



**EFEK PENAMBAHAN ZINK PADA TERAPI GLIMEPIRID
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

SKRIPSI

Oleh

**Nadhifah Athaya Putri
NIM 152010101076**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**EFEK PENAMBAHAN ZINK PADA TERAPI GLIMEPIRID
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Program Studi Pendidikan Dokter (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran

Oleh

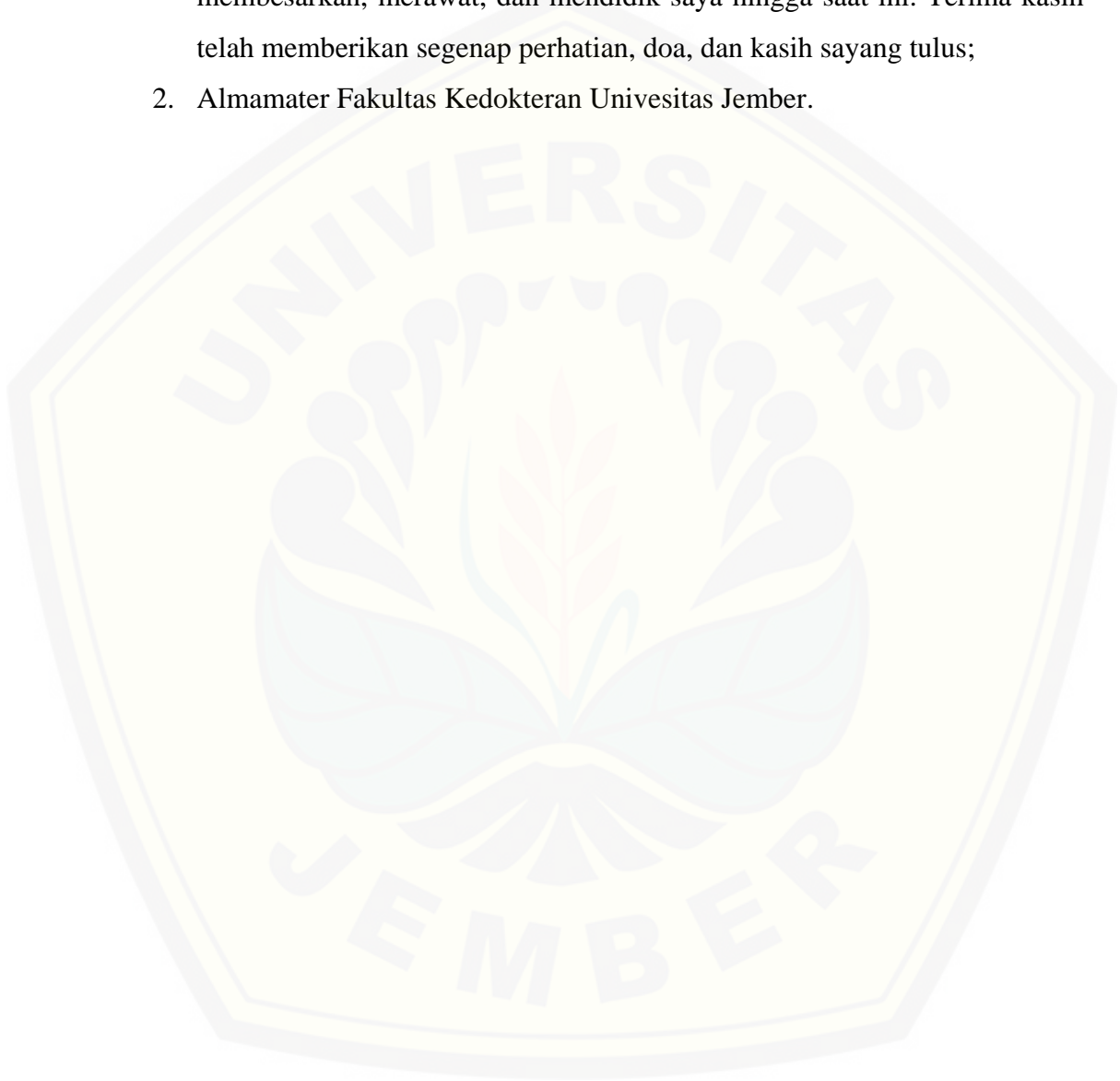
**Nadhifah Athaya Putri
NIM 152010101076**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ayahanda Chikman Soeyoeti dan Ibunda Retna Sulistyawati yang telah membesarkan, merawat, dan mendidik saya hingga saat ini. Terima kasih telah memberikan segenap perhatian, doa, dan kasih sayang tulus;
2. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



MOTTO

“Hai orang-orang yang beriman, bersabarlah kamu dan kuatkanlah kesabaranmu dan tetaplah bersiap siaga dan bertaqwalah kepada Allah supaya kamu beruntung.”
(Terjemahan Surat Ali Imran ayat 200)



PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini:

nama : Nadhifah Athaya Putri

NIM : 152010101076

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efek Penambahan Zink pada Terapi Glimepirid terhadap Glukosa Darah Mencit yang Diinduksi Streptozotocin” 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 Maret 2019
Yang menyatakan,

Nadhifah Athaya Putri
NIM 152010101076

SKRIPSI

**EFEK PENAMBAHAN ZINK PADA TERAPI GLIMEPIRID
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

Oleh

Nadhifah Athaya Putri
NIM 152010101076

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked.
Dosen Pembimbing Anggota : dr. Pipiet Wulandari, Sp.JP

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Efek Penambahan Zink pada Terapi Glimepirid terhadap Glukosa Darah Mencit yang Diinduksi Streptozotocin” karya Nadhifah Athaya Putri telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : 18 Maret 2019

Tempat : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua,

Anggota I,

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp. BA
NIP. 19730424 199903 1 002

dr. Hairrudin, M.Kes.
NIP. 19751011 200312 1 008

Anggota II,

Anggota III,

dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked.
NIP. 19710521 199803 1 003

dr. Pipiet Wulandari, Sp.JP
NIP. 19820720 200801 2 013

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember

dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp. BA
NIP. 19730424 199903 1 002

RINGKASAN

Efek Penambahan Zink pada Terapi Glimepirid terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit yang Diinduksi Streptozotocin; Nadhifah Athaya Putri, 152010101076; 2019; 92 halaman; Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Diabetes Melitus (DM) merupakan kelompok penyakit metabolik yang terjadi akibat adanya kelainan sekresi insulin, sensitivitas insulin atau keduanya dengan karakteristik hiperglikemia yang dapat menimbulkan berbagai komplikasi kronik. Terapi farmakologi dengan obat modern pada penderita DM terdiri atas obat antidiabetik (OAD) oral dan injeksi. Salah satu contoh OAD oral yang sering digunakan oleh masyarakat adalah OAD dari golongan sulfonilurea, seperti glibenklamid, namun efek samping yang disebabkan adalah hipoglikemik. Dari adanya efek samping tersebut, maka saat ini penggunaan OAD mulai beralih ke glimepirid. Glimepirid adalah obat penurun glukosa darah oral golongan sulfonilurea generasi kedua terbaru. Mekanisme kerja glimepirid sama dengan OAD golongan sulfonilurea lainnya, tetapi glimepirid juga mempunyai mekanisme ekstra pankreas, yaitu dengan meningkatkan jumlah molekul transporter glukosa transmembran plasma otot perifer serta adiposa jaringan dan meningkatkan transport aktif glukosa.

Diabetes Melitus dapat mengganggu homeostasis zink melalui berbagai mekanisme. Salah satu mekanisme yang mengakibatkan peningkatan ekskresi urin dan penurunan total zink tubuh adalah hiperglikemia. Zink berfungsi sebagai kofaktor penting untuk lebih dari 300 enzim, seperti superoksida dismutase yang dianggap penting untuk mereduksi dan menetralkan radikal bebas. Zink yang memiliki sifat antioksidan yang dapat memperlambat komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler DM akibat stress oksidatif.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek penambahan zink pada terapi glimepirid terhadap kadar glukosa darah puasa mencit yang diinduksi streptozotocin. Manfaat penelitian ini adalah dapat menambah ilmu pengetahuan dan referensi dibidang ilmu kesehatan mengenai manfaat penambahan zink pada terapi glimepirid terhadap kadar glukosa darah mencit yang diinduksi

streptozotocin dan dapat digunakan sebagai bahan masukan dan tambahan informasi untuk meningkatkan kualitas pelayanan kesehatan pada pasien DM.

Penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental murni (*true experimental design*) secara *in vivo* dengan rancangan *pre-post test control group design*. Pengukuran atau pengamatan dilakukan setelah dilakukan intervensi pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Terdapat 25 sampel penelitian yang dihitung berdasarkan rumus Federer. Terdapat satu kelompok kontrol dan empat kelompok perlakuan. Populasi pada penelitian ini adalah seluruh mencit Webster (Balb/c) jenis kelamin jantan, usia dewasa sekitar 2-3 bulan, berat badan 20-30g. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian zink. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar glukosa darah puasa mencit.

Sampel dalam penelitian ini dikelompokkan berdasarkan perlakuan, yaitu kelompok kontrol (K) tidak diberi perlakuan, sedangkan kelompok P₁, P₂, P₃, dan P₄ diinjeksi STZ secara intraperitoneal. Setelah terjadi kondisi hiperglikemi pada kelompok perlakuan P₁, P₂, P₃, dan P₄, penelitian dilanjutkan dengan pemberian Na-CMC secara sonde pada kelompok K dan P₁, pemberian glimepirid secara sonde pada kelompok P₂, pemberian zink secara sonde pada kelompok P₃, serta pemberian glimepirid dan zink secara sonde pada kelompok P₄ selama 14 hari. Setelah semua data terkumpul, dilakukan uji komparasi *one way Anova* untuk melihat perbedaan efek penambahan zink pada terapi tunggal glimepirid dan diperoleh *p-value* sebesar 1,000 (signifikan jika $p < 0,05$) yang menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara pemberian terapi tunggal glimepirid dengan penambahan zink pada terapi tunggal glimepirid.

Kadar glukosa darah puasa post perlakuan pada mencit kelompok P₂, P₃, dan P₄ menunjukkan adanya penurunan signifikan yang lebih baik dari kadar glukosa darah puasa pre. Penambahan zink pada terapi glimepirid tidak memiliki perbedaan yang bermakna dalam menurunkan kadar glukosa darah puasa mencit jika dibandingkan dengan terapi tunggal glimepirid.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efek Penambahan Zink pada Terapi Glimepirid terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit yang Diinduksi Streptozotocin”. Skripsi ini diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember (S1) dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran.

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

1. Drs. Moh. Hasan, M.Sc., Ph.D selaku Rektor Universitas Jember;
2. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp. BA selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember dan Dosen Penguji Utama yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
3. dr. Cholis Abrori, M.Kes.,M.Pd.Ked. selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
4. dr. Pipiet Wulandari, Sp. JP selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini
5. dr. Hairrudin, M.Kes. sebagai Dosen Penguji Anggota yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
6. Pranata Laboratorium Pendidikan lab farmakologi FK Unej, Lilik Maslian, A.md dan lab biokimia FK Unej, Nurul Istinaroh, A.md yang telah memberikan izin dan bantuan selama penelitian;
7. Para staf dan civitas akademika di Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah memberikan banyak bantuan selama pendidikan;
8. Ayahanda Chikman Soeyoeti dan Ibunda Retna Sulistyawati tercinta atas dukungan moril, materi, doa, dan semua curahan kasih sayang yang tak akan pernah putus;

9. Saudaraku Naurah Thifal Safitri yang telah memberi motivasi untuk menyelesaikan tugas akhir ini;
10. Sahabatku Kamila Rahma, Asri Ayu Firdausi, Rena Hardianty, Ni Made Trismarani S., Zulaikha Rizqina R., Diayu Putri Akhita, Aditya Primadana, dan Sixma Rizky atas kebersamaan dan dukungan selama menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
11. Agi Saputera Gunawan yang telah meluangkan waktu dalam membantu proses penelitian dan memberikan saran, masukan, dan dukungan moril dalam penulisan skripsi ini;
12. Teman penelitianku Indi Kamilia Fitri dan Tsintani Nur Aristiana atas kebersamaan, dukungan, dan bantuan selama penelitian;
13. Seluruh keluarga besar Vox Medici, CIMSA Unej, SPARKA, dan BPM FK Unej atas dukungan dalam penyusunan skripsi ini;
14. Seluruh angkatan FK Unej 2015 (COCCYX) yang telah berjalan beriringan demi sebuah gelar Sarjana Kedokteran;
15. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu, terimakasih atas segala bantuan dan kerjasamanya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna dan menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Jember, Maret 2019

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	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Tujuan Umum	4
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Bagi Pengembangan Ilmu	5
1.4.2 Bagi Instansi Pelayanan Kesehatan	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Diabetes Melitus	6
2.1.1 Definisi	6
2.1.2 Epidemiologi	6
2.1.3 Klasifikasi	6
2.1.4 Faktor Risiko	8
2.1.5 Patofisiologi	10
2.1.6 Gejala	11
2.1.7 Diagnosis	12
2.1.8 Komplikasi	15
2.2 Glimepirid	15
2.2.1 Definisi	15
2.2.2 Mekanisme Kerja	15
2.2.3 Farmakodinamik.....	16
2.2.4 Farmakokinetik.....	17
2.2.5 Indikasi	17
2.2.6 Dosis dan Cara Pemberian	17
2.2.7 Efek Samping	18
2.3 Zink	19

2.3.1 Definisi	19
2.3.2 Metabolisme	20
2.3.3 Pengaruh Zink terhadap Insulin	21
2.3.4 Pengaruh Zink terhadap DM	22
2.4 Superoksida Dismutase	23
2.4.1 Definisi	23
2.4.2 Jenis	23
2.5 Streptozotocin	24
2.5.1 Definisi dan Zat Kimia	24
2.5.2 Mekanisme Kerja	25
2.6 Kerangka Teori Penelitian	27
2.7 Kerangka Konsep Penelitian	28
2.8 Hipotesis	29
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	30
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	30
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	31
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	31
3.3.1 Populasi Penelitian	31
3.3.2 Sampel Penelitian	32
3.3.3 Cara Sampling	32
3.3.4 Jumlah Sampel	32
3.4 Variabel Penelitian	32
3.5 Definisi Operasional	33
3.5.1 Streptozotocin	33
3.5.2 Zink	33
3.5.3 Glimepirid	33
3.5.4 Kadar Glukosa Darah Puasa	33
3.5.5 Hiperglikemi.....	33
3.6. Alat dan Bahan Penelitian	34
3.6.1 Alat	34
3.6.2 Bahan	34
3.7 Prosedur Penelitian	34
4.1.3 Adaptasi Hewan Coba	34
4.1.4 Penentuan Dosis	35
4.1.5 Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba.....	37
4.1.6 Perlakuan pada Hewan Coba Selama Penelitian	37
4.1.7 Pengambilan Darah Mencit	37
4.1.8 Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah Mencit	37
3.8 Analisis Data	38
3.9 Alur Penelitian	39
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	40
4.1 Hasil Penelitian	40
4.2 Analisis Data	42
4.2.1 Analisis Berat Badan Mencit	42
4.2.2 Analisis KGD 1 Kelompok K dan P ₁	43

4.2.3 Analisis KGD 1 Kelompok P ₁ , P ₂ , P ₃ , dan P ₄	43
4.2.4 Analisis KGD 1 dan KGD 2 Kelompok P ₁ , P ₂ , P ₃ , dan P ₄	45
4.2.5 Analisis Δ KGD Kelompok P ₁ , P ₂ , P ₃ , dan P ₄	46
4.3 Pembahasan	47
4.3.1 Efek Pemberian Streptozotocin	47
4.3.2 Efek Pemberian Glimepirid	49
4.3.3 Efek Pemberian Zink	50
4.3.4 Efek Penambahan Zink pada Terapi Glimepirid	51
4.3.5 Tingkat Efektivitas Pemberian Glimepirid, Zink, serta Glimepirid dan Zink	52
4.4 Keterbatasan Penelitian	54
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	55
5.1 Kesimpulan	55
5.2 Saran	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	65

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Langkah diagnostik DM dan toleransi glukosa terganggu	14
2.2 Kerangka teori penelitian	27
2.3 Kerangka konsep penelitian	28
3.1 Skema rancangan penelitian	30
3.2 Alur Penelitian	39
4.1 Rata-rata hasil pemeriksaan glukosa darah puasa	41
4.2 Hasil pemeriksaan glukosa darah puasa kelompok K dan P ₁	47
4.3 Hasil pemeriksaan glukosa darah puasa kelompok P ₂	49
4.4 Hasil pemeriksaan glukosa darah puasa kelompok P ₃	50
4.5 Hasil pemeriksaan glukosa darah puasa kelompok P ₄	51
4.6 Hasil pemeriksaan glukosa darah puasa kelompok P ₁ , P ₂ , P ₃ , P ₄	52

DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Rata-rata hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa mencit	40
4.2 Uji normalitas data berat badan mencit.....	42
4.3 Hasil uji <i>post-hoc Tukey</i> berat badan mencit	43
4.4 Uji normalitas data KGD 1 kelompok P ₁ , P ₂ , P ₃ , dan P ₄	44
4.5 Hasil uji <i>post-hoc Tukey</i> KGD 1 kelompok P ₁ , P ₂ , P ₃ , dan P ₄	44
4.6 Uji normalitas data KGD 1 dan KGD 2 kelompok P ₁ , P ₂ , P ₃ , dan P ₄	45
4.7 Hasil uji <i>paired T-test</i> KGD 1 dan KGD 2 kelompok P ₁ , P ₂ , P ₃ , dan P ₄	45
4.8 Uji normalitas data Δ KGD kelompok P ₁ , P ₂ , P ₃ , dan P ₄	46
4.9 Hasil uji <i>post-hoc Tukey</i> Δ KGD kelompok P ₁ , P ₂ , P ₃ , dan P ₄	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
2.1 Keterangan Persetujuan Etik	65
2.2 Surat Rekomendasi Bebas Plagiasi	67
2.3 Perhitungan Dosis dan Volume Sediaan yang Diberikan Pada Hewan Coba	68
2.4 Standar Operasional Prosedur (SOP)	72
4.1 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah	78
4.2 Hasil Uji Analisis Data Bivariat	80
4.3 Dokumentasi Penelitian	91

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perubahan pola penyakit di masyarakat dari penyakit infeksi menjadi penyakit degeneratif diduga akibat cara hidup yang berubah. Pola makan tradisional telah bergeser menjadi pola makan modern yang disebut transisi nutrisi. Transisi nutrisi merupakan terjadinya perubahan pola makan yang mengandung banyak karbohidrat dan serat sayuran ke pola makan yang banyak mengandung protein, lemak, gula, garam, dan sedikit serat. Komposisi makanan seperti ini banyak ditemukan pada makanan cepat saji yang banyak digemari masyarakat saat ini. Selain itu, pekerjaan yang sangat sibuk dari pagi hingga malam menyebabkan kurangnya kesempatan untuk berolah raga maupun rekreasi. Hal ini terjadi akibat dampak globalisasi yang menyebabkan masyarakat cenderung mengadopsi cara kehidupan barat sehingga berdampak pada peningkatan penyakit degeneratif, seperti hipertensi, penyakit kardiovaskular, dan diabetes melitus (DM) (Suyono, 2006).

Menurut laporan *World Health Organization* (WHO), DM termasuk salah satu jenis penyakit tidak menular yang paling banyak membunuh jiwa di Asia Tenggara dan Pasifik Barat. DM dikenal sebagai *silent killer* yang sering tidak disadari oleh penyandanginya dan diketahui ketika sudah terjadi komplikasi. Secara epidemiologi, diperkirakan jumlah pasien DM diseluruh dunia pada tahun 2040 sebanyak 642 juta jiwa (WHO, 2016). Pada tahun 2015, Indonesia menempati peringkat ke-7 di dunia untuk prevalensi penderita diabetes tertinggi bersama China, India, Amerika Serikat, Brazil, Rusia, dan Meksiko dengan jumlah estimasi sebanyak 10 juta jiwa (*International Diabetes Federation Atlas*, 2015). Sedangkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2018, diperoleh bahwa prevalensi DM pada penduduk usia ≥ 15 tahun sebesar 10,9% menurut konsensus Perkeni 2015.

Diabetes Melitus (DM) merupakan kelompok penyakit metabolik yang terjadi akibat adanya kelainan sekresi insulin, sensitivitas insulin atau keduanya dengan karakteristik hiperglikemia yang dapat menimbulkan berbagai komplikasi

kronik (Perkeni, 2011). Kekurangan hormon insulin menyebabkan terganggunya proses biokimia tubuh berupa penurunan *intake* glukosa ke dalam sel yang menyebabkan terjadinya peningkatan glukosa di sirkulasi darah. Gejala yang sering timbul pada penyakit ini, antara lain mudah lapar dan haus, buang air kecil lebih sering, serta berat badan menurun. Komplikasi yang dapat timbul akibat DM didasari oleh kelainan vaskuler yaitu pembuluh darah kecil (mikroangiopati) dan pembuluh darah besar (makroangiopati) (Perkeni, 2015).

Terapi farmakologi dengan obat modern pada penderita DM terdiri atas obat antidiabetik (OAD) oral dan injeksi. OAD oral terdiri atas 6 golongan, yaitu golongan sulfonilurea, golongan glinid, biguanid, tiazolidinedion (TZD), penghambat glukosidase alfa, penghambat dipeptidyl peptidase (DPP) -IV. OAD injeksi terdiri atas insulin, analog *glucagon like peptide* (GLP), dan analog amylin. Salah satu contoh OAD yang sering digunakan oleh masyarakat adalah OAD dari golongan sulfonilurea. Mekanisme kerja golongan sulfonilurea adalah dengan menghambat kanal K-ATPase di sel beta pankreas. Penghambatan ini menyebabkan depolarisasi sel membran dan membuka kanal Ca. Terbukanya kanal Ca menyebabkan ion Ca^{++} masuk ke sel beta pankreas dan merangsang granula mensekresi insulin (Katzung, 2009). Salah satu contoh obat golongan sulfonilurea adalah glibenklamid, namun efek samping yang disebabkan adalah hipoglikemik pada penderita usia lanjut yang telah lama mengkonsumsi glibenklamid serta mempunyai kelainan ginjal dan hepar (Dipiro, 2015).

Dari meninjau efek samping yang ditimbulkan glibenklamid, maka saat ini penggunaan OAD mulai beralih ke glimepirid. Glimepirid adalah obat penurun glukosa darah oral golongan sulfonilurea generasi kedua terbaru (Basit, 2012). Mekanisme kerja glimepirid sama dengan OAD golongan sulfonilurea lainnya, tetapi glimepirid juga mempunyai mekanisme ekstra pankreas, yaitu dengan meningkatkan jumlah molekul transporter glukosa transmembran plasma otot perifer serta adiposa jaringan dan meningkatkan transport aktif glukosa (Müller, 2000). OAD ini menghasilkan glikogen dengan meningkatkan sintesis insulin dan lipogenesis, dan menghambat glukoneogenesis di hati. Keduanya meningkatkan sekresi insulin sebagai mekanisme kerja utama dan meningkatkan penggunaan

glukosa sebagai efek tambahan sehingga menghasilkan glukosa darah yang rendah (Campbell, 1998).

Penelitian menunjukkan adanya perubahan dalam metabolisme mineral dan aktivitas enzim antioksidan, seperti zink dan superoxide dismutase. Zink memiliki peran penting dalam mempertahankan antioksidan di DM. Zink memiliki berbagai macam mekanisme perlindungan dengan menjadi kofaktor penting untuk lebih dari 300 enzim, seperti superoksida dismutase dan dianggap penting untuk pembelahan sel dan sintesis DNA serta protein. Zink juga mereduksi dan menetralkan radikal bebas (*World Journal of Diabetes*, 2015). Suplemen zink telah terbukti meningkatkan respon imun sel pada lansia yang sehat. Tingkat zink yang rendah dalam tubuh menyebabkan defisiensi zink. Defisiensi zink dapat semakin buruk jika jumlah zink dalam makanan tidak dapat mencukupi kebutuhan zink tubuh dan juga bisa dikarenakan pasien memiliki kondisi kronis, seperti DM (Deshpande *et al.*, 2013).

Diabetes Melitus dapat mengganggu homeostasis zink melalui berbagai mekanisme. Salah satu mekanisme yang mengakibatkan peningkatan ekskresi urin dan penurunan total zink tubuh adalah hiperglikemia. Beberapa komplikasi DM berkaitan dengan peningkatan oksidasi intraseluler dan radikal bebas yang disertai dengan penurunan zink intraseluler dan enzim antioksidan terkait zink (Arthur, 1998). Komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler pada DM disebabkan oleh stres oksidatif. Zink yang memiliki sifat antioksidan yang dapat memperlambat komplikasi DM tersebut (Kumar *et al.*, 2017). DM kronis menyebabkan disfungsi jangka panjang pada beberapa organ. Selain itu, kondisi ini merupakan beban berat bagi sistem perawatan kesehatan karena perawatan berkelanjutan yang dibutuhkan pasien tersebut. Meskipun terdapat pilihan farmakologi untuk mengobati DM, alternatif yang diarahkan untuk menjaga integritas dan fungsi sel beta dalam jangka panjang kurang tersedia (Ruz *et al.*, 2013).

Dengan melihat perubahan dalam metabolisme zink dan aktivitas enzim superoksida dismutase yang ada di DM dan dengan pentingnya senyawa ini dalam pertahanan antioksidan, maka peneliti menambahkan zink pada terapi glimepirid untuk menganalisis peran potensial efek zink dalam pengobatan DM. Ketika tujuan

pengobatan DM tidak tercapai, maka dengan adanya terapi kombinasi diharapkan dapat mempertahankan glukosa darah tetap terkontrol dibandingkan dengan terapi tunggal.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka permasalahan yang dapat dirumuskan adalah apakah penambahan zink pada terapi glimepirid memiliki pengaruh yang lebih baik dalam menurunkan kadar glukosa darah puasa mencit yang diinduksi streptozotocin jika dibandingkan dengan terapi tunggal glimepirid?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek penambahan zink pada terapi glimepirid terhadap kadar glukosa darah puasa mencit yang diinduksi streptozotocin.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui kadar glukosa darah puasa mencit normal.
- b. Mengetahui kadar glukosa darah puasa mencit yang diinduksi streptozotocin.
- c. Mengetahui kadar glukosa darah puasa mencit yang diinduksi streptozotocin dan diberi terapi glimepirid.
- d. Mengetahui kadar glukosa darah puasa mencit yang diinduksi streptozotocin dan diberi zink.
- e. Mengetahui kadar glukosa darah puasa mencit yang diinduksi streptozotocin dan diberi terapi glimepirid serta penambahan zink.
- f. Membandingkan kadar glukosa darah puasa mencit yang diinduksi streptozotocin dan diberi terapi tunggal glimepirid dengan diberi penambahan zink pada terapi glimepirid.

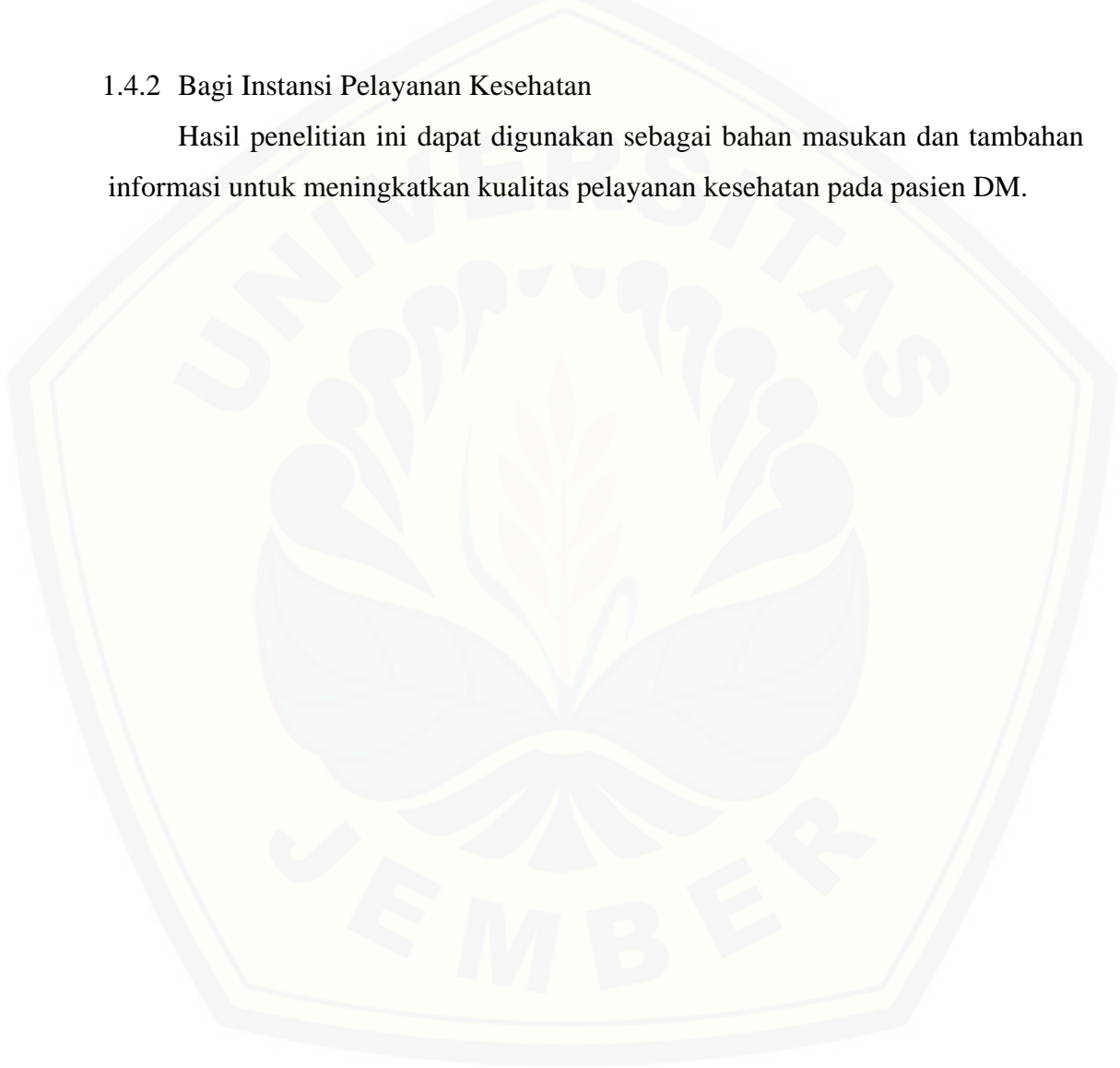
1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Pengembangan Ilmu

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah ilmu pengetahuan dan referensi dibidang ilmu kesehatan mengenai manfaat penambahan zink pada terapi glimepirid terhadap kadar glukosa darah mencit yang diinduksi streptozotocin.

1.4.2 Bagi Instansi Pelayanan Kesehatan

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan masukan dan tambahan informasi untuk meningkatkan kualitas pelayanan kesehatan pada pasien DM.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Definisi

Diabetes Melitus (DM) merupakan kelompok penyakit metabolik yang terjadi akibat adanya kelainan sekresi insulin, sensitivitas insulin atau keduanya dengan karakteristik hiperglikemia yang dapat menimbulkan berbagai komplikasi kronik pada ginjal, mata, saraf, dan pembuluh darah (Perkeni, 2011). Hal ini berhubungan dengan adanya abnormalitas pada metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein (Hasan, 2013).

2.1.2 Epidemiologi

Prevalensi penderita DM di seluruh dunia termasuk sangat tinggi dan cenderung meningkat setiap tahun. Jumlah penderita DM di seluruh dunia mencapai 422 juta penderita pada tahun 2014. Jumlah penderita DM tertinggi terdapat pada wilayah Asia Tenggara dan Pasifik Barat yang jumlahnya mencapai setengah dari jumlah seluruh penderita DM di seluruh dunia. Satu dari sebelas penduduk adalah penderita DM dan 3,7 juta kematian disebabkan oleh DM maupun komplikasi dari DM (WHO, 2015).

Di Indonesia penderita DM berjumlah 9,1 juta atau 5,7 % dari total penduduk (IDF, 2015). Jumlah tersebut dihitung hanya dari penderita DM yang telah terdiagnosis dan masih banyak penderita DM yang belum terdiagnosis. Indonesia pada tahun 2014 merupakan negara peringkat ke-5 dengan jumlah penderita DM terbanyak di dunia (Perkeni, 2015).

2.1.3 Klasifikasi

Organisasi profesi yang berhubungan dengan DM seperti *American Diabetes Association* (ADA) telah mengklasifikasikan DM berdasarkan penyebabnya. PERKENI dan IDAI merupakan organisasi profesi yang ada di Indonesia dan juga menggunakan klasifikasi dengan dasar yang sama seperti yang dibuat oleh organisasi lainnya.

Klasifikasi DM menurut Perkeni (2015) berdasarkan etiologi adalah sebagai berikut:

a. DM tipe I atau IDDM (*Insulin Dependent Diabetes Mellitus*)

DM tipe I adalah penyakit kelainan sistem imun atau kekebalan tubuh penderita yang mengakibatkan sel pankreas mengalami reaksi autoimun sehingga menyebabkan kerusakan sel beta. Reaksi autoimun tersebut diperantarai oleh makrofag dan sel limfosit T dengan autoantibodi yang bersirkulasi terhadap antigen sel beta (Triplitt, 2008). Tipe ini terjadi jika sel-sel beta pankreas memproduksi insulin terlalu sedikit atau bahkan tidak memproduksi sama sekali. Berdasarkan jumlah semua penderita diabetes, 5% – 10% nya adalah penderita diabetes tipe I (Smeltzer dan Bare, 2002).

b. DM tipe II atau NIDDM (*Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus*)

DM tipe II biasanya terjadi sekitar 90 sampai 95% dari penderita diabetes secara keseluruhan. DM tipe II terjadi akibat penurunan sensitivitas terhadap insulin (resistensi insulin) serta akibat penurunan jumlah produksi insulin (defisiensi insulin). Pada keadaan normal, insulin akan terikat dengan reseptor khusus pada permukaan sel dan terjadi suatu rangkaian reaksi dalam metabolisme glukosa di dalam sel. Resistensi insulin pada diabetes tipe II disertai dengan penurunan reaksi intrasel ini. Sehingga insulin menjadi tidak efektif untuk menstimulasi pengambilan glukosa oleh jaringan dan kadar glukosa meningkat (Smeltzer dan Bare, 2002).

c. DM Gestasional (*Gestational Diabetes Mellitus*)

DM Gestasional adalah diabetes yang timbul pada saat kehamilan, yang diakibatkan oleh intoleransi glukosa. Terjadi kombinasi dari kemampuan reaksi dan pengeluaran hormon insulin yang tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan ekstra pada kehamilan. Risiko terjadinya anomali kongenital berkaitan langsung dengan derajat hiperglikemia pada saat diagnosis ditegakkan (Schäfer *et al.*, 2014). DM gestasional terjadi sebanyak 7% dari jumlah keseluruhan kehamilan.

d. Diabetes tipe lain

Penyebab DM tipe lain sangat bervariasi. DM ini dapat disebabkan oleh defek genetik fungsi sel beta, defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, endokrinopati pankreas, obat, zat kimia, infeksi, kelainan imunologi, dan sindrom genetik lain yang berkaitan dengan DM.

2.1.4 Faktor Risiko

Faktor-faktor penyebab diabetes menurut *American Diabetes Association* (2004), antara lain:

a. Genetik

Faktor genetik merupakan salah satu faktor penting yang dapat mempengaruhi dan mengubah kemampuan sel beta untuk mengenali dan menyebarkan sel rangsang sekretoris insulin. Keadaan ini meningkatkan kerentanan individu tersebut terhadap faktor-faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi integritas dan fungsi sel beta pankreas (Price & Wilson, 2006).

b. Usia

Usia sangat erat kaitannya dengan peningkatan kadar glukosa darah, sehingga semakin bertambahnya usia maka prevalensi diabetes dan gangguan toleransi glukosa juga semakin tinggi (Goldberg & Coon, 1994). Proses menua berlangsung setelah usia 30 tahun dapat menyebabkan perubahan anatomis, fisiologis dan biokimia yang dapat mempengaruhi fungsi homeostasis. Komponen tubuh yang dapat mengalami perubahan adalah sel beta pankreas, sel-sel jaringan target, sistem saraf, dan hormon lain yang mempengaruhi kadar glukosa.

c. Jenis kelamin

Jenis kelamin laki-laki memiliki risiko DM lebih besar daripada perempuan. Para ilmuwan dari University of Glasgow, Skotlandia mengamati 51.920 laki-laki dan 43.137 perempuan yang merupakan pengidap DM tipe II dan umumnya memiliki indeks massa tubuh (IMT) di atas batas atau overweight. Laki-laki terkena DM pada IMT rata-rata 31,83 kg/m² sedangkan perempuan pada IMT 33,69 kg/m². Perbedaan risiko ini dipengaruhi oleh distribusi lemak tubuh. Pada laki-laki, penumpukan lemak terkonsentrasi di sekitar perut

sehingga memicu obesitas sentral yang lebih berisiko memicu gangguan metabolisme (Pramudiarja, 2011).

d. Berat badan

Obesitas merupakan kelebihan berat badan yang penambahan beratnya minimal 20% dari berat badan normal atau indeks massa tubuh lebih dari 25 kg/m². Obesitas menyebabkan berkurangnya respon sel beta pankreas terhadap peningkatan glukosa darah, selain itu reseptor insulin pada sel di seluruh tubuh termasuk di otot kurang sensitif dan jumlahnya berkurang (Soegondo, 2009).

e. Aktivitas fisik

Kurangnya aktivitas merupakan salah satu faktor yang ikut berperan dalam menyebabkan DM (Soegondo, 2009). Mekanisme aktivitas fisik dapat menghambat perkembangan DM, antara lain menurunkan resistensi insulin, meningkatkan toleransi glukosa, menurunkan lemak adiposa, mengurangi lemak sentral, dan merubah jaringan otot (Kriska, 2007). Semakin jarang kita melakukan aktivitas fisik maka glukosa yang dikonsumsi akan semakin lama terpakai, akibatnya peningkatan kadar gula dalam darah juga akan semakin tinggi.

f. Stres

Respon stres menyebabkan terjadinya sekresi sistem saraf simpatis yang diikuti oleh sekresi simpatis-medular. Apabila stres terus berlanjut maka sistem hipotalamus-pituitari akan diaktifkan dan akan mensekresi *corticotropin releasing factor* yang menstimulasi pituitary anterior memproduksi *adenocorticotropin factor* (ACTH). ACTH menstimulasi produksi kortisol, yang akan mempengaruhi peningkatan kadar glukosa darah (Guyton & Hall, 1996; Smeltzer & Bare, 2008).

2.1.5 Patofisiologi

Dalam keadaan fisiologis, insulin disekresikan sesuai dengan kebutuhan normal tubuh oleh sel-sel beta pankreas. Insulin yang dihasilkan berfungsi untuk meregulasi glukosa darah agar selalu pada batas fisiologis, baik setelah makan

maupun saat puasa. Sekresi insulin terjadi dalam dua fase. Fase 1 (*acute insulin secretion response*) adalah sekresi insulin yang terjadi segera setelah adanya rangsangan dari sel beta. Fase 1 dimulai dan berakhir secara cepat yang berfungsi untuk menjaga kadar gula darah yang meningkat postprandial. Setelah terjadinya fase 1, maka dilanjutkan dengan fase 2 (*sustained phase, latent phase*). Fase 2 berfungsi untuk menyempurnakan fase 1 apabila tidak adekuat. Pada fase 2 insulin kembali meningkat secara perlahan dan bertahan dalam waktu yang relatif lebih lama (Guyton & Hall, 2008).

Pada penderita DM terdapat gangguan pada metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak karena insulin tidak dapat bekerja secara optimal, jumlah insulin yang tidak memenuhi kebutuhan atau keduanya. Akibatnya kadar gula dalam darah bertambah tinggi. Gangguan metabolisme tersebut dapat terjadi karena 3 hal. Penyebab pertama dikarenakan kerusakan pada sel-sel beta pankreas karena pengaruh dari luar, seperti virus, bakteri, dan zat kimia. Penyebab kedua adalah penurunan reseptor glukosa pada kelenjar pankreas. Dan penyebab ketiga karena kerusakan reseptor insulin di jaringan perifer (Fatimah, 2015).

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 sehingga tetap dalam darah dan menimbulkan hiperglikemia postprandial (Brunner & Suddarth, 2002). Sedangkan pada DM tipe 2 disebabkan karena resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin. Resistensi insulin disebabkan oleh gangguan reseptor yang disertai dengan penurunan reaksi intrasel, sehingga insulin menjadi kurang efektif untuk menstimulasi pengambilan glukosa oleh jaringan dan dibutuhkan insulin yang lebih banyak untuk mempertahankan kadar glukosa darah agar tetap normal. Selain itu, penurunan sensitivitas juga mengganggu kerja insulin, sehingga sel beta mengalami kegagalan dengan menurunnya jumlah insulin yang beredar dan tidak mampu mempertahankan kadar glukosa darah normal. Namun, masih terdapat jumlah insulin yang adekuat untuk mencegah pemecahan lemak dan produksi badan keton (Brunner & Suddarth, 2002; Price & Wilson, 2006; Prabawati, 2012).

Resistensi insulin serta defisiensi sekresi insulin dapat menyebabkan gangguan metabolisme makronutrien, seperti karbohidrat, protein, dan lemak. Kegagalan *uptake* glukosa darah ke sel mengakibatkan sel kekurangan sumber energi dan terjadilah *starving cells*. Keadaan tersebut mengakibatkan pemecahan sel adiposa sebagai sumber energi alternatif, akibatnya leptin yang memberi stimulus sinyal kenyang pada sel adiposa pun berkurang. Hal inilah yang mengakibatkan penderita memiliki rasa lapar yang meningkat (polifagia). Glukoneogenesis berupa glikogenolisis, lipolisis, dan katabolisme protein di otot terus menerus dilakukan akibat kegagalan *uptake* glukosa sehingga menyebabkan penderita mengalami penurunan berat badan (Gardner *et al.*, 2013).

Kegagalan *uptake* glukosa darah ke sel menyebabkan kadar glukosa darah tinggi dan melebihi batas maksimum filtrasi glukosa ginjal. Akhirnya glukosa dapat lolos dari filtrasi glomerulus dan bergabung dengan urin. Glukosa dalam urin menyebabkan diuresis osmotik yang dapat menarik air dari tubulus ginjal sehingga volume urin meningkat. Akibatnya kandung kemih cepat penuh dan merangsang penderita untuk sering buang air kecil (poliuria). Kehilangan cairan ini akan mengaktifasi pusat haus sehingga menyebabkan penderita sering haus (polidipsi) (Gardner *et al.*, 2013).

2.1.6 Gejala

DM dapat menimbulkan berbagai macam gejala pada penderita. Gejala-gejala yang muncul berbeda-beda antara satu penderita dengan penderita lainnya. Gejala-gejala DM tersebut dapat dikategorikan menjadi gejala akut dan gejala kronis (Fitriani, 2015).

Gejala akut DM adalah polifagi, polidipsi, dan poliuri terutama pada malam hari. Gejala DM akut yang tidak segera diobati akan menimbulkan gejala kronis. Gejala kronis DM, antara lain kulit terasa panas, kesemutan pada jari tangan dan kaki, kebas seperti tertusuk-tusuk jarum, kram, kelelahan, mudah mengantuk, penglihatan memburuk (buram), gairah seks menurun, luka sukar sembuh, keguguran pada ibu hamil dan ibu melahirkan dengan berat bayi yang lebih dari 4 kilogram (Sidohutomo, 2009).

2.1.7 Diagnosis

Diagnosis dini penyakit DM sangat menentukan perkembangan penyakit DM pada penderita. Seseorang yang menderita DM tetapi tidak terdiagnosis dengan cepat mempunyai resiko yang lebih besar menderita komplikasi dan kesehatan yang memburuk (WHO, 2016). Penegakan diagnosis DM dilakukan dengan pemeriksaan glukosa darah berdasarkan pemeriksaan laboratorium. Metode pemeriksaan yang paling sering digunakan adalah pemeriksaan glukosa dengan cara enzimatik menggunakan bahan plasma atau serum darah vena. Penggunaan bahan *whole blood*, vena ataupun kapiler tetap dapat dipergunakan dengan memperhatikan angka kriteria diagnostik yang telah ditetapkan oleh WHO, sedangkan untuk memantau hasil pengobatan dapat dilakukan dengan menggunakan pemeriksaan glukosa darah kapiler (Perkeni, 2015).

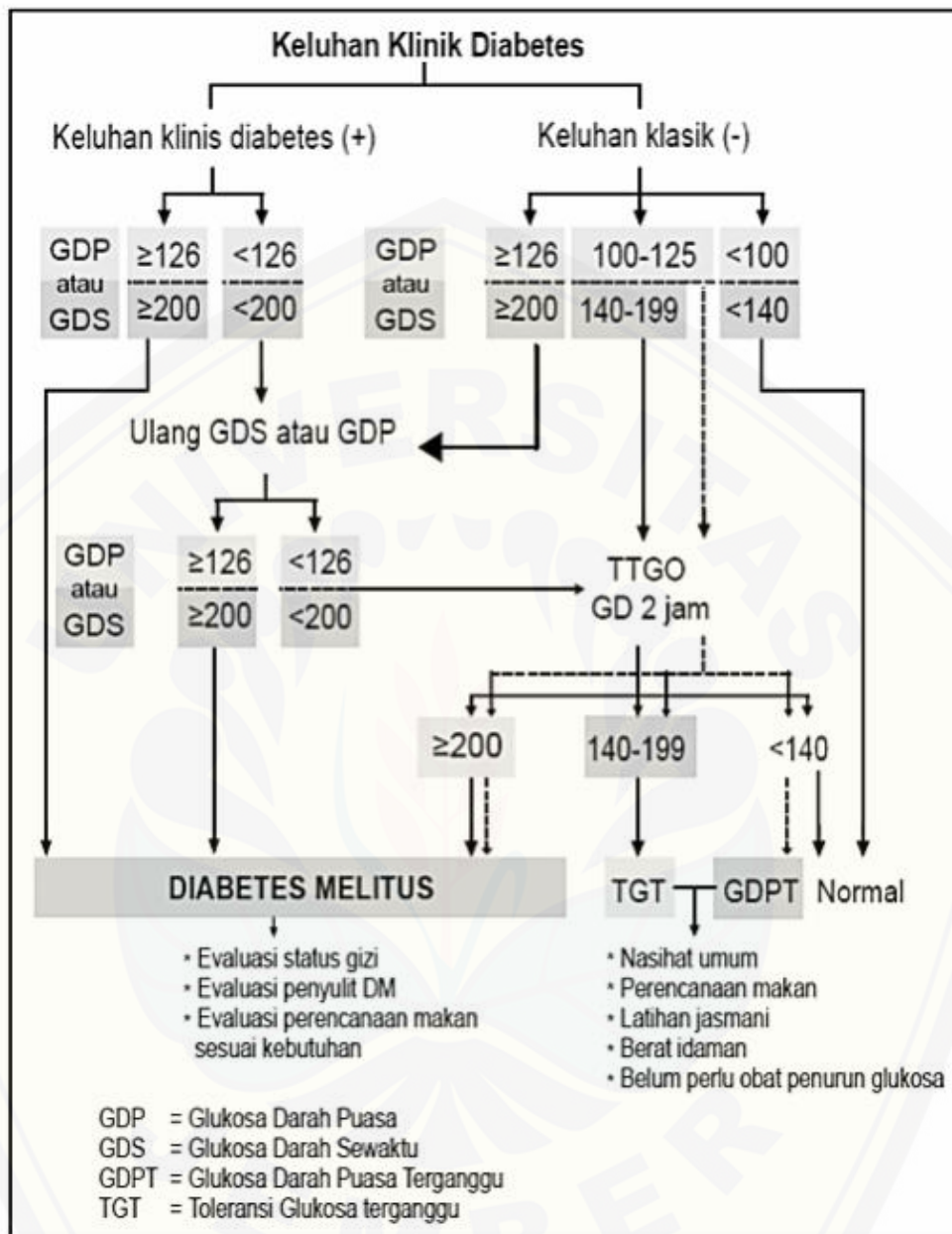
Berbagai keluhan dan gejala yang muncul pada penderita DM dapat membantu dalam menegakkan diagnosis. Kecurigaan adanya DM perlu dipikirkan apabila terdapat keluhan klasik DM, antara lain poliuri, polidipsi, polifagi dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya serta keluhan lain, seperti kelelahan, kesemutan, gatal, mata kabur, dan gangguan seks (Perkeni, 2015). Kriteria diagnosis DM menurut Perkeni (2015), antara lain:

- a. Pemeriksaan glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dl. Puasa adalah kondisi tidak ada asupan kalori minimal 8 jam.
- b. Pemeriksaan glukosa plasma ≥ 200 mg/dl 2 jam setelah Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) dengan beban glukosa 75 mg.
- c. Pemeriksaan glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/dl dengan keluhan klasik.
- d. Pemeriksaan HbA1c $\geq 6,5$ % dengan menggunakan metode yang terstandarisasi oleh *National Glycohaemoglobin Standardization Program* (NGSP).

Kadar glukosa darah yang tidak memenuhi kriteria normal dan tidak juga memenuhi kriteria diagnosis DM dikategorikan sebagai kategori prediabetes. Klasifikasi prediabetes, antara lain glukosa Darah Puasa Terganggu (GDPT), toleransi Glukosa Terganggu (TGT), dan hasil pemeriksaan HbA1c yang menunjukkan angka 5,7–6,4 % berdasarkan standar NGSP (Perkeni, 2015).

Pemeriksaan penyaring perlu dilakukan pada seseorang yang mungkin menderita DM tetapi tidak menunjukkan gejala dan keluhan. Pemeriksaan ini dilakukan untuk mendiagnosis DM tipe 2 dan prediabetes pada kelompok dengan faktor risiko DM yang tinggi, seperti kelompok dengan Indeks Massa Tubuh (IMT) yang besar dan kelompok usia >45 tahun (Perkeni, 2015).





Gambar 2. 1 Langkah diagnostik DM dan toleransi glukosa terganggu (Perkeni, 2011)

2.1.8 Komplikasi

Komplikasi yang ditimbulkan oleh DM dibagi menjadi komplikasi metabolik akut dan komplikasi vaskular kronis. Komplikasi metabolik akut menunjukkan perubahan relatif glukosa darah yang akut. Komplikasi ini dapat berupa hiperglikemia, hiperosmolar, koma nonketotik, dan ketoasidosis diabetikum (KAD). DM yang terjadi begitu lama dapat menyebabkan penyumbatan vascular yang terdiri atas makroangiopati dan mikroangiopati. Komplikasi makroangiopati, antara lain kalunan kardiovaskuler, serebrovaskuler, dan pembuluh darah. Komplikasi mikroangiopati, antara lain retinopati, neuropati, nefropati, stroke, katarak, dan glaukoma (Perkeni, 2015).

2.2 Glimepirid

2.2.1 Definisi

Glimepirid adalah obat penurun glukosa darah oral golongan sulfonilurea generasi kedua terbaru. *Food and Drug Administration* (FDA) Amerika Serikat menyetujui glimepirid pada tahun 1995 sebagai pengobatan monoterapi maupun kombinasi dengan metformin atau insulin untuk DM tipe 2. Meskipun golongan sulfonilurea lainnya boleh dikombinasikan dengan insulin, glimepirid adalah satu-satunya sulfonilurea yang disetujui oleh FDA untuk digunakan secara kombinasi dengan insulin (Basit, 2012).

2.2.2 Mekanisme Kerja

Mekanisme kerja utama glimepirid dalam menurunkan glukosa darah bergantung pada stimulasi pelepasan insulin dari sel beta pankreas. Selain itu, efek ekstra pankreas juga berperan dalam aktivitas glimepirid. Hal ini didukung oleh studi praklinis dan klinis yang menunjukkan bahwa pemberian glimepirid dapat meningkatkan sensitivitas jaringan perifer terhadap insulin. Hal ini sesuai dengan hasil uji coba terkontrol plasebo jangka panjang terapi glimepirid yang meningkatkan respon postprandial insulin dan kontrol glikemik secara keseluruhan tanpa menghasilkan peningkatan yang bermakna secara klinis dalam kadar insulin puasa. Namun, seperti obat golongan sulfonilurea lainnya, mekanisme glimepirid

menurunkan glukosa darah dalam pemberian jangka panjang masih belum jelas (FDA, 2009).

2.2.3 Farmakodinamik

Glimepirid bekerja di saluran potassium *ATPase-dependent* di sel beta pankreas untuk menstimulasi pelepasan insulin (Basit, 2012). Studi yang digunakan adalah studi klem euglikemik dan hiperglikemik yang telah terbukti meningkatkan sekresi insulin fase pertama dan kedua. Efek penurunan ringan glukosa pertama kali muncul setelah dosis oral tunggal serendah 0,5-0,6 mg pada subyek sehat. Aktivitas penurunan glukosa dan kadar insulin maksimum pada pasien DM tipe 2 dicapai dalam 2-3 jam dengan menggunakan glimepirid dan dapat bertahan selama 24 jam. Dalam 14 minggu studi klinis, konsentrasi puncak glimepirid terjadi 2 jam setelah pemberian 1, 4, dan 8 mg dosis glimepirid yang dikaitkan dengan penurunan glukosa darah puasa (FDA, 2009).

Dalam studi rentang dosis yang lebih besar, glukosa darah dan HbA1c merespon tergantung dosis glimepirid dengan rentang 1-4 mg/hari. Beberapa pasien, terutama mereka yang memiliki kadar glukosa darah puasa lebih tinggi mendapatkan efek pada dosis glimepirid hingga 8 mg satu kali sehari. Tidak ada perbedaan respons yang ditemukan ketika glimepirid diberikan satu atau dua kali sehari. Terapi glimepirid meningkatkan respon postprandial insulin/C-peptida, dan 75% pasien dapat mempertahankan kontrol glukosa darah dan HbA1c (FDA, 2009).

Dalam penelitian *in vitro*, glimepirid ditemukan dua kali lebih kuat daripada glibenklamide dalam merangsang lipogenesis dan glikogenesis. Mekanisme yang terjadi adalah aktivasi protein transpor GLUT4 serta translokasi lemak dan otot. Glimepirid mengurangi resistensi insulin dan meningkatkan pembuangan glukosa hepatic pada hewan coba, tetapi tidak menunjukkan efek pada pasien dengan DM tipe 1 (Basit, 2012).

Glimepirid tampaknya memiliki lebih sedikit efek kardiovaskular daripada obat golongan sulfonilurea lainnya. Hal ini berkaitan dengan sedikit perubahan jantung, lebih sedikit aritmia ventrikel, dan sedikit atau tidak ada efek pada tekanan darah dibandingkan dengan glyburide dan glipizide dalam penelitian hewan coba.

Mekanisme yang tepat dari perbedaan aktivitas kardiovaskular ini masih belum jelas. Namun, keterlibatan saluran *adenosine triphosphate-sensitive potassium* (KATP) diduga memiliki peran penting (Basit, 2012).

2.2.4 Farmakokinetik

Setelah pemberian oral, glimepirid diabsorpsi seluruhnya di saluran pencernaan. Studi dengan dosis oral tunggal pada subyek normal dan dengan beberapa dosis oral pada pasien dengan DM tipe 2 telah menunjukkan penyerapan glimepirid secara signifikan terjadi dalam 1 jam setelah pemberian dan kadar puncak obat (C_{max}) terjadi dalam 2 sampai 3 jam (FDA, 2009).

Glimepirid sepenuhnya dimetabolisme oleh biotransformasi oksidatif setelah dosis IV atau oral. Metabolit utamanya adalah turunan *cyclohexyl hydroxy methyl* (M1) dan turunan karboksil (M2). Sitokrom P450 2C9 telah terbukti terlibat dalam biotransformasi glimepirid ke M1. M1 selanjutnya dimetabolisme menjadi M2 oleh satu atau beberapa enzim sitosol. Namun, efek penurunan glukosa dari M1 secara klinis masih belum jelas (FDA, 2009).

Ketika C-glimepirid diberikan secara oral, sekitar 60% dari total ditemukan dalam urin selama 7 hari. M1 (predominan) dan M2 menyumbang 80-90% dari yang ditemukan dalam urin. Sekitar 40% dari total ditemukan dalam feses. M1 dan M2 (predominan) menyumbang sekitar 70% dari yang ditemukan dalam feses (FDA, 2009).

2.2.5 Indikasi

Glimepirid diindikasikan sebagai obat untuk meningkatkan kontrol glikemik pada orang dewasa dengan DM tipe 2. Selain itu, glimepirid lebih aman digunakan pada pasien jantung daripada sulfonilurea lainnya karena kurangnya efek merugikan pada *preconditioning* jantung (FDA, 2009).

2.2.6 Dosis dan Cara Pemberian

Tidak ada dosis tetap untuk pengobatan DM dengan glimepirid atau obat hipoglikemik lainnya. Glukosa darah puasa pasien dan HbA1c harus diukur secara

berkala untuk menentukan dosis efektif minimum untuk pasien. Penurunan glukosa darah yang tidak memadai pada dosis maksimum harus diukur untuk mendeteksi kegagalan primer. Hilangnya respon penurunan glukosa darah yang adekuat setelah periode awal dilihat untuk mendeteksi kegagalan sekunder. Level hemoglobin glikosilat harus diukur untuk memantau respon pasien terhadap terapi (FDA, 2009).

a. Dosis Awal

Dosis awal glimepirid yang digunakan sebagai terapi awal adalah 1-2 mg, satu kali sehari, diberikan bersama makanan pertama. Pasien yang lebih sensitif terhadap obat hipoglikemik dimulai dengan dosis 1 mg sekali sehari dan harus dititrasasi dengan hati-hati (FDA, 2009).

b. Dosis Pemeliharaan

Dosis pemeliharaan sebanyak 1-4 mg, sekali sehari. Dosis maksimum yang disarankan adalah 8 mg, sekali sehari (Katzung, 2002). Setelah mencapai dosis 2 mg, peningkatan dosis harus dilakukan dengan penambahan yang tidak lebih dari 2 mg pada interval 1-2 minggu berdasarkan respon glukosa darah pasien. Efikasi jangka panjang harus dipantau dengan mengukur kadar HbA1c, misalnya, setiap 3 sampai 6 bulan (FDA, 2009).

2.2.7 Efek Samping

Insiden hipoglikemia pada glimepirid dengan nilai glukosa darah <60 mg/dL terjadi sebanyak 0,9-1,7% dalam dua penelitian besar selama 1 tahun. Glimepirid telah dievaluasi pada 2.013 pasien dalam uji coba keselamatan terkontrol AS dan pada 1.551 pasien dalam uji coba terkontrol asing. Lebih dari 1.650 pasien ini dirawat setidaknya selama 1 tahun. Efek samping, selain hipoglikemia, dianggap mungkin atau mungkin terkait dengan glimepirid ditunjukkan di bawah ini.

a. Reaksi Gastrointestinal

Muntah, nyeri gastrointestinal, dan diare telah dilaporkan, tetapi insiden dalam uji coba terkontrol plasebo hasilnya kurang dari 1%. Dalam kasus yang jarang terjadi, mungkin ada peningkatan kadar enzim hati. Dalam kasus terpisah,

gangguan fungsi hati, misalnya dengan kolestasis dan penyakit kuning, serta hepatitis, yang juga dapat menyebabkan gagal hati telah dilaporkan (FDA, 2009).

b. Reaksi Dermatologi

Reaksi kulit alergi, misalnya, pruritus, eritema, urtikaria, dan erupsi morbilliform atau makulopapul, terjadi pada kurang dari 1% pasien. Reaksi ini mungkin hanya sementara dan dapat menghilang meskipun terus menggunakan glimepirid. Jika reaksi hipersensitivitas tersebut bertahan atau memburuk, misal dispnea, penurunan tekanan darah, dan syok, maka obat harus dihentikan. Porfiria kutan tarda, reaksi fotosensitivitas, dan alergi vaskulitis juga telah dilaporkan (FDA, 2009).

c. Reaksi Hematologi

Leukopenia, agranulositosis, trombositopenia, anemia hemolitik, anemia aplastik, dan pansitopenia telah dilaporkan (FDA, 2009).

d. Reaksi Metabolik

Reaksi porfiria hati dan reaksi seperti disulfiram telah dilaporkan. Kasus hiponatremia telah dilaporkan dengan glimepirid dan semua sulfonilurea lainnya, paling sering terjadi pada pasien yang menggunakan obat lain atau memiliki kondisi medis yang diketahui menyebabkan hiponatremia atau meningkatkan pelepasan hormon antidiuretik. Sekresi *syndrome of inappropriate antidiuretic hormone* (SIADH) telah dilaporkan dengan penggunaan sulfonilurea (FDA, 2009).

e. Reaksi Lain

Perubahan dalam akomodasi mata dapat terjadi dengan penggunaan glimepirid. Hal ini diperkirakan karena perubahan glukosa darah dan mungkin lebih memiliki efek ketika pengobatan baru dimulai (FDA, 2009).

2.3 Zink

2.3.1 Definisi

Zink adalah salah satu jenis mineral yang diperlukan oleh tubuh untuk aktivitas metabolik 300 enzim, dan dianggap penting untuk pembelahan sel dan

sintesis DNA serta protein. Enzim-enzim ini terlibat dalam metabolisme protein, karbohidrat, dan lemak. Zink juga penting untuk pertumbuhan jaringan, penyembuhan luka, pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan, fungsi sistem kekebalan tubuh, produksi prostaglandin, fungsi tiroid, dan pembekuan darah (Deshpande *et al.*, 2013).

Zink terdapat di semua organ, jaringan, dan cairan tubuh. Total zink pada tubuh manusia dewasa sekitar 1,5-2,0 gram atau sekitar 0,003% dari total berat. Kebutuhan fisiologis zink pada pria dewasa adalah 1,4 mg/hari dan 1,0 mg/hari untuk wanita. Adanya perbedaan antara asupan dan penyerapan itu sangat penting, karena meskipun beberapa asupan zink diterima, tingkat inhibitor, misalnya serat dan phytates dalam makanan dapat menyebabkan jumlah zink yang diserap tidak cukup. Tingkat zink yang rendah atau kekurangan zink dalam tubuh menyebabkan defisiensi zink. Suplemen zink telah terbukti meningkatkan respon imun yang pada lansia yang sehat (Deshpande *et al.*, 2013). *Recommended Dietary Allowance* (RDA) jumlah zink yang telah ditetapkan untuk anak laki-laki dan laki-laki usia 14 dan lebih tua, 11 mg/hari; wanita 19 tahun ke atas, 8 mg/hari; wanita hamil 14 hingga 18, 13 mg/hari; wanita hamil 19 dan lebih tua, 11 mg/hari; wanita menyusui 14 hingga 18, 14 mg/hari; wanita menyusui 19 dan lebih tua, 12 mg/hari. Tingkat toleransi atas untuk orang yang tidak menerima zink di bawah pengawasan medis, yaitu dewasa 19 tahun dan lebih tua (termasuk kehamilan dan menyusui), 40 mg/hari. Bentuk garam yang berbeda memberikan jumlah unsur zink yang berbeda. Zink sulfat mengandung 23% unsur zink; 220 mg zink sulfat mengandung 50 mg Zink. Zink glukonat mengandung 14,3% unsur zink; 10 mg zink glukonat mengandung 1,43 mg zink.

2.3.2 Metabolisme

Sekitar 25-66% dari diet zink diserap terutama di jejunum dan ileum dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Protein SLC39 yang merupakan anggota ZIP (*zink importer*) pengangkut ion logam yang terlibat dalam penyerapan zink untuk melintasi membran plasma berbagai jenis sel dan SLC39A4 yang secara khusus terlibat dalam penyerapan makanan yang mengandung zink ke dalam enterosit usus.

Phytate (*inositol hexaphosphate*) merupakan makanan yang menghambat penyerapan sedangkan protein hewani meningkatkan penyerapan zink. Kandungan zink total pada tubuh diperkirakan sekitar 2,5 g pada pria dan 1,5 g pada wanita. Bagian utama dari serum atau plasma zink, yaitu sekitar 57% beredar dengan albumin, 40% dengan α_2 globulin dan 3% dengan asam amino. Konsentrasi serum zink 16% lebih tinggi daripada plasma karena faktor pengenceran, disintegrasi dari platelet dan hemolisis. Tingkat serum zink normal adalah 70-125 $\mu\text{g/dl}$ dan wanita memiliki nilai sedikit lebih rendah. Otot skeletal menyumbang sekitar 60% dari total massa tubuh dan massa tulang sekitar 30%. Lebih dari 95% zink ada intraseluler. Homeostasis zink intraseluler diatur dengan *buffering metallothioneins* dan transporter zink. Zink hilang dari tubuh melalui ginjal, kulit dan usus (Bimola *et al.*, 2014).

2.3.3 Pengaruh Zink terhadap Insulin

Zink memiliki peran penting dalam regulasi metabolisme insulin dan karbohidrat (Chausmer, 1998). Zink berperan dalam penyimpanan dan sekresi insulin oleh pankreas, yang selanjutnya meningkatkan pengambilan glukosa. Tingkat plasma zink yang rendah berdampak buruk terhadap kemampuan sel untuk memproduksi dan mengeluarkan insulin (Rungby, 2010).

Molekul insulin matang adalah protein 6 kDa yang terdiri dari dua rantai polipeptida yang diumpamakan sebagai A dan B yang bergabung dengan dua pasang ikatan disulfida dengan ikatan disulfida intramolekul tambahan dalam rantai A. Insulin mRNA berfungsi untuk menghasilkan molekul preproinsulin yang tidak aktif yang terdiri dari dua rantai yang dihubungkan oleh C-peptida dan sinyal peptida yang melekat pada N-terminalnya. Preproinsulin pertama kali disintesis di dalam lumen retikulum endoplasma kasar (RER), tempat sinyal peptida membelah, membentuk proinsulin. Proinsulin kemudian diangkut ke jaringan trans-golgi dan dibentuk dalam butiran sekretori di mana pematangan terjadi. Proinsulin dibelah oleh pengubah prohormon (PC1 / 3 dan PC2, disandikan oleh PCSK1 dan PCSK2) untuk menghasilkan C-peptida dan molekul insulin asli (Steiner *et al.*, 2009).

Insulin pada awalnya disimpan sebagai monomer dan kemudian membentuk dimer karena terakumulasi dalam butiran yang matang. Dengan adanya zink, terkonsentrasi dalam vesikula yang matang oleh transporter zink ZnT8, dimer bergabung untuk membentuk heksamer di sekitar dua ion Zn^{2+} (Emdin *et al.*, 1980). Proses heksamerisasi mengurangi kelarutan insulin dan memicu kristalisasinya, meningkatkan kapasitas penyimpanan vesikel yang mensekresi insulin (Dunn, 2005; Li, 2014). Ketika vesikel ini berfusi dengan membran plasma, kristal insulin dikeluarkan ke dalam cairan antar sel. Kristal insulin tersebut larut dan berdisosiasi menjadi monomer dan monomer ini diangkut ke jaringan lain melalui aliran darah dan akhirnya mengikat insulin reseptor (Dunn, 2005). Zink juga mempromosikan fosforilasi Akt dan GSK 3B, ekspresi hexokinase-2 dan menghambat regulator negatif dari Akt. Hal tersebut memiliki peran penting dalam meningkatkan ekspresi GLUT 4 dan metabolisme selagi menurunkan apoptosis seluler, hiperglikemia, dan kelebihan glukosa dalam jaringan ginjal (Sun *et al.*, 2014).

2.3.4 Pengaruh Zink terhadap DM

Zink memiliki peran antioksidan. Zink bertindak sebagai kofaktor untuk enzim dismutase superoksida, mengatur metabolisme glutathione dan ekspresi metallothionein, bersaing dengan besi dan tembaga di membran sel dan juga menghambat enzim *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase* (*NADPH-oxidase*). Hal lain yang penting adalah dismutase superoksida, mengatur detoksifikasi oksigen reaktif dan mengkatalisis dismutasi anion superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen (Festa, 2008).

DM tipe 2 dikaitkan dengan peningkatan stres oksidatif. Meskipun zink tidak dapat mempengaruhi reaksi redoks secara langsung, ia memiliki beberapa fungsi antioksidan. Zink dapat menginduksi sintesis metallothionein dan glutathione. Aksi zink pada metabolisme glutathione mempengaruhi ekspresi enzim glutamat-sistein ligase yang terlibat dalam sintesis glutathione, yang langsung bertindak pada netralisasi radikal bebas dan secara tidak langsung sebagai kofaktor glutathione peroxidase (Oteiza, 2012).

Penelitian pada mencit DM menunjukkan bahwa suplementasi zink dapat meningkatkan aktivitas dismutase superoksida sehingga menyebabkan peningkatan aktivitas enzim glutathione peroksidase serta penurunan konsentrasi malondialdehyde dan nitrit oksida. Aktivitas sintase oksida nitrat di pankreas dan serum mencit ini juga menunjukkan tindakan protektif terhadap stres oksidatif yang ada pada DM tipe 2 (Zhou, 2007). Stres oksidatif yang ditemukan pada DM tipe 2 diperbaiki oleh aksi zink yang dapat mengurangi hiperglikemia kronis. Zink juga memfosforilasi reseptor insulin dengan meningkatkan transportasi glukosa ke dalam sel (Capdor, 2013). Sehingga pasien dengan konsentrasi serum mineral yang lebih tinggi dapat meningkatkan sensitivitas insulin mereka (Vashum *et al.*, 2014). Namun, mekanisme zink dalam menurunkan kadar glukosa darah pada hiperglikemia masih belum bisa ditentukan secara pasti.

2.4 Superoksida Dismutase (SOD)

2.4.1 Definisi

Superoxide Dismutase (SOD) adalah *metalloenzymes* yang mengandung atom Cu, Zn atau Fe yang dibentuk dalam sitosol dan Mn dalam matrik mitokondria dengan cara kerja mengkatalisis reaksi dismutase pada *superoxide* menjadi *hydrogen peroxide* dan oksigen (Halliwell, 2006). Selanjutnya *hydrogen peroxide* diubah menjadi molekul air oleh enzim katalase dan glutathione peroksidase (Sibuea, 2003). SOD merupakan enzim antioksidan yang berefek sangat kuat dan merupakan pertahanan tubuh pertama dalam menghadapi radikal bebas. Keberadaan SOD dapat ditemukan di otak, hati, sel darah merah, ginjal, tiroid, testis, otot jantung, mukosa lambung, kelenjar pituitari, pankreas dan paru (Halliwell & Gutteridge, 1995). Aktivitas SOD dapat dijadikan acuan pengukuran stress oksidatif dalam tubuh. Kadar SOD juga dipengaruhi oleh usia jika semakin tua maka kadar SOD semakin menurun, selain itu juga dikendalikan oleh faktor genetik (Sibuea, 2003).

2.4.2 Jenis

- a. SOD1 (Sitosolik Cu/ZnSOD)

SOD1 adalah SOD intraseluler utama (sistosolik Cu/ZnSOD). SOD ini terletak sebagai homodimer 32 kDa dan terutama di sitosol dengan fraksi yang lebih kecil di ruang intermembrane mitokondria (Okado-Matsumoto, 2001). Enzim ini sensitif terhadap sianida, yang membantu membedakannya dari SOD2, yang relatif tahan. Gen manusia untuk SOD1 terletak di 21q22.1 kromosom 21 (Levanon *et al.*, 1985). Peran SOD1 masih belum jelas, tetapi kemungkinan peningkatan aktivitas SOD1 meningkatkan kadar H₂O₂, yang menyebabkan keracunan (Elroy-Stein *et al.*, 1986). Aktivitas enzimatik SOD1 tergantung pada keberadaan Cu dan Zn. Zn berpartisipasi dalam pelipatan dan stabilitas protein (Rigo *et al.*, 1977).

b. SOD2 (MnSOD)

SOD2 adalah Mn mitokondria yang mengandung enzim (MnSOD), yang tersusun dari homotetramer 96 kDa dan terletak dalam matriks mitokondria (Fridovich, 1986). Mn di SOD2 berfungsi untuk mengkatalisis disproporsi O₂ menjadi oksigen dan H₂O₂ seperti SOD1 dan SOD3 (Cu / ZnSODs) (Hsu *et al.*, 1996). SOD2 disintesis dalam sitoplasma dan diarahkan ke mitokondria oleh sinyal peptide yang terlibat dalam dismutasi O₂ yang dihasilkan oleh rantai enzim. Tipe ini disintesis terbanyak di cairan ekstraseluler oleh beberapa sel saja, contohnya sel endotel dan fibroblast (Borgstahl *et al.*, 1992).

c. SOD3 (FeSOD)

SOD3, sekresi ekstraseluler Cu/Zn yang mengandung SOD (ecSOD), adalah SOD utama di ruang ekstraseluler vaskular. Pada kebanyakan spesies, SOD3 adalah homotetramer 135 kDa yang terdiri dari dua dimer yang terhubung dengan disulfida. Lokasi utama SOD3 dalam jaringan adalah pada matriks ekstraseluler dan pada permukaan sel dengan fraksi yang lebih kecil dalam plasma dan cairan ekstraseluler. Jaringan SOD3 diperkirakan mencapai 90% – 99% dari SOD3 dalam tubuh (Marklund, 1984). Distribusi jaringan bervariasi pada setiap spesies, tetapi secara umum SOD3 berada pada jaringan tertentu, seperti pembuluh darah, paru-paru, ginjal, rahim, dan, pada tingkat lebih rendah, di jantung. Dalam jaringan vaskular, SOD3 terutama disintesis oleh sel otot polos pembuluh darah dan fibroblast (Stralin *et al.*, 1995).

2.5 Streptozotocin

2.5.1 Definisi dan Sifat Kimia

Streptozotocin (STZ) (*2-deoxy-2-(3-methyl-3-nitrosourea)-1-D-glucopyranose*) merupakan derivat *Streptomyces achromogenes* dan secara struktural merupakan analog nitrosourea yang termasuk bagian dari *N-methyl-N-nitrosourea* (Lenzen, 2008). STZ memiliki rumus molekul $C_8H_{15}N_3O_7$, berat molekul 265 g/mol, dan strukturnya tersusun dari bagian nitrosourea dengan metil yang melekat pada salah satu ujung dan molekul glukosa di ujung-ujung lainnya (Eleazu *et al.*, 2013).

2.5.2 Mekanisme Kerja

STZ menimbulkan efek toksik dengan cara menembus sel beta pankreas melalui transporter glukosa GLUT 2. Setelah itu, terjadi alkilasi DNA melalui peningkatan aktivitas guanilil siklase dan pembentukan cGMP oleh STZ melalui gugus nitrosourea yang mengakibatkan kerusakan pada sel beta pankreas (Szkudelski, 2001).

STZ mampu mengakibatkan pembentukan *radical Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menyebabkan peningkatan anion superoksida dan aktivitas xantin oksidasi dalam mitokondria. Dalam hal ini STZ akan menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria yang mengakibatkan produksi ATP terbatas dan terjadi pengurangan secara drastis pada nukleotida sel beta pankreas yang akhirnya akan menghambat sekresi dan sintesis insulin (Szkudelski, 2001).

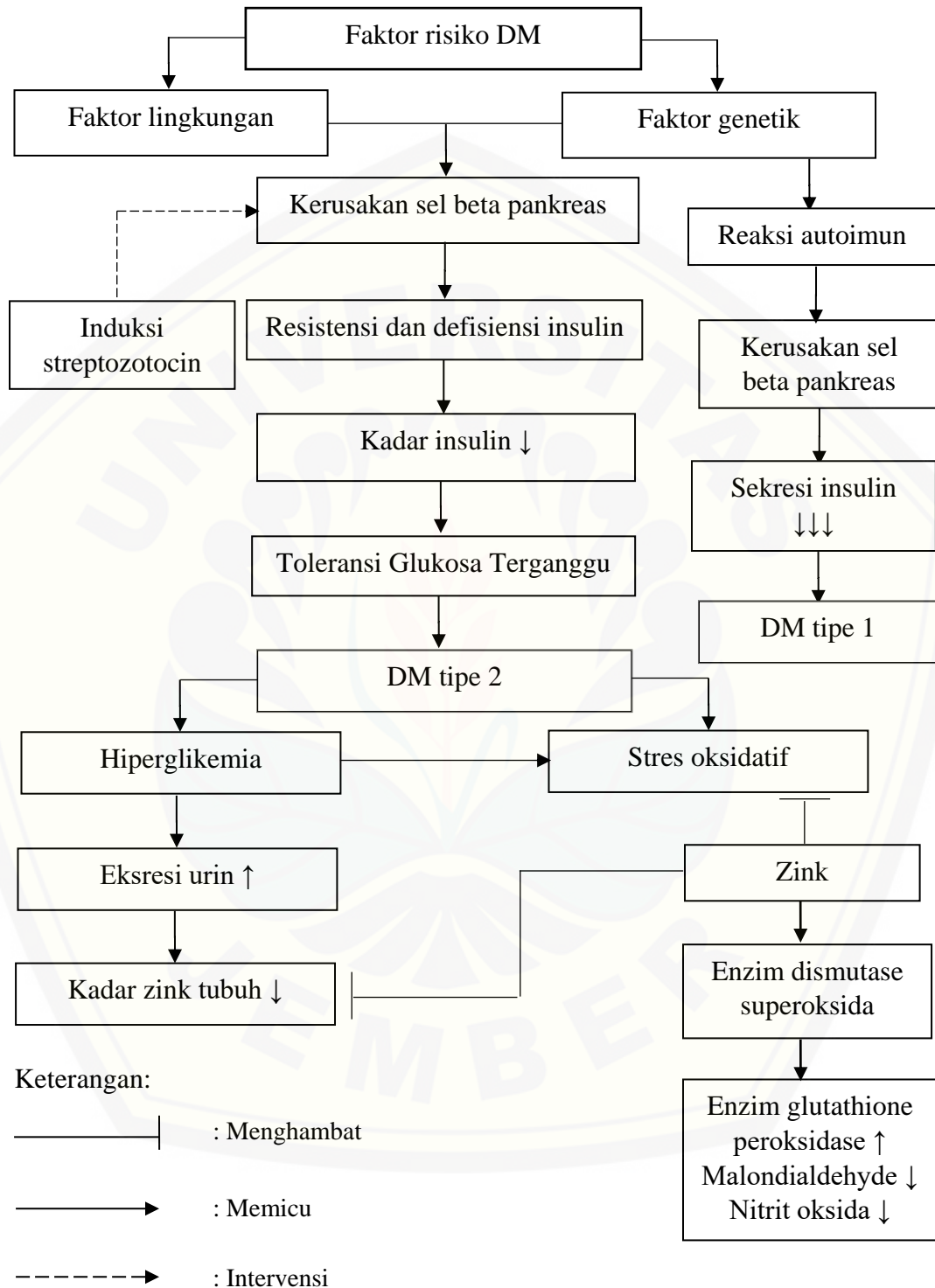
Banyak penelitian yang telah dilakukan sebelumnya untuk mengetahui berapa dosis STZ yang dapat menyebabkan DM. Pada DM tipe 1 diberikan secara intraperitoneal dengan dosis STZ sebesar 200 mg/KgBB yang menghasilkan kadar glukosa darah puasa >500 mg/dL (Wu, 2008). Pada ada DM tipe 2 dapat diberikan secara intraperitoneal dengan dosis 150 mg/KgBB (Hayashi *et al.*, 2006). Injeksi STZ pada mencit dapat menyebabkan kerusakan pada sel beta pankreas yang mengakibatkan timbulnya DM dalam waktu 2-4 hari (Akbarzadeh *et al.*, 2007).

Beberapa peneliti menggambarkan respon trifasik dalam glukosa darah setelah pemberian STZ. Menurut penelitian mereka, dalam 2 jam pertama, glukosa

darah akan meningkat. Hiperglikemia transien ini disebabkan oleh kerusakan glikogen hati secara tiba-tiba. Fase kedua, dimulai sekitar 6 jam setelah pemberian STZ yang merupakan hipoglikemik cukup berat sehingga dapat menyebabkan kematian. Fase ketiga, yaitu hiperglikemia permanen, dimulai sekitar 10-12 jam setelah pemberian STZ. Perubahan struktural dalam sel beta pankreas (degranulasi total) terjadi dalam waktu 48 jam setelah pemberian STZ dan bertahan hingga 4 bulan (Eleazu *et al.*, 2013).

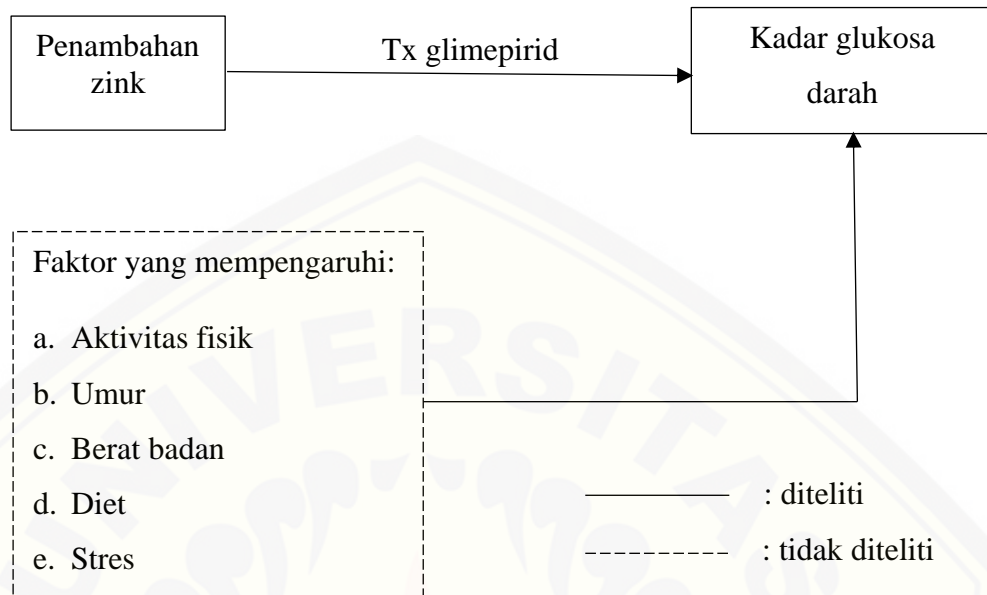


2.6 Kerangka Teori Penelitian



Gambar 2.2 Kerangka teori penelitian

2.7 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.3 Kerangka konsep penelitian

Pada mencit yang diberi induksi streptozotocin sehingga menjadi DM, diberi perlakuan berupa penambahan zink pada terapi tunggal glimepirid. Zink mengandung enzim dismutase superoksida. Enzim dismutase superoksida menyebabkan peningkatan aktivitas enzim glutathione peroksidase serta penurunan konsentrasi malondialdehyde dan nitrit oksida. Aktivitas sintase oksida nitrat di pankreas dan serum ini juga menunjukkan tindakan protektif terhadap stres oksidatif yang ada pada DM tipe 2. Stres oksidatif yang ditemukan pada DM tipe 2 diperbaiki oleh aksi zink yang dapat mengurangi hiperglikemia kronis.

Glimepirid berfungsi untuk meningkatkan sekresi insulin dan menstimulasi pelepasan insulin. Penambahan zink pada terapi tunggal glimepirid ini diharapkan dapat menyebabkan penurunan kadar glukosa darah puasa pada mencit.

2.8 Hipotesis

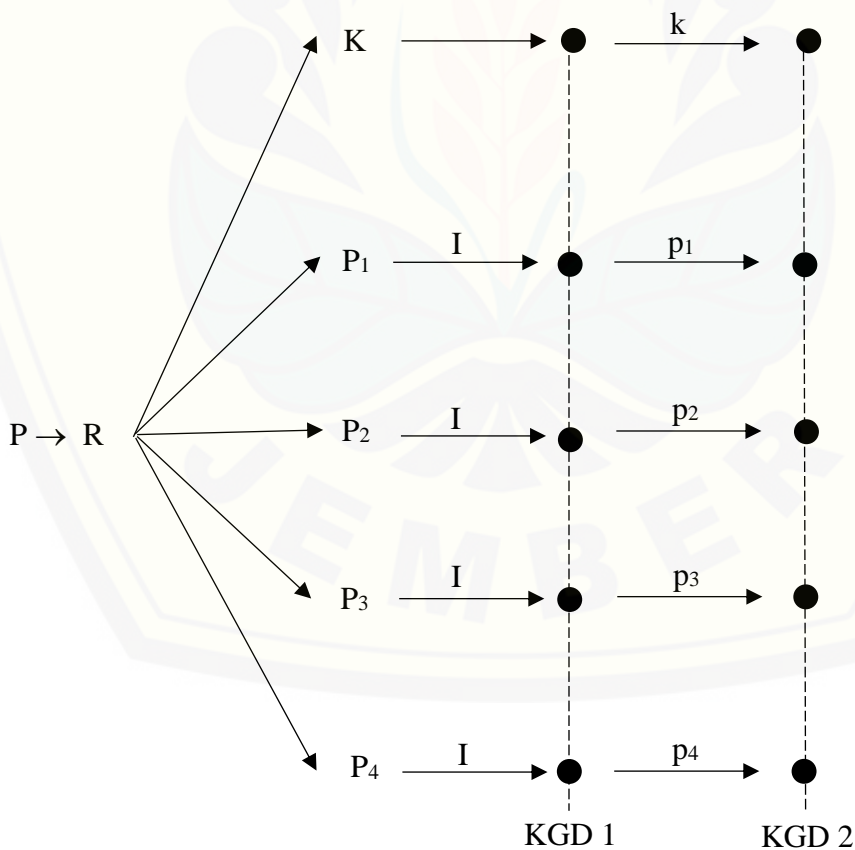
Penambahan zink pada terapi glimepirid memiliki pengaruh yang lebih baik dalam menurunkan kadar glukosa darah puasa mencit jika dibandingkan dengan terapi tunggal glimepirid.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian *true experimental*. Penelitian *true experimental* merupakan suatu bentuk rancangan penelitian kuantitatif yang menghasilkan hubungan sebab-akibat antar variable penelitian. Selain itu, penelitian ini dilakukan dengan memberlakukan dan memanipulasi subjek penelitian untuk mengontrol faktor-faktor yang dapat mempengaruhi subjek tersebut. Sedangkan rancangan penelitian menggunakan *pre-post test control group design*, yaitu dengan melakukan pengukuran sebelum dan setelah perlakuan diberikan. Hasil dari *post test* akan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Secara skematis rancangan penelitian dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan:

- P : Populasi.
R : *Random sampling*.
K, P₁, P₂, P₃, P₄ : Kelompok perlakuan 1, 2, 3, 4 dan 5.
I : Mencit diinduksi streptozotocin 150 mg/kgBB.
k : Mencit tidak diberi perlakuan.
p₁ : Mencit diinduksi streptozotocin 150 mg/kgBB.
p₂ : Mencit diinduksi streptozotocin 150 mg/kgBB lalu diberi glimepirid 0,0052 mg.
p₃ : Mencit diinduksi streptozotocin 150 mg/kgBB lalu diberi zink 0,0286 mg.
p₄ : Mencit diinduksi streptozotocin 150 mg/kgBB lalu diberi glimepirid 0,0052 mg dan zink 0,0286 mg.
KGD 1 : Kadar glukosa darah puasa mencit normal dan mencit yang telah diinduksi streptozotocin.
KGD 2 : Kadar glukosa darah puasa mencit normal dan mencit yang telah diberi perlakuan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di lab farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk perlakuan dan pengukuran kadar glukosa darah mencit jantan galur Webster (Balb/c) yang diinduksi streptozotocin. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2018-Januari 2019.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit galur Webster (Balb/c).

3.3.2 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur Webster (Balb/c) dengan berat badan 20-30 g dan berumur 2-3 bulan.

3.3.3 Cara Sampling

Perolehan sampel pada penelitian ini dilakukan 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 (Rozaini, 2003). Peneliti menggunakan teknik tabel bilangan acak. Jumlah sampel yang digunakan kurang dari 100 unit sehingga dalam pengambilan bilangan acak menggunakan dua digit.

3.3.4 Jumlah Sampel

Penentuan jumlah mencit pada 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 dalam setiap kelompok adalah 5 ekor mencit. Jadi penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit.

3.4 Variabel Penelitian

Variabel independen dalam penelitian ini adalah pemberian zink. Variabel dependen dalam penelitian ini adalah kadar glukosa darah puasa mencit. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah umur hewan coba, berat hewan coba, jenis kelamin hewan coba, dosis glimepirid, dosis streptozotocin, dan jenis pakan standar.

3.5 Definisi Operasional

3.5.1 Streptozotocin

Dalam penelitian ini mencit dibuat DM dengan menginjeksikan streptozotocin secara intraperitoneal sebanyak 150 mg/kgBB mencit. Kondisi hiperglikemik ini disebabkan karena streptozotocin merupakan *dose-dependent*, yaitu dosis rendah streptozotocin akan menyebabkan kondisi yang menyerupai NIDDM (*non insulin dependent diabetes mellitus*). Sedangkan pada dosis tinggi dapat menyebabkan IDDM (*insulin dependent diabetes mellitus*).

3.5.2 Zink

Zink yang digunakan dalam penelitian ini adalah zink generik 20 mg. Zink diberikan dalam dosis 0,0286 mg per mencit yang dilarutkan dengan larutan Na-*carboxy methyl cellulose* (CMC) 0,5%.

3.5.3 Glimepirid

Glimepirid yang digunakan dalam penelitian ini adalah glimepirid generik 2 mg. Glimepirid diberikan dalam dosis 0,0052 mg per mencit yang dilarutkan dengan larutan Na-*carboxy methyl cellulose* (CMC) 0,5%.

3.5.4 Kadar Glukosa Darah Puasa

Kadar glukosa darah mencit diukur setelah dipuasakan selama 6 jam supaya makanan yang dikonsumsi sebelumnya tidak mempengaruhi glukosa darah mencit. Selama puasa mencit tidak diberi makan tetapi masih diberi minum dengan air. Sampel darah adalah darah vena dari ekor mencit yang diperiksa dengan menggunakan glukometer dan stik glukometer.

3.5.5 Hiperglikemi

Kondisi glukosa darah mencit setelah dipuasakan selama 6 jam > 180 mg/dl diukur dengan glukometer.

3.6 Alat dan Bahan Penelitian

3.6.1 Alat

- a. Kandang mencit,
- b. Tempat makan dan minum mencit,
- c. Sonde lambung dan spuit 1 ml,
- d. Sarung tangan,
- e. Masker,
- f. *Handscoon*,
- g. Timbangan,
- h. Glukometer,
- i. Stik glukometer.

3.6.2 Bahan

- a. Zink,
- b. Glimepirid,
- c. *Aquadest*,
- d. Streptozotocin,
- e. Bufer sitrat,
- f. Na-*carboxy methyl cellulose* (CMC) 0,5%
- g. Dextrose 10%,
- h. Alkohol 70%,
- i. Pakan mencit standar,
- j. Sekam.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Adaptasi Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit putih galur Webster (Balb/c) jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 g. Hewan coba diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari untuk menyamakan proses adaptasi. Selama proses adaptasi hewan coba diberi makan dan minum.

3.7.2 Penentuan Dosis

a. Dosis Streptozotocin

Perhitungan dosis STZ untuk setiap 20 gram mencit dengan dosis tunggal sebesar 150 mg/kgBB secara intraperitoneal.

$$\begin{aligned}\text{Dosis STZ} &= 20/1000 \times 150 \text{ mg} \\ &= 3 \text{ mg}\end{aligned}$$

STZ tidak dapat larut dalam air. Sehingga, STZ diinjeksikan dalam bentuk suspensi kepada hewan coba menggunakan bufer sitrat 22,5 mg/ml dengan pH 4,3-4,5. Bufer sitrat terbuat dari campuran asam sitrat dan natrium sitrat, lalu ditambahkan aquades. Campuran tersebut dihomogenkan selama kurang lebih 5 menit. Setelah homogen campuran tersebut ditambahkan STZ dan dihomogenkan kembali, lalu diberikan injeksi secara intraperitoneal ke mencit dalam kurun waktu 5 menit.

$$\begin{aligned}\text{Volume bufer sitrat} &= (3 \text{ mg STZ} \times 1 \text{ ml}) / 22,5 \text{ mg} \\ &= 0,13 \text{ ml}\end{aligned}$$

b. Dosis Zink

Perhitungan dosis zink untuk mencit berdasarkan dosis terapi pada manusia, yaitu 11 mg per hari. Kemudian dikonversi berdasarkan rumus Laurence dan Bacharach, yaitu dosis untuk setiap 20 gram mencit setara dengan $0,0026 \times$ dosis manusia.

$$\begin{aligned}\text{Dosis zink} &= 0,0026 \times 11 \text{ mg} \\ &= 0,0286 \text{ mg}\end{aligned}$$

Zink tidak dapat larut dalam air. Sehingga, zink diberikan dalam bentuk suspensi kepada hewan coba dengan menggunakan Na-CMC 0,5%. Sebanyak 0,0286 mg serbuk zink dilarutkan dalam 0,3 ml larutan Na-CMC, lalu dihomogenkan selama kurang lebih 5 menit. Setelah homogen, larutan tersebut diberikan secara per oral melalui sonde ke mencit pada setiap pagi.

c. Dosis Glimpirid

Perhitungan dosis glimepirid untuk mencit berdasarkan dosis terapi pada manusia, yaitu 2 mg per hari. Kemudian dikonversi berdasarkan rumus

Laurence dan Bacharach, yaitu dosis untuk setiap 20 gram mencit setara dengan $0,0026 \times$ dosis manusia.

$$\begin{aligned}\text{Dosis glimepirid} &= 0,0026 \times 2 \text{ mg} \\ &= 0,0052 \text{ mg}\end{aligned}$$

Glimepirid tidak dapat larut dalam air. Sehingga, glimepirid diberikan dalam bentuk suspensi kepada hewan coba dengan menggunakan Na-CMC 0,5%. Sebanyak 0,0052 mg serbuk glimepirid dilarutkan dalam 0,3 ml larutan Na-CMC, lalu dihomogenkan selama kurang lebih 5 menit. Setelah homogen, larutan tersebut diberikan secara per oral melalui sonde ke mencit pada setiap pagi.

d. Dosis Glimepirid dan Zink

Perhitungan dosis glimepirid dan zink untuk mencit berdasarkan dosis terapi pada manusia, yaitu 2 mg per hari dan 11 mg per hari. Kemudian dikonversi berdasarkan rumus Laurence dan Bacharach, yaitu dosis untuk setiap 20 gram mencit setara dengan $0,0026 \times$ dosis manusia.

$$\begin{aligned}\text{Dosis glimepirid dan zink} &= 0,0026 \times (2 + 11) \text{ mg} \\ &= 0,0338 \text{ mg}\end{aligned}$$

Glimepirid dan zink tidak dapat larut dalam air. Sehingga, glimepirid dan zink diberikan dalam bentuk suspensi kepada hewan coba dengan menggunakan Na-CMC 0,5%. Sebanyak 0,0338 mg serbuk glimepirid dan zink dilarutkan dalam 0,3 ml larutan Na-CMC, lalu dihomogenkan selama kurang lebih 5 menit. Setelah homogen, larutan tersebut diberikan secara per oral melalui sonde ke mencit pada setiap pagi.

e. Cara Pembuatan Suspensi Na-CMC 0,5%

Na-CMC ditimbang sesuai jumlah yang dibutuhkan. Sebanyak 0,5 g bubuk CMC ditambahkan larutan *aquadest* panas 10 ml kemudian dibiarkan selama kurang lebih 15 menit sampai berwarna bening dan berbentuk menyerupai jel. Selanjutnya dihomogenkan dan diencerkan hingga mencapai 100 ml.

3.7.3 Pembagian Kelompok dan Pemeliharaan Hewan Coba

Hewan coba dibagi dalam 5 kelompok yang terdiri atas 5 perlakuan, jumlah mencit pada masing-masing kelompok adalah 5 ekor. Hewan dipelihara dalam kandang dan 1 kandang diisi 5 ekor mencit.

3.7.4 Perlakuan pada Hewan Coba Selama Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 14 hari ditambah adaptasi selama 7 hari. Setelah masa adaptasi, semua mencit dibagi menjadi 4 kelompok. Untuk kelompok K tidak diberi perlakuan dan hanya diberi pakan standar, sedangkan kelompok P₁, P₂, P₃, dan P₄ diinjeksi STZ secara intraperitoneal dengan dosis masing-masing kelompok sama, yaitu 150 mg/kgBB dengan pelarut bufer sitrat 22,5 mg/ml streptozotocin intraperitoneal. Setelah induksi, mencit diberi dextrose 10% untuk mencegah hipoglikemi mendadak setelah injeksi. Tiga hari setelah injeksi STZ, mencit dipuaskan selama 6 jam dan dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa (GDP) pada masing-masing mencit sebagai data awal. Setelah terjadi kondisi hiperglikemi pada kelompok perlakuan P₁, P₂, P₃, dan P₄, penelitian dilanjutkan dengan pemberian CMC secara sonde pada kelompok K dan P₁, pemberian glimepirid secara sonde pada kelompok P₂, pemberian zink secara sonde pada kelompok P₃, dan pemberian glimepirid dan zink secara sonde pada kelompok P₄ selama 14 hari. Setelah hari ke-14, mencit dipuaskan selama 6 jam kemudian dilakukan pengukuran kadar GDP pada semua mencit.

3.7.5 Pengambilan Darah Mencit

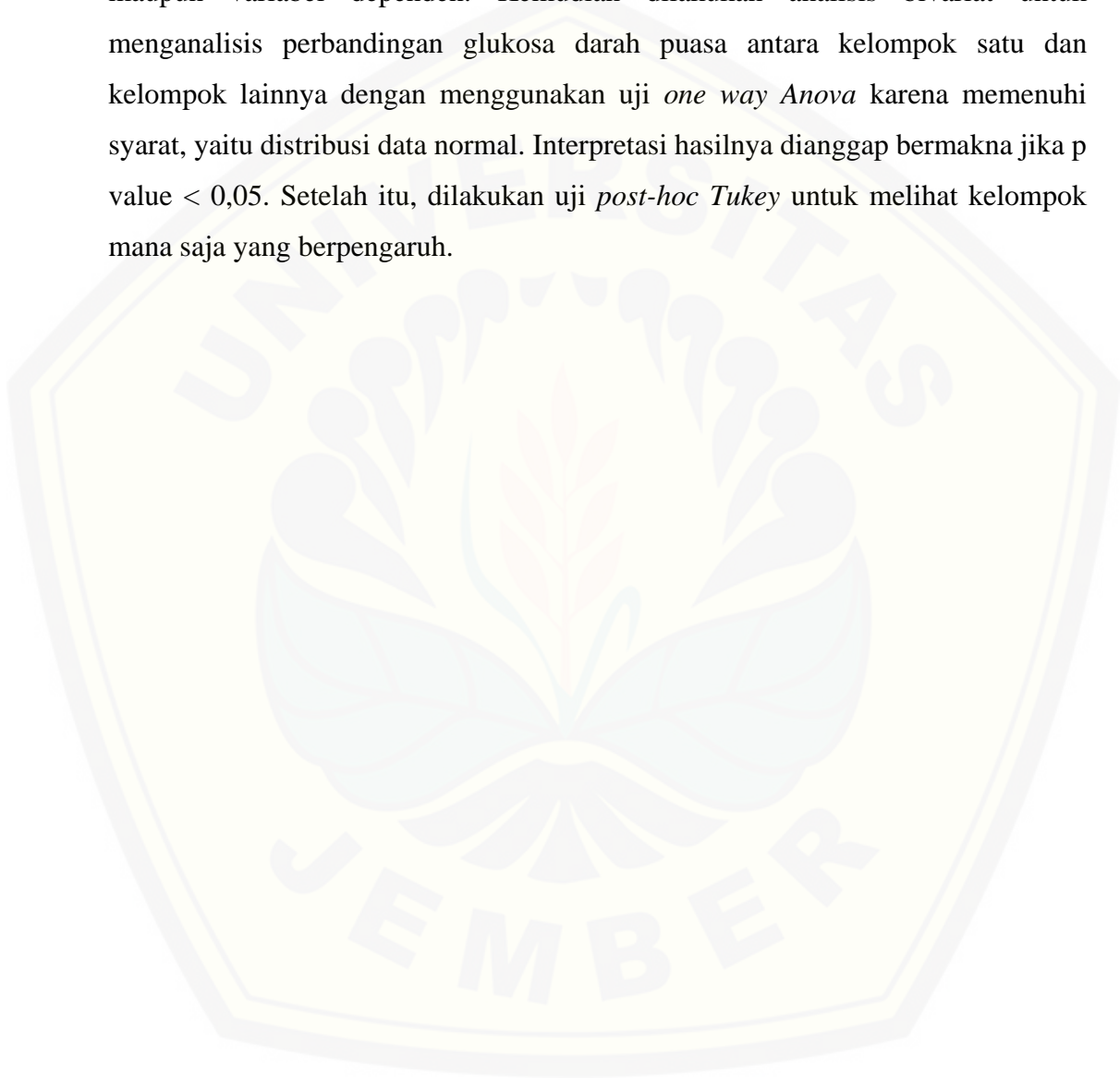
Darah mencit diambil dengan cara meletakkan dan menekan lanset pada vena ekor mencit secara aseptik. Darah yang keluar dimasukkan ke dalam glukometer untuk dilihat kadar glukosa darahnya.

3.7.6 Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah Mencit

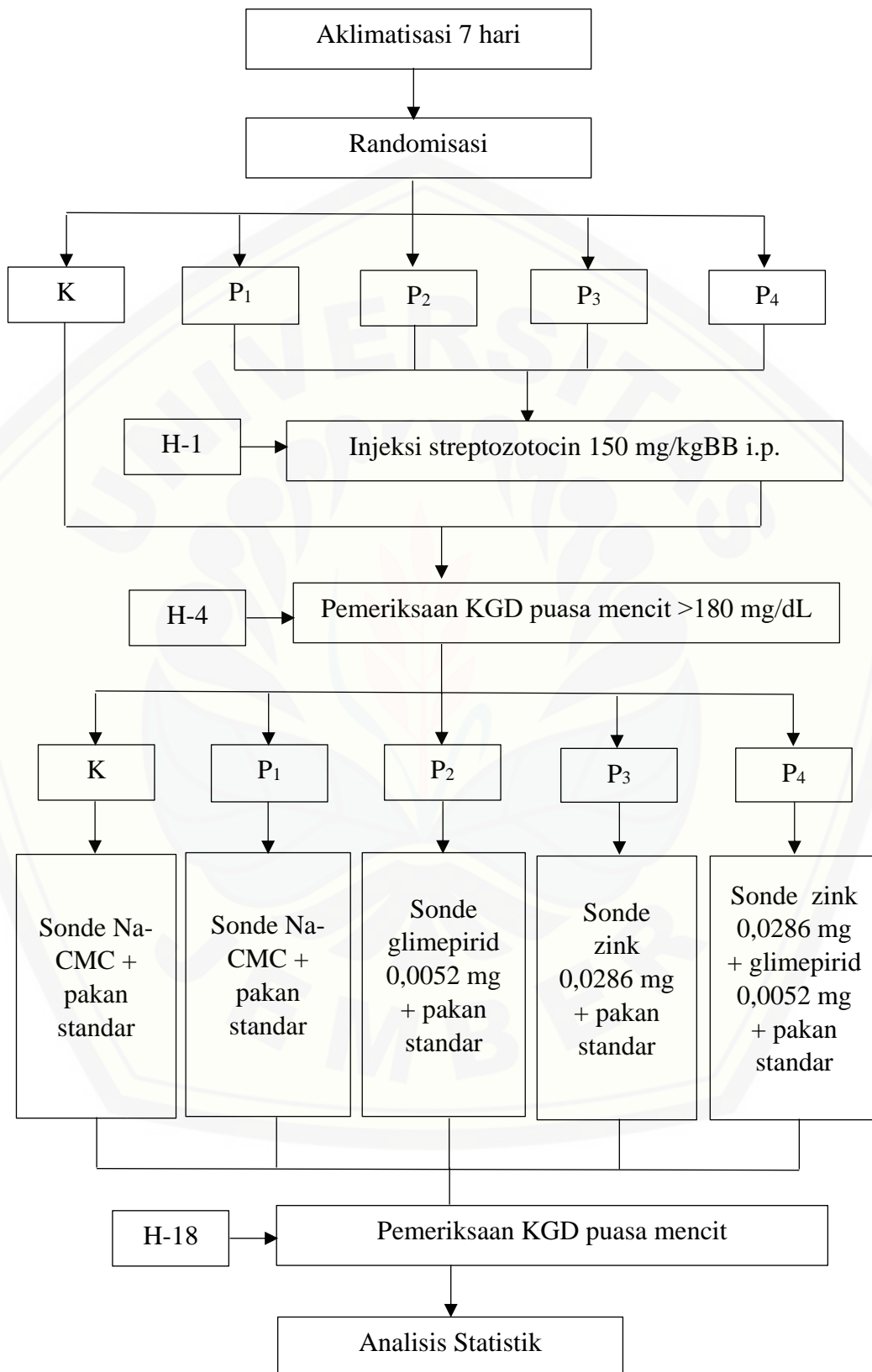
Pemeriksaan kadar glukosa darah mencit dilakukan dengan menggunakan glukometer.

3.8 Analisis Data

Setelah semua data terkumpul dilakukan tabulasi data dalam bentuk tabel dan dilakukan pengolahan data. Pertama dilakukan analisis univariat untuk menjelaskan hasil dari setiap variabel yang diteliti, baik variabel independen maupun variabel dependen. Kemudian dilakukan analisis bivariat untuk menganalisis perbandingan glukosa darah puasa antara kelompok satu dan kelompok lainnya dengan menggunakan uji *one way Anova* karena memenuhi syarat, yaitu distribusi data normal. Interpretasi hasilnya dianggap bermakna jika $p \text{ value} < 0,05$. Setelah itu, dilakukan uji *post-hoc Tukey* untuk melihat kelompok mana saja yang berpengaruh.



3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur penelitian

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Kadar glukosa darah puasa pada mencit normal (K) yang didapatkan dari rata-rata kelompok tersebut adalah $86,75 \pm 8,1$ mg/dL.
2. Kadar glukosa darah puasa pada mencit yang diinduksi streptozotocin (P₁) dengan dosis 150 mg/kgBB didapatkan dari rata-rata kelompok tersebut adalah $216,6 \pm 15,3$ mg/dL.
3. Kadar glukosa darah puasa post perlakuan pada mencit kelompok glimepirid (P₂), zink (P₃), dan kombinasi (P₄) menunjukkan adanya penurunan signifikan yang lebih baik dari kadar glukosa darah puasa pre perlakuan.
4. Penambahan zink pada terapi glimepirid tidak memiliki perbedaan yang bermakna dalam menurunkan kadar glukosa darah puasa mencit jika dibandingkan dengan terapi tunggal glimepirid.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar glimepirid dan zink dalam darah yang mampu menurunkan kadar glukosa darah pada hiperglikemi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme zink dalam menurunkan kadar glukosa darah pada hiperglikemi.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kadar zink dalam tubuh akibat adanya gangguan absorpsi oleh *phytates*.
4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan hewan coba yang makanan utamanya tidak mengandung *phytates*.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbarzadeh, A., Norouzzian, D., Mehrabi, M. R., Jamshidi, S., Farhangi, A., Verdi, A. A., Mofidian, S. M., Rad, B. L. 2007. Induction of Diabetes by Streptozotocin in Rats. *Indian J Clin Biochem*, 22(2): 60-64.
- American Diabetes Association. 2004. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 27(1): 5-10.
- Anderson, R., Roussel, A., Zouari, N., Mahjoub, S., Matheau, J., Kerkeni, A. 2001. Potential Antioxidant Effects of Zinc and Chromium Supplementation in People with Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of the American College of Nutrition*, 20(3): 212-218.
- Arthur, C. 1998. Zinc, Insulin and Diabetes. *Journal of the American College of Nutrition*, 17(2): 109-15.
- Bare & Smeltzer. 2002. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah Brunner & Suddart (Alih bahasa Agung Waluyo)*. Edisi 8 vol.3. Jakarta :EGC
- Basit, A., Riaz, M., Fawwad, A. 2012. Glimpiride: Evidence-Based Facts, Trends, and Observations. *Vascular Health and Risk Management*.
- Bimola, D., Nandakishore, Sangeeta, N., Gomi, B., Omita, D., Sungdirenla, J., Amuba, S. 2014. Zinc in Human Health. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 13(7): 18-23.
- Borgstahl, G. E., Parge, H. E., Hickey, M. J., Beyer, W. F. Jr., Hallewell, R. A., Tainer, J. A. 1992. The Structure of Human Mitochondrial Manganese Superoxide Dismutase Reveals A Novel Tetrameric Interface of Two 4-Helix Bundles. *Cell*, 71: 107-118.
- Brunner & Suddarth. 2002. *Buku Ajar Keperawatan Medikal Bedah*. Jakarta: EGC.
- Buchner, D. A., Charrier, A., Srinivasan, E., Wang, L., Paulsen, M. T., Ljungman, M. 2015. Zinc Finger Protein 407 (ZFP407) Regulates Insulin-Stimulated Glucose Uptake and Glucose Transporter 4 (GLUT4) MRNA. *J Biol Chem*, 290(10): 6376-6386.
- Campbell, R. 1998. Glimpiride: Role of a New Sulfonylurea in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Annals of Pharmacotherapy*, 32(10): 1044-1052.
- Canesi, L., Betti, M., Ciacci, C., Gallo, G. 2001. Insulin-Like Effect of Zinc In Mytilus Digestive Gland Cells: Modulation of Tyrosine Kinase-Mediated Cell Signaling. *Gen Comp Endocrinol*, 122(1): 60-66.

- Capdor, J., Foster, M., Petocz, P., Samman, S. 2013. Zinc and Glycemic Control: A Meta-Analysis of Randomised Placebo Controlled Supplementation Trials in Humans. *J Trace Elem Med Biol*, 27(2): 137-142.
- Chausmer, A. B. 1998. Zinc, Insulin and Diabetes. *J Am Coll Nutr*, 17: 109-15.
- Cruz, K., Oliveira, A., Marreiro, D. 2015. Antioxidant Role of Zinc in Diabetes Mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6(2): 333-337.
- Deeds, M., Anderson, J., Armstrong, A., Gastineau, D., Hiddinga, H., Jahangir, A., Eberhardt, N., Kudva, Y. 2011. Single Dose Streptozotocin Induced Diabetes: Considerations for Study Design in Islet Transplantation Models. *Laboratory Animals*, 45(3): 131-140.
- Deshpande, J. D., Joshi, M. M., Giri, P. A. 2013. Zinc: The Trace Element of Major Importance in Human Nutrition and Health. *International Journal of Medical Science and Public Health*, 2(1): 1-6.
- DiPiro J.T., Wells B.G., Schwinghammer T.L., DiPiro C. V. 2015. *Pharmacotherapy Handbook*. Ninth Edition. Ingris: McGraw-Hill Education Companies.
- Draeger, E. 1995. Clinical Profile of Glimepiride. *Diabetes Res Clin Pract*, 28: 139-146.
- Dunn, M. F. 2005. Zinc-Ligand Interactions Modulate Assembly and Stability of The Insulin Hexamer – A Review. *Biometals*, 18: 295-303.
- Eleazu, C. O., Eleazu, K. C, Chukwuma, S., Essien, U. N. 2013. Review of the Mechanism of Cell Death Resulting from Streptozotocin Challenge in Experimental Animals, Its Practical Use and Potential Risk to Humans. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 12(60).
- Elroy-Stein, O., Bernstein, Y., Groner, Y. 1986. Overproduction of Human Cu/Zn-Superoxide Dismutase in Transfected Cells: Extenuation of Paraquat-Mediated Cytotoxicity and Enhancement of Lipid Peroxidation. *EMBO J*, 5: 615–622.
- Emdin, S. O., Dodson, G. G., Cutfield, J. M., Cutfield, S. M. 1980. Role of Zinc In Insulin Biosynthesis. Some Possible Zinc-Insulin Interactions In The Pancreatic B-Cell. *Diabetologia*, 19: 174-82.
- Fatimah, R. N. 2015. Diabetes Melitus Tipe 2. *J Majority*, 4(5): 101-93.
- FDA. 2009. *Amaryl*. Food and Drug Administration.

- Ferry, M. 2014. *Perbandingan Kombinasi Ekstrak Etanol Pare (Momordica charantia) dengan Glibenklamid terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang Diinduksi Aloksan*. Skripsi, Program Pendidikan Sarjana Kedokteran Universitas Jember.
- Festa, A., Williams, K., Hanley, A. J., Haffner, S. M. 2008. Beta-Cell Dysfunction in Subjects With Impaired Glucose Tolerance and Early Type 2 Diabetes: Comparison of Surrogate Markers With First-Phase Insulin Secretion From an Intravenous Glucose Tolerance Test. *Diabetes*, 57: 1638–1644.
- Firdaus, Rimbawan, Marliyati, S. A., Roosita, K. 2016. Model Tikus Diabetes yang Diinduksi Streptozotocinsukrosa untuk Pendekatan Penelitian Diabetes Melitus Gestasional. *Jurnal Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 12(1): 29-34.
- Fitriani, N.E., Akhmad, S.A., Lestariana, W. 2014. Efek Kuersetin terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa pada Tikus Diabetes Melitus Tipe 2 yang Diinduksi dengan Streptozotocin-Nicotinamide. *Jurnal Kebijakan Kesehatan Indonesia*, 6(2): 104-111.
- Fitriani, A. A. 2015. *Evaluasi Penggunaan Antibiotik Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 Dengan Komplikasi Foot Ulcer Di Instalasi Rawat Inap Rsup Dr. Soeradji Tirtonegoro Tahun 2014*. Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Fridovich, I., Freeman, B. 1986. Antioxidant Defenses in The Lung. *Annu Rev Physiol*, 48: 693–702.
- Fukunaka, A., Fujitani, Y. 2018. Role of Zinc Homeostasis in the Pathogenesis of Diabetes and Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2): 476.
- Gardner, S. E., Hillis, S. L., Heilmann, K., Segre, J. A., Grice, E. A. 2013. The Neuropathic Diabetic Foot Ulcer Microbiome is Associated With Clinical Factors. *Diabetes*, 62(3): 923-930
- Goldberg, A. P., Coon, P. J., 1994, Diabetes Mellitus and Glucose Metabolism in Elderly, dalam: Hazzard, W. R., Bierman, E. L., Blass, J. P., Ettinger, Jr., W. H., Halter, J. B. (editor), *Principle of Geriatric Medicine and Gerontology*, New York : McGraw-Hill.
- González-Ortiz, M., Guerrero-Romero, J., Violante-Ortiz, R., Wachter-Rodarte, N., Martínez-Abundis, E., Aguilar-Salinas, C., Islas-Andrade, S., Arechavaleta-Granell, R., González-Canudas, J., Rodríguez-Morán, M., Zavala-Suárez, E., Ramos-Zavala, M., Metha, R., Revilla-Monsalve, C., Beltrán-Jaramillo, T. 2009. Efficacy of Glimepiride/Metformin Combination Versus

- Glibenclamide/Metformin in Patients with Uncontrolled Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*, 23(6): 376-379.
- Graham, M. L., Janecek, J. L., Kittredge, J. A., Hering B. J., Schuurman, H. 2011. The Streptozotocin-Induced Diabetic Nude Mouse Model: Differences between Animals from Different Sources. *The American Association for Laboratory Animal Science*, 61(4): 356-360.
- Guyton, A. C., Hall, J. E. 2008. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. Jakarta: EGC.
- Haase, H., Maret, W. 2005. Protein Tyrosine Phosphatases As Targets of The Combined Insulinomimetic Effects of Zinc and Oxidants. *Biometals*, 18: 333–338.
- Hayashi, K., Kojima, R., Ito, M. 2006. Strain Differences in the Diabetogenic Activity of Streptozotocin in Mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(6): 1110-1119.
- Halliwell, B. 2006. Reactive Spesies and Antioxidants: Redox Biology is a Fundamental Theme of Aerobic Life. *Plant Physiol*, 141: 312-322.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. 1995. The Definition and Measurement of Antioxidants in Biological Systems. *Free Radic Biol Med*, 18(1): 125–126.
- Hou, J. C., Min, L., Pessin, J. E. 2009. Insulin Granule Biogenesis, Trafficking and Exocytosis. *Vitam Horm*, 80: 473-506.
- Hsu, J. L., Hsieh, Y., Tu, C., O'Connor, D., Nick, H. S., Silverman, D. N. 1996. Catalytic Properties of Human Manganese Superoxide Dismutase. *J Biol Chem*, 271: 17687–17691.
- IDF. 2015. *Diabetes Atlas*. International Diabetes Federation.
- Jansen, J., Karges, W., Rink, L. 2009. Zinc and Diabetes—Clinical Links and Molecular Mechanisms. *J Nutr Biochem*, 20: 399–417.
- Jayawardena, R., Ranasinghe, P., Galappathy, P., Malkanthi, R., Constantine, G., Katulanda, P. 2012. Effects of Zinc Supplementation on Diabetes Mellitus: A Systematic Review and Meta-analysis. *Diabetology and Metabolic Syndrome*, 4(1): 13.
- Katzung, B.G., Masters, S.B. and Trevor, A.J. 2009. *Basic and Clinical Pharmacology*. 11th Edition. New York: McGraw-Hill Medical.

- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Data dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia 2013*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kendall, D. M., Riddle, M. C., Rosenstock, J., Zhuang, D., Kim, D. D., Fineman, M. S., Baron, A. D. 2005. Effects of Exenatide (Exendin-4) on Glycemic Control Over 30 Weeks In Patients With Type 2 Diabetes Treated With Metformin and A Sulfonylurea. *Diabetes Care*, 28: 1083–1091.
- Kiryama, A., Kimura, S., Banba, C., Yamakawa, M., Yajima, R. R., Honbo, A., Iga, K. 2017. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Analyses of Anti-diabetes, Glimepiride: Comparison of the Streptozotocin-Induced Diabetic, GK and Wistar Rats. *Journal of Drug Metabolism & Toxicology*, 08(03).
- Kriska. 2007. *Physical Activity and Prevention of Type 2 (Non Insulin Dependent) Diabetes*. <http://www.fitness.gov/diabetes.pdf> [Diakses pada tanggal 29 Oktober 2018].
- Kumar, S., Dasarathan, R., Ganesh, Chenthil. 2017. Study of Serum Zinc Status Among Type 2 Diabetes Mellitus Patients. *International Journal of Advances in Medicine*, 4(5): 1344-1347.
- Lenzen, S. 2008. The Mechanisms of Alloxan- and Streptozotocin-induced Diabetes. *Diabetologia*, 51(2): 216-226.
- Levanon, D., Lieman-Hurwitz, J., Dafni, N., Wigderson, M., Sherman, L., Bernstein, Y., Laver-Rudich, Z., Danciger, E., Stein, O., Groner, Y. 1985. Architecture and Anatomy of The Chromosomal Locus in Human Chromosome 21 Encoding the Cu/Zn Superoxide Dismutase. *EMBO J*, 4: 77–84.
- Li, Y. V. 2014. Zinc and Insulin in Pancreatic Beta-Cells. *Endocrine*, 45(2): 178-89.
- Maret, W. 2017. Zinc in Pancreatic Islet Biology, Insulin Sensitivity, and Diabetes. *Preventive Nutrition and Food Science*, 22(1): 1-8.
- Marklund, S. L. 1984. Extracellular Superoxide Dismutase in Human Tissues and Human Cell Lines. *J Clin Invest*, 74: 1398–1403.
- Matsuki, M., Matsuda, M., Kohara, K., Shimoda, M., Kanda, Y., Tawaramoto, K., Shigetoh, M., Kawasaki, F., Kotani, K., Kaku, K. 2007. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Glimepiride in Type 2 Diabetic Patients: Compared Effects of Once- versus Twice-daily Dosing. *Endocrine Journal*, 54(4): 571-576.

- May, J. M., Contoreggi, C. S. 1982. The Mechanism of The Insulin-Like Effects of Ionic Zinc. *J Biol Chem*, 257(8): 4362–4368.
- Moustafa, S. A. 2004. Zinc Might Protect Oxidative Changes in The Retina and Pancreas at The Early Stage of Diabetic Rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 201: 149–155.
- Müller, G. 2000. The Molecular Mechanism of The Insulin-Mimetic/Sensitizing Activity of The Antidiabetic Sulfonylurea Drug Amaryl. *Mol Med*, 6(11): 907-933.
- Novrial, D. 2007. Kerusakan Sel β Pankreas Akibat Induksi Streptozotocin: Tinjauan Patologi Eksperimental. *Mandala of Health*, 3(2): 46-51.
- Nugroho, A. E. 2006. Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*, 7(4): 378-382.
- Okado-Matsumoto, A., Fridovich, I. 2001. Subcellular Distribution of Superoxide Dismutases (SOD) in Rat Liver: Cu,Zn- SOD in Mitochondria. *J Biol Chem*, 276: 38388–38393.
- Oteiza, P. I. 2012. Zinc and The Modulation of Redox Homeostasis. *Free Radic Biol Med*, 53(9): 1748–1759.
- PERKENI. 2011. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia.
- PERKENI. 2015. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia.
- Poudel, R. R., Bhusal, Y., Tharu, B., Kafle, N. K. 2018. Role of Zinc in Insulin Regulation and Diabetes. *Journal of Social Health and Diabetes*, 5(2): 83-87.
- Price, S. A., Wilson, L. M. 2006. *Patofisiologi, Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit, Edisi 6*. Jakarta: EGC.
- Raptis, S., Hatziagelaki, E., Dimitriadis, G., Draeger, K., Pfeiffer, C., Raptis, A. 2009. Comparative Effects of Glimepiride and Glibenclamide on Blood Glucose, C-Peptide and Insulin Concentrations in the Fasting and Postprandial State in Normal Man. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 107(06): 350-355.
- Rendell, M. 2004. *Advances in Diabetes for The Millennium: Drug Therapy of Type 2 Diabetes*.

- Rigo, A., Terenzi, M., Viglino, P., Calabrese, L., Cocco, D., Rotilio, G.. 1977. The Binding of Copper Ions to Copper-Free Bovine Superoxide Dismutase. Properties of The Protein Recombined With Increasing Amounts of Copper Ions. *Biochem J*, 161: 31–35.
- Riskesdas. 2018. *Hasil Utama Riskesdas 2018*. Riset Kesehatan Dasar.
- Roosyidah, M., Efendi, E., Hairrudin. 2017. Pengaruh Pemberian Diet Beras Analog terhadap Gambaran Histopatologi Arteri Koroner Jantung Tikus DM Tipe 2. *Journal of Agromedicine and Medical Sciences*, 3(3): 44-49.
- Rungby, J. 2010. Zinc, Zinc Transporters and Diabetes. *Diabetologia*, 53: 1549-1551.
- Rutter, G. A. 2010. Think Zinc: New Roles For Zinc In The Control of Insulin Secretion. *Islets*, 2: 49–50.
- Ruz, M., Carrasco, F., Rojas, P., Codoceo, J., Inostroza, J., Basfi-fer, K., Valencia, A., Vásquez, K., Galgani, J., Pérez, A., López, A., Arredondo, M., Perez-Bravo, F. 2013. Zinc as A Potential Coadjuvant in Therapy for Type 2 Diabetes. *Food and Nutrition Bulletin*, 34(2): 215-221.
- Sakinah, E. N. 2014. The Effect Of Cholecalciferol On Fasting Blood Glucose In Streptozotocin-induced Hyperglycemia Mice. *Indonesian Protein Society*.
- Schäfer-Graf, U., Kleinwechter, H., Bühner, C., Hoesli, I., Kainer, F., Kautzky-Willer, A., Pawlowski, B., Schunck, K., Somville, T., Sorger, M. 2014. Gestational Diabetes Mellitus (GDM) Diagnosis, Therapy and Follow-Up Care: Practice Guideline of the German Diabetes Association(DDG) and the German Association for Gynaecologyand Obstetrics (DGOG). *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 122(7): 395-405.
- Sharma, S., Jaya, D., Jha, A. K., Sharma, S. 2010. Experimental Models of Diabetes. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, 1(2): 292-301.
- Sibuea, P., 2003. *Antioksidan Senyawa Ajaib Penangkal Penuaan Dini*. Yogyakarta: Sinar Harapan.
- Simon, S. F., Taylor, C. G. 2001. Dietary Zinc Supplementation Attenuates Hyperglycemia in db/db Mice. *Exp Biol Med*, 226: 43–51.
- Soegondo S. 2009. *Buku Ajar Penyakit Dalam: Insulin : Farmakoterapi pada Pengendalian Glikemia Diabetes Melitus Tipe 2*. Jilid III, Edisi 4. Jakarta: FK UI pp.1884.

- Srinivasan, K., Ramarao, P. 2007. Animal Models in Type 2 Diabetes Research: An Overview. *The Indian Journal of Medical Research*, 125: 451-472.
- Steiner, D. F. 2009. A Brief Perspective on Insulin Production. *Diabetes Obes Metab*, 11(4): 189-196.
- Stralin, P., Karlsson, K., Johansson, B. O., Marklund, S. L. 1995. The Interstitium of The Human Arterial Wall Contains Very Large Amounts of Extracellular Superoxide Dismutase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 15: 2032–2036.
- Sun, W., Wang, Y., Miao, X., Wang, Y., Zhang, L., Xin, Y. 2014. Renal Improvement by Zinc In Diabetic Mice is Associated With Glucose Metabolism Signaling Mediated by Metallothionein and Akt, But Not Akt2. *Free Radic Biol Med*, 68: 22-34.
- Suyono, S. 2006. *Diabetes Melitus di Indonesia*. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. IV ed. Jakarta: Pusat penerbitan Ilmu Penyakit dalam FK UI.
- Szkuldeski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*, 50: 536-546.
- Tamaki, N., Ikeda, T., Funatsuka, A. 1983. Zinc as Activating Cation For Muscle Glycolysis. *J Nutr Sci Vitaminol*, 29(6): 655–662.
- Tang, X., Shay, N. F. 2001. Zinc Has an Insulin-Like Effect on Glucose Transport Mediated by Phosphoinositol-3-Kinase and Akt In 3 T3-L1 Fibroblasts and Adipocytes. *J Nutr*, 131: 1414–1420.
- Toma, A., Makonenn, E., Yimer, G. 2013. Role of Zinc in Diabetes Mellitus, Oxidative Stress and Other Human Healthy: A Review Article. *American Journal of Research Communication*, 1(11): 411-426.
- Triplitt, C. L., Reasner, C. A., Isley, W. L. 2008. *Endocrinologic Disorders: Diabetes Mellitus Pharmacotherapy Approach 7th Edition*. New York: McGraw-Hill.
- Umrani, R., Paknikar, K. 2014. Zinc Oxide Nanoparticles Show Antidiabetic Activity in Streptozotocin-induced Type 1 and 2 Diabetic Rats. *Nanomedicine*, 9(1): 89-104.
- Universitas Jember. 2016. *Pedoman Penulisan Karya Ilmiah*. Jember: Badan Penerbit Universitas Jember.
- Vashum, K. P., Mcevoy, M., Milton, A. H., Islam, R., Hancock, S., Attia, J. 2014. Is Serum Zinc Associated with Pancreatic Beta Cell Function and Insulin

Sensitivity in Pre-Diabetic and Normal Individuals? Findings from the Hunter Community Study.

Ventura-Sobrevilla, J., Boone-Villa, V.D., Aguilar, C.N., Román-Ramos, R., Vega-Ávila, E., Campos-Sepúlveda, E., Alarcón-Aguilar, F. 2011. Effect of Varying Dose and Administration of Streptozotocin on Blood Sugar in Male CD1 Mice. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, 54: 4-9.

WHO. 2015. *Diabetes Fakta dan Angka*. World Health Organization.

Wijesekara, N., Chimienti, F., Wheeler, M. B. 2009. Zinc, A Regulator of Islet Function and Glucose Homeostasis. *Diabetes Obes Metab*, 11(4): 202–214.

Wu, K. K., Huan, Y. 2008. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Current Protocols in Pharmacology*.

Yu, T., Sungelo, M., Goldberg, I., Wang, H. and Eckel, R. 2017. Streptozotocin-Treated High Fat Fed Mice: A New Type 2 Diabetes Model Used to Study Canagliflozin-Induced Alterations in Lipids and Lipoproteins. *Hormone and Metabolic Research*, 49(05): 400-406.

Zafar, M., Gul, A., Hakeem, R., Yakoob, M., Basit, A. 2006. Glimpiride Study on Type-2 Diabetic Subjects. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 22(2): 132-135.

Zhang, S., Zhang, Y., Peng, N., Zhang, H., Yao, J., Li, Z., Liu, L. 2014. Pharmacokinetics and Biodistribution of Zinc-Enriched Yeast in Rats. *The Scientific World Journal*, 1-4.

Zhou, H., Zhang, T., Harmon, J. S., Bryan, J., Robertson, P. 2007. Zinc, Not Insulin, Regulates The Rat A-Cell Response to Hypoglycemia in Vivo. *Diabetes*, 56: 1107–1112.

Lampiran 3.1 Keterangan Persetujuan Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI

UNIVERSITAS JEMBER

KOMISI ETIK PENELITIAN

Jl. Kalimantan 37 Kampus Bumi Tegal Boto Telp/Fax (0331) 337877 Jember
68121 – Email : fk_unej@telkom.net

KETERANGAN PERSETUJUAN ETIK

ETHICAL APPROVA

Nomor : 1.215 /H25.1.11/KE/2018

Komisi Etik, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Jember University, With regards of the protection of human rights and welfare in medical research, has carefully reviewed the proposal entitled :

EFEK PENAMBAHAN ZINC PADA TERAPI GLIMEPIRIDE TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN

Nama Peneliti Utama : Nadhifa Athaya Putri.
Name of the principal investigator

NIM : 1520101011076

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Name of institution

Dan telah menyetujui protokol tersebut diatas.
And approved the above mentioned proposal.

Jember, 26-12-2018
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Tanggapan Anggota Komisi Etik

(Diisi oleh Anggota Komisi Etik, berisi tanggapan sesuai dengan butir-butir isian diatas dan telaah terhadap Protokol maupun dokumen kelengkapan lainnya)

Review Proposal :

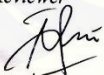
1. Pemilihan, perawatan, perlakuan, pengorbanan dan pemusnahan hewan coba mengacu pada buku pedoman etik penelitian kesehatan (penggunaan hewan coba dengan prinsip 3R: *Replacement, Reduce, Refinement*).
2. Mohon dijelaskan pada metode penelitian, jumlah kelompok dan jumlah mencit yang digunakan, apakah 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit (halaman 33) ataukah 4 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit (halaman 37).
3. Mohon dijelaskan SOP pembuatan suspensi *streptozotocyn, zinc, glimepirid*, suspensi campuran *glimepirid* dan *zinc* serta prosedur pemberian suspensi *glimepirid* pada kelompok P4, apakah diberikan sendiri-sendiri ataukah dicampurkan, dll.
4. Mohon dijelaskan waktu pemberian *streptozotocyn, zinc* dan *glimepirid*?
5. Perlakuan penyuntikan *streptozotocyn* secara intraperitoneal diberikan sesuai berat badan dilakukan oleh orang yang terampil (dilakukan secara cepat dan tepat agar tidak menyakiti hewan coba dan didapatkan efek yang diinginkan).
6. Mohon dijelaskan data kadar gula darah puasa yang dianalisis apakah selisih antara kadar gula darah puasa setelah diinduksi dengan *streptozotocyn* dan kadar gula darah puasa setelah perlakuan? jika ya, maka mohon dilengkapi syarat uji *one way Anova* yang akan digunakan.

Mengetahui
Ketua Komisi Etik Penelitian



dr. Rini Riyanti, Sp.PK

Jember, 14 Desember 2018
Reviewer



dr. Desie Dwi Wisudanti, M.Biomed

Lampiran 3.2 Surat Rekomendasi Bebas Plagiasi



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN
Jl. Kalimantan 1/37 Kampus Tegal Boto. Telp. (0331) 337877, Fax (0331) 324446
Jember 68121.

REKOMENDASI BEBAS PLAGIASI

Nomor : 83 /H25.1.11/KBSI/2019

Komisi bimbingan Skripsi dan Ilmiah, Fakultas Kedokteran Universitas Jember dalam upaya peningkatan kualitas dan originalitas karya tulis ilmiah mahasiswa berupa skripsi, telah melakukan pemeriksaan plagiasi atas skripsi yang berjudul :

**EFEK PENAMBAHAN ZINK PADA TERAPI GLIMEPIRIDE TERHADAP KADAR
GLUKOSA DARAH MENCIT YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN**

Nama Penulis : Nadhifah Athaya Putri
NIM. : 152010101076
Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember

Telah menyetujui dan dinyatakan "BEBAS PLAGIASI"

Surat Rekomendasi ini dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Jember, 22 Februari 2019

Komisi Bimbingan Skripsi & Ilmiah



Dr. dr. Yunita Armiyanti, M.Kes
NIP. 19740604 200112 2 002

Lampiran 3.3 Perhitungan Dosis dan Volume Sediaan yang Diberikan pada Hewan Coba

3.3.1 Streptozotocin (STZ)

STZ diberikan pada mencit kelompok perlakuan 1 (P₁), kelompok perlakuan 2 (P₂), kelompok perlakuan 3 (P₃), dan kelompok perlakuan 4 (P₄). Dosis STZ yang digunakan adalah 150 mg/kgBB mencit. Kriteria berat badan mencit maksimal adalah 30 gram.

$$\begin{aligned}\text{Jumlah STZ maksimal per mencit} &= 30/1000 \times 150 \text{ mg} \\ &= 4,5 \text{ mg / mencit}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah maksimal STZ yang diperlukan} &= \text{Jumlah sampel} \times 4,5 \text{ mg} \\ &= 20 \times 4,5 \text{ mg} \\ &= 90 \text{ mg}\end{aligned}$$

Apabila BB mencit 20 gram, maka jumlah STZ yang diberikan pada mencit adalah

$$\begin{aligned}\text{Jumlah STZ mencit 20 gram} &= 20/1000 \times 150 \text{ mg} \\ &= 3 \text{ mg}\end{aligned}$$

3.3.2 Bufer Sitrat

Buffer sitrat yang digunakan sebagai pelarut STZ adalah 22,5 mg/ml. Kriteria berat badan mencit maksimal adalah 30 gram.

$$\begin{aligned}\text{Volume maksimal bufer sitrat per mencit} &= (4,5 \text{ mg STZ} \times 1 \text{ ml}) / 22,5 \text{ mg} \\ &= 0,2 \text{ ml / mencit}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Volume maksimal bufer sitrat yang diperlukan} &= \text{Jumlah sampel} \times 0,2 \text{ ml} \\ &= 20 \times 0,2 \text{ ml} \\ &= 4 \text{ ml}\end{aligned}$$

Apabila BB mencit 20 gram, maka volume bufer sitrat yang diinjeksikan pada mencit adalah

$$\begin{aligned}\text{Volume bufer sitrat mencit 20 gram} &= (3 \text{ mg STZ} \times 1 \text{ ml}) / 22,5 \text{ mg} \\ &= 0,13 \text{ ml}\end{aligned}$$

3.3.3 Zinc

Zinc diberikan pada mencit kelompok perlakuan 3 (P₃). Dosis zinc yang digunakan adalah 0,0286 mg. Kriteria berat badan mencit maksimal 30 gram. Volume maksimal larutan zinc yang disondekan adalah 0,45 ml / mencit.

$$\begin{aligned} \text{Jumlah zinc maksimal per mencit} &= 30/20 \times 0,0286 \text{ mg} \\ &= 0,0429 \text{ mg / mencit} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah zinc total} &= \text{Jumlah sampel} \times \text{Lama perlakuan} \times 0,0429 \text{ mg} \\ &= 5 \times 14 \times 0,0429 \text{ mg} \\ &= 3,003 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume pelarut total} &= \text{Jumlah sampel} \times \text{Lama perlakuan} \times 0,45 \text{ ml} \\ &= 5 \times 14 \times 0,45 \text{ ml} \\ &= 31,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

Apabila BB mencit 20 gram, maka volume zinc yang diberikan pada mencit adalah

$$\begin{aligned} \text{Volume zinc mencit 20 gram} &= 20/30 \times 0,45 \text{ ml} \\ &= 0,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

3.3.4 Glimepiride

Glimepiride diberikan pada mencit kelompok perlakuan 2 (P₂). Dosis glimepiride yang digunakan adalah 0,0052 mg. Kriteria berat badan mencit maksimal 30 gram. Volume maksimal larutan glimepiride yang disondekan adalah 0,45 ml / mencit.

$$\begin{aligned} \text{Jumlah glimepiride maksimal per mencit} &= 30/20 \times 0,0052 \text{ mg} \\ &= 0,0078 \text{ mg / mencit} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah glimepiride total} &= \text{Jumlah sampel} \times \text{Lama perlakuan} \times 0,0078 \text{ mg} \\ &= 5 \times 14 \times 0,0078 \text{ mg} \\ &= 0,546 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume pelarut total} &= \text{Jumlah sampel} \times \text{Lama perlakuan} \times 0,45 \text{ ml} \\ &= 5 \times 14 \times 0,45 \text{ ml} \\ &= 31,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

Apabila BB mencit 20 gram, maka volume glimepiride yang diberikan pada mencit adalah

$$\text{Volume glimepiride mencit 20 gram} = 20/30 \times 0,45 \text{ ml}$$

$$= 0,3 \text{ ml}$$

3.3.5 Glimepiride dan Zinc

Glimepiride dan zinc diberikan pada mencit kelompok perlakuan kelompok perlakuan 4 (P₄). Dosis glimepiride yang digunakan adalah 0,0052 mg dan dosis zinc yang digunakan adalah 0,0286 mg. Kriteria berat badan mencit maksimal 30 gram. Volume maksimal larutan glimepiride dan zinc yang disondekan adalah 0,45 ml / mencit.

$$\begin{aligned} \text{Jumlah maksimal per mencit} &= 30/20 \times (0,0052 + 0,0286) \text{ mg} \\ &= 0,0507 \text{ mg / mencit} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah total} &= \text{Jumlah sampel} \times \text{Lama perlakuan} \times 0,0078 \text{ mg} \\ &= 5 \times 14 \times 0,0507 \text{ mg} \\ &= 3,549 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume pelarut total} &= \text{Jumlah sampel} \times \text{Lama perlakuan} \times 0,45 \text{ ml} \\ &= 5 \times 14 \times 0,45 \text{ ml} \\ &= 31,5 \text{ ml} \end{aligned}$$

Apabila BB mencit 20 gram, maka volume yang diberikan pada mencit adalah

$$\begin{aligned} \text{Volume mencit 20 gram} &= 20/30 \times 0,45 \text{ ml} \\ &= 0,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

3.3.6 Tabel Pemberian Dosis dan Larutan Sesuai Berat Badan

BB (g)	Na-CMC (ml)	Glimepiride (mg)	Zinc (mg)	Glimepiride dan Zinc (mg)
20	0,3	0,0052	0,0286	0,0338
21	0,32	0,0054	0,0300	0,0354
22	0,33	0,0057	0,0313	0,0370
23	0,35	0,0059	0,0327	0,0386
24	0,36	0,0062	0,0340	0,0402
25	0,38	0,0064	0,0354	0,0418
26	0,39	0,0067	0,0368	0,0435
27	0,41	0,0069	0,0381	0,0451
28	0,42	0,0072	0,0395	0,0467

29	0,44	0,0074	0,0409	0,0483
30	0,45	0,0078	0,0429	0,0507



Lampiran 3.4 Standar Operasional Prosedur (SOP)

3.4.1 Pembuatan Larutan

a. Streptozotocin

- Siapkan alat dan bahan.
- Hitung kebutuhan streptozotocin dengan dosis BB mencit 30 g sebanyak 4,5 mg untuk 5 ekor mencit (1 kelompok), yaitu 22,5 mg.
- Timbang serbuk menggunakan bahan gelas kimia pada timbangan digital sebanyak 22,5 mg.
- Larutkan serbuk streptozotocin dengan bufer sitrat 22,5 mg/ml kira-kira 1 ml menggunakan pipet sampai larut di dalam gelas kimia 25 ml menggunakan pengaduk kaca.
- Homogenkan larutan selama 1 menit.
- Segera injeksikan larutan streptozotocin pada mencit dalam durasi waktu 5 menit sejak pencampuran larutan.
- Ulangi tahap ini sebanyak 4 kali sampai memenuhi jumlah mencit yang ingin diinduksi, yaitu 20 ekor.

b. Na-CMC 0,5%

- Siapkan alat dan bahan.
- Hitung kebutuhan Na-CMC 0,5 g dalam 100 ml *aquadest*, yaitu 3 g dalam 600 ml.
- Timbang serbuk menggunakan bahan gelas kimia pada timbangan digital sebanyak 3 g.
- Larutkan 3 g bubuk Na-CMC ditambahkan larutan *aquadest* panas 10 ml kemudian dibiarkan selama kurang lebih 15 menit sampai berwarna bening dan berbentuk menyerupai jel.
- Homogenkan dan encerkan larutan hingga mencapai 600 ml.

c. Glimpiride

- Siapkan alat dan bahan.

- Hitung kebutuhan glimepiride dengan dosis BB mencit 30 g sebanyak 0,0078 mg selama 14 hari untuk 5 ekor mencit (1 kelompok), yaitu 0,546 mg.
- Gerus glimepiride 2 mg 1 tablet hingga menjadi serbuk halus.
- Timbang serbuk menggunakan bahan gelas kimia pada timbangan digital sebanyak 0,546 mg.
- Larutkan serbuk glimepiride dengan Na-CMC kira-kira 31,5 ml menggunakan pipet sampai larut di dalam gelas kimia 50 ml menggunakan pengaduk kaca.
- Homogenkan larutan selama 5 menit.
- Simpan larutan dalam gelas kimia yang telah diberi label sesuai nama larutan.

d. Zinc

- Siapkan alat dan bahan.
- Hitung kebutuhan zinc dengan dosis BB mencit 30 g sebanyak 0,0429 mg selama 14 hari untuk 5 ekor mencit (1 kelompok), yaitu 3,003 mg.
- Gerus zinc 20 mg 1 tablet hingga menjadi serbuk halus.
- Timbang serbuk menggunakan bahan gelas kimia pada timbangan digital sebanyak 3,003 mg.
- Larutkan serbuk zinc dengan Na-CMC kira-kira 31,5 ml menggunakan pipet sampai larut di dalam gelas kimia 50 ml menggunakan pengaduk kaca.
- Homogenkan larutan selama 5 menit.
- Simpan larutan dalam gelas kimia yang telah diberi label sesuai nama larutan.

e. Glimepiride dan Zinc

- Siapkan alat dan bahan.
- Hitung kebutuhan glimepiride dan zinc dengan dosis BB mencit 30 g sebanyak 0,0078 mg dan 0,0429 mg selama 14 hari untuk 5 ekor mencit (1 kelompok), yaitu 0,546 mg dan 3,003 mg.
- Gerus glimepiride 2 mg dan zinc 20 mg 1 tablet hingga menjadi serbuk halus.

- Timbang serbuk menggunakan bahan gelas kimia pada timbangan digital sebanyak 0,546 mg dan ditambahkan 3,003 mg.
- Larutkan serbuk glimepiride dan zinc dengan Na-CMC kira-kira 31,5 ml menggunakan pipet sampai larut di dalam gelas kimia 50 ml menggunakan pengaduk kaca.
- Homogenkan larutan selama 5 menit.
- Simpan larutan dalam gelas kimia yang telah diberi label sesuai nama larutan.

3.4.2 Injeksi Intraperitoneal (IP) pada Mencit

a. Tujuan

Standard Operasional Prosedur (SOP) ini menjelaskan prosedur injeksi intraperitoneal (IP) pada mencit. SOP ini mengikuti pedoman *Canadian Council on Animal Care* (CCAC) untuk volume injeksi yang dapat diterima pada mencit.

b. Rekomendasi

- Gunakan rute injeksi yang disarankan pabrikan karena beberapa obat mungkin memiliki efek samping yang merugikan atau menyebabkan ketidaknyamanan jika disuntikkan melalui rute yang tidak direkomendasikan.
- Volume yang akan disuntikkan haruslah volume yang serendah mungkin dan tidak melebihi panduan yang direkomendasikan saat ini, yaitu < 10 ml/kg.
- Semua zat untuk injeksi harus steril karena dapat menyebabkan kontaminasi infeksi dan iritasi di tempat suntikan dan menyebabkan penyakit klinis pada hewan dan mempengaruhi hasil penelitian.
- Hangatkan zat ke suhu kamar atau suhu tubuh karena menyuntikkan zat dingin dapat menyebabkan ketidaknyamanan dan penurunan suhu tubuh (jika ini tidak merusak obat).

c. Alat dan Bahan

- S spuit (1 ml)
- Jarum (25-27 G)

- Zat steril yang akan disuntikkan (disimpan dalam botol multi-dosis steril)
- Alkohol 70% (untuk mendisinfeksi atas botol multi-dosis)
- Kain kasa
- Sumber panas untuk zat hangat yang akan disuntikkan ($< 37^{\circ}\text{C}$)

d. Prosedur

- Bersihkan bagian atas botol multi-dosis dengan alkohol dan kasa 70%.
- Ambil jumlah larutan yang akan diberikan ke dalam spuit. Arahkan spuit untuk memutar jarum sehingga angka-angka pada spuit bisa dibaca.
- Dengan lembut, keluarkan hewan dari kandang dan tahan dengan benar di posisi kepala-bawah dengan tangan kanan.
- Letakkan mencit di permukaan yang kasar biarkan mencit menjangkau atau mencengkeram alas yang kasar (kawat kandang).
- Kemudian tangan kiri dengan ibu jari dan jari telunjuk menjepit kulit tengkuk mencit seerat atau setegang mungkin.
- Ekor dipindahkan dari tangan kanan, dijepit antara jari kelingking dan jari manis tangan kiri.
- Identifikasi penanda anatomis untuk menyuntikkan ke area yang sesuai di perut. Biasanya tempat suntikan akan berada di kuadran kanan bawah perut hewan untuk menghindari kerusakan pada kandung kemih, sekum dan organ perut lainnya.
- Pada mencit, masukkan jarum dengan menghadap "ke atas" di kuadran kanan bawah perut ke arah kepala pada sudut $30-40^{\circ}$ ke horizontal. Masukkan jarum dengan kedalaman sekitar setengah panjang jarum berada di dalam rongga perut.
- Tarik kembali plunger untuk memastikan tekanan negatif sebelum menyuntikkan. Aspirasi bahan hijau kemungkinan menunjukkan bahwa usus telah tertusuk, sementara aspirasi bahan kuning dapat menunjukkan kandung kemih telah tertusuk. Adanya darah menunjukkan pembuluh darah perut telah tertusuk.

- Jika ada tekanan negatif, lanjutkan dengan injeksi - tekan plunger hingga larutan telah sepenuhnya dimasukkan. Kecepatan injeksi tergantung pada volume dan viskositas substansi.
- Tarik jarum lurus dan tempatkan spuit langsung ke dalam wadah benda tajam tanpa *recapping*. Gunakan jarum dan syringe baru untuk setiap hewan.
- Tempatkan hewan kembali ke kandangnya dan amati setiap komplikasi.

3.4.3 Sonde pada Mencit

a. Tujuan

Standard Operasional Prosedur (SOP) ini menjelaskan prosedur pemberian cairan obat melalui sonde oral pada mencit yang memenuhi syarat.

b. Alat dan Bahan

- Spuit (1 ml)
- Jarum sonde (22 G)
- Larutan obat

c. Prosedur

- Dengan lembut, keluarkan hewan dari kandang dan tahan dengan benar di posisi kepala-bawah dengan tangan kanan.
- Letakkan mencit di permukaan yang kasar biarkan mencit menjangkau atau mencengkeram alas yang kasar (kawat kandang).
- Kemudian tangan kiri dengan ibu jari dan jari telunjuk menjepit kulit tengkuk mencit seerat atau setegang mungkin.
- Ekor dipindahkan dari tangan kanan, dijepit antara jari kelingking dan jari manis tangan kiri.
- Mencit secara manual terkendali tegas dengan mencengkeram lipatan kulit dari tengkuk leher di bagian belakang, imobilisasi dari kepala sangat penting untuk prosedur ini.
- Ketika leher diperpanjang, posisinya vertikal. Garis lurus terbentuk antara mulut dan mulut sfingter jantung melalui orofisium esofagus

- Jarum dilewatkan dengan lembut melalui mulut dan ditempelkan pada langit-langit mulut atas lalu faring dan esofagus.
- Mencit biasanya menelan jarum seperti makanan mendekati faring, gerakan menelan ini dapat membantu agar jarum lolos pembukaan esofagus.
- Larutan tersebut kemudian diberikan perlahan. Jika ada obstruksi yang dirasakan, mencit akan batuk, tersedak, atau jika cairan terlihat keluar melalui hidung, ini mungkin menunjukkan bahwa jarum telah memasuki paru-paru. Setiap tanda-tanda ini akan mengharuskan penarikan segera jarum, dan mencit harus diamati dengan sangat hati-hati. Jika ada tanda bahwa cairan masuk ke paru-paru, tikus seharusnya di eutanasia.
- Begitu administrasi selesai, jarum harus segera ditarik.

3.4.4 Terminasi dan Pemusnahan Mencit

a. Tujuan

Standard Operasional Prosedur (SOP) ini menjelaskan prosedur eutanasia pada mencit yang memenuhi syarat. SOP ini mengikuti *pedoman Institutional Animal Care and Use Committee (IACUC)* untuk eutanasia mencit secara dekapitasi dengan atau tanpa anestesi.

b. Alat dan Bahan

- Eter
- Toples
- Kapas

c. Prosedur

- Dengan lembut, keluarkan hewan dari kandang dan tahan dengan benar di posisi kepala-bawah dengan tangan kanan.
- Letakkan mencit di dalam toples yang sudah diberi kapas dan eter.
- Mencit harus tetap berada di dalam toples selama 2 menit pasca pernapasan berhenti.
- Setelah 2 menit pasca pernapasan berhenti, keluarkan mencit dari toples.
- Bakar mencit sampai menjadi abu dan dikubur.

Lampiran 4.1 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Kelompok	No. Tikus	BB	KGD 1 (mg/dL)	KGD 2 (mg/dL)	Δ KGD
K	1	28,83	105	92	13
	2	23,46	72	76	4
	3	23,69	85	94	9
	4	25,03	99	85	14
Mean		25,25	90,25	86,75	3,5
P1	1	24,7	220	194	26
	2	24,74	250	236	14
	3	27,37	223	212	11
	4	20,17	265	221	44
	5	25,36	223	220	3
Mean		24,47	236,2	216,6	19,6
P2	1	23,15	262	106	156
	2	24,57	257	128	129
	3	25,89	273	104	169
	4	25,76	243	134	109
Mean		24,84	258,75	118	140,75
P3	1	23,58	233	140	93
	2	21,01	224	136	88
	3	24,36	225	147	78
	4	27,07	246	130	116
	5	20,45	202	125	77
Mean		23,29	226	135,6	90,4
P4	1	24,28	245	122	123
	2	26,37	255	101	154
	3	20,33	265	110	155
	4	22,19	240	106	134
	5	25,48	251	110	141
Mean		23,73	251,2	109,8	141,4

Keterangan:

- BB : Berat badan mencit setelah injeksi streptozotocin.
- KGD 1 : (K) Kadar glukosa darah puasa mencit tanpa injeksi streptozotocin.
(P₁, P₂, P₃, P₄) Kadar glukosa darah puasa mencit 3 hari setelah injeksi streptozotocin.
- KGD 2 : (K) Kadar glukosa darah puasa mencit 14 hari setelah pemberian Na-CMC + pakan standar.
(P₁) Kadar glukosa darah puasa mencit 14 hari setelah pemberian Na-CMC + pakan standar.
(P₂) Kadar glukosa darah puasa mencit 14 hari setelah pemberian glimepiride + pakan standar.
(P₃) Kadar glukosa darah puasa mencit 14 hari setelah pemberian zinc + pakan standar.
(P₄) Kadar glukosa darah puasa mencit 14 hari setelah pemberian glimepiride + zinc + pakan standar.
- Δ KGD : Penurunan kadar glukosa darah mencit (selisih antara KGD 2 dan KGD 1).

Lampiran 4.2 Hasil Uji Analisis Data Bivariat

4.2.1 Uji *One Way Anova* Berat Badan Kelompok K, P₁, P₂, P₃, dan P₄

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BB K	.286	4	.	.828	4	.162
P1	.306	5	.142	.768	5	.043
P2	.264	4	.	.888	4	.373
P3	.203	5	.200*	.943	5	.684
P4	.188	5	.200*	.953	5	.757

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

BB			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.726	4	18	.062

ANOVA

BB					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	794136.935	4	198534.234	.730	.583
Within Groups	4892693.500	18	271816.306		
Total	5686830.435	22			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: BB						
Tukey HSD						
Kelompok		Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	P1	523.05000	349.73896	.578	-534.4892	1580.5892
	P2	41.00000	368.65723	1.000	-1073.7442	1155.7442
	P3	195.85000	349.73896	.979	-861.6892	1253.3892
	P4	152.25000	349.73896	.992	-905.2892	1209.7892
P1	K	-523.05000	349.73896	.578	-1580.5892	534.4892
	P2	-482.05000	349.73896	.648	-1539.5892	575.4892
	P3	-327.20000	329.73705	.855	-1324.2575	669.8575
	P4	-370.80000	329.73705	.792	-1367.8575	626.2575
P2	K	-41.00000	368.65723	1.000	-1155.7442	1073.7442
	P1	482.05000	349.73896	.648	-575.4892	1539.5892
	P3	154.85000	349.73896	.991	-902.6892	1212.3892
	P4	111.25000	349.73896	.998	-946.2892	1168.7892
P3	K	-195.85000	349.73896	.979	-1253.3892	861.6892
	P1	327.20000	329.73705	.855	-669.8575	1324.2575
	P2	-154.85000	349.73896	.991	-1212.3892	902.6892
	P4	-43.60000	329.73705	1.000	-1040.6575	953.4575
P4	K	-152.25000	349.73896	.992	-1209.7892	905.2892
	P1	370.80000	329.73705	.792	-626.2575	1367.8575
	P2	-111.25000	349.73896	.998	-1168.7892	946.2892
	P3	43.60000	329.73705	1.000	-953.4575	1040.6575

4.2.2 Uji *T-Test* KGD 1 Kelompok K dan P₁**Group Statistics**

	Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
GD1	K	4	90.2500	14.77329	7.38664
	P1	5	236.2000	20.19158	9.02995

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	
									Lower	Upper
GD1	Equal variances assumed	1.546	.254	-12.041	7	.000	-145.95000	12.12139	-174.61254	-117.28746
	Equal variances not assumed			-12.510	6.978	.000	-145.95000	11.66630	-173.55391	-118.34609

4.2.3 Uji *One Way Anova* KGD 1 Kelompok P₁, P₂, P₃, dan P₄**Tests of Normality**

	Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GD1	P1	.343	5	.054	.814	5	.104
	P2	.194	4	.	.990	4	.957
	P3	.250	5	.200*	.958	5	.796
	P4	.146	5	.200*	.982	5	.945

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

GD1			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.553	3	15	.242

ANOVA

GD1					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2992.808	3	997.603	4.282	.023
Within Groups	3494.350	15	232.957		
Total	6487.158	18			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: GD1

Tukey HSD

	Kelompok	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-22.55000	10.23868	.167	-52.0594	6.9594
	P3	10.20000	9.65312	.720	-17.6217	38.0217
	P4	-15.00000	9.65312	.432	-42.8217	12.8217
P2	P1	22.55000	10.23868	.167	-6.9594	52.0594
	P3	32.75000*	10.23868	.027	3.2406	62.2594
	P4	7.55000	10.23868	.881	-21.9594	37.0594
P3	P1	-10.20000	9.65312	.720	-38.0217	17.6217
	P2	-32.75000*	10.23868	.027	-62.2594	-3.2406
	P4	-25.20000	9.65312	.083	-53.0217	2.6217
P4	P1	15.00000	9.65312	.432	-12.8217	42.8217
	P2	-7.55000	10.23868	.881	-37.0594	21.9594
	P3	25.20000	9.65312	.083	-2.6217	53.0217

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

4.2.4 Uji Paired T-Test KGD 1 dan KGD 2 Kelompok P₁

Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
P1GD1 P1	.343	5	.054	.814	5	.104
P1GD2 P1	.188	5	.200*	.964	5	.834

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	P1GD1	236.2000	5	20.19158	9.02995
	P1GD2	216.6000	5	15.32319	6.85274

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	P1GD1 & P1GD2	5	.627	.257

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	P1GD1 - P1GD2	19.60000	15.94679	7.13162	-.20055	39.40055	2.748	4	.051

4.2.5 Uji Paired T-Test KGD 1 dan KGD 2 Kelompok P₂**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
P2GD1 P2	.194	4	.	.990	4	.957
P2GD2 P2	.285	4	.	.847	4	.216

a. Lilliefors Significance Correction

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	P2GD1	258.7500	4	12.44655	6.22328
	P2GD2	118.0000	4	15.23155	7.61577

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	P2GD1 & P2GD2	4	-.893	.107

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 P2GD1 - P2GD2	140.75000	26.93665	13.46833	97.88777	183.61223	10.450	3	.002

4.2.6 Uji Paired T-Test KGD 1 dan KGD 2 Kelompok P₃**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
P3GD1 P3	.250	5	.200*	.958	5	.796
P3GD2 P3	.143	5	.200*	.990	5	.979

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	P3GD1	226.0000	5	16.04681	7.17635
	P3GD2	135.6000	5	8.56154	3.82884

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	P3GD1 & P3GD2	5	.293	.632

Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 P3GD1 - P3GD2	90.40000	15.82087	7.07531	70.75579	110.04421	12.777	4	.000

4.2.7 Uji Paired T-Test KGD 1 dan KGD 2 Kelompok P₄**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
P4GD1 P4	.146	5	.200*	.982	5	.945
P4GD2 P4	.290	5	.197	.925	5	.561

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	P4GD1	251.2000	5	9.60208	4.29418
	P4GD2	109.8000	5	7.75887	3.46987

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	P4GD1 & P4GD2	5	-.214	.730

Paired Samples Test

		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower	Upper			
Pair 1	P4GD1 - P4GD2	141.40000	13.57571	6.07124	124.54353	158.25647	23.290	4	.000

4.2.8 Uji *One Way Anova* Δ KGD Kelompok P₁, P₂, P₃, dan P₄**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Delta P1	.237	5	.200*	.937	5	.644
P2	.214	4	.	.961	4	.783
P3	.235	5	.200*	.872	5	.273
P4	.223	5	.200*	.924	5	.554

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

Delta			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.594	3	15	.232

ANOVA

Delta					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47656.808	3	15885.603	48.310	.000
Within Groups	4932.350	15	328.823		
Total	52589.158	18			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Delta						
Tukey HSD						
	Kelompok	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
P1	P2	-121.15000*	12.16431	.000	-156.2094	-86.0906
	P3	-70.80000*	11.46862	.000	-103.8543	-37.7457
	P4	-121.80000*	11.46862	.000	-154.8543	-88.7457
P2	P1	121.15000*	12.16431	.000	86.0906	156.2094
	P3	50.35000*	12.16431	.004	15.2906	85.4094
	P4	-.65000	12.16431	1.000	-35.7094	34.4094
P3	P1	70.80000*	11.46862	.000	37.7457	103.8543
	P2	-50.35000*	12.16431	.004	-85.4094	-15.2906
	P4	-51.00000*	11.46862	.002	-84.0543	-17.9457
P4	P1	121.80000*	11.46862	.000	88.7457	154.8543
	P2	.65000	12.16431	1.000	-34.4094	35.7094
	P3	51.00000*	11.46862	.002	17.9457	84.0543

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

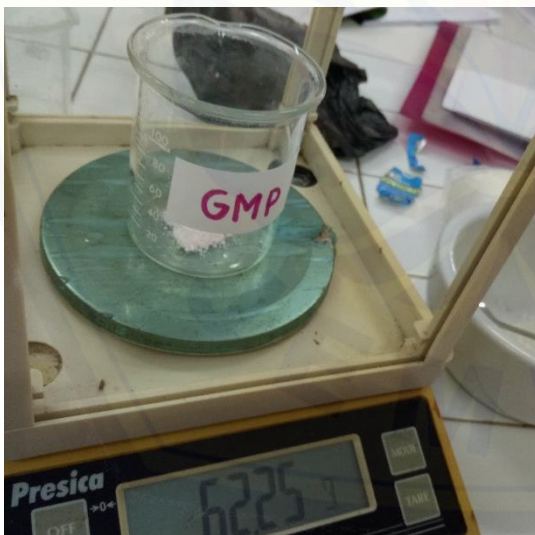
Lampiran 4.3 Dokumentasi Penelitian



Gambar 1. Pembuatan Larutan Streptozotocin



Gambar 2. Pembuatan Sediaan Serbuk Obat



Gambar 3. Penimbangan Serbuk Obat



Gambar 4. Injeksi Streptozotocin ke Mencit



Gambar 5. Penimbangan Berat Badan Mencit



Gambar 6. Penyondean Larutan Obat ke Mencit



Gambar 7. Pemotongan Ekor Mencit



Gambar 8. Terminasi Mencit