



PERBANDINGAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL PARE (*Momordica charantia*) DENGAN GLIBENKLAMID TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN

SKRIPSI

Oleh:

**M. Ferry Nur Abadi
102010101021**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2014**



PERBANDINGAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL PARE (*Momordica charantia*) DENGAN GLIBENKLAMID TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran (S1) dan mencapai gelar sarjana kedokteran

Oleh:

**M. Ferry Nur Abadi
102010101021**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2014**

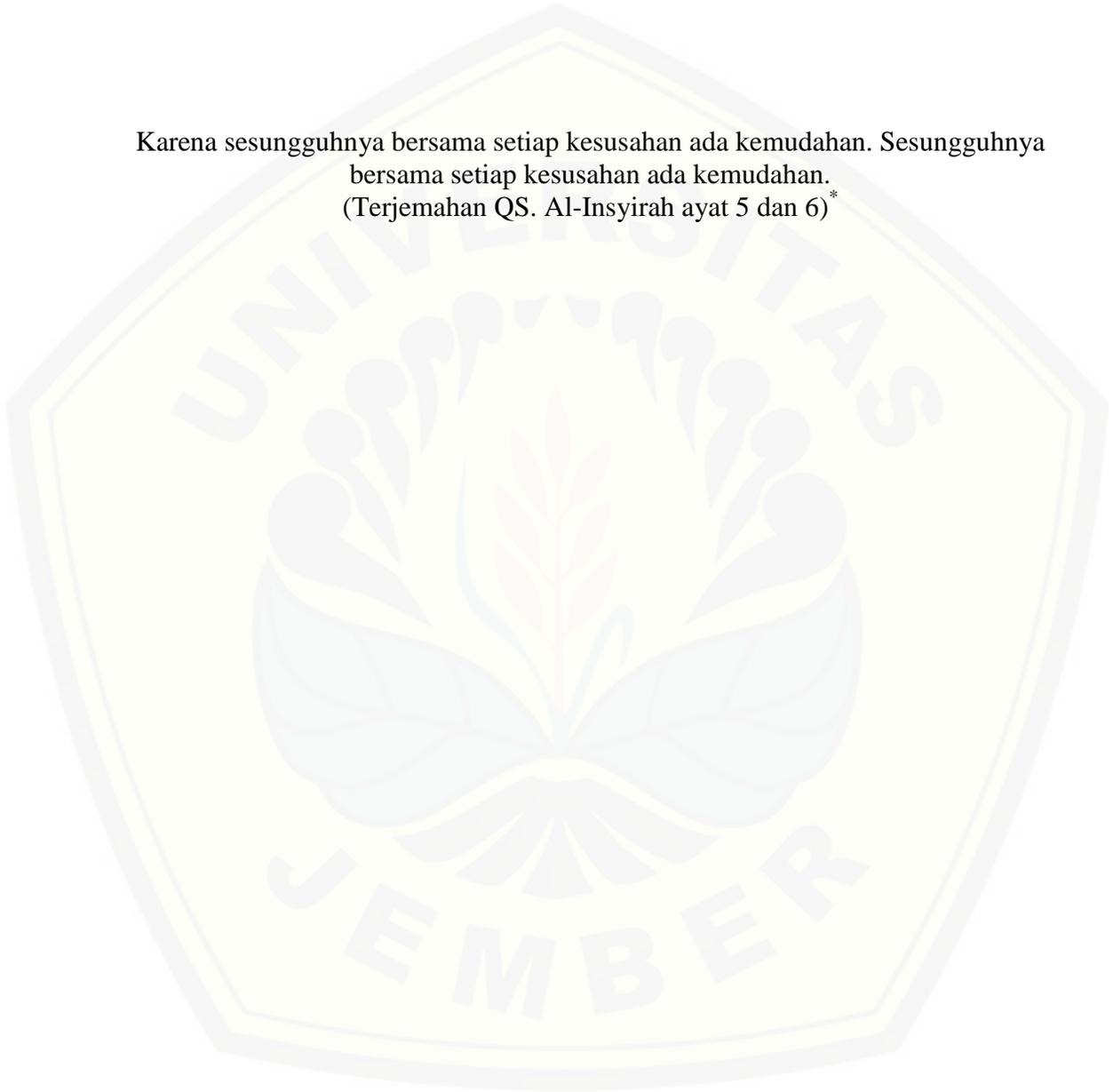
PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

1. Ayahku tercinta Mubadi dan Ibuku tercinta Indasah yang senantiasa memberikan doa, kasih sayang tiada henti, dan yang telah mendidik, serta menjadikan saya menjadi manusia yang lebih baik;
2. Guru-guruku tercinta yang telah mendidik dengan penuh kesabaran mulai dari taman kanak-kanak hingga SMA;
3. Dosen-dosen Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

MOTO

Karena sesungguhnya bersama setiap kesusahan ada kemudahan. Sesungguhnya bersama setiap kesusahan ada kemudahan.
(Terjemahan QS. Al-Insyirah ayat 5 dan 6)*



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2005. *Al-Qur'an Al-Karim dan Terjemah Makna ke Dalam Bahasa Indonesia*. Kudus: Menara Kudus.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : M. Ferry Nur Abadi

NIM : 102010101021

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Perbandingan Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*) dengan Glibenklamid Terhadap Kadar Glukosa Daah Tikus Wistar Yang Diinduksi Aloksan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian pernyataan ini tidak benar.

Jember, 2 April 2014
Yang menyatakan,

M. Ferry Nur Abadi
NIM. 102010101021

SKRIPSI

PERBANDINGAN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL PARE (*Momordica charantia*) DENGAN GLIBENKLAMID TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Oleh

M. Ferry Nur Abadi
102010101021

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Sugiyanta, M.Ked.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. Kristianningrum Dian Sofiana

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Perbandingan Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*) dengan Glibenklamid Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Yang Diinduksi Aloksan” ini telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 8 April 2014

Tempat : R. Sidang Lt. 3 Gedung Dekanat FK Unej

Tim Penguji

Ketua (Penguji I)

dr. Hairrudin, M.Kes
NIP. 197510112003121008

Anggota (Penguji III)

dr. Sugiyanta, M.Ked
NIP. 197902072005011001

Sekretaris (Penguji II)

dr. Elly Nurus Sakinah, M. Si
NIP. 198409162008012003

Anggota (Penguji IV)

dr. Kristianningrum Dian Sofiana
NIP. 198609062012122001

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Kedokteran

dr. Enny Suswati, M.Kes
NIP. 19700214 199903 2 001

RINGKASAN

Perbandingan Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*) dengan Glibenklamid Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Yang Diinduksi Aloksan; M. Ferry Nur Abadi; 102010101021; 2014: 42 halaman; Fakultas Kedokteran; Universitas Jember.

Diabetes melitus (DM) atau kencing manis merupakan salah satu penyakit yang prevalensinya terus meningkat. Pada tahun 2000, Indonesia menduduki peringkat keempat dalam jumlah penderita DM terbesar di dunia yaitu mencapai 8,4 juta penderita. Angka tersebut diprediksi akan terus bertambah menjadi 350 juta jiwa pada tahun 2020. DM merupakan penyakit kronik dimana penderita mengalami kelebihan kadar glukosa darah. Secara garis besar DM terbagi menjadi dua kelompok besar, yaitu DM tipe I dan DM tipe II. DM tipe I seringkali ditemukan pada anak-anak. Pada DM tipe I tubuh gagal memproduksi insulin karena kerusakan sel beta pankreas. Pada DM tipe II terjadi resistensi insulin pada tubuh dan juga defisiensi relatif insulin. Kelebihan kadar glukosa darah dalam tubuh akan menyebabkan berbagai komplikasi yang berbahaya pada berbagai jaringan tubuh yang dapat bersifat akut maupun kronis.

Terapi untuk mengatur kadar glukosa darah diperlukan agar tidak terjadi komplikasi pada jaringan tubuh. Salah satu terapi yang menjadi pilihan saat ini adalah glibenklamid. Glibenklamid bekerja dengan cara merangsang sel beta Langerhans pankreas untuk memproduksi insulin. Selain dengan obat-obatan, diabetes melitus juga dapat diatasi dengan pengobatan menggunakan tanaman berkhasiat obat.

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat diabetes adalah pare (*Momordica charantia*). Pare memiliki beberapa zat aktif yang diketahui memiliki efek antihiperqlikemik antara lain, charantin dan polypeptide-p. Charantin bekerja dengan cara mengaktivasi AMP-activated protein kinase (AMPK) yang nantinya

akan meningkatkan sintesis glikogen dan juga meningkatkan uptake glukosa pada sel hati dan otot. Sedangkan polypeptide-p merupakan senyawa analog insulin yang kerjanya sama dengan insulin.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan pretest-post test with Control group design. Jumlah sampel yang diteliti sebanyak 25 ekor tikus wistar jantan berusia 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 150-200 gram. Sebelum dilakukan perlakuan tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari. Setelah itu dilakukan randomisasi dengan membagi hewan coba ke dalam 5 kelompok, masing-masing 5 tikus yaitu kelompok perlakuan 1 (K1) yang diberikan pakan standar; kelompok perlakuan 2 (K2) yang diberikan injeksi aloksan 125mg/kgBB i.p dan pakan standar; kelompok perlakuan 3 (K3) yang diberikan injeksi aloksan 125mg/kgBB i.p, diberikan ekstrak etanol buah pare 250 mg/kgBB p.o dan pakan standar; kelompok perlakuan 4 (K4) yang diberikan injeksi aloksan 125mg/kgBB i.p, diberikan glibenklamid 0,45 mg/kgBB tikus p.o dan pakan standar; kelompok perlakuan 5 (K5) yang diberi injeksi aloksan, diberikan ekstrak buah pare 250 mg/kgBB p.o, glibenklamid 0,45 mg/kgBB tikus p.o dan pakan standar.

Uji statistik yang digunakan adalah Uji Kruskal Wallis dan Mann-Whitney. Berdasarkan data yang telah dianalisis, didapatkan pada uji Kruskal Wallis $p=0,001$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($p<0,05$) antara rata-rata KGD pada kelima kelompok.

Pada hasil uji Mann-Whitney pada kelompok terapi kombinasi (K5) dengan kelompok terapi tunggal ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) (K3) didapatkan $p=0,047$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terapi kombinasi memberikan efek yang lebih signifikan ($p<0,05$) jika dibandingkan dengan terapi tunggal ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*). Sedangkan hasil uji Mann-Whitney pada kelompok terapi kombinasi (K5) dengan kelompok terapi tunggal glibenklamid (K4) didapatkan $p=0,047$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terapi kombinasi memberikan efek yang lebih signifikan ($p<0,05$) jika dibandingkan dengan terapi tunggal glibenklamid. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa pemberian

terapi kombinasi ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dengan glibenklamid lebih efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar yang diinduksi aloksan dibandingkan dengan terapi tunggal ekstrak etanol buah pare atau terapi tunggal glibenklamid.



PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Perbandingan Kombinasi Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia*) dengan Glibenklamid Terhadap Kadar Glukosa Daah Tikus Wistar Yang Diinduksi Aloksan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. dr. Enny Suswati, M.Kes., selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Sugiyanta, M. Ked selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) dan dr. Kristianningrum Dian Sofiana selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang telah banyak membantu meluangkan waktu, pikiran serta perhatiannya untuk membimbing penulisan skripsi ini sejak awal hingga akhir;
3. dr. Hairrudin, M. Kes selaku Dosen Penguji I dan dr. Elly Nurus Sakinah, M. Si selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini;
4. dr. Ali Santosa, Sp. PD selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah bersedia membimbing selama masa studi;
5. dr. Sugiyanta, M. Ked selaku koordinator KTI yang telah menyetujui penyusunan skripsi ini;
6. Ayahku Mubadi dan Ibuku Indasah tersayang dan tercinta atas dukungan moril, materi, doa, dan semua curahan kasih sayang yang tak akan pernah putus. Kebahagiaan kalian segalanya untukku;
7. Adik-adikku, Vera Ning Wulansari dan M. Farid Yuansyah Nur Abadi yang selalu memberiku motivasi untuk menyelesaikan tugas akhir ini;

8. Tunanganku Cindy Noor Pradini yang selalu membantu, memberikan semangat serta doa selama menyelesaikan tugas akhir ini;
9. Rekan satu timku, Benny Wicaksono, Novita Fauziah Rahmawati, Nabilla, dan Chita Setya Prihadi terima kasih atas dukungan, tenaga usaha, dan kerjasamanya hingga akhir;
10. Teman-teman Edelweiss, Senoadji Pratama, Riswan Febrianto, Benny Wicaksono, I Wayan Suardita, Luthfi Akhyar, Mohammad Nur Humaidi Zulmi yang telah memberikan dorongan dan motivasi untuk menyelesaikan skripsi ini;
11. Mas Agus Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang telah membantu dan membimbing kami selama masa penelitian;
12. Bu Widdy Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membantu dan membimbing kami selama masa penelitian;
13. Teman-teman angkatan 2010 Lambda yang selalu saling bahu membahu menjalani Studi demi meraih gelar Sarjana Kedokteran;
14. Teman-teman angkatan lain, terimakasih atas dukungannya;
15. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga karya tulis ini bermanfaat bagi pembaca dan khususnya untuk perkembangan Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Jember, April 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN BIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Diabetes Melitus	4
2.1.1 Definisi	4
2.1.2 Klasifikasi.....	4
2.1.3 Patofisiologi.....	5
2.1.4 Diagnosis.....	8
2.2 Glibenklamid	11

2.3 Pare.....	11
2.3.1 Taksonomi	11
2.3.2 Morfologi.....	12
2.3.3 Pengaruh Buah Pare Terhadap Kadar Glukosa	13
2.4 Agen Penginduksi Diabetes	14
2.4.1 Aloksan.....	14
2.4.2 Streptozotocin.....	15
2.5 Kerangka Konsep Penelitian	17
2.6 Hipotesis	18
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	19
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	19
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	20
3.2.1 Tempat Penelitian	21
3.2.2 Waktu Penelitian.....	21
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	21
3.3.1 Populasi	21
3.3.2 Sampel	21
3.3.3 Cara Sampling	21
3.3.4 Jumlah Sampel.....	21
3.4 Variabel Penelitian	22
3.4.1 Variabel Bebas.....	22
3.4.2 Variabel Terikat.....	22
3.4.3 Variabel Terkendali	22
3.5 Definisi Operasional.....	22
3.5.1 Aloksan.....	22
3.5.2 Ekstrak Pare.....	22
3.5.3 Glibenklamid	23
3.5.4 Carboxy methyl cellulose 0,5% (CMC)	23
3.5.5 Kadar Glukosa Darah Puasa.....	23

3.6	Alat dan Bahan Penelitian	23
3.6.1	Alat	23
3.6.2	Bahan	24
3.7	Prosedur Penelitian	24
3.7.1	Adaptasi Hewan Coba	24
3.7.2	Penentuan Dosis	24
3.7.3	Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba	26
3.7.4	Perlakuan Pada Hewan Coba Selama Penelitian	26
3.7.5	Pengambilan Darah Tikus	27
3.7.6	Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah Tikus	27
3.8	Analisis Data	27
3.9	Alur Penelitian.....	28
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1	Hasil Penelitian.....	29
4.2	Analisis Data.....	32
4.3	Pembahasan.....	33
4.3.1	Efek Pemberian Aloksan.....	33
4.3.2	Efek Pemberian Ekstrak Buah Pare	34
4.3.3	Efek Pemberian Glibenklamid	34
4.3.4	Efek Pemberian Kombinasi Ekstrak Buah Pare dan Glibenklamid.....	35
BAB 5.	PENUTUP	37
5.1	Kesimpulan.....	37
5.2	Saran	37
DAFTAR PUSTAKA		38
LAMPIRAN.....		43

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Kriteria Diagnostik DM dan Gangguan Glukosa.....	9
2.2 Tanaman Pare.....	13
3.1 Konversi dosis hewan coba berdasarkan BSA.....	25
4.1 Rata-rata hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa pada tikus	29
4.2 Uji normalitas data	32
4.3 Hasil Uji Mann-Whitney.....	33

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Langkah-langkah diagnostik DM dan gangguan toleransi glukosa	10
2.2 Buah Pare	12
2.3 Kerangka konseptual penelitian	17
3.1 Skema rancangan penelitian.....	19
3.2 Alur Penelitian	28
4.1 Rata-rata hasil pemeriksaan kadar glukosa darah	31

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK	43
B. PERHITUNGAN DOSIS DAN VOLUME SEDIAAN YANG DIBERIKAN PADA HEWAN COBA	45
B.1 Aloksan	45
B.2 Glibenklamid	45
B.3 Pare	45
C. HASIL PENGUKURAN KADAR GLUKOSA DARAH	47
D. HASIL UJI ANALISIS DATA	49
D.1 Uji normalitas	49
D.2 Uji homogenitas data	50
D.3 Uji Kruskal-Wallis	51
D.4 Uji Mann-Whitney	52

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada tahun 2005 jumlah pasien Diabetes Melitus (DM) di dunia mencapai 220 juta jiwa. Angka tersebut diprediksi akan terus bertambah menjadi 350 juta jiwa pada tahun 2020. Di Indonesia, hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, diperoleh bahwa proporsi penyebab kematian akibat DM pada kelompok usia 45-54 tahun di daerah perkotaan menduduki ranking ke-2 yaitu 14,7%, dan daerah pedesaan, DM menduduki ranking ke-6 yaitu 5,8% .Salah satu penyebab peningkatan jumlah pasien DM di seluruh dunia, termasuk Indonesia, adalah gaya hidup dan pola makan masyarakat (Depkes RI, 2009).

DM merupakan penyakit yang disebabkan oleh gangguan kelenjar endokrin. Pada penyakit ini terjadi gangguan keseimbangan hormon, yang ditandai dengan penurunan produksi hormon insulin. Jumlah hormon insulin yang kurang menyebabkan kandungan glukosa dalam plasma meningkat (Susilowati, 2012). Secara klinis ada dua jenis penyakit DM, yaitu DM tipe 1 dan DM tipe 2. DM tipe 1 (Insulin-Dependent Diabetes Mellitus) menggambarkan suatu kondisi defisiensi produksi insulin oleh pankreas. Kondisi ini hanya dapat diobati dengan pemberian insulin. Sedangkan DM tipe 2 (Non Insulin-Dependent Diabetes Mellitus) terjadi akibat resistensi insulin yaitu keadaan dimana insulin tidak dapat bekerja optimal pada sel-sel targetnya seperti sel otot, sel lemak dan sel hepar sehingga tidak tercapai kadar glukosa yang normal dalam darah (Depkes RI, 2005). Selain terjadinya penurunan kepekaan jaringan terhadap insulin, juga terjadi suatu defisiensi respon sel beta pankreas terhadap glukosa. Kedua kerusakan ini menyebabkan hiperglikemia, sehingga diperlukan terapi untuk memperbaiki kondisi hiperglikemia tersebut (Katzung, 2002).

Ada empat pilar utama dalam pengelolaan DM yaitu edukasi, perencanaan makanan (diet), latihan fisik dan pengelolaan farmakologis antara lain dengan pemberian obat hipoglikemik oral (OHO) (Evacuasiyany, 2005). OHO yang sering digunakan dalam pengobatan DM adalah glibenklamid. Glibenklamid merupakan salah satu obat antidiabetes yang paling banyak dikenal dan termasuk golongan sulfonilurea yang bekerja menurunkan kadar glukosa darah dengan cara merangsang sel beta Langerhans pankreas untuk memproduksi insulin (Katzung, 2002). Glibenklamid memiliki efek samping berupa gangguan saluran cerna dan sakit kepala. Glibenklamid dapat meningkatkan sekresi ADH (Anti Diuretik Hormone), yang akan menyebabkan terjadinya hiponatremi meskipun jarang terjadi (Sukandar et. al., 2008).

Pengobatan DM juga dapat menggunakan terapi alternatif dengan menggali potensi lokal yaitu tanaman obat tradisional. Salah satu tanaman obat yang diduga dapat digunakan untuk penderita DM adalah *Momordica charantia* yang dikenal dengan nama pare. Buah pare mengandung senyawa bioaktif momordisin, charantin, polipeptida P, alkaloid, saponin, karoten, resin, fenol, vitamin A, B dan C (Evacuasiyany, 2005). Manfaat dari charantin adalah menstimuli sel beta kelenjar pankreas tubuh untuk memproduksi insulin lebih banyak dan juga meningkatkan deposit cadangan glikogen di hati, sedangkan polipeptida P menurunkan kadar glukosa darah secara langsung (Fernandes, 2007). Garau (2003) menemukan bahwa pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dalam dosis 250 mg/KgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes secara signifikan.

Berdasarkan hal tersebut maka peneliti menggunakan pare dengan glibenklamid sebagai terapi kombinasi, karena pengobatan dengan obat tradisional yang diberikan secara tunggal tidak direkomendasikan oleh Komite Etik Departemen Kesehatan Republik Indonesia karena DM merupakan penyakit kronis yang penatalaksanaannya harus menggunakan Obat Hipoglikemik Oral (OHO) sintetik (Depkes RI, 2009). Terapi kombinasi dinilai efektif apabila kedua obat bekerja secara

sinergis dan memberikan efek potensiasi, yaitu kedua obat saling memperkuat khasiatnya (Syamsul et al., 2011).

1.2 Rumusan Masalah

Bedasarkan latar belakang tersebut, maka permasalahan yang dapat dirumuskan adalah apakah terapi kombinasi ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dengan glibenklamid memiliki pengaruh yang lebih baik dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar yang diinduksi aloksan jika dibandingkan dengan terapi tunggal ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dan glibenklamid?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh yang lebih baik antara terapi kombinasi ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dengan glibenklamid dan terapi tunggal ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) atau glibenklamid dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar yang diinduksi aloksan.

1.4 Manfaat Penelitian

- a. Memberikan informasi bagi ilmu pengetahuan mengenai manfaat ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) jika dikombinasikan dengan glibenklamid terhadap kadar glukosa darah tikus wistar yang diinduksi aloksan.
- b. Memberikan informasi bagi masyarakat mengenai manfaat buah pare (*Momordica charantia*) sebagai alternatif tanaman obat dalam menurunkan kadar glukosa darah.
- c. Memberikan informasi yang dapat menjadi dasar bagi penelitian selanjutnya.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Definisi

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, gangguan kerja insulin atau keduanya yang menimbulkan berbagai komplikasi kronik pada mata, ginjal, saraf dan pembuluh darah (Perkeni, 2011). DM ditandai dengan kadar glukosa darah yang melebihi normal (hiperglikemia) dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang disebabkan oleh kekurangan hormon insulin secara relatif maupun absolut. Apabila dibiarkan tidak terkendali dapat terjadinya komplikasi metabolik akut maupun komplikasi vaskuler jangka panjang (Soegondo, 2004).

2.1.2 Klasifikasi

Klasifikasi dari DM berdasarkan ADA (2012) dan Perkeni (2011) adalah sebagai berikut:

Klasifikasi Etiologis DM (ADA, 2007).

a. DM Tipe 1

Destruksi sel beta, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut:

- 1) Melalui proses imunologik
- 2) Idiopatik

b. DM Tipe 2

Bervariasi mulai terutama yang predominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang predominan gangguan sekresi insulin bersama resistensi insulin.

c. DM Tipe Lain

1) Defek Genetik fungsi sel Beta:

- a) Kromosom 12, HNF-1 α (dahulu MODY 3)
- b) Kromosom 7, glukokinase (dahulu MODY 2)
- c) Kromosom 20, HNF-4 α (dahulu MODY 1)
- d) Kromosom 13, insulin Promoter faktor-1 (IPF-1, dahulu MODY 4)
- e) Kromosom 17, HNF-1 β (dahulu MODY 5)
- f) Kromosom 2, Neuro D1 (dahulu MODY 6)
- g) DNA Mitochondria, dan lainnya.

2) Defek genetik kerja insulin: resistensi insulin tipe A, leprechaunism, sindrom Rhabson Mendenhall, diabetes lipoatrofik dan lainnya.

3) Penyakit eksokrin pankreas: Pankreatitis, trauma/prankreatektomi, neoplasma, fibrosis kistik, hemokromatosis, pankreatopati dibro kalkulus dan lainnya.

4) Endokrinopati: akromegali, sindrom cushing, feokromotositoma, hipertiroidisme somatostatinoma, aldosteronoma dan lainnya.

5) Karena obat/zat kimia: vacor, pentamidin, asam nikotinat, glukokortikoid, hormon tiroid, diazoxid, agonis β adrenergik, tiazid, dilantin, interferon alfa dan lainnya.

6) Infeksi: rubella kongenital, CMV dan lainnya.

7) Immunologi (jarang): sindrom Stiff-man, antibodi anti reseptor insulin lainnya.

8) Sindrom genetik lain: sindrom Down, sindrom Klinefelter, sindrom Turner, sindrom Wolfram's, ataksia Friedreich's, Chorea Huntington, sindrom Laurence-Moon-Biedl, distorfi miotonik, porfiria, sindrom Prader willi dan lainnya.

d. Diabetes Kehamilan

2.1.3 Patofisiologi

Pada penderita DM pengaturan sistem kadar gula terganggu. Insulin tidak cukup untuk mengatasi dan akibatnya kadar gula dalam darah bertambah tinggi.

Peningkatan kadar gula darah akan menyumbat seluruh sistem energi dan tubuh berusaha kuat untuk mengeluarkannya melalui ginjal. Ketika memakan makanan yang mengandung kadar gula yang tinggi, kadar gula dalam darah juga akan cepat naik karena insulin tidak mencukupi (Tjokroprawiro, 2006).

Pada DM tipe 1 terdapat ketidakmampuan untuk menghasilkan insulin karena sel-sel pankreas telah dirusak oleh proses autoimun. Glukosa yang berasal dari makanan tidak dapat disimpan dalam hati meskipun tetap dalam darah dan menimbulkan hiperglikemia postprandial. Jika konsentrasi glukosa dalam darah cukup tinggi, ginjal tidak dapat menyerap kembali semua glukosa yang tersaring keluar, akibatnya glukosa tersebut diekskresikan dalam urin (glukosuria). Ekskresi ini akan disertai oleh pengeluaran cairan dan elektrolit yang berlebihan, keadaan ini disebut diuresis osmotik. Pasien akan mengalami peningkatan dalam berkemih (poliuria) dan rasa haus (polidipsi) (Brunner & Suddarth, 2002).

Sedangkan pada DM tipe 2 terdapat dua masalah utama yang berhubungan dengan insulin, yaitu resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin. Normalnya insulin akan terikat dengan reseptor khusus pada permukaan sel, dan akan terjadi suatu rangkaian reaksi dalam metabolisme glukosa di dalam sel. Resistensi insulin pada DM tipe 2 disertai dengan penurunan reaksi intrasel, dengan demikian insulin menjadi tidak efektif untuk menstimulasi pengambilan glukosa oleh jaringan. Meskipun terjadi gangguan sekresi insulin yang menjadi ciri khas DM tipe 2, namun masih terdapat jumlah insulin yang adekuat untuk mencegah pemecahan lemak dan produksi badan keton. Oleh karena itu, ketoasidosis diabetik tidak terjadi pada DM tipe 2. Meskipun demikian, DM tipe 2 yang tidak terkontrol dapat menimbulkan masalah akut lainnya yang dinamakan sindrom hiperglikemik hiperosmoler nonketotik akibat intoleransi glukosa yang berlangsung lambat dan progresif. Maka awitan DM tipe 2 dapat berjalan tanpa terdeteksi, gejalanya sering bersifat ringan dan dapat mencakup kelelahan, iritabilitas, poliuria, polidipsi, luka pada kulit yang tidak sembuh-sembuh, infeksi dan pandangan kabur (Brunner & Suddarth, 2002).

Insulin adalah suatu polipeptida yang mengandung dua rantai asam amino yang dihubungkan oleh jembatan disulfida. Hormon ini dihasilkan oleh sel β pankreas yang kurang lebih menempati 60-80% pulau Langerhans. Ada beberapa tahapan dalam proses sekresi insulin, setelah molekul glukosa memberikan rangsangan pada sel β pankreas maka proses yang pertama terjadi adalah usaha untuk dapat melewati membran sel sel yang membutuhkan senyawa lain. Glukosa transporter (GLUT) adalah senyawa asam amino yang terdapat di dalam berbagai sel yang berperan dalam metabolisme glukosa yang fungsinya adalah sebagai kendaraan untuk mengangkut glukosa dari luar ke dalam sel. Terdapat beberapa GLUT yaitu GLUT1, GLUT2, GLUT3, GLUT4, GLUT5. GLUT1 terdapat pada otak, ginjal, kolon dan eritrosit. GLUT 2 terdapat pada sel hati, pankreas, usus halus dan ginjal. GLUT3 terdapat pada sel otak, ginjal dan plasenta. GLUT4 terletak pada jaringan adiposa, otot jantung dan otot rangka. GLUT 5 bertanggung jawab terhadap absorpsi glukosa pada usus halus (Guyton & Hall, 2008).

GLUT2 yang terdapat pada sel-sel pankreas berperan dalam masuknya glukosa dari darah ke dalam sel. Proses ini penting karena untuk selanjutnya glukosa akan dipecah menjadi energi (ATP), ATP yang terbentuk akan digunakan untuk mengaktifkan penutupan K^+ channel yang terdapat pada membran sel yang bertujuan untuk menghambat pengeluaran ion K^+ sehingga akan menyebabkan depolarisasi sel, proses ini akan diikuti dengan pembukaan Ca^{2+} channel yang akan menyebabkan terjadinya influks ion Ca^{2+} ke dalam sel yang dibutuhkan untuk mekanisme sekresi insulin (Manaf, 2009).

Dalam keadaan fisiologis insulin disekresikan sesuai dengan kebutuhan tubuh normal oleh sel-sel β pankreas. Insulin yang dihasilkan berfungsi untuk meregulasi glukosa darah agar selalu berada pada batas fisiologis, baik saat mendapatkan beban maupun saat puasa. Sekresi insulin terdapat dalam dua fase, fase 1 (acute insulin secretion response) adalah sekresi insulin yang terjadi segera setelah adanya rangsangan dari sel β , muncul cepat dan berakhir cepat. Fase ini digunakan untuk menjaga kadar gula darah yang meningkat postprandial. Setelah terjadinya fase 1,

maka akan terjadi fase 2 (sustained phase, latent phase), dimana insulin kembali meningkat secara perlahan dan bertahan dalam waktu yang relatif lebih lama. Fase 2 berfungsi untuk menyempurnakan fase 1 apabila tidak adekuat (Guyton & Hall, 2008).

Hormon pencernaan yang berperan dalam proses peningkatan sekresi insulin adalah gastric inhibitory peptide (GIP) dan glucagon-like-peptide-1 (GLP-1). Sekresi GIP terutama distimulasi oleh lemak dan glukosa, GIP meningkatkan sekresi insulin dengan cara meningkatkan ekspresi gen, diferensiasi dan proliferasi sel β pankreas serta berperan sebagai sel β mitogenik dan faktor anti apoptosis (Morgan, 2005). Sedangkan GLP-1 berperan dalam meregulasi gula darah yang disekresikan postprandial. Hormon GLP-1 menstimulasi pelepasan insulin dan somatostatin serta menghambat sekresi glukagon, selain itu GLP-1 juga dapat meningkatkan jumlah sel β pankreas dengan cara induksi neogenesis sel β (Joslin et al., 2005).

Target organ utama insulin dalam mengatur kadar glukosa adalah hepar, otot dan adiposa. Insulin masuk ke reseptor α diluar sel kemudian menuju ke reseptor β di dalam sel melalui perantara GLUT2, selanjutnya insulin akan merangsang fosforilase intrasel yang kompleks dan berakhir dengan pembentukan transporter glukosa (GLUT4), pada proses selanjutnya GLUT4 ditranslokasikan ke dinding sel sehingga glukosa plasma dapat masuk ke dalam sel yang akan digunakan untuk metabolisme atau disimpan sebagai glikogen atau sebagai trigliserida (Manaf, 2009).

2.1.4 Diagnosis

Diagnosis DM harus didasarkan atas pemeriksaan kadar glukosa darah. Penegakan diagnosis DM harus memperhatikan asal bahan darah yang diambil dan cara pemeriksaan yang dipakai. Penegakan diagnosis berdasarkan pemeriksaan yang dianjurkan adalah pemeriksaan glukosa dengan cara enzimatik dengan bahan darah plasma vena. Penggunaan bahan darah utuh (whole blood), vena ataupun kapiler tetap dapat dipergunakan dengan memperhatikan angka-angka kriteria diagnostik yang berbeda sesuai pembakuan oleh WHO, sedangkan untuk tujuan pemantauan hasil

pengobatan dapat dilakukan dengan menggunakan pemeriksaan glukosa darah kapiler (Perkeni, 2011).

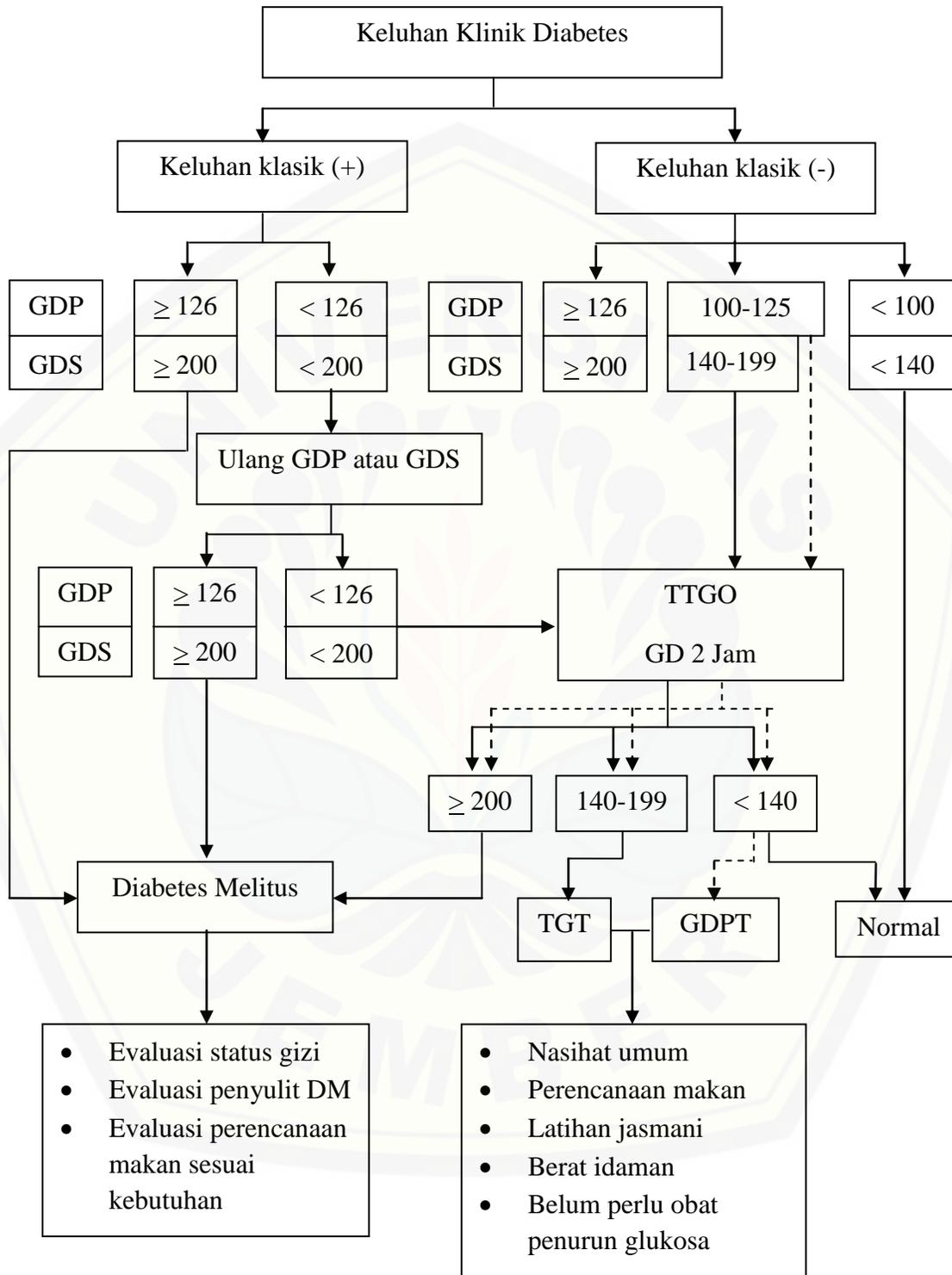
Berbagai keluhan dapat ditemukan pada penyandang DM. Kecurigaan adanya DM perlu dipikirkan apabila terdapat keluhan klasik DM seperti tersebut di bawah ini (Perkeni, 2011):

1. Keluhan klasik DM berupa: poliuria, polidipsi, polifagia dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya.
2. Keluhan lain dapat berupa: lemah badan, kesemutan, gatal, mata kabur dan disfungsi ereksi pada pria serta pruritus vulvae pada wanita.

Diagnosis DM dapat ditegakkan melalui tiga cara. Pertama, jika keluhan klasik ditemukan pada pemeriksaan glukosa plasma ≥ 200 mg/dl sudah cukup untuk menegakkan diagnosis. Kedua, dengan pemeriksaan glukosa plasma puasa yang lebih mudah dilakukan, mudah diterima oleh pasien, sehingga pemeriksaan ini dianjurkan untuk diagnosis DM. Ketiga, dengan TTGO. Meskipun TTGO dengan beban 75 gram, glukosa lebih sensitif dan spesifik dibanding dengan pemeriksaan glukosa plasma puasa, namun memiliki keterbatasan sendiri (dapat dilihat pada Tabel 2.1).

-
1. A1C $\geq 6,5$ % atau
 2. Kadar Glukosa Darah Sewaktu (plasma vena) ≥ 200 mg/dl atau
 3. Kadar Glukosa Darah Puasa ≥ 126 mg/dl atau
 4. Kadar Glukosa Plasma ≥ 200 mg/dl pada 2 jam sesudah beban glukosa 75 gram pada TTGO

Tabel 2. 1 Kriteria Diagnostik DM dan Gangguan Glukosa (ADA, 2012)



Gambar 2. 1 Langkah-Langkah Diagnostik Diabetes Mellitus dan Toleransi Glukosa Terganggu (Perkeni, 2011)

2.2 Glibenklamid

Dikenal dua generasi sulfonilurea, generasi pertama terdiri dari tolbutamid, asetoheksimid dan klorpropamid. Generasi berikutnya memiliki potensi hipoglikemik lebih besar, antara lain gliburid atau glibenklamid, glipizid, glikazid dan glimepirid (Suherman, 2007).

Glibenklamid merupakan salah satu obat antidiabetes yang paling banyak dikenal (Katzung, 2002). Glibenklamid merupakan Obat Hipoglikemik Oral (OHO) golongan Sulfonilurea yang hanya digunakan untuk mengobati individu dengan DM tipe II. Mekanisme kerja obat golongan sulfonilurea dengan cara menstimulasi pelepasan insulin yang tersimpan (stored insulin) dan meningkatkan sekresi insulin (Soegondo, 2004).

Glibenklamid berinteraksi dengan ATP-sensitive K channel pada membran sel-sel β pankreas yang menimbulkan depolarisasi membran, keadaan ini akan menyebabkan terbukanya kanal kalsium. Dengan terbukanya kanal kalsium maka ion Ca^{2+} akan masuk ke dalam sel β pulau Langerhans, merangsang sel-sel β pankreas untuk mensekresikan insulin di dalamnya (Suherman, 2007).

Glibenklamid merupakan salah satu OHO golongan sulfonilurea yang mempunyai efek samping ringan dan frekuensinya rendah, diantaranya adalah gangguan saluran cerna dan gangguan susunan syaraf pusat. Golongan sulfonilurea cenderung meningkatkan berat badan. Bila pemberian dihentikan, obat akan bersih dari serum sesudah 36 jam (Soegondo, 2004). Masa paruh dari glibenklamid hanya sekitar 4 jam, efek hipoglikemiknya berlangsung 12-24 jam. Oleh karena itu, glibenklamid cukup diberikan satu kali sehari dengan dosis sebesar 5 mg/hari (Suherman, 2007).

2.3 Pare

2.3.1 Taksonomi

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta

Sub-Divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Cucurbitales
Famili : Cucurbitaceae
Genus : Momordica
Spesies : Momordica charantia
(Suprapti, 2005; Subahar & Tim Lentera, 2004)



Gambar 2.2 Buah Pare (Subahar, 2004)

2.3.2 Morfologi

Pare atau bitter gourd adalah tanaman yang tumbuh didaerah tropis, yaitu daerah Amazon (Amerika Selatan), Afrika Timur, Asia dan Karibia (Taylor, 2002). Tanaman pare (*Momordica charantia* L.) adalah sejenis tanaman menjalar dengan buahnya panjang bergerigi dan runcing ujungnya. Pare tumbuh baik di dataran rendah dan dapat ditemukan tumbuh liar di tanah terlantar, tegalan serta dibudidayakan di pekarangan dengan dirambatkan dipagar. Tanaman pare mempunyai biji banyak, coklat kekuningan dan bentuknya pipih memanjang (Hyeronimus, 2006).

Batang	Batang berusuk lima, panjang 2-5 meter, panjang tangkai 1,5-5,3 cm, letak berseling, bentuknya bulat panjang.
Daun	Daun tunggal dengan panjang 3,5-8,5 cm, lebar 4 cm, berbagi menjari 5-7, pangkal berbentuk jantung,, garis tengah 4-17 cm, berbintik-bintik tembus cahaya, taju bergigi kasar sampai berlekuk menyirip, warnanya hijau.
Bunga	Tangkai bunga 5-15 cm dekat pangkalnya dengan daun pelindung berbentuk jantung sampai ginjal. Kelopak bentuk lonceng dengan banyak rusuk yang berakhir pada 2-3 sisik yang melengkung ke bawah. Mahkota berbentuk roda, bakal buah berparuh panjang dan berduri halus.
Buah	Buah bulat memanjang berbentuk seperti silindris, permukaan buah tidak beraturan dengan panjang 8-30 cm. warna buah hijau dan jika sudah masak berwarna oranye dengan 3 katup.
Biji	Biji banyak berwarna coklat kekuningan pucat, bentuknya pipih memanjang dan keras. Jika buah masih mentah maka biji berwarna putih.
Akar	Akar tunjang, sisi berserabut yang berkembang luas di kawasan sekeliling. Sulur berbentuk spiral dan bercabang banyak.

Tabel 2.2 Tanaman Pare (Departemen Teknologi Pertanian DKI Jakarta, 2009)

2.3.3 Pengaruh Buah Pare Terhadap Kadar Glukosa

Buah pare mengandung senyawa aktif charantin dan polipeptida-p yang memiliki mekanisme meningkatkan sekresi insulin, asupan glukosa jaringan, sintesis glikogen otot dan hati, oksidasi glukosa dan menurunkan glukoneogenesis hati. Dalam percobaan dengan hewan coba, pare terbukti memiliki mekanisme mirip dengan insulin dalam menurunkan kadar gula darah. Penelitian menunjukkan bahwa buah pare mengandung peptide aktif yang dinamakan MC6 yang berukuran 10 kD. Peptide tersebut terdiri dari 3 peptida aktif (MC6.1, MC6.2, MC6.3) yang terbukti memiliki aktivitas hipoglikemik (Subroto, 2006).

Polypeptide-p atau lebih dikenal sebagai p-insulin (plant-insulin) adalah senyawa protein yang memiliki struktur mirip dengan insulin. Polypeptide-p bekerja

sama dengan cara kerja insulin dan sudah terbukti sangat efektif sebagai agen hipoglikemik ketika diberikan secara injeksi subkutan pada hewan (Premila, 2006).

Charantin merupakan senyawa triterpenoid dan merupakan campuran dari dua komponen yaitu sitosteryl glucoside dan stigmasteryl glucoside (Barathi dan John, 2013). Charantin mengandung aglycone atau badan steroid yang sangat larut dalam pelarut non-polar. Namun glucoside yang terikat pada molekulnya membuatnya juga dapat larut dalam pelarut polar (Pitipanapong et al., 2005). Mekanisme yang dipercaya menjadi dasar aktivitas hipolipidemik dari charantin ini adalah karena adanya aktivasi dari AMP-activated protein kinase (AMPK) yang nantinya akan meningkatkan sintesis glikogen dan juga meningkatkan uptake glukosa pada sel hati dan otot (Bagchi & Sreejayan, 2012; Mander & Liu, 2010).

2.4 Agen Penginduksi Diabetes

2.4.1 Aloksan

Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana, 1-3 Aloksan diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer. Nama aloksan diperoleh dari penggabungan kata allantoin dan oksalurea (asam oksalurik). Nama lain dari aloksan adalah 2,4,5,6-tetraoxypirimidin; 2,4,5,6-primidinetetron; 1,3-Diazinan 2,4,5,6-tetron (IUPAC) dan asam Mesoxalylurea 5-oxobarbiturat. Rumus kimia aloksan adalah $C_4H_2N_2O_4$. Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat (Watkins et al., 2008). Aloksan adalah senyawa kimia tidak stabil dan senyawa hidrofilik. Waktu paruh aloksan pada pH 7,4 dan suhu $37^\circ C$ adalah 1,5 menit (Lenzen, 2008).

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan (Filliponi et al., 2008).

Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel β pankreas yang memproduksi insulin akibat akumulasi dari GLUT2. Sifat sitotoksik aloksan pada sel beta pankreas diinisiasi oleh radikal bebas yang dibentuk oleh reaksi redoks (Watkins et al., 2008). Aloksan dan produk reduksinya membentuk siklus redoks dengan formasi radikal superoksida. Radikal ini mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida. Radikal hidroksil dengan kereaktifan yang tinggi dibentuk oleh reaksi Fenton. Aksi radikal bebas dengan rangsangan tinggi meningkatkan konsentrasi kalsium sitosol yang menyebabkan destruksi cepat sel beta pankreas (Filliponi et al., 2008).

Selain menyebabkan terjadinya pembentukan radikal bebas, aloksan juga dapat menyebabkan terjadinya gangguan homeostatis kalsium interseluler dengan cara meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel β pulau Langerhans. Efek tersebut diikuti beberapa kejadian, antara lain: influks kalsium dari cairan ekstraseluler dan eliminasi yang terbatas dari sitoplasma. Influks kalsium akibat aloksan tersebut mengakibatkan depolarisasi sel β , lebih lanjut membuka kanal kalsium tergantung voltase dan semakin menambah masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitifitas insulin (resistensi insulin) perifer dalam waktu singkat (Walde et. al., 2002; Szkudelski, 2008).

Aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal atau subkutan pada binatang percobaan. Tingginya konsentrasi aloksan tidak mempunyai pengaruh terhadap jaringan lain, karena aloksan meningkatkan pelepasan insulin dan protein dari sel beta pankreas tanpa mempengaruhi dari sekresi glukagon (Szkudelski, 2008). Tikus yang diinjeksi aloksan dapat dikategorikan hiperglikemik jika kadar gula darah puasa >109 mg/dL (Wulandari, 2010).

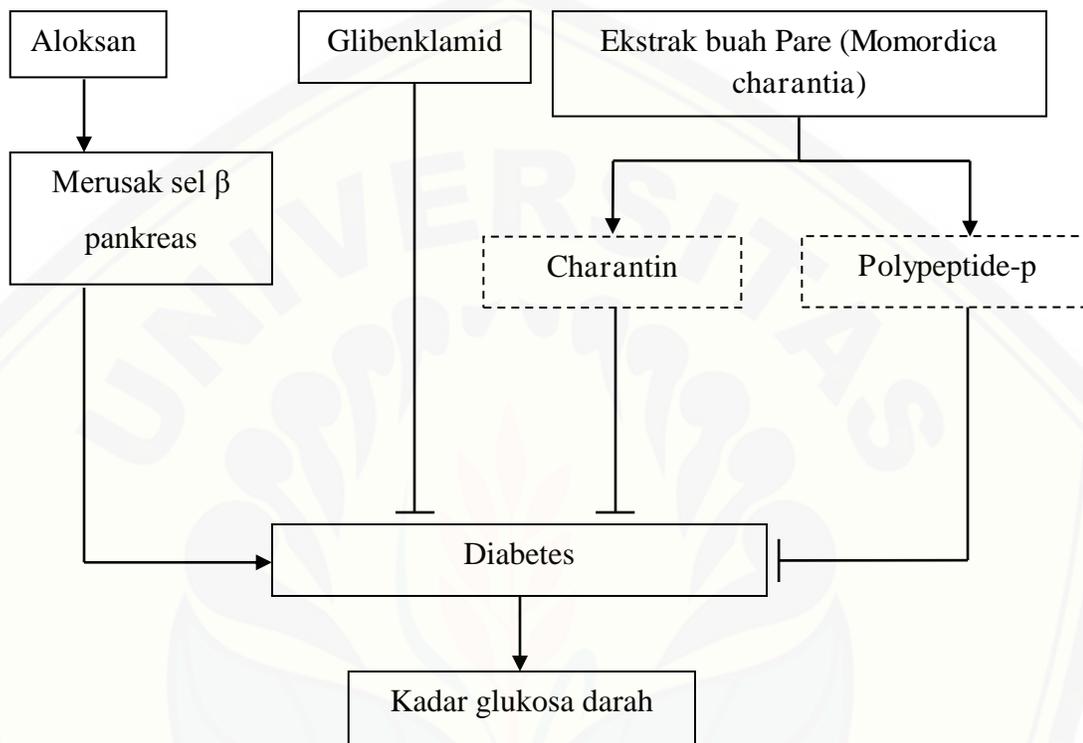
2.4.2 Streptozotocin

Agen penginduksi diabetes lain yang biasanya digunakan adalah streptozotocin. Streptozotocin merupakan N-nitroso derivat D-glucosamine dipakai

secara luas untuk menginduksi model hewan coba diabetes mellitus tipe 1 (Lenzen, 2008). Streptozotocin menembus sel β melalui transporter glukosa (GLUT 2), intra seluler gugus nitrosurea akan menyebabkan alkilasi DNA melalui aktivasi poly ADP-ribosylation yang mengakibatkan penekanan NAD^+ dan ATP seluler. Selanjutnya terjadi peningkatan defosforilasi ATP yang menghambat sekresi dan sintesis insulin serta akan memacu peningkatan substrat untuk reaksi katalisis xantin oksidase yang akan menghasilkan radikal superoksida, menyebabkan kerusakan sel β pankreas. Metabolisme streptozotocin intraseluler juga menghasilkan NO (nitric oxide) melalui peningkatan aktivitas guanil siklase dan pembentukan cGMP serta membangkitkan oksigen reaktif yang memiliki kontribusi terhadap kerusakan sel β (Eidi et. al., 2006).



2.5 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.3 Kerangka Konseptual Penelitian

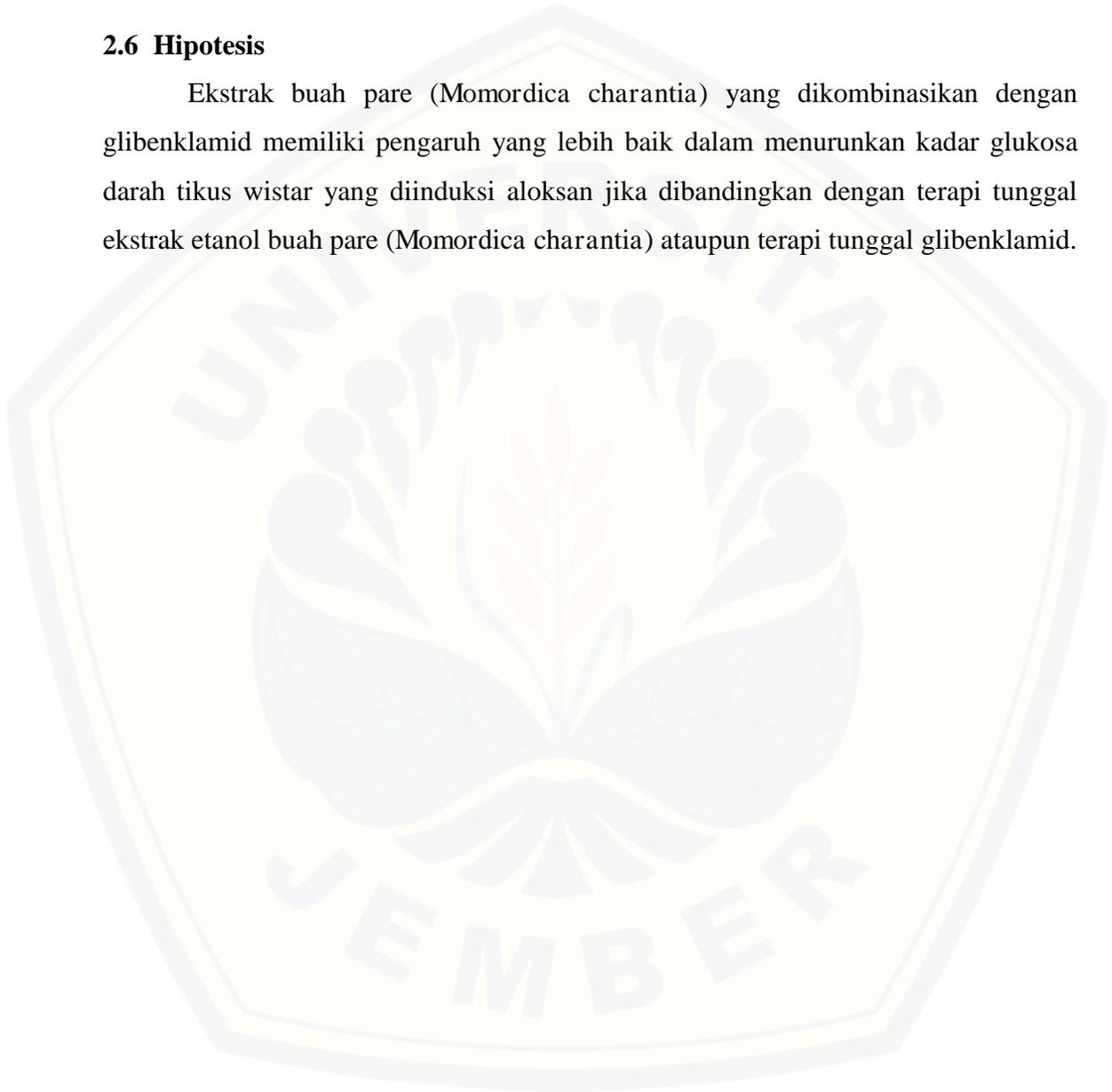
Pada tikus wistar yang dibuat DM dengan induksi aloksan, diberi perlakuan berupa pemberian kombinasi ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dan glibenklamid. Ekstrak etanol buah pare mengandung charantin dan polypeptide-p. Charantin bekerja mengaktifasi AMP-activated protein kinase yang menyebabkan peningkatan uptake glukosa dan sintesis glikogen di liver dan otot. Sedangkan polypeptide-p merupakan senyawa yang cara kerjanya mirip dengan insulin.

Glibenklamid berfungsi untuk menstimulasi pelepasan insulin dan peningkatan sekresi insulin. Kerja dari kombinasi ekstrak etanol buah pare dan

glibenklamid ini diharapkan akan menyebabkan penurunan kadar glukosa darah puasa pada tikus.

2.6 Hipotesis

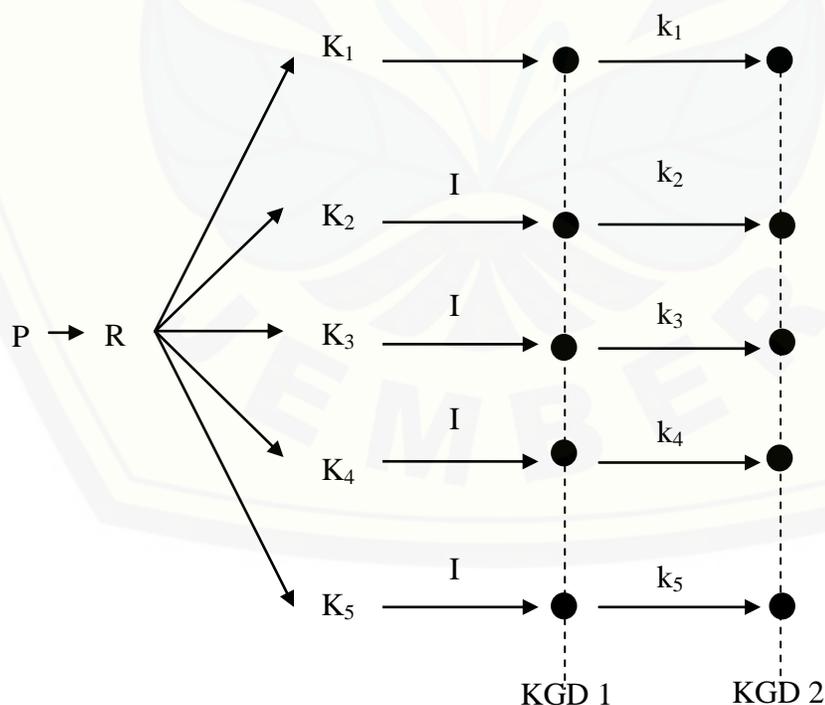
Ekstrak buah pare (*Momordica charantia*) yang dikombinasikan dengan glibenklamid memiliki pengaruh yang lebih baik dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar yang diinduksi aloksan jika dibandingkan dengan terapi tunggal ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) ataupun terapi tunggal glibenklamid.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian true experimental. Penelitian true eksperimental merupakan suatu bentuk rancangan penelitian yang memperlakukan dan memanipulasi subjek penelitian. Selain itu, dalam penelitian true experimental juga dilakukan upaya untuk mengontrol faktor-faktor yang mempengaruhi subjek penelitian (Rajab, 2009). Sedangkan rancangan penelitian menggunakan pre test and post test control group design, yaitu dengan melakukan pengukuran atau observasi sebelum dan sesudah perlakuan diberikan, kemudian hasilnya dibandingkan dengan kelompok kontrol. Secara skematis rancangan penelitian dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3. 1 Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

- P : Populasi.
- R : Random sampling.
- K₁, K₂, K₃, K₄, K₅ : Kelompok perlakuan 1, 2, 3, 4 dan 5.
- I : Tikus diinduksi aloksan 125 mg/KgBB.
- k₁, k₂ : Tikus diberi pakan standar.
- k₃ : Tikus diberi ekstrak pare (*Momodica charantia*) 250 mg/KgBB.
- k₄ : Tikus diberi glibenklamid 0,45 mg/KgBB.
- k₅ : Tikus diberi ekstrak pare (*Momodica charantia*) 250 mg/KgBB dan glibenklamid 0,45 mg/KgBB.
- KGD 1 : Kadar glukosa darah puasa tikus normal dan tikus setelah diinduksi aloksan.
- KGD 2 : Kadar glukosa darah puasa tikus normal dan tikus setelah diberi perlakuan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**3.2.1 Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan di dua tempat, yaitu: Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk pembuatan ekstrak dan Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember untuk perlakuan dan pengukuran kadar glukosa darah tikus wistar jantan yang diinduksi aloksan.

3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan November 2013 sampai bulan Desember 2013.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih dengan strain wistar.

3.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih strain wistar jantan dengan berat badan 150-200 g dan berumur 2-3 bulan.

3.3.3 Cara Sampling

Pada penelitian ini sampel diperoleh dengan metode simple random sampling. Simple random sampling adalah proses pengambilan sampel yang dilakukan dengan memberi kesempatan yang sama pada setiap anggota populasi untuk menjadi anggota sampel. Jadi disini proses pemilihan sejumlah sampel n dari populasi N yang dilakukan secara random (Rozaini, 2003).

3.3.4 Jumlah Sampel

Penentuan jumlah tikus tiap kelompok dihitung berdasarkan rumus empiris Federer sebagai berikut, dengan t = jumlah kelompok = 5, n = jumlah ulangan:

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

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

$$4n \geq 19$$

$$n \geq 4.75$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, maka besar sampel minimal yang diperlukan adalah 5 ekor tikus untuk masing-masing kelompok. Jadi pada penelitian ini digunakan 25 ekor tikus.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia*) dan glibenklamid.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar glukosa darah puasa tikus wistar.

3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah umur hewan coba, berat hewan coba, jenis kelamin hewan coba, dosis aloksan dan jenis pakan standar.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Aloksan

Dalam percobaan ini tikus dibuat diabetes dengan menginjeksikan aloksan secara intraperitoneal sebanyak 125 mg/kgBB (Matheka et al., 2012). Kondisi hiperglikemik ini disebabkan karena aloksan merupakan dose-dependent, yaitu dosis aloksan yang rendah akan menghasilkan kondisi yang menyerupai NIDDM (Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus) (Balogh dkk, 2007).

3.5.2 Ekstrak Pare (*Momodica charantia*)

Ekstrak pare diperoleh dari 1 kg buah pare yang dikupas dan dihilangkan bijinya kemudian dipotong tipis serta dijemur sampai kering selama 1-2 hari tanpa paparan langsung sinar matahari. Pare yang sudah kering kemudian diblender sampai berbentuk serbuk halus. Sebanyak 58 gram serbuk pare diekstraksi dengan metode maserasi dalam larutan etanol 70% sebanyak 441 ml. Ekstrak direndam selama 3 hari dengan pengadukan selama 5 menit setiap harinya. Pada hari ketiga ekstrak disaring dengan kertas saring kemudian dipekatkan menggunakan rotary evaporator dengan

kecepatan maksimal 200 rpm pada suhu 50°C sampai campuran ekstrak dan etanol 70% menguap dan diperoleh bentuk ekstrak yang sebenarnya.

3.5.3 Glibenklamid

Glibenklamid yang digunakan dalam penelitian ini adalah glibenklamid generik 5 mg. Glibenklamid diberikan dalam dosis 0,45 mg/KgBB tikus yang dilarutkan dengan larutan Carboxy Methyl Cellulose (CMC) 0,5%.

3.5.4 Carboxy Methyl Cellulose (CMC) 0,5%

CMC 0,5% yang digunakan untuk melarutkan glibenklamid diperoleh dari Laboratorium Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Jumlah CMC 0,5% yang digunakan sebanyak 5 ml/KgBB tikus.

3.5.5 Kadar Glukosa Darah Puasa

Kadar glukosa darah diukur setelah tikus dipuasakan selama 12 jam agar glukosa darah tidak terpengaruh oleh makanan yang dikonsumsi tikus. Selama puasa tikus tidak diberi pakan standar tetapi masih diberi minum dengan air. Sampel darah adalah darah vena dari ekor tikus yang diperiksa dengan menggunakan glukometer dan stick glukometer.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat

- a. Kandang tikus,
- b. Tempat makan dan minum tikus,
- c. Sonde lambung dan spuit 5 ml,
- d. Sarung tangan,
- e. Masker,
- f. Rotavapor,
- g. Timbangan,

- h. Blender,
- i. Rotary evaporator,
- j. Tabung Erlenmeyer,
- k. Glukometer,
- l. Stick glukometer.

3.6.2 Bahan

- a. Buah pare,
- b. Glibenklamid,
- c. Aquadest,
- d. Aloksan,
- e. Alkohol 70%,
- f. Pakan tikus standar,
- g. Sekam.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Adaptasi Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih galur Wistar jantan yang berumur 2-3 bulan dengan bobot badan 150-200 g. Hewan coba diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari sampai dianggap sudah beradaptasi terhadap lingkungan. Selama proses adaptasi hewan coba diberi pakan dan minum standar secara ad libitum.

3.7.2 Penentuan Dosis

a. Dosis Aloksan

Larutan aloksan diberikan pada tikus dengan dosis tunggal sebesar 125 mg/kgBB secara intraperitoneal.

b. Dosis Aquabidest

Dosis aquadest yang digunakan sebagai sediaan pelarut aloksan adalah 20 ml/g aloksan.

c. Dosis Ekstrak Pare (*Momordica charantia*.)

Ekstrak pare (*Momordica charantia*) diperoleh dari metode maserasi dengan pelarut alkohol 70% dan hasilnya berupa ekstrak bubuk. Ekstrak bubuk kemudian dilarutkan dengan aquadest dan diberikan melalui sonde pada lambung tikus wistar dengan dosis 250 mg/kgBB (Garau, 2003). Jadi jika dihitung dosis pare yang diberikan pada tikus dengan berat badan 200 gram adalah 50 mg per hari. Menurut Shannon et al, 2007 perhitungan konversi dosis ekuivalen pada manusia (Human Equivalent Dose/HED) adalah sebagai berikut:

$$\text{HED (mg/KgBB)} = \text{Dosis hewan coba (mg/KgBB)} \times \frac{\text{Faktor Km hewan coba}}{\text{Faktor Km manusia}}$$

Spesies	Berat (Kg)	BSA (m ²)	Faktor Km
Manusia	60	1,6	37
Anjing	10	0,5	20
Monyet	3	0,24	12
Kelinci	1,8	0,15	12
Babi	0,4	0,05	8
Tikus	0,15	0,025	6

Tabel 3.1 Konversi Dosis Hewan Coba berdasarkan BSA (FDA Draft Guidelines, 2002)

Jadi didapatkan hasil:

$$\text{HED (mg/KgBB)} = \text{Dosis hewan coba (mg/KgBB)} \times \frac{\text{Faktor Km hewan coba}}{\text{Faktor Km manusia}}$$

$$= 250 \text{ mg/KgBB} \times (6/37)$$

$$= 40,54 \text{ mg/KgBB}$$

Jadi dosis untuk manusia adalah 40,54 mg/KgBB.

d. Dosis Glibenklamid

Perhitungan dosis glibenklamid untuk tikus wistar didasarkan dosis terapi pada manusia yaitu 0,005 gram per hari. Kemudian dikonversi berdasarkan rumus Paget dan Barnes, yaitu dosis untuk setiap 200 gram berat badan tikus setara dengan $0,018 \times$ dosis manusia dan dikalikan dengan faktor farmakokinetik yaitu 10.

$$\begin{aligned}\text{Dosis glibenklamid} &= (0,018 \times 0,005 \text{ gram}) / 0,2 \text{ kgBB tikus wistar} \\ &= 0,00009 \text{ gram} / 0,2 \text{ kgBB tikus wistar} \\ &= 0,09 \text{ mg} / 0,2 \text{ kgBB tikus wistar} \\ &= 0,45 \text{ mg} / \text{kgBB tikus wistar} \\ &= 0,09 \text{ mg} / \text{tikus wistar} \times 10 \\ &= 0,9 \text{ mg/tikus wistar}\end{aligned}$$

Glibenklamid tidak dapat larut dalam air. Untuk itu, glibenklamid diberikan dalam bentuk suspensi kepada hewan coba dengan menggunakan agen pensuspensi Carboxy Methyl Celulose (CMC) 0,5%.

e. Cara Pembuatan Suspensi Carboxy Methyl Celulose (CMC) 0,5%.

CMC ditimbang sesuai jumlah yang dibutuhkan. Sebanyak 0,5 mg bubuk CMC ditambahkan larutan aquabidest hingga mencapai 100 ml, lalu CMC dihomogenkan selama kurang lebih 15 menit.

3.7.3 Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba

Hewan coba dibagi dalam 5 kelompok yang terdiri atas 5 perlakuan, jumlah tikus pada masing-masing kelompok adalah 5 ekor. Hewan dipelihara dalam kandang yang terbuat dari kawat. Satu kandang diisi 5 ekor tikus.

3.7.4 Perlakuan pada Hewan Coba Selama Penelitian

Penelitian dilakukan selama 14 hari ditambah seminggu adaptasi. Setelah masa adaptasi semua tikus dipuaskan selama 12 jam. Keesokan harinya, dilakukan pengukuran glukosa darah puasa (GDP) masing-masing tikus sebagai data awal. Untuk kelompok K1 tidak diberi perlakuan dan hanya diberi pakan standar, sedangkan kelompok K2, K3, K4 dan K5 diinjeksi aloksan secara intraperitoneal dengan dosis masing-masing kelompok sama, yaitu 125 mg/kgBB dengan pelarut aquadest steril 20 ml/g aloksan intraperitoneal. Tiga hari sesudah injeksi aloksan, glukosa darah puasa tikus diukur kembali. Setelah terjadi kondisi hiperglikemi pada

kelompok perlakuan K2, K3, K4 dan K5, maka penelitian dilanjutkan dengan perlakuan pemberian pakan standar secara ad libitum pada kelompok K1, pemberian pakan standar secara ad libitum pada kelompok K2, pemberian pakan standar secara ad libitum dan ekstrak pare 250mg/KgBB secara sonde pada kelompok K3, pemberian pakan standar secara ad libitum dan glibenklamid secara sonde pada kelompok K4, serta pemberian pakan standar secara ad libitum dan ekstrak pare dan glibenklamid secara sonde pada kelompok K5 selama 14 hari. Setelah hari ke 14, tikus dipuasakan selama 12 jam kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa pada semua tikus.

3.7.5 Pengambilan Darah Tikus

Darah tikus diambil dengan cara meletakkan dan menekan lanset pada vena ekor tikus secara aseptik. Darah yang keluar segera dimasukkan dalam glukometer untuk diukur kadar glukosa darahnya.

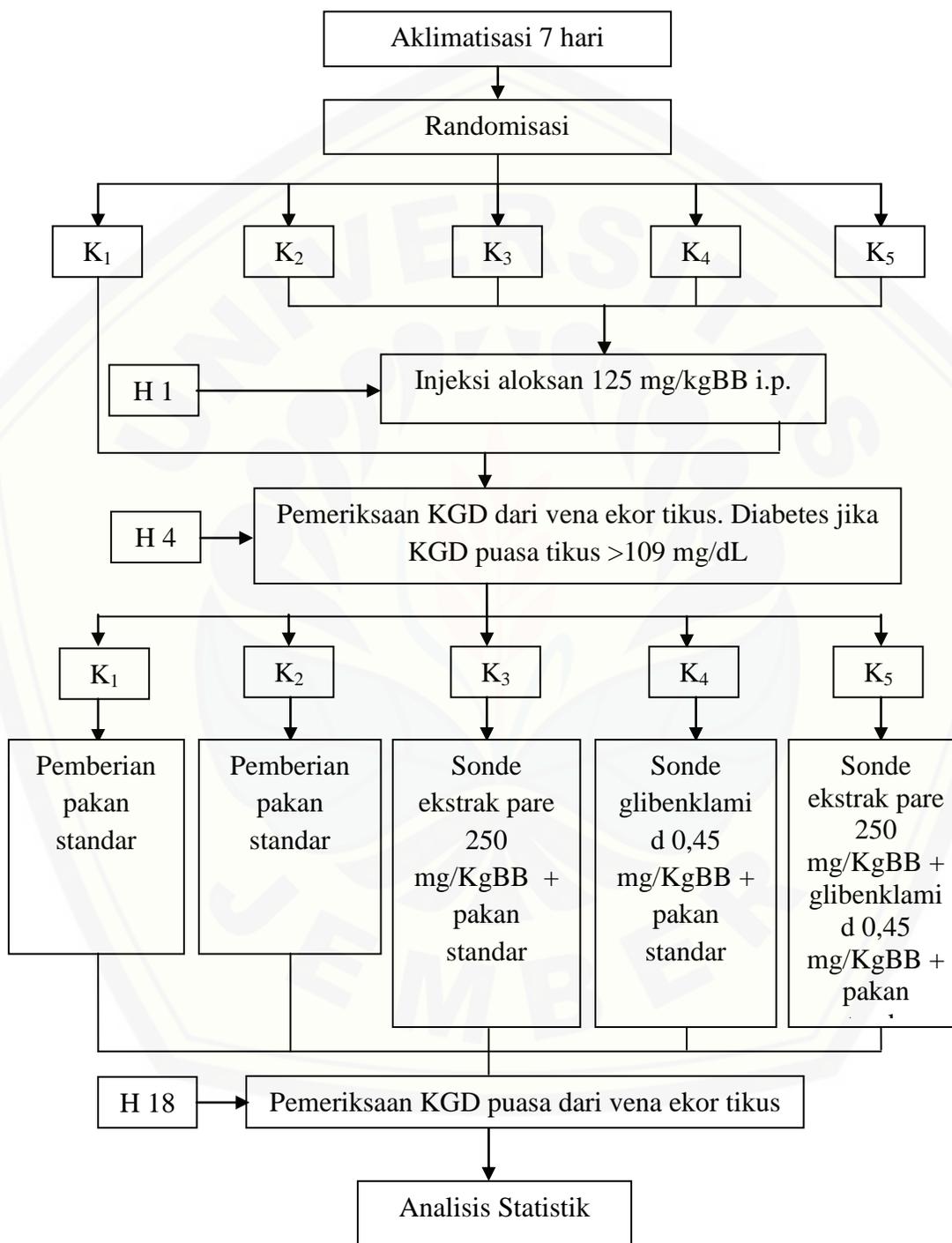
3.7.6 Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah Tikus

Pemeriksaan glukosa darah tikus dilakukan dengan glukometer.

3.8 Analisis Data

Analisis data hasil penelitian akan disajikan secara deskriptif dalam bentuk tabel dan grafik dengan menggunakan uji One Way Anova apabila syarat terpenuhi, yaitu distribusi data normal dan homogen. Namun jika data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen maka digunakan uji alternatif lainnya, yaitu uji Kruskal-Wallis.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian