

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK BIJI DUWET (*EUGENIA JAMBOLANA*)
TERHADAP PERUBAHAN KADAR GLUKOSA, LDL, HDL
DAN RASIO LDL/HDL PADA TIKUS WISTAR JANTAN
YANG TELAH DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Oleh :
HEPTA NUR ANUGRAHINI
NIM. 010630376. B

**PROGRAM STUDI ILMU KEPERAWATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK BIJI DUWET (*EUGENIA JAMBOLANA*)
TERHADAP PERUBAHAN KADAR GLUKOSA, LDL, HDL
DAN RASIO LDL/HDL PADA TIKUS WISTAR JANTAN
YANG TELAH DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Keperawatan (S.Kep.)
dalam Program Studi S1 Ilmu Keperawatan
pada Program Studi S1 Ilmu Keperawatan Fakultas Kedokteran UNAIR



Oleh :
HEPTA NUR ANUGRAHINI
NIM. 010630376. B

**PROGRAM STUDI S1 ILMU KEPERAWATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2007**

SURAT PERNYATAAN

Saya bersumpah bahwa proposal ini adalah hasil karya sendiri dan belum pernah dikumpulkan oleh orang lain untuk memperoleh gelar dari berbagai jenjang pendidikan di Perguruan Tinggi manapun

Surabaya, 25 Pebruari 2008

Yang Menyatakan

HEPTA NUR ANUGRAHINI
NIM. 010630376. B

LEMBAR PERSETUJUAN

SKRIPSI INI TELAH DISETUJUI
TANGGAL 25 PEBRUARI 2008

Oleh

Pembimbing Ketua

Dr. I Ketut Sudiana, Drs., MSi.
NIP. 130 877 636

Pembimbing

Tintin Sukartini, SKp., M.Kes.
NIP. 132 255 158

Mengetahui

a. n. Ketua Program Studi S1 Ilmu Keperawatan
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Wakil Ketua II

Dr. Nursalam, M. Nurs (Hons)
NIP. 140 238 226

iii

LEMBAR PENETAPAN PANITIA PENGUJI

Telah Diuji
Pada Tanggal 26 Pebruari 2008

PANITIA PENGUJI

Ketua : Harmayetty, SKp., M.Kes.

Anggota : 1. Dr. I Ketut Suidiana, Drs., MSi.

2. Tintin Sukartini, SKp., M.Kes.

Mengetahui

a. n. Ketua Program Studi S1 Ilmu Keperawatan
Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Wakil Ketua II

Dr. Nursalam, M. Nurs (Hons)
NIP. 140 238 226

KATA PENGANTAR

Puji syukur Penulis hadiratkan kepada Allah S.W.T. karena berkat rahmad dan hidayahNya sehingga skripsi dengan judul “ PENGARUH EKSTRAK BIJI DUWET (*EUGENIA JAMBOLANA*) TERHADAP PERUBAHAN KADAR GLUKOSA, LDL, HDL DAN RASIO LDL/HDL PADA TIKUS WISTAR YANG TELAH DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN “ dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Keperawatan (S.Kep.) pada Program Studi S1 Ilmu Keperawatan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Bersama ini perkenankanlah penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dan dukungan dari semua pihak dalam penyelesaian skripsi ini. Terima kasih yang tulus dan sebesar-besarnya saya sampaikan kepada yang terhormat :

1. Prof. Dr. H. Fasich, Apt. selaku Rektor Universitas Airlangga.
2. Prof. Dr. Muhammad Amin, dr., Sp.P(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada kami untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan Program S1 Ilmu Keperawatan.
3. Prof. H. Eddy Soewandojo, dr., Sp. PD.,KTI selaku Ketua Program Studi S1 Ilmu Keperawatan Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam rangka menyelesaikan pendidikan Program S1 Ilmu Keperawatan.
4. Dr. Nursalam, M. Nurs (Hons), selaku Wakil Ketua II Program Studi S1 Ilmu Keperawatan atas bantuan dalam kelancaran proses penyusunan skripsi ini.

5. Bapak Dr. I Ketut Sudiana, Drs., MSi. selaku dosen pembimbing 1 yang telah memberikan sumbangsih ilmu, bimbingan serta dorongan semangat dalam proses penyusunan skripsi, mulai dari persiapan proposal sampai dengan akhir penulisan skripsi ini.
6. Ibu Tintin Sukartini, SKp., M.Kes. selaku dosen pembimbing 2 yang telah memberikan sumbangsih ilmu, bimbingan serta semangat dalam proses penyusunan skripsi, mulai dari persiapan proposal sampai dengan akhir penulisan skripsi ini.
7. Bapak Achmad Yusuf, SKp., M.Kes., selaku pembimbing akademik atas semangat dan dukungan yang diberikan.
8. Bapak Sriyono, S.Kep. Ns. dan Ibu Ika Yuni Widyawati, S.Kep., Ns. atas kritik dan saran demi perbaikan proposal untuk kelanjutan penyusunan skripsi.
9. Ibu Harmayetty, SKp., M.Kes., atas saran untuk perbaikan skripsi ini.
10. Semua staf dosen dan tata usaha Program Studi S1 Ilmu Keperawatan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga yang turut membantu dan mendukung dalam kelancaran proses penyelesaian skripsi
11. *Mother* dan Bapak (Alm.) atas hati yang seluas samudra, kasih sayang yang sempurna dan atas segalanya.
12. Mbak Tri dan Mas Hadi, Mas Dwi dan Mbak Endang, Mas Tuko dan Mbak Etik, Fira, Riris, Fayik dan Dika atas senyum yang dihadirkan saat lelah menyapa.
13. Ibu Anita Joeliantina, S.Kep., Ns., M.Kes. atas diskusi yang menyenangkan dan Mr. Basori yang ikhlas selalu direpoti.

14. 'Sahabat-sahabat “ter” Yunda Pamiani, Mbak Tyas, ‘dek Heni, ‘dek Dina Mbak Novi, Mbak Maria, Mbak Riska, Ibu Wati, Mbak Reli dan semua teman seperjuangan di PSIK Angkatan B IX atas dorongan, semangat, “gojlok” dan kekompakkannya.
15. Dhe-dhe dan Poye’ atas SMSnya, “*Wish U all the best too, pals*”.
16. Sejawat staf Dosen Program Studi Keperawatan Soetomo Surabaya atas dorongan semangat untuk penyelesaian skripsi ini.
17. Dek Farid, Mbak Susi dan Mbak Suliati sekeluarga atas *Eugenia jambolananya*.
18. Seluruh pihak yang terlibat dalam penelitian ini: Bapak-bapak petugas kandang Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair, petugas Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Unair, petugas Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya serta semua pihak yang belum tersebut dalam tulisan ini.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari sempurna, akan tetapi besar harapan penulis agar skripsi ini bermanfaat bagi pembaca khususnya dan perkembangan ilmu keperawatan dimasa yang akan datang pada umumnya.

Surabaya, 25 Pebruari 2008

Penulis

ABSTRACT**THE EFFECT OF EUGENIA JAMBOLANA SEED EXTRACT ON BLOOD GLUCOSE, LDL, HDL LEVEL AND LDL/HDL RATIO IN STREPTOZOTOZIN DIABETIC RATS**

The world is facing an explosive increase in the incidence of diabetes mellitus and cost-effective complementary therapies are needed. *Eugenia jambolana* seeds contain of Chromium and Tannin. Its has been reported significant decrease blood glucose, LDL level, and increase HDL level.

The study was aimed to investigated the effect of *Eugenia jambolana* seed to exchange of blood glucose, LDL, HDL level and LDL/HDL ratio in streptozotocin-diabetic rats.

This Study was true experiment. Design used in this study was Post Test Only Control Group Design. A number of 15 male albino Wistar rats weighing 100-200 gram were divided into 3 group (N=5). Normal group, diabetic group, and experiment group. Normal group and diabetic group were given aqua 2ml/200 g bw as placebo. Eksperiment group were fed *Eugenia jambolana* seeds extract 500 mg/Kg b.w for 15 days.

Result showed that blood glucose level of experiment group was significantly different from diabetic group ($p=0,001$). LDL, HDL level and LDL/HDL ratio was not significantly different from experiment group and diabetic group ($p = 0,451$; $p=0,153$; $p = 0,115$).

In conclusion, *Eugenia jambolana* seeds extract (500 mg/Kg b.w) are adequate for decrease blood glucose level, but its can not be used to decrease LDL level, increase HDL level and decrease LDL/HDL ratio in streptozotocin-induced diabetic rats.

Keywords: *Eugenia jambolana*, streptozotocin, diabetes mellitus, LDL level, HDL level, LDL/HDL ratio.

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul dan Prasyarat Gelar	i
Lembar Pernyataan.....	ii
Lembar Persetujuan.....	iii
Lembar Penetapan Panitia Penguji.....	iv
Ucapan Terima Kasih.....	v
Abstak	viii
Daftar Isi.....	ix
Daftar Tabel	xi
Daftar Gambar.....	xii
Daftar Lampiran	xiii
Daftar Singkatan dan Istilah.....	xiv
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Teoritis	6
1.4.2 Praktis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Duwet (<i>Eugenia Jambolana</i>).....	7
2.1.1 Taksonomi.....	8
2.1.2 Kandungan Biji Duwet.....	11
2.1.3 Kromium	11
2.1.4 Asam Tanat	15
2.1.5 Beta Sitosterol	16
2.1.6 Manfaat Duwet.....	17
2.2 Streptozotosin	17
2.3 Sintesis dan Sekresi Insulin	20
2.4 Transport Glukosa	25
2.5 Diabetes Mellitus	26
2.2.1 Definisi Diabetes Mellitus.....	26
2.2.2 Etiologi dan Patofisiologi.....	27
2.6 Diabetes Mellitus, Dislipidemia dan Aterosklerosis	30
2.7 Lipoprotein	33
2.8 Rasio LDL/HDL	42

BAB 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	
3.1	Kerangka Konseptual.....	43
3.2	Hipotesis Penelitian	45
BAB 4	METODE PENELITIAN	
4.1	Desain Penelitian	46
4.2	Populasi, Sampel dan Sampling	47
4.3	Variabel	49
	4.3.1 Klasisifikasi Variabel	49
	4.3.2 Definisi Operasional.....	49
4.4	Bahan Penelitian	50
4.5	Instrumen Penelitian	51
4.6	Lokasi dan Waktu Penelitian	52
4.7	Prosedur Penelitian	53
4.8	Pengambilan Data	55
4.9	Kerangka Operasional	57
4.10	Teknik Analisa Data	58
BAB 5	HASIL DAN PEMBAHASAN PENELITIAN	
5.1	Data Hasil Penelitian Setelah Diinjeksi STZ.....	59
	5.1.1 Berat Badan Dan Kadar Glukosa	60
	5.1.2 Uji Normalitas Data Kelompok Normal dan Diabetes..	60
	5.1.3 Hasil Uji Beda Berat badan dan Kadar Glukosa	61
5.2	Data Hasil Penelitian Setelah Pemberian Ekstrak Biji Duwet	61
	5.2.1 Berat Badan, Kadar Glukosa Dan Variabel Dependen .	61
	5.2.2 Uji Normalitas Data Kelompok Penelitian.....	62
	5.2.3 Uji Homogenitas Data Kelompok Penelitian	63
	5.2.4 Analysis of Variance	64
	5.2.5 Hasil Uji Dunnet T3	64
5.3	Pembahasan	66
	5.3.1 Setelah Diinjeksi STZ	66
	5.3.2 Setelah Pemberian Ekstrak Biji Duwet	69
BAB 6	SIMPULAN DAN SARAN	
6.1	Simpulan	77
6.2	Saran	77
	Daftar Pustaka	79
	Lampiran	85

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan Biji Duwet (Noomrio, 1996)	11
Tabel 4.1 Definisi Operasional	49
Tabel 5.1 Nilai rerata dan simpangan baku berat badan hari ke 1 dan ke 5, perubahan berat badan dan kadar glukosa darah puasa hari ke 3 dan ke 5 tikus wistar jantan pada kelompok normal dan kelompok yang diinjeksi STZ dengan dosis tunggal 50 mg/Kg bb (ip).....	60
Tabel 5.2 Hasil uji normalitas perubahan berat badan serta kadar glukosa darah puasa tikus wistar jantan yang diperiksa pada hari ke 5 pada kelompok normal dan kelompok diabetes.	60
Tabel 5.3 Hasil uji beda perubahan berat badan serta kadar glukosa darah tikus puasa wistar jantan yang diperiksa pada hari ke 5 pada kelompok normal dan kelompok diabetes.	61
Tabel 5.4 Nilai rerata dan simpangan baku berat badan hari ke 6, berat badan hari ke 21, perubahan berat badan serta kadar glukosa darah puasa, LDL, HDL dan rasio LDL/HDL serum tikus wistar jantan yang diperiksa pada hari ke 21 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.	62
Tabel 5.5 Hasil uji normalitas perubahan berat badan serta kadar glukosa darah puasa, LDL, HDL dan rasio LDL/HDL serum tikus wistar jantan yang diperiksa pada hari ke 21 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.	63
Tabel 5.6 Hasil uji homogenitas data pada kadar LDL, HDL dan rasio LDL/HDL serum tikus wistar jantan yang diperiksa pada hari ke 21 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.	63
Tabel 5.7 Hasil Uji Anova pada kadar glukosa, LDL, HDL dan rasio LDL/HDL serum tikus wistar yang diperiksa pada hari ke 21 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.	64
Tabel 5.8 Hasil Dunnett T3 pada kadar glukosa dan HDL serum tikus wistar yang diperiksa pada hari ke 21 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.	65
Tabel 5.9 Nilai rerata dan perbedaan antar kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.	66

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Pohon Buah Duwet (Morton J., 1997)	9
Gambar 2.2 Daun dan Buah Duwet (Morton J., 1997)	10
Gambar 2.3 Daun, bunga, buah, dan biji duwet (Morton J., 1997).....	10
Gambar 2.4 Usulan mekanisme aktivasi tyrosine kinase pada insulin reseptor oleh kromodulin (Vincent, 2000; Cefalu & Hu, 2004)	13
Gambar 2.5 Usulan mekanisme kromium dalam darah menjadi kromodulin (Vincent, 2000; Cefalu & Hu, 2004).....	14
Gambar 2.6 Mekanisme streptozotosin (STZ) menyebabkan toksik pada sel B pankreas. (Szkudelski, 2001).	19
Gambar 2.7 Insulin pada Manusia (Lilly, 1996)	20
Gambar 2.8 Pelepasan dan Aksi Insulin (Notkins, 2002)	23
Gambar 2.9 Reseptor Insulin (Bowen, 2004)	24
Gambar 2.10 Insulin berikatan dengan insulin reseptor menstimulus kaskade signal transduksi diikuti transfer glukosa ke dalam sel oleh GLUT 4 (Cartailler, 2004).	25
Gambar 2.11 Patogenesis Diabetes Mellitus tipe 1 (Notkins, 2002).	28
Gambar 2.12 Patogenesis Diabetes Mellitus tipe 2 (Pittas & Greenberg 2003)	29
Gambar 2.13 Struktur Lipoprotein (Koolman, et al, 2005).....	34
Gambar 2.14 Lima Jenis Lipoprotein (Koolman, et al, 2005)	34
Gambar 2.15 Struktur LDL (Lipoprotein Researce, 2007)	38
Gambar 2.16 Reseptor LDL (Lipoprotein Researce, 2007).....	38
Gambar 2.17 Biosintesis HDL (Rader, 2006)	40
Gambar 2.18 Katabolisme Apo A-I (Rader, 2006)	41
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual Penelitian	43
Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian	46
Gambar 4.2 Prosedur Kerja Penelitian.....	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Data Hasil Pemeriksaan Serum Darah di BBLKS.....	85
Lampiran 2 Ijin Penggunaan Laboratorium Biokimia	86
Lampiran 3 Dosis Streptozotosin	87
Lampiran 4 Hasil Pengamatan Setelah Induksi STZ 50 mg/Kg bb	88
Lampiran 5 Hasil Penelitian Setelah Pemberian Ekstrak Biji Duwet	89
Lampiran 6 Berat Badan Hari Pertama, Ketiga dan Kelima.....	90
Lampiran 7 Berat Badan Hari Keenam samapi Hari Keduapuluh	91
Lampiran 8 Dosis Ekstrak Biji Duwet Hari Pertama sampai Keenambelas	92
Lampiran 9 Konversi Perhitungan dosis	93
Lampiran 10 Hasil Analisis Setelah Diinjeksi STZ.....	94
Lampiran 11 Hasil Analisis Setelah Diberi Ekstrak Biji Duwet.....	97

DAFTAR SINGKATAN

ATP	=	Adenosin Triphosphat
CE	=	Cholesterol Ester
CRTP	=	Cholesterol Ester Transfer Protein
CHOD-PAP	=	Cholesterol Oxidase Phenol Aminoantipyrin
DNA	=	Deoxyribo nucleic acid
GLUT	=	Glucose Transporter
HDL	=	High Density Lipoprotein
HMG-KoA	=	Hidroksi Metil Glutaril-KoA
IDDM	=	Insulin Dependent Diabetes Mellitus
IDL	=	Intermediate Density Lipoprotein
Ip	=	Intraperitoneal
LDL	=	Low Density Lipoprotein
NIDDM	=	Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus
NO	=	Nitric Oxide
ROS	=	Reaktive Oxygen Species
STZ	=	Streptozotosin
TG	=	Trigliserida
VLDL	=	Very Low Density Lipoprotein

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Mellitus merupakan gangguan metabolik yang dikarakteristikan dengan abnormalitas metabolisme bahan bakar dalam tubuh yang terutama menghasilkan hiperglikemia dan dyslipidemia. Hiperglikemia menyebabkan berbagai komplikasi hingga menyebabkan kematian pada penderita diabetes. (Pittas & Greenberg, 2003). Kontrol yang baik pada hiperglikemia akan meningkatkan kualitas hidup diabetisi (penderita diabetes mellitus) (Depkes RI, 2005). Dislipidemia memiliki andil pada proses terjadinya aterosklerosis (Balasubramanyam, 2001; Creager *et al*, 2003). Penurunan kadar LDL (*low density lipoprotein*) serta peningkatan kadar HDL (*high density lipoprotein*) menurunkan risiko aterosklerosis (Linder, 1992; O'Brien T. *et al* 1998). Beberapa mineral dan senyawa aktif yang terdapat pada buah-buahan bermanfaat sebagai antidiabetik dan dapat menurunkan kadar HDL serta meningkatkan kadar LDL (Linder, 1992; Chattopadhyay & Bandyopadhyay, 2005). Tanin dan kromium meningkatkan kepekaan reseptor insulin, sehingga meningkatkan ambilan glukosa ke dalam sel (Dey *et al*, 2002; Gomes *et al*, 2005; Wang *et al*, 2005). Peningkatan aktifitas insulin akan meningkatkan aktifitas enzim lipoprotein lipase sehingga kadar HDL akan meningkat (Wang *et al*, 2005). Kromium menghambat kerja enzim HMG-KoA reduktase sehingga menimbulkan mekanisme umpan balik berupa peningkatan pembentukan reseptor LDL sehingga kadar LDL menurun (Dey *et al*, 2002; Gomes *et al*, 2005). Berbagai bahan tersebut terkandung dalam

biji duwet (*Eugenia jambolana*) (Noomrio & Dahot, 2005; Indrayan *et al*, 2005; Safdar *et al*, 2006; Sagrawat *et al*, 2006). Penelitian ilmiah tentang biji duwet sebagai antidiabetik dan antidislipidemia di Indonesia belum dilakukan sehingga efeknya terhadap perubahan kadar glukosa, LDL, HDL serta rasio LDL/HDL belum jelas.

Saat ini lebih dari 180 juta orang di dunia menderita diabetes mellitus dan jumlah tersebut akan mengalami peningkatan dua kali lipat pada tahun 2030. Khusus di negara berkembang, jumlah penderita diabetes mellitus meningkat 150% pada 25 tahun yang akan datang (WHO, 2006). Menurut WHO, pada tahun 2005 Indonesia menempati urutan ke empat terbesar dalam jumlah diabetisi setelah India, China dan Amerika Serikat dengan prevalensi 8,6% dari total penduduk. Data dari Departemen Kesehatan RI menunjukkan fakta bahwa jumlah diabetisi yang menjalani rawat inap maupun rawat jalan di rumah sakit menempati urutan pertama dari seluruh penyakit endokrin. *Diabetic Federation* mengestimasi jumlah diabetisi yang pada tahun 2001 terdapat 5,6 juta untuk usia diatas 20 tahun akan meningkat menjadi 8,2 juta pada tahun 2020 (Depkes RI, 2005). Diabetisi memiliki risiko terserang penyakit vaskuler 2–4 kali lebih tinggi dibandingkan klien tanpa diabetes mellitus (CDA, 2006). Sekitar 70%-80% kematian diabetisi disebabkan karena penyakit vaskuler (Chattopadhyay & Bandyopadhyay, 2005).

Gangguan aktifitas insulin akan menyebabkan hiperglikemia. Hiperglikemia kronis dapat menimbulkan berbagai komplikasi mikrovaskuler, makrovaskuler atau keduanya. Selain itu hiperglikemia kronis dapat menyebabkan terjadinya dislipidemia pada diabetisi berupa hipertriglyseridemia, peningkatan

kadar LDL dan kadar HDL yang rendah (O'Brien T. *et al* 1998; Golberg I. J., 2001; Balasubramanyam A., 2001). Kontrol yang baik terhadap hiperglikemia dapat mencegah dan meminimalkan berbagai komplikasi (Black & Hawks, 2005) Perspektif baru dari laporan Cleveland Heart Study dan Helsinki Heart Study menunjukkan bahwa peningkatan kadar LDL serta penurunan kadar HDL menyebabkan terjadinya proses aterogenesis (Sargowo, 2007). Untuk memprediksi risiko aterosklerosis rasio LDL/HDL lebih penting dibandingkan dengan rasio kolesterol total/HDL (Linder, 1992). Hal ini dikarenakan LDL mencerminkan kadar kolesterol yang buruk (*bad cholesterol*) dan HDL mencerminkan kadar kolesterol yang baik (*good cholesterol*), sedangkan kadar kolesterol total merupakan penjumlahan kadar HDL, LDL maupun VLDL (Grundy S. M. *et al*, 2002). Prevalensi aterosklerosis pada diabetisi lebih tinggi dibandingkan klien tanpa diabetes mellitus. Jika hiperglikemia dan dislipidemia ini tidak segera diatasi maka komplikasi berupa berbagai penyakit vaskuler seperti penyakit jantung koroner, stroke, penyakit vaskuler perifer maupun hipertensi dapat terjadi (Copstead & Banasik, 2005; White & Duncan, 2002). Diabetes mellitus menyebabkan disabilitas sampai kematian bagi diabetisi. Selain itu juga dapat menimbulkan masalah psikososial baik bagi diabetisi maupun keluarganya. Peningkatan jumlah diabetisi dengan komplikasi akan meningkatkan biaya perawatan pada sistem kesehatan. Perekonomian negara pun akan terkena imbasnya yaitu penggunaan pemasukan nasional untuk perawatan diabetes akan semakin meningkat. Jadi diabetes mellitus dan komplikasinya menimbulkan dampak yang signifikan baik bagi diabetisi, keluarga, sistem kesehatan dan pemerintah (WHO, 2006).

Budaya kembali ke alam atau lebih dikenal dengan istilah *back to nature* saat ini telah menjadi trend di seluruh dunia, tidak terkecuali di Indonesia karena bahan alami memiliki efek samping dan toksisitas lebih rendah, efek terapi yang baik, mudah diperoleh serta ekonomis (Balai POM, 2005). Salah satu bahan alami yang dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia untuk mengatasi diabetes dan kadar kolesterol yang tinggi adalah duwet (*Eugenia jambolana*) (Yupiter S., 2006; IPTEKnet, 2005; Republika, 2004). Mallick (2005) menyatakan bahwa duwet dapat digunakan untuk menurunkan hiperglikemia serta memperbaiki profil lipid pada diabetes mellitus. Duwet juga menurunkan risiko aterosklerosis 60%–90% (IPTEKnet, 2005). Efek farmakologis duwet dapat diperoleh dari penggunaan buah, biji dan kulit kayu (Sagrawat, 2000; Pepato, 2001). Di Indonesia buah dan kulit kayu duwet banyak digunakan secara turun temurun sebagai antidiabet dan antikolesterol, tetapi bijinya masih jarang dimanfaatkan (IPTEKnet, 2005). Untuk mengetahui pengaruh ekstrak biji duwet terhadap perubahan kadar LDL, HDL dan rasio LDL/HDL penulis melakukan penelitian eksperimen. Penelitian dilaksanakan menggunakan model tikus wistar jantan yang dibuat diabet dengan diinjeksi streptozotisin (STZ) kemudian tikus tersebut diberi ekstrak biji duwet yang dilarutkan dalam air. Menggunakan tikus karena hewan ini mudah dipegang dan dikendalikan, dapat diambil darahnya dalam jumlah yang relatif besar serta memiliki fisiologi yang diperkirakan sesuai dengan manusia. Pemilihan tikus jantan karena tidak mengalami siklus estrus sehingga pengaruh hormonal bisa diminimalkan (Kusumawati, 2004).

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah ekstrak biji duwet dapat menurunkan kadar glukosa serum pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ ?
- 1.2.2 Apakah ekstrak biji duwet dapat menurunkan kadar LDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ ?
- 1.2.3 Apakah ekstrak biji duwet dapat meningkatkan kadar HDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ ?
- 1.2.4 Apakah ekstrak biji duwet dapat menurunkan rasio LDL/HDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Untuk menjelaskan pengaruh ekstrak biji duwet terhadap perubahan kadar glukosa serum, LDL, HDL dan rasio LDL/HDL pada tikus wistar yang mengalami diabet akibat diinduksi STZ.

1.3.2 Tujuan khusus

1. Mengidentifikasi pengaruh ekstrak biji duwet terhadap penurunan kadar glukosa serum pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.
2. Mengidentifikasi pengaruh ekstrak biji duwet terhadap penurunan kadar LDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.

3. Mengidentifikasi pengaruh ekstrak biji duwet terhadap peningkatan kadar HDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.
4. Mengidentifikasi pengaruh ekstrak biji duwet terhadap penurunan rasio LDL/HDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Teoritis

Memberikan informasi bahwa ekstrak biji duwet dapat digunakan sebagai salah satu bahan dasar pembuatan obat untuk menurunkan kadar glukosa darah dan kadar LDL, meningkatkan kadar HDL serta menurunkan rasio LDL/HDL pada diabetisi sehingga berbagai komplikasi akibat diabetes mellitus dapat dicegah ataupun diminimalkan.

1.4.2 Praktis

1. Sebagai salah satu bahan dasar pembuatan obat untuk hiperglikemia dan dyslipidemia akibat diabetes mellitus yang aman, berkhasiat, mudah diperoleh dan terjangkau oleh masyarakat.
2. Pelaksanaan penelitian ini mewujudkan peran serta perawat dalam upaya preventif komplikasi lanjut akibat diabetes mellitus.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Duwet (*Eugenia Jambolana*)

Duwet tergolong tumbuhan buah-buahan. Duwet berasal dan banyak ditemukan di Asia dan Australia tropik. Biasa ditanam di pekarangan atau tumbuh liar, terutama di hutan jati. Duwet tumbuh di dataran rendah sampai ketinggian 500 meter dari permukaan laut. Pohon dengan tinggi 10 – 20 m ini berbatang tebal, tumbuhnya bengkok dan bercabang banyak. Daun tunggal, tebal, tangkai daun 1-3,5 cm. Helaiian daun lebar bulat memanjang atau bulat telur terbalik, pangkal lebar berbentuk baji tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas mengilap, panjang 7– 16 cm, lebar 5– 9 cm, warnanya hijau (Dalimartha, 2003).

Bunga majemuk bentuk malai dengan cabang yang berjauhan, bunga duduk, tumbuh diketiak daun dan di ujung percabangan, kelopak berbentuk lonceng berwarna hijau muda, mahkota bentuk bulat telur, benang sari banyak berwarna putih, dan baunya harum. Buahnya buah buni, lonjong, panjang 2–3 cm, masih muda warnanya hijau, setelah masak warnanya merah tua keunnguan, rasanya asam manis. Biji satu, bentuk lonjong, keras, warnanya putih. Berakar tunggang, bercabang- cabang, berwarna coklat muda (Dalimartha, 2003).

Tanaman ini bisa tumbuh pada berbagai keadaan lahan baik pada tanah basah dan rendah maupun pada lahan yang tinggi dengan pengairan yang baik (misalnya pada tanah liat, campuran tanah liat dan kapur, tanah berpasir, serta tanah berkapur). Pohon Duwet bisa tumbuh diwilayah dengan iklim tropis dan sub-tropis. Tumbuh baik di wilayah dengan curah hujan antara 1500 sampai

10.000 mm pertahun. Tanaman ini dapat bertahan terhadap genangan yang berkepanjangan dan kekeringan (Morton, 1987; Bingeli, 2006).

Pohon duwet memerlukan sedikit perawatan dan perhatian sampai menghasilkan buah. Tidak ada penyakit ataupun hama berbahaya yang menyerang pohon ini. Pohon duwet yang tumbuh di Pulau Jawa berbunga pada bulan Juli dan Agustus serta berbuah pada bulan September dan Oktober (Morton, 1987; IPTEKnet, 2005)

2.1.1 Taksonomi

Pohon Duwet termasuk dalam famili *myrtaceae*, dengan taksonomi (USDA, 2006):

Kingdom : *Plantae (plants)*

Subkingdom : *Viridaplantae (green plants)*

Phylum : *Tracheophyta*

Subphylum : *Spermatophyta (seed plants)*

Infraphylum : *Angiospermae*

Class : *Magnoliopsida (dycotyledonae)*

Subclass : *Rosidae*

Order : *Myrtales*

Suborder : *Myrtineae*

Family : *Myrtaceae*

Genus : *Eugenia L*

Spesies : *jambolana*

Botanical name: Eugenia jambolana

Sinonim dari *eugenia jambolana* adalah *syzygium cumini*, *syzygium jambolana*, *syzygium jambolanum*, *syzygium caryophyllifolium*, *eugenia cumini*, *eugenia caryophyllifolia*, *calypranthes caryophyllifolia* (Morton, 1987; Binggeli, 2006). Nama lain: *black plum*, *jambolan plum*, *java plum* (English), *Djoweet*, *doowet*, *jamblang* (Java), *duhat* (Philippines), *jamblang*, *jambul*, *jambbol*, *salam* (India, Malaya), *jambol* (Brazil). Di Indonesia jamblang juga mempunyai banyaa nama seperti: manting, jamblang, juwet, duwet (Jawa), dhuwak (Madura), juwet, jujutan (Bali), jambula (maluku) (IPTEKnet, 2005).



Gambar 2.1 Pohon Buah Duwet (Morton J., 1987)



Gambar 2.2 Daun dan Buah Duwet (Morton J., 1987)



Gambar 2.3 Daun, Bunga, Buah dan Biji Duwet (Morton J., 1987)

2.1.2 Kandungan Biji Duwet

Tabel 2.1 Kandungan biji duwet

Kandungan	Komponen
Nilai nutrisi	Protein 8,20 %, Karbohidrat 55,77%, Lemak 1,26%, Abu 22,32 %, Serat 15,14 %
Mineral	Seng (0,0006%), Kromium (0,003%), Natrium (1,82%), Kalium (16,7%), Kalsium (0,0018%), Magnesium (10,2%), Mangan (0,067%), Besi (0,258%).
Senyawa aktif	Resin (2,4%), triterpenoid, tannins (6-19%), kuersetin, asam galat, asam elagat (senyawa fenol), asam oksalat, alkaloid (<i>jambosine</i>), korilagin, asam oksalat, albumin, klorofil, β -sitosterol, asam oleanolat, jambolin atau antimelin

Sumber: Noomrio, 1996; Sagrawat *et al.*, 2000; Shridar *et al.*, 2005; Indrayan, 2005; Safdar *et al.*, 2006.

2.1.3 Kromium

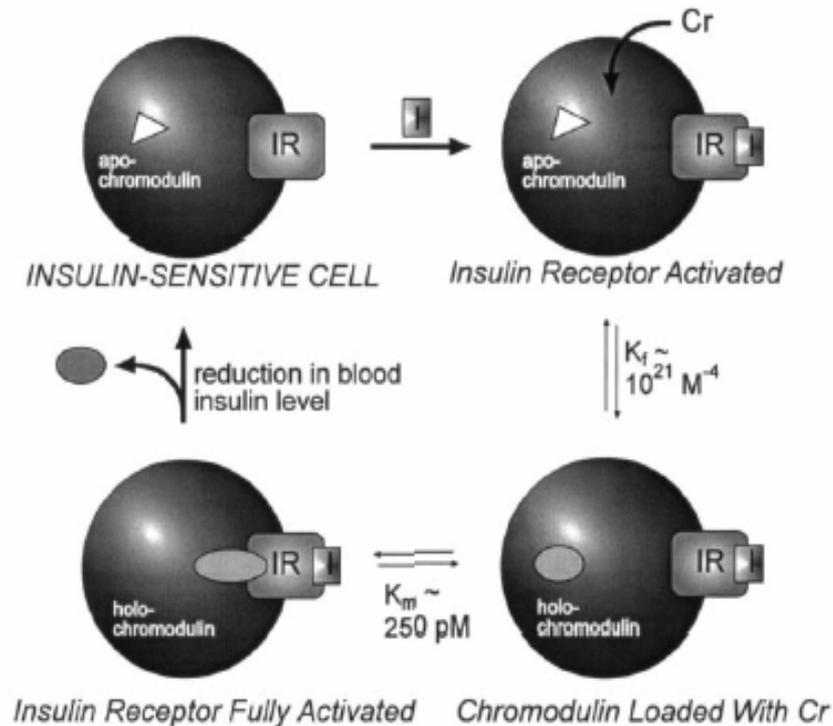
Kromium termasuk mineral mikronutrien yang diperlukan tubuh. Kromium berperan penting dalam metabolisme karbohidrat dan lipid pada (Vincent, 1999; Vincent, 2000). Mineral ini berperan aktif dalam proses metabolisme karbohidrat, terutama bekerjasama dengan insulin dalam menjaga kadar glukosa darah (Linder *et al*, 1992; Yeh *et al*, 2003). Suplemen kromium menunjukkan mampu menurunkan kadar glukosa puasa, meningkatkan toleransi glukosa, menurunkan kadar insulin (Linder, 1992; Dey, 2002; Yeh, *et al*, 2003).

Dewasa ini, bentuk kromium yang paling aktif secara biologis adalah oligopiptida yang dikenal dengan nama Low-Molecular weight chromium-binding substance (LMWCr) atau kromodulin. Kromodulin paling banyak ditemukan didalam liver, selain itu juga ditemukan di ginjal walaupun jumlahnya tidak sebanyak di liver. Kromodulin memiliki peran terhadap insulin setelah terjadi ikatan dengan reseptor insulin (Vincent, 1999).

Penelitian terbaru yang dilakukan oleh Yoshimoto juga menyatakan bahwa peran pada insulin terjadi sebelum karbohidrat ditransport ke dalam sel. Fungsi utama dari kromodulin adalah mengaktifasi tyrosine kinase pada insulin reseptor dan phosphotyrosine phosphatase membran plasma sehingga sensitifitas insulin bisa meningkat (Vincent, 1999).

Kromodulin merupakan bagian dari sistem amplifikasi sinyal insulin. Kromodulin disimpan dalam bentuk apo dalam sitosol dan inti sel sensitif insulin. Peningkatan insulin dalam sirkulasi menyebabkan terjadinya dua proses yang saling beriringan yaitu peningkatan mobilisasi kromium ke dalam sel target, yang diperantarai oleh transferin dan mobilisasi reseptor transferin dari vesikel intraseluler menuju membran. Selanjutnya gabungan kromium-transferin berikatan dengan reseptor transferin dan membentuk kompleks yang diinternalisasi melalui endositosis. Didalam ruang intravesikuler, dengan pH asam terjadi pencernaan dan pelepasan kromium ke sitosol. Empat atom Cr^{3+} berikatan dengan apokromodulin dan membuatnya aktif dalam bentuk kromodulin, selanjutnya terikat pada *active side* reseptor insulin menyebabkan teraktivasi dan mengamplifikasi sinyal (Vincent, 2000; Cefalu & Hu, 2004; Gomes *et al*, 2005).

Jika kadar insulin dalam sirkulasi darah mengalami penurunan, maka amplifikasi sinyal insulin akan terhenti dan kromodulin dieleminasi dari dalam sel (Vincent, 2000). Dibawah ini merupakan gambar usulan mekanisme aktivasi tyrosine kinase pada insulin reseptor oleh kromodulin.

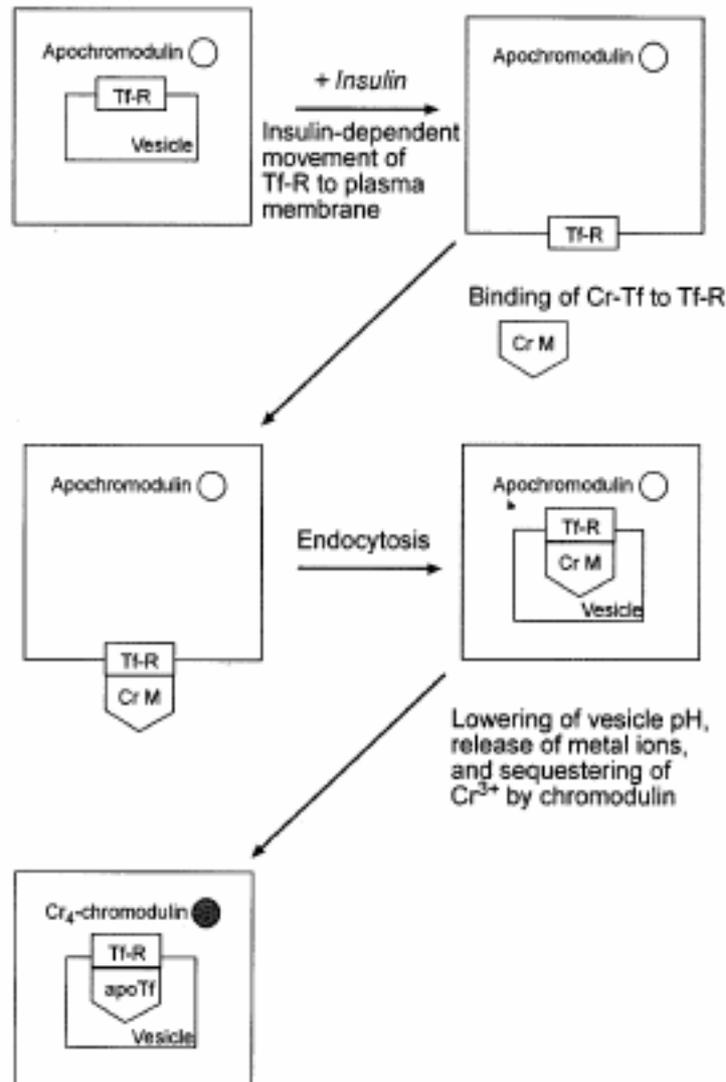


Proposed mechanism for the activation of insulin receptor kinase activity by chromodulin in response to insulin. The inactive form of the insulin receptor (IR) is converted to the active form by binding insulin (I). This triggers a movement of chromium (presumably in the form of Cr-transferrin, Cr-Tf) from the blood into insulin-dependent cells, which in turn results in the binding of chromium to apochromodulin (triangle). Finally, the holo-chromodulin (square) binds to the insulin receptor, further activating the receptor kinase activity. Apochromodulin is unable to bind to the insulin receptor and activate kinase activity. When the insulin concentration drops, holo-chromodulin is released from the cell to relieve its effects.

Gambar 2.4 Usulan mekanisme aktifasi tyrosine kinase pada insulin reseptor oleh kromodulin (Vincent, 2000; Cefalu & Hu, 2004)

Transferin diduga terlibat dalam proses transport chromium, walaupun hal ini tidak pernah dibuktikan secara *in vivo*. Transfer kromium oleh transferin menjadi apoLMWCr telah diteliti secara *in vitro*. Membran plasma dari reseptor transferin sensitif terhadap insulin, peningkatan kadar insulin menstimulasi pergerakan dari transferin reseptor dari vesikel ke plasma membran. Reseptor pada permukaan sel dapat mengikat *metal-saturated transferin*, yang kemudian mengalami endositosis disertai pengeluaran besi pada pH asam dari vesikel yang

baru terbentuk. Didasarkan pada pemikiran ini, mekanisme dari transport chromium diusulkan.



Proposed mechanism for the movement of chromium from blood to chromodulin. In response to increases in plasma insulin concentrations, transferrin-receptor (Tf-R) in insensitive cells migrates from vesicles to the plasma membrane. Transferrin (pentagon), which contains two bound metal ions [in this case one chromic ion and one other metal cation (M)], binds to the receptor and is internalized by endocytosis. The pH of the resulting vesicle is reduced by ATP-driven proton pumps, resulting in the release of the metal ions from transferrin. Chromium released from multiple transferrin molecules is sequestered by apochromodulin (open circle) to produce chromium-loaded chromodulin (dark circle).

Gambar 2.5 Usulan mekanisme kromium dalam darah menjadi kromodulin (Vincent, 2000; Cefalu & Hu, 2004)

Kromium juga berpengaruh terhadap metabolisme protein. Selain itu beberapa penelitian menunjukkan bahwa kromium juga berperan dalam metabolisme lipid yaitu terkait dengan peningkatan kadar HDL serta penurunan kadar kolesterol total dan LDL (Gomes *et al*, 2005). Mekanisme kromium sebagai anti hiperkolesterolemia berkaitan dengan kemampuannya dalam menghambat hidrosimetilglutaril-KoA reduktase (HMG-KoA reduktase) (Linder, 1992; Gomes *et al*, 2005). HMG-KoA reduktase akan mereduksi hidrosimetilglutaril KoA menjadi mevalonat. Reaksi yang dikatalisis oleh HMG-KoA reduktase ini adalah penentu kecepatan pembentukan kolesterol (Marks *et al.*, 2000). Kromium yang berguna untuk mempertahankan kenormalan glukosa dan mencegah intoleransi glukosa berbentuk trivalen (Linder *et al*, 1992; Yeh *et al*, 2003). Jumlah kromium di dalam tubuh sangat kecil (Yeh *et al*, 2003).

Menurut DRI (*Dietary Reference Ingestin*) kadar kromium yang adekuat untuk nilai pencernaan adalah 25-35 mcg perhari untuk dewasa (Gomes *et al*, 2005). 1 gram biji duwet mengandung 0,003% kromium atau setara dengan 30 mcg kromium (Indrayan *et al*, 2005). Ekstrak biji duwet 500 mg mengandung kromium 15 mcg. Diabetisi membutuhkan tambahan suplemen kromium antara 125-200 mcg (Gomes *et al*, 2005).

2.1.4 Asam Tanat

Tanin merupakan senyawa polifenol yang ditemukan dalam makanan seperti sayuran dan buah-buahan. Berdasarkan struktur kimianya, tanin dibedakan menjadi dua yaitu *hydrolizable tannin* dan *condensed tannin*. *Hydrolizable tannin* terdiri dari galotanin yang juga disebut sebagai asam tanat (*tannic acid*)

(Hagerman, 2002; Liu, X., 2004). Asam tanan merangsang fosforilasi pada jalur transport glukosa sama seperti yang diperantarai insulin (*insulin mediated glucose transport*) dengan berikatan secara langsung pada insulin reseptor. Selanjutnya asam tanan menyebabkan translokasi GLUT 4 pada adiposit, sama dengan mekanisme yang ditunjukkan oleh insulin. Asam tanat secara nyata telah menunjukkan efek sebagai antilipogenesis pada hewan coba dan antidiabetik pada penderita diabetes mellitus tipe 2. Sebagai antilipogenesis asam tanat menghambat diferensiasi adiposit dengan menghambat atau mempengaruhi ekspresi gen kunci yang terlibat dalam proses adipogenesis (Liu, X., 2004).

2.1.5 Beta Sitosterol

Beta sitosterol adalah suatu sterol pada tumbuhan. Senyawa ini dapat menurunkan absorpsi kolesterol oleh sistem pencernaan dan menurunkan kadar kolesterol yang diproduksi oleh hati. Beta sitosterol menurunkan penyerapan dengan cara mengunci molekul lemak yang ada pada makanan yang kita makan serta memblokir penyerapan molekul lemak pada sistem pencernaan, sehingga lemak lebih banyak dibuang dari pada diserap. Kolesterol yang berasal dari hati lebih banyak jika dibandingkan yang berasal dari makanan. Beta sitosterol bereaksi dengan enzim di hati sehingga produksi kolesterol terganggu. Enzim yang penting untuk pembuatan kolesterol di dalam hati, dengan adanya beta sitosterol dipecah dengan cepat. Kolesterol juga dimetabolisme atau dipecah dengan baik oleh hati dengan adanya beta sitosterol (Gardner, 2007)

2.1.6 Manfaat Duwet

Tanaman duwet memiliki banyak manfaat. Buah duwet dapat dimanfaatkan sebagai bahan untuk membuat selai, jelly, jus maupun puding. Selain itu daging buahnya juga dapat dimanfaatkan untuk menurunkan kadar glukosa darah. Bukan hanya daging saja yang dapat dimanfaatkan sebagai obat, bagian tanaman yang lain seperti daun, biji dan kulit kayu duwet dapat dimanfaatkan sebagai obat (Morton J, 1987).

Duwet berkhasiat sebagai antidiabetik, antioksidan, antibakterial, antiinflamasi, antiinfertilitas, analgesik, antihiperlipidemik dan untuk mengobati diare serta disentri (Sagrawat, 2000; IPTEK-net, 2005). Sridhar *et al* (2005) menggunakan biji duwet sebagai antidiabetik. Percobaan dilakukan pada tikus wistar yang diinduksi STZ. Dosis ekstrak biji duwet yang digunakan 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb dan 1000 mg/kg bb. Efek antidiabetik pada duwet dengan ketiga dosis tersebut terlihat pada hari ke 15 setelah pemberian ekstrak biji duwet.

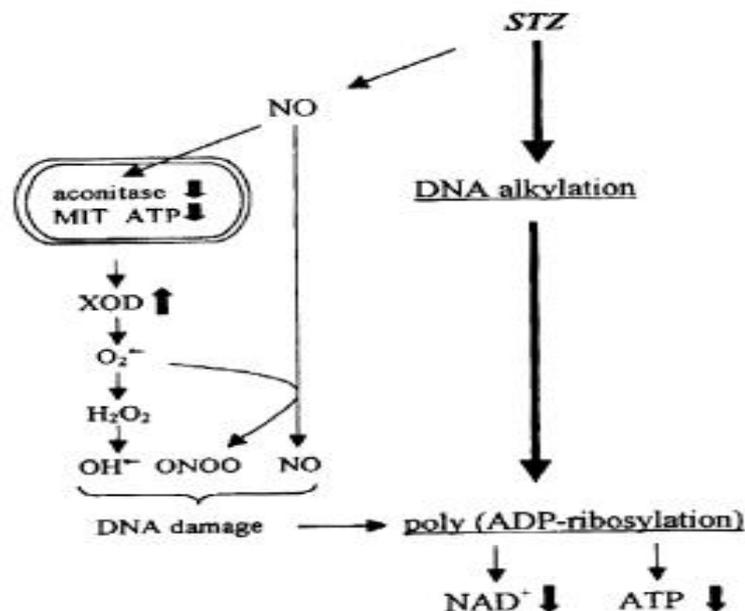
2.2 Streptozotosin (STZ)

Streptozotocin (STZ, 2-deoksi-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranosa, disintesis oleh *streptomyces achromogenes* dan digunakan untuk menginduksi *insulin dependent* (IDDM) dan *non insulin dependent diabetes mellitus* (NIDDM). Untuk menginduksi IDDM pada tikus dewasa biasanya digunakan dosis tunggal 40 dan 60 mg/kg bb intravena, tapi dosis yang lebih tinggi juga bisa dipakai. STZ dengan dosis yang biasa dipakai maupun lebih tinggi juga efektif digunakan secara intraperitoneal, akan tetapi dosis dibawah 40 mg/kg bb kemungkinan kurang efektif. STZ bisa juga diberikan dalam dosis

rendah secara berulang, sehingga memicu aktivasi mekanisme imune. NIDDM pada tikus dapat dengan mudah diinduksi menggunakan STZ baik intraperitoneal maupun intravena dengan dosis 100 mg/kg bb pada tikus yang baru lahir. Pada usia 8–10 minggu, tikus neonatal yang diinduksi dengan STZ mengalami hiperglikemia sedang dan sel beta-nya kehilangan sensitivitas terhadap glukosa (Szkudelski, 2001).

Aksi STZ pada sel beta pankreas dapat dilihat pada kadar glukosa dan kadar insulin dalam darah. Dua jam setelah penyuntikan, terjadi hiperglikemia bersamaan dengan penurunan secara drastis insulin darah. Enam jam kemudian, terjadi hypoglikemia disertai peningkatan kadar insulin darah. Akhirnya, terjadi hiperglikemia dan penurunan kadar insulin darah. Perubahan pada kadar glukosa darah serta konsentrasi insulin tersebut merefleksikan abnormalitas fungsi sel beta pankreas. STZ merusak oksidasi glukosa dan menurunkan biosintesis serta sekresi insulin. Dari pengamatan didapatkan bahwa pertama STZ meniadakan respon beta sel terhadap glukosa, kemudian sel beta menjadi tidak responsif dan akhirnya terjadi kerusakan dan kehilnagn sel secara permanen. STZ diambil oleh sel beta pankreas melalui glukosa transporter GLUT 2. Aksi STZ intraseluler ini menyebabkan perubahan DNA pada sel beta pankreas yaitu terjadi fragmentasi DNA. Penelitian terbaru telah membuktikan bahwa kematian sel beta pankreas oleh induksi STZ karena adanya alkilasi DNA. STZ merupakan donor NO dimana NO dapat menyebabkan destruksi sel pankreas dan menyebabkan kerusakan DNA. STZ memproduksi ROS yang menyebabkan fragmentasi DNA dan menimbulkan kerusakan sel. Terbentuknya anion superoksida dihasilkan dari aksi STZ di mitokondria dan peningkatan aktifitas xantin oksidase. Hal ini

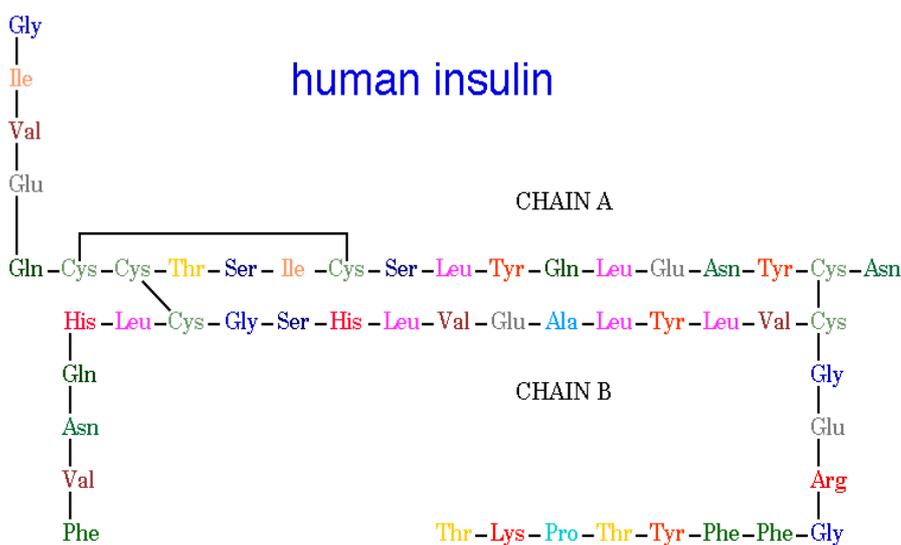
ditunjukkan dengan adanya hambatan oleh STZ pada siklus kreb sehingga menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Efek ini secara kuat membatasi produksi ATP mitokondria dan menyebabkan deplesi dari nukleotida ini dalam sel beta. Restriksi pembentukan ATP mitokondria sebagian diperantarai oleh NO. Peningkatan defosforilasi ATP meningkatkan suplai substrat xantin oksidase dan meningkatkan produksi asam urat yang merupakan produk akhir degradasi ATP. Kemudian xantin oksidase mengkatalisis reaksi ini, yang diikuti terbentuknya anion superoksida. Akibatnya anion superoksida menghasilkan hidrogen peroksida dan radikal hidroksil. Aksi yang sinergis dari NO dan ROS juga memberikan kontribusi terjadinya fragmentasi DNA. NO dan ROS dapat membentuk peroksinitrit yang dapat menyebabkan kerusakan DNA. Kerusakan DNA yang terjadi setelah pemberian STZ akan mengaktifasi poli ADP ribosilasi. Proses ini menyebabkan deplesi NAD seluler dan ATP yang selanjutnya terjadi hambatan sintesis dan sekresi insulin (Szkudelski, 2001).



Gambar 2.6 Mekanisme streptozotocin (STZ) menyebabkan toksik pada sel B pankreas. MIT (mitokondria); XOD (xantin oksidase) (Szkudelski, 2001).

2.3 Sintesis dan Sekresi Insulin

Insulin memegang peranan penting dalam proses metabolisme karbohidrat, lemak dan protein (Guyton & Hall, 1996). Insulin merupakan hormon yang diproduksi oleh sel beta pulau langerhans di pankreas. Pada awalnya insulin di sintesis sebagai suatu preprohormon (preproinsulin) yang selanjutnya diubah menjadi proinsulin didalam sisterna retikulum endoplasmik. Proinsulin diangkut ke apparatus golgi dan memasuki granul sekretorik untuk mengalami proteolisis dan pengemasan. Insulin aktif tersusun dari 2 rantai polipeptida yang dihubungkan oleh ikatan disulfida, memiliki 51 molekul asam amino dengan pembagian rantai A memiliki 21 asam amino dan rantai B memiliki 30 asam amino (Lilly, 1996).



Gambar 2.7 Insulin pada Manusia (Lilly, 1996)

Sel beta pankreas manusia menyekresi 40-50 unit insulin per hari yang mewakili sekitar 15-20% dari hormon yang disimpan di dalam kelenjar. Sekerasi insulin merupakan proses yang memerlukan energi dengan melibatkan sistem

mikrotubulus-mikrofilamen dalam sel beta pada pulau Langerhans. Sejumlah intermediet turut terlibat dalam pelepasan insulin. Glukosa dapat melewati sel beta pankreas dengan bebas melalui transporter glukosa (GLUT 4). Didalam sitoplasma glukosa akan mengalami fosforolasi melalui alur glikolisis dengan akibat meningkatkan kadar ATP intrasel. Enzim pertama dalam sel beta yang berperan dalam glikolisis adalah glukokinase yang merupakan enzim kunci dalam mekanisme sekresi insulin (Suryohudoyo, 2000). Berikut beberapa mekanisme sekresi insulin:

1. Perangsangan Insulin oleh Glukosa darah

Pada keadaan fisiologis sekresi insulin dipicu oleh masuknya glukosa ke dalam sel beta pankreas. Respon sekresi insulin terhadap peningkatan konsentrasi glukosa darah memberikan mekanisme umpan balik yang sangat penting untuk pengaturan konsentrasi glukosa darah. Hiperglikemia mengakibatkan peningkatan rasio kadar ATP/ADP, yang mengakibatkan hambatan keluarnya K^+ pada saluran kalium yang bergantung ATP (*ATP-sensitive K^+ channel*). Penurunan keluarnya arus K^+ melalui saluran ini mengakibatkan depolarisasi sel β dan mengaktivasi saluran Ca^{2+} yang sensitif voltase (*Voltage-sensitive Ca^{2+} channel*). Akibatnya terjadi aliran masuk Ca^{2+} dan terjadi peningkatan kalsium intraseluler yang mengakibatkan sekresi insulin. Insulin yang sudah disekresikan dibawa oleh darah ke jaringan perifer, selanjutnya berikatan dengan reseptor insulin yaitu famili reseptor tirosin kinase (Notkins, 2002).

Stimulasi reseptor insulin akan mengaktifkan tyrosin kinase yang ada pada sub unit beta dari reseptor insulin. Tyrosine terfosforilasi akan

merangsang aktifitas beberapa protein intraseluler dalam jalur signaling insulin. Sebagai hasil rangkaian aktivasi, glukosa transporter akan bergerak ke arah membran untuk memasukkan glukosa yang ada dalam darah. Akibatnya akan terjadi peningkatan glukogenesis, penurunan glikogenolisis dan glukoneogenesis. Aktivasi tyrosine kinase akan menstimuli aktifitas pada enzim fosfatase yang dapat memerantarai reaksi fosfatasi setelah ketiga residu *tyrosine* yang terikat pada sub unit beta reseptor insulin terfosforilasi. Ini akan menjadi substrat bagi enzim *protein tyrosine phosphatase*. Reaksi fosfatasi ini akan menyebabkan rangkaian jalur *signaling insulin* terdeaktivasi dan pemasukan glukosa darah oleh *glucose transporter* juga berhenti. Beberapa teori menyatakan bahwa ini juga menjadi dasar terjadinya desensitisasi reseptor insulin (Hasmono, 2005). Lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar pada halaman 23.

2. Perangsangan Insulin oleh Hormon

Sejumlah hormone mempengaruhi pelepasan insulin. Preparat agonis α -adrenergik, khususnya epinefrin, menghambat pelepasan insulin, preparat agonis β -adrenergik merangsang pelepasan insulin. Pajanan yang terus menerus dengan hormon pertumbuhan, kortisol, laktogen plasenta, estrogen dan progestin dalam jumlah yang berlebihan, juga akan meningkatkan sekresi insulin

3. Perangsangan Insulin oleh Preparat Farmakologik

Banyak obat merangsang sekresi insulin, tetapi preparat yang digunakan sering untuk terapi diabetes pada manusia adalah senyawa sulfonilurea.

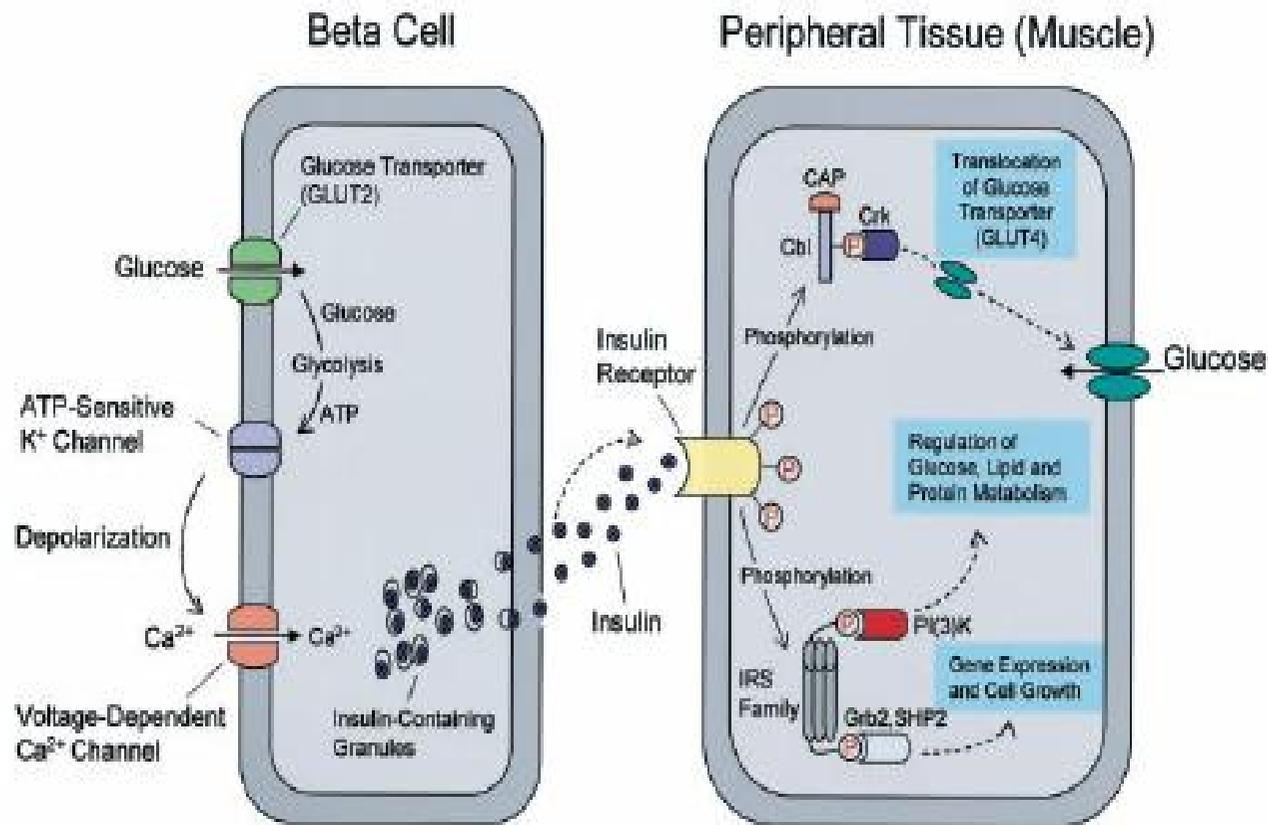
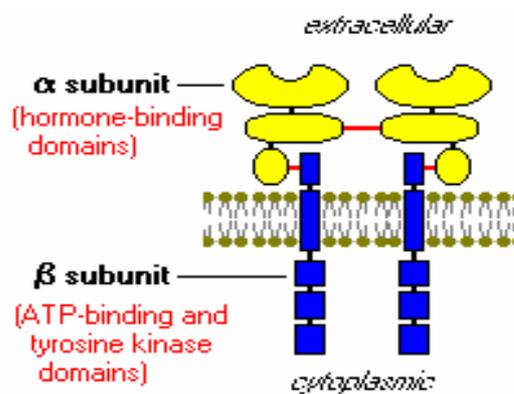


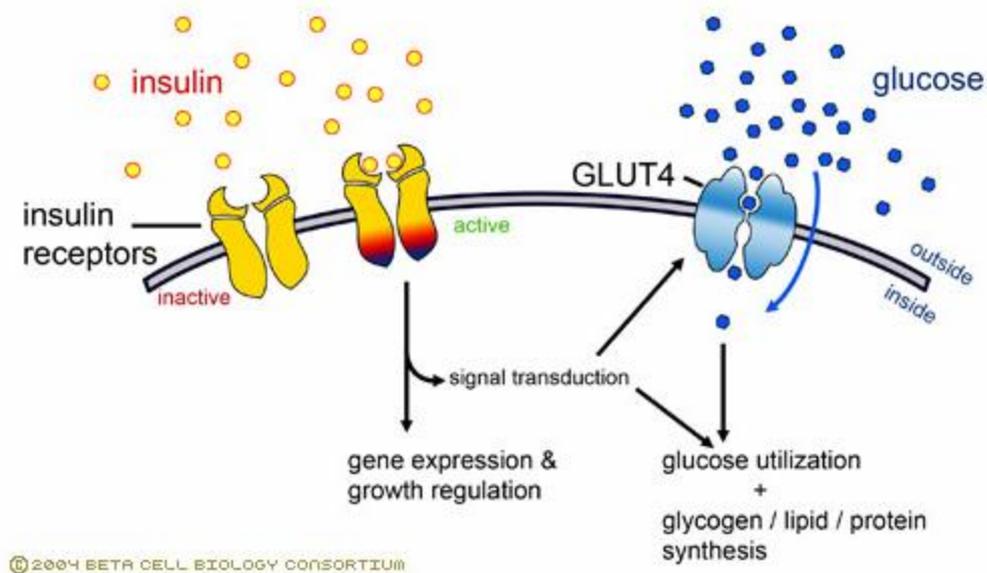
FIG. 1. **Insulin release and action.** Glucose enters beta cells via the glucose transporter (GLUT2) and ATP is generated by glycolysis. This results in closure of ATP-sensitive K⁺ channels, depolarization of the plasma membrane, and opening of voltage-dependent Ca²⁺ channels. The influx of Ca²⁺ leads to the release of insulin (1), which is carried in the bloodstream to cells throughout the body where it binds to insulin receptors. This results in autophosphorylation of insulin receptors and phosphorylation of tyrosines on a variety of cellular proteins including members of the insulin receptor substrate (*IRS*) family and Cbl-CAP (2). The phosphorylated proteins provide docking sites for SH2 domains of several proteins (e.g. phosphatidylinositol 3-kinase (*PI3K*); Grb2 and SHP2; and Crk) that activate different signaling pathways (*dashed lines*). This results in translocation of the glucose transporter (GLUT4) and uptake of glucose by the cell; alterations in glucose, lipid, and protein metabolism; and changes in gene expression and cell growth.

Gambar 2.8 Pelepasan dan Aksi Insulin (Notkins, 2002)

Untuk dapat melaksanakan fungsinya insulin yang berada dalam sirkulasi darah setelah mencapai sel sasaran atau jaringan/organ target harus berikatan dengan reseptor insulin yang berada pada permukaan membrane sel (reseptor transmembran). Respon biologi kompleks insulin-reseptor telah diidentifikasi pada beberapa jaringan target seperti hati, otot dan jaringan lemak. Reseptor insulin mempunyai dua fungsi utama yaitu membedakan bahan-bahan lain dengan insulin kemudian mengikatnya dengan cepat dan reversibel serta pembentukan kompleks reseptor-insulin akan merangsang rangkaian kejadian intraseluler yang kemudian mengarah ke terjadinya efek seluler insulin. Reseptor mengikat insulin dengan spesivisitas dan afinitas yang tinggi pada tingkat pikomolar. Reseptor insulin terdiri dari subunit α , dimana terletak ekstraseluler dan merupakan daerah tempat pengikatan hormon, dan subunit β yang terletak pada transmembran sampai kedalam sitosol dan merupakan daerah yang berikatan dengan ATP dan menunjukkan aktifitas tirosin kinase (Bowen, 2004).



Gambar 2.9 Reseptor Insulin (Bowen, 2004)



Gambar 2.10 Insulin berikatan dengan insulin reseptor menstimulus kaskade signal transduksi diikuti transfer glukosa ke dalam sel oleh GLUT 4 (Cartailler, 2004).

2.4 Transport Glukosa

Kadar glukosa bebas intra sel sangat rendah jika dibandingkan dengan kadar glukosa ekstrasel. Laju pengangkutan glukosa lewat membrane sel otot serta sel adipose menentukan laju fosforilasi glukosa dan metabolisme selanjutnya bila kadar glukosa serta insulinnya normal. Glukosa memasuki sel melalui proses difusi fasilitatif dan diperantarai oleh karier lewat pengangkutan glukosa (Murray *et al.*, 2003).

Ada berbagai macam pengangkut glukosa (GLUT) yaitu GLUT 1: mengangkut glukosa ke otak, ginjal, kolon, plasenta, seritrosit. GLUT 2: hati, sel beta pancreas, usus halus, dan ginjal. GLUT 3: otak, ginjal, plasenta. GLUT 4: otot jantung dan rangka, jaringan adipose. GLUT 5: usus halus. Pengangkutan glukosa pada otot skeletal ditingkatkan secara nyata oleh insulin, sehingga jika terjadi defisiensi insulin akan terjadi penurunan ambilan glukosa oleh otot

skeletal dan jaringan adipose. Di hati insulin tidak meningkatkan difusi glukosa ke dalam hepatosit, tetapi secara tidak langsung meningkatkan aliran ke dalam dengan mengubah glukosa intrasel menjadi glukosa 6 fosfat lewat kerja glukokinase, yaitu suatu enzim yang diinduksi oleh insulin (Murray *et al.*, 2003).

2.5 Diabetes Mellitus

2.5.1 Definisi Diabetes Mellitus

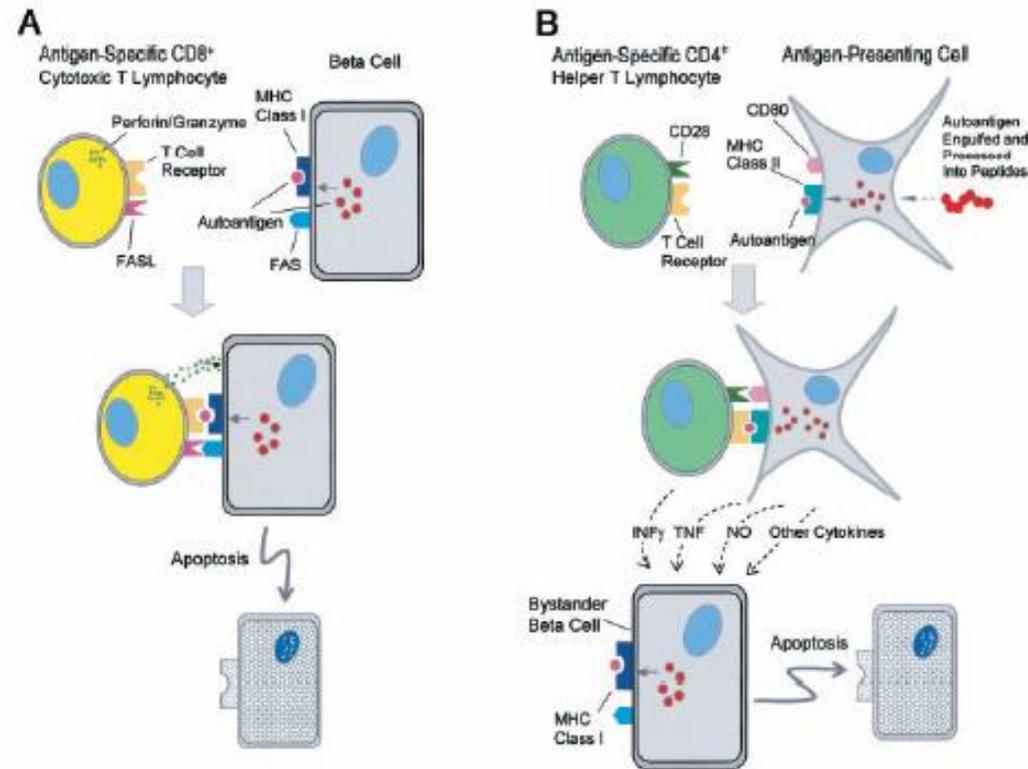
Diabetes mellitus adalah suatu gangguan metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia yang berkaitan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Berdasarkan etiologinya diklasifikasikan menjadi 2 kelompok besar yaitu diabetes mellitus tipe 1 dan tipe 2 (WHO, 2006).

Diabetes tipe 1 disebabkan oleh ketidakmampuan tubuh menghasilkan insulin sehingga mutlak diperlukan insulin dari luar. Tipe ini disebabkan oleh kerusakan sel beta pankreas yang dipengaruhi sistem imun. Sedangkan diabetes tipe 2 yang ditemui pada 90% dari seluruh kasus diabetes disebabkan oleh ketidakefektifan insulin dalam memperantarai pemasukan glukosa ke dalam jaringan. Hal ini dapat terjadi karena gangguan sekresi insulin dan penurunan sensitifitas insulin (Hasmono, 2005).

Pada diabetes mellitus kadar glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dl atau glukosa plasma 2 jam setelah puasa ≥ 200 mg/dl (WHO, 2006). Hiperglikemia pada diabetes mellitus jika tidak dikendalikan dengan baik bisa mengakibatkan berbagai macam komplikasi baik akut maupun kronik. Dimana berbagai komplikasi tersebut bisa mengakibatkan disabilitas sampai kematian (Black & Hawks, 2005).

2.5.2 Etiologi dan Patofisiologi

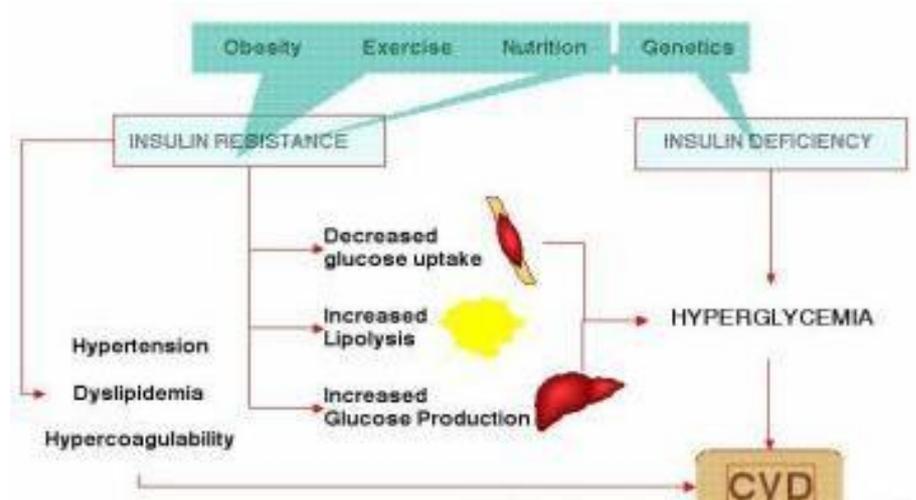
Diabetes melitus tipe 1 berkaitan dengan faktor genetik, usia muda, proses autoimun dan tergantung pada terapi insulin secara injeksi selama hidupnya dan dianjurkan mengonsumsi obat antidiabetika oral. Diabetes melitus tipe 1 disebabkan oleh defisiensi absolut produksi insulin sebagai akibat destruksi sel beta pankreas. Autoantibody dianggap sebagai penyebab tersering untuk memprediksi terjadinya diabetes mellitus tipe 1, akan tetapi mekanisme ini sebenarnya hanya memiliki peran yang sedikit. Sebaliknya *cell-mediated immune respon* lebih banyak dianggap bertanggung jawab terhadap kematian sel beta. Sel yang mengalami inflamasi di dalam dan di sekitar pulau langerhans pankreas. Pada kenyataannya ada beberapa individu yang mengalami inflamasi ini selama beberapa tahun, tetapi tanpa disertai manifestasi klinik. Pada klien dengan diabetes mellitus tipe 1, interaksi langsung antara spesifik antigen $CD8^+$ T cytotoksik limfocyte dan autoantigen pada sel beta menyebabkan kematian pada sel beta (Gambar 2.10A). Disisi lain, spesifik antigen $CD4^+$ T helper limfosit tidak mengenali autoantigen pada sel beta karena sel beta tidak mengekspresikan MHC kelas II, malahan bereaksi dengan autoantigen yang telah diambil dan diproses oleh molekul APCs kelas II. Mekanisme tidak langsung ini menghasilkan berbagai macam molekul efektor yang dikenal dengan “bystander killing” (Gambar 2.10B). Baik kematian secara langsung maupun tidak langsung terjadi akibat apoptosis, akan tetapi nekrosis juga dianggap berperan dalam proses kematian ini (Notkins, 2002). Gambar untuk mendukung penjelasan ini dapat dilihat pada halaman berikutnya.



Mechanisms of immune-mediated beta cell killing. *A*, direct killing of beta cells. Autoantigens that are processed and presented as peptides in a complex with MHC class I molecules on the surface of beta cells are recognized by antigen-specific CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes. This results in up-regulation of a number of co-stimulatory molecules (e.g. FAS/FASL). A cascade of signal transduction events ensues resulting in beta cell death by apoptosis through one or more of several different effector pathways (e.g. FAS/FASL, perforin/granzyme). *B*, indirect (bystander) killing of beta cells. Autoantigens that are engulfed, processed, and presented as peptides in a complex with MHC class II molecules on the surface of APCs (e.g. macrophages or dendritic cells) are recognized by antigen-specific CD4⁺ helper T lymphocytes. This up-regulates co-stimulatory molecules (e.g. CD28/CD80) and triggers the release of a variety of cytokines (e.g. interferon γ (*INF* γ), tumor necrosis factor α (*TNF* α), and NO) from both CD4⁺ T cells and APCs resulting in apoptosis of nearby beta cells.

Gambar 2.11 Patogenesis Diabetes Mellitus tipe 1. Gambar a: terjadinya apoptosis sel beta secara langsung. Gambar b: menunjukkan terjadinya apoptosis sel beta secara tidak langsung (Notkins, 2002).

Diabetes melitus tipe 2 berkaitan dengan faktor lingkungan, obesitas, usia lanjut dan dianjurkan mengonsumsi obat antidiabetika oral. Diabetes melitus tipe 2 dikarakteristikan oleh disfungsi sel beta pankreas dan resistensi insulin pada jaringan sasaran seperti otot skeletal dan jaringan adiposa (Kumar *et al.*, 2005). Setelah glukosa dicerna, pertahanan toleransi glukosa normal tergantung pada tiga hal yaitu: stimulasi sekresi insulin, supresi produksi glukosa endogen, dan stimulasi ambilan glukosa yang diperantarai insulin oleh jaringan perifer terutama otot (DeFronzo, 1999). Pada diabetes melitus tipe 2 terjadi abnormalitas pada proses tersebut. Glukosa plasma tetap normal meskipun terdapat resistensi insulin. Selanjutnya resistensi insulin akan menyebabkan peningkatan sekresi insulin untuk mengkompensasi keadaan resistensi ini. Selanjutnya resistensi insulin cenderung memburuk sehingga walaupun konsentrasi insulin meningkat tampak adanya intoleransi glukosa dalam bentuk hiperglikemia setelah makan. Akhirnya resistensi insulin tidak berubah, sementara sekresi insulin menurun yang menyebabkan hiperglikemia puasa. Hal ini menjadi gejala yang nyata pada penderita diabetes melitus (Isselbacher *et al.*, 2000).



Gambar 2.12 Patogenesis Diabetes Mellitus tipe 2 (Pittas & Greenberg 2003)

2.6 Diabetes Mellitus, Dislipidemia dan Aterosklerosis

Dislipidemia pada diabetes mellitus dikarakteristikan oleh 4 hal yaitu hipertrigliserida, proporsi *small dense* LDL yang tinggi, penurunan kadar HDL serta posprandial lipemia. Proses patogeniknya disebabkan oleh adanya resisten insulin disertai disfungsi enzim lipoprotein lipase (LPL). Resistensi Insulin menyebabkan terjadinya lipolisis (yang distimulus oleh hormon sensitif lipase) secara berlebihan pada adipocyte, sehingga terjadi peningkatan pelepasan asam lemak bebas ke sirkulasi. Keadaan ini berdampak pada peningkatan ambilan asam lemak bebas oleh hati. Adanya insulin resisten dan kadar asam lemak bebas yang berlebih di hati mengakibatkan terganggunya regulasi apolipoprotein B (apo B). Akibat terhambatnya proses degradasi apo B, hati memproduksi VLDL yang kaya akan trigliserida (VLDL-TG) dalam jumlah yang banyak sehingga kadarnya meningkat. Pada keadaan normal VLDL berinteraksi dengan LPL di dinding pembuluh darah dan sel otot, dan LPL akan membersihkan kandungan TG pada VLDL untuk disimpan didalam adipocyte dan mengkonversi VLDL menjadi LDL. Sebagai dampak dari aktifitas LPL, maka kadar HDL akan meningkat. Pada diabetes, aktifitas LPL terganggu, sehingga meningkatkan kadar VLDL kaya akan TG plasma serta penurunan jumlah HDL (Goldberg I. J., 2001; Balasubramanyam A., 2001).

Faktor kedua yang memiliki kontribusi terhadap abnormalitas ini adalah enzim kolesterol ester transfer protein (CETP) plasma yang ada di sirkulasi. Ketika VLDL-TG plasma meningkat CETP menyebabkan perpindahan TG ke HDL dan LDL yang berakibat berpindahnya kolesterol ester (CE) dari HDL dan LDL kepada VLDL-TG, sehingga diabetes dengan kadar VLDL yang tinggi pada

pemeriksaan akan memperlihatkan kadar HDL yang rendah. Hal ini dikarenakan CE pada HDL yang terlepas dari ikatan. Pada LDL karena kaya akan TG maka oleh hepatic lipase bentuk dan ukurannya dirubah menjadi *small dense* LDL (Goldberg I. J., 2001).

Pada postprandial lipemia, lemak dalam makanan diabsorpsi dalam bentuk kilomikron dan pada klien diabet, adanya kelainan pada LPL mengakibatkan terjadinya pemanjangan waktu elevasi kilomikron kaya akan TG pada sirkulasi darah. Selain itu ada kelainan kedua pada pemrosesan partikel sisa kilomikron. LPL merupakan mediasi dalam proses lipolisis kilomikron. Sisa kilomikron normalnya dibersihkan di hati dengan menempel pada *heparan sulfat proteoglycan* spesifik. Pada diabet *proteoglycan trapping mechanism* mengalami defisiensi (percobaan pada tikus), sehingga kemungkinan pada diabetisi sisa kilomikron akan menumpuk dalam sirkulasi (Balasubramanyam A., 2001). Perspektif baru dari laporan *Cleveland Heart Study* dan *Helsinki Heart Study* menunjukkan bahwa peningkatan kadar LDL (low density lipoprotein) serta penurunan kadar HDL (high density lipoprotein) menyebabkan terjadinya proses aterosclerosis (Sargowo, 2007).

Aterosclerosis merupakan penyakit vaskuler yang ditandai dengan timbulnya ateroma, yaitu suatu tungkulan pada dinding arteri. Timbulnya ateroma ini menyebabkan penyempitan lumen arteri, dan apabila tungkulan tersebut pecah akan menimbulkan trombosis yang selanjutnya mengakibatkan pembuntuan lumen. Gangguan aliran darah ini dapat menimbulkan iskemia dan kematian jaringan di daerah aliran arteri, khususnya pada organ-organ yang miskin kolateral seperti jantung dan otak.

Penyebab aterosklerosis bersifat multifaktorial, sebagian penyebabnya bersifat genetic, sebagian lainnya karena faktor lingkungan, misalnya karena kebiasaan makan (Suryohudoyo, 2000). Hiperkolesterolemia merupakan faktor terpenting dalam patogenesis aterosklerosis. Kadar kolesterol yang tinggi disebabkan oleh kenaikan kadar LDL. Kadar LDL yang tinggi pada dasarnya disebabkan oleh dua hal, yaitu sintesis VLDL yang berlebihan atau gangguan ambilan LDL oleh sel-sel jaringan. Penyebabnya dapat bersifat genetic atau faktor lingkungan. Sintesis VLDL yang berlebih terjadi pada diabetes mellitus dan kebiasaan makan makanan tinggi kolesterol. Gangguan ambilan LDL oleh sel-sel jaringan terdapat pada penyakit hiperkolesterolemia familial, suatu penyakit karena mutai gen yang menyandi LDL-R. Penyebab primer aterosklerosis adalah kadar LDL darah yang tinggi. Hal ini menyebabkan meningkatnya jumlah partikel LDL yang menerobos masuk subintima pembuluh darah didaerah predileksi.

Di dalam subintima LDL akan ditangkap oleh makrofag melalui pengikatan pada reseptor LDL. Namun kapasitas makrofag untuk menangkap LDL terbatas, karena apabila kadar kolesterol intrasel meningkat sampai batas tertentu, reseptor LDL akan ditarik masuk ke dalam sel (*down regulation*). Bila jumlah partikel LDL dalam subintima meningkat, maka akan terdapat sejumlah besar sisa partikel LDL yang tertinggal. LDL yang tersisa ini akan mengalami oksidasi oleh oksidan yang dihasilkan oleh makrofag dan otot polos, menghasilkan mo-LDL (middle oxidized LDL) dan ox-LDL (oxidized LDL) (Suryohudoyo, 2000).

Ox-LDL tak dapat ditangkap oleh reseptor LDL, tetapi oleh reseptor lain, yaitu ScR (scavenger receptor). Berbeda dengan reseptor LDL, ScR tak

mengalami *down regulation* sehingga makrofag terus menerus menangkap ox-LDL dan berubah menjadi sel busa. Ox-LDL bersifat sitotoksik sehingga pada akhirnya menyebabkan nekrosis sel busa. Bila sel busa mati, maka terjadilah tumpukan lemak (kolesterol) ekstrasel.

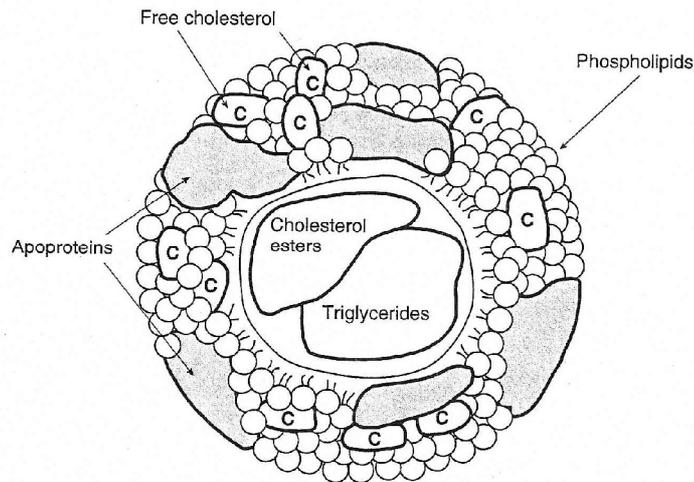
Mo-LDL berbeda dengan ox-LDL, tak bersifat sitotoksik, tetapi justru memicu sel endotel untuk mensekresi faktor pertumbuhan dan sitokin tertentu. Sekresi faktor pertumbuhan akan memicu proliferasi serta migrasi otot polos dan fibroblast, sedangkan sekresi sitokin akan memacu migrasi limfosit memasuki sel intima dan menimbulkan reaksi imun. Nekrosis endothelium karena pengaruh ox-LDL memicu terjadinya thrombus, dan bila thrombus terlepas, maka setelah mengikuti aliran darah thrombus akan menyumbat cabang arteri kecil, menimbulkan iskemia pada jaringan yang dilayani oleh cabang arteri tersebut (Suryohudoyo, 2000).

Respon hati terhadap aliran asam lemak bebas adalah dengan meningkatkan produksi VLDL dan sintesis kolesterol ester. Peningkatan produksi lipoprotein kaya trigliserida dan penurunan pembersihan oleh lipoprotein lipase menyebabkan hipetrigliseridemia, yang merupakan ciri yang sedang diamati pada diabetes. Hipertrigliseridemia dan rendahnya HDL berkaitan dengan disfungsi endotelial (Creager, 2003).

2.7 Lipoprotein

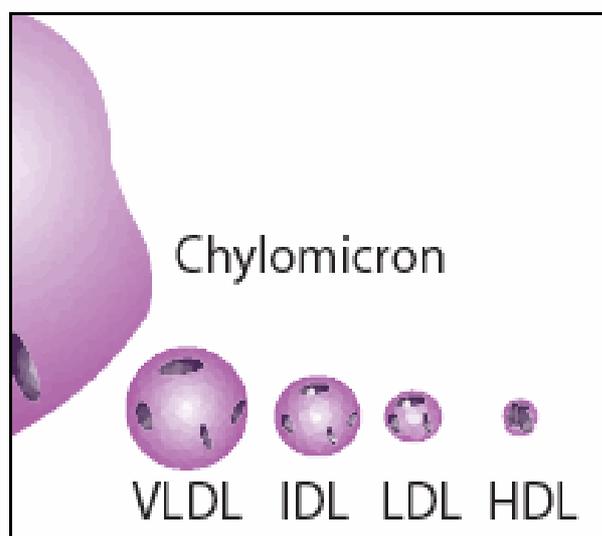
Lipoprotein merupakan suatu partikel berbentuk bulat yang beredar dalam sirkulasi darah dengan struktur dasar berupa bola yang terdiri dari bagian inti (*core*) dan kulit (*surface*). Bagian inti lipoprotein tersusun dari triasilgliserol dan

kolesterol ester yang tidak amfipatik. Sedangkan bagian kulit tersusun dari fosfolipid, kolesterol, dan protein (apoprotein) yang bersifat amfipatik (Koolman *et al.*, 2005).



Gambar 2.13 Struktur Lipoprotein (Koolman, et al, 2005)

Ada lima jenis lipoprotein yang beredar dalam sirkulasi darah yaitu: kilomikron, *very low density lipoprotein* (VLDL), *intermediate density lipoprotein* (IDL), *Low density Lipoprotein* (LDL) dan *high density lipoprotein* (HDL).



Gambar 2.14 Lima Jenis Lipoprotein (Koolman, et al, 2005)

1. Kilomikron

Kilomikron merupakan lipoprotein yang paling besar ukurannya (1000nm) dan paling rendah densitasnya ($< 0,95$). Lipoprotein ini terdiri dari 2% protein, 85-88% trigliserida, ~8% phospholipid, ~3% kolesterol ester, dan ~1% kolesterol. Kilomikron mengandung beberapa type apolipoprotein yaitu apo-AI, II dan IV; apo B48; apo-CI, II dan III; apo E dan apo H. Kilomikron dibentuk untuk pengangkutan trigliserida dari makanan dan kolesterol yang diabsorpsi oleh epitel pencernaan (Lipoprotein Research, 2007). Kilomikron bertanggung jawab atas pengangkutan semua lipid dari makanan ke dalam sirkulasi darah (Murray *et al*, 2003).

Kilomikron hanya ditemukan dalam kilus yang dibentuk hanya oleh sistem limfatik yang mengalirkan cairan limfe ke usus. Pembentukan kilomikron meningkat bersamaan dengan semakin besarnya jumlah triasilgliserol yang diserap. Ekskresi kilomikron ke plasma difasilitasi oleh sistem limfatik (Murray *et al*, 2003). Di dalam plasma, kilomikron mendapatkan apo-CII dan apo E dari HDL. Setelah ditransport ke jaringan, trigliserida yang terkandung dalam kilomikron dihidrolisis oleh lipoprotein lipase yang berada pada endotelial dinding sel dengan bantuan apo-CII. Sisa kilomikron menghasilkan asam lemak dan gliserol. Sisa kilomikron, termasuk residu kolesterol, diambil oleh liver melalui *receptor-mediated endocytosis* dengan cara mengenali komponen apo-E yang dimilikinya (Murray *et al*, 2003; Lipoprotein Research, 2007).

2. VLDL (*Very Low Density Lipoprotein*)

Ukuran VLDL 25-90 nm, dengan densitas ~0,98. Terdiri dari 5-12% protein, 50-55% trigliserida, 18-20% phospholipid, 12-15% kolesterol ester dan 8-10% kolesterol. VLDL juga mengandung beberapa apolipoprotein yaitu apo-B100; apo-CI, II dan III; dan apo-E. VLDL juga memperoleh apo-CII dan apo-E dari plasma VLDL. VLDL dibentuk di liver (Lipoprotein Researce, 2007).

Senyawa triasilgliserol hepatic merupakan prekursor segera triasilgliserol yang terkandung di dalam VLDL plasma. Sintesis triasilgliserol menghasilkan rangsangan segera untuk pembentukan dan sekresi VLDL. Asam lemak yang digunakan dalam sintesis senyawa triasilgliserol hepatic berasal dari dua kemungkinan sumber: yaitu sintesis di hati dari asetil-KoA yang terutama berasal dari karbohidrat dan ambilan asam lemak bebas dari sirkulasi darah. Secara normal triasilgliserol tidak terakumulasi dalam hati, tetapi akan diangkut dari hati dalam bentuk VLDL (Murray *et al*, 2003).

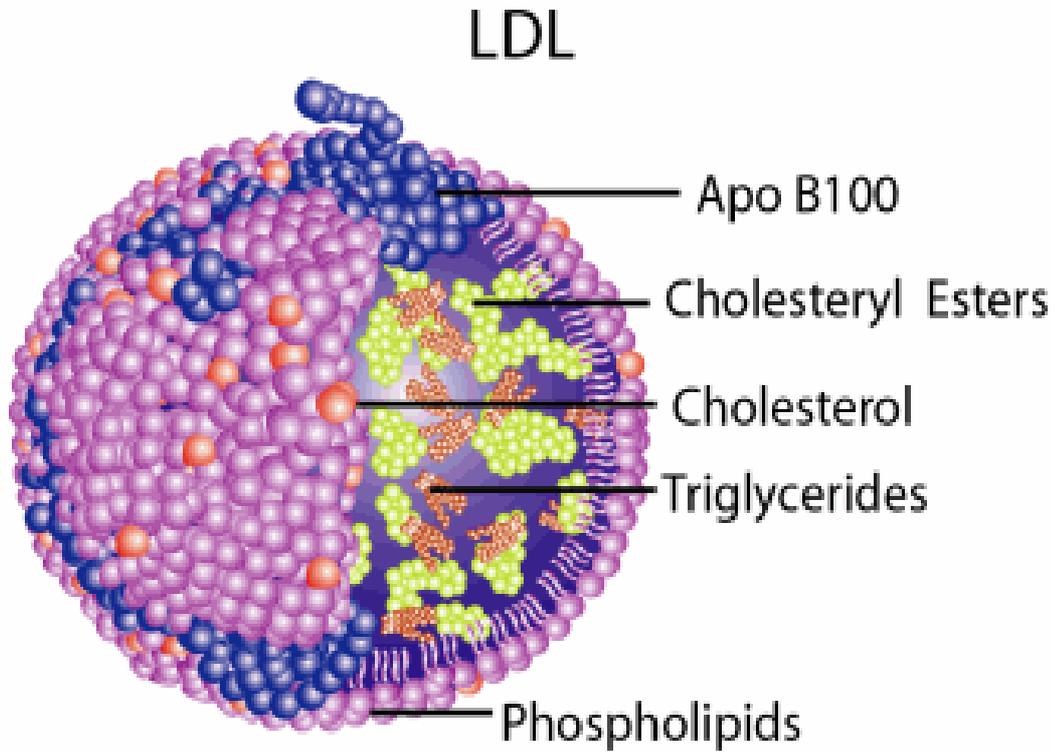
Pada diabetes melitus kadar asam lemak bebas di dalam darah akan meningkat dan lebih banyak lagi asam lemak bebas yang ditarik ke dalam hati. Pada keadaan ini lipogenesis akan terhambat sehingga asam lemak bebas merupakan sumber utama asam lemak triasilgliserol di hati dan VLDL (Murray *et al*, 2003).

3. IDL (*Intermediete Density Lipoprotein*)

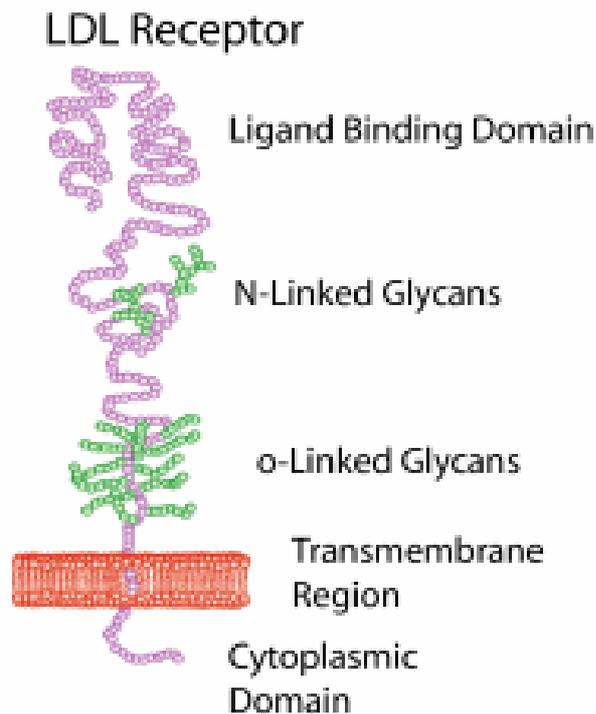
IDL merupakan lipoprotein yang disintesis oleh VLDL. VLDL yang kehabisan kandungan trigliseridanya akan berubah menjadi IDL. IDL merupakan prekursor LDL. Ukurannya 40 nm dengan densitas ~1,0. apolipoprotein yang di kandungnya sama dengan yang diandung VLDL. Komposisi IDL yaitu 10-12% protein, 24-30% trigliserida, 25-27% phospholipid, 32-35% kolesterol ester dan 8-10% kolesterol. Sebagian besar IDL mengalami hidrolisis lebih lanjut sehingga triasilgliserolnya semakin berkurang dan intinya menyusut, dan berubahlah lipoprotein ini menjadi LDL. Sebagian IDL lepas dan beredar tanpa berubah menjadi LDL dan diambil oleh hati melalui pengikatan oleh reseptor apo B-100.

4. LDL (*Low Density Lipoprotein*)

Perjalanan LDL dimulai dengan sintesis dan sekresi lipoprotein densitas sangat rendah (VLDL) oleh sel-sel hati (hepatosit). VLDL mengandung kolesterol dan triasilgliserol (TG). Setelah memasuki aliran darah, VLDL mulai kehilangan kandungan TG nya, karena TG mengalami hidrolisis oleh enzim lipoprotein lipase (LPL) menjadi asam lemak dan gliserol, sehingga kandungan ester kolesterol semakin lama semakin tinggi. Dengan proses ini VLDL mula-mula berubah menjadi lipoprotein densitas menengah (IDL) dan akhirnya berubah menjadi LDL. Selanjutnya LDL akan di-endositosis oleh jaringan perifer dan hepatosit setelah terlebih dahulu diikat oleh reseptor LDL (LDL-R) (Suryohudoyo, 2000).



Gambar 2.15 Struktur LDL (Lipoprotein Researce, 2007)



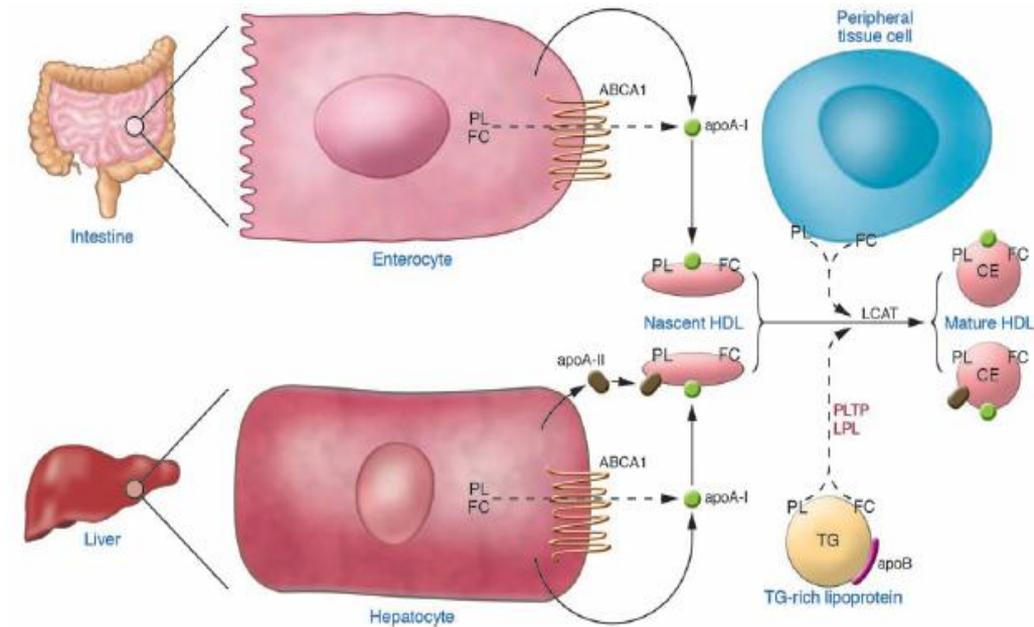
Gambar 2.16 Reseptor LDL (Lipoprotein Researce, 2007)

Sebagaimana uraian diatas LDL merupakan lipoprotein yang kaya akan kolesterol serta terbentuk dari metabolisme VLDL. LDL berikatan dengan reseptor Apo B 100 dan E (reseptor LDL) yang didapati di hampir semua jaringan tubuh (hati 70%, jaringan ekstrahepatik 30%). Bagi jaringan ekstrahepatik reseptor ini penting untuk mengambil LDL beserta kolesterol yang diperlukannya, sedangkan bagi hati reseptor yang sama, penting untuk mengambil kolesterol yang masuk bersama LDL guna diekskresi melalui saluran empedu. Setelah berikatan dengan reseptor, LDL diambil dalam keadaan utuh melalui endositosis. Kemudian LDL dipecah di dalam lisosom yang melibatkan hidrolisis apoprotein dan ester kolesterol yang diikuti oleh translokasi kolesterol ke dalam sel. Reseptor tersebut tidak dihancurkan tetapi kembali ke permukaan sel. Aliran masuk kolesterol ini menghambat kerja HMG-KoA sintase serta HMG-KoA reduktase dengan cara yang terkoordinasi, dan dengan demikian menghambat sintesis kolesterol serta menstimulasi aktivitas ACAT (asil-KoA: kolesterol asil transferase) dan mengurangi sintesis reseptor LDL. Dengan demikian pengambilan kolesterol melalui reseptor LDL tidak akan mengakibatkan penumpukan kolesterol secara berlebihan di dalam sel (Murray *et al.*, 2003).

5. HDL (*High Density Lipoprotein*)

HDL merupakan lipoprotein yang kaya akan kolesterol tetapi terlibat di dalam pengeluaran kolesterol dari jaringan serta pada metabolisme jenis lipoprotein lainnya. HDL disintesis dan disekresi oleh hati maupun intestinum. Meskipun demikian HDL nascent (HDL yang baru disekresi) dari intestinum tidak mengandung apolipoprotein C atau E, tetapi hanya

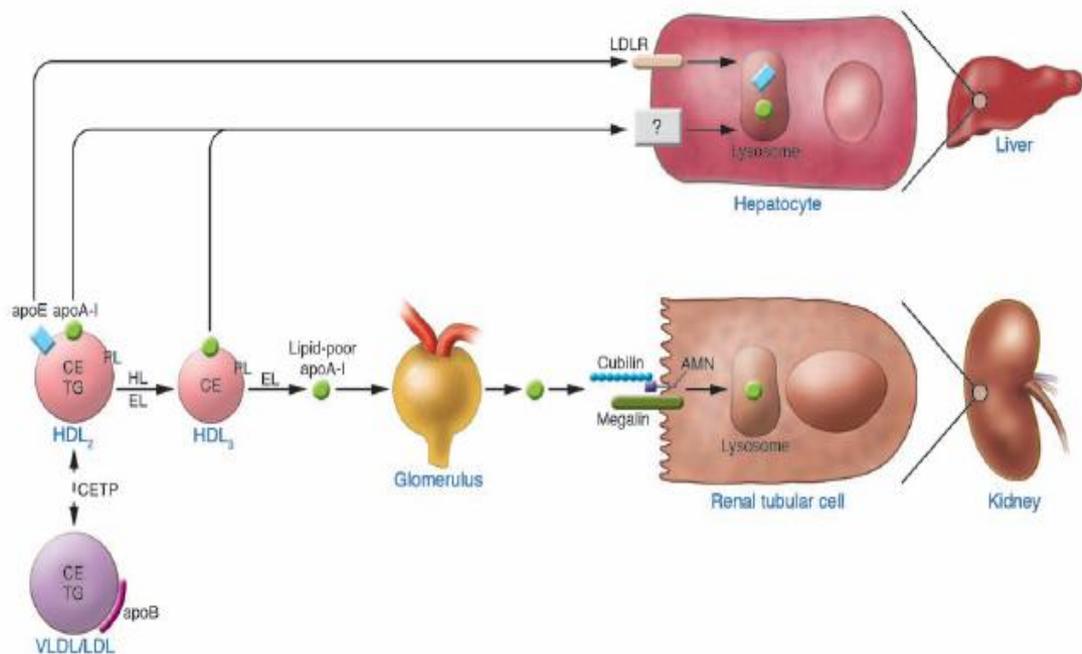
mengandung apolipoprotein A. Jadi, apo C dan E disintesis di hati dan dipindahkan ke HDL intestinum ketika HDL ini memasuki plasma darah. Fungsi utama HDL adalah bertindak sebagai tempat penyimpanan untuk apo C dan E yang dibutuhkan dalam metabolisme kilomikron dan VLDL (Murray *et al.*, 2003).



Gambar 2.17 Biosintesis HDL (Rader, 2006)

Siklus HDL dikemukakan untuk menjelaskan pengangkutan kolesterol dari jaringan ke hati pada proses yang dikenal sebagai pengangkutan balik kolesterol. Siklus tersebut melibatkan ambilan dan esterifikasi kolesterol oleh HDL₃ yang menjadi lebih besar dan kurang rapat dengan membentuk HDL₂. Enzim lipase hepatic menghidrolisis fosfolipid HDL dan triasilgliserol yang memungkinkan partikel senyawa ini melepaskan muatan ester kolesterolnya ke hati, tempat partikel tersebut menjadi lebih rapat lagi, membentuk kembali HDL₃ yang memasuki

kembali siklus tersebut. Disamping itu, apo A-1 bebas akan dilepas dan memasuki kembali sirkulasi dengan membentuk pre β -HDL sesudah berikatan dengan fosfolipid dan kolesterol dalam jumlah minimal. Pre β -HDL merupakan bentuk HDL yang paling poten dalam menginduksi aliran keluar kolesterol dari jaringan untuk membentuk HDL diskoid yang selanjutnya akan mengambil lebih banyak lagi kolesterol untuk membentuk HDL₃. Setiap kelebihan apo A-1 akan dihancurkan di ginjal (Murray *et al.*, 2003).



Gambar 2.18 Katabolisme Apo A-I (Rader, 2006)

Konsentrasi HDL bervariasi secara terbalik dengan konsentrasi triasilgliserol plasma dan secara langsung dengan aktivitas lipoprotein lipase. Kenyataan ini mungkin disebabkan oleh kelebihan konstituen permukaan misal fosfolipid dan apo A-1 yang dilepaskan selama hidrolisis kilomikron serta VLDL dan turut memberikan kontribusinya kearah

pembentukan pre β -HDL serta HDL discoid. Konsentrasi HDL (HDL) berhubungan secara bermakna dengan insiden aterosklerosis koroner, dan keadaan ini mungkin terjadi karena konsentrasi HDL mencerminkan efisiensi pembersihan kolesterol dari jaringan (Murray *et al.*, 2003).

2.8 Rasio LDL/HDL

Menurut *Lipid Research Clinics* dan *The Framingham Heart Study* untuk memprediksi risiko penyakit jantung koroner rasio LDL/HDL lebih penting dibandingkan dengan rasio kolesterol total/HDL, karena LDL mencerminkan kadar kolesterol yang buruk (*bad cholesterol*) dan HDL mencerminkan kadar kolesterol yang baik (*good cholesterol*), sedangkan kadar kolesterol total merupakan penjumlahan kadar HDL, LDL maupun VLDL. Nilai rasio LDL/HDL menunjukkan tingkat risiko yang berbeda terhadap insiden PJK. Nilai rasio tersebut pada manusia yaitu risiko ringan: 3,3–4,4; rata-rata 4,4–7,1; risiko sedang: 7,1–11,0 dan risiko tinggi > 11,0 (Grundy S. M. *et al*, 2002). Rasio LDL/HDL dihitung manual dengan cara membagi kadar LDL dan HDL secara langsung (Healthy Heart Guide, 2005; Natural Cholesterol Cures, 2006).

Dari gambar 3.13 di atas dapat dijelaskan mekanisme kromium dan tannin yang terkandung dalam ekstrak biji duwet terhadap kadar glukosa, LDL, HDL serta rasio LDL/HDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ. Diabetes mellitus disebabkan oleh defisiensi insulin atau resistensi insulin, yang menimbulkan manifestasi klinis berupa hiperglikemia.

Pada diabetes mellitus terjadi peningkatan pelepasan asam lemak dari jaringan adiposa serta penurunan pengambilan asam lemak oleh jaringan skeletal. Kedua kondisi tersebut mengakibatkan peningkatan kadar asam lemak bebas pada peredaran darah sehingga pengambilan asam lemak bebas oleh hati juga mengalami peningkatan (Creager *et al*, 2003). Hati mengubah asam lemak bebas tersebut menjadi trigliserida. Peningkatan kadar trigliserida menstimulasi peningkatan kadar *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL). Adanya aktifitas normal dari *Cholesterol Ester Transfer Protein* (CETP) menyebabkan terjadinya pertukaran trigliserida (TG) dari VLDL ke HDL dan kolesterol ester dari HDL ke VLDL. Akibatnya inti HDL lebih banyak trigliserida bukan kolesterol ester yang disebut sebagai *small dense* HDL. Keadaan ini mengakibatkan pada pengukuran klinik didapatkan penurunan kadar HDL. Selain itu oleh hepatic lipase HDL yang kaya akan TG ini akan segera dibersihkan (Ginsberg, 2000; Golberg, 2001).

Selain itu peningkatan TG pada VLDL serta adanya CETP memfasilitasi peningkatan kadar LDL dengan cara memperantarai pertukaran trigliserida (TG) dari VLDL ke LDL, sehingga terjadi peningkatan pembentukan LDL kaya akan TG yang disebut *small dense* LDL (Ginsberg, 2000; Goldberg, 2001; Balasubramanyam, 2001). Jika kadar LDL naik dan kadar HDL turun maka rasio LDL/HDL menjadi naik. Keadaan ini akan meningkatkan risiko terjadinya

aterosklerosis (Suryohudoyo, 2000; Sargowo, 2002). Kromium berperan dalam meningkatkan kadar HDL serta menurunkan LDL dengan cara meningkatkan aktifitas lipoprotein. Tanin dan kromium bekerja menurunkan kadar glukosa dengan cara meningkatkan kepekaan reseptor insulin (Dey *et al*, 2002; Gomes *et al*, 2005). Peningkatan aktifitas insulin akan meningkatkan aktifitas enzim lipoprotein lipase sehingga kadar HDL akan meningkat (Wang *et al*, 2005). Kromium menghambat kerja enzim HMG-KoA reduktase sehingga menimbulkan mekanisme umpan balik terhadap pembentukan reseptor LDL yaitu peningkatan pada reseptor LDL. Peningkatan ini mengakibatkan penurunan kadar LDL (Dey *et al*, 2002; Gomes *et al*, 2005). Jika kadar LDL dapat diturunkan, kadar HDL dapat dinaikkan dan rasio LDL/HDL turun maka risiko terjadinya aterosklerosis juga akan menurun.

3.2 Hipotesis Penelitian

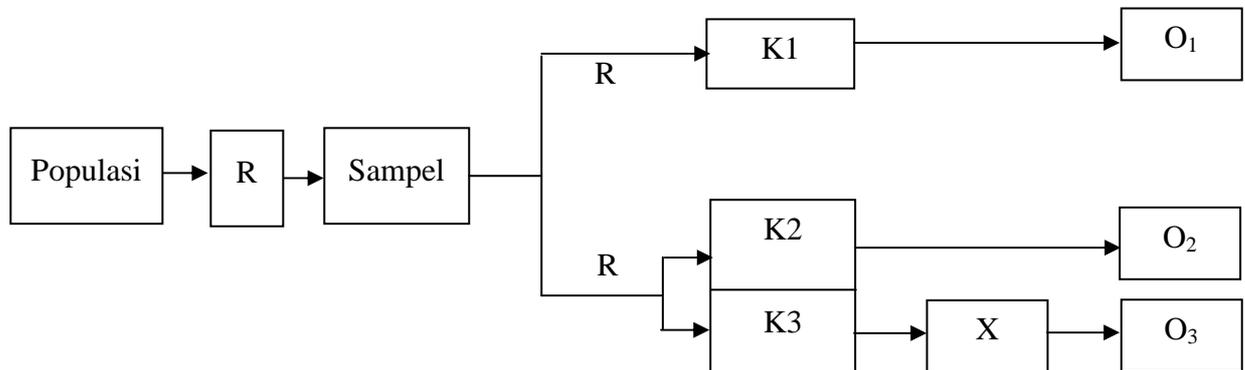
- H1 : Pemberian ekstrak biji duwet dapat menurunkan kadar glukosa serum pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.
- H1 : Pemberian ekstrak biji duwet dapat menurunkan kadar LDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.
- H1 : Pemberian ekstrak biji duwet dapat meningkatkan kadar HDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.
- H1 : Pemberian ekstrak biji duwet dapat menurunkan rasio LDL/HDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni karena unit eksperimen (selain unit kontrol) mendapatkan perlakuan yaitu pemberian ekstrak biji duwet. Rancangan eksperimen yang digunakan adalah *Post Test Only Control Group Design* (Zainuddin M., 1998). Skema rancangan penelitian yang dipakai:



Gambar 4.1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

R = Randomisasi

X = Perlakuan eksperimental

O_{1;2;3} = Observasi (pengukuran) pasca-test

K1 = Kelompok kontrol normal. Tikus pada kelompok ini akan diinjeksi buffer sitrat 0,1 ml/kg bb intraperitoneal (ip).

K2 = Kelompok diabetes. Tikus pada kelompok ini menderita diabetes akibat diinduksi dengan dosis tunggal STZ 50 mg/kg bb ip,

merupakan kelompok kontrol positif (tanpa perlakuan) hanya diberi pelarut ekstrak biji duwet (aqua) 2 ml/200 g bb sebagai placebo.

K3 = Kelompok diabetes yang diberi ekstrak biji duwet. Tikus pada kelompok menderita diabetes akibat diinduksi dengan dosis tunggal STZ 50 mg/kg bb ip dan diberi ekstrak biji duwet yang dilarutkan dalam 2 ml aqua/200 g bb dengan dosis 500 mg/kg bb/hari.

4.2 Populasi, Sampel dan Besar Sampel

Populasi penelitian ini adalah tikus wistar putih (*Rattus norvegicus strain Wistar*) jantan dari koloni yang sama, umur 10 minggu dengan berat badan 100-200 gram. Dari populasi tersebut dipilih beberapa ekor secara random sebagai sampel penelitian. Untuk menentukan besar sampel (replikasi) yang dibutuhkan digunakan rumus sebagai berikut (Lemeshow S., 1997):

$$n = \frac{\hat{\sigma}^2(Z_{1-\alpha} + Z_{1-\beta})^2}{(\mu_0 - \mu_a)^2}$$

Dengan:

$$\alpha = 5 \%$$

$$\beta = 90 \%$$

$$\hat{\sigma}^2 = 2,19$$

$$Z_{1-\alpha} = 1,645$$

$$Z_{1-\beta} = 1,282$$

$$\mu_0 - \mu_a = 3$$

Catatan: untuk menentukan harga $\hat{\sigma}^2$ (varian di populasi) dan $\mu_0 - \mu_a$ (selisih mean HDL yang diteliti dan HDL dipopulasi) digunakan data dari penelitian sebelumnya dengan judul *Effect of Azadirachta Indica Leaf on Serum Lipid Profile Changes in Normal and Streptozotocin Induced Diabetic Rats* oleh R.R Chattopadhyay & M. Badyoradhyay, tahun 2005.

Maka ditemukan besar sampel minimal (n) sebesar 4,57 dibulatkan menjadi 5.

Keterangan:

n = besar sample minimal.

$Z_{1-\alpha}$ = nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada $\alpha = 0,05$.

$Z_{1-\beta}$ = nilai distribusi normal baku (tabel Z) pada $\beta = 90\%$.

σ^2 = harga varians di populasi.

$\mu_0 - \mu_a$ = perkiraan selisih nilai mean HDL yang diteliti dengan mean HDL di populasi.

α = tingkat kemaknaan.

β = kekuatan uji.

Dari perhitungan diatas diketahui bahwa besar sampel minimal (n) perkelompok adalah 5 ekor. Pada penelitian eksperimen, untuk mengantisipasi hilangnya unit percobaan, dilakukan koreksi dengan $n/(1-f)$, dimana n adalah besar sampel yang dihitung dan f adalah perkiraan proporsi unit eksperimen yang hilang atau mengundurkan diri atau *drop out* (Sastroasmoro & Ismael, 2002). Kemungkinan hewan coba mati (f) kurang lebih 10%, sehingga besar sampel dikalikan $1/(1-f)$:

$$n' = n/(1-f)$$

$$n' = 5/(1-0,1)$$

$$n' = 5/0,9$$

$$n' = 5,56 \text{ (dibulatkan 6)}$$

Jadi besar sampel minimal 6 ekor per kelompok.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Klasifikasi Variabel

1. Variabel bebas : ekstrak biji duwet 500 mg/Kg bb.
2. Variabel tergantung : kadar glukosa serum, LDL, HDL serta rasio LDL/HDL tikus wistar putih jantan.
3. Variabel kendali : umur tikus 10 minggu, jenis kelamin tikus jantan, berat badan tikus 100-200 gram, makanan berupa P3 CP 524 dan minuman tikus berupa air, perawatan dan sanitasi kandang, waktu perlakuan 15 hari serta darah yaitu serum yang dijadikan bahan penelitian.

4.3.2 Definisi Operasional

Di bawah ini definisi variabel yang digunakan dalam penelitian ini:

Tabel 4.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Parameter	Alat Ukur	Nilai
Independen Ekstrak biji duwet	Ekstrak yang dibuat dari biji duwet dengan cara ekstraksi maserasi menggunakan pelarut alkohol 98%.	-	Timbangan analitik dengan satuan gram (g)	500 mg/kg bb dilarutkan dalam aqua 2 ml/200 g bb (Sridhar, 2005).
Dependent Kadar glukosa serum	Nilai yang menunjukkan Glukosa dalam serum (Tietz N.W., 1995).	Kadar glukosa dalam serum darah (Tietz N.W., 1995).	Ditentukan dengan metode enzimatik GOD-PAP menggunakan alat fotometer (Tietz N.W., 1995).	Dalam satuan mg/dl (Tietz N.W., 1995).
Dependen Kadar LDL (<i>Low-Density Lipoprotein</i>)	Nilai yang menunjukkan kandungan LDL dalam serum darah (Tietz N.W., 1995).	Kadar LDL dalam serum darah (Tietz N.W., 1995).	Ditentukan dengan metode enzimatik <i>Presipitasi Polyvinyl sulphate</i> menggunakan alat fotometer (Tietz N.W., 1995).	Dalam satuan mg/dl (Tietz N.W., 1995).

Dependen Kadar HDL (<i>High-Density Lipoprotein</i>)	Nilai yang menunjukkan kandungan HDL dalam serum darah (Tietz N.W., 1995).	Kadar HDL dalam serum darah (Tietz N.W., 1995).	Ditentukan dengan metode enzimatik CHOD-PAP menggunakan alat fotometer (Tietz N.W., 1995).	Dalam satuan mg/dl (Tietz N.W., 1995).
Dependen Rasio LDL/HDL	Nilai yang menunjukkan hasil pembagian nilai LDL dan HDL (Healthy Heart Guide, 2005; Natural Cholesterol Cures, 2006).	Perbandingan kadar LDL dan HDL dalam serum (Healthy Heart Guide, 2005; Natural Cholesterol Cures, 2006).	Dihitung manual dengan membagi nilai LDL & HDL secara langsung (Healthy Heart Guide, 2005; Natural Cholesterol Cures, 2006).	-

4.4 Bahan Penelitian

1. Hewan coba adalah tikus wistar putih (*Rattus novergicus strain Wistar*), jenis kelamin jantan, umur 10 minggu dengan berat badan 100 - 200 gram.
2. Biji buah duwet kering diekstraksi dengan ekstraksi maserasi menggunakan pelarut alkohol 98%. Biji duwet yang telah dikeringkan dengan suhu kamar digiling hingga lembut kemudian direndam dengan alkohol 98% selama 24 jam dan disaring (diambil filtratnya), diulangi beberapa kali sampai tidak berwarna (jernih) sehingga diperoleh ekstrak biji duwet encer. Ekstrak encer tersebut dipekatkan dengan alat rotary evaporator melalui penurunan tekanan pada suhu 40–45⁰C sehingga diperoleh ekstrak duwet. Pembuatan ekstrak biji duwet dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi UNAIR. Biji duwet didapatkan dari daerah Tebel, Buduran, Sidoarjo, dari satu pohon berumur 20 tahun.
3. *Streptozotocin* (2 – Deoxy – 2 (methyl – nitrosoamino) – carbonyl) – amino) – D – glukopyranose) atau STZ yang diperoleh dari MP *Biomedicals*, LLC dengan nomer katalog 100557.

4. Buffer Sitrat 0,01 M, dengan pH 4,5 sebagai pelarut STZ.
5. Pakan dan air untuk minum tikus.
6. Sekam untuk alas tidur.
7. Ether untuk pembiusan.
8. Aqua untuk melarutkan ekstrak biji duwet.

4.5 Instrumen Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini diklasifikasikan menjadi:

1. Alat untuk pemeliharaan dan perlakuan tikus :
 - 1) Kandang plastik polypropilen ukuran 20 cm X 30 cm X 40 cm yang ditutup dengan kawat kassa dengan ukuran lubang 6 mm.
 - 2) Botol minum.
 - 3) Tempat makan dari aluminium.
 - 4) Sekam untuk alas tidur.
 - 5) Sonde (*NG-tube*) ukuran 4 Fr. untuk pemberian ekstrak biji duwet pada tikus.
 - 6) Timbangan Torbal (*Torsion Balance*) untuk menimbang berat badan tikus.
2. Alat untuk pembuatan buffer sitrat 0,01 M, pH 4,5 sebagai pelarut STZ:
 - 1) Asam sitrat dan sodium sitrat untuk membuat larutan bufer sitrat.
 - 2) Aquadest steril untuk pelarut asam sitrat dan sodium sitrat.
 - 3) Pipet ukur untuk mengambil dan mengukur volume aquadest steril.
 - 4) Kertas lakmus dan indikatornya untuk mengukur pH buffer sitrat.
 - 5) Botol untuk mengencerkan dan melarutkan STZ.

- 6) Timbangan analitik untuk menentukan dosis asam sitrat dan sodium sitrat untuk membuat larutan bufer sitrat serta dosis STZ.
3. Alat untuk penyuntikan STZ:
 - 1) S spuit 1 cc (tuberkulin) untuk menyuntikan STZ secara intraperitoneal (ip) pada tikus.
 - 2) Sarung tangan pelindung.
 - 3) Kapas dan Alkohol 70 % untuk desinfektan.
 4. Alat untuk pembiusan:
 - 1) Toples kaca dengan ukuran 20 cm X 20 cm X 30 cm yang dialasi dengan kapas untuk tempat pembiusan.
 - 2) Ether untuk pembiusan.
 5. Alat untuk pengambilan darah:
 - 1) Alat fiksasi, diseksi hewan coba dan instrumen bedah minor.
 - 2) S spuit 3 cc yng sudah diberi label untuk mengambil darah intracardial.
 6. Kit untuk pemeriksaan kadar glukosa plasma, LDL dan HDL.

Kadar glukosa darah awal diperiksa dengan *single touch glucometer*. Pada akhir penelitian pemeriksaan kadar glukosa serum, LDL dan HDL dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya.

4.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan ditiga tempat yaitu Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Unair untuk pembuatan ekstrak biji duwet, Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba serta pengambilan sampel darah, Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya untuk

pemeriksaan kadar glukosa serum, LDL, dan HDL. Waktu penelitian dilaksanakan pada tanggal 16 Januari sampai dengan 6 Pebruari 2008.

4.7 Prosedur Penelitian

1. Aklimatisasi hewan coba

Dilakukan selama 1 minggu mulai tanggal 8-15 Januari 2008 dalam kondisi laboratorium di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Unair. Jika terdapat tikus yang sakit atau mati dikeluarkan dari penelitian.

2. Pembagian kelompok hewan coba

Dilakukan pengacakan 18 ekor tikus. Pertama tikus dibagi menjadi dua kelompok yaitu kelompok normal 6 ekor dan kelompok yang akan dibuat diabetes 12 ekor. Kelompok normal diinjeksi buffer sitrat yang merupakan pelarut STZ 0,1 ml/kg bb secara intraperitoneal. Untuk membuat diabetes, tikus diinjeksi menggunakan dosis tunggal STZ 50 mg/kg bb intraperitoneal. Setelah diinjeksi tikus pada kelompok diabetes dipuasakan selama 3 jam. Pada hari ke 3 dan ke 5 tikus pada kelompok normal dan kelompok diabetes dipuasakan selama 8 jam (mulai malam hari) kemudian kadar glukosa darah puasa diukur menggunakan *single touch glucometer* (Sridhar, 2005). Darah diambil dari pembuluh darah vena pada ekor. Hasil pengukuran antara kelompok kontrol dan kelompok diabetes dibandingkan untuk menegakkan diagnosa diabetes mellitus. Tikus putih mempunyai kadar glukosa darah 50–135 mg/dl (Kusumawati, 2004). Berdasarkan hasil penelitian, tikus dikatakan menderita diabetes mellitus apabila kadar glukosa darah puasa ≥ 250 mg/dl (Ravi K., *et al*, 2004; Rajasekaran S., *et*

al, 2005; Chattopadhyay & Bandyopadhyay, 2005). Selanjutnya kelompok normal disebut kelompok kontrol negatif (K1) dan kelompok diabetes dirandomisasi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol positif (K2) dan kelompok perlakuan (K3). K1 dan K2 hanya diberi pelarut ekstrak biji duwet yaitu aqua 2 ml/200 g bb sebagai placebo. K3 merupakan kelompok diabetes yang diberi ekstrak biji duwet, tikus diabetes pada kelompok ini diberi ekstrak biji duwet yang dilarutkan dalam 2 ml aqua/200 g bb dengan dosis 500 mg/kg bb. Pengamatan terhadap K1, K2 dan K3 dilakukan selama 15 hari dimulai pada hari ke enam setelah diinjeksi STZ. Pemberian aqua 2ml/200 g bb pada K1 dan K2 serta pemberian ekstrak biji duwet yang dilarutkan dalam 2 ml aqua/200 g bb dengan dosis 500 mg/kg bb dilaksanakan satu kali sehari pada jam 08.00-09.00 WIB. Pada hari ke 16 tikus pada K1, K2 dan K3 dikorbankan untuk diambil diambil darahnya secara intracardial, sebelumnya tikus dipuasakan selama 8 jam (mulai malam hari). Darah dikumpulkan dari jantung tikus, kemudian dibawa ke Balai Laboratorium Kesehatan Surabaya. Di tempat ini serum darah tikus dipisahkan dengan sentifuse dan diperiksa kadar glukosa serum, LDL dan HDLnya. Rasio LDL/HDL dihitung secara manual dengan cara membagi nilai LDL dan nilai HDL.

3. Penimbangan berat badan

Penimbangan berat badan tikus dilakukan pada pagi hari tanggal 16 Januari 2008 sebelum perlakuan pertama kali untuk penyesuaian dosis STZ. Hari ketiga dan kelima setelah induksi STZ berat badan tikus

ditimbang untuk mengetahui perubahannya. Mulai hari keenam, tanggal 22 Januari 2008 tikus akan ditimbang setiap hari untuk penyesuaian dosis ekstrak biji duwet. Penimbangan berat badan tikus ini dilakukan dengan menggunakan timbangan Torbal (*Torsion Balance*) dalam satuan gram.

4. Pengambilan darah

Darah diambil dari jantung tikus (intrakardial). Sehari sebelum dikorbankan yaitu tanggal 5 Pebruari 2008, tikus dipuaskan selama 8 jam (sejak malam hari) minum tetap diberikan. Pagi hari, tanggal 6 Pebruari 2008 tikus dikorbankan. Pertama dilakukan penimbangan terakhir, selanjutnya dilakukan pembiusan menggunakan ether di dalam toples pembiusan. Tikus dibiarkan sekitar 2 menit, jika mata meredup dan badan tidak bergerak, kulit perut diinsisi dengan pisau bedah, dengan menggunakan instrumen bedah minor diafragma dan sternum tikus dibuka sedemikian rupa sehingga jantungnya terlihat, darah diambil dengan spuit 3 ml sebanyak 3 ml. Setelah darah diambil, tikus dikorbankan dengan pembiusan dalam sampai tikus mati.

4.8 Pengambilan Data

1. Pemeriksaan kadar glukosa darah

Untuk menentukan kadar glukosa darah ditentukan dengan metode enzimatik (GOD-PAP), dengan adanya oksigen atau udara, glukosa dioksidasi oleh enzim glukosa oksidase (GOD) menjadi asam glukonat disertai pembentukan H_2O_2 . Dengan adanya enzim peroksidase (POD), H_2O_2 akan menghasilkan H_2O . Kadar glukosa darah ditentukan

berdasarkan intensitas warna yang terjadi dan diukur dengan fotometer (Tietz N.W., 1995). Pengukuran dilakukan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya (BBLKS).

2. Pemeriksaan kadar kolesterol LDL

Kolesterol LDL diukur dengan metode *Presipitasi polyvinyl sulphate*, dengan prinsip test: LDL diendapkan dengan penambahan *polyvinyl sulphate* pada sampel. Konsentrasi LDL dikalkulasikan dari pengurangan antara kolesterol total dalam serum dengan kolesterol dalam supernatan setelah sentrifugasi (Tietz N.W., 1995). Pengukuran dilakukan di BBLKS.

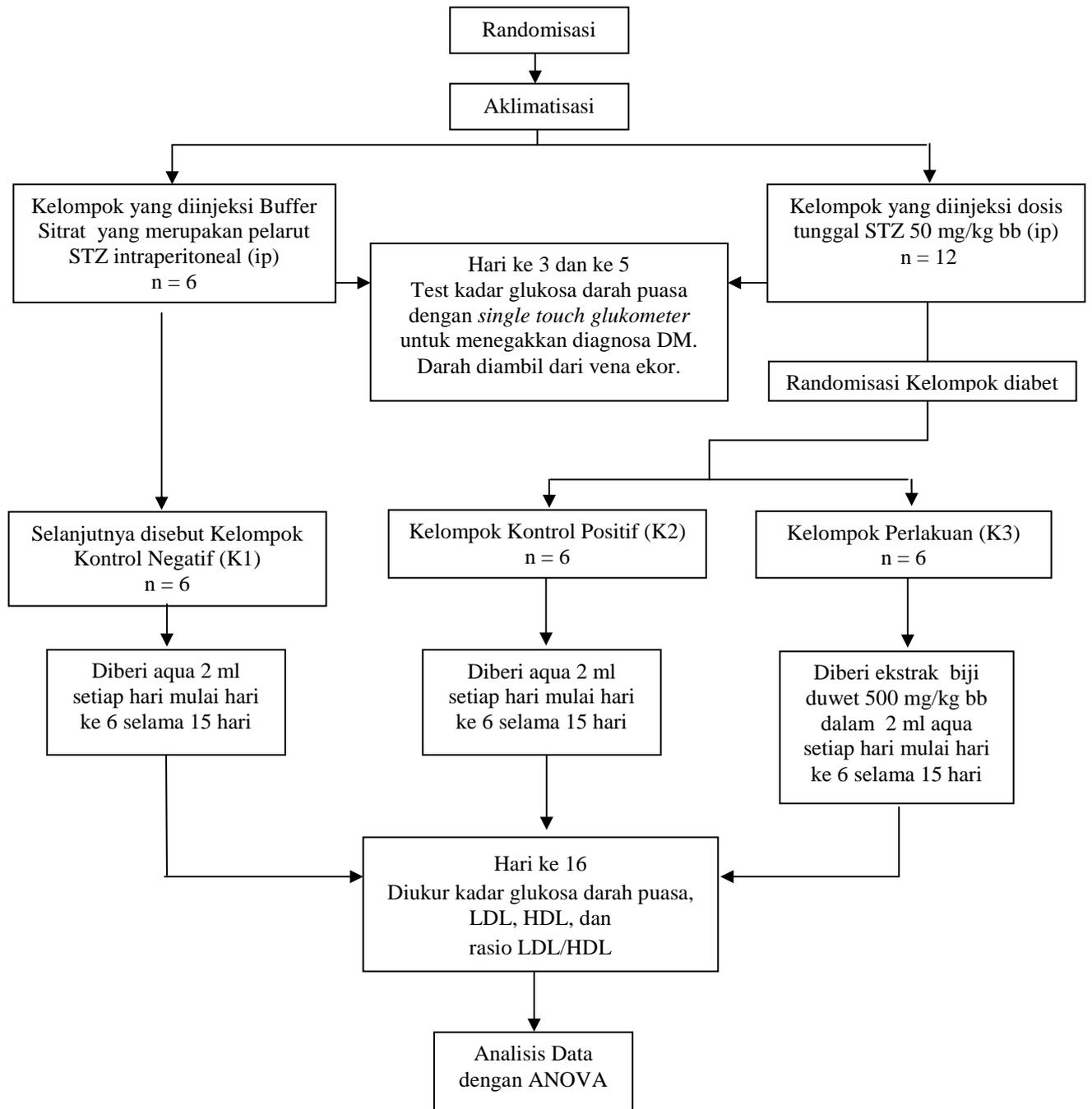
3. Pemeriksaan kadar kolesterol HDL

Kadar kolesterol diukur dengan metode CHOD-PAP (*Cholesterol Oxidase Phenol Aminoantipyrin*), dimana prinsipnya dengan pemberian *phosphotungstic acid* dan ion magnesium ke dalam sampel, maka kilomikron, VLDL dan LDL mengendap (presipitasi). Setelah sentrifugasi dalam supernatan, hanya terdapat HDL, dimana kolesterolnya ditentukan dengan metode enzimatik (Tietz N.W., 1995). Pengukuran dilakukan di BBLKS.

4. Pemeriksaan rasio LDL/HDL

Rasio LDL/HDL dihitung manual dengan cara membagi kadar LDL dan HDL secara langsung (Healthy Heart Guide, 2005; Natural Cholesterol Cures, 2006).

4.9 Kerangka Operasional



Gambar 4.2 Prosedur Kerja Penelitian

4.10 Teknik Analisis Data

Teknik analisis data yang dipakai menggunakan Anova satu arah, karena distribusi normal dengan tingkat kesalahan sebesar 5%. Pada penelitian ini data variabel tergantung tidak homogen dengan $p \leq 0,05$ sedangkan syarat suatu data dikatakan homogen jika $p > 0,05$, maka untuk mengetahui beda antar perlakuan dipergunakan uji Dunnett T3 (Steel dan Tornie, 1991).

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji duwet (*Eugenia jambolana*) terhadap perubahan kadar LDL, HDL serta rasio LDL/HDL pada tikus wistar jantan yang telah mengalami diabetes akibat diinduksi Streptozotosin (STZ). STZ diinjeksikan secara intraperitoneal (ip) dengan dosis tunggal 50 mg/Kg bb. Pemeriksaan untuk mengetahui peningkatan kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke 3 dan ke 5 setelah injeksi STZ. Darah diambil dari vena ekor dan diperiksa menggunakan *single touch glukometer*. Penegakan diagnosa diabetes mellitus dilakukan pada hari ke 5. Tikus dikatakan diabetes jika kadar glukosanya ≥ 250 mg/dl (Ravi K., *et al*, 2004; Rajasekaran S., *et al*, 2005; Chattopadhyay & Bandyopadhyay, 2005). Pengamatan terhadap pengaruh pemberian ekstrak biji duwet terhadap perubahan kadar LDL, HDL serta rasio LDL/HDL pada serum darah tikus dilakukan pada hari ke 16 setelah diagnosa diabetes melitus ditegakkan. Pengamatan untuk variabel dependent tersebut menggunakan darah yang diambil dari intrakardial.

5.1 Data Hasil Penelitian Setelah Diinjeksi STZ

5.1.1 Data Berat Badan dan Kadar Glukosa Darah

Hasil analisis berat badan hari pertama, berat badan hari kelima, perubahan berat badan dan kadar glukosa hari ketiga dan hari kelima pada kelompok normal dan kelompok diabetes dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 5.1 Nilai rerata dan simpangan baku berat badan hari ke 1 dan ke 5, perubahan berat badan dan kadar glukosa darah puasa hari ke 3 dan ke 5 tikus wistar jantan pada kelompok normal dan kelompok yang diinjeksi STZ dengan dosis tunggal 50 mg/Kg bb (ip).

Kelompok		Berat Badan (gram)			Kadar Glukosa Darah (mg/dl)	
		Hari Ke 1	Hari ke 5	Perubahan	Hari ke 3	Hari ke 5
Kelompok Normal n=5	Rerata	151,80	157,80	6,00	110,20	104,40
	Simpangan Baku	10,76	9,98	2,00	3,63	7,13
Kelompok Diabetes n=10	Rerata	153,50	117,10	-36,40	259,40	306,10
	Simpangan baku	14,12	6,65	8,95	14,83	46,95

Tanda (-) artinya penurunan

Glukosa darah puasa tikus pada hari ke 3 dan ke 5 diukur menggunakan *single touch gluikometer*, darah diambil dari vena ekor.

5.1.2 Uji Normalitas Data Kelompok Normal dan Kelompok Diabetes

Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel dilakukan pada perubahan berat badan serta kadar glukosa kelompok normal dan kelompok diabetes yang diukur pada hari kelima. Besar signifikansi (probabilitas = p) hasil uji normalitas perubahan berat badan serta kadar glukosa yang diukur pada hari ke 5 pada kelompok normal dan kelompok diabetes adalah $p > 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa data tersebut berdistribusi normal. Hasil uji normalitas secara lengkap dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5.2 Hasil uji normalitas perubahan berat badan serta kadar glukosa darah puasa tikus wistar jantan yang diperiksa pada hari ke 5 menggunakan darah vena ekor dengan *single touch glukometer* pada kelompok normal dan kelompok diabetes.

Variabel	Sig.
Perubahan berat badan	0,530
Kadar glukosa darah hari ke 5	0,110

5.1.3 Hasil Uji Beda Berat Badan dan Kadar Glukosa Darah pada Kelompok Normal dan Kelompok Diabetes

Untuk mengetahui beda perubahan berat badan hari pertama dan kelima serta kadar glukosa hari ketiga dan kelima dilakukan uji beda antar kelompok

normal dan kelompok diabetes dengan menggunakan *T-test* dua sampel bebas satu ekor, hasil lengkapnya seperti pada tabel dibawah ini:

Tabel 5.3 Hasil uji beda perubahan berat badan serta kadar glukosa darah tikus puasa wistar jantan yang diperiksa pada hari ke 5 pada kelompok normal dan kelompok diabetes.

Variabel	Kelompok		Sig. (p)
	Normal N=5	Diabetes N=10	
Perubahan Berat Badan (Mean \pm SD)	6,00 \pm 2,00	-36,40 \pm 8,96	0,000
Kadar Glukosa Hari ke 5 (Mean \pm SD)	104,40 \pm 7,13	306,10 \pm 46,95	0,000

Tanda (-) artinya penurunan

Berdasarkan data pada tabel 5.3 dapat diketahui bahwa perubahan berat badan dan kadar glukosa darah pada hari kelima antara kelompok normal dan kelompok diabetes mellitus berbeda secara bermakna dengan $p < 0,05$. Hasil uji beda *T-test* dua sampel bebas satu ekor selengkapnya bisa dilihat dilampiran yang tertera pada halaman 96.

5.2 Data Hasil Penelitian Setelah Pemberian Ekstrak Biji Duwet

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak biji duwet terhadap perubahan kadar LDL, HDL serta rasio LDL/HDL pada tikus wistar yang telah mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.

5.2.1 Data Berat Badan, Kadar Glukosa, LDL, HDL dan Rasio LDL/HDL pada Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok Kontrol Positif, dan Kelompok Perlakuan.

Hasil analisis berat badan hari keenam, berat badan hari kedua puluh satu, perubahan berat badan, kadar glukosa, LDL, HDL serta rasio LDL/HDL pada

kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan kelompok perlakuan yang diperiksa pada hari kedua puluh satu tercantum pada tabel berikut:

Tabel 5.4 Nilai rerata dan simpangan baku berat badan hari ke 6, berat badan hari ke 21, perubahan berat badan serta kadar glukosa darah puasa, LDL, HDL dan rasio LDL/HDL serum tikus wistar jantan yang diperiksa pada hari ke 21 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.

Kelompok		Berat Badan (gram)			Kadar Glukosa (mg/dl)	Kadar LDL (mg/dl)	Kadar HDL (mg/dl)	Rasio LDL/HDL
		Hari ke 6	Hari ke 21	Perubahan				
K1 n=5	Rerata	159,20	180,00	20,80	107,42	11,80	48,60	0,24
	Simpangan Baku	9,65	11,18	7,63	7,63	0,84	3,05	0,05
K2 n=5	Rerata	117,20	88,00	-29,20	360,20	13,20	41,80	0,32
	Simpangan Baku	7,88	7,97	9,34	57,27	2,58	0,83	0,08
K3 n=5	Rerata	113,40	109,40	-4,00	118,8	12,60	44,80	0,30
	Simpangan Baku	2,70	1,95	1,41	17,59	1,14	2,28	0,00

Tanda (-) artinya penurunan

K1: Kelompok Kontrol Negatif; K2: Kelompok Kontrol Positif; K3: Kelompok Perlakuan

Kadar glukosa, LDL, dan HDL diperiksa dari serum darah tikus, dilakukan pada hari kedua puluh satu penelitian. Darah diperiksakan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Surabaya. Hasil lengkapnya bias dilihat pada lampiran 1 halaman 85.

5.2.2 Uji Normalitas Data Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok Kontrol Positif, dan Kelopok Perlakuan.

Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel dilakukan pada perubahan berat badan serta variabel tergantung pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji duwet. Hasil uji normalitas pada data dari ketiga kelompok penelitian tersebut adalah $p > 0,05$, sehingga dapat disimpulkan bahwa data berdistribusi normal. Hasil uji normalitas secara lengkap dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 5.5 Hasil uji normalitas perubahan berat badan serta kadar glukosa darah puasa, LDL, HDL dan rasio LDL/HDL serum tikus wistar jantan yang diperiksa pada hari ke 21 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.

Variabel	Sig.
Perubahan Berat Badan	0,884
Kadar Glukosa	0,097
Kadar LDL	0,850
Kadar HDL	0,676
Rasio LDL/HDL	0,100

5.2.3 Uji Homogenitas Data Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok Kontrol Positif, dan Kelopok Perlakuan.

Homogenitas data dapat diketahui dengan melakukan uji *Levene test* pada kadar glukosa dan variabel tergantung kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelopok perlakuan. Signifikansi pada data kadar LDL, HDL rasio LDL/HDL adalah $p \leq 0,05$ maka data tersebut tidak homogen, seperti tercantum pada tabel:

Tabel 5.6 Hasil uji homogenitas data pada kadar glukosa LDL, HDL dan rasio LDL/HDL serum tikus wistar jantan yang diperiksa pada hari ke 21 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.

Variabel	Sig.
Kadar glukosa	0,014
Kadar LDL	0,009
Kadar HDL	0,031
Rasio LDL/HDL	0,005

Data pada penelitian ini berdistribusi normal maka selanjutnya data dapat diolah dengan menggunakan uji Anova. Uji yang digunakan untuk mengetahui antar kelompok mana yang berbeda adalah Dunnett T3, hal ini dikarenakan data pada penelitian ini tidak homogen.

5.2.4 Hasil Analisis Varians

Uji analisis varian (Anova) dilakukan untuk mengetahui kadar glukosa dan variabel tergantung apa saja yang berbeda pada seluruh anggota kelompok, hasilnya dapat dilihat pada tabel di bawah ini:

Tabel 5.7 Hasil Uji Anova pada kadar glukosa, LDL, HDL dan rasio LDL/HDL serum tikus wistar yang diperiksa pada hari ke 21 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.

Variabel Tergantung	F. hitung	Sig.
Kadar glukosa	83,817	0,000 *
LDL	0,851	0,451
HDL	11,461	0,002*
Rasio LDL/HDL	2,600	0,115

Tanda * menunjukkan berbeda bermakna

Dari tabel 5.7 terlihat bahwa kadar glukosa dan HDL berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) antar kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak duwet 500 mg/Kg BB, sedangkan pada data kadar LDL dan rasio LDL/HDL tidak berbeda secara bermakna atau $p > 0,05$. Hasil selengkapnya bisa dilihat dilampiran pada halaman 99.

5.2.5 Hasil Uji Dunnett T3

Berdasarkan uji homogenitas didapatkan bahwa data dalam penelitian ini tidak homogen maka untuk mengetahui antar kelompok mana yang berbeda dilanjutkan dengan Uji Dunnett T3. Pada penelitian ini Uji Dunnett T3 hanya dilakukan pada kadar glukosa dan HDL karena dari uji beda didapatkan hasil perbedan yang bermakna pada kedua variabel tersebut. Kadar LDL dan rasio LDL/HDL tidak dilakukan karena hasil uji bedanya tidak berbeda secara bermakna. Berikut hasil Uji Dunnett T3 pada kadar glukosa dan HDL:

Tabel 5.8 Hasil Dunnett T3 pada kadar glukosa dan HDL serum tikus wistar yang diperiksa pada hari ke 21 pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.

Variabel Tergantung	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Rerata Perbedaan (I-J)	Standart Error	Sig.
Kadar Glukosa	Kontrol Negatif	Kontrol Positif Perlakuan	-252,80* -11,40	25.840 8,579	0,001 0,512
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif Perlakuan	252,80* 241,40*	25.840 26,795	0,001 0,001
	Perlakuan	Kontrol Negatif Kontrol Positif	11,40 -241,40*	8,579 26,795	0,512 0,001
HDL	Kontrol Negatif	Kontrol Positif Perlakuan	6,80* 3,80	1,414 1,703	0,016 0,153
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif Perlakuan	-6,80* -3,00	1,414 1,086	0,016 0,100
	Perlakuan	Kontrol Negatif Kontrol Positif	-3,80 3,00	1,703 1,086	0,153 0,100

Tanda * menunjukkan rerata perbedaan signifikan pada level 0,05

Berdasarkan tabel 5.8 diketahui bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) untuk kadar glukosa antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif ($p = 0,001$). Kadar glukosa darah pada kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan juga berbeda secara bermakna ($p = 0,001$), tetapi tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan ($p = 0,512$). Kadar HDL pada kelompok kontrol negatif berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif ($p = 0,016$). Pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p = 0,153$) begitu pula pada kelompok kontrol positif dengan perlakuan ($p = 0,100$).

Pada tabel dibawah ini dapat dilihat nilai rerata dan perbedaan antar kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.

Tabel 5.9 Nilai rerata dan perbedaan antar kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan.

Kelompok	Glukosa mg/dl	LDL mg/dl	HDL mg/dl	Rasio LDL/HDL
Kontrol Negatif	107,40 a	11,80 a	48,60 a	0,240 a
Kontrol Positif	360,20 b	13,20 a	41,80 b	0,320 a
Perlakuan	118,80 a	12,60 a	44,80 ab	0,300 a

Pada kolom dengan notasi yang sama (a-a) berarti sama atau tidak ada perbedaan dan notasi yang berbeda (a-b) berarti berbeda, sedangkan untuk notasi ab ada perbedaan tetapi tidak bermakna.

Berdasarkan data yang tertera pada tabel 5.9 dapat diketahui bahwa rerata glukosa pada kelompok kontrol negatif berbeda dengan kelompok kontrol positif dan tidak berbeda dengan kelompok perlakuan. Rerata kadar LDL antara kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan tidak berbeda. Pada kadar HDL, rerata antara kelompok kontrol positif berbeda dengan kelompok kontrol negatif, dan berbeda tetapi tidak signifikan dengan kelompok perlakuan. Rerata Rasio LDL/HDL antara kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan juga tidak berbeda

5.3 Pembahasan

5.3.1 Setelah Diinjeksi Streptozotisin

Tikus wistar putih jantan baik pada kelompok normal maupun kelompok yang akan diinjeksi dengan STZ dosis tunggal 50 mg/Kg bb pada hari pertama penelitian ditimbang berat badannya. Penimbangan pada kelompok normal ini bertujuan untuk mengetahui berat badan awal tikus. Pada kelompok yang akan diinduksi STZ selain untuk mengetahui berat badan awal tikus, penimbangan juga bertujuan untuk penyesuaian dosis STZ yang akan diinjeksikan (Ravi, *et al*, 2004; Sridhar, 2005). Dosis STZ untuk tiap tikus pada kelompok ini dapat dilihat dilampiran yang tertera pada

halaman 87. Penimbangan berat badan selanjutnya dilakukan pada hari ke 5 setelah induksi STZ baik pada kelompok normal maupun kelompok yang telah diinduksi STZ. Dilaksanakan pada hari ke 5 karena pada hari tersebut diagnosa diabetes mellitus pada tikus ditegakkan. Rerata perubahan berat badan yang diukur pada hari kelima setelah induksi STZ pada kelompok normal meningkat 6,00 gram sedangkan pada kelompok diabetes menurun 36,40 gram. Pengukuran berat badan bermanfaat untuk mengetahui perkembangan kondisi tikus serta perubahan berat badan. Penurunan berat badan merupakan salah satu manifestasi klinis diabetes mellitus.

Pada penelitian ini pemeriksaan kadar glukosa darah puasa menggunakan *single touch glukometer* pada hari ke 3 dan ke 5, darah diambil dari vena ekor. Penegakan diagnosa diabetes mellitus dilakukan pada hari ke 5. Pemeriksaan kadar glukosa darah puasa dilakukan dua kali untuk memastikan bahwa tikus pasti menderita diabetes mellitus bukan hanya terjadi hiperglikemia sesaat. Hasil analisis menggunakan uji beda *T-test* dua sampel bebas satu ekor didapatkan kadar glukosa darah puasa pada kelompok normal dan diabetes berbeda secara bermakna ($p = 0,000$). Tikus dikatakan diabetes jika kadar glukosa darah puasanya ≥ 250 mg/dl (Ravi K., *et al*, 2004; Rajasekaran S., *et al*, 2005; Chattopadhyay & Bandyopadhyay, 2005). Berdasarkan hal tersebut dapat dipastikan bahwa tikus wistar putih jantan pada penelitian ini telah mengalami diabetes mellitus, dimana rerata kadar glukosa darah puasa 306,10 mg/dl dan reratanya lebih tinggi 201,70 mg/dl dari kelompok normal. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Sridhar (2005) penggunaan STZ dosis tunggal 50 mg/Kg bb yang diinduksikan secara

intraperitoneal kemungkinan menyebabkan terjadinya diabetes mellitus type 2 dan fungsi dari sel beta pankreas masih ada. Pernyataan tersebut didasarkan pada beberapa alasan. Pertama kelompok kontrol diabetes yang tidak diberi pengobatan apapun walaupun mengalami peningkatan kadar glukosa darah puasa tetapi bisa bertahan hidup sampai hari ke 15 penelitian. Kedua, pada kelompok diabetes yang diberi Glibenclamide 5 mg/Kg bb dapat berespon dengan baik terhadap pengobatan tersebut, walaupun tanpa diberikan insulin (Sridhar, 2005). Glibenclamide, dengan nama lain Gliburid merupakan obat antidiabetik golongan Sulfonylurea generasi kedua. Sulfonylurea sering disebut *insulin secretagogus* karena kerjanya merangsang sekresi insulin dari granul sel-sel beta langerhans pankreas (Gunawan, 2007). Jika sel beta pankreas tidak berfungsi maka obat ini tidak berpengaruh (Govani & Hayes, 1992). Pada penelitian ini, tikus wistar putih jantan pada kelompok kontrol negatif sejumlah 5 ekor dapat bertahan hidup sampai melampaui 15 hari penelitian. Diabetes yang dihasilkan pada penelitian ini merupakan diabetes mellitus type 2. Pernyataan ini didasarkan pada alasan bahwa dosis STZ, rute penyuntikan, jenis, umur, berat badan tikus yang digunakan, serta kemampuan atau lama bertahan hidup setelah diinduksi STZ sama dengan percobaan yang dilakukan oleh Sridhar (2005).

Tikus wistar putih jantan yang terdapat pada kelompok diabetes sejumlah 12 ekor, pada hari ke 5 dan ke 6 setelah induksi, masing-masing mati satu ekor. Kematian kedua tikus tersebut disebabkan karena hiperglikemia. Hal ini ditunjang oleh data bahwa ketika dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah puasa pada hari kelima menggunakan *single touch glukometer* pada

kedua tikus tersebut, hasil pembacaan dilayar alat menunjukkan tulisan Hi (*high*) artinya kadar glukosa darah puasa diatas 600 mg/dl (EasyTouch Manual, 2007). Jumlah tikus dalam kelompok diabetes, karena dua anggotanya *drop out* akibat mati sehingga tersisa 10 ekor. Selanjutnya tikus tersebut dibagi dalam dua kelompok yaitu kelompok kontrol positif (K2) dan kelompok perlakuan (K3) dengan jumlah yang sama yaitu 5 ekor. Jumlah ini sesuai dengan perhitungan berdasarkan rumus Lomeshow (1990) yang digunakan oleh peneliti. Tikus wistar putih jantan baik pada kelompok kontrol negatif maupun kelompok perlakuan dapat bertahan hidup sampai hari ke 21 (hari terakhir) penelitian.

Pada hari ke 5 setelah penegakkan diagnosa diabetes mellitus, tikus pada kelompok normal selanjutnya disebut kelompok kontrol negatif (K1) dan kelompok diabetes dirandomisasi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok kontrol positif (K2) dan kelompok perlakuan (K3).

5.3.2 Hasil Penelitian Setelah Diberi Ekstrak Biji Duwet

Berat badan tikus wistar putih jantan baik pada kelompok kontrol negatif (K1), kelompok kontrol positif (K2), dan kelompok perlakuan (K3), sejak hari ke 6 sampai hari ke 21 ditimbang setiap hari. Hari ke 6 setelah induksi merupakan hari pertama pengamatan sedangkan hari ke 21 merupakan hari terakhir pengamatan pengaruh ekstrak biji duwet terhadap berat badan, kadar glukosa, kadar LDL, kadar HDL dan rasio LDL/HDL pada penelitian ini. Penimbangan bertujuan untuk mengetahui berat badan awal tikus, mengetahui perkembangan kondisi tikus serta perubahan berat badan. Perubahan berat badan yang tidak seragam pada tikus kemungkinan akibat

ketidakteraturan dalam mengkonsumsi jumlah makanan yang telah disediakan perharinya. Tikus sejumlah 5 ekor pada tiap kelompok dijadikan satu tempat sehingga jumlah makanan yang dikonsumsi oleh masing-masing tikus tidak dapat dikontrol dengan tepat. Penimbangan berat badan tiap hari pada K3 digunakan untuk menentukan dosis biji duwet yang dibutuhkan tikus. Dosis ekstrak biji duwet yang digunakan dalam penelitian ini adalah 500 mg/Kg bb. Jumlah dosis ekstrak biji duwet yang diberikan pada tiap tikus K3 perhari dapat dilihat pada lampiran yang tertera dihalaman 92.

Berdasarkan data rerata perubahan berat badan hari ke 5 dapat diketahui bahwa rerata berat badan pada K1 dibandingkan dengan K2 dan K3 berbeda jauh, hal ini dikarenakan tikus pada K2 dan K3 mengalami diabetes, dimana salah satu manifestasi klinisnya adalah penurunan berat badan. Penurunan berat badan pada diabetes mellitus disebabkan karena peningkatan lipolisis dan gangguan pada kerja insulin, sehingga glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel (Black & Hawks, 2005). Berdasarkan data rerata berat badan tikus hari ke 21 dapat didapatkan informasi bahwa rerata berat badan pada K2 lebih rendah dari pada K1 dan K3. Rerata berat badan pada K1 tetap lebih tinggi dari pada K3. Rerata berat badan pada K3 lebih tinggi dari pada K1 karena tikus pada K3 mendapatkan ekstrak biji duwet 500 mg/Kg bb yang dilarutkan dalam aqua 2ml/200 g bb. Kenaikan berat badan dapat mengindikasikan perbaikan kondisi tikus. Perbaikan kondisi ini didukung oleh data adanya rerata glukosa darah pada K3 (118,80 mg/dl) mendekati angka glukosa darah pada tikus normal. Penurunan berat badan terutama pada kelompok kontrol positif merupakan manifestasi klinis diabetes mellitus.

Berdasarkan uji Anova dapat diketahui bahwa kadar glukosa dan HDL berbeda secara bermakna ($p < 0,05$) antar K1, K2 dan K3, sedangkan kadar LDL dan rasio LDL/HDL tidak berbeda secara bermakna atau $p > 0,05$.

Ekstrak biji duwet 500 mg/Kg bb efektif untuk menurunkan kadar glukosa darah puasa pada tikus wistar yang diabetes akibat diinjeksi STZ (Sridhar, 2005). Hasil yang sama ditunjukkan oleh penelitian ini, kadar glukosa darah puasa tikus pada K3 yang diberi ekstrak biji duwet 500 mg/Kg bb setelah diperiksa pada hari ke 21 mempunyai rerata 118,80 mg/dl. Angka tersebut berada pada kisaran angka glukosa darah normal pada tikus yaitu 50–135 mg/dl (Kusumawati, 2004). Selain itu rerata tersebut tidak berbeda jauh dengan kadar glukosa pada K1 yaitu 107,42. Hasil Uji Dunnet T3 diketahui bahwa kadar glukosa pada K1 dan K3 tidak berbeda secara bermakna ($p > 0,05$). Hal ini dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak biji duwet 500 mg/Kg bb dapat menurunkan kadar glukosa serum hingga mendekati normal. Kemampuan ekstrak biji duwet dalam menurunkan kadar glukosa diduga karena kandungan kromium dan taninnya. Kromium dan tanin bekerja dengan meningkatkan kepekaan reseptor insulin, sehingga insulin yang beredar dalam sirkulasi dapat dengan mudah berikatan dengan reseptor insulin. Selanjutnya akan terjadi mobilisasi glukosa transporter ke permukaan membran sel untuk mengangkut glukosa masuk kedalam sel terutama sel adiposa, sehingga glukosa dalam darah akan berkurang (Linder *et al*, 1992; Dey *et al*, 2002; Liu X. *et al*, 2004; Gomes *et al*, 2005). Trasporter glukosa yang mengangkut glukosa ke dalam sel adiposa adalah GLUT 4 (Murray *et al*, 2003). Menurut DRI (*Dietary Reference Ingestin*) kadar kromium untuk

manusia dewasa perhari 25-35 mcg (Gomes *et al*, 2005). Diabetisi membutuhkan tambahan suplemen kromium antara 125-200 mcg (Gomes *et al*, 2005). 1 gram biji duwet mengandung 0,003% kromium yang setara dengan 30 mcg kromium (Indrayan *et al*, 2005). Ekstrak biji duwet 500 mg mengandung kromium 15 mcg. Pada dosis ini kromodulin sudah mampu terikat pada *active side* reseptor insulin menyebabkan teraktivasi dan mengamplifikasi sinyal (Vincent, 2000; Cefalu & Hu, 2004; Gomes *et al*, 2005). Kadar glukosa serum pada K1 dan K3 berbeda signifikan dengan K2, karena tikus pada K2 mengalami diabetes dan tidak mendapatkan pengobatan apapun, sehingga kadar glukosa serumnya tetap tinggi diatas 250 mg/dl. Jadi bisa disimpulkan bahwa ekstrak biji duwet 500 mg/Kg bb dapat digunakan sebagai antidiabetik.

Uji Dunnet T3 pada HDL didapatkan data kadar HDL pada K1 berbeda secara bermakna dengan K2. Pada diabetisi dengan diabetes mellitus tipe 2, walupun sintesis HDL meningkat, akan tetapi degenerasinya juga mengalami peningkatan, sehingga hasil akhirnya adalah kadar HDL yang rendah (Suparman,2003). Pada keadaan diabetes mellitus, kadar VLDL meningkat dalam darah, dengan adanya aktifitas normal dari *Cholesterol Ester Transfer Protein* (CETP) menyebabkan terjadinya pertukaran trigliserida dari VLDL ke HDL dan kolesterol ester dari HDL ke VLDL. Oleh hepatic lipase HDL yang kaya akan TG ini akan segera dibersihkan (Ginsberg 2000; Golberg, 2001). Kadar HDL pada K2 tidak berbeda secara bermakna dengan K3. Rerata kadar HDL pada K3 mengalami kenaikan jika dibandingkan dengan K3, akan tetapi kenaikan tersebut tidak signifikan. Wang *et al*, (2005)

mengadakan penelitian menggunakan tikus yang dibuat obesitas dan diberikan kromium 89 mcg/Kg bb/hari selama tiga bulan, menunjukkan hasil penurunan secara bermakna pada rasio kolesterol total/HDL. Penurunan ini menunjukkan adanya penurunan kadar kolesterol total dan peningkatan kadar HDL. Mekanisme peningkatan HDL oleh kromium secara langsung adalah melalui mekanisme peningkatan aktifitas enzim lipoprotein lipase (Gomes *et al*, 2005). Selain itu kromium juga meningkatkan aktifitas insulin, dimana peningkatan ini juga akan meningkatkan aktifitas lipoprotein lipase. Aktifitas lipoprotein lipase akan mengakibatkan peningkatan hidrolisis TG pada VLDL, sehingga pertukaran TG VLDL ke HDL oleh CETP menurun. Dengan demikian pembentukan hidrolisis HDL menurun yang berpengaruh pada peningkatan kadar HDL (Ginsberg 2000; Golberg, 2001, Wang *et al*, 2005). Hasil kenaikan kadar HDL pada penelitian ini belum signifikan, kemungkinan disebabkan karena waktu penelitian yang kurang lama dan dosis yang kurang, sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan. Peningkatan kadar HDL dapat menghambat atherogenesis secara langsung (Rader, 2006). Peningkatan kadar HDL penting karena mencerminkan efektifitas pembersihan kolesterol dalam pembuluh darah.

LDL adalah lipoprotein yang mengangkut kolesterol yang terdapat dalam sirkulasi ke jaringan seluruh tubuh termasuk pembuluh darah. Kadar LDL yang tinggi merupakan faktor risiko timbulnya aterosklerosis pada diabetisi. Kadar glukosa serum pada K1 dan K2 telah menunjukkan perbedaan yang signifikan, akan tetapi tidak diikuti oleh peningkatan kadar LDL. Kadar LDL K1 dan K2, tidak berbeda secara bermakna. Dislipidemia muncul pada

diabetisi kronis yang kadar glukosanya tidak terkontrol dengan baik dan merupakan komplikasi yang bisa terjadi pada diabetes mellitus tipe 1 maupun tipe 2 (Balasubramanyam, 2001). Hiperglikemia yang terjadi pada tikus dalam penelitian bersifat akut, sehingga dislipidemia belum terjadi. Perspektif baru yang diulas oleh Ira G. Golberg (2001) menyebutkan bahwa kadar LDL pada diabetisi tidak selalu meningkat, hanya mengalami perubahan bentuk menjadi *small dense* LDL. Jadi yang meningkat adalah kadar *small dense* LDL. *small dense* LDL ini memiliki sifat yang lebih aterogenik karena lebih mudah dioksidasi (Golberg, 2001).

Pada penelitian terdahulu oleh Chattopadhyay & Bandyopadhyay (2005) dengan menggunakan tikus putih jantan yang diinsuksi STZ dosis tunggal 50 mg/Kg bb menunjukkan perbedaan yang signifikan pada profil lemak termasuk didalamnya LDL dan HDL antara kelompok diabetes dengan kelompok normal pada hari ke tujuh setelah induksi STZ. Sedangkan pada penelitian ini, hal tersebut tidak terjadi. Kemungkinan penyebabnya karena waktu pembuatan diabetes yang kurang lama, makanan pada masing-masing tikus yang kurang terkontrol dengan baik. Untuk memudahkan kontrol pada makanan, sebaiknya tikus yang dibuat diabetes, masing-masing diletakkan pada kandang terpisah. Kadar LDL pada K3 dan K2 juga tidak ada perbedaan yang bermakna. Menurut *Office of Dietary Supplement*, dosis kromium yang dibutuhkan untuk menurunkan kadar LDL adalah 125 mcg/hari (Gomes, *et al*, 2005). Ekstrak biji duwet 500 mg mengandung kromium 15 mcg. Kemungkinan penyebab kadar LDL yang tidak berbeda secara bermakna adalah waktu perlakuan yang kurang lama dan dosis duwet yang kurang,

sehingga perlu dilakukan penelitian lanjutan. Pada penelitian ini tikus tidak diberi makanan tinggi lemak sehingga kadar beta sitosterol dalam ekstrak biji duwet kurang berpengaruh.

Oleh karena kadar LDL dan kadar LDL tidak mengalami perubahan yang signifikan, maka penurunan rasio LDL/HDL pun tidak signifikan.

Analisis di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak biji duwet menurunkan kadar glukosa puasa pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ. Ekstrak biji duwet tidak menurunkan kadar LDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ. Ekstrak biji duwet tidak meningkatkan kadar HDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ. Ekstrak biji duwet tidak menurunkan rasio LDL/HDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.

5.3.3 Keterbatasan Penelitian

Pada pelaksanaan penelitian ini didapatkan beberapa keterbatasan:

1. Kandungan kromium pada ekstrak biji duwet yang digunakan dalam penelitian ini belum ditentukan dengan pasti karena kesulitan dalam mencari tablet kromium untuk pembandingan.
2. Diabetes mellitus yang terjadi pada penelitian ini adalah akut, sehingga perubahan pada kadar LDL, HDL serta rasio LDL dan HDL belum terlihat dengan jelas.
3. Pelaksanaan pengamatan pengaruh ekstrak biji duwet hanya 15 hari, beberapa penelitian yang menggunakan buah-buahan diperlukan waktu yang lebih lama.

4. Dosis ekstrak biji duwet yang digunakan hanya satu yaitu 500 mg/Kg bb, sehingga tidak ada pembandingan.
5. Dalam penelitian ini tidak dilakukan pemberian ekstrak biji duwet terhadap tikus normal sehingga efek hipoglikemi pada kelompok normal tidak diketahui.
6. Penelitian ini menggunakan model tikus wistar putih jantan sehingga efek pemberian ekstrak biji duwet terhadap kadar glukosa, LDL, HDL dan Rasio LDL/HDL terhadap model tikus wistar putih betina belum diketahui.

BAB 6

SIMPULAN DAN SARAN

6.1 Simpulan

- 6.1.1 Ekstrak biji duwet dapat menurunkan kadar LDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.
- 6.1.2 Ekstrak biji duwet tidak menurunkan kadar LDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.
- 6.1.3 Ekstrak biji duwet tidak meningkatkan kadar HDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.
- 6.1.4 Ekstrak biji duwet tidak menurunkan rasio LDL/HDL pada tikus wistar yang mengalami diabetes akibat diinduksi STZ.

6.2 Saran

- 6.2.1 Kandungan kromium pada ekstrak biji duwet yang akan digunakan dalam penelitian selanjutnya, sebaiknya diketahui terlebih dulu.
- 6.2.2 Model Diabetes Mellitus yang digunakan dalam penelitian selanjutnya sebaiknya menggunakan model Diabetes Mellitus kronis.
- 6.2.3 Waktu pemberian dan pengamatan untuk penelitian selanjutnya bisa ditambah menjadi 20-30 hari.
- 6.2.4 Penelitian selanjutnya hendaknya menggunakan beberapa dosis ekstrak biji duwet sehingga hasilnya bisa dibandingkan.

- 6.2.5 Dalam penelitian selanjutnya hendaknya dilakukan pemberian ekstrak biji duwet terhadap tikus normal sehingga efek hipoglikemi glukosa normal bisa diketahui.
- 6.2.6 Dalam penelitian selanjutnya hendaknya menggunakan model tikus wistar betina sehingga efek pemberian ekstrak biji duwet terhadap kadar glukosa, HDL, LDL serta rasio LDL/HDL dapat diketahui.

DAFTAR PUSTAKA

- Balai POM, 2005. Mengenal Beberapa Tanaman yang Digunakan sebagai Antidiabetika. *www.javascript.co.id*. Tanggal 12 Nopember 2007. Pukul 09.00 WIB.
- Balasubramanyam, A., 2001. Diabetic Dyslipidemia. *www.medscape.com*. Tanggal 30 Npember 2007. Pukul 09.00 WIB.
- Binggeli, P., 2006. Syzygium Cumini (tree). *www.issg.com*. Tanggal 30 Nopember 2007. Pukul 09.30 WIB
- Black & Hawks, 2005. *Medical – Surgical Nursing: Clinical Management for Positive Outcomes*. 7 th edition. Missouri: Elsevier Saunders. P: 1243-1288.
- Bowen R., 2004. Insulin Synthesis and Secretion. *www.vivo.colostate.edu*. Tanggal 3 Januari 2008. Pukul 09.45 WIB.
- Budiarto Eko, 2002. Biostatistika untuk Kedokteran dan Kesehatan Masyarakat. Jakarta: EGC. Hal: 131-132.
- Canadian Diabetes Association (CDA), 2006. Dyslipidemia in Adult With Diabetes. *Canadian Journal of Diabetes*. Volume: 30. Number: 3. P:230-240.
- Cartailler, J.P., 2004. Insulin: From Secretion to Action. Beta Cell Biology Consortium. *www.bio.show.phb*. Tanggal 3 Januari 2008. Pukul 10.30 WIB.
- Cefalu & Hu, 2004. Role of Chromium in Human Health and in Diabetes. *Diabetes Care*. Volume 27. Number 11. P: 2741-2751.
- Chattopadhyay, R.R. & Badyoradhyay, M., 2005. Effect of Azadirochta Indica Leaf on Serum Lipid Profile Changes in Normal and Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *African Journal of Biomedical Research*. Volume: 8. Number: 2. P:101–104.
- Copstead & Banasik, 2005. *Pathophysiology*. Missouri: Elsevier Saunders. P: 398–402; 465–471; 1000–1025.
- Creager, M.A., Lüscher, T.F., Cosentino, F., & Beckman, J.A., 2003. Diabetes and Vascular Disease: Pathophysiology, Clinical Consequences, and Medical Therapy: Part I. *Journal of The American Heart Association: 108*. P: 1527-1532.

- Dalimartha, S., 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 3. Jakarta: Puspa Sehat. Hal: 19-23
- Depkes RI, 2005. Diabetes Mellitus Masalah Kesehatan Masyarakat yang Serius. *www.depkes.go.id*. Tanggal 12 Nopember 2007. Pukul 09.20 WIB.
- Dey, L., Anoja, S., Attele, & Yuan, C.S., 2002. Alternative Therapies for type 2 diabetes. *Alternative Medicine Review*. Volume 7. Number 1. P: 45-58.
- Lilly E., 1996. Insulin Biosynthesis and Its Hormon Functions. *www.biotech.chem.indiana.edu*. 3 Januari 2008. Pukul 09.30 WIB.
- Gunawan, S.G. (Eds), 2007. *Departemen Farmakologi dan Terapeutik FK UI: Farmakologi dan Terapi*, Edisi 5. Jakarta: Gaya Baru. Hal: 490-491.
- Gardner, D., 2007. Herbal Product Improve Cholesterol. *www.eSuplementPlus.com*. Tanggal 15 Nopember 2007. Pukul: 09.00 WIB.
- Gayton & Hall, 1996. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal: 1221–1231.
- Ginsberg, H., 2000. Diabetic Dyslipidemia and Atherosclerosis. *www.LipidsOnline.com*. Tanggal 17 Nopember 2007. Pukul 09.15 WIB.
- Goldberg, I.J., 2001. Diabetic Dyslipidemia: Causes and Consequences. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. Volume: 86. Number: 3. P: 965–971.
- Gomes, M.R., Rogero, M.M., & Tirapegui, J., 2005. Consideration about Chromium, Insulin and Physical Exercise. *Rev Bras Med Esporte*. Volume: 11. Number: 5. P: 246e–250e.
- Govani & Hayes, 1992. *Drugs and Nursing Implications*. 7th edition. USA: Prentice Hall International Inc. P: 234-236.
- Grundy, S.M., Becker, D., and Cooper, R.S., 2002. *National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation and treatment of High Blood Cholesterol in Adult (Adult Treatment Panel III)*. USA: NIH Publication.
- Hagerman, A.E, 2002. *Tannin chemistry*. Departement of Chemistry and Biochemistry, USA: Miami University. P: 10-15.
- Hanafiah, K.A., 2003. *Rancangan Percobaan, Teori & Aplikasi*. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Palembang. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.

- Hasmono, D., Ariyanto, A.N, & Khotib, J., 2005. *Peran Tirosin Fosfatase pada Penurunan Glukosa Darah Mencit (Mus musculus) yang menderita Diabetes Mellitus Tipe 2*. Majalah Farmasi Airlangga. Volume: 5. Number: 2. P: 35-38.
- Healthy Heart Guide, 2005. Cholesterol Ratio. *www.healthy-heart-guide*. Tanggal 13 Nopember 2007. Pukul 09.00 WIB.
- Indrayan, A.K., Sharma, S., Durgapal, D., Kumar, N., & Kumar M., 2005. Detremination of Nutritive Value and Analysis of Mineral Elements for Some Medicinally Valued Plants from Uttarancal. *Current Science*. Volume: 84. Number: 7. P: 1252–1255.
- IPTEKnet, 2005. Jamblang. *www.iptek.net.id*. Tanggal: 12 Nopember 2007. Pukul: 09.10 WIB.
- Liu, J., Sun, H., Wang, X., Mu, D., Liao, H., & Zhang, L., 2007. Effect of Oleanolic Acid and Maslinic Acid on Hyperlipidemia. *Drug Dev Res*. Voleme: 68. P: 261–266.
- Liu, X., Kim, J., Li, Y., Li, J., Liu, F., & Chen, X., 2004. Tannic Acid Stimulates Glucose Transport and Inhibit Adipocyte Differentiation in 3T4–L1 Cells. *American Society for Nutritional Science*. P: 165–171.
- LoBiondo-Wood & Haber, 2002. *Nursing Research: Methods, Critical Appraisal, and Utilization*. 5th edition. USA: Mosby, Inc. P: 204–210.
- Kusumawati, D., 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hal: 8–10; 64– 68; 82–91.
- Lemeshow S., D. W. Jr. Hosmer, J. Klar, & S. K. Lwanga, 1990 *Besar Sampel dalam Penelitian Kesehatan*. Terjemaham oleh Dibyo Pramono & Hari Kusnanto. (1997). Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Hal:47–48.
- Lipoprotein Researce, 2007. Lipoprotein Function snd Lipoprotein Transport. *www.sigmaaddich.com*. Tanggal 15 Nopember 2007. Pukul 10.00 WIB.
- Linder, M. C., 1985 *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme: Dengan Pemakaian Secara Klinis*. Terjemahan oleh Aminudin Parakkasi. 1992. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Hal: 315; 587-622.
- Morton, J., (1987). *Fruit of Warm Climate: Jambolan*. Miami: FL. P: 375–378
- Mallick, C., Maiti, R., Ghosh, D., 2005. Comparative Study on Antihyperglycemic and Antihyperlipidemic Effect of Sparate and Composite Exstract of Seed of Eugenia Jambolana and Root of Musa paradisiaca in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Albino. *Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics*. Volume: 5. Number: 1. P: 27-33.

- Natural Cholesterol Cures, 2006. Lower Cholesterol Guide. www.NaturalCholesterolCures.com. Tanggal 13 Nopember 2007. Pukul 09.20 WIB.
- Noomrio, M. H. & Dahot, M. U., 1996. Nutritive Value of Eugenia Jambosa Fruit. *Journal of Islamic Academia of Science*. Volume: 9. Number: 1. P: 9–12.
- Notkins, A.L., 2002. Immunologic and Genetic Factors in Type 1 Diabetes. *The Journal of Biological Chemistry*. Vol 277, NO. 46, Issue of November 15, P: 43545-43548.
- O'Brien, T., Nguyen, T.T, & Zimmerman, B.R., 1998. Hyperlipidemia and Diabetes Mellitus. *Journal of Mayo Clinic Rochester*: 73 (10: 969-976).
- Pepato, M.T., Folgado, V.B., Kettelhut, I.C., & Brunetti, 2001. Lack of Antidiabetic Effect of Eugenia Jambolana Leaf Decoction on Rat Streptozotocin Diabetes. *Journal of Medical and Biological Research*. Vol. 34. P: 389-395.
- Pittas, A.G. & Greenberg, A.S., 2003. *Contemporary Diagnosis and Management of Diabetes*. Newton PA: Handbooks in Health Care Co.
- Rader, D.J., 2006. Molecular Regulation of HDL Metabolism and Function: Implication for Novel Therapies. *The Journal of Clinical Investigation*. Volume 116. Number 12.
- Rajasekaran, S., Sivagnanam, K., Subramanian, S., 2005. Antioxidant Effect of Aloe Vera Gel Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. *Pharmacological Reports*. Number: 57. P: 90–96.
- Ravi, K, Ramachandran, B., & Subramanian, S., 2004. Protective Effect of Eugenia Jambolana Seed Kernel on Tissue Antioxidant in Streptozotocin-Induce Diabetic Rats. *Biol. Pharm. Bull*. Volume 27. Number 8. P: 1212–1217.
- Republika, 2004. Atasi Mencret dan Diabetes dengan Jamblang. www.republika.co.id. Tanggal 12 Nopember 2007. Pukul 09.20 WIB.
- Safdar, M., Khan, A., & Habibullah, 2006. Effect of Jaman Fruit Extract on Serum Glucose and Lipid Profile in Type 2 Diabetic Individuals. *Pakistan Journal of Nutrition*. Volume: 5. Number: 6. P: 573–576.
- Sagrawat, H., Mann, A.S., & Kharya, M.D., 2006. PHCOG MAG: Review Article Pharmacological Potential of Eugenia Jambolana. *A Review Pharmacological Magazine*. Vol. 2. Issue 6, April - June 2006.P: 96-105.

- Sargowo, D., 2002. Peranan Kadar Triglisierida dan Lipoprotein Sebagai Faktor Risiko Penyakit Jantung Koroner: Studi Pendahuluan. *www.tempo.co.id*. Tanggal 12 Nopember 2007. Pukul 09.18 WIB.
- Sastroasmoro, S. & Ismael S., 2002. Dasar – dasar Metodologi Penelitian Klinis. Edisi Ke 2. Jakarta: C.V Sagung Seto.
- Siswono, 2006. Diabetisi Tetap Bisa Menikmati Hidup. *www.gizi.net.id*. Tanggal 12 Nopember 2007. Pukul 09.15 WIB.
- Sridhar, S.B., Sheetal, U. D., Pai, M.R.S.M. & Shastri, M.S., 2005. Preclinical Evaluation of The Antidiabetic Effect of Eugenia Jambolana Seed Powder in Streptozotocin-Diabetic Rats. *Brazillian Journal of Medical and Biological Research*. Volume 38. Number 3. P: 463–468.
- Steel, R.G.D. & Torrie, J.H., 1991. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. 2 th Edition. Singapore: Mc Grow Hill Book Company.
- Suryohudoyo, P., 2000. Kapita Selektta Ilmu Kedokteran Molekuler. Jakarta: Sagung Seto. Hal: 58–64.
- Szkudelski, T, 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cell of the rat pancreas. *Minireview, Physiological Research*. Vol: 50. P: 536-546.
- Tietz, N.W., 1995. *Clinical Guide to Laboratory Tests*. 3 th edition. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 12 Nopember 2007. Pukul 10.15 WIB.
- United State Department of Agriculture (USDA), 2007. Plants Profile: Syzygium Cumini (L.) Skeels.*www.palnts.usda.gov*.
- Vincent, J., B., 1999. Mechanism of Chromium Action: Low-Molecular-Weight Chromium-Binding Substance. *Journal of American College of Nutrition*. Vol: 18. No: 1. P: 6-12.
- , 2000. The Biochemistry of Chromium. *The Journal of Nutrition*. American Society for Nutritional Science. 0022-3166/00. P: 715-718.
- Wang Zhong Q, Zhang, X.H., Russel, J.C., Hulver, M., Cefalu, W.T., 2005. Chromium Picolinate Enhances Skeletal Muscle Cellular Insulin Signaling In Vivo in Obese, Insulin Resistance JCR:LA-cp rats. *The journal of Nutrition*. P: 415-420.
- White, L. & Duncan, G., 2002. *Medical – Surgical Nursing: An Integrated Approach*. 2 nd edition. New York : Delmar. P: 696–710.

- World Health Organization (WHO), 2006. *Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyprglycemia*, Report of a WHO/IDF Consultation.
- Yeh, G.Y., Eisenberg, D.M., Kaptchuk, T. J, Phillips, R.S., 2003. Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes Care*, Volume 26. P: 1277-1277.
- Yupiter, S., 2006. *Diabetes Tumbang Berkat Jamblang*. Intisari No. 520 Th. XLIII. Nopember 2006.
- Zainudin M., 1998. *Metodologi Penelitian*. Surabaya: Universitas Airlangga Surabaya. Hal: 56-80.

Lampiran 3**DOSIS STREPTOZOTOSIN (STZ)**

Uraian	No.	Berat Badan Tikus (gram)	Dosis Streptozotosin (STZ) 50 mg/Kg BB
Kelompok Induksi STZ	1.	137	6,85
	2.	165	8,25
	3.	138	6,9
	4.	173	8,65
	5.	156	7,8
	6.	158	7,9
	7.	167	8,35
	8.	134	6,7
	9.	163	8,15
	10.	144	7,2
	11.	142	7,1
	12.	137	6,85
Total STZ			90,7 mg

Catatan:

- a. Tikus diinduksi pada tanggal 16 Januari 2008 Pukul 08.00 WIB
- b. Tikus No. 11 mati pada hari ke 5 setelah diinduksi STZ karena hiperglikemia
- c. Tikus No. 12 mati pada hari ke 6 setelah diinduksi STZ karena hiperglikemia

Lampiran 4**HASIL PENGAMATAN SETELAH INDUKSI STZ DOSIS TUNGGAL 50 mg/Kg bb**

KELOMPOK		Berat Badan (gram)			Kadar Glukosa (mg/dl)	
		Hari ke 1	Hari ke 5	Perubahan	Hari Ke 3	Hari Ke 5
Kelompok Normal	1.	145	152	7	113	112
	2.	170	175	5	110	106
	3.	152	155	3	104	110
	4.	143	150	7	112	98
	5.	149	157	8	112	96
Kelompok Diabetes	1.	137	110	-27	245	253
	2.	165	122	-43	261	312
	3.	138	110	-28	253	298
	4.	173	131	-42	237	251
	5.	156	116	-40	273	309
	6.	158	118	-40	256	356
	7.	167	116	-51	289	403
	8.	134	112	-22	264	316
	9.	163	123	-40	250	263
	10.	144	113	-31	266	300

Catatan:

- a. Penimbangan Berat Badan Hari ke 1 dilakukan sebelum induksi STZ
- b. Hari ke 5 merupakan hari penegakan diagnosa diabetes mellitus

Lampiran 5**HASIL PENELITIAN SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK BIJI DUWET 500 MG/Kg bb**

KELOMPOK		Berat Badan (gram)			Kadar Glukosa	Kadar LDL (mg/dl)	Kadar HDL (mg/dl)	Rasio LDL/HDL
		Hari ke 6	Hari ke 21	Perubahan				
Kelompok Kontrol Negatif	1.	152	180	28	115	11	50	0,2
	2.	176	195	19	112	12	44	0,3
	3.	156	165	9	95	11	51	0,2
	4.	154	175	21	108	13	47	0,3
	5.	158	185	27	107	12	51	0,2
Kelompok Kontrol Positif	1.	110	95	-15	337	16	43	0,4
	2.	121	80	-41	422	10	42	0,2
	3.	111	83	-28	374	15	41	0,4
	4.	129	98	-31	274	11	41	0,3
	5.	115	84	-31	394	14	42	0,3
Kelompok Perlakuan	1.	115	110	-5	113	13	47	0,3
	2.	113	110	-3	147	11	43	0,3
	3.	110	108	-2	106	14	42	0,3
	4.	117	112	-5	104	12	45	0,3
	5.	112	107	-5	124	13	47	0,3

Catatan:

- a. Hari ke 6 merupakan hari pertama pengamatan pada pengaruh ekstrak biji duwet terhadap Variabel tergantung
- b. Hari ke 21 merupakan hari terakhir pengamatan pada pengaruh ekstrak biji duwet terhadap Variabel tergantung

Lampiran 6

Berat Badan Hari Pertama, Ketiga dan Kelima

Kelompok	No.	Berat Badan Tikus (gram) / Hari Ke		
		1	3	5
Kelompok Normal	1.	145	147	152
	2.	170	172	175
	3.	152	153	155
	4.	143	146	150
	5.	149	154	157
Kelompok Diabetes	1.	137	129	110
	2.	165	158	122
	3.	138	131	110
	4.	173	153	131
	5.	156	151	116
	6.	158	143	118
	7.	167	135	116
	8.	134	127	112
	9.	163	153	123
	10.	144	138	113

Lampiran 7

Berat Badan Hari Keenam sampai Hari Keduapuluh satu

Kelompok	No.	Berat Badan (gram)/Hari Ke															
		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Kelompok Kontrol Negatif	1.	152	157	159	160	162	164	165	165	167	168	170	173	175	177	178	180
	2.	176	178	180	180	183	184	185	187	187	189	190	192	193	194	195	195
	3.	156	156	156	157	157	158	158	159	160	160	161	162	162	164	164	165
	4.	154	157	159	160	161	162	164	164	165	165	166	166	168	172	174	175
	5.	158	158	164	166	169	168	170	175	176	178	179	179	182	183	184	185
Kelompok Kontrol Positif	1.	110	109	108	107	106	105	105	104	101	100	99	98	96	97	95	95
	2.	121	120	117	113	110	108	108	107	105	103	101	97	93	86	83	80
	3.	111	108	106	104	105	103	102	100	97	96	88	87	85	84	83	83
	4.	129	128	125	124	122	121	119	119	107	105	102	101	100	100	99	98
	5.	115	113	110	105	100	98	97	96	95	95	94	93	90	88	87	84
Kelompok Perlakuan	1.	115	110	113	108	106	104	100	101	103	103	105	106	108	109	110	110
	2.	113	109	106	106	105	106	101	102	103	103	104	106	108	109	109	110
	3.	110	108	107	104	103	100	99	99	100	102	102	104	105	106	107	108
	4.	117	115	113	100	103	104	104	105	105	106	107	107	108	109	110	112
	5.	112	109	104	101	101	100	100	101	102	103	104	105	106	106	107	107

Lampiran 8

Dosis Ekstrak Biji Duwet Hari Pertama sampai Hari Keenambelas

Kelompok	No.	Berat Badan (gram)/Hari Ke/Dosis Duwet 500 mg/Kg bb																														
		1	D	2	D	3	D	4	D	5	D	6	D	7	D	8	D	9	D	10	D	11	D	12	D	13	D	14	D	15	D	16
Kelompok Perlakuan	1.	115	58	110	55	113	57	108	54	106	53	104	52	100	50	101	51	103	51,5	103	52	105	52,5	106	53	108	54	109	55	110	55	110
	2.	113	57	109	55	106	53	106	53	105	52,5	106	53	101	50,5	102	51	103	51,5	103	52	104	52	106	53	108	54	109	55	109	55	110
	3.	110	55	108	54	107	54	104	52	103	51,5	100	50	99	49,5	99	50	100	50	102	51	102	51	104	52	105	53	106	53	107	54	108
	4.	117	59	115	58	113	57	100	50	103	51,5	104	52	104	52	105	53	105	52,5	106	53	107	53,5	107	54	108	54	109	55	110	55	112
	5.	112	56	109	55	104	52	101	51	101	50,5	100	50	100	50	101	51	102	51	103	52	104	52	105	53	106	53	106	53	107	54	107

Catatan:

- D=Dosis ekstrak biji duwet: 500 mg/Kg bb
- Hari pertama pemberian ekstrak biji duwet merupakan hari ke 6 setelah induksi STZ
- Hari terakhir pemberian ekstrak biji duwet merupakan hari ke 21 setelah induksi STZ
- Berat badan yang digunakan dalam perhitungan dosis ekstrak biji duwet adalah berat badan mulai hari ke 6 sampai hari ke 21

Lampiran 10**HASIL ANALISIS DESKRIPTIF BERAT BADAN
SETELAH DIINJEKSI STZ**

Deskriptif Berat Badan dan Perubahan Berat Badan Kelompok Normal

Statistik Deskriptif

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Berat Badan Hari Ke 1	5	143	170	151,80	10,756
Berat Badan Hari Ke 5	5	150	175	157,80	9,985
Perubahan Berat Badan	5	3	8	6,00	2,000
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif Berat Badan dan Perubahan Berat Badan Kelompok Diabetes

Statistik Deskriptif

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Berat Badan Hari Ke 1	10	134	173	153,50	14,121
Berat Badan Hari Ke 5	10	110	131	117,10	6,657
Perubahan Berat Badan	10	-51	-22	-36,40	8,959
Valid N (listwise)	10				

**HASIL ANALISIS DESKRIPTIF KADAR GLUKOSA
SETELAH DIINJEKSI STZ**

Deskriptif Kadar Glukosa Kelompok Normal

Statistik Deskriptif

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Kadar Glukosa Hari Ke 3	5	104	113	110,20	3,633
Kadar Glukosa Hari Ke 5	5	96	112	104,40	7,127
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif Kadar Glukosa Kelompok Diabetes

Statistik Deskriptif

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Kadar Glukosa Hari Ke 3	10	237	289	259,40	14,826
Kadar Glukosa Hari Ke 5	10	251	403	306,10	46,948
Valid N (listwise)	10				

UJI NORMALITAS DATA

NPar Test Perubahan Berat Badan Kelompok Normal dan Kelompok Diabetes

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perubahan Berat Badan
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	-22,27
	Std. Deviation	21,927
Most Extreme Differences	Absolute	,209
	Positive	,191
	Negative	-,209
Kolmogorov-Smirnov Z		,808
Asymp. Sig. (2-tailed)		,530

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests Kadar Glukosa Kelompok Normal dan Kelompok Diabetes

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Glukosa Hari Ke 3	Kadar Glukosa Hari Ke 5
N		15	15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	209,67	238,87
	Std. Deviation	73,792	105,441
Most Extreme Differences	Absolute	,311	,219
	Positive	,238	,219
	Negative	-,311	-,212
Kolmogorov-Smirnov Z		1,205	,848
Asymp. Sig. (2-tailed)		,110	,469

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

**HASIL UJI BEDA PERUBAHAN BERAT BADAN
DENGAN T-Test DUA SAMPEL BEBAS SATU EKOR**

Statistik Kelompok

Kelompok Perlakuan		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Perubahan Berat Badan	Kelompok Normal	5	6,00	2,000	,894
	Kelompok Diabetes	10	-36,40	8,959	2,833

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
Perubahan Berat Badan	Equal variances assumed	9,486	,009	10,271	13	,000	42,40	4,128	33,482	51,318
	Equal variances not assumed			14,271	10,645	,000	42,40	2,971	35,834	48,966

**HASIL UJI BEDA PERUBAHAN KADAR GLUKOSA HARI KELIMA
DENGAN T-Test DUA SAMPEL BEBAS SATU EKOR**

Statistik Kelompok

Kadar Glukosa		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Kadar Glukosa Hari Ke 5	Kelompok Normal	5	104,40	7,127	3,187
	Kelompok Diabetes	10	306,10	46,948	14,846

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
Kadar Glukosa Hari Ke 5	Equal variances assumed	3,593	,080	-9,379	13	,000	-201,70	21,505	-248,159	-155,241
	Equal variances not assumed			-13,283	9,802	,000	-201,70	15,185	-235,626	-167,774

Lampiran 11**HASIL ANALISIS DESKRIPTIF BERAT BADAN**

Deskriptif Berat Badan dan Perubahan Berat Badan Kelompok Kontrol Negatif

Statistik Deskriptif

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Berat Badan Hari Ke 6	5	152	176	159,20	9,654
Berat Badan Hari Ke 21	5	165	195	180,00	11,180
Perubahan Berat Badan	5	9	28	20,80	7,629
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif Berat Badan dan Perubahan Berat Badan Kelompok Kontrol Positif

Statistik Deskriptif

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Berat Badan Hari Ke 6	5	110	129	117,20	7,887
Berat Badan Hari Ke 21	5	80	98	88,00	7,969
Perubahan Berat Badan	5	-41	-15	-29,20	9,338
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif Berat Badan dan Perubahan Berat Badan Kelompok Perlakuan

Statistik Deskriptif

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Berat Badan Hari Ke 6	5	110	117	113,40	2,702
Berat Badan Hari Ke 21	5	107	112	109,40	1,949
Perubahan Berat Badan	5	-5	-2	-4,00	1,414
Valid N (listwise)	5				

**HASIL ANALISIS DESKRIPTIF KADAR GLUKOSA
DAN VARIABEL TERGANTUNG**

Deskriptif Kadar Glukosa dan Variabel Tergantung Kelompok Kontrol Negatif

Statistik Deskriptif

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Kadar Glukosa	5	95	115	107,40	7,635
Kadar LDL	5	11	13	11,80	,837
Kadar HDL	5	44	51	48,60	3,050
Rasio LDL/HDL	5	,2	,3	,240	,0548
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif Kadar Glukosa dan Variabel Tergantung Kelompok Kontrol Positif

Statistik Deskriptif

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Kadar Glukosa	5	274	422	360,20	57,273
Kadar LDL	5	10	16	13,20	2,588
Kadar HDL	5	41	43	41,80	,837
Rasio LDL/HDL	5	,2	,4	,320	,0837
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif Kadar Glukosa dan Variabel Tergantung Kelompok Perlakuan

Statistik Deskriptif

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
Kadar Glukosa	5	104	147	118,80	17,598
Kadar LDL	5	11	14	12,60	1,140
Kadar HDL	5	42	47	44,80	2,280
Rasio LDL/HDL	5	,3	,3	,300	,0000
Valid N (listwise)	5				

UJI NORMALITAS DATA

NPar Test Perubahan Berat Badan Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok Kontrol Positif dan Kelompok Perlakuan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perubahan Berat Badan
N		15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	-4,13
	Std. Deviation	22,103
Most Extreme Differences	Absolute	,151
	Positive	,128
	Negative	-,151
Kolmogorov-Smirnov Z		,585
Asymp. Sig. (2-tailed)		,884

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Test Variabel Tergantung Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok Kontrol Positif dan Kelompok Perlakuan

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadar Glukosa	Kadar LDL	Kadar HDL	Rasio LDL/HDL
N		15	15	15	15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	195,47	12,53	45,07	,287
	Std. Deviation	124,913	1,685	3,555	,0640
Most Extreme Differences	Absolute	,318	,158	,186	,316
	Positive	,318	,158	,186	,284
	Negative	-,211	-,115	-,126	-,316
Kolmogorov-Smirnov Z		1,230	,610	,721	1,223
Asymp. Sig. (2-tailed)		,097	,850	,676	,100

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

ANOVA (ANALYSIS of VARIANCE)

Analysis of Variance Variabel Tergantung Kelompok Kontrol Negatif, Kelompok Kontrol Positif dan Kelompok Perlakuan

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Kadar Glukosa	6,221	2	12	,014
Kadar LDL	7,216	2	12	,009
Kadar HDL	4,728	2	12	,031
Rasio LDL/HDL	8,320	2	12	,005

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Kadar Glukosa	Between Groups	203852,9	2	101926,467	83,817	,000
	Within Groups	14592,800	12	1216,067		
	Total	218445,7	14			
Kadar LDL	Between Groups	4,933	2	2,467	,851	,451
	Within Groups	34,800	12	2,900		
	Total	39,733	14			
Kadar HDL	Between Groups	116,133	2	58,067	11,461	,002
	Within Groups	60,800	12	5,067		
	Total	176,933	14			
Rasio LDL/HDL	Between Groups	,017	2	,009	2,600	,115
	Within Groups	,040	12	,003		
	Total	,057	14			

Post Hoc Test

Multiple Comparison

Dunnett T3

Dependent Variable	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Sifference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Kadar Glukosa	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	-252,80*	25,840	0,001	-347,95	-157,65
		Perlakuan	-11,40	8,579	0,512	-39,66	16,86
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	252,80*	25,840	0,001	157,65	347,95
		Perlakuan	241,40*	26,795	0,001	148,46	334,34
	Perlakuan	Kontrol Negatif	11,40	8,579	0,512	-16,86	39,66
		Kontrol Positif	-241,40*	26,795	0,001	-334,34	-148,46
Kadar HDL	Kontrol Negatif	Kontrol Positif	6,80*	1,414	0,016	1,83	11,77
		Perlakuan	3,80	1,703	0,153	-1,33	8,93
	Kontrol Positif	Kontrol Negatif	-6,80*	1,414	0,016	-11,77	-1,83
		Perlakuan	-3,00	1,086	0,100	-6,68	,68
	Perlakuan	Kontrol Negatif	-3,80	1,703	0,153	-8,93	1,33
		Kontrol Positif	3,00	1,086	0,100	-,68	6,68

* The mean difference is significant at the ,05 level.

Lampiran 9

**KONVERSI PERHITUNGAN DOSIS
UNTUK BEBERAPA JENIS HEWAN DAN MANUSIA
(GHOSH, 1971)**

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 200 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1.0	7.0	2.25	27.8	29.7	64.1	124.2	387.9
Tikus 200 g	0.14	1.0	1.74	3.9	4.2	9.2	17.8	56.0
Marmot 200 g	0.08	0.57	1.0	2.25	2.4	5.2	10.2	31.15
Kelinci 1,5 kg	0.04	0.25	0.44	1.0	1.08	2.4	4.5	14.2
Kucing 2 kg	0.03	0.23	0.41	0.92	1.0	2.2	4.1	13.0
Kera 4 kg	0.016	0.11	0.19	0.42	0.45	1.0	1.9	6.1
Anjing 12 kg	0.008	0.06	0.10	0.22	0.24	0.52	1.0	3.1
Manusia 70 kg	0.00026	0.018	0.031	0.07	0.076	0.16	0.32	1.0

Sumber: Kusumawati (2004)