kangkung Darat

Kangkung darat diperoleh dari daerah yang sama untuk menghindari variasi kandungan kimia. Berat basah tanaman kangkung yang digunakan adalah 55 kg. Daun kangkung darat yang memenuhi kriteria baik, setelah disortasi basah sebanyak 17,42 kg. Selama proses pengeringan daun kangkung darat mengalami penyusutan sehingga beratnya berkurang menjadi 1,8 kg. Simplisia kemudian digiling menggunakan *Miller* dan diperoleh serbuk simplisia 1,75 kg. Proses penggilingan bertujuan untuk memperkecil ukuran simplisia sehingga dapat memperluas permukaan antara serbuk simplisia dengan pelarut maserasi.



Gambar 4.1 Proses pengeringan daun kangkung (a) dan serbuk daun kangkung darat(b).

4.1.3 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kangkung Darat

Metode ekstraksi pada penelitian ini berdasarkan hasil orientasi pada penelitian terdahulu yaitu menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%⁽⁴⁰⁾. Zat aktif dalam daun kangkung lebih banyak tersari menggunakan pelarut etanol 96% dibandingkan menggunakan pelarut etanol 30% dan 70%, ditandai dengan warna cairan hasil penyarian lebih pekat⁽⁴⁰⁾. Lebih lanjut pelarut etanol 96% merupakan pelarut yang bersifat universal dengan polaritas yang luas yang dapat menarik senyawa atau zat aktif yang bersifat polar maupun non-polar, harga terjangkau dan relatif aman. Daun kangkung darat mengandung senyawa aktif berupa saponin, betakaroten, flavonoid, polifenol yang merupakan senyawa bersifat polar dan non-polar⁽²⁰⁾. Serbuk simplisia kering 1,5kg kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 15 liter (1:10). Bobot ekstrak kental yang diperoleh dari dua kali maserasi adalah 0,22382 kg. Nilai rendemen ekstrak etanol daun kangkung darat yang diperoleh yaitu 14,92% b/b. Hasil rendemen cukup tinggi dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya karena dilakukan pengadukan satu kali sehari selama 30 menit selama proses maserasi berlangsung yang membantu proses tersari zat aktif oleh pelarut lebih maksimal.



Gambar 4.2 Proses maserasi pembuatan ekstrak etanol daun kangkung darat (a), dan hasil ekstrak kental daun kangkung darat (b).

4.2 Standarisasi Ekstrak Etanolik Daun Kangkung Darat

Standarisasi ekstrak etanolik daun kangkung darat dilakukan dengan serangkaian uji, guna mendapatkan ekstrak yang dibuat menjadi terstandar yaitu memenuhi parameter-parameter standarisasi baik parameter spesifik dan parameter

non-spesifik. Hasil standarisasi ekstrak etanol daun kangkung darat dari daerah Gantiwarno Klaten telah dilakukan oleh penelitian-penelitian terdahulu menunjukkan parameter baik spesifik maupun non-spesifik telah memenuhi persyaratan.

Proses standarisasi pada penelitian ini tidak dilakukan semua rangkaian pengujian standarisasi. Pengujian parameter spesifik yang dilakukan berupa determinasi tumbuhan, organoleptik ekstrak dan uji R_f senyawa β -karoten. Pengujian parameter non-spesifik yang dilakukan berupa uji kadar air dan uji kadar sisa pelarut etanol, pengujian-pengujian tersebut dapat mewakili kestabilan dan keamanan suatu ekstrak dan untuk memperbaiki hasil standarisasi yang dilakukan oleh peneliti-peneliti sebelumnya. Proses pembuatan ekstrak etanolik daun kangkung darat mengikuti prosedur yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya yaitu oleh Syariana F, 2015 dan Hernamani D, 2015, diharapkan menghasilkan produk ekstrak terstandar yang sama dengan hasil penelitian sebelumnya^(23,24). Hasil standarisasi ekstrak etanol daun kangkung darat dari daerah Gantiwarno Klaten yang dilakukan pada penelitian ini sebagai berikut:

4.2.1 Parameter Spesifik

a. Deskripsi Tanaman

Kangkung darat berupa tumbuhan berwarna hijau, berbatang lunak berbentuk bulat, tebal, berongga dan memiliki ruas. Ruas-ruas tersebut terdapat akar. Memiliki bunga sejati dengan bunga majemuk. Bakal buah gundul dengan biji-biji berbulu rapat. Daun bertangkai panjang dan tidak berbagi menyirip dan letaknya berselang seling. Kangkung darat memiliki getah berwarna putih dan berakar serabut. Uraian selengkapnya dapat dilihat pada kunci determinasi (Lampiran 3b).

b. Organoleptik ekstrak

Uji organoleptik ekstrak dilakukan untuk menunjukkan gambaran fisik suatu ekstrak. Hasil uji organoleptik berdasarkan indra penglihatan, penciuman, dan indra perasa, secara fisik ekstrak etanol daun kangkung darat berasal dari Kelurahan Gantiwarno, Kabupaten Klaten berwarna hitam kehijauan, berbau khas kangkung, dan memiliki rasa yang pahit dan asam.

c. Uji R_f senyawa β -karoten

Senyawa betakaroten digunakan oleh beberapa peneliti sebagai senyawa marker untuk mengidentifikasi tanaman kangkung darat. Sampai saat ini belum ada senyawa murni yang diisolasi dari tanaman kangkung yang digunakan sebagai marker aktif. Fase gerak yang digunakan yaitu campuran petroleum eter: aseton (7:3). Hasil pola kromatogram diperiksa dengan sinar UV₂₅₄. Bercak β -karoten pada sampel ekstrak dibawah sinar UV₂₅₄ tidak tampak sedangkan pada standar β -karoten tampak, diduga bercak β -karoten pada sampel ekstrak dibawah sinar UV 254 tidak tampak karena kadar β -karoten dalam ekstrak rendah.



Gambar 4.3 Hasil elusi kromatografi dengan fase gerak petroleum eter : aseton (7:3) dan fase diam silika GF₂₅₄. (a) spot betakaroten, (r) replikasi sampel, (s) Standar betakaroten. Nilai R_f β -karoten dari ekstrak daun kangkung sebesar 0,88.

Bercak senyawa β -karoten hasil pada KLT tidak tampak, maka untuk menentukannya dapat dilakukan salah satunya dengan cara kimia yaitu melakukan *scanning* pada permukaan lempeng dengan densitometer, suatu instrumen yang dapat mengukur intensitas radiasi yang direfleksikan pada permukaan lempeng ketika disinari dengan sinar UV. Solut-solut yang mampu menyerap sinar akan dicatat sebagai puncak (*peak*) dalam pencatat (*recorder*)⁽⁴¹⁾.

Hasil pembacaan dengan densitometer menunjukkan nilai R_f β -karoten dari standar sebesar 0,90 sedangkan R_f senyawa β -karoten pada ekstrak daun kangkung darat sebesar 0,88 (Lampiran 4). Apabila dua senyawa yang identik kemudian dielusi menggunakan fase gerak dan fase diam yang sama akan menghasilkan nilai

R_f yang saling berdekatan atau sama. Hal ini sesuai dengan referensi yang menyatakan nilai R_f β -karoten berada di kisaran 0,8-0,9⁽⁴²⁾.

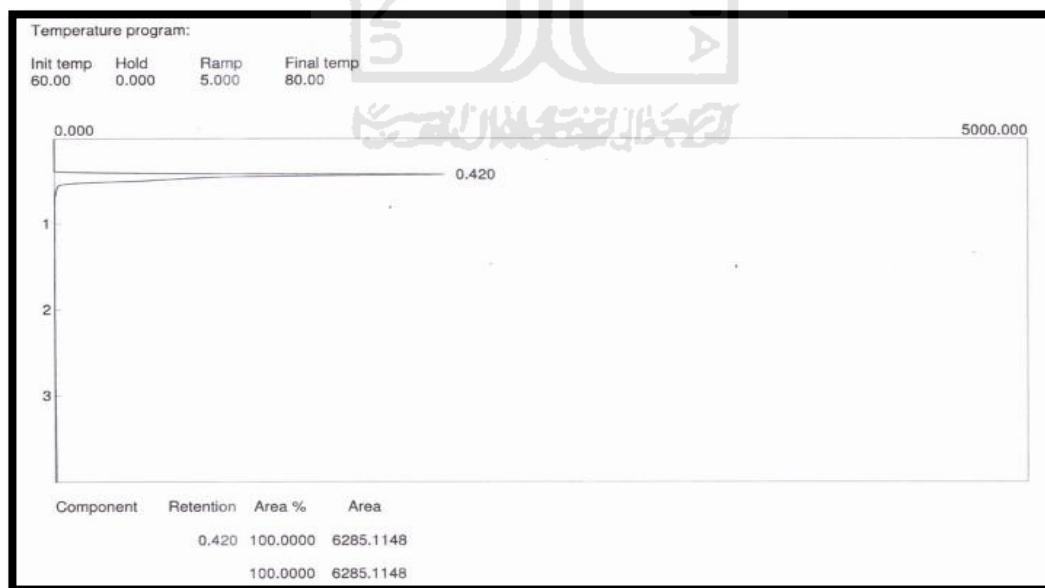
4.2.2 Parameter Non-Spesifik

a. Uji Kadar Air

Pengujian kadar air untuk mengetahui kuantitatif kadar air yang terkandung di dalam ekstrak. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanolik daun kangkung darat menggunakan metode *Karl Fischer* adalah $9,73 \pm 0,131\%$ dengan RSD 1,346%. Hasil ini dapat disimpulkan bahwa kadar air yang terdapat pada ekstrak etanol daun kangkung darat telah memenuhi persyaratan rentang kadar air untuk ekstrak kental yaitu 5-30% serta memiliki nilai RSD < 2 yang berarti memiliki keterulangan yang baik.

b. Uji Sisa Pelarut Etanol

Pengujian sisa pelarut etanol dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa selama proses ekstraksi hasil yang diperoleh tidak mengandung sisa pelarut atau menunjukkan jumlah sisa pelarut sesuai dengan yang ditetapkan. Pelarut yang tersisa dapat mempengaruhi kesetabilan kimia dan fisika suatu ekstrak. Kadar sisa pelarut yang masih tinggi dapat mempengaruhi ketoksikan ekstrak.



Gambar 4.4 Hasil kromatogram standar etanol 1% menggunakan instrumen *Gas Chromatography* (GC).



Gambar 4.5 Hasil kromatogram uji sisa pelarut etanol ekstrak etanol daun kangkung darat (*Ipomoea raptans* Poir.) menggunakan instrumen *Gas Chromatography* (GC).

Berdasarkan gambar 4.4 terlihat bahwa *retention time* senyawa etanol adalah 0,420. Suatu senyawa yang identik dielusi dengan gas pembawa, kolom dan kondisi internal GC yang sama akan memiliki *retention time* yang sama. Sampel ekstrak kental etanol daun kangkung darat diencerkan menggunakan metanol sebelum diinjeksikan ke dalam instrument GC. Hasil Gambar 4.5 menunjukkan kromatogram ekstrak etanolik daun kangkung darat hanya terdapat satu *peak* yang terdeteksi pada *retention time* 0,380 yang merupakan senyawa metanol. Berdasarkan literatur titik didih senyawa metanol adalah 64,5°C sedangkan titik didih senyawa etanol lebih tinggi yaitu 78,37 °C⁽⁴⁴⁾. Senyawa metanol dalam instrument GC akan menguap terlebih dahulu dibandingkan senyawa etanol karena memiliki titik didih yang lebih rendah dibandingkan etanol, hal ini ditunjukkan dengan *retention time* senyawa metanol lebih kecil dibandingkan *retention time* etanol yaitu 0,380. Hasil yang diperoleh tersebut dapat disimpulkan bahwa kadar sisa pelarut etanol dalam ekstrak etanol daun kangkung darat negatif.

Pengujian standarisasi ekstrak etanol daun kangkung darat dari daerah Kelurahan Muruh, Kecamatan Gantiwarno, Kabupaten Klaten yang dilakukan pada penelitian ini yaitu pengujian parameter spesifik berupa determinasi tumbuhan, organoleptik ekstrak dan uji R_f senyawa β -karoten. Pengujian parameter non-spesifik berupa uji kadar air dan uji kadar sisa pelarut etanol. Hasil standarisasi

ekstrak etanol dari daerah Gantiwarno Klaten yang telah dilakukan penelitian-penelitian terdahulu dan sekarang menunjukkan baik parameter spesifik (identitas tanaman, organoleptik ekstrak, R_f senyawa marker dan kadar senyawa marker), maupun parameter non spesifik (bobot jenis, kadar air, kadar abu, cemaran logam, cemaran mikroba dan sisa pelarut) telah memenuhi persyaratan. Hasil standarisasi ekstrak etanol daun kangkung darat yang berasal dari daerah Gantiwarno Klaten secara lengkap tertera pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil standarisasi ekstrak etanol daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.)

No	Parameter	Hasil	Acuan	Keterangan
1	Rendemen*	14,92%	-	Sesuai
2	Organoleptik*		Syariana F, 2015:	
	Bentuk	Kental	Kental	
	Warna	Hitam kehijauan	Hitam kehijauan	Sesuai
	Bau	Khas kangkung	Khas kangkung	
	Rasa	Asam, pahit	Asam, pahit	
3	Pola kromatogram*	R_f : 0,88	R_f standar β -karoten: 0,90	Sesuai
4	Kadar β - karoten**	3,2 \pm 1,6% b/b	-	-
5	Bobot jenis**	0,82 \pm 4,50x10 ⁻³	-	Sesuai
6	Kadar air*	9,73 \pm 0,13% b/b	Saifudin, A., 2011. 5-30% b/b	Sesuai
7	Kadar abu***		MMI Edisi V, 1989	
	Total	7,10 \pm 0,35% b/b	Tidak lebih dari 8,6% b/b	Sesuai
	Tidak larut asam	0,0057 \pm 1,6398% b/b	Tidak lebih dari 1% b/b	Sesuai
8	Cemaran logam berat: Pb dan Cd**	<LoD	SNI 7387-2009: Pb:< 10 mg/Kg Cd: <0,5 mg/Kg	Sesuai
9	Cemaran mikroba: uji angka cemaran mikroba**	ND	SNI 7388-2009: mikroba : < 10 ⁵ koloni/g	Sesuai
10	Uji sisa pelarut etanol*	Negatif	-	Sesuai

Keterangan:

* Parameter uji yang dilakukan pada penelitian ini.

** Parameter uji yang dilakukan oleh Syahriana F, 2015⁽²³⁾

***Parameter uji yang dilakukan oleh Heramani D, 2015⁽²⁴⁾

4.3 Pengaruh Induksi Streptozotosin Dosis Tunggal 40 mg/KgBB Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Jantan Galur Wistar

Dosis STZ 40 mg/kgBB diberikan satu kali pada hari ke-1 secara intraperitoneal, berdasarkan hasil optimasi efek hiperglikemik muncul setelah hari ke-4. Dosis induksi STZ berdasarkan optimasi oleh peneliti, optimasi membandingkan dosis STZ 40 mg/kgBB, 50 mg/kgBB dan 60 mg/kgBB. Hasil optimasi menunjukkan bahwa pada dosis STZ 40 mg/kgBB hari ke-4 sudah efektif meningkatkan kadar glukosa darah. Induksi STZ 40 mg/kgBB dilakukan secara intraperitoneal. Pembuatan larutan STZ dilakukan menggunakan buffer natrium sitrat pH 4,5 dengan tujuan untuk menjaga kesetabilan STZ. Data peningkatan rata-rata KGDP (mg/dl) tikus jantan galur Wistar sebelum induksi STZ (hari ke-0) dan setelah induksi STZ (hari ke-4) tertera pada tabel 4.2 berikut ini.

Tabel 4.2 Peningkatan rata-rata KGDP (mg/dl) tikus jantan galur Wistar sebelum induksi STZ (hari ke-0) dan setelah induksi STZ (hari ke-4).

Kelompok	Rata-rata Kadar Glukosa Darah Puasa (mg/dl)	
	Sebelum Induksi ($\bar{X} \pm SD$)	Setelah induksi ($\bar{X} \pm SD$)
K, Normal (n=5)	123,96±21,64	156,17± 17,17
K, positif (n=5)	154,63± 30,71	452,23± 61,21
K, Negatif (n=5)	152,96± 17,10	305,10± 58,88
Dosis 100 mg/kgBB (n=5)	154,55 ± 12,99	418,98± 110,47
Dosis 200 mg/kgBB (n=5)	155,32± 19,72	405,81± 106,73
Dosis 300 mg/kgBB (n=6)	147,61± 22,57	368,988 ± 96,66

Rata-rata kadar glukosa darah puasa tikus jantan Wistar hari ke-4 (setelah induksi STZ) pada semua kelompok yang diinduksi mengalami peningkatan, jika dibandingkan dengan hari ke-0 (sebelum induksi STZ). Peningkatan kadar glukosa darah puasa Kelompok kontrol normal antara hari ke-0 dan hari ke-4 dari 123,96±21,64 menjadi 156,17± 17,17mg/dl masih dalam rentang normal. Kadar glukosa darah rata-rata pada kelompok yang diinduksi STZ hari ke-4 mencapai antara 305,10±58,88-452,23± 61,21mg/dl. Tikus dikategorikan mengalami hiperglikemia jika kadar glukosa darah puasa >200mg/dl⁽⁴⁸⁾.

Pengaruh induksi STZ dianalisis secara statistik, hanya menggunakan kelompok negatif sebagai sampel. Uji normalitas data sampel dengan *one-sample*

Kolmogorov-Smirnov dilanjutkan uji *paired-sample t-test*. kelompok negatif antara sebelum dan sesudah induksi menunjukkan perbedaan peningkatan KGDP secara signifikan ($p < 0,05$). Tikus jantan galur Wistar setelah induksi STZ dosis 40 mg/kgBB mengalami kondisi hiperglikemia, besarnya peningkatan KGDP tiap tikus berbeda-beda karena respon fisiologis pada tikus bersifat individual.

4.4 Pengamatan Perubahan Berat Badan Tikus jantan Galur Wistar

Pengamatan perubahan berat badan dilakukan untuk menentukan volume pemejanaan pada tikus dan merupakan parameter tambahan. Penimbangan dilakukan pada hari ke-0, 4, 11 dan hari ke-18. Data berat badan hewan uji selama 18 hari dilakukan 4 kali penimbangan, dihitung rata-rata berat badan tiap kelompok. Berikut ini adalah grafik rata-rata berat badan tikus dalam 4 kali penimbangan:

Tabel 4.3 Rata-rata perubahan berat badan tikus jantan Wistar sebelum perlakuan (hari ke-0) sampai setelah perlakuan (hari ke-18)

Kelompok	Rata-rata berat badan tikus Wistar (g)			
	Hari ke-			
	0	4	11	18
K. Normal (n=5)	179,2±9,4	175,6±7,0	178,4±10,85	197±9,25
K. Negatif (n=5)	181±16	170±17,06	158,4±16,30	163,6±20,57
K. Positif (n=5)	160±12,41	159,8±15,42	149,8±15,64	155,6±20,89
Dosis 100 mg/kgBB (n=5)	198,8±16,28	190,8±11,61	179,2±7,46	186±2,55
Dosis 200 mg/kgBB (n=5)	200,2±19,15	189,4±21,65	177,4±22,09	177,4±22,87
Dosis 300 mg/kgBB (n=5)	174±25,80	187,2±43,23	179,2±45,78	190,8±56,14

Berdasarkan tabel 4.5 rata-rata berat badan tikus jantan Wistar mengalami penurunan setelah di Induksi STZ hingga hari ke-11 karena pada kondisi hiperglikemia, glukosa akan terakumulasi di dalam darah, tanpa diserap oleh sel. Proses glukoneogenesis (sintesis glukosa dari senyawa bukan karbohidrat) terjadi secara berlebihan untuk memenuhi kebutuhan glukosa dalam sel tersebut, sehingga terjadi pengurangan jumlah jaringan otot dan jaringan adiposa⁽⁴⁹⁾. Hari ke-18 berat badan tikus rata-rata meningkat kembali pada semua kelompok uji. Setiap kelompok uji mengalami penurunan dan kenaikan berat badan yang berbeda. Hasil ekstrak kangkung darat terstandar dosis 100 mg dan 200 mg/kgBB tidak memperbaiki profil berat badan tikus jantan wistar yang diinduksi STZ.

4.5 Pengamatan Perubahan Kadar Alanin Aminotransferase (ALT/SGPT)

Pengukuran kadar ALT menggunakan serum darah tikus yang diambil melalui sinus orbitalis mata. Pengukuran kadar ALT merupakan salah satu parameter petunjuk untuk mengetahui adanya gangguan pada fungsi hepar. Menurut literatur kadar normal ALT pada tikus jantan umur 8-16 minggu adalah 35-80 U/L⁽³¹⁾. Pengukuran kadar ALT dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kangkung darat terhadap fungsi hepar tikus jantan galur Wistar selama 14 hari perlakuan. Kadar ALT akan meningkat ketika terjadi nekrosis pada sel hati.

Tabel 4.4 Rata-rata $\bar{X} \pm SD$ pengukuran kadar ALT (U/L) tikus jantan galur Wistar setelah pemberian ekstrak etanol daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.)

Kelompok	Kadar ALT (U/L) ($\bar{X} \pm SD$)		
	Hari ke-0	Hari ke-11	Hari ke-18
K. Normal (n=5)	60,88±22,08	62,44±13,59	83,33±22,24
K. Negatif (n=5)	56,42±21,47	86,86±14,41	70,72±33,10
K. Positif (n=5)	47,85±8,28	131,89±44,83	115,65±66,00
Dosis 100 mg/kgBB (n=5)	45,26±5,42	84,40±40,16	103,68±55,53
Dosis 200 mg/kgBB (n=5)	36,97±6,96	96,76±43,87	127,30±95,02
Dosis 300 mg/kgBB (n=5)	49,08±17,43	55,64±38,94	70,26±31,04

Hari ke-0 kadar ALT semua kelompok hewan uji berada pada kondisi normal. Kadar ALT tikus setelah perlakuan selama 14 hari yaitu pada hari ke-18 semua kelompok mengalami peningkatan dibanding sebelum pemberian ekstrak etanolik daun kangkung. Kontrol negatif dan kelompok dosis ekstrak 300mg/kgBB peningkatan kadar ALTnya masih berada pada rentang kadar normal. Kontrol normal, kontrol positif, kelompok dosis ekstrak 100mg/kgBB, dan dosis ekstrak 200mg/kgBB peningkatan kadar ALTnya melebihi batas normal dengan standar deviasi yang tinggi. Hasil pengukuran kadar ALT tersebut pada tiap kelompok terdapat beberapa data yang *overload* (sangat tinggi), menyebabkan peningkatan rata-rata kadar ALT pada masing-masing kelompok. Faktor-faktor penyebabnya diduga karena teknik *pipetting* sampel kurang seragam.

Proses detoksifikasi obat-obatan atau zat-zat lain yang dianggap asing oleh tubuh terjadi di hepar sehingga hepar merupakan organ yang rentan terhadap kerusakan pada pemberian suatu obat. Sel hepar mengalami cedera terjadi kerusakan pada membran sel dan organel sel yang menyebabkan enzim intrasel masuk ke dalam pembuluh darah, sehingga kadar ALT akan meningkat dalam pembuluh darah. Peningkatan kadar ALT diduga salah satunya diakibatkan oleh pengaruh STZ. Diabetes mellitus yang diinduksi STZ terjadi akibat adanya kerusakan dan kematian sel beta pankreas. Sitotoksitas STZ menyebabkan pelepasan radikal bebas yang memicu stres oksidatif intraseluler. Streptozotisin secara selektif cenderung masuk dan terakumulasi dalam sel β -pankreas, yang diperantarai oleh ikatan transporter glukosa 2 (GLUT2) di membran plasma. Organ-organ lain yang mengekspresikan GLUT2 seperti hati dan ginjal, juga akan mengalami kerusakan akibat induksi STZ⁽⁵⁰⁾. Meningkatnya kadar ALT juga diduga karena faktor stres pada hewan coba karena kondisi blower dikandang tikus yang selalu berbunyi saat memutar menimbulkan stres psikologis atau emosi (rasa cemas, terancam, ketakutan) pada hewan tikus karena tikus sangat sensitif terhadap bunyi. Stres menimbulkan perubahan metabolisme tubuh, menurunkan sistem imun dan pengeluaran hormon pada tikus⁽⁵¹⁾. Kondisi stres individu akan membutuhkan lebih banyak energi dibanding dengan keadaan normal. Proses glukoneogenesis akan meningkat, peningkatan metabolisme ini dapat menyebabkan kerusakan sel-sel hati. Peningkatan kadar enzim ALT diduga bukan diakibatkan oleh pemberian ekstrak etanol daun kangkung darat. Penelitian sebelumnya tentang pengaruh pemberian berulang ekstrak etanol daun kangkung selama 90 hari dosis 759 mg/KgBB tidak menyebabkan gejala toksik⁽²⁴⁾. Dalam penelitian lain dilaporkan ekstrak etanol daun kangkung memiliki aktivitas antioksidan dengan menghambat radikal bebas yang dapat membantu proses pengobatan pada gangguan hepar⁽⁵²⁾. Kadar ALT pada kelompok ekstrak dosis 300 mg/kgBB masuk dalam rentang normal, diduga pada dosis ekstrak 300 mg/kgBB ada aktivitas antioksidan yang membantu menangani gangguan hepar akibat stres oksidatif karena pelepasan radikal bebas oleh STZ. Hal ini diperkuat dari penelitian Alkiyumi *et al.*,⁽⁵²⁾ bahwa ekstrak kangkung efektif mencegah kerusakan hepar tikus akibat induksi *Thioacetamide* (TAA). Senyawa yang terkandung di dalam daun kangkung

berkontribusi dalam modulasi enzim detoksifikasi dan aktivitas antioksidan dalam menghambat radikal bebas yang berperan dalam membantu proses pengobatan pada gangguan hepar⁽⁵²⁾.

Tabel 4.5 Hasil uji analisis statistik perubahan kadar ALT pada hari ke-0 dibandingkan dengan hari ke-18 pada masing-masing kelompok.

Kelompok	Nilai signifikansi (p) uji <i>paired-sample t-test</i>
K. Normal (n=5)	0,231
K. Negatif (n=5)	0,526
K. Positif (n=5)	0,074
Dosis 100mg/kgBB(n=5)	0,067
Dosis 200mg/kgBB(n=5)	0,093
Dosis 300mg/kgBB(n=5)	0,143

Keterangan:

$p > 0,05$ tidak ada perbedaan signifikan sebelum dan sesudah perlakuan

Hasil pengukuran kadar ALT dianalisis secara statistik, untuk mengetahui perubahan kadar ALT pada hari ke-0 (sebelum perlakuan) dibandingkan dengan hari ke-18 (setelah pemberian ekstrak) pada masing-masing kelompok. Data diuji pendahuluan menggunakan uji *Kolmogorov-smirnor*, diperoleh semua data pada masing-masing kelompok uji data terdistribusi normal ($p > 0,05$), selanjutnya data dilanjutkan uji *paired-sample t-test* diperoleh nilai signifikansi ($p > 0,05$) pada semua kelompok uji yang secara statistik bermakna tidak ada perbedaan signifikan kadar ALT sebelum dan sesudah perlakuan. Penggunaan ekstrak etanolik daun kangkung darat terstandar sebagai terapi untuk antihiperlipidemia selama 14 hari perlakuan tidak mempengaruhi fungsi hati.

4.6 Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kangkung Darat (*Ipomoea reptans*, Poir) Terhadap Kadar HbA1c Tikus

Pengukuran kadar HbA1c menggunakan serum darah tikus yang diambil melalui sinus orbitalis mata pada hari ke-18. Pemeriksaan kadar HbA1c menggunakan *Enzim-Linked immune sorbent assay* (ELISA) kit E1435Ra. Reagen ini dengan teknik *sandwich enzyme immunoassay*.

Tabel 4.6 Rata-rata kadar HbA1c (%) pada kelompok tikus jantan galur Wistar setelah 14 hari pemberian ekstrak etanol daun kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar.

Kelompok	Rata-rata Kadar HbA1c (%) Hari ke-18 ($\bar{X} \pm SD$)	Nilai p (signifikansi) Hasil Uji Statistik <i>One Way anova</i>
K. Normal	5,34±1,15	p=0,108*
K. Positif	4,98±0,43	
K. Negatif	6,12±0,45	p>0,05 tidak ada perbedaan signifikan antar kelompok
Dosis 100 mg/kgBB	5,58±0,73	
Dosis 200 mg/kgBB	5,40±0,50	
Dosis 300 mg/kgBB	4,96±0,46	

Keterangan:

*Analisis statistik dilakukan dengan uji *One Way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95%.

Berdasarkan tabel 4.5 dapat diketahui bahwa pada kelompok negatif memiliki kadar HbA1c tertinggi yaitu 6,12±0,45% dan pada kelompok perlakuan III (ekstrak daun Kangkung darat 300 mg/kgBB) kadar HbA1c terendah yaitu 4,96±0,46% dibandingkan dengan semua kelompok. Hasil data dianalisis secara statistik untuk membandingkan kadar HbA1c antar kelompok uji. Data diuji pendahuluan dengan uji Kolmogorov-smirnor dan uji tes of *homogeneity of variances*. Hasilnya data terdistribusi normal dan memiliki varian yang sama selanjutnya di uji ANOVA. Berdasarkan hasil uji statistik dengan menggunakan analisis *One Way anova* (P=0,05) didapatkan nilai probabilitas 0,108 (p>0,05) yang menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan kadar HbA1c antar kelompok uji. Hasil statistik tersebut bermakna bahwa pemberian ekstrak etanolik daun kangkung darat selama 14 hari tidak mempengaruhi penurunan kadar HbA1c pada tikus kondisi hiperglikemia. Hasil secara statistika tidak ada pengaruh pemberian ekstrak etanolik daun kangkung darat kangkung selama 14 hari, namun secara klinis dapat dikatakan berpengaruh karena rentang nilai normal HbA1c dengan kondisi DM sangat kecil yaitu pada manusia nilai kadar HbA1c normal <5,7%, preDM >5,7% dan kondisi DM >7%⁽¹⁵⁾.

Pasien DM memiliki ciri-ciri yang khas yaitu meningkatnya kadar glukosa darah, sel tidak dapat menyerap glukosa dengan baik untuk diubah menjadi energi. Glukosa akan tetap beredar di darah karena kekurangan insulin pada jaringan target. Pemeriksaan kadar glukosa darah masih merupakan pemeriksaan standar diagnosis diabetes mellitus, namun beberapa faktor seperti usia, asupan karbohidrat dan aktivitas fisik dapat mempengaruhi hasilnya. HbA1c telah digunakan secara luas sebagai indikator kontrol glikemik, karena mencerminkan konsentrasi glukosa darah, keuntungannya tidak dipengaruhi oleh diet sebelum pengambilan darah. HbA1c merupakan ikatan antara hemoglobin dengan glukosa. Glikasi hemoglobin terjadi melalui reaksi kimia akibat paparan glukosa yang beredar dalam darah terhadap sel darah merah, laju sintesis HbA1c meningkat sesuai dengan konsentrasi glukosa yang terikat pada eritrosit selama pemaparan. Hubungan langsung antara HbA1c dan rata-rata glukosa darah terjadi karena eritrosit terus menerus terglikasi selama masa hidupnya dan laju pembentukan glikohemoglobin setara dengan konsentrasi glukosa darah⁽¹³⁾.

Hasil penelitian ini, ekstrak etanol daun kangkung darat dapat mengendalikan kadar glikemia pada tikus jantan wistar yang diinduksi streptozotisin dosis 40 mg/kgBB. Kadar HbA1c dibandingkan pada semua kelompok, yang paling tinggi didapatkan pada kelompok kontrol negatif yaitu 6,12%. Beberapa penelitian melaporkan pada kontrol normal tikus jantan Wistar setelah 14 hari perlakuan memiliki kadar HbA1c rata-rata 4,4-7%⁽⁵³⁾. Hasil tersebut menunjukkan kontrol negatif pada penelitian ini masih masuk dalam nilai normal HbA1c pada tikus. Hal tersebut diduga disebabkan karena pengaruh adanya kehilangan darah pada hewan uji selama pemberian perlakuan. Kehilangan darah dapat menurunkan kadar HbA1c dari nilai sebenarnya karena eritrosit yang telah terpapar glukosa terbuang⁽¹³⁾. Faktor lain yaitu waktu penelitian diduga kurang lama, pada manusia kadar rata-rata glukosa darah 30 hari sebelumnya merupakan kontributor utama pembentukan HbA1c sehingga penelitian selama 14 hari diduga pembentukan HbA1c kurang maksimal. Penelitian ini diperoleh kadar HbA1c pada kelompok kontrol normal yaitu 5,43%. Kadar HbA1c terendah pada kelompok dosis ekstrak 300 mg/kgBB yaitu 4,96% dan kontrol positif memiliki kadar HbA1c 4,98%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa dosis 300 mg/kgBB ekstrak etanol daun

kangkung darat paling efektif diantara dosis ekstrak 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dalam pengendalian kadar glikemia yang setara dengan glibenklamid dosis 0,09 mg/200gBB.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak etanolik daun kangkung darat (*Ipomoea reptans*, Poir) terstandar dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB dapat mempengaruhi peningkatan kadar enzim ALT dalam darah. Peningkatan kadar tersebut diduga disebabkan karena induksi streptozotosin dan faktor stres yang dialami hewan uji.
2. Ekstrak etanolik daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terstandar dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB secara klinis memiliki aktivitas pengendalian hiperglikemia. Dosis ekstrak 300 mg/kgBB merupakan dosis terbaik dalam pengendalian hiperglikemia ditandai dengan kadar HbA1c terendah pada tikus jantan galur Wistar yang telah diinduksi streptozotosin.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terstandar sebagai terapi pencegahan DM.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efektivitas ekstrak daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terstandar dalam pengendalian hiperglikemia menggunakan model hewan uji lainnya.
3. Perlu dilakukan penelitian isolasi senyawa aktif ekstrak daun kangkung darat (*Ipomoea reptans* Poir.) terstandar yang berperan dalam pengendalian glikemia.

Daftar Pustaka

1. Anonim, *IDF Diabetes ATLAS Seven edition*, 2015; 12-16, 22-27, 62.
2. R. Dewoto H., Pengembangan Obat Tradisional Indonesia Menjadi Fitofarmaka, *Majalah Kedokteran Indonesia*, 2007; 57 (7): 206
3. Pramono, S., Kontribusi Bahan Obat Alam Dalam Mengatasi Krisis Bahan Obat di Indonesia, *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 2002; 1 (1): 18.
4. Menteri Kesehatan Republik Indonesia, *Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 88 Tahun 2013 Tentang Rencana Induk Pengembangan Bahan Baku Obat Tradisional*, Menteri Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 2013; 21
5. Prasad, K.N., Shivamurthy, G, R., Aradhya, S, M., *Ipomoea aquatica*, An Underutilized Green Leafy Vegetable: A Review, *Int J Bot*, 2008; 4 (1): 123.
6. Malalavidhane, T, S., Wickramasinghe, S, M., Jansz, E, R., Oral Hypoglycemic Activity of *Ipomoea aquatica*, *J, Ethnopharmacol*, 2000; 72, 293-298.
7. Malalavidhane, T, S., Wickramasinghe, S, M., and Jansz, E, R., An Aqueous Extract Of The Green Leafy Vegetable *Ipomoea aquatica* Is As Effective As The Oral Hypoglycemic Drug Tolbutamide In Reducing The Blood Sugar Levels of Wistar rats, *Phytother*, 2001; Vol 15: 635-637.
8. Malalavidhane, T, S., Wickramasinghe, S, M, D, N., Perera, M, S, A., Jansz, E, R., Oral Hypoglycaemic Activity of *Ipomoea aquatica* in STZ induced, Diabetic Wistar Rats and Type II Diabetics, *Phytother*, 2011; Vol 17: 1098-1100.
9. Hamid, K., Mohammad, O., Shapna, S., Amran, H., Debasish, B., Fatema, N., *et al.*, Evaluation of The Leaves of *Ipomoea aquatica* for its Hypoglycemic and Antioxidant Activity, *J Pharm Sci Res*, 2011; 3(7): 1331.
10. Hayati, F., Widyarini, S., dan Helminawati., Uji Efek Antihiperlikemia Infusa Kangkung Darat (*Ipomoea Reptans*, Poir) pada Mencit Swiss Jantan yang Diinduksi Streptozocin, *J Ilm Farm*, 2010; 7(1): 19,20.
11. Hayati, F., Murwanti, R., Zabrina, G., Keamanan Pemberian Berulang Ekstrak Kangkung Darat (*Ipomoea reptans*, Poir) Terstandar Terhadap Fungsi Ginjal Dan Hepar Mencit Betina, *J Ilm Farm*, 2013; 10(1):
12. Engram, B., *Rencana Asuhan Keperawatan Medikal-Bedah Vol 3*, diterjemahkan oleh Oleh Samba, S., Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 1994; p. 532
13. Rahayu, P, S., Sanusi, H., Peranan Pemeriksaan Hemoglobin A1c pada Pengelolaan Diabetes Melitus, *CDK-220*, 2014; 41(9): 650-654

14. Bhaargavi, V., Jyotsna, G. S. L., Tripurana, R., A Review On Hepatoprotective Activity, *IJPSR*, 2014; 5 (3): 697.
15. Anonim, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care*, 2014; 37,81.
16. Mycek, J, M., Harvey, A, R., Champe, C, P., *Farmakologi Ulasan Bergambar*, diterjemahkan oleh Agoes, A., Widya Medika, Jakarta, 2001; p. 259-265
17. Triplitt, C. L., Reasner, C. A., ISLEY, W. L., 2008, "Diabetes Mellitus", in *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach Seventh Edition*, Washington DC: Micc Grow Hill Medical, Section 8 Endocrinologic Disorders, Captter 77, 2008; p. 1208
18. Dalimartha, S., *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4*, Puspa Swara, Jakarta, 2006; p. 35-36.
19. Suratman, D, P., Setyawan, A, D., Analisis Keragaman Genus Ipomoea Berdasarkan Karakter Morfologi, *Biodiversitas*, 2000; 1(2): 72
20. Manvar, M, N., Desai, T, R., Phytochemical and Pharmacological Profile of *Ipomoea aquatica*, *Indian J Med Sci*, 2013; 67(3): 49.
21. Patel, D, K., Kumar, R., Laloo, D., Hemalatha, S., Diabetes Mellitus: An Overview On its Pharmacological Aspects and Reported Medicinal Plants Having Antidiabetic Activity, *Asian Pac J Trop Biomed*, 2012; 2(5): 411.
22. Anonim, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 2000; p. 9,13,18,17.
23. Syahriana, F., Standardisasi Ekstrak Etanol Daun Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) Hasil Budidaya Petani Gantiwarno, Klaten Berdasarkan Parameter Spesifik Dan Non Spesifik, *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta; 2015. p. 22,23,34.
24. Hernamani, D., Pengaruh Pemberian Berulang Ekstrak Etanol Daun Kangkung (*Ipomoea Aquatica*, Forsk) Terhadap Fungsi Hepar Mencit Jantan Galur Balb/C, *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta; 2015. p. 38,39, 62.
25. Chatzigeorgiou, A., Halapas, A., Kalafatakis, K., Kamper, E., The Use of Animal Models in the Study of Diabetes Mellitus, *In Vivo*, 2009; 23: 245,246.
26. Nugroho, A, E., Hewan Percobaan Diabetes Mellitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik, *Biodiversitas*, 2006; 7(4): 378.

27. Arora, S., Kumar Ojha, S., Vohora, D., Characterisation of Streptozotocin Induced Diabetes Mellitus in Swiss Albino Mice, *Global Journal of Pharmacology*, 2009; 3 (2): 81,83.
28. Anonim, *Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in diagnosis of diabetes mellitus: abbreviated report of a WHO consultation*, World Health Organ, Geneva, 2011; p. 6
29. Bunn, H., Nonenzymatic Glycosilation of Protein: Relevance to Diabetes, *Am J Med*, 1981; 70: 325.
30. Morton, P, G., *Panduan Pemeriksaan Kesehatan*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 2005; p. 389.
31. Anonim, *Reference Values for Laboratory Animals*, available at <https://www.ahc.umn.edu/rar/refvalues.html> , diakses 19 Agustus 2016.
32. L, Dumitriu, I., Gurzu, B., Cojocaru, E, M., Sltineanu, S., Enea, M., Validation of GOD/ PAP Method For Quantitative Determination of Glucose Concentration in Human Serum, *Rev Rom Med Lab*, 2011; 19: 85.
33. L. A. Ginkis, M., B. Clifford, C., *Clinical Laboratory Pharameters For Crl:WI (Han)*, Charles River, 2008: 8
34. Van, Steenis, C.G.G.J., *Flora Voor De Scholen in Indonesia*, Terjemahan Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta, 1965; p. 8
35. Nurrohwindi, D, E., Standarisasi ekstrak etanolik Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir) Berdasarkan Pada Parameter Spesifik dan Nonspesifik, *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta; 2012. p. 21
36. Wijayanti, M., Antidiabetes Ekstrak Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir) Pada Tikus Jantan Wistar Yang Diinduksi Streptozotocin, *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta; 2013. p. 37
37. Anonim, *Fluitest® GLU Glucose*, Analiticon® Biotechnologies AG, Germany, 2015.
38. Anonim, *Fluitest® GPT ALT Alanine Aminotransferase*, Analiticon® Biotechnologies AG, Germany, 2015.
39. Anonim, *Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit Rat Hemoglobin A1C (HbA1C) ELISA Kit*, Bioassay Technology Laboratory Korain Biotech CO.,LTD, Shanghai, China, 2016; 1-7.

40. Zabrina, G., Kajian Keamanan Pemberian Berulang Ekstrak Etanolik Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir.) Terstandar Terhadap Fungsi Ginjal Dan Hepar Mencit Betina Galur DDY, *Skripsi*, Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta; 2012. p. 26.
41. Ganjar, I.G., Rohman, A., *Kimia Farmasi Analisis*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta, 2012: p. 363,367
42. Zeb, A., Thin layer chromatographic analysis of carotenoids in plant and animal sampels, *J of Planar Chromatography*, 2010; 23(2).
43. Anonim, *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga 1979*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1979; p. 706
44. Saifudin, A., Rahayu, V., Teruna, H. Y., *Standardisasi Bahan Obat Alam*, Graha Ilmu, Yogyakarta, 2011.
45. Anonim, *Materia Medika Indonesia Edisi V*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1989; p. 257
46. Anonim, *Batas Maksimum Cemaran Logam Dalam Pangan*, Badan Standardisasi Nasional SNI 01-7387-2009, Jakarta, 2009; p. 4,7
47. Anonim, *Batas Cemaran Mikroba Dalam Pangan*, Badan Standardisasi Nasional SNI 7388-2009, Jakarta, 2009; p. 6
48. K. Butler, L., Regulation of Blood Glucose Levels in Normal and Diabetic Rats, *ABLE*, 1995; Vol 16:197.
49. J. Neal, M., Alih Bahasa Oleh Surapsari, J., *At a Glance farmakologi Medis Edisi Kelima*, Penerbit Erlangga, Jakarta, 2006; p. 78
50. Ragbetli, C., Ceylan, E., Effect of Streptozotocin On Biochemical Parameter In Rats, *Asian J Chem*, 2010; 22(3): 78.
51. Ronika, C., Peningkatan Kadar Serum *Glutamic Piruvic Transaminase* (SGPT) Pada Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus*) Jantan Yang Dipapar Stresor Rasa Sakit Renjatan Listrik, *Skripsi*, Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, 2012. 24.
52. Alkiyumi, S. S., Abdullah, M. O., Alrashdi, A. S., Salama, S. M., Abdelwahab, S. I., and A. Hamid A. Hadi., *Ipomoea aquatica* Extract Shows Protective Action Against Thioacetamide-Induced Hepatotoxicity, *Molecules*, 2012; 17: 6153
53. S, George, S., A, Uwakwe, A, O., Ibeh, G., Relationship Of Glycated Haemoglobin (HbA1c) And Glucose In Streptozotocin- Induced Wistar Rats Is Determined By Linear Regression, *AJMS*, 2012; 3(3): 3.

**L
A
M
P
I
R
A
N**



Lampiran 1. Ethical clearance




UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
KOMITE ETIK PENELITIAN KEDOKTERAN DAN KESEHATAN

Sekretariat : Jl. Kalurang Km. 14,5 YOGYAKARTA 55584
Telp. (0274) 898444 ext. 2060 Fax. (0274) 898444 ext. 2007; E-mail : ke.fkuii@yahoo.co.id

Nomor : 24/Ka.Kom.Et/70/KE/VI/2016

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

"Aktivitas Ekstrak Etanolik Daun Kangkung Darat (*Ipomoea reptans* Poir) Terstandar sebagai Antihiperlipkemia terhadap Kadar HbA1c dan Kadar ALT pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Sterptozotisin."

Peneliti Utama : **Triyono**
Principal Investigator

Nama Institusi : **Program Studi Farmasi FMIPA UII**
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
and approved the above-mentioned protocol.

Yogyakarta, 15 Juni 2016

Ketua

(Signature)

Prof. Dr. Dra. Wiryatuh Lestariyana, Apt

*Ethical Approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

**Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Memberitahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini ethical clearance harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (serious adverse events)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan informed consent

Lampiran 2. Surat Keterangan Kesehatan Hewan



PEMERINTAH KOTA YOGYAKARTA
DINAS PERINDUSTRIAN, PERDAGANGAN, KOPERASI DAN PERTANIAN
UPT PELAYANAN KEHEWANAN

Jl. Tegalturi Giwangan Yogyakarta Telp 0274 371080
EMAIL : perindagkoptan@jogjakota.go.id EMAIL INTRANET : perindagkoptan@intra.jogjakota.go.id
WEBSITE : www.jogjakota.go.id

Surat Keterangan Kesehatan Hewan

No. 524/SKS/XI.502/2016

Yang bertandatangan dibawah ini dokter hewan Poliklinik Hewan Kota Yogyakarta, UPT Pelayanan Kehewanan, Dinas Perindustrian Perdagangan Koperasi dan Pertanian Kota Yogyakarta, menerangkan bahwa :

No	Jenis hewan	Umur	Warna	Jenis kelamin	Keterangan
1.	RAT WISTAR	2-3 BLN	PUTIH	JANTAN	EMPAT RUJUH LIMA EKOR

Hewan/ Satwa tersebut milik :

Nama : M. ROZIKIN
Alamat : SURYODINERATAN MJ II 1636 YK.

Pada waktu dilakukan pemeriksaan hewan tersebut dinyatakan sehat secara klinis.

Disampaikan bahwa hewan tersebut rencana akan dikirim dengan tujuan sebagai berikut:

Kota tujuan : UJI (JABAN KALIURANG)
da PRATOMO SATRIYO DAMAR JATI
Alat Angkut : ANGEKUTAN DARAT
Hari/tanggal :

Demikian harap yang berkepentingan maklum.

Yogyakarta, 9 NOVEMBER 2016
Dokter hewan pemeriksa

drh. Dewa Riana Sawi
NIP. 19761118 2009012002



SEGORO AMARTO
SEMANGAT GOTONG ROYONG AGAWE MAJUNE NGAYOGYAKARTA
KEMANDIRIAN - KEDISIPLINAN - KEPEDULIAN - KEBERSAMAAN

Lampiran 3a. Surat Determinasi


LABORATORIUM BIOLOGI FARMASI
PROGRAM STUDI FARMASI
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
Gedung Laboratorium Terpadu UII, Jl. Kaliurang km 14,5 Ngemplak Sleman, Yogyakarta
Telp: (0274)895920 ext 3033, 3034

SURAT KETERANGAN
Nomor:01/UII/Jur Far/det/VI/2016

Yang bertanda tangan di bawah ini, Kepala Laboratorium Biologi Farmasi Jurusan Farmasi FMIPA UII menerangkan bahwa:

Nama : Triyono
NIM : 12613257
Pada tanggal : 20 Juni 2016

Telah mendeterminasi 1 (satu) species tanaman dengan bimbingan Dra.Iyok Budiarti, di Laboratorium Biologi Farmasi FMIPA UII.

Tanaman tersebut: *Ipomoea reptans*, Poir (kangkung darat)

Demikian surat keterangan ini di buat untuk dipergunakan semestinya.

Yogyakarta, 20 Juni 2016
Bagian Biologi Farmasi
Kepala,



Annisa Fithria M.Si., Apt
NIP. 126130401

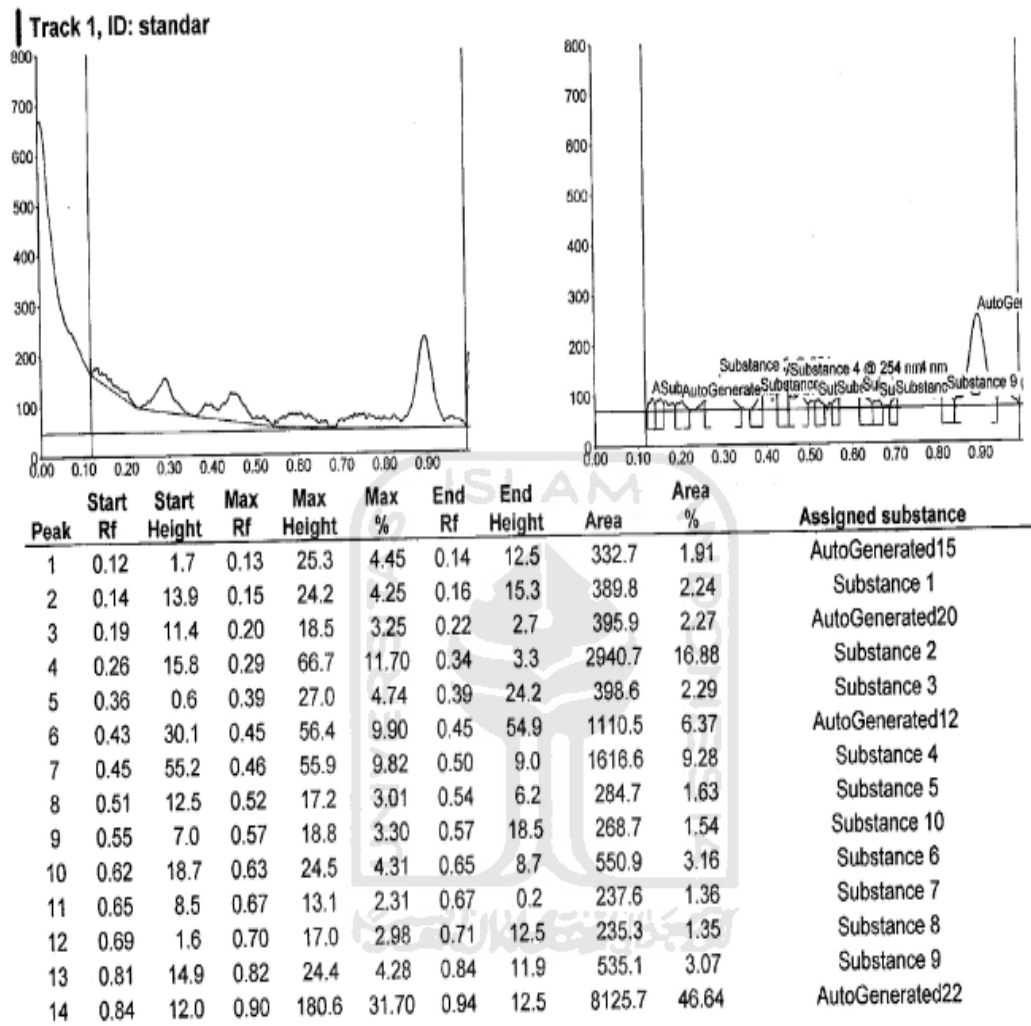
Lampiran 3b. Hasil Determinasi

Hasil Determinasi Tanaman kangkung Darat

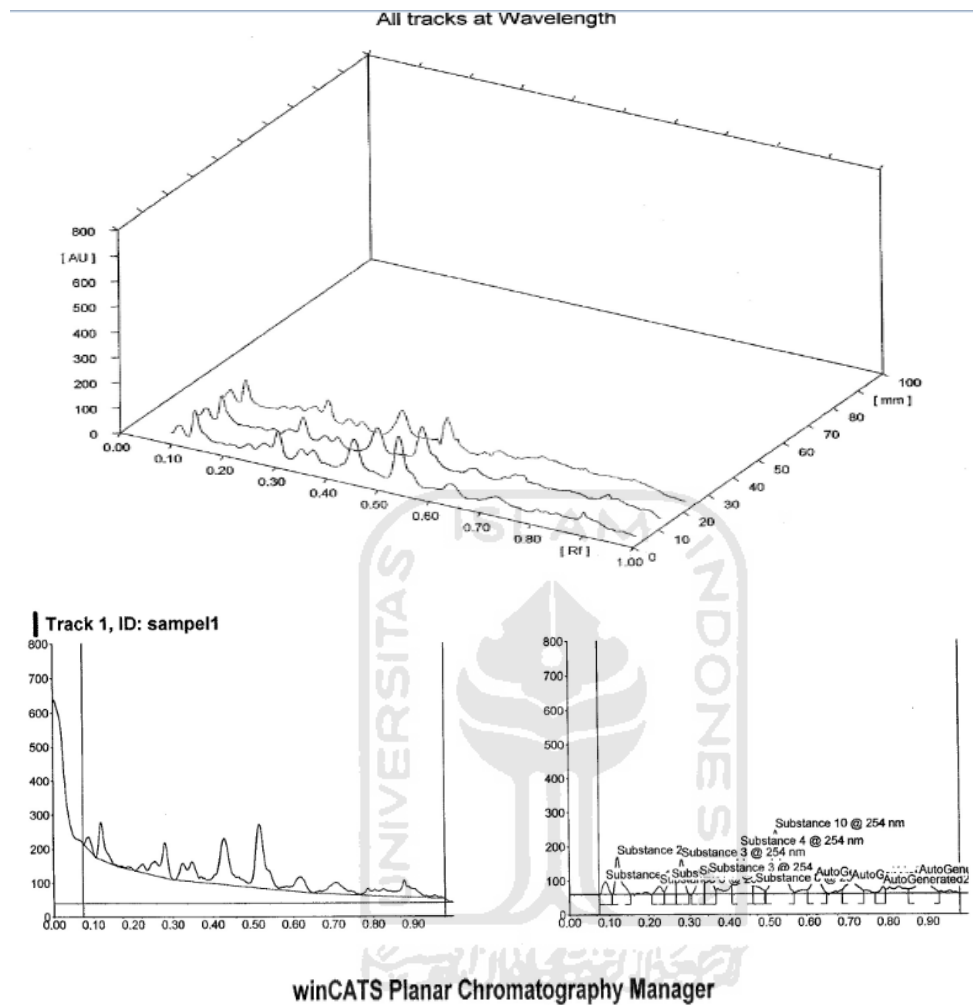
- 1.b. Berbunga sejati
 - 2.b. Tumbuhan menjalar
 - 3.b. Daun tidak berbentuk jarum
 - 4.b. Bukan bangsa rumput
 - 6.b. Daun jelas
 - 7.b. Bukan bangsa palem
 - 9.b. Tumbuhan tidak memanjat /melilit
 - 10.b. Daun tidak tersusun rapat
 - 11.b. Ibu tulang daun dapat dibedakan jelas dari jaring urat daun dan dari anak cabang tulang daun.
 - 12.b. Tidak semua daun duduk dalam karangan atau tidak ada daun sama sekali.
 - 13.b. Tumbuh-tumbuhan berbentuk lain.
 - 14.a. Daun tersebar, kadang-kadang sebagian berhadapan.
 - 15.a. Daun tunggal tetapi tidak berbagi menyirip.
- (Golongan 8. Tanaman dengan daun tunggal dan tersebar)**
- 109.b. Tanaman darat (atau tumbuh) diantara tanaman bakau
 - 119.b. Tanaman bukan benalu.
 - 120.a. Tanaman bergetah
 - 121.a. Rumput-rumputan (herba)
 - 122.b. Bunga besar, tidak dengan bongkol dengan pentalut.
 - 123.b. Tabung mahkota ke atas melebar menjadi bentuk trompet tanpa taju, tangkai sari lepas.
107. Famili Convolvulaceae
- 1.b. Buah kotak dengan 4 (jarang 6) kelep, terbelah membuka, kebanyakan bergigi 2 atau 6. Daun kelopak lain. Mahkota lebih panjang dari 0,5 cm... (Ipomoea)
2. Ipomoea
- 1.b. Rumput-rumput membelit atau menjalar
 - 2.b. Helaiian daun tidak berbagi menyirip
 - 3.b. Bunga majemuk berbentuk panjang atau bunga tunggal.
 - 4.b. Tanaman menjalar pada buku-bukunya keluar akar. Tabung mahkota paling panjang 5cm. Kepala putik dan benang- benang sari tertutup di dalam tabung.
 - 5.b. Helaiian daun tidak seperti kulit dengan ujung yang runcing atau tumpul tidak pernah romping.
 - 6.a. Tanaman tanpa umbi dalam tanah. Batang tebal dan berongga atau seperti bunga karang. Kadang- kadang mengapung. Bakal buah gundul.biji-biji berbulu halus rapat.

Hasil: *Ipomoea reptans* Poir.

Lampiran 4a. Hasil pembacaan kromatogram standar β -karoten dengan
TLC- Scanner

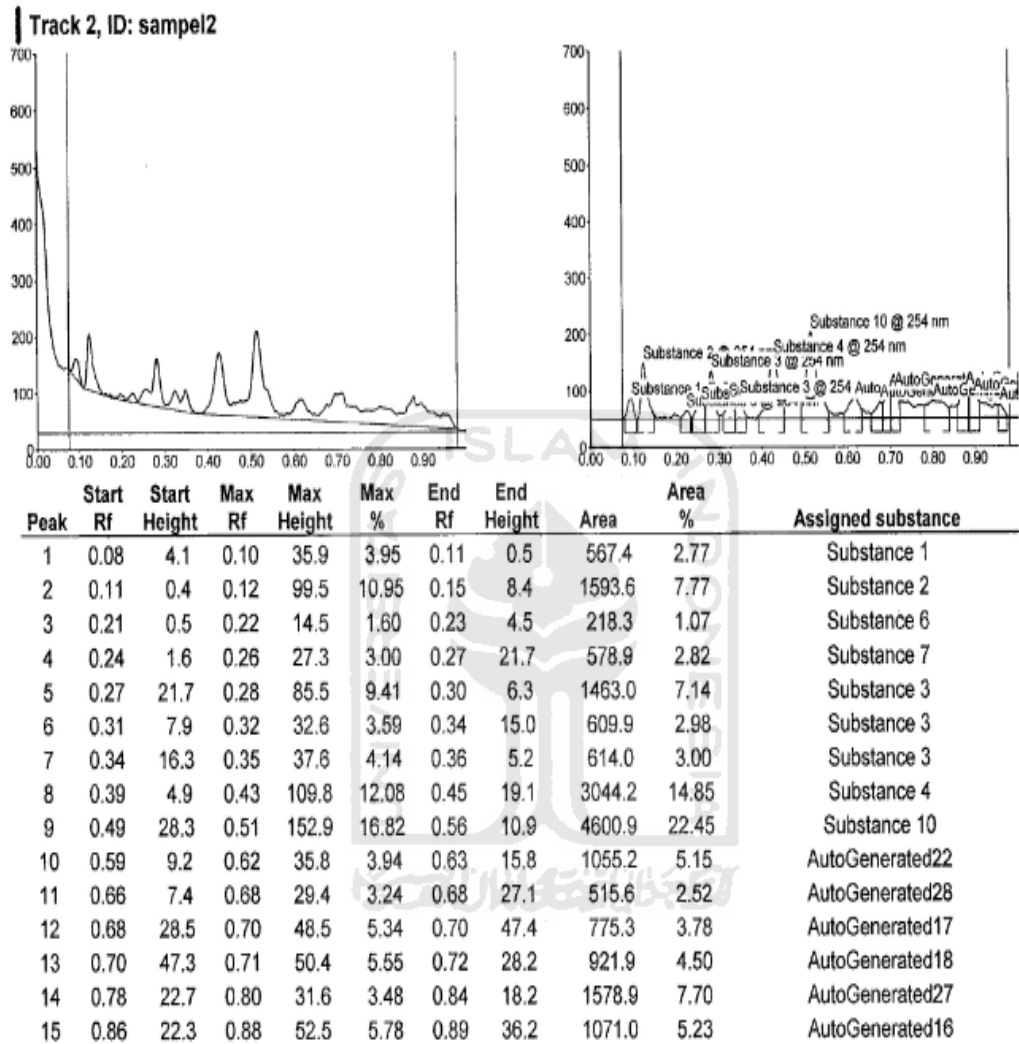


Lampiran 4b. Hasil pembacaan kromatogram ekstrak replikasi ke-1 dengan *TLC- Scanner*



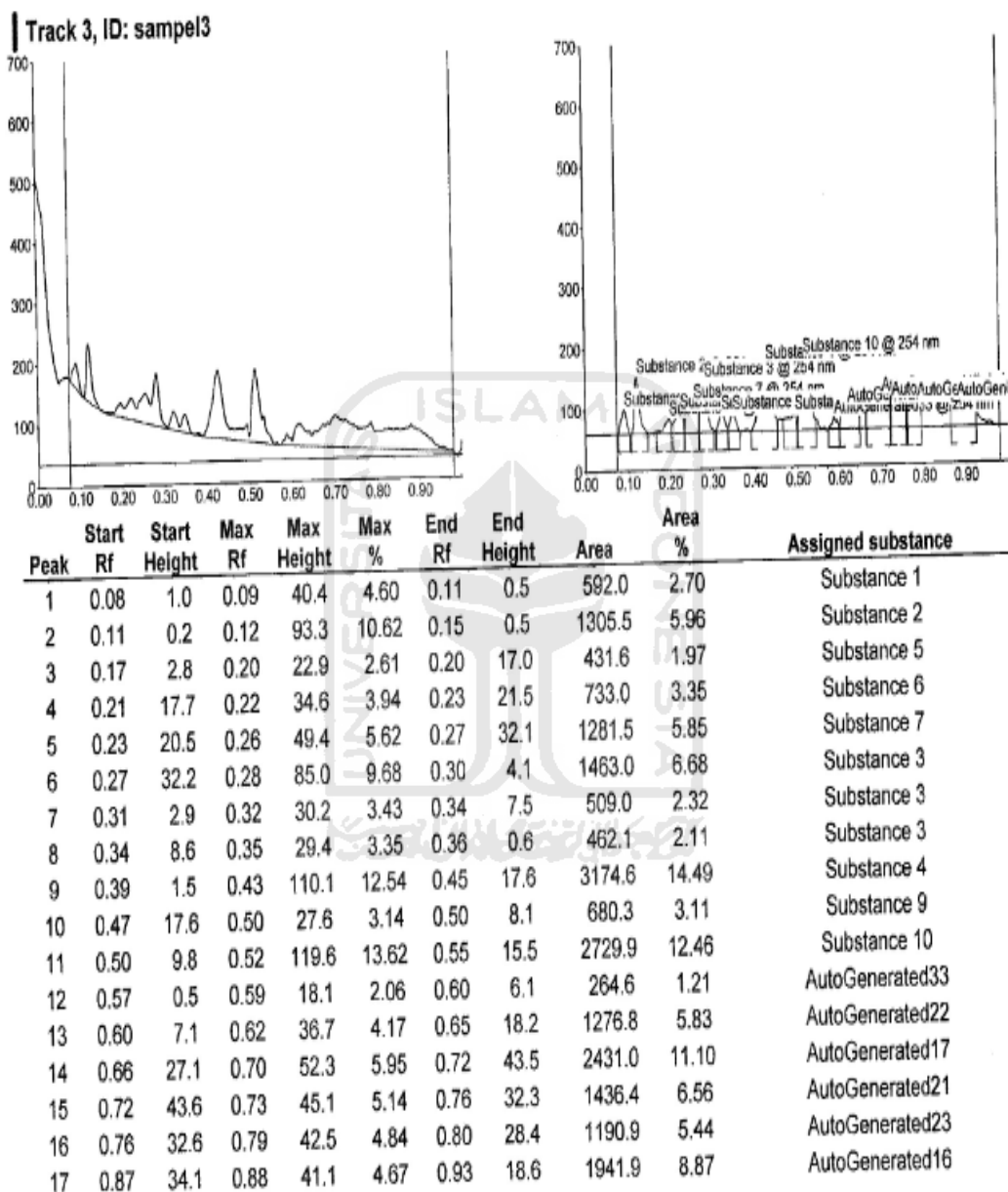
Peak	Start Rf	Start Height	Max Rf	Max Height	Max %	End Rf	End Height	Area	Area %	Assigned substance
1	0.08	0.3	0.09	37.7	4.13	0.11	0.5	592.3	2.76	Substance 1
2	0.11	0.1	0.12	109.1	11.96	0.15	1.7	1848.4	8.62	Substance 2
3	0.21	0.1	0.23	24.0	2.63	0.24	8.7	413.9	1.93	Substance 6
4	0.24	9.2	0.26	40.6	4.45	0.27	31.1	897.7	4.19	Substance 7
5	0.27	31.2	0.28	101.5	11.13	0.30	0.7	1675.6	7.82	Substance 3
6	0.31	1.0	0.33	49.7	5.45	0.34	31.8	945.1	4.41	Substance 3
7	0.34	32.4	0.35	56.9	6.24	0.37	11.4	1114.0	5.20	Substance 3
8	0.41	26.9	0.43	134.4	14.73	0.46	23.5	3755.8	17.52	Substance 4
9	0.46	23.9	0.47	26.3	2.88	0.49	10.2	574.2	2.68	Substance 8
10	0.49	11.2	0.52	186.0	20.38	0.56	3.7	5096.5	23.77	Substance 10
11	0.60	12.6	0.62	43.6	4.78	0.64	3.1	1277.1	5.96	AutoGenerated22
12	0.68	12.0	0.71	34.4	3.77	0.74	9.3	1269.9	5.92	AutoGenerated17
13	0.77	1.3	0.79	19.8	2.17	0.79	12.8	268.2	1.25	AutoGenerated23
14	0.85	13.4	0.88	48.4	5.30	0.93	4.9	1710.9	7.98	AutoGenerated16

Lampiran 4c. Hasil pembacaan kromatogram ekstrak replikasi ke-2 dengan
TLC- Scanner



Lampiran 4d. Hasil pembacaan kromatogram ekstrak replikasi ke-3 dengan
TLC- Scanner

winCATS Planar Chromatography Manager

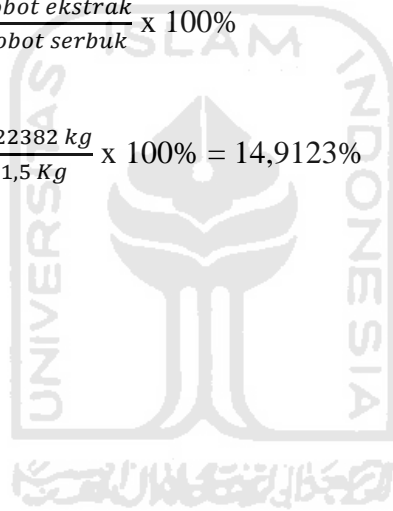


Lampiran 5. Perhitungan Hasil Rendemen Ekstrak kental daun Kangkung

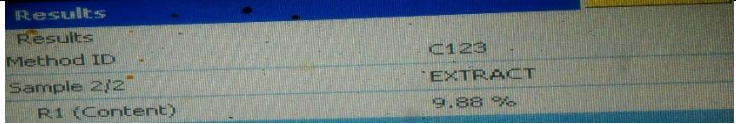
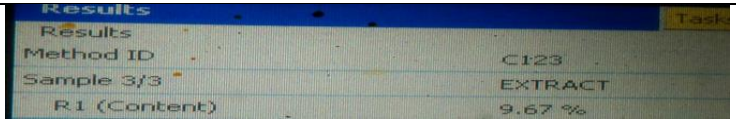
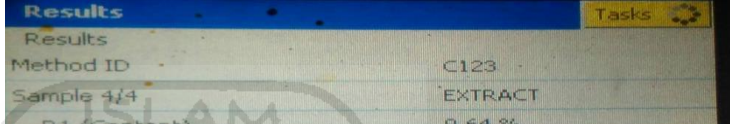
Diketahui:

- Berat kangkung basah total : 55 Kg
- Berat daun kangkung basah total : 17,42 Kg
- Berat daun kangkung kering : 1,8 Kg
- Berat serbuk daun kangkung : 1,75 Kg
- Serbuk simplisia yang digunakan : 1,5 Kg
- Ekstrak yang diperoleh : 0.22382 Kg

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen ekstrak} &= \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{0,22382 \text{ kg}}{1,5 \text{ Kg}} \times 100\% = 14,9123\%\end{aligned}$$



Lampiran 6. Perhitungan Penetapan Kadar Air

Replikasi	Kadar Air	Keterangan
I	9,88%	
II	9,67%	
III	9,64%	
Rata-rata kadar air (\bar{X})	9,73%	
SD	0,131	
RSD	1,346%	

$$\text{Rata-rata \% kadar air} = \frac{9,88\% + 9,67\% + 9,64\%}{3} = 9,73\%$$

$$\begin{aligned} \text{Standar deviasi (SD)} &= \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \\ &= \sqrt{\frac{\sum (9,88 - 9,73)^2 + (9,67 - 9,73)^2 + (9,64 - 9,73)^2}{3-1}} = 0,131 \end{aligned}$$

$$\text{RSD} = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\% = \frac{0,131}{9,73} \times 100\% = 1,346\%$$

Lampiran 7. Tabel Hasil Penimbangan Berat Badan

Sampel	BB tikus (gram)				
	Hari ke-0	Hari ke-4	Hari ke-11	Hari ke-18	
Kelompok Normal (F) aquadest	F3	182	178	179	199
	F5	165	164	167	181
	F6	183	179	177	200
	F7	176	175	173	200
	F8	190	182	196	205
Kelompok Negatif (-)	D1	180	177	151	167
	D3	182	177	177	182
	D5	206	185	175	178
	D7	162	141	145	130
	D10	175	170	144	161
Kelompok kontrol positif (+) glibenlkamid	C1	162	159	152	163
	C4	177	178	169	178
	C5	163	172	160	170
	C6	155	141	133	132
	C7	143	149	135	135
Perlakuan I dosis ekstrak 100mg/KgBB	A2	195	186	180	187
	A4	197	183	177	185
	A6	225	206	183	188
	A7	180	179	168	188
	A8	197	200	188	182
Perlakuan II dosis ekstrak 200mg/KgBB	B1	212	202	180	183
	B2	203	178	160	155
	B3	168	168	154	155
	B4	201	178	183	185
	B7	217	221	210	209
Perlakuan II dosis ekstrak 300mg/KgBB	E3	190	233	215	233
	E5	194	134	125	120
	E7	164	197	186	196
	E8	133	151	140	150
	E9	189	221	230	255

Lampiran 8a. Tabel Hasil Pembacaan KGDP

Sampel	KGD (mg/dl)		
	Hari ke-0	Hari ke-4	
Kelompok Normal aquadest	F3	136,43	169,28
	F5	107,28	169,28
	F6	123,48	164,79
	F7	99,59	129,96
	F8	153,04	147,56
Kelompok Negatif (-)	D1	126,32	329,01
	D3	156,68	254,9
	D5	162,34	317,26
	D7	171,26	384,71
	D10	148,18	239,61
Kelompok kontrol positif (+) glibenlkamid	C1	202,17	497,46
	C4	165,37	367,52
	C5	143,72	491,03
	C6	122,08	498,72
	C7	139,83	406,41
Perlakuan I Kelompok Ekstrak kangkung dosis 100mg/KgBB	A2	150,65	392,74
	A4	171,86	515,81
	A6	156,71	501,71
	A7	157,58	241,88
	A8	135,93	442,74
Perlakuan II Kelompok Ekstrak kangkung dosis 200mg/KgBB	B1	132,9	474,79
	B2	162,34	528,2
	B3	164,5	355,98
	B4	137,23	416,67
	B7	179,65	253,42
Perlakuan II Kelompok Ekstrak kangkung dosis 300mg/KgBB	E3	144,93	331,46
	E5	124,69	354,31
	E7	127,12	508,61
	E8	167,2	404,12
	E9	174,09	246,44

Lampiran 8b. Hasil uji statistik *Paired Samples Test* kadar KGDP antara H ke-0 dengan H ke-4 pada kelompok kontrol negatif.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		PreSTZ	PostSTZ
N		5	5
Normal Parameters ^a	Mean	1.5296E2	3.0510E2
	Std. Deviation	1.7097E1	5.8877E1
Most Extreme Differences	Absolute	.190	.203
	Positive	.142	.203
	Negative	-.190	-.182
Kolmogorov-Smirnov Z		.425	.454
Asymp. Sig. (2-tailed)		.994	.986

a. Test distribution is Normal.

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	PreSTZ - PostSTZ	-1.521E2	56.82213	25.41163	-222.69599	-81.58801	-5.987	4	.004

Hipotesis :

H₀ : Rata-rata perubahan kadar KGDP antara hari ke-0 dengan hari ke-4 tidak memiliki perbedaan signifikan

H₁ : Rata-rata perubahan kadar KGDP antara hari ke-0 dengan hari ke-4 memiliki perbedaan signifikan

Pengambilan Keputusan:

Jika probabilitas > 0,05, maka H₀ diterima

Jika probabilitas < 0,05, maka H₀ ditolak

Keputusan:

Berdasarkan *Paired Samples Test* nilai probabilitas kadar KGDP antara hari ke-0 dan hari ke-18 sebesar 0.004 Nilai $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa H₀ ditolak atau Rata-rata perubahan kadar KGDP antara hari ke-0 dengan hari ke-4 memiliki perbedaan signifikan.

Lampiran 9a. Tabel Hasil Pengukuran Kadar kadar ALT

Sampel	Kadar ALT (U/L)			
	Hari ke-0	Hari ke-11	Hari ke- 18	
Kelompok Normal aquadest	F3	97,86	66,48	61,95
	F5	41,25	60,01	78,61
	F6	47,23	45,29	73,11
	F7	60,50	82,49	120,67
	F8	57,58	57,91	82,33
Kelompok Kontrol positif(+) glibenlkamid	C1	35,26	118,40	88,80
	C4	44,48	122,61	124,87
	C5	50,47	89,93	88,15
	C6	52,41	120,02	52,08
	C7	56,61	208,50	224,35
Kelompok Negatif (-)	D1	71,98	91,87	63,41
	D3	85,89	64,54	58,88
	D5	47,39	78,93	45,61
	D7	37,04	97,21	128,75
	D9	39,79	98,67	56,94
Perlakuan I Kelompok Ekstrak 100mg/KgBB	A2	52,57	114,03	109,99
	A4	46,91	128,59	102,87
	A6	42,86	42,38	184,56
	A7	37,85	42,54	36,56
	A8	46,10	94,46	84,43
Perlakuan II Kelompok Ekstrak 200mg/KgBB	B1	27,98	63,41	108,21
	B2	43,04	155,77	296,97
	B3	33,48	131,67	87,02
	B4	31,87	61,47	69,23
	B7	43,51	71,49	75,05
Perlakuan III Kelompok Ekstrak 300mg/KgBB	E3	38,34	43,51	51,60
	E5	22,48	43,19	52,89
	E7	55,00	53,38	62,92
	E8	60,17	92,04	125,19
	E9	64,54	46,10	58,72

Lampiran 9b. Hasil uji statistik uji *One way* ANOVA kadar ALT hari ke-18

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar_ALT_ H18
N		30
Normal Parameters ^a	Mean	95.1573
	Std. Deviation	55.82606
Most Extreme Differences	Absolute	.212
	Positive	.212
	Negative	-.154
Kolmogorov-Smirnov Z		1.161
Asymp. Sig. (2-tailed)		.135

a. Test distribution is Normal.

Descriptives

Kadar ALT H18

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K. Normal	5	83.3340	22.24358	9.94763	55.7150	110.9530	61.95	120.67
K. Positif	5	1.1565E2	65.99056	29.51188	33.7119	197.5881	52.08	224.35
K.Negatif	5	70.7180	33.09646	14.80119	29.6233	111.8127	45.61	128.75
Dosis 100mg/KgBB	5	1.0368E2	53.52033	23.93502	37.2277	170.1363	36.56	184.56
Dosis 200mg/KgBB	5	1.2730E2	96.01693	42.94008	8.0752	246.5168	69.23	296.97
Dosis 300mg/KgBB	5	70.2640	31.04136	13.88212	31.7211	108.8069	51.60	125.19
Total	30	95.1573	55.82606	10.19240	74.3115	116.0031	36.56	296.97

Test of Homogeneity of Variances

Kadar ALT H18

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.578	5	24	.204

ANOVA

Kadar ALT H18

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14411.317	5	2882.263	.911	.491
Within Groups	75968.596	24	3165.358		
Total	90379.914	29			

Hipotesis :

H_0 : Rata-rata tiap kelompok tidak memiliki perbedaan signifikan

H_1 : Rata-rata tiap kelompok memiliki perbedaan signifikan.

Pengambilan Keputusan:

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Keputusan:

Berdasarkan *One-way ANOVA* nilai probabilitas kadar ALT hari ke-18 sebesar 0,491 Nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa H_0 diterima atau keenam varians data tidak memiliki perbedaan signifikan.

Lampiran 9c. Hasil uji statistik uji *Paired Samples Test* kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok kontrol normal.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari_ke0	Hari_ke18
N		5	5
Normal Parameters ^a	Mean	60.8840	83.3340
	Std. Deviation	2.2080E1	22.24358
Most Extreme Differences	Absolute	.307	.318
	Positive	.307	.318
	Negative	-.187	-.168
Kolmogorov-Smirnov Z		.686	.711
Asymp. Sig. (2-tailed)		.734	.693

a. Test distribution is Normal.

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Hari_ke0 - Hari_ke18	-2.245E1	35.59512	15.91862	-66.64718	21.74718	-1.410	4	.231

Hipotesis :

H_0 : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan signifikan

H_1 : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 memiliki perbedaan signifikan

Pengambilan Keputusan:

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Keputusan:

Berdasarkan *Paired Samples Test* nilai probabilitas kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 sebesar 0,231 Nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa H_0 diterima atau rata-rata perubahan kadar ALT kelompok kontrol normal antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Lampiran 9d. Hasil uji statistik uji *Paired Samples Test* kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok kontrol positif.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari_ke0	Hari_ke18
N		5	5
Normal Parameters ^a	Mean	47.8460	115.6500
	Std. Deviation	8.28041	65.99056
Most Extreme Differences	Absolute	.224	.258
	Positive	.145	.258
	Negative	-.224	-.168
Kolmogorov-Smirnov Z		.502	.577
Asymp. Sig. (2-tailed)		.963	.893

a. Test distribution is Normal.

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	Hari_ke0 - Hari_ke18	-6.780E1	63.04516	28.19465	-146.08491	10.47691	-2.405	4	.074

Hipotesis :

H₀ : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan signifikan

H₁ : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 memiliki perbedaan signifikan

Pengambilan Keputusan:

Jika probabilitas > 0,05, maka H₀ diterima

Jika probabilitas < 0,05, maka H₀ ditolak

Keputusan:

Berdasarkan *Paired Samples Test* nilai probabilitas kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 sebesar 0,074 Nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa H₀ diterima atau rata-rata perubahan kadar ALT kelompok kontrol positif antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Lampiran 9e. Hasil uji statistik uji *Paired Samples Test* kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok kontrol negatif.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke0	Hari ke18
N		5	5
Normal Parameters ^a	Mean	56.4180	70.7180
	Std. Deviation	2.1472E1	33.09646
Most Extreme Differences	Absolute	.263	.387
	Positive	.263	.387
	Negative	-.183	-.224
Kolmogorov-Smirnov Z		.588	.866
Asymp. Sig. (2-tailed)		.880	.441

a. Test distribution is Normal.

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Hari_ke0 - Hari_ke18	-1.430E1	46.06666	20.60164	-71.49932	42.89932	-.694	4	.526

Hipotesis :

H_0 : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan signifikan

H_1 : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 memiliki perbedaan signifikan

Pengambilan Keputusan:

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Keputusan:

Berdasarkan *Paired Samples Test* nilai probabilitas kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 sebesar 0,526 Nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa H_0 diterima atau rata-rata perubahan kadar ALT kelompok kontrol negatif antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Lampiran 9f. Hasil uji statistik uji *Paired Samples Test* kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok ekstrak kangkung dosis 100mg/kgBB.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari_ke0	hari_ke18
N		5	5
Normal Parameters ^a	Mean	45.2580	103.6820
	Std. Deviation	5.42062	53.52033
Most Extreme Differences	Absolute	.180	.253
	Positive	.180	.253
	Negative	-.162	-.160
Kolmogorov-Smirnov Z		.403	.566
Asymp. Sig. (2-tailed)		.997	.906

a. Test distribution is Normal.

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Hari_ke0 - hari_ke18	-5.842E1	52.22907	23.35755	-123.27495	6.42695	-2.501	4	.067

Hipotesis :

H_0 : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan signifikan

H_1 : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 memiliki perbedaan signifikan

Pengambilan Keputusan:

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Keputusan:

Berdasarkan *Paired Samples Test* nilai probabilitas kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 sebesar 0,067 Nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa H_0 diterima atau rata-rata perubahan kadar ALT kelompok ekstrak kangkung dosis 100 mg/kgBB antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Lampiran 9g. Hasil uji statistik uji *Paired Samples Test* kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok ekstrak kangkung dosis 200mg/kgBB.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke0	Hari ke18
N		5	5
Normal Parameters ^a	Mean	35.9760	127.2960
	Std. Deviation	6.95857	96.01693
Most Extreme Differences	Absolute	.245	.379
	Positive	.240	.379
	Negative	-.245	-.273
Kolmogorov-Smirnov Z		.548	.847
Asymp. Sig. (2-tailed)		.925	.470

a. Test distribution is Normal.

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 Hari_ke0 - Hari_ke18	-9.132E1	92.84080	41.51967	-206.59708	23.95708	-2.199	4	.093

Hipotesis :

H_0 : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan signifikan

H_1 : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 memiliki perbedaan signifikan

Pengambilan Keputusan:

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Keputusan:

Berdasarkan *Paired Samples Test* nilai probabilitas kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 sebesar 0,093 Nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa H_0 diterima atau rata-rata perubahan kadar ALT kelompok ekstrak kangkung dosis 200mg/kgBB antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Lampiran 9h. Hasil uji statistik uji *Paired Samples Test* kadar ALT antara H ke-0 dengan H ke-18 pada kelompok ekstrak kangkung dosis 300mg/kgBB.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Hari ke0	Hari ke18
N		5	5
Normal Parameters ^a	Mean	48.1060	70.2640
	Std. Deviation	1.7429E1	31.04136
Most Extreme Differences	Absolute	.254	.394
	Positive	.173	.394
	Negative	-.254	-.274
Kolmogorov-Smirnov Z		.567	.880
Asymp. Sig. (2-tailed)		.904	.421

a. Test distribution is Normal.

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	Hari_ke0 - Hari_ke18	-2.215E1	27.24844	12.18587	-55.99141	11.67541	-1.818	4	.143

Hipotesis :

H_0 : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan signifikan

H_1 : Rata-rata perubahan kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 memiliki perbedaan signifikan

Pengambilan Keputusan:

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

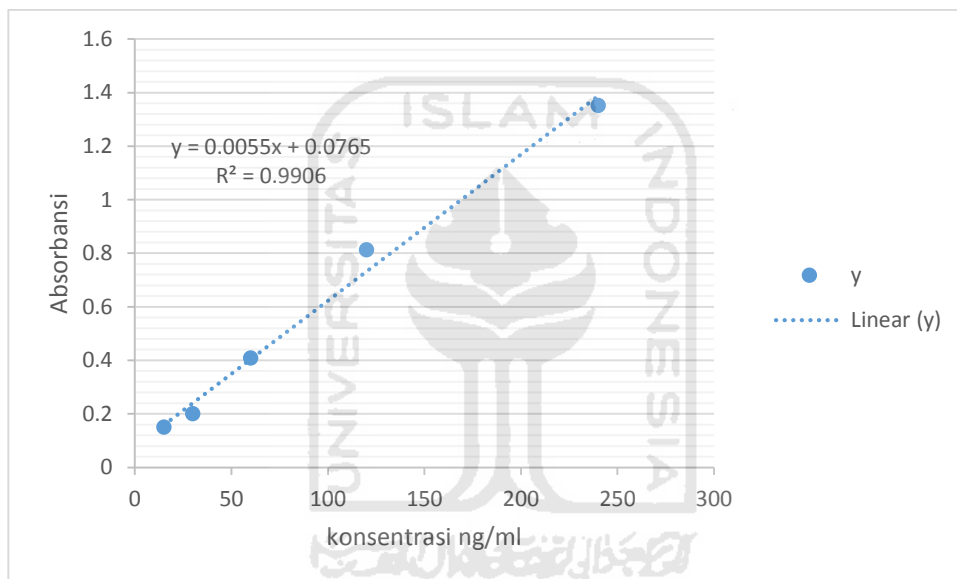
Jika probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Keputusan:

Berdasarkan *Paired Samples Test* nilai probabilitas kadar ALT antara hari ke-0 dengan hari ke-18 sebesar 0,143 Nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa H_0 diterima atau rata-rata perubahan kadar ALT kelompok ekstrak kangkung dosis 300mg/kgBB antara hari ke-0 dengan hari ke-18 tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Lampiran 10a. Standar Kurva Baku Kadar HbA1c

Konsentrasi standar (ng/ml) (x)	Absorbansi (y)
240	1.351
120	0.812
60	0.408
30	0.2
15	0.15



Persamaan kurva baku:

$$Y=0,0055x +0,0765$$

$$Y=bx+a$$

Lampiran 10b. Tabel Hasil Pengukuran Kadar HbA1c

Sampel		abs r1	abs r2	blanko	Δ abs	kadar HbA1C (x)(mmol/mol)*	Hba1c(%) =(0,0915,x+2,15%)**
Kelompok Normal (n=5)	1	0,287	0,297	0,076	0,216	25,36	4,5
	2	0,413	0,353	0,076	0,307	41,91	6
	3	0,269	0,285	0,076	0,201	22,67	4,2
	4	0,305	0,341	0,076	0,247	31	5
	5	0,446	0,446	0,076	0,37	53,36	7
Rata-rata							5,34
Kelompok Kontrol Positif (n=5)	1	0,35	0,363	0,076	0,2805	37,09	5,5
	2	0,294	0,34	0,076	0,241	29,91	4,9
	3	0,298	0,278	0,076	0,212	24,67	4,4
	4	0,318	0,301	0,076	0,2335	28,55	4,8
	5	0,372	0,311	0,076	0,2655	34,36	5,3
Rata-rata							4,98
Kelompok Kontrol Negatif (n=5)	1	0,383	0,45	0,076	0,3405	48	6,5
	2	0,338	0,42	0,076	0,303	41,18	5,9
	3	0,348	0,399	0,076	0,2975	40,18	5,8
	4	0,3	0,427	0,076	0,2875	38,36	5,7
	5	0,496	0,36	0,076	0,352	50,09	6,7
Rata-rata							6,12
Dosis ekstrak Kangkung 100mg/KgBB (n=5)	1	0,355	0,357	0,076	0,28	37	5,5
	2	0,309	0,278	0,076	0,2175	25,63	4,5
	3	0,368	0,334	0,076	0,275	36,09	5,5
	4	0,365	0,388	0,076	0,3005	40,73	5,9
	5	0,451	0,377	0,076	0,338	47,55	6,5
Rata-rata							5,58
Dosis ekstrak Kangkung 200mg/KgBB (n=5)	1	0,31	0,376	0,076	0,267	34,64	5,3
	2	0,375	0,373	0,076	0,298	40,27	5,8
	3	0,324	0,277	0,076	0,2245	26,91	4,6
	4	0,385	0,354	0,076	0,2935	39,46	5,8
	5	0,301	0,401	0,076	0,275	36,09	5,5
Rata-rata							5,40
Dosis ekstrak Kangkung 300mg/KgBB (n=5)	1	0,287	0,272	0,076	0,2035	23,09	4,3
	2	0,366	0,33	0,076	0,272	35,55	5,4
	3	0,342	0,355	0,076	0,2725	35,64	5,4
	4	0,319	0,301	0,076	0,234	28,64	4,8
	5	0,317	0,317	0,076	0,241	29,91	4,9
Rata-rata							4,96

*Kadar HbA1c dalam SI Unit (mmol/mol) = $(\Delta \text{ abs sampel} - \text{ blanko}) / b$

**Kadar HbA1c Unit NGSP (%) = $(0,0915 \times \text{ kadar HbA1c dalam mmol/mol}) + 2,15\%$

Lampiran 10c. Hasil uji statistik uji *One way* ANOVA kadar HbA1c hari ke-18.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar_Hba1c
N		30
Normal Parameters ^a	Mean	5.3967
	Std. Deviation	.72990
Most Extreme Differences	Absolute	.085
	Positive	.085
	Negative	-.081
Kolmogorov-Smirnov Z		.467
Asymp. Sig. (2-tailed)		.981

a. Test distribution is Normal.

Descriptives

Kadar_Hba1c	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
K. Normal	5	5.3400	1.15239	.51536	3.9091	6.7709	4.20	7.00
K. Positif	5	4.9800	.43243	.19339	4.4431	5.5169	4.40	5.50
K. negatif	5	6.1200	.44944	.20100	5.5619	6.6781	5.70	6.70
Dosis 100mg/KgBB	5	5.5800	.72938	.32619	4.6744	6.4856	4.50	6.50
Dosis 200mg/KgBB	5	5.4000	.49497	.22136	4.7854	6.0146	4.60	5.80
Dosis 300mg/KgBB	5	4.9600	.46152	.20640	4.3869	5.5331	4.30	5.40
Total	30	5.3967	.72990	.13326	5.1241	5.6692	4.20	7.00

Test of Homogeneity of Variances

Kadar_Hba1c			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.306	5	24	.076

ANOVA

Kadar_Hba1c					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.622	5	.924	2.049	.108
Within Groups	10.828	24	.451		
Total	15.450	29			

Hipotesis :

H_0 : Rata-rata tiap kelompok tidak memiliki perbedaan signifikan

H_1 : Rata-rata tiap kelompok memiliki perbedaan signifikan.

Pengambilan Keputusan:

Jika probabilitas $> 0,05$, maka H_0 diterima

Jika probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak

Keputusan:

Berdasarkan *One-way ANOVA* nilai probabilitas kadar ALT hari ke-18 sebesar 0.108 Nilai $p > 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa H_0 diterima atau keenam varians data tidak memiliki perbedaan signifikan.