



**EFEKTIVITAS PENAMBAHAN VITAMIN D TERHADAP PENURUNAN  
KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT MODEL HIPERGLIKEMIA  
DENGAN TERAPI GLIMEPIRID**

**SKRIPSI**

Oleh

**Tsintani Nur Aristiana  
NIM 152010101091**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**



**EFEKTIVITAS PENAMBAHAN VITAMIN D TERHADAP PENURUNAN  
KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT MODEL HIPERGLIKEMIA  
DENGAN TERAPI GLIMEPIRID**

**SKRIPSI**

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

Oleh

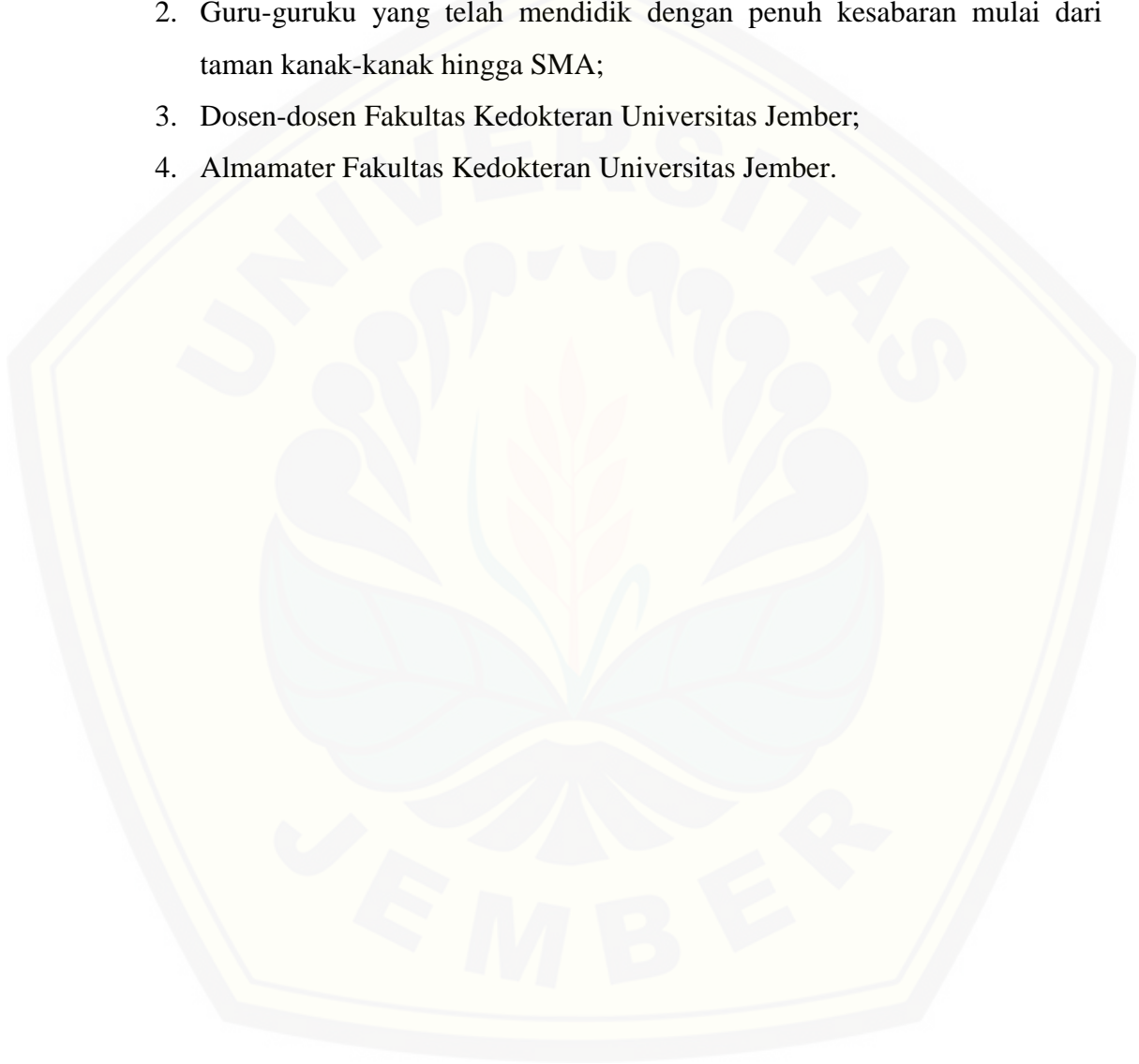
**Tsintani Nur Aristiana  
NIM 152010101091**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2018**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini penulis persembahkan untuk:

1. Ibunda Nurul Hidayati dan ayahanda Arifin Agus yang senantiasa memberikan kasih sayang, dukungan, semangat dan doa;
2. Guru-guruku yang telah mendidik dengan penuh kesabaran mulai dari taman kanak-kanak hingga SMA;
3. Dosen-dosen Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Universitas Jember.



**MOTO**

Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah keadaan suatu kaum sampai mereka  
mengubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri.

(terjemahan Surat *Ar-Ra'adu* ayat 11)<sup>\*)</sup>



---

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

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Tsintani Nur Aristiana

NIM : 1520101010191

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Efektivitas Penambahan Vitamin D terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Model Hiperglikemia dengan Terapi Glimepirid” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 8 Maret 2019

Yang menyatakan,

Tsintani Nur Aristiana  
NIM 152010101091

**SKRIPSI**

**EFEKTIVITAS PENAMBAHAN VITAMIN D TERHADAP PENURUNAN  
KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT MODEL HIPERGLIKEMIA  
DENGAN TERAPI GLIMEPIRID**

Oleh

Tsintani Nur Aristiana  
152010101091

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked.

Dosen Pembimbing Anggota : dr. M. Ali Shodikin, M.Kes., Sp.A.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Efektivitas Penambahan Vitamin D terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Model Hiperglikemia dengan Terapi Glimepirid” ini telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Kamis

Tanggal : 14 Maret 2019

Tempat : R. Sidang Lt. 1 Gedung Dekanat FK Unej

**Tim Penguji**

Ketua,

dr. Ali Santosa, Sp.PD.  
NIP 19590904 198701 1 001

Anggota II,

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

Anggota I,

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

Anggota III,

dr. M. Ali Shodikin, M.Kes., Sp.A.  
NIP 19770625 200501 1 002

Mengesahkan

Dekan,

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



## RINGKASAN

**Efektivitas Penambahan Vitamin D terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Model Hiperglikemia dengan Terapi Glimepirid;** Tsintani Nur Aristiana, 152010101091; 2018: 57 halaman; Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

Penyandang diabetes dapat hidup panjang dan sehat jika diabetes terdeteksi secara dini dan dikelola dengan baik. Glimepirid merupakan salah satu obat antidiabetes oral dari golongan sulfonilurea generasi kedua yang paling banyak digunakan setelah metformin dan glibenklamid. Pasien DM juga disarankan untuk mengonsumsi suplemen berupa vitamin atau mineral sebagai penunjang pengobatan. Pada penelitian sebelumnya vitamin dan mineral dapat berpengaruh pada kadar glukosa darah hewan coba maupun manusia, salah satunya yakni vitamin D. Kadar *25-hydroxyvitamin D* ( $25(\text{OH})\text{D}_3$ ) yang rendah biasanya ditemukan pada pasien DM tipe 1 maupun tipe 2. Vitamin D mempunyai efek antiinflamasi dan imunomodulator. Pada beberapa studi menjelaskan vitamin D berkontribusi pada proses konversi pro-insulin menjadi insulin. Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk membandingkan efektivitas penurunan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia dengan terapi tunggal glimepirid, mencit model hiperglikemia dengan terapi vitamin D, dan mencit model hiperglikemia dengan terapi glimepirid ditambah vitamin D.

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *true experimental* dengan rancangan *the randomized posttest only control group design*. Terdapat 25 sampel mencit (*Mus musculus*) jantan galur Balb/C dengan berat badan 20-30 g dan berumur 2-3 bulan yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Kelompok kontrol negatif diinjeksi plasebo dan kelompok kontrol positif diinjeksi STZ 150 mg/kgBB i.p. Kelompok P1, P2, dan P3 diberi injeksi STZ 150 mg/kgBB i.p dan diberi glimepirid 0,26 mg/kgBB; vitamin D 6,5 ml/kgBB; glimepirid 0,26 mg/kgBB dengan suplementasi vitamin D 6,5 ml/kgBB.



Pada penelitian ini menggunakan uji statistik *one way Anova* dan uji *post hoc tests Tukey* untuk mengolah data berat badan mencit, hasil pengukuran KGD 1 kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan, dan data delta KGD mencit. Untuk mengetahui efek STZ pada mencit, data dianalisis menggunakan uji *independent-sample T-test*. Selain itu data juga dianalisis menggunakan uji *T paired-samples T-test* untuk mengetahui efek obat pada setiap kelompok perlakuan.

Pada pengukuran KGD 1 didapatkan rata-rata KGD 1 pada kelompok K1, K2, P1, P2, dan P3 berturut-turut sebesar  $90,6 \pm 12,8$  mg/dL;  $236,2 \pm 20,2$  mg/dL;  $246,8 \pm 28,8$  mg/dL;  $213,4 \pm 25,2$  mg/dL; dan  $214,2 \pm 21,8$  mg/dL. Hal ini menunjukkan bahwa metode injeksi STZ mampu menghasilkan mencit model hiperglikemia. Pada uji *T paired-samples T-test* didapatkan nilai p pada kelompok P1, P2, dan P3 berturut-turut sebesar 0,002; 0,000; 0,000. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat efek obat pada setiap kelompok perlakuan. Kemudian pada hasil uji *post hoc tests Tukey* diperoleh perbedaan rata-rata antara kelompok P1 dengan K2 sebesar 122,55; pada kelompok P2 dengan K2 sebesar 81,60; dan pada kelompok P3 dengan K2 sebesar 74,40. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa pada kelompok yang diberi glimepirid ditambah vitamin D tidak didapatkan penambahan efektivitas penurunan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia dibandingkan dengan kelompok yang diberi terapi tunggal glimepirid dan kelompok yang diberi vitamin D saja.

## PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Efektivitas Penambahan Vitamin D terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Model Hiperglikemia dengan Terapi Glimepirid”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

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

1. dr. Supangat, M.Kes., Ph.D., Sp.BA., selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
2. dr. Cholis Abrori, M.Kes., M.Pd.Ked., selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) dan dr. M. Ali Shodikin, M.Kes., Sp.A., selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang telah banyak meluangkan waktu, pikiran serta perhatiannya untuk membimbing penulisan skripsi ini sejak awal hingga akhir;
3. dr. Ali Santosa, Sp.PD., selaku Dosen Penguji I dan dr. Pipiet Wulandari, Sp.JP., selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik dan saran dalam penyusunan skripsi ini;
4. dr. Rena Normasari, M.Biomed., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah bersedia membimbing selama masa studi;
5. Orang tuaku tercinta, Bapak Arifin dan Ibu Nurul atas dukungan moril, materi, doa, dan kasih sayang yang tak terbatas kepada penulis;
6. Saudaraku, Anggraini Nur Agustina dan M. Anditajan Nur Arifin yang selalu menyemangati dan memotivasiku untuk segera menyelesaikan skripsi ini;
7. Mbak Lilik Maslian, A.Md selaku pranata laboratorium pendidikan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember yang telah memberikan bantuan dalam penelitian ini;
8. Rekan satu tim, Nadhifah Athaya Putri dan Indi Kamilia Fitri atas kerjasama dan bantuannya selama penelitian ini;

9. Sahabatku, Fajar Hary Prasetyo dan Novanio Heri Wahyudi yang selalu memberikan motivasi, semangat serta doa demi kelancaran penelitian ini;
10. Temanku, Habib Mustofa dan Rezza Putri Mahartika yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk membantu kelancaran seminar proposalku;
11. Keluarga besar PPM Syafi'ur Rohman Jember yang telah mendidik, membimbing dan membantuku selama masa studi baik di Pondok Pesantren maupun di Universitas Jember;
12. Teman-teman angkatan 2015 yang telah berjuang bersama-sama selama masa studi di Fakultas Kedokteran Universitas Jember;
13. Semua pihak yang telah memberikan bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, Maret 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xiv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xv
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvi
<b>DAFTAR SINGKATAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
1.3.1 Tujuan Umum .....	3
1.3.2 Tujuan Khusus .....	4
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Diabetes Melitus (DM)</b> .....	5
2.1.1 Definisi.....	5
2.1.2 Faktor Risiko Diabetes Melitus.....	5
2.1.3 Klasifikasi .....	6
2.1.4 Patofisiologi Diabetes Melitus .....	7
2.1.5 Diagnosis Diabetes Melitus .....	8
2.1.6 Komplikasi Diabetes Melitus.....	9
2.1.7 Penatalaksanaan Diabetes Melitus .....	9
<b>2.2 Glimepirid</b> .....	11
<b>2.3 Vitamin D</b> .....	14
2.3.1 Karakteristik dan Metabolisme Vitamin D.....	14
2.3.2 Pengaruh Vitamin D terhadap Kadar Glukosa Darah.....	16
<b>2.4 Streptozotocin</b> .....	19
<b>2.5 Metode Pengukuran Glukosa Darah</b> .....	21
<b>2.6 Kerangka Teori</b> .....	23
<b>2.7 Kerangka Konsep Penelitian</b> .....	24
<b>2.8 Hipotesis</b> .....	25
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	26
<b>3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian</b> .....	26

3.2	<b>Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	27
3.3	<b>Populasi dan Sampel Penelitian</b> .....	27
3.4	<b>Variabel Penelitian</b> .....	28
3.5	<b>Definisi Operasional</b> .....	28
	3.5.1 <i>Streptozotocin</i> .....	28
	3.5.2 Vitamin D.....	29
	3.5.3 Glimepirid .....	29
	3.5.4 Kadar Glukosa Darah Puasa .....	29
3.6	<b>Alat dan Bahan Penelitian</b> .....	29
	3.6.1 Alat.....	29
	3.6.2 Bahan .....	30
3.7	<b>Prosedur Penelitian</b> .....	30
	3.7.1 Adaptasi dan Perawatan Hewan Coba .....	30
	3.7.2 Penentuan Dosis .....	30
	3.7.3 Pembagian Kelompok dan Perlakuan Hewan Coba .....	32
	3.7.4 Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah Mencit .....	33
3.8	<b>Uji Kelayakan Etik</b> .....	33
3.9	<b>Analisis Data</b> .....	34
3.10	<b>Alur Penelitian</b> .....	35
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	36
4.1	<b>Hasil Penelitian</b> .....	36
4.2	<b>Analisis Data</b> .....	38
	4.2.1 Analisis Data Berat Badan Mencit.....	38
	4.2.2 Analisis Data Kelompok Kontrol Negatif (K1) dan Kelompok Kontrol Positif (K2) .....	39
	4.2.3 Analisis Data Kelompok Kontrol Positif (K2) dengan Kelompok Perlakuan (P1, P2, dan P3).....	40
	4.2.4 Analisis Data KGD 1 dengan KGD 2 pada Kelompok Perlakuan (P1, P2, dan P3).....	41
	4.2.5 Analisis Data delta KGD pada Kelompok K2, P1, P2, dan P3.....	42
4.3	<b>Pembahasan</b> .....	43
	4.3.1 Efek Pemberian <i>Streptozotocin</i> (STZ) .....	43
	4.3.2 Efek Pemberian Glimepirid .....	44
	4.3.3 Efek Pemberian Vitamin D .....	45
	4.3.4 Efek Penambahan Vitamin D terhadap Mencit Model Hiperglikemia dengan Terapi Glimepirid .....	47
	4.3.5 Tingkat Keefektivan Terapi pada Kelompok Perlakuan (P1, P2, dan P3).....	47
	4.3.6 Keterbatasan Penelitian .....	49
<b>BAB 5.</b>	<b>PENUTUP</b> .....	51
3.1	<b>Kesimpulan</b> .....	51
3.2	<b>Saran</b> .....	52
	<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	53
	<b>LAMPIRAN</b> .....	58



**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Profil obat antihiperglikemia oral yang tersedia di Indonesia .....	11
2.2 Farmakokinetik glimepirid.....	13
4.1 Karakteristik awal sampel penelitian .....	36
4.2 Hasil analisis <i>post hoc tests Tukey</i> berat badan mencit.....	39
4.3 Hasil <i>independent-sample T-test</i> data KGD 1 kelompok K1 dan K2.....	39
4.4 Hasil analisis <i>post hoc tests Tukey</i> KGD 1 kelompok K2, P1, P2, P3.....	40
4.5 Hasil analisis uji <i>T paired-samples T-test</i> KGD 1 dan KGD 2 pada kelompok P1, P2, dan P3 .....	42
4.6 Hasil analisis uji <i>post hoc tests Tukey</i> delta KGD pada kelompok K2, P1, P2, dan P3 .....	43

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Struktur glibenklamid dan glimepirid .....	12
2.2 Jalur metabolik vitamin D.....	15
2.3 Peran vitamin D dalam perkembangan resistensi insulin, dan glukotoksik serta lipotoksik .....	17
2.4 Integrasi dan hubungan antara vitamin D dan DM tipe 2 .....	19
2.5 Representasi skematik pada efek toksik dari analog glukosa terhadap sel $\beta$ pankreas .....	20
2.6 Fase dari respon glukosa darah terhadap dosis diabetogenik <i>streptozotocin</i> .....	21
2.7 Kerangka teori.....	23
2.8 Kerangka konsep penelitian .....	24
3.1 Skema rancangan penelitian.....	26
3.2 Alur penelitian .....	35
4.1 Grafik rata-rata hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa mencit .....	37
4.2 Grafik rata-rata hasil pengukuran KGD 1 .....	44
4.3 Grafik rata-rata KGD pre dan post pada kelompok P1 .....	45
4.4 Grafik rata-rata KGD pre dan post pada kelompok P2.....	46
4.5 Grafik rata-rata KGD pre dan post pada kelompok P3.....	47
4.6 Grafik delta KGD pada kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan.....	48



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
3.1 Tabel Rasio Luas Permukaan Manusia dan Beberapa Spesies .....	58
3.2 Tabel Daftar Volume Maksimal Larutan Sediaan Uji yang Dapat Diberikan pada Berbagai Hewan .....	59
3.3 Perhitungan Dosis dan Volume Sediaan yang diberikan pada hewan coba .....	60
3.4 Tabel Dosis <i>Streptozotocin</i> , Glimepirid, dan Vitamin D .....	62
3.5 Standar Operasional Prosedur Perlakuan .....	63
3.6 Etik Penelitian .....	66
4.1 Data Kadar Glukosa Darah Puasa Hewan Coba .....	68
4.2 Hasil Analisis Statistik .....	70
4.3 Dokumentasi Penelitian .....	77

**DAFTAR SINGKATAN**

25(OH)D <sub>3</sub>	: 25 hydroxivitamin D3
1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	: 1,25 dihydroxivitamin D3
ADP	: Adenosin difosfat
DM	: Diabetes Melitus
GDPT	: Glukosa Darah Puasa Terganggu
GLUT	: <i>Glucose Transporter</i>
IDDM	: <i>Insulin Dependent Diabetes Mellitus</i>
KDA	: Kilodaltons
NAD	: Nikotinamida Adenina Dinukleotida
NIDDM	: <i>Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus</i>
PTM	: Penyakit Tidak Menular
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
TGT	: Toleransi Glukosa Terganggu
TTGO	: Tes Toleransi Glukosa Oral
VDR	: <i>Vitamin D Receptor</i>

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Seiring dengan perkembangan jaman, penyakit di Indonesia saat ini telah mengalami transisi epidemiologi dari penyakit menular menjadi penyakit tidak menular (PTM). Salah satu PTM di Indonesia yang menjadi permasalahan saat ini adalah Diabetes Melitus (DM) (Depkes RI, 2016). Menurut data Riskesdas tahun 2013 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan prevalensi DM di Indonesia dari 5,7% pada tahun 2007 menjadi 6,9% atau sekitar 9,1 juta orang penyandang DM pada tahun 2013. Seperti kondisi di dunia, DM kini menjadi salah satu penyebab kematian terbesar di Indonesia. Menurut *Data Sample Registration Survey* tahun 2014 menunjukkan bahwa DM merupakan penyebab kematian terbesar nomor 3 di Indonesia dengan presentase sebesar 6,7% setelah stroke (21,1%) dan penyakit jantung koroner (12,9%). Apabila kondisi ini tidak ditangani dengan baik maka dapat mengakibatkan penurunan produktivitas, peningkatan disabilitas dan kematian dini.

DM merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya (PERKENI, 2015). Hiperglikemia kronik pada diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi atau kegagalan beberapa organ tubuh, terutama mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah (Sudoyo *et al.*, 2006). Insulin disekresikan oleh sel-sel  $\beta$  pankreas yang akan langsung diinfusikan ke dalam hati melalui vena porta, yang kemudian akan didistribusikan ke seluruh tubuh melalui peredaran darah. Insulin berperan untuk membantu transport glukosa masuk ke dalam sel. Selain itu, insulin mempunyai pengaruh yang sangat luas terhadap metabolisme, baik metabolisme karbohidrat dan lipid, maupun metabolisme protein dan mineral, insulin akan meningkatkan lipogenesis, menekan lipolisis, serta meningkatkan *transport* asam amino masuk ke dalam sel (Depkes RI, 2005).

Berdasarkan patogenesisnya, DM diklasifikasikan menjadi empat, yaitu DM 1 dan DM 2, diabetes gestasional (diabetes kehamilan) serta diabetes tipe

khusus lain (kelainan genetik). Selain itu ada dua kategori toleransi glukosa abnormal, yaitu gangguan toleransi glukosa dan gangguan glukosa puasa. Mereka ini tidak digolongkan sebagai penderita diabetes, tetapi memiliki risiko yang lebih tinggi terhadap diabetes dibandingkan dengan masyarakat umum (Price & Wilson, 2006).

Penyandang diabetes dapat hidup panjang dan sehat jika diabetes terdeteksi secara dini dan dikelola dengan baik. Manajemen diabetes dengan protokol standar dapat mencegah kematian dini dan komplikasi, yaitu intervensi gaya hidup sehat, pendidikan tentang pengetahuan pasien untuk memfasilitasi perawatan diri, skrining rutin dan pengobatan yang disiplin (WHO, 2016). Menurut Achmad *et al.*, (2017) bahwa obat antidiabetes yang paling banyak digunakan adalah metformin dengan presentase 39,13% dari 69 pasien DM, glibenklamid 27,53% dan glimepirid 21,74%. Di antara ketiga obat tersebut, keamanan dan keefektifan glimepirid telah terkonfirmasi pada beberapa studi dan hal ini berhubungan dengan rendahnya risiko hipoglikemia serta kenaikan berat badan dibandingkan dengan obat golongan sulfonilurea lainnya. Glimepirid merupakan salah satu obat antidiabetes oral dari golongan sulfonilurea generasi kedua. Glimepirid bekerja dengan cara menstimulasi sel  $\beta$  pankreas untuk memproduksi insulin (Basit *et al.*, 2012).

Selain sebagai terapi tunggal, glimepirid juga dapat dikombinasikan dengan insulin maupun dengan metformin. Pasien DM juga disarankan untuk mengonsumsi suplemen berupa vitamin atau mineral sebagai penunjang pengobatan. Pada penelitian sebelumnya vitamin dan mineral dapat berpengaruh pada kadar glukosa darah hewan coba maupun manusia, salah satunya yakni vitamin D. Kadar *25-hydroxyvitamin D* ( $25(\text{OH})\text{D}_3$ ) yang rendah biasanya ditemukan pada pasien DM tipe 1 maupun tipe 2. Pada pasien dengan DM yang tidak terkontrol pada masyarakat umum, kadar  $25(\text{OH})\text{D}_3$  yang rendah berkaitan dengan tingginya glukosa darah puasa dan tingginya kadar haemoglobin glikat. Vitamin D mempunyai efek antiinflamasi dan imunomodulator. Hal ini mempengaruhi pada patologi autoimun DM tipe 1 dan dapat memperbaiki inflamasi kronik dengan tingkatan rendah yang berkaitan pada resistensi insulin DM tipe 2 (George *et al.*, 2012).

Pada sebuah studi, melaporkan bahwa kekurangan vitamin D dapat menumpulkan kerja insulin melalui peningkatan kadar hormon paratiroid (PTH). Baru-baru ini, sebuah penelitian menemukan bahwa suplementasi vitamin D dapat meningkatkan indeks disposisi (sekresi dan kerja insulin) pada subyek yang berisiko tinggi terkena diabetes (Muscogiuri *et al.*, 2011). Kedua studi pada manusia maupun hewan, telah menjelaskan bahwa disfungsi sel  $\beta$  pankreas berhubungan dengan keadaan defisiensi *1,25 dihydroxivitamin D3* dan suplementasi vitamin ini berkontribusi pada proses konversi pro-insulin menjadi insulin (Silva *et al.*, 2014). Namun menurut George *et al.*, (2012) di dalam *systematic review* dan *meta-analysis* belum menemukan bukti yang cukup untuk merekomendasikan suplemen vitamin D untuk meningkatkan kontrol glikemik pada pasien DM atau gangguan toleransi glukosa.

Status vitamin D yang rendah dikaitkan dengan gangguan makrovaskuler di kemudian hari pada pasien dengan DM tipe 2. Hal ini merupakan hasil dari hubungan antara status vitamin D dengan sistem renin-angiotensin, fungsi endotel, tekanan darah, dan peradangan kronis (Simsek *et al*, 2016). Berdasarkan hal tersebut maka peneliti menggunakan vitamin D sebagai terapi adjuvan pada pasien DM dengan pengobatan glimepirid.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan suatu permasalahan yaitu apakah penambahan vitamin D pada terapi glimepirid lebih efektif terhadap penurunan glukosa darah pada mencit model hiperglikemia dibandingkan dengan terapi tunggal glimepirid?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas penurunan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia dengan terapi tunggal glimepirid, mencit model hiperglikemia dengan terapi vitamin D, dan mencit model hiperglikemia dengan terapi glimepirid ditambah vitamin D.



### 1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui kadar glukosa darah puasa mencit yang diinjeksi *streptozotocin*.
- b. Mengetahui efek terapi tunggal glimepirid, efek suplementasi vitamin D, serta efek terapi glimepirid yang ditambah vitamin D terhadap penurunan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia.

### 2.1 Manfaat Penelitian

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efek penambahan vitamin D terhadap penurunan glukosa darah pada mencit model hiperglikemia dengan terapi glimepirid.
- b. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi pertimbangan terapi adjuvan pada pasien DM untuk meminimalisasi terjadinya komplikasi DM jangka pendek maupun jangka panjang.
- c. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat mengenai manfaat vitamin D sebagai penurun glukosa darah bagi pasien DM.
- d. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang dapat menjadi dasar penelitian selanjutnya yang berkaitan dengan pengaruh vitamin D terhadap kadar glukosa darah.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Diabetes Melitus (DM)

#### 4.1.1 Definisi

Penyakit gula atau kencing manis sudah dikenal sejak lebih kurang dua ribu tahun yang lalu, dalam dunia kedokteran dikenal dengan istilah *Diabetes Mellitus* (bahasa Latin: *diabetes* = penerusan; *mellitus* = manis) (Lanywati, 2011). Diabetes melitus (DM) merupakan suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel-sel beta Langerhans kelenjar pankreas, atau disebabkan oleh kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (Depkes RI, 2005).

#### 4.1.2 Faktor Risiko Diabetes Melitus

Menurut Fatimah (2015), faktor risiko DM dapat dibagi menjadi dua, yaitu faktor risiko yang tidak dapat diubah dan faktor risiko yang dapat diubah. Faktor risiko DM yang tidak dapat diubah meliputi umur  $\geq 45$  tahun, jenis kelamin, faktor genetik, riwayat keluarga dengan DM (*first degree relative*), etnik, status perkawinan, tingkat pendidikan, pekerjaan, riwayat melahirkan bayi dengan berat badan lahir bayi  $> 4000$  gram atau riwayat pernah menderita DM gestasional dan riwayat lahir dengan berat badan rendah ( $< 2500$  gram). Sedangkan faktor risiko DM yang dapat diubah meliputi kurangnya aktivitas fisik, hipertensi, dislipidemia, obesitas ( $IMT \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) atau lingkar perut  $\geq 80$  cm pada wanita dan  $\geq 90$  cm pada laki-laki, diet dan pola makan yang tidak sehat, kebiasaan merokok, serta konsumsi alkohol.

Selain itu terdapat faktor lain terkait risiko terjadinya DM, yaitu sebagai berikut:

- a. Penderita *polycystic ovary syndrome* (PCOS)
- b. Penderita sindrom metabolik



- c. Memiliki riwayat toleransi glukosa terganggu (TGT) atau glukosa darah puasa terganggu (GDPT) sebelumnya
- d. Memiliki riwayat penyakit kardiovaskuler seperti stroke, penyakit jantung koroner, atau *Peripheral Arterial Diseases* (PAD)
- e. Hipovitaminosis pada vitamin D memperbesar risiko terkena DM terkait peran vitamin D pada proses produksi dan sekresi insulin.

#### 4.1.3 Klasifikasi

Menurut WHO tahun 1980 dan 1985, DM digolongkan menjadi *insulin-dependent* DM (IDDM) dan *non-insulin dependent* DM (NIDDM). Namun istilah tersebut kini telah menghilang dengan adanya sistem klasifikasi baru yang menggolongkan DM menjadi empat jenis, yaitu DM tipe 1, DM tipe 2, diabetes gestasional dan jenis spesifik lainnya. DM tipe 1 (diabetes juvenil) ditandai oleh kerusakan sel  $\beta$  pankreas yang disebabkan oleh proses autoimun, biasanya menyebabkan defisiensi insulin yang absolut. DM tipe 1 biasanya ditandai dengan adanya dekarboksilase asam anti-glutamat, sel islet atau antibodi insulin yang mengidentifikasi proses autoimun yang mengarah pada kerusakan sel beta. Akhirnya, semua pasien DM tipe 1 akan membutuhkan terapi insulin untuk mempertahankan glukosa darah normal (Baynest, 2015).

DM tipe 2 terdiri dari 80% hingga 90% dari semua kasus DM. Kebanyakan individu dengan DM tipe 2 menunjukkan obesitas intra-abdominal, yang berhubungan erat dengan keberadaan resistensi insulin. Selain itu, hipertensi dan dislipidemia (trigliserida tinggi dan kadar HDL-kolesterol rendah; hiperlipidemia postprandial) juga dapat ditemukan pada pasien-pasien DM tipe 2. Diabetes gestasional merupakan kondisi wanita yang mengalami DM tipe 1 selama kehamilan atau DM tipe 2 yang tidak terdiagnosis (asimptomatik) yang ditemukan selama kehamilan. Mayoritas kejadian ini berawal pada trimester ketiga kehamilan (Baynest, 2015).

Jenis spesifik lainnya dari penyakit DM terdiri dari orang-orang dengan cacat genetik pada fungsi sel beta (diabetes tipe ini sebelumnya disebut MODY atau *maturity-onset diabetes in youth*) atau dengan defek pada kerja insulin; orang

dengan penyakit pankreas eksokrin, seperti pankreatitis atau fibrosis kistik; orang dengan disfungsi yang terkait dengan endokrinopati lainnya (misalnya akromegali); dan orang dengan disfungsi pankreas yang disebabkan oleh obat-obatan, bahan kimia atau infeksi (Baynest, 2015).

#### 4.1.4 Patofisiologi Diabetes Melitus

DM tipe 1 merupakan hasil dari kombinasi pengaruh genetik dan lingkungan, salah satunya adalah destruksi autoimun pada sel  $\beta$  pankreas. Faktor lingkungan tersebut seperti enterovirus, faktor makanan atau racun yang dapat memicu perkembangan autoimunitas T-sel pada individu yang rentan secara genetik. Risiko DM tipe 1 ini sekitar 5% jika ada seorang kerabat tingkat pertama yang terkena DM tipe 1 dan atau tingkat yang lebih tinggi jika orang tua yang terkena adalah ayah daripada ibu. Pasien-pasien DM tipe 1 ini rentan terhadap penyakit autoimun lainnya, seperti *Hashimoto's thyroiditis*, *celiac disease*, *Addison's disease*, dan *myasthenia gravis* (Siddiqui *et al.*, 2011).

Sedangkan DM tipe 2 adalah hasil dari interaksi antara beberapa faktor genetik dan lingkungan yang menghasilkan gangguan heterogen dan progresif dengan variabel derajat resistensi insulin dan disfungsi sel  $\beta$  pankreas. Obesitas merupakan kontributor utama terhadap perkembangan resistensi insulin dan gangguan toleransi glukosa. Ketika sel  $\beta$  pankreas tidak lagi mampu menyekresikan insulin yang cukup untuk mengatasi resistensi insulin, gangguan toleransi glukosa berkembang menjadi DM tipe 2. Kelainan pada hormon lain seperti berkurangnya sekresi inkretin *glukagon-like peptide 1* (GLP-1), hiperglukagonemia dan peningkatan konsentrasi hormon kontra-regulasi lain juga berkontribusi terhadap resistensi insulin, berkurangnya sekresi insulin serta hiperglikemia pada DM tipe 2. Obesitas berkontribusi terhadap resistensi insulin melalui beberapa jalur, termasuk ketidakseimbangan dalam konsentrasi hormon (misalnya, peningkatan leptin, penurunan adiponektin dan peningkatan glukagon), peningkatan konsentrasi sitokin (misalnya, TNF  $\alpha$ , IL-6) dan penekanan sinyal inflamasi (Siddiqui *et al.*, 2011). Gen GLUT2 terdapat pada sel  $\beta$  pankreas dan hati, sedangkan GLUT4

diekspresikan dalam otot skelet dan adiposit, keduanya merupakan kandidat kuat yang berkaitan dengan kerentanan genetik untuk DM tipe 2 (Ozougwu *et al.*, 2013).

#### 4.1.5 Diagnosis Diabetes Melitus

Menurut PERKENI (2015), berbagai keluhan dapat ditemukan pada penyandang diabetes. Kecurigaan adanya DM perlu dipikirkan apabila terdapat keluhan klasik DM seperti di bawah ini:

- a. Keluhan klasik DM berupa: polidipsia, poliuria, polifagia dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya.
- b. Keluhan lain dapat berupa: lemah badan, mata kabur, kesemutan, gatal, dan pruritus vulvae pada wanita serta disfungsi ereksi pada pria.

Diagnosis DM berdasarkan PERKENI (2015) dapat ditegakkan melalui tiga cara sebagai berikut:

- a. Pemeriksaan glukosa plasma puasa  $\geq 126$  mg/dL dengan adanya keluhan klasik.
- b. Jika keluhan klasik ditemukan, maka pemeriksaan glukosa plasma sewaktu  $>200$  mg/dL sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM.
- c. Tes toleransi glukosa oral (TTGO). Pemeriksaan ini memiliki keterbatasan tersendiri, meskipun TTGO dengan beban 75 gram glukosa lebih sensitif dan spesifik dibanding dengan pemeriksaan glukosa plasma puasa. Namun, TTGO dalam praktek sangat jarang digunakan dan sulit untuk dilakukan berulang-ulang karena membutuhkan persiapan khusus.

Apabila hasil pemeriksaan tidak memenuhi kriteria normal atau DM, maka akan digolongkan ke dalam kelompok toleransi glukosa darah puasa terganggu (GDPT) atau glukosa terganggu (TGT).

- a. GDPT: diagnosis GDPT ditegakkan bila setelah pemeriksaan glukosa plasma puasa didapatkan antara 100-125 mg/dL (5,6-6,9 mmol/L) dan pemeriksaan TTGO gula darah 2 jam  $<140$  mg/dL.
- b. TGT: diagnosis TGT ditegakkan bila setelah pemeriksaan TTGO didapatkan glukosa plasma 2 jam setelah beban antara 140-199 mg/dL (7,8-11,0 mmol/L).

#### 4.1.6 Komplikasi Diabetes Melitus

Ada dua komplikasi pada DM yaitu komplikasi akut dan komplikasi kronik. Komplikasi kronik terdiri dari komplikasi makrovaskuler dan komplikasi mikrovaskuler. Komplikasi metabolik akut disebabkan oleh perubahan yang relatif akut dari konsentrasi glukosa plasma. Pada DM tipe 1, apabila kadar insulin mengalami penurunan drastis maka pasien akan mengalami hiperglikemia dan glukosuria berat, penurunan lipogenesis, peningkatan lipolisis dan peningkatan oksidasi asam lemak bebas disertai pembentukan keton (hidroksibutirat, asetoasetat, dan aseton). Hal ini disebut dengan ketoasidosis diabetik (KAD) yang merupakan komplikasi DM tipe 1 yang paling serius (Price & Wilson, 2006).

Pada pasien DM *insulin dependent* berisiko terjadi hipoglikemia yang disebabkan oleh penggunaan insulin yang terlalu banyak. Gejala hipoglikemia adalah berkeringat, gemetar, sakit kepala dan palpitasi yang diakibatkan oleh pelepasan epinefrin serta gejala yang timbul akibat kekurangan glukosa dalam otak (sensorik rendah dan koma). Komplikasi akut yang sering terjadi pada DM tipe 2 yaitu hiperglikemia, hiperosmolar, dan koma nonketotik. Hiperglikemia dapat menyebabkan diuresis osmosis, hiperosmolaritas, dan dehidrasi berat. Pada hiperglikemia berat kadar glukosa serum mencapai >600 mg/dL (Price & Wilson, 2006).

Komplikasi kronik jangka panjang pada DM melibatkan pembuluh-pembuluh kecil (mikroangiopati) dan pembuluh-pembuluh sedang sampai besar. Hal ini dapat bermanifestasi setelah 15 sampai 20 tahun awitan DM. Mikroangiopati dapat terjadi pada arteriola retina (*retinopati diabetik*), glomerulus ginjal (*nefropati diabetik*), dan saraf-saraf kapiler (*neuropati diabetik*). Lesi-lesi ini ditandai dengan peningkatan penimbunan glikoprotein (Wulandari & Martini, 2013).

#### 4.1.7 Penatalaksanaan Diabetes Melitus

Prinsip penatalaksanaan DM berdasarkan Konsensus Pengelolaan DM di Indonesia tahun 2015 adalah untuk meningkatkan kualitas hidup pasien DM. Pada umumnya tujuan penatalaksanaan DM ada dua, yakni tujuan jangka pendek dan



jangka panjang. Tujuan jangka pendek meliputi mengurangi keluhan dan tanda-tanda DM, mengurangi risiko komplikasi akut, dan memperbaiki kualitas hidup. Sedangkan tujuan jangka panjang ialah untuk mencegah dan menghambat progresivitas mikroangiopati dan makroangiopati. Tujuan akhirnya ialah menurunkan morbiditas dan mortalitas DM. Untuk mencapai tujuan-tujuan tersebut diperlukan pengendalian glukosa darah, berat badan, tekanan darah, dan profil lipid pasien dengan pengelolaan yang komprehensif.

Menurut PERKENI (2015), penatalaksanaan DM terdiri atas empat pilar sebagai berikut:

- a. Edukasi yang diberikan pada pasien dan keluarga pasien baik di tingkat Pelayanan Kesehatan Primer maupun di tingkat Pelayanan Kesehatan sekunder dan tersier.
- b. Terapi Nutrisi Medis (TNM) merupakan kunci penatalaksanaan DM secara komprehensif. Pasien DM harus ditekankan tentang pentingnya keteraturan jadwal makan, jumlah dan jenis kandungan kalori terutama bagi pasien dengan terapi insulin. Uji klinis telah menunjukkan bahwa modifikasi gaya hidup efektif dalam mencegah DM, dengan pengurangan sekitar 58% risiko dalam 3 tahun. Sangat dianjurkan oleh *American Diabetes Association* (ADA) bahwa pasien dengan tingkat gangguan glukosa darah puasa, gangguan toleransi glukosa atau HbA1C 5,7-6,4% supaya melakukan perubahan gaya hidup seperti diet dan olahraga (Chaudhury *et al.*, 2017).
- c. Latihan jasmani yang disesuaikan dengan umur dan status kebugaran jasmani. Pada pasien DM yang relatif sehat, intensitas latihan jasmani dapat ditingkatkan, sedangkan pada pasien DM dengan komplikasi intensitas latihan jasmani dapat disesuaikan.
- d. Terapi farmakologis yang terdiri dari obat antihiperглиkemia oral dan obat antihiperглиkemia suntik. Golongan utama obat antidiabetik oral terdiri atas biguanid, sulfonilurea, meglitinid, tiazolidindion (TZD), inhibitor *dipeptidyl peptidase 4* (DPP-4), inhibitor *sodium-glucose cotransporter* (SGLT2), dan inhibitor  $\alpha$ -glukosidase (Tabel 2.1). Jika tingkat HbA1C naik menjadi 7,5% saat menggunakan obat atau jika HbA1 awal  $\geq 9\%$  maka dapat

dipertimbangkan terapi kombinasi dengan dua agen oral atau dengan insulin (Chaudhury *et al.*, 2017).

Tabel 2.1 Profil obat antihiperlikemia oral yang tersedia di Indonesia

Golongan Obat	Cara Kerja Utama	Efek Samping Utama	Penurunan HbA1C
Sulfonilurea	Meningkatkan sekresi insulin	BB naik hipoglikemia	1,0-2,0%
Glinid	Meningkatkan sekresi insulin	BB naik hipoglikemia	0,5-1,5%
Metformin	Menekan produksi glukosa hati dan menambah sensitifitas terhadap insulin	Dispepsia, diare, asidosis laktat	1,0-2,0%
Penghambat Alfa-Glukosidase	Menghambat absorpsi glukosa	Flatulen, tinja lembek	0,5-0,8%
Tiazolidindion	Menambah sensitifitas terhadap insulin	Edema	0,5-1,4%
Penghambat DPP-IV	Meningkatkan sekresi insulin, menghambat sekresi glukagon	Sebah, muntah	0,5-0,8%
Penghambat SGLT-2	Menghambat penyerapan kembali glukosa di tubuli distal ginjal	Dehidrasi, infeksi saluran kemih	0,8-1,0%

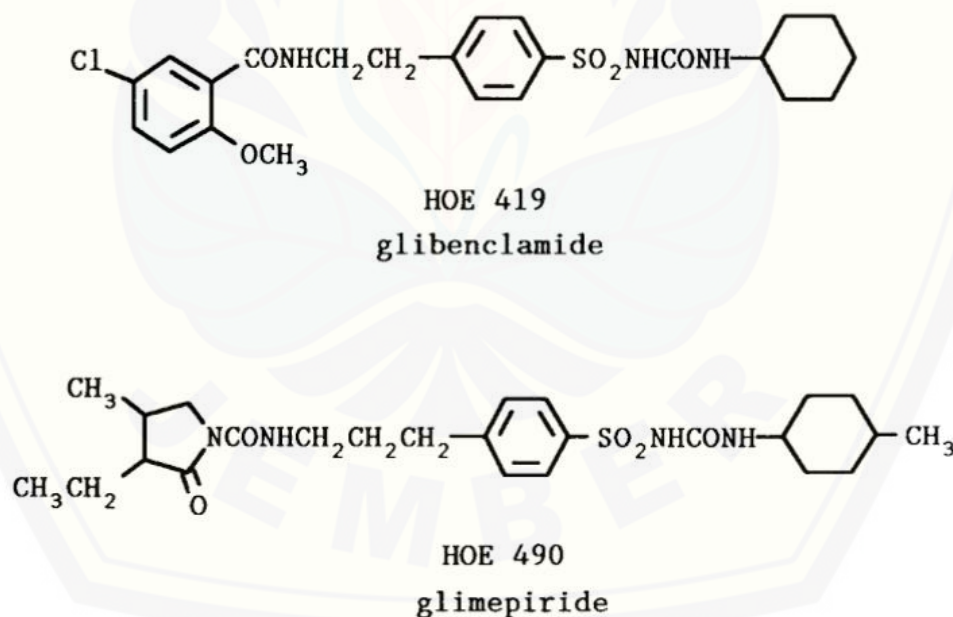
Sumber: PERKENI, (2015).

## 2.2 Glimepirid

Sulfonilurea telah digunakan dalam manajemen DM tipe 2 secara luas sebagai *insulin secretagogues* yang terdiri dari dua generasi. Glimepirid termasuk dalam golongan sulfonilurea generasi kedua bersama dengan glibenklamid, glipizid dan gliquidon. Kadang-kadang glimepirid digolongkan sebagai sulfonilurea generasi ketiga karena memiliki substitusi yang lebih besar daripada sulfonilurea generasi kedua yang lainnya (Basit *et al.*, 2012).

Efek hipoglikemia sulfonilurea adalah dengan merangsang *channel K* yang tergantung pada ATP dari sel beta pankreas. Bila sulfonilurea terikat pada reseptor maka akan terjadi penutupan pada *channel* tersebut. Keadaan ini akan menyebabkan terjadinya penurunan permeabilitas K pada membran sel  $\beta$ , terjadi depolarisasi membran dan membuka *channel Ca* tergantung besar voltase serta menyebabkan terjadi peningkatan Ca intrasel. Ion Ca akan terikat pada Calmodulin dan menyebabkan eksositosis granul yang mengandung insulin (Sudoyo *et al.*, 2006).

Struktur glimepirid berkaitan erat dengan glibenklamid, namun terdapat perbedaan pada ikatan *pyrrolone* (Gambar 2.1). Pada studi *in vitro* yang memanfaatkan pulau pankreas dari tikus hiperglikemia, menunjukkan bahwa keduanya glibenklamid dan glimepirid memperlihatkan interaksi yang mirip pada proses sekresi insulin dan tidak mempengaruhi metabolisme glukosa intraseluler (Kuhlmann & Puls, 2013). Glimepirid telah terbukti mengikat reseptor (65 KDA) berbeda dari reseptor (140 KDA) yang mengikat glibenklamid. Pengikatan reseptor ini telah terbukti memiliki tingkat asosiasi tiga kali lipat lebih cepat dan sembilan kali lipat tingkat disosiasi lebih cepat daripada glibenklamid. Glimepirid juga berperan pada transportasi glukosa dalam jaringan perifer dengan meningkatkan translokasi GLUT-4 dari intraseluler ke membran sel. Glimepirid juga telah terbukti memiliki efek inhibitor pada agregasi trombosit dan merangsang sekresi insulin terutama pada saat puncak glukosa darah postprandial (Zargar, 2013).



Gambar 2.1 Struktur glibenklamid dan glimepirid (Sumber: Zargar, 2013)

Glimepirid diserap dengan cepat dan konsentrasi maksimum dicapai dalam 2 hingga 3 jam, tetapi efek penurunan glukosa darahnya bertahan selama 24 jam sebelum diekskresikan melalui ginjal (Tabel 2.2). Dosis awal yang digunakan pada



diabetes yang baru dideteksi adalah 0,5 mg dan disesuaikan pada tindak lanjut sampai tingkat gula darah yang diinginkan tercapai. Rentang dosis yang digunakan adalah 1-4 mg setiap hari (dosis maksimum, 8 mg per hari) diberikan dosis tunggal tepat sebelum sarapan. Ketika beralih dari obat lain, dosis awalnya adalah 1 mg (Zargar, 2013).

Tabel 2.2 Farmakokinetik glimepirid

Tahap Perjalanan Obat	Keterangan
Absorpsi	Diserap sepenuhnya setelah 1 jam pemberian oral. Selama proses penyerapan terjadi: pengikatan protein plasma sebanyak 99,4% dengan volume distribusi 8,8 L. Tidak terjadi akumulasi setelah pemberian <i>multiple doses</i> .
Metabolisme	Dimetabolisme di hati oleh CYP2C9 menjadi metabolit aktif M1 (hidroksil) kemudian menjadi metabolit M2 (karboksi) yang tidak aktif.
Ekskresi	Jalur ekskresi utama adalah melalui ginjal. Sebanyak 60% dari metabolit diekskresikan melalui urin (terutama M1) dan sisanya melalui feses (terutama M2).

Sumber: Basit *et al.*, (2012).

Menurut Zargar (2013), keuntungan terapi DM dengan glimepirid sebagai berikut:

- a. Dosis satu kali sehari secara terapi setara dengan pemberian dosis ganda sulfonilurea lainnya.
- b. Risiko hipoglikemia lebih rendah.
- c. Penurunan glukosa darah yang ditimbulkan serupa dengan tingkat insulin plasma puasa sekitar 50% dari glibenklamid (hemat insulin).
- d. Efektif pada dosis yang lebih rendah daripada sulfonilurea lainnya.
- e. Tidak ada risiko khusus pada pasien dengan usia lanjut atau gangguan ginjal.
- f. Memiliki onset kerja yang cepat.
- g. Memiliki efek yang spesifik dan dominan pada *ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel* (KATP) yang ada di jaringan pankreas. Namun, interaksi yang terjadi pada KATP *channel* yang ada di jaringan kardiovaskular sangat terbatas sehingga tidak menimbulkan efek kardiovaskular.

## 2.3 Vitamin D

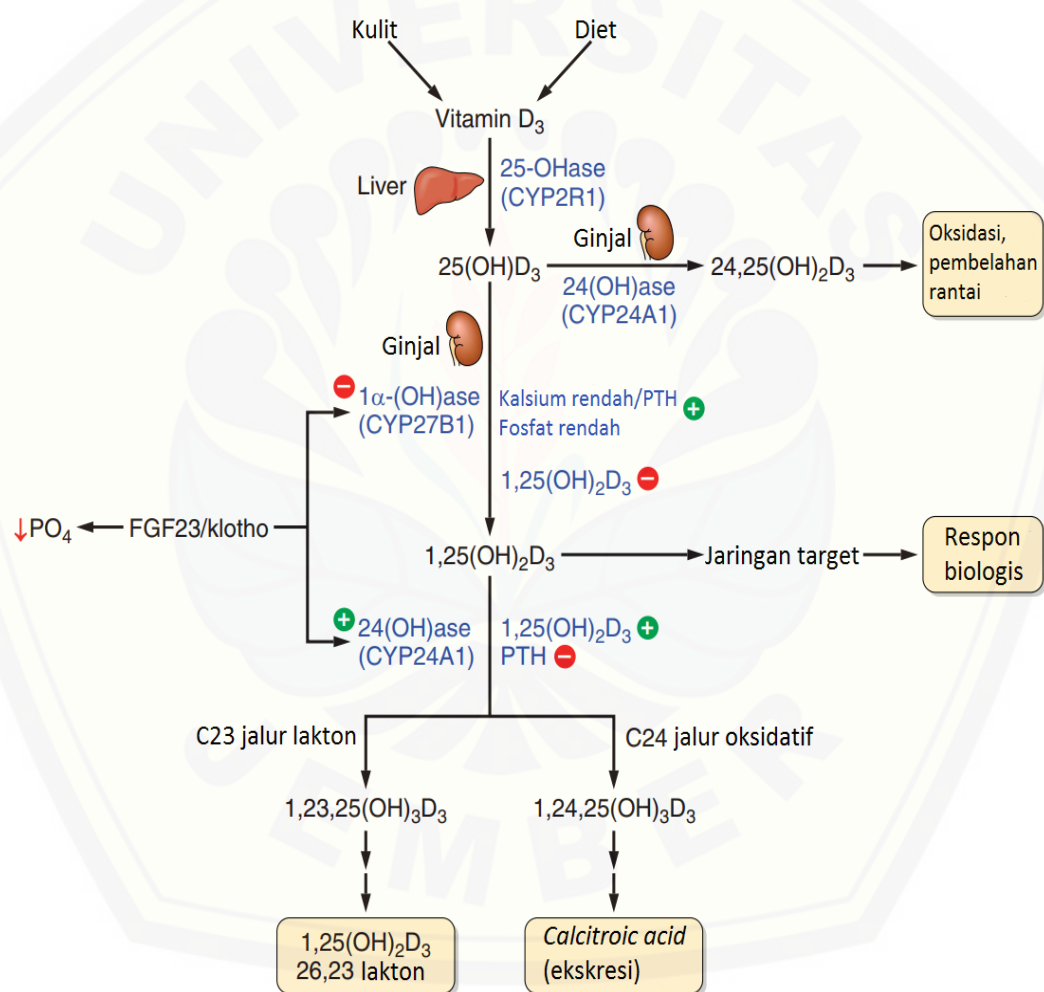
### 2.3.1 Karakteristik dan Metabolisme Vitamin D

Vitamin D adalah istilah umum untuk kelompok senyawa kimia dari struktur steroid molekuler. Sifat vitamin D tidak larut dalam air, larut dalam etanol, kloroform dan minyak lemak. Jenis vitamin D yang paling banyak ditemukan adalah *ergocalciferol*-vitamin D<sub>2</sub>, yang ditemukan pada tumbuhan dan jamur, dan *cholecalciferol*-vitamin D<sub>3</sub>, yang dapat ditemukan pada produk-produk hewani. Pada manusia *ergocalciferol* dan *cholecalciferol* diubah menjadi *1,25-dihydroxyvitamin D*, yang merupakan bentuk aktif dari vitamin D. Berbeda dengan vitamin lain, tubuh manusia dapat memproduksinya dalam jumlah yang cukup dari provitamin yang ada di kulit. Selain itu, vitamin D ditandai dengan aktivitas hormonal, yang berarti aktif metabolit disintesis di ginjal dan di hati dan diangkut oleh darah ke berbagai jaringan dan organ target, seperti epitelium usus dan tulang. Sintesis vitamin D yang terjadi di kulit merupakan proses non-enzimatik, dimulai saat terpapar sinar matahari, ketika penyerapan radiasi sinar ultraviolet B (UVB) menghasilkan konversi *7-dehydrocholesterol*, metabolit kolesterol yang disimpan di kulit, hingga *precholecalciferol* (previtamin-D<sub>3</sub>). *Precholecalciferol* secara inheren tidak stabil dan segera diubah menjadi *cholecalciferol* (vitamin D<sub>3</sub>), di bawah pengaruh suhu tubuh, kemudian diserap ke dalam aliran darah (Wranicz & Wegierek, 2014).

Setelah sintesis vitamin D<sub>3</sub> di kulit, proses metaboliknya dilanjutkan di organ internal. *Cholecalciferol* diangkut dari kulit ke hati oleh darah. Dalam sel hati, ia mengalami hidroksilasi (Wranicz & Wegierek, 2014). Dua reaksi hidroksilasi diperlukan untuk mengubah vitamin D menjadi bentuk biologis aktif (Gambar 2.2). Hidroksilasi pertama terjadi pada karbon 25 dan dominan dilakukan oleh enzim CYP2R1 sitokrom P450, meskipun enzim P450 lain mampu mengkatalis hidroksilasi ini, termasuk CYP27A1, CYP3A4 dan CYP2D5. 25(OH)D<sub>3</sub> yang dihasilkan kemudian mengalami hidroksilasi di tubulus proksimal ginjal oleh enzim CYP27B1 sitokrom P450. Hidroksilasi ini juga terjadi pada beberapa jaringan di luar ginjal, termasuk tulang, plasenta, prostat, keratinosit, makrofag, limfosit T, sel epitel kolon, sel-sel islet pankreas dan beberapa sel kanker

(termasuk sel-sel dari paru-paru, prostat dan kulit) serta sel-sel medulla adrenal, serebral dan serebellar korteks (Herrmann *et al.*, 2017).

Beberapa faktor spesifik yang terlibat dalam pengaturan hidroksilase dapat mengarah pada desain obat yang secara selektif dapat memodulasi hidroksilasi. Kemampuan vitamin D untuk mengubah tingkat enzim memiliki potensi terapeutik untuk berbagai penyakit termasuk gangguan pada tulang dan penyakit imun tertentu (Afrozul & Chareles, 2015).



Gambar 2.2 Jalur metabolik vitamin D (Sumber: Christakos *et al.*, 2015)

Sejumlah kecil vitamin D juga dapat diperoleh dengan asupan nutrisi dari produk susu, telur dan ikan laut serta minyak ikan. *1,25 dihydroxivitamin D3* bertindak melalui pengikatan reseptor vitamin D (VDR) yang heterodimer dengan

reseptor retinoid X dan memediasi transkripsi gen target setelah mengikat elemen respon vitamin D (VDRE). Selain itu, *1,25 dihydroxivitamin D3* bertindak sebagai pembawa pesan kimia untuk menghasilkan efek non-genomik dan respons cepat (Altieri *et al.*, 2016).

### 2.3.2 Pengaruh Vitamin D terhadap Kadar Glukosa Darah

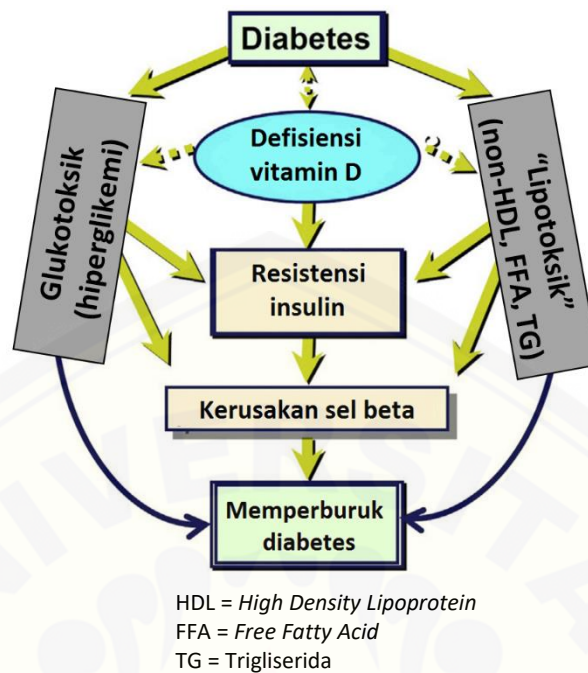
Beberapa penelitian observasional telah melaporkan hubungan antara *1,25 dihydroxivitamin D3* reseptor dengan DM tipe 1 maupun DM tipe 2, intoleransi glukosa, sensitivitas terhadap sekresi insulin dan kadar serum kalsitriol. Patofisiologi DM tipe 2 sangat kompleks, akan tetapi kita tahu bahwa ada keterlibatan perubahan fungsi sel  $\beta$  pankreas dan resistensi jaringan terhadap insulin. *1,25 dihydroxivitamin D3* sebagai hormon utama yang mengatur metabolisme kalsium, menghasilkan efek pada sistem kekebalan tubuh dan pada sel  $\beta$  pankreas dengan memfasilitasi produksi insulin (Silva *et al.*, 2014).

Adanya reseptor *1,25 dihydroxivitamin D3* di pankreas meningkatkan kemungkinan kerja langsung dari vitamin D dalam sintesis, regulasi dan sekresi hormon insulin. Baru-baru ini dilaporkan adanya *1,25 dihydroxivitamin D3 dependent-calsium binding protein* (DBP) dalam sel  $\beta$  pankreas dan faktor lain yang mendukung kerja vitamin D dalam mengatur sintesis dan sekresi insulin. *25-hydroxyvitamin D* diubah menjadi bentuk aktifnya, *1,25 dihydroxivitamin D3* dalam sel  $\beta$  pankreas oleh *25-dihydroxyvitamin D-1 $\alpha$ -hydroxylase* (Silva *et al.*, 2014).

Hipovitaminosis D adalah faktor risiko untuk pengembangan DM tipe 2 dan sindrom metabolik karena menyebabkan disfungsi sel  $\beta$  pankreas dan resistensi perifer terhadap kerja insulin (Gambar 2.3). Suplementasi pada pasien DM tipe 2 dan pasien non-diabetes dengan hipovitaminosis meningkatkan sekresi insulin, hal ini menunjukkan bahwa vitamin D meningkatkan kerja sel  $\beta$  Langerhans (Silva *et al.*, 2014). *United State Endocrine Society Guidelines* menetapkan kriteria berikut untuk tingkat serum *25-hydroxyvitamin D* (Altieri *et al.*, 2016):

- a. Defisiensi, kurang dari 20 ng/mL (kurang dari 50 nmol/L)
- b. Insufisiensi, 21-29 ng/mL (50-74 nmol/L)
- c. Status yang memuaskan (cukup), 30–100 ng/mL (75-250 nmol/L)





Gambar 2.3 Peran vitamin D dalam perkembangan resistensi insulin, dan glukotoksik serta lipotoksik (Sumber: Wimalawansa, 2018)

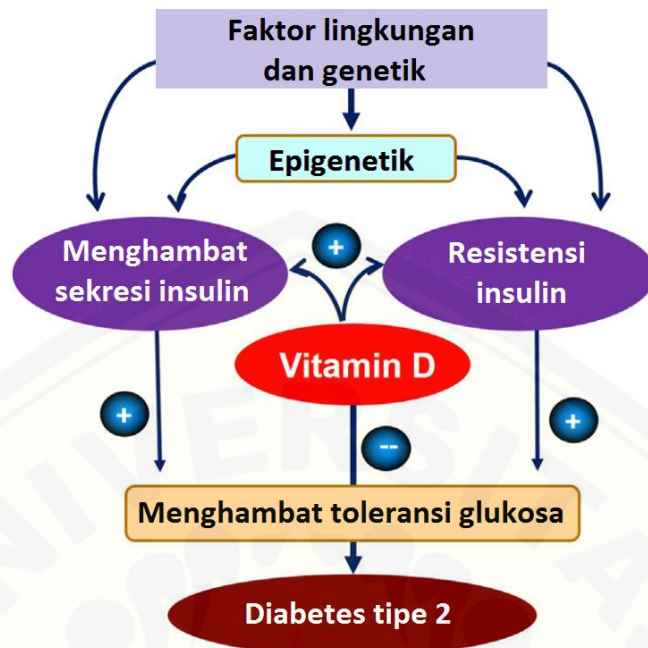
Hipervitaminosis dapat terjadi ketika konsentrasi *25-hydroxyvitamin D* dalam darah lebih dari 200 ng/mL (500 nmol/L) yang berpotensi toksik dan dapat menyebabkan hiperkalsemia dan hiperfosfatemia. Gejala hiperkalsemia adalah mual dan muntah, kehilangan nafsu makan, sembelit, lemas, kelelahan, rasa haus berlebihan, peningkatan buang air kecil, gatal dan sakit kepala. Selain itu, hiperkalsiuria dapat mengakibatkan pembentukan deposit kalsium di jaringan dan organ, dan juga kalsifikasi di ginjal sehingga berakibat terjadi kegagalan organ (Wranicz & Wegierek, 2014).

Beberapa studi menggunakan dosis <2000 IU vitamin D per hari untuk suplemen pada pasien DM. Pada penggunaan 5000 IU vitamin D per hari dapat meningkatkan serum *25-hydroxyvitamin D* di dalam darah >75 nmol/L (George *et al.*, 2012). Berdasarkan *National Institutes of Health*, dosis vitamin D yang aman mencapai 4000 IU/hari pada 60 kg orang dewasa. Dosis tersebut sebanding dengan 67 IU/kgBB/hari atau 1,67 µg/kgBB/hari (40 IU = 1 µg vitamin D) (Manna *et al.*, 2017).

Peningkatan kadar hormon paratiroid, konsekuen dengan kadar vitamin D yang rendah sehingga terjadi gangguan pelepasan insulin dari sel-sel pankreas. Pada pasien DM, kadar vitamin D yang rendah berisiko tinggi terkena gangguan makrovaskular di masa mendatang, meskipun kejadian gangguan pada mikrovaskuler tidak terbukti dengan kuat. Kelainan makrovaskuler ini disebabkan oleh efek pada tekanan darah, aktivitas sistem rennin-angiotensin, fungsi endotel, dan faktor pertumbuhan endotel vaskular atau peradangan kronis (George *et al.*, 2012).

Seseorang dengan kondisi inflamasi kronis, seperti asma, penyakit radang usus atau penyakit paru obstruktif kronis, memiliki prevalensi kekurangan vitamin D yang lebih tinggi. Vitamin D dapat mengurangi peradangan, sementara stres oksidatif dari peradangan dapat mengganggu metabolisme vitamin D dan sehingga dapat menurunkan *25-hydroxyvitamin D*. Vitamin D terlibat dalam regulasi spesifik sel lebih dari 200 gen. *1,25 dihydroxivitamin D3* juga bekerja secara genomik meliputi respons fungsi imun multipel, kontrol proliferasi sel, diferensiasi dan apoptosis, regulasi angiogenesis serta jalur yang bertanggung jawab untuk detoksifikasi sistem saraf pusat dan anti-oksidasi (Herrmann *et al.*, 2017).

Pada DM tipe 2 dijumpai perbedaan polimorfisme gen reseptor vitamin D (VDR), yaitu *Apa1*, *Taq1*, dan *Fok1* (Gambar 2.4). Polimorfisme gen VDR ini berkaitan dengan penurunan densitas tulang, hiperparatroid sekunder, kerentanan terhadap infeksi, resisten terhadap terapi vitamin D dan penyakit autoimun termasuk DM (Indra *et al.*, 2017). Dari studi Suryanto dan Adji (2018), didapatkan kadar *25-hydroxyvitamin D* dan kadar *3 C-peptida* yang rendah pada anak dengan DM tipe 1. Semakin lama anak menderita DM tipe 1 dengan terapi yang tidak adekuat, maka akan semakin rendah kadar *25-hydroxyvitamin D* dan kadar *3 C-peptida*. Rendahnya produksi insulin pada pasien DM tipe 2 dengan defisiensi vitamin D diestimasi dengan nilai *C-peptide*, F-CPI, dan P-CPI pada laki-laki serta nilai HMOA-B pada perempuan. *C-peptide* menghubungkan 2 rantai molekul pro-insulin dan merupakan indikator produksi insulin endogen (Esteghamati *et al.*, 2014).



Gambar 2.4 Integrasi dan hubungan antara vitamin D dan DM tipe 2 (Sumber: Wimalawansa, 2018)

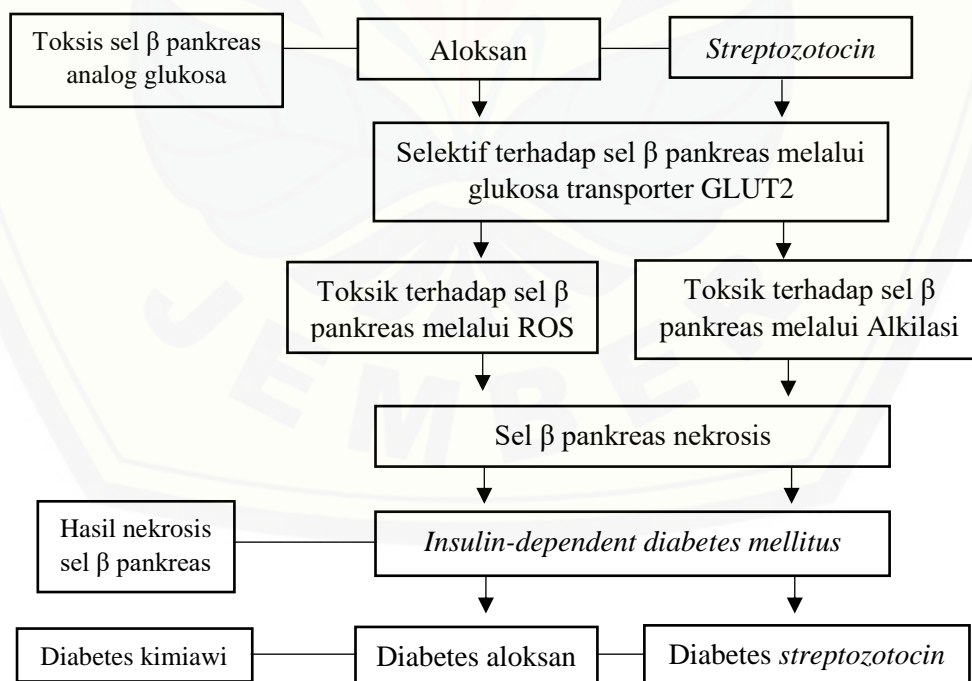
#### 2.4 Streptozotocin

*Streptozotocin* (STZ) adalah antibiotik yang berasal dari *Streptomyces achromogenes* dan secara struktural adalah turunan glukosamin dari nitrosourea. Seperti aloksan, STZ menyebabkan hiperglikemia pada anjing dan tikus terutama karena efek sitotoksik langsung pada sel  $\beta$  pankreas. STZ menyebabkan alkilasi atau kerusakan untai DNA dan akibatnya terjadi peningkatan aktivitas poli ADP-ribosa sintetase. Poli ADP-ribosa sintetase merupakan enzim yang menipiskan NAD dalam sel  $\beta$  pankreas akhirnya menyebabkan kekurangan energi dan kematian sel  $\beta$  pankreas (Srinivasan & Ramarao, 2007).

STZ merupakan agen yang banyak digunakan untuk menginduksi diabetes eksperimental karena memiliki beberapa keunggulan dibandingkan aloksan, seperti relatif lebih lama waktu paruhnya (15 menit), hiperglikemia yang dihasilkan dapat berkelanjutan untuk durasi yang lebih lama dan pengembangan komplikasi diabetes dengan karakteristik yang lebih baik dengan lebih sedikit insiden ketosis serta mortalitas (Srinivasan & Ramarao, 2007).

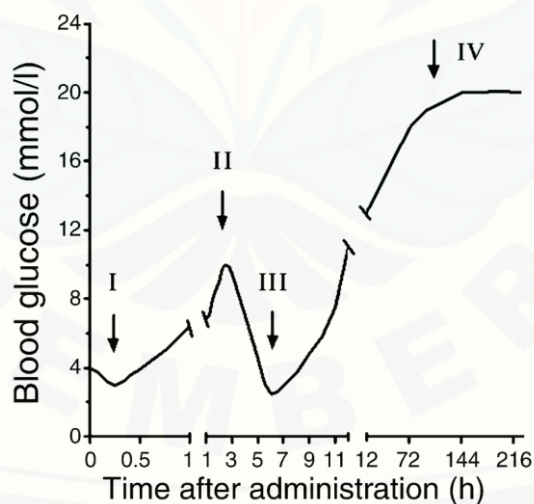


STZ menghambat sekresi insulin dan menyebabkan keadaan *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM). STZ secara selektif terakumulasi dalam sel beta pankreas melalui GLUT2, *glucose transporter* berafinitas rendah dalam membran plasma (Gambar 2.5). Dengan demikian, sel-sel yang memproduksi insulin yang tidak mengekspresikan transporter glukosa ini resisten terhadap STZ dan organ lain yang mengekspresikan transporter ini mengalami kerusakan, terutama ginjal dan hati. Toksisitas sel beta oleh STZ secara umum diasumsikan tergantung pada aktivitas alkilasi DNA dari gugus metilnitrosourea. STZ tidak memiliki efek penghambatan langsung pada transportasi glukosa atau pada fosforilasi glukosa oleh glukokinase. Namun, pada tahap selanjutnya dari kerusakan sel beta secara fungsional, kekurangan ekspresi gen dan produksi protein menyebabkan kerusakan transportasi dan metabolisme glukosa. Sel beta mengalami nekrosis melalui ROS pada induksi aloksan dan melalui alkilasi DNA pada induksi STZ yang dapat memediasi aksi toksik dari analog glukosa ini (Lenzen, 2008).



Gambar 2.5 Representasi skematik pada efek toksik dari analog glukosa terhadap sel  $\beta$  pankreas (Sumber: Lenzen, 2008)

Respon glukosa darah terhadap dosis diabetogenik dari STZ terbagi menjadi tiga fase, yakni fase II-IV yang terdapat pada Gambar 2.6. Sedangkan pada aloksan respon glukosa darah setelah injeksi melalui empat fase (fase I-IV). Pada fase kedua dimulai 1 jam setelah pemberian STZ terjadi peningkatan konsentrasi glukosa darah dan penurunan insulin plasma. Fase hiperglikemia yang pertama ini biasanya berlangsung 2-4 jam, disebabkan oleh penghambatan sekresi insulin yang menyebabkan hipoinsulinemia. Sel-sel beta mengalami vakuolisasi intraseluler, pelebaran retikulum endoplasma kasar, penurunan badan golgi, sekresi dan kadar insulin berkurang serta mitokondria membengkak. Pada fase ketiga terjadi hipoglikemik, biasanya terjadi 4-8 jam setelah injeksi STZ dan berlangsung selama beberapa jam. Hal ini disebabkan oleh insulin yang meningkat karena pecahnya membran sel dan granula sekretori sehingga pemberian dekstrosa pada fase ini sangat diperlukan. Fase keempat merupakan fase hiperglikemik diabetes permanen. Secara morfologis, degranulasi total dan hilangnya integritas sel beta terlihat dalam 12-48 jam setelah injeksi (Lenzen, 2008).



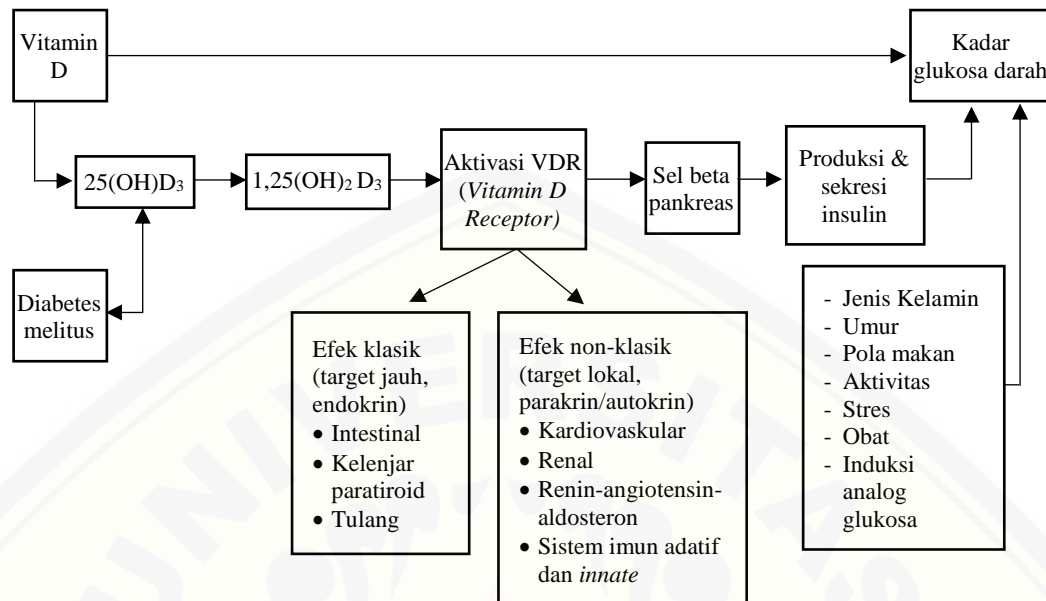
Gambar 2.6 Fase dari respon glukosa darah terhadap dosis diabetogenik *streptozotocin* (Sumber: Lenzen, 2008)

## 2.5 Metode Pengukuran Glukosa Darah

Metode enzimatik yang digunakan untuk uji glukosa darah ada tiga macam, yaitu glukosa heksokinase, oksidase, dan dehidrogenase. Spektrofotometer

menggunakan metode heksokinase yang merupakan standar metode pemeriksaan kadar glukosa darah dengan sampel darah vena. Glukosa pada darah vena akan bereaksi dengan enzim heksokinase kemudian akan dihasilkan NADPH. Kadar NADPH yang dihasilkan sebanding dengan kadar glukosa pada sampel darah tersebut. Sedangkan glukometer menggunakan metode oksidase biosensor dengan sampel darah kapiler. Glukosa pada darah kapiler akan bereaksi dengan enzim glukosa-oksidas yang ada pada *stick* glukometer. Reaksi tersebut menghasilkan elektron yang ditangkap oleh elektroda pada glukometer. Banyaknya elektron yang ditangkap sebanding dengan kadar glukosa pada darah kapiler tersebut (Sacks, 2006). Pemantauan kadar glukosa darah dapat dilakukan secara mandiri dengan sampel darah kapiler dan alat glukometer. Glukometer merupakan pengukur glukosa darah menggunakan reagen kering yang mudah dipakai dan sederhana. Glukometer termasuk salah satu metode *Point of Care Test* (POCT), yaitu pemeriksaan laboratorik yang dilakukan untuk pasien baik yang dirawat inap maupun rawat jalan, di luar laboratorium atau *bedside*. Tujuan POCT adalah untuk mengurangi *Turn Around Time* (TAT) sehingga memudahkan pengawasan penyakit DM dan meningkatkan mutu kecepatan pelayanan kesehatan pasien (Baharuddin *et al.*, 2015).

## 2.6 Kerangka Teori



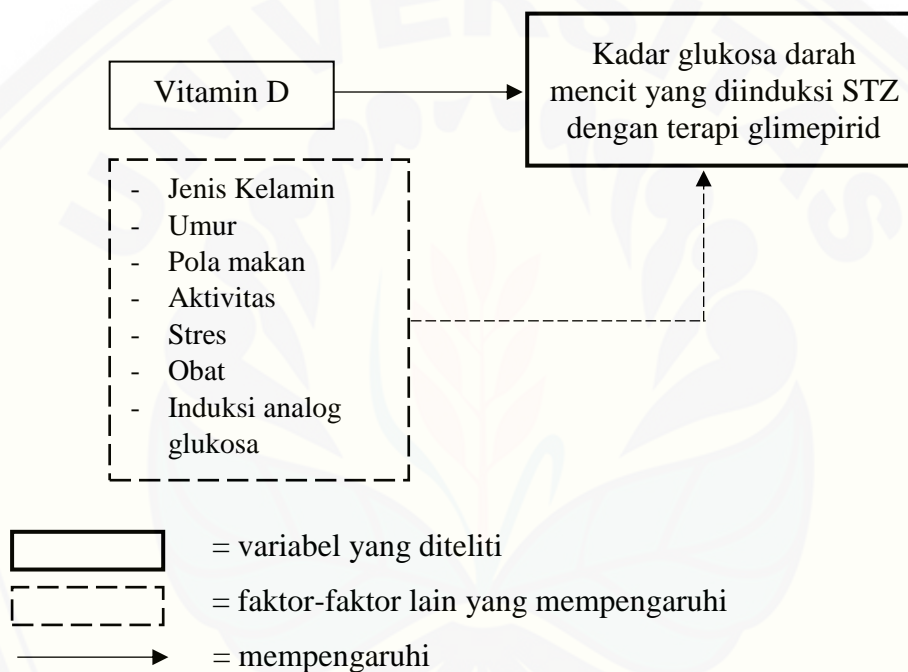
Gambar 2.7 Kerangka teori

Vitamin D pada manusia disintesis di kulit kemudian mengalami dua reaksi hidroksilasi di hati dan ginjal sehingga menjadi bentuk aktif yaitu 25(OH)D<sub>3</sub> dan 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Vitamin D dapat mempengaruhi kadar glukosa darah melalui proses aktivasi VDR (*Vitamin D Receptor*) tersebut di sel beta pankreas yang memfasilitasi produksi dan sekresi insulin. Pada beberapa studi, VDR ditemukan pada beberapa jaringan dan sel di dalam tubuh manusia, seperti pada otot jantung, otak, kelenjar endokrin, limfosit B, limfosit T, retina, dan sel beta pankreas (Wranicz & Wegierek, 2014). Pada pasien DM tipe 1 maupun tipe 2 ditemukan kadar 25(OH)D<sub>3</sub> di dalam darah mengalami penurunan sehingga dapat mempengaruhi kadar glukosa darah. Begitu juga sebaliknya, kadar 25(OH)D<sub>3</sub> di dalam darah yang rendah seperti pada kasus hipovitaminosis dapat menimbulkan risiko terjadinya DM. Vitamin D dapat mengurangi peradangan, sementara stres oksidatif dari peradangan dapat mengganggu metabolisme vitamin D dan sehingga dapat menurunkan 25-hydroxyvitamin D (Herrmann *et al.*, 2017).

Aktivasi VDR menimbulkan dua efek, yakni efek klasik dan efek non-klasik. Efek klasik terjadi pada target yang jauh dan endokrin, yaitu pada intestinal, kelenjar

paratiroid dan tulang. Sedangkan efek non-klasik timbul pada target lokal dan parakrin atau autokrin seperti pada sistem kardiovaskular, renal, sistem renin-angiotensin-aldosteron dan sistem imun adaptif serta *innate* (Cunningham & Zehnder, 2011). Selain itu, kadar glukosa darah juga dapat dipengaruhi oleh jenis kelamin, umur, pola makan, aktivitas, stres, obat, dan induksi analog glukosa seperti STZ dan aloksan.

## 2.7 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 2.8 Kerangka konsep penelitian

Induksi *streptozotocin* dilakukan pada sekelompok mencit untuk menghasilkan mencit dengan kondisi DM. Pada mencit-mencit tersebut diberi perlakuan berupa pengobatan glimepirid dengan suplementasi vitamin D. Terdapat *1,25 dihydroxivitamin D3 dependent-calsium binding protein* (DBP) pada sel  $\beta$  pankreas yang merupakan salah satu faktor pendukung vitamin D dalam mengatur sintesis dan sekresi insulin.

Glimepirid bekerja menstimulasi sel  $\beta$  pankreas untuk mensintesis dan mensekresi insulin. Oleh karena itu, diharapkan suplementasi vitamin D pada



pengobatan glimepirid dapat menyebabkan penurunan kadar glukosa darah pada mencit yang diinduksi *streptozotocin*.

### **2.8 Hipotesis**

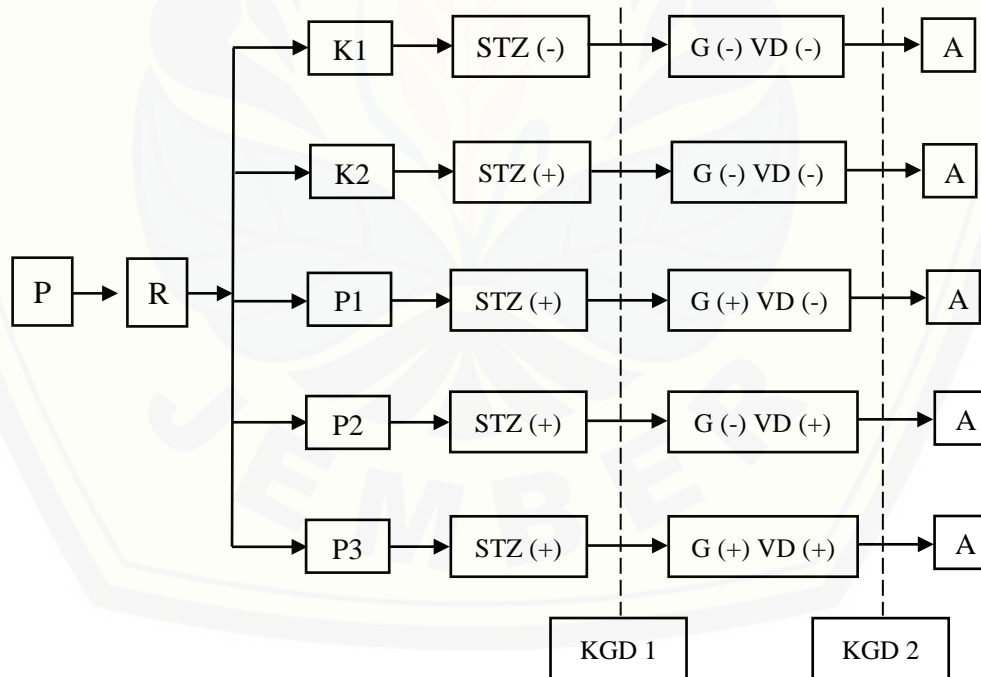
Penambahan vitamin D pada pengobatan glimepirid memiliki pengaruh yang lebih baik dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi *streptozotocin* dibandingkan pengobatan glimepirid tanpa penambahan vitamin D.



### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian *true experimental*. Penelitian *true experimental* adalah penelitian yang memberikan manipulasi terhadap *independent variable*, melakukan randomisasi untuk memisahkan sampel penelitian, serta terdapat 2 atau lebih kelompok sampel (*treatment and control groups*). Penelitian ini dilakukan dengan tujuan menemukan *cause-effect relationships* (Swarjana, 2012). Adapun rancangan penelitian yang digunakan adalah *the randomized posttest only control group design*. Pada penelitian ini pembagian kelompok hewan coba dilakukan secara acak kemudian diobservasi dan dilakukan pengukuran sesudah diberikan perlakuan pada hewan coba. Rancangan penelitian secara skematis dapat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

**Keterangan:**

P	: Populasi
R	: Pengelompokan mencit secara <i>simple random sampling</i>
K1	: Kelompok kontrol
K2	: Kelompok kontrol yang diinduksi STZ 150 mg/kgBB
P1	: Kelompok yang diinduksi STZ 150 mg/kgBB dan diberikan glimepirid 0,26 mg/kgBB per oral
P2	: Kelompok yang diinduksi STZ 150 mg/kgBB dan diberikan vitamin D 6,5 ml/kgBB per oral
P3	: Kelompok yang diinduksi STZ 150 mg/kgBB dan diberikan glimepirid 0,26 mg/kgBB serta suplementasi vitamin D 6,5 ml/kgBB per oral
STZ	: Induksi STZ 150 mg/kgBB
G	: Glimepirid 0,26 mg/kgBB per oral
VD	: Vitamin D 6,5 ml/kgBB per oral
KGD 1	: Kadar glukosa darah puasa mencit setelah diinduksi STZ
KGD 2	: Kadar glukosa darah puasa K1, K2, P1, P2 dan P3 setelah perlakuan
A	: Analisis statistik

**3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember untuk perawatan mencit, pengobatan glimepirid dan vitamin D serta pengambilan sampel darah. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2018 sampai dengan Januari 2019.

**3.3 Populasi dan Sampel Penelitian**

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan galur Balb/C dengan berat badan 20-30 g dan berumur 2-3 bulan. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit jantan yang terpilih dari populasi

hewan coba dalam kondisi sehat dengan ditandai mata jernih, gerakan aktif, feses baik, tidak cacat dan bulu mengkilat.

Perolehan sampel pada penelitian ini dilakukan dengan metode *simple random sampling*. *Simple random sampling* melibatkan anggota populasi yang dipilih secara acak berdasarkan prosedur yang sistematis, seperti penggunaan tabel bilangan acak sehingga setiap anggota dalam populasi yang teridentifikasi memiliki peluang yang sama untuk dipilih (Creswell & Clark, 2017).

Pada penelitian ini terdapat lima kelompok hewan coba yaitu satu kelompok kontrol negatif, satu kelompok kontrol positif dan tiga kelompok perlakuan. Pada setiap kelompok dilakukan pengulangan untuk mencegah terjadinya bias. Besarnya pengulangan tersebut dapat ditentukan dengan menggunakan rumus empiris Federer sebagai berikut, dengan  $p$  = jumlah kelompok = 5,  $n$  = jumlah pengulangan:

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

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

$$4n - 4 \geq 15$$

$$n \geq 4,75$$

Berdasarkan perhitungan di atas, besar sampel minimal pada setiap kelompok adalah 5 ekor mencit. Jadi pada penelitian ini menggunakan 25 ekor mencit.

### 3.4 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian glimepirid dan vitamin D. Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar glukosa darah pada mencit. Sedangkan variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah berat badan hewan coba, jenis kelamin hewan coba, dosis STZ dan jenis pakan standar.

### 3.5 Definisi Operasional

#### 3.5.1 *Streptozotocin*

Pada penelitian ini, mencit diinduksi STZ dengan dosis 150 mg/kgBB untuk menjadikan kondisi mencit hiperglikemia, yaitu dengan kadar glukosa darah 180-500 mg/dL (Sakinah, 2013). STZ menghambat sekresi insulin dan menyebabkan

keadaan *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM). STZ secara selektif terakumulasi dalam sel beta pankreas melalui GLUT2, *glucose transporter* berafinitas rendah dalam membran plasma (Lenzen, 2008).

### 3.5.2 Vitamin D

Jenis vitamin D yang digunakan adalah vitamin D3 (*cholecalciferol*) yang terkandung di dalam sediaan sirup D-VIT 100 ml. Vitamin D diberikan dengan dosis 6,5 ml/kgBB mencit yang dilarutkan dalam suspensi propilen glikol.

### 3.5.3 Glimepirid

Glimepirid yang digunakan pada penelitian ini adalah glimepirid generik 2 mg. Glimepirid diberikan dengan dosis 0,26 mg/kgBB mencit yang dilarutkan dalam larutan *carboxy methyl cellulose* (CMC) 0,5%.

### 3.5.4 Kadar Glukosa Darah Puasa

Kadar glukosa darah puasa pada mencit diukur setelah mencit dipuasakan selama 6 jam dengan tetap diberi minum air. Hal ini dilakukan agar sampel darah tidak terpengaruh oleh makanan yang dikonsumsi mencit. Sampel darah diambil dari vena ekor mencit yang diperiksa dengan menggunakan glukometer dan *stick* glukometer.

## 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

### 3.6.1 Alat

- a. Kandang mencit,
- b. Tempat makan dan minum mencit,
- c. Sarung tangan,
- d. Masker,
- e. Sonde lambung dan spuit 1 ml,
- f. Mikropipet *Eppendorf*,
- g. Tabung *Erlenmeyer*,
- h. Timbangan,



- i. Glukometer,
- j. *Stick* glukometer

### 3.6.2 Bahan

- a. Glimepirid,
- b. Vitamin D,
- c. CMC 0,5%,
- d. Aquadest,
- e. Propilen glikol,
- f. *Streptozotocin*,
- g. Buffer sitrat,
- h. Dextrose 10%,
- i. Alkohol 70%,
- j. Pakan mencit standar,
- k. Sekam.

## 3.7 Prosedur Penelitian

### 3.7.1 Adaptasi dan Perawatan Hewan Coba

Hewan coba diadaptasikan dengan lingkungan kandang selama 7 hari di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Selama proses adaptasi, hewan coba diberi makanan standar dan minuman setiap hari secara *ad libitum*. Kandang, tempat makan dan minum hewan coba dibersihkan setiap hari dari sisa pakan dan kotoran mencit untuk menghindari stress dan sumber penyakit pada hewan coba.

### 3.7.2 Penentuan Dosis

#### a. Dosis *Streptozotocin*

Dosis STZ yang diinduksikan pada mencit sebesar 150 mg/kgBB secara intraperitoneal dosis tunggal (Sakinah, 2013).

$$\begin{aligned} \text{Dosis STZ mencit 30 gram} &= 150 \text{ mg} \times 30 \text{ g} / 1000 \\ &= 150 \text{ mg} \times 0,03 = 4,5 \text{ mg/mencit} \end{aligned}$$

Sediaan STZ dilarutkan dengan menggunakan buffer sitrat 22,5 mg/mL (Sakinah, 2013). Jumlah yang diinjeksikan untuk setiap mencit secara intraperitoneal adalah  $= 4,5 \text{ mg} \times 1 / 22,5 \text{ mg/mL} = 0,2 \text{ ml/mencit}$ .

b. Dosis Glimepirid

Dosis glimepirid yang digunakan didasarkan pada dosis terapi pada manusia yaitu 2 mg per hari (Basit *et al.*, 2012). Kemudian dosis tersebut dikonversi dengan menggunakan rumus Paget dan Barnes (Lampiran 3.1). Untuk setiap 20 gram mencit setara dengan 0,0026 dikali dosis manusia (Paget & Barnes, 1964).

$$\begin{aligned} \text{Dosis glimepirid} &= (0,0026 \times 2 \text{ mg}) \\ &= 0,0052 \text{ mg} / 20 \text{ gram mencit} \\ &= 0,0052 \text{ mg} / 0,02 \text{ kg} \\ &= 0,26 \text{ mg/kgBB} \end{aligned}$$

Glimepirid merupakan sediaan obat yang tidak dapat larut dalam air. Oleh karena itu, sediaan glimepirid dilarutkan ke dalam agen pensuspensi CMC 0,5%.

c. Suspensi *Carboxy Methyl Celulose* (CMC) 0,5%

Pembuatan Suspensi CMC 0,5% ini dengan cara ditimbang bubuk CMC yang dibutuhkan yaitu sebanyak 0,5 g. Kemudian ditambahkan ke dalam *aquadest* sampai 100 ml dan dihomogenkan.

d. Dosis Vitamin D

Pada setiap 5 ml sirup D-VIT mengandung 400 IU vitamin D3. Berdasarkan *National Institutes of Health*, dosis vitamin D yang aman mencapai 4000 IU/hari pada 60 kg orang dewasa (Manna *et al.*, 2017). Kemudian dosis tersebut dikonversi dengan menggunakan rumus Paget dan Barnes (Lampiran 3.1).

$$\begin{aligned} \text{Dosis vitamin D} &= (0,0026 \times 50 \text{ ml}) \\ &= 0,13 \text{ ml} / 20 \text{ gram mencit} \\ &= 0,13 \text{ ml} / 0,02 \text{ kg} \\ &= 6,5 \text{ ml/kgBB} \end{aligned}$$

Vitamin D merupakan vitamin yang tidak larut air dan larut dalam lemak. Untuk itu, sediaan vitamin D ini dilarutkan ke dalam agen pensuspensi propilen glikol. Pemberian suspensi propilen glikol dan vitamin D dilakukan per oral setiap harinya dengan pemberian 1 ml/100 gramBB (Sari, 2014).

$$\begin{aligned}\text{Volume suspensi propilen glikol} &= 1 \text{ ml} / 100 \text{ gram} \times 30 \text{ gram} \\ &= 0,3 \text{ ml} / \text{mencit}\end{aligned}$$

Tabel daftar volume maksimal larutan sediaan untuk hewan coba, perhitungan dosis dan volume sediaan serta tabel dosis STZ, glimepirid maupun vitamin D dapat dilihat pada Lampiran 3.2, Lampiran 3.3, dan Lampiran 3.4. selain itu pada lampiran 3.5 telah dilampirkan standar operasional prosedur perlakuan pada hewan coba pada penelitian ini.

### 3.7.3 Pembagian Kelompok dan Perlakuan Hewan Coba

Sebelum memegang mencit ataupun hewan coba lainnya supaya menggunakan sarung tangan pelindung, jas laboratorium dan masker. Cara memegang mencit menurut Stevani (2016) sebagai berikut:

- a. Mencit diangkat dengan cara memegang ekor ke arah atas dengan tangan kanan.
- b. Tangan kiri, ibu jari dan jari telunjuk menjepit kulit pada tengkuk mencit dengan erat.
- c. Ekor dipindahkan ke tangan kiri, kemudian dijepit di antara jari kelingking dan jari manis.
- d. Mencit siap untuk diberi perlakuan.

Penelitian ini dilakukan selama 25 hari termasuk didalamnya adaptasi selama seminggu. Setelah hewan coba diadaptasikan dengan lingkungan kandang, hewan coba ditimbang dan dikelompokkan menjadi 5 kelompok secara random dengan jumlah yang sama masing-masing kelompok. Kelompok K1 merupakan kelompok kontrol yang diinjeksi plasebo dan pakan standar. Untuk kelompok K2, P1, P2 dan P3 diinjeksikan STZ secara intraperitoneal dengan dosis yang sama, yaitu 150 mg/kgBB dengan pelarut buffer sitrat 22,5 mg/mL dengan pH 4,5. Setelah diinduksi, mencit diberi dextrose 10% untuk mencegah terjadinya hipoglikemia

mendadak. 3 hari setelah injeksi STZ, mencit dipuasakan selama 6 jam kemudian glukosa darah mencit diukur dengan menggunakan glukometer. Jika hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa mencit menunjukkan angka 180-500 mg/dL maka induksi STZ berhasil menimbulkan kondisi hiperglikemia pada hewan coba (Sakinah, 2013; Liu *et al.*, 2018). Pada saat penyuntikan intraperitoneal, posisi kepala mencit lebih rendah dari abdomen. Untuk menghindari kandung kemih mencit, jarum disuntikkan dengan sudut sekitar 100° dari abdomen pada daerah yang sedikit menepi dari garis tengah. Untuk menghindari hati mencit, penyuntikan tidak dilakukan pada daerah yang terlalu tinggi (Stevani, 2016).

Kemudian penelitian dilanjutkan dengan pemberian pakan standar secara *ad libitum* dan plasebo pada kelompok K1 dan K2. Pada kelompok P1 diberikan pakan standar dan terapi glimepirid, pada kelompok P2 diberikan pakan standar dan vitamin D, sedangkan pada kelompok P3 diberikan pakan standar dan terapi glimepirid dengan suplementasi vitamin D. Perlakuan ini dilakukan selama 14 hari, kemudian mencit dipuasakan selama 6 jam sebelum dilakukan pengukuran kadar glukosa darah yang terakhir.

#### 3.7.4 Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah Mencit

Sampel darah mencit diambil dari ekor mencit yang dipotong sekitar 0,5 cm. Kemudian darah langsung dimasukkan ke dalam *stick* glukometer untuk diukur kadar glukosa darahnya.

### 3.8 Uji Kelayakan Etik

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan kelayakan etik dari komisi etik penelitian Universitas Jember dengan lembar bernomor 1267/H25.1.11/KE/2018 pada Lampiran 3.6. Menurut Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1031/Menkes/SK/VII/2005, sebagai upaya meningkatkan mutu etik pada penggunaan hewan percobaan, digunakan konsep 3R, yaitu *Reduction*, *Refinement*, dan *Replacement*. Langkah pertama ialah memilih hewan yang kurang rasa atau tidak rasa (*sentient*, *non-sentient*) sebagai tindakan *replacement*. Tindakan *refinement* merupakan tindakan yang bertujuan untuk mengurangi atau

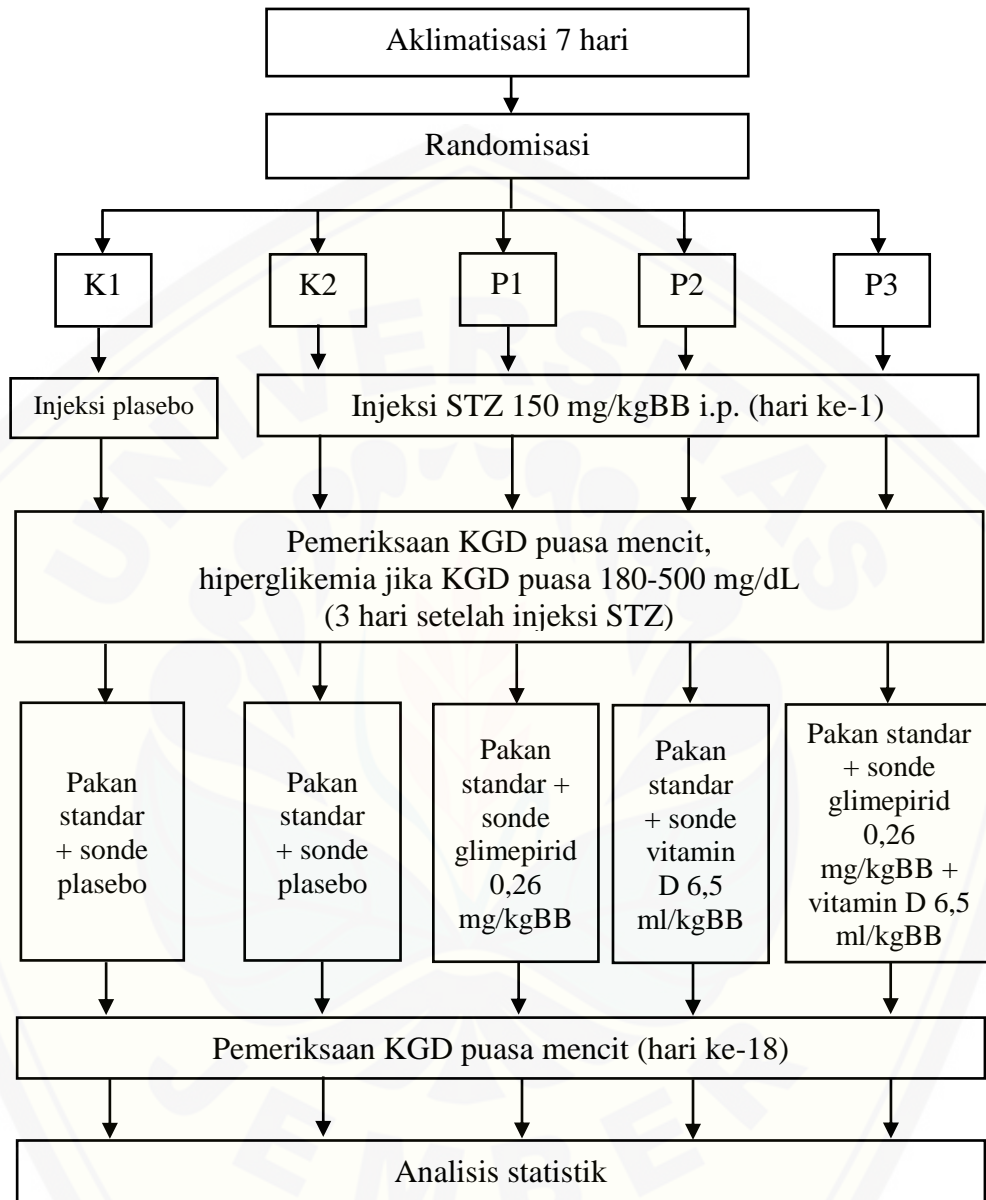
menghilangkan nyeri pada hewan percobaan. Selain itu, jumlah hewan percobaan yang digunakan harus sesedikit mungkin (*reduction*). Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan mencit sebagai hewan coba dengan jumlah seminimal mungkin. Kemudian mencit-mencit tersebut nantinya akan dikremasi di akhir penelitian.

### 3.9 Analisis Data

Data hasil penelitian ini dianalisis dengan menggunakan uji *Saphiro-Wilk* untuk menganalisis distribusi data dan uji *Levene Statistic* untuk menganalisis homogenitas data terlebih dahulu. Kemudian data dianalisis menggunakan uji statistik *one way Anova* dan uji *post hoc tests Tukey* untuk mengolah data berat badan mencit, hasil pengukuran KGD 1 kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan, dan data delta KGD mencit. Untuk mengetahui efek STZ pada mencit, data dianalisis menggunakan uji *independent-sample T-test*. Selain itu data juga dianalisis menggunakan uji *T paired-samples T-test* untuk mengetahui efek obat pada setiap kelompok perlakuan. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan *software* IBM SPSS versi 24 dan Microsoft Excel.



### 3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur penelitian

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diperoleh beberapa kesimpulan yaitu:

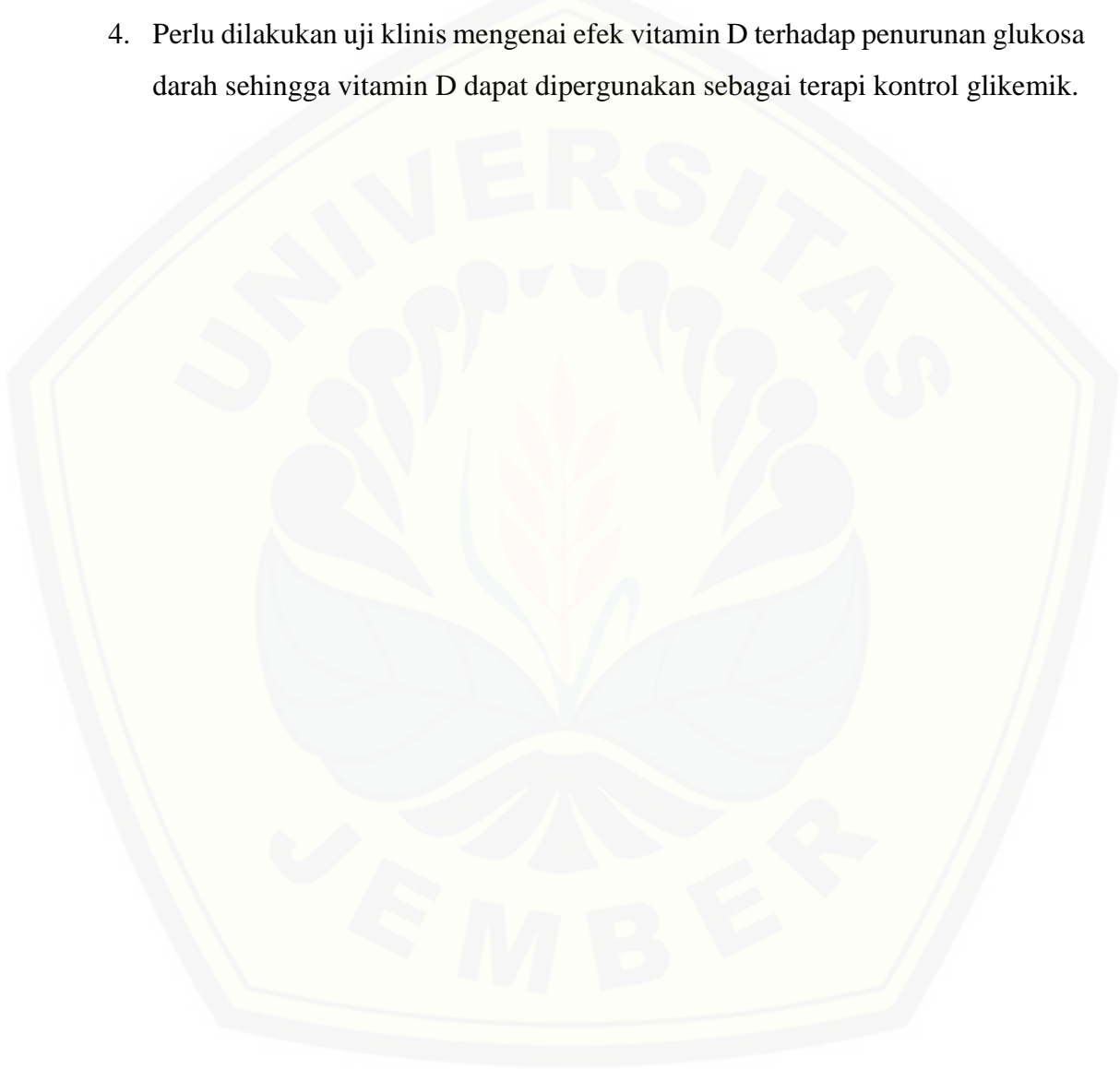
1. Pada kelompok yang diberi glimepirid ditambah vitamin D tidak didapatkan penambahan efektivitas penurunan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia dibandingkan dengan kelompok yang diberi terapi tunggal glimepirid dan kelompok yang diberi vitamin D saja.
2. Terdapat efek pemberian injeksi STZ 150 mg/kgBB terhadap kadar glukosa darah puasa mencit dengan rata-rata KGD 1 pada kelompok K2, P1, P2 dan P3 berturut-turut sebesar  $236,2 \pm 20,2$  mg/dL;  $246,8 \pm 28,8$  mg/dL;  $213,4 \pm 25,2$  mg/dL; dan  $214,2 \pm 21,8$  mg/dL.
3. Terdapat pengaruh pemberian terapi tunggal glimepirid, suplementasi vitamin D, dan terapi glimepirid yang ditambah vitamin D terhadap penurunan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, peneliti memberikan saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek vitamin D dengan menggunakan parameter homeostatis glukosa yang lain seperti kadar glukosa darah 2 jam post prandial, TTGO, dan sensitivitas insulin.
2. Perlu penelitian lebih lanjut mengenai interaksi obat glimepirid dengan vitamin D melalui mekanisme kerja masing-masing obat sehingga dapat menghasilkan efek obat yang optimal.

3. Pada penelitian ini belum didapatkan hasil yang membuktikan bahwa penambahan vitamin D lebih efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia yang diterapi gimepirid. Namun suplementasi vitamin D tetap disarankan bagi penderita gangguan toleransi glukosa dan bagi individu yang beresiko tinggi terkena diabetes melitus.
4. Perlu dilakukan uji klinis mengenai efek vitamin D terhadap penurunan glukosa darah sehingga vitamin D dapat dipergunakan sebagai terapi kontrol glikemik.



**DAFTAR PUSTAKA**

- Achmad, A., R. J. S. Putra, dan H. Rachma P. 2017. Kejadian efek samping potensial terapi obat anti diabetes pasien diabetes melitus berdasarkan algoritma naranjo. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 2(2): 45-50.
- Afrozul, H., dan S. Chareles. 2015. Vitamin D deficiency, metabolism and routine measurement of its metabolites [25(OH)D<sub>2</sub> dan 25(OH)D<sub>3</sub>]. *Journal of Chromatography & Separation Techniques* 6: 276.
- Altieri, B., W. B. Grant, S. D. Casa, F. Orio, A. Pantecorvi, A. Colao, G. Sarno, dan G. Muscogiuri. 2016. Vitamin D and pancreas: the role of sunshine vitamin in the pathogenesis of diabetes mellitus and pancreatic cancer. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1-71.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas)*. Jakarta: Kemenkes RI.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2014. *Farmakope Indonesia*. Edisi V. Jakarta: Menkes RI.
- Baharuddin, A. Nurulita, dan M. Arif. 2015. Uji glukosa darah antara metode heksokinase dengan glukosa oksidase dan glukosa dehidrogenase di diabetes melitus. *Indonesian Journal of Clinical Pathology and Medical Laboratory*. 21(2): 170–173.
- Basit, A., M. Riaz, dan A. Fawwad. 2012. Glimepiride: evidence-based facts, trends, and observations. *Vascular Health and Risk Management* 8: 463–472.
- Baynest, H. W. 2015. Classification, pathophysiology, diagnosis and management of diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and Metabolism*. 6(5): 1-9.
- Bikle, D. D. 2014. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol*. 21(3): 319-329.
- Chaudhury, A., C. Duvoor, V. S. R. Dendi, S. Kraleti, A. Chada, R. Ravilla, A. Marco, N. S. Shekhawat, M. T. Montales, K. Kuriakose, A. Sasapu, A. Beebe, N. Patil, C. K. Musham, G. P. Lohani, dan W. Mirza. 2017. Clinical review of antidiabetic drugs: implications for type 2 diabetes mellitus management. *Frontiers in Endocrinology*. 8(6): 1-12.
- Christakos, S., P. Dhawan, A. Verstuyf, L. Verlinden, dan G. Carmeliet. 2015. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol Rev* 96: 365-408.

- Creswell, J. W., dan V. L. P. Clark. 2017. *Designing and Conducting Mixed Methods Research*. 3rd edition. Singapura: SAGE Publications.
- Cunningham, J., dan D. Zehnder. 2011. New vitamin D analogs and changing therapeutic paradigms. *Kidney International* 79: 702-707.
- Depkes RI. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Depkes RI. 2016. Perlunya Deteksi Dini untuk Cegah dan Kurangi Risiko Diabetes. [www.depkes.go.id](http://www.depkes.go.id). [Diakses pada 01 Oktober 2018].
- Esteghamati, A., Z. Aryan, A. R. Esteghamati, dan M. Nakhjavani. 2014. Vitamin D deficiency is associated with insulin resistance in nondiabetics and reduced insulin production in type 2 diabetics. *Endocrine Care*. 1-7.
- Fatimah, R. N. 2015. Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Majority*. 4(5): 93-101.
- George, P. S., E. R. Pearson, dan M. D. Witham. 2012. Effect of vitamin D supplementation on glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis. *Diabetic medicine* 29: e142-e150.
- Herrmann, M., C. J. L. Farrell, I. Pusceddu, N. F. Cabello, dan E. Cavalier. 2017. Assessment of vitamin D status – a changing landscape. *Clin Chem Lab Med*. 55(1): 3–26.
- Hydrie, M. Z. I., A. Gul, R. Hakeem, M. Y. Ahmadani, dan A. Basit. 2005. Glimpiride study on type-2 diabetic subjects. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. 22(2): 132-135.
- Indra, T. A., A. Lydia., D. Purnamasari, dan S. Setiati. 2017. Asosiasi antara status vitamin D 25(OH)D dengan albuminuria pada pasien diabetes melitus tipe 2. *Jurnal Penyakit dalam Indonesia*. 4(1): 16-22.
- Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 1031 Tahun 2005. *Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan*. 07 Juli 2005. Jakarta: Menteri Kesehatan RI.
- Lanywati, E. 2011. *Diabetes Mellitus Penyakit Kencing Manis*. Yogyakarta: Kanisius.
- Lathifah, N. L. 2017. Hubungan durasi penyakit dan kadar gula darah dengan keluhan subyektif penderita diabetes melitus. *Jurnal Berkala Epidemiologi*. 5(2): 231-239.



- Lenzen, S. 2008. The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 51: 216-226.
- Liu, Y., L. Zhang, Y. Liu, Y. Ke, X. Luo, C. Li, Z. Zhang, A. Liu, L. Shen, H. Chen, B. Hu, H. Wu, W. Wu, D. Lin, dan S. Li. 2018. Antidiabetic activity of polysaccharides from *Suillellus luridus* in streptozotocin-induced diabetic mice. *International Journal of Biological Macromolecules*.
- Manna, P., A. E. Achari, dan S. K. Jain. 2017. Vitamin D supplementation inhibits oxidative stress and upregulate SIRT1/AMPK/GLUT4 cascade in high glucose-treated 3T3L1 adipocytes and in adipose tissue of high fat diet-fed diabetic mice. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 16: 1-29.
- Maurya, V. K. dan M. Aggarwal. 2017. Factors influencing the absorption of vitamin D in GIT: an overview. *Journal of Food Science and Technology*.
- Muscogiuri, G., G.P. Sorice, R. Ajjan, T. Mezza, S. Pilz, A. Prioletta, R. Scragg, S.L. Volpe, M.D. Witham, dan A. Giaccari. 2012. Can vitamin D deficiency cause diabetes and cardiovascular diseases? Present evidence and future perspectives. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases* 22: 81-87.
- Ozougwu, J. C., K. C. Obimba, C. D. Belonwu, dan C. B. Unakalamba. 2013. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology*. 4(4): 46-57.
- Paget, G. E. dan J. M. Barnes. 1964. *Toxicity tests in evaluation of drug activities pharmacometries*. Laurence, D. R. dan A. L. Bacharach edition. London dan New York: Academic Press.
- PERKENI. 2015. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Di Indonesia*. Jakarta: Pengurus Besar Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PB. PERKENI).
- Pittas, A. G., B. D. Hughes, P. R. Sheehan, C. J. Rosen, J. H. Ware, W. C. Knowler, dan M. A. Staten. 2014. Rationale and design of the vitamin D and type 2 diabetes (D2d) study: a diabetes prevention trial. *Diabetes Care Journal*. 1-8.
- Price, S. A., dan L. M. Wilson. 2006. *Patofisiologi: Konse Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: EGC.
- Sacks, D. B. 2006. *Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4th edition. USA: Elsevier Saunders.

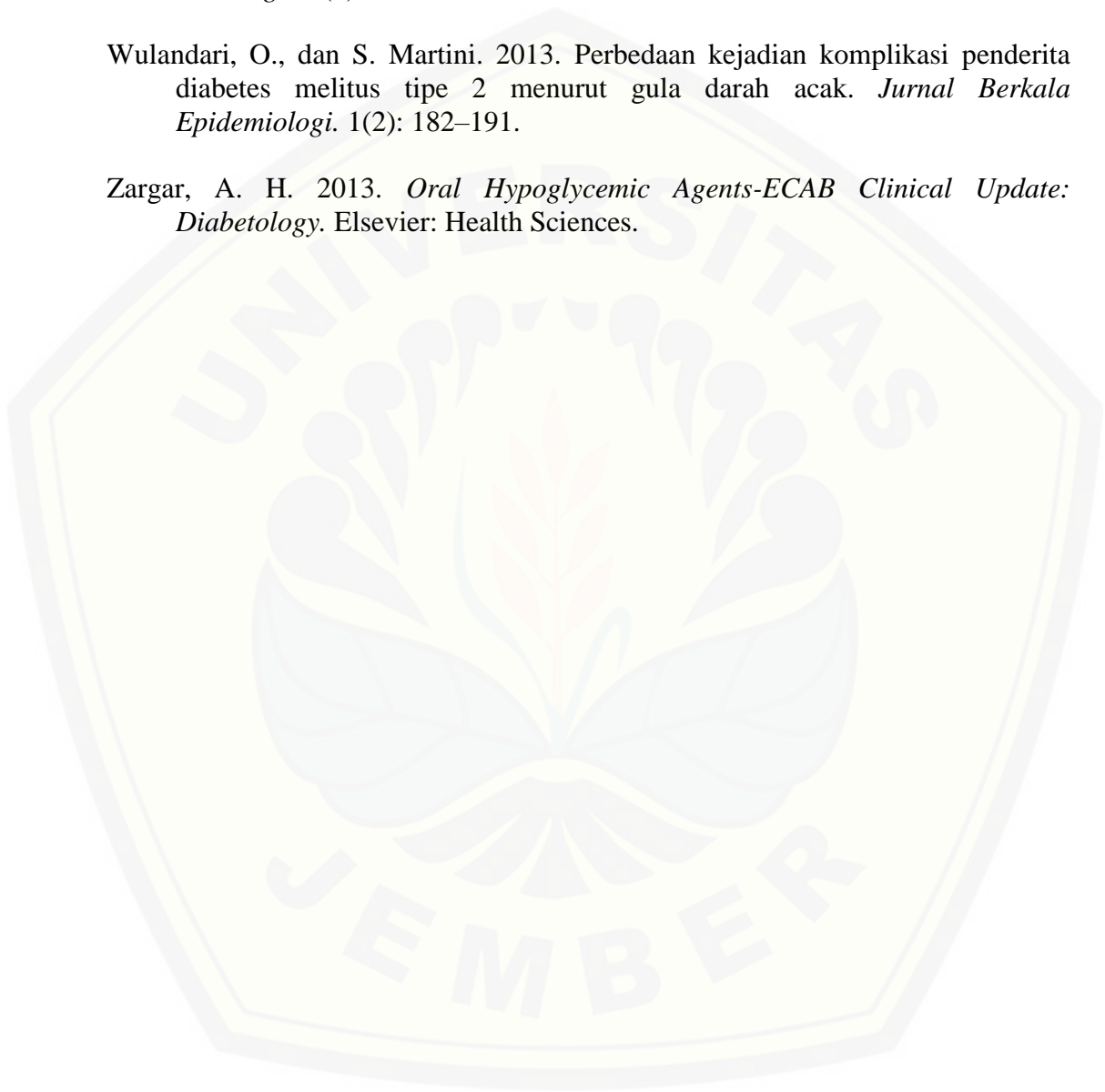
- Sakinah, E. N. 2013. Pharmacodynamics study of cholecalciferol to GLUT4 protein translocation in muscle fiber of hyperglycemia mice which induced by streptozotocin. *Folia Medica Indonesiana*. 49(3): 134-138.
- Siddiqui, A. A., S. A. Siddiqui, S. Ahmad, S. Siddiqui, I. Ahsan, dan K. Sahu. 2011. Diabetes: mechanism, pathophysiology and management-a review. *International Journal of Drug Development and Research*. 5(2): 1-23.
- Silva, A. P., A. Fragoso, dan P. L. Neves. 2014. Relationship of vitamin D with diabetes mellitus and diabetic nephropathy. *Port J Nephrol Hypert*. 28(2): 000-000.
- Simsek, S., Y. H. M. Krul-Poel, M. M. ter Wee, dan P. Lips. 2016. The effect of vitamin D supplementation on glycaemic control in patients with Type 2 Diabetes Mellitus: a systematic review and meta-analysis. *European Society of Endocrinology*: 1-36.
- Srinivasan, K. dan P. Ramarao. 2007. Animal models in type 2 diabetes research: an overview. *Indian Journal Medicine Research* 125: 451-472.
- Stevani, H. 2016. *Modul Bahan Ajar Cetak Farmasi: Praktikum Farmakologi*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Sudoyo, Setiyohadi, Alwi, Simadibrata, dan Setiadi. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi V Jilid III*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.
- Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 207
- Suryanto, T., dan H. Adji. 2018. Hubungan antara kadar 25(OH)D dan berdasarkan lama sakit pada anak dengan C-peptida diabetes melitus tipe 1. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 30(1): 29-35.
- Swarjana, I. K. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan: Tuntunan Praktis Pembuatan Proposal penelitian*. Edisi I. Yogyakarta: CV ANDI.
- Syamsul, E. S., A. E. Nugroho, dan S. Pramono. 2011. *Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto (Andrographis paniculata (Burn.F.)NESS.) dan Metformin pada Tikus DM Tipe 2 Resisten Insulin*. *Majalah Obat Tradisional*, 16(3): 124-131.
- Universitas Jember. 2016. *Pedoman Penulisan Karya Ilmiah*. Jember: UPT Penerbitan Universitas Jember.
- WHO. 2016. *Global report on diabetes*. World Health Organization.

Wimalawansa, S. J. 2018. Associations of vitamin D with insulin resistance, obesity, type 2 diabetes, and metabolic syndrome. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology* 175: 177–189.

Wranicz, J., dan D. S. Wegierek. 2014. Health outcomes of vitamin d. *Rocz Panstw Zakl Hig.* 65(3):179-184.

Wulandari, O., dan S. Martini. 2013. Perbedaan kejadian komplikasi penderita diabetes melitus tipe 2 menurut gula darah acak. *Jurnal Berkala Epidemiologi.* 1(2): 182–191.

Zargar, A. H. 2013. *Oral Hypoglycemic Agents-ECAB Clinical Update: Diabetology.* Elsevier: Health Sciences.



**Lampiran 3.1 Tabel Rasio Luas Permukaan Manusia dan Beberapa Spesies**

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Babi <i>Guinea</i> 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Monyet 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Babi <i>Guinea</i> 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Monyet 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

(Paget, G. E. dan J. M. Barnes. 1964. *Toxicity tests in evaluation of drug activities pharmacometries*. Laurence, D. R. dan A. L. Bacharach edition. London dan New York: Academic Press)

**Lampiran 3.2 Tabel Daftar Volume Maksimal Larutan Sediaan Uji yang Dapat Diberikan pada Berbagai Hewan**

Jenis Hewan Uji	Volume Maksimal (ml) sesuai Jalur Pemberian				
	i.v.	i.m.	i.p.	s.c.	p.o.
<b>Mencit (20-30 gr)</b>	0,5	0,05	1,0	0,5-1,0	1,0
<b>Tikus (100 gr)</b>	1,0	0,1	2-5	2-5	5,0
<b>Hamster (50 gr)</b>	-	0,1	1-2	2,5	2,5
<b>Marmot (250 gr)</b>	-	0,25	2-5	5,0	10,0
<b>Merpati (300 gr)</b>	2,0	0,5	2,0	2,0	10,0
<b>Kelinci (2,5 kg)</b>	5-10	0,5	10-20	5-10	20,0
<b>Kucing (3 kg)</b>	5-10	1,0	10-20	5-10	50,0
<b>Anjing (5 kg)</b>	10-20	5,0	20-50	10,0	100,0

Keterangan:

- i.v. : intravena
- i.m. : intramuscular
- i.p. : intraperitoneal
- s.c. : subcutan
- p.o. : peroral

(Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal. 207)



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

#### A. Streptozotocin (STZ)

STZ diberikan pada mencit kelompok K2, kelompok P1, kelompok P2, dan kelompok P3. Dosis STZ yang digunakan adalah 150 mg/kgBB mencit. Kriteria berat badan mencit maksimal adalah 30 gram.

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

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

#### B. Buffer Sitrat

Pelarut STZ yang digunakan adalah buffer sitrat 22,5 mg/mL. Kriteria berat badan maksimal mencit adalah 30 gram.

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

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

#### C. Glimepirid

Glimepirid diberikan pada mencit kelompok P1 dan kelompok P3. Dosis glimepirid yang digunakan adalah 0,26 mg/kgBB. Kriteria berat badan mencit maksimal adalah 30 gram. Volume maksimal larutan glimepirid yang disondekan adalah 1 ml / mencit, akan tetapi peneliti menggunakan volume larutan 4,5 ml / 30 gram mencit untuk mencegah terjadinya emesis pada mencit.

$$\begin{aligned}\text{Jumlah glimepirid maksimal per mencit} &= 30/1000 \times 0,26 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,0078 \text{ mg / mencit}\end{aligned}$$

$$\text{Jumlah glimepirid total} = \text{Jumlah sampel} \times \text{lama perlakuan} \times 0,0078 \text{ mg}$$

$$= 10 \times 14 \times 0,0078 \text{ mg}$$

$$= 1,092 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pelarut total} = \text{Jumlah sampel} \times \text{lama perlakuan} \times 0,45 \text{ ml}$$

$$= 10 \times 14 \times 0,45 \text{ ml}$$

$$= 63 \text{ ml}$$

#### D. Vitamin D

Vitamin D diberikan pada mencit kelompok P2 dan kelompok P3. Dosis vitamin D yang digunakan adalah 6,5 ml/kgBB. Kriteria berat badan maksimal mencit adalah 30 gram. Vitamin D dilarutkan ke dalam agen pensuspensi propilen glikol dengan pemberian 1 ml/100 gramBB.

$$\begin{aligned} \text{Jumlah vitamin D maksimal per mencit} &= 30/1000 \times 6,5 \text{ mg/kgBB} \\ &= 0,195 \text{ ml / mencit} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah vitamin D total} &= \text{Jumlah sampel} \times \text{lama perlakuan} \times 0,195 \text{ ml} \\ &= 10 \times 14 \times 0,195 \text{ ml} \\ &= 27,3 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume maksimal propilen glikol per mencit} &= 1 \text{ ml / 100 gram} \times 30 \text{ gram} \\ &= 0,3 \text{ ml / mencit} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume total propilen glikol} &= \text{Jumlah sampel} \times \text{lama perlakuan} \times 0,3 \text{ ml} \\ &= 10 \times 14 \times 0,3 \text{ ml} \\ &= 42 \text{ ml} \end{aligned}$$

Lampiran 3.4 Tabel Dosis *Streptozotocin*, Glimepirid, dan Vitamin D

Kel	No. Mencit	BB (gram)	STZ (mg)	Buffer Sitrat (mL)	Na-CMC (mL)	GMP (mg)	Vit D (mL)	PG (mL)
K1	1	28,83	-	-	0,44	-	-	-
	2	23,46	-	-	0,35	-	-	-
	3	29,84	-	-	0,45	-	-	-
	4	23,69	-	-	0,36	-	-	-
	5	25,03	-	-	0,38	-	-	-
K2	1	24,70	3,75	0,17	0,38	-	-	-
	2	24,74	3,75	0,17	0,38	-	-	-
	3	27,37	4,05	0,18	0,41	-	-	-
	4	20,17	3,00	0,13	0,30	-	-	-
	5	25,36	3,75	0,17	0,38	-	-	-
P1	1	23,15	3,45	0,15	0,33	0,0059	-	-
	2	24,57	3,75	0,17	0,38	0,0064	-	-
	3	25,89	3,90	0,17	0,39	0,0067	-	-
	4	22,72	3,45	0,15	0,33	0,0059	-	-
	5	25,76	3,90	0,17	0,39	0,0067	-	-
P2	1	27,67	4,2	0,19	-	-	0,18	0,28
	2	21,57	3,15	0,14	-	-	0,14	0,21
	3	24,74	3,75	0,17	-	-	0,16	0,25
	4	21,68	3,3	0,15	-	-	0,14	0,22
	5	25,85	3,9	0,17	-	-	0,17	0,26
P3	1	22,35	3,30	0,15	0,33	0,0057	0,14	0,22
	2	29,04	4,35	0,19	0,44	0,0074	0,19	0,29
	3	20,26	3,15	0,14	0,30	0,0052	0,14	0,21
	4	24,26	3,60	0,16	0,36	0,0062	0,16	0,24
	5	20,01	3,00	0,13	0,30	0,0052	0,13	0,20

Keterangan:

Kel = kelompok

STZ = *streptozotocin*

GMP = glimepirid

Vit D = vitamin D

PG = propilen glikol

### Lampiran 3.5 Standar Operasional Prosedur Perlakuan

#### A. Prosedur Injeksi STZ Secara Intraperitoneal

##### Alat dan bahan:

1. Timbangan
2. Sarung tangan
3. *Handscoon*
4. Masker
5. Spuit 1 mL
6. STZ (*streptozotocin*) 150 mg/kgBB
7. Buffer sitrat 22,5 mg/mL pH 4,5
8. *Dextrose* 10%
9. Kapas alkohol 70%

##### Prosedur injeksi:

1. Siapkan STZ 150 mg/kgBB yang dilarutkan ke dalam buffer sitrat 22,5 mg/mL pH 4,5.
2. Timbang mencit yang akan diinjeksi STZ.
3. Sebelum memegang mencit ataupun hewan coba lainnya supaya menggunakan sarung tangan pelindung, jas laboratorium dan masker. Cara memegang mencit sebagai berikut:
  - a. Mencit diangkat dengan cara memegang ekor ke arah atas dengan tangan kanan.
  - b. Tangan kiri, ibu jari dan jari telunjuk menjepit kulit pada tengkuk mencit dengan erat.
  - c. Ekor dipindahkan ke tangan kiri, kemudian dijepit di antara jari kelingking dan jari manis.
4. Usap dengan kapas alkohol pada daerah injeksi.
5. Dengan menggunakan spuit 1 mL, injeksikan STZ yang telah dilarutkan ke dalam buffer sitrat pada mencit secara intraperitoneal dengan dosis yang sesuai berat badan mencit.

6. Pada saat penyuntikan STZ secara intraperitoneal, posisi kepala mencit lebih rendah daripada abdomen.
  - a. Untuk menghindari kandung kemih mencit, jarum disuntikkan dengan sudut sekitar  $100^\circ$  dari abdomen pada daerah yang sedikit menepi dari garis tengah.
  - b. Untuk menghindari hati mencit, penyuntikan tidak dilakukan pada daerah yang terlalu tinggi.
7. Setelah injeksi, mencit dipuaskan selama 4 jam.
8. Kemudian mencit diberi *dextrose* 10% selama 24 jam untuk menghindari terjadinya hipoglikemia yang biasanya terjadi 4-8 jam setelah injeksi.

## **B. Prosedur Pemasangan Sonde pada Mencit**

### **Alat dan bahan:**

1. Sonde lambung
2. *Handscoon*
3. Sarung tangan
4. Masker
5. Glimepirid 0,26 mg/kgBB
6. Suspensi CMC 0,5%
7. Vitamin D 6,5 ml/kgBB
8. Propilen glikol

### **Prosedur:**

1. Gunakan masker, sarung tangan dan *handscoon* selama melakukan prosedur.
2. Larutkan glimepirid 0,26 mg/kgBB ke dalam suspensi CMC 0,5%.
3. Larutkan vitamin D 6,5 ml/kgBB ke dalam propilen glikol 1 ml/100 gramBB.
4. Sonde glimepirid dan vitamin D pada mencit dengan cara sonde ditempelkan pada langit-langit mulut atas mencit, kemudian perlahan-lahan dimasukkan sampai ke lambung dan cairan obat dimasukkan.



### C. Prosedur Pemusnahan Hewan Coba

#### Alat dan bahan:

1. *Handsoon*
2. Masker
3. Toples/wadah tertutup
4. Eter

#### Prosedur pemusnahan hewan coba:

- Cara kimia:
  1. Letakkan eter pada kapas dan masukkan ke dalam wadah tertutup.
  2. Masukkan mencit pada wadah tertutup tersebut.
  3. Saat mencit sudah kehilangan kesadaran, mencit dikeluarkan dan siap dimusnahkan dengan cara dibakar.
- Cara fisik:
  1. Ekor mencit dipegang dan kemudian ditempatkan pada permukaan yang bisa dijangkaunya, biarkan mencit meregangkan badannya.
  2. Saat mencit meregangkan badannya, pada tengkuk ditempatkan suatu penahan, misalnya pensil atau batang logam yang dipegang dengan tangan kiri.
  3. Ekornya ditarik dengan tangan kanan dengan keras, sehingga lehernya akan terdislokasi dan mencit akan terbunuh.
  4. Kemudian mencit yang telah terbunuh dibakar.

**Lampiran 3.6 Etik Penelitian**

 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 : 1 267 /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 :*

**EFEKTIVITAS PENAMBAHAN VITAMIN D TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT MODEL HIPERGLIKEMIA DENGAN TERAPI GLIMEPIRID**

Nama Peneliti Utama : Tsintani Nur Aristiana.  
*Name of the principal investigator*

NIM : 152010101091

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Jember  
*Name of institution*

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

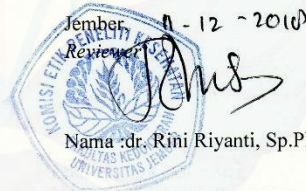
Jember, 26-12-2018  
Ketua Komisi Etik Penelitian  
  
dr. Rini Riyanti, Sp.PK  


**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 :

- ~ Penggunaan hewan coba dengan memperhatikan prinsip 3R (Reduced, Rused, Refinement)
- ~ Perlakuan berupa:
  - Injeksi ST2 i.p
  - SondeSebaiknya dilakukan oleh seseorang yang terampil dan kompeten, agar tidak melukai hewan coba.
- ~ Mohon diperhatikan kontrol dan kalibrasi glukometer.
- ~ Penelitian dapat dilanjutkan,  
Setelah dilengkapi dengan:
  1. SOP injeksi ST2 secara i.p.
  2. SOP pemasangan sonde pd mencit.
  3. SOP penunahan hewan coba.



**Lampiran 4.1 Data Berat Badan dan Kadar Glukosa Darah Puasa Mencit**

Kelompok	No. Mencit	BB (gram)	KGD 1 (mg/dL)	KGD 2 (mg/dL)	$\Delta$ KGD (mg/dL)
K1	1	28,83	105	92	13
	2	23,46	72	76	-4
	3	29,84	92	-	-
	4	23,69	85	94	-9
	5	25,03	99	85	14
Mean		26,17	90,6	86,75	3,85
K2	1	24,70	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	227	-4
Mean		24,47	236,2	218	18,2
P1	1	23,15	262	106	156
	2	24,57	257	128	129
	3	25,89	273	104	169
	4	22,72	199	-	-
	5	25,76	243	134	109
Mean		24,42	246,8	118	128,8
P2	1	27,67	191	91	100
	2	21,57	196	109	87
	3	24,74	201	117	84
	4	21,68	229	119	110
	5	25,85	250	132	118
Mean		24,30	213,4	113,6	99,8
P3	1	22,35	202	106	96
	2	29,04	252	134	118
	3	20,26	210	134	76
	4	24,26	197	121	76
	5	20,01	210	113	97
Mean		23,18	214,2	121,6	92,6

Keterangan:

KGD 1 : (K1) Kadar glukosa darah puasa mencit tanpa injeksi *streptozotocin*.  
(K2, P1, P2, P3) Kadar glukosa darah puasa mencit 3 hari setelah injeksi *streptozotocin*.

KGD 2 : (K1) Kadar glukosa darah puasa mencit 14 hari setelah pemberian



pakan standar + plasebo.

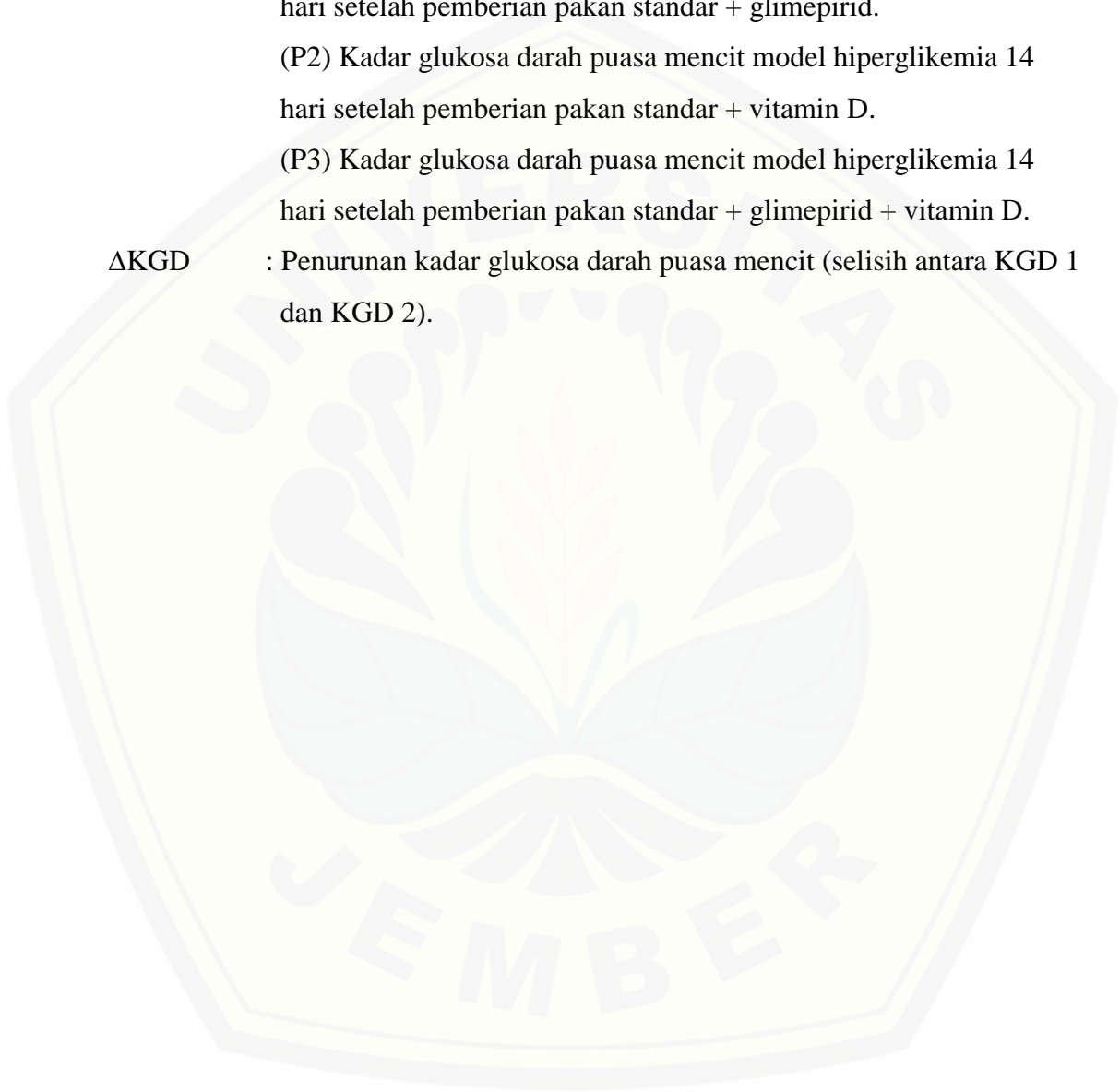
(K2) Kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia 14 hari setelah pemberian pakan standar + plasebo.

(P1) kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia 14 hari setelah pemberian pakan standar + glimepirid.

(P2) Kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia 14 hari setelah pemberian pakan standar + vitamin D.

(P3) Kadar glukosa darah puasa mencit model hiperglikemia 14 hari setelah pemberian pakan standar + glimepirid + vitamin D.

$\Delta$ KGD : Penurunan kadar glukosa darah puasa mencit (selisih antara KGD 1 dan KGD 2).





## Lampiran 4.2 Hasil Analisis Statistik

### A. Analisis Data Berat Badan Mencit pada Hewan Coba

- Uji Normalitas Data Berat Badan pada Hewan Coba

#### Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BB K1	,249	5	,200*	,850	5	,195
K2	,335	5	,069	,879	5	,305
P1	,222	5	,200*	,883	5	,324
P2	,196	5	,200*	,886	5	,339
P3	,238	5	,200*	,906	5	,444

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

a. Lilliefors Significance Correction

- Uji Varian Data Berat Badan pada Hewan Coba

#### Test of Homogeneity of Variances

BB

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,025	4	20	,419

- Uji One Way Anova

#### ANOVA

BB

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22,837	4	5,709	,738	,577
Within Groups	154,679	20	7,734		
Total	177,516	24			

**Post Hoc Tests****Multiple Comparisons**

Dependent Variable: BB

Tukey HSD

Kelompok	Kelompok	Mean Difference	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K1	K2	1,70200	1,75886	,866	-3,5612	6,9652
	P1	1,75200	1,75886	,854	-3,5112	7,0152
	P2	2,98600	1,75886	,457	-2,2772	8,2492
	P3	1,86800	1,75886	,823	-3,3952	7,1312
K2	K1	-1,70200	1,75886	,866	-6,9652	3,5612
	P2	,05000	1,75886	1,000	-5,2132	5,3132
	P2	1,28400	1,75886	,947	-3,9792	6,5472
	P3	,16600	1,75886	1,000	-5,0972	5,4292
P1	K1	-1,75200	1,75886	,854	-7,0152	3,5112
	K2	-,05000	1,75886	1,000	-5,3132	5,2132
	P2	1,23400	1,75886	,954	-4,0292	6,4972
	P3	,11600	1,75886	1,000	-5,1472	5,3792
P2	K1	-2,98600	1,75886	,457	-8,2492	2,2772
	K2	-1,28400	1,75886	,947	-6,5472	3,9792
	P1	-1,23400	1,75886	,954	-6,4972	4,0292
	P3	-1,11800	1,75886	,967	-6,3812	4,1452
P3	K1	-1,86800	1,75886	,823	-7,1312	3,3952
	K2	-,16600	1,75886	1,000	-5,4292	5,0972
	P1	-,11600	1,75886	1,000	-5,3792	5,1472
	P2	1,11800	1,75886	,967	-4,1452	6,3812

**B. Analisis Data KGD 1 pada Kelompok K1 dan K2**

- Uji Normalitas Data KGD 1 pada Kelompok K1 dan K2

**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KGD1	K1	,223	4	,955	4	,749
	K2	,343	5	,814	5	,104

a. Lilliefors Significance Correction

- Uji Varian Data KGD 1 pada Kelompok K1 dan K2

### Test of Homogeneity of Variances

KGD1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,546	1	7	,254

- Uji T *Independent-Sample T-Test*

### Group Statistics

Kelompok	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
KGD1 K1	4	90,25	14,773	7,387
K2	5	236,20	20,192	9,030

	t-test for Equality of Means						
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
						Lower	Upper
KGD1 equal variances assumed	-12,041	7	,000	-145,950	12,121	-174,613	-117,287

### C. Analisis Data KGD 1 pada Kelompok K2, P1, P2, dan P3

- Uji Normalitas Data KGD 1 pada Kelompok K2, P1, P2, dan P3

### Tests of Normality

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KGD1 K2	,343	5	,054	,814	5	,104
P1	,194	4	.	,990	4	,957
P2	,289	5	,200*	,876	5	,291
P3	,376	5	,020	,776	5	,051

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

a. Lilliefors Significance Correction

- Uji Varian Data KGD 1 pada Kelompok K2, P1, P2, dan P3

### Test of Homogeneity of Variances

KGD1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,153	3	15	,360

- Uji One Way Anova

### ANOVA

KGD1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6110,976	3	2036,992	4,668	,017
Within Groups	6545,550	15	436,370		
Total	12656,526	18			

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: KGD1

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K2	P1	-22,550	14,013	,403	-62,94	17,84
	P2	22,800	13,212	,345	-15,28	60,88
	P3	22,000	13,212	,375	-16,08	60,08
P1	K2	22,550	14,013	,403	-17,84	62,94
	P2	45,350*	14,013	,025	4,96	85,74
	P3	44,550*	14,013	,028	4,16	84,94
P2	K2	-22,800	13,212	,345	-60,88	15,28
	P1	-45,350*	14,013	,025	-85,74	-4,96
	P3	-,800	13,212	1,000	-38,88	37,28
P3	K2	-22,000	13,212	,375	-60,08	16,08
	P1	-44,550*	14,013	,028	-84,94	-4,16
	P2	,800	13,212	1,000	-37,28	38,88

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

**D. Analisis Data KGD 1 dan KGD 2 pada Kelompok P1, P2 serta P3**

- Uji Normalitas Data KGD 1 dan KGD 2 pada Kelompok P1, P2 serta P3

**Tests of Normality**

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Delta	P1	,214	4	.	,961	4	,783
	P2	,210	5	,200 <sup>*</sup>	,934	5	,621
	P3	,228	5	,200 <sup>*</sup>	,886	5	,340

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

a. Lilliefors Significance Correction

- Uji T *Paired-Sample* T-Test

**Kelompok P1**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	KGD1	258,75	4	12,447	6,223
	KGD2	118,00	4	15,232	7,616

	Paired Differences							
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
				Lower	Upper			
KGD1 - KGD2	140,750	26,937	13,468	97,888	183,612	10,450	3	,002

**Kelompok P2**

**Paired Samples Statistics**

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	KGD1	213,40	5	25,205	11,272
	KGD2	113,60	5	15,093	6,750



	Paired Differences							
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
				Lower	Upper			
KGD1 - KGD2	99,800	14,567	6,515	81,713	117,887	15,319	4	,000

### Kelompok P3

#### Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	KGD1	214,20	5	21,845	9,769
	KGD2	121,60	5	12,502	5,591

	Paired Differences							
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
				Lower	Upper			
KGD1 - KGD2	92,600	17,516	7,833	70,851	114,349	11,821	4	,000

### E. Analisis Data Delta KGD pada Kelompok K2, P1, P2, dan P3

- Uji Normalitas Data Delta KGD pada Kelompok K2, P1, P2, dan P3

#### Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Delta	K2	,193	5	,200*	,979	5	,930
	P1	,214	4	.	,961	4	,783
	P2	,210	5	,200*	,934	5	,621
	P3	,228	5	,200*	,886	5	,340

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

a. Lilliefors Significance Correction

- Uji Varian Data Delta KGD pada Kelompok K2, P1, P2, dan P3

### Test of Homogeneity of Variances

Delta

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,115	3	15	,374

- Uji One Way Anova

### ANOVA

Delta

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	36127,397	3	12042,466	32,597	,000
Within Groups	5541,550	15	369,437		
Total	41668,947	18			

### Post Hoc Tests

#### Multiple Comparisons

Dependent Variable: Delta

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K2	P1	-122,550*	12,894	,000	-159,71	-85,39
	P2	-81,600*	12,156	,000	-116,64	-46,56
	P3	-74,400*	12,156	,000	-109,44	-39,36
P1	K2	122,550*	12,894	,000	85,39	159,71
	P2	40,950*	12,894	,029	3,79	78,11
	P3	48,150*	12,894	,010	10,99	85,31
P2	K2	81,600*	12,156	,000	46,56	116,64
	P1	-40,950*	12,894	,029	-78,11	-3,79
	P3	7,200	12,156	,933	-27,84	42,24
P3	K2	74,400*	12,156	,000	39,36	109,44
	P1	-48,150*	12,894	,010	-85,31	-10,99
	P2	-7,200	12,156	,933	-42,24	27,84

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

## Lampiran 4.3 Dokumentasi Penelitian

Penimbangan *streptozotocin*

Penimbangan glimepirid

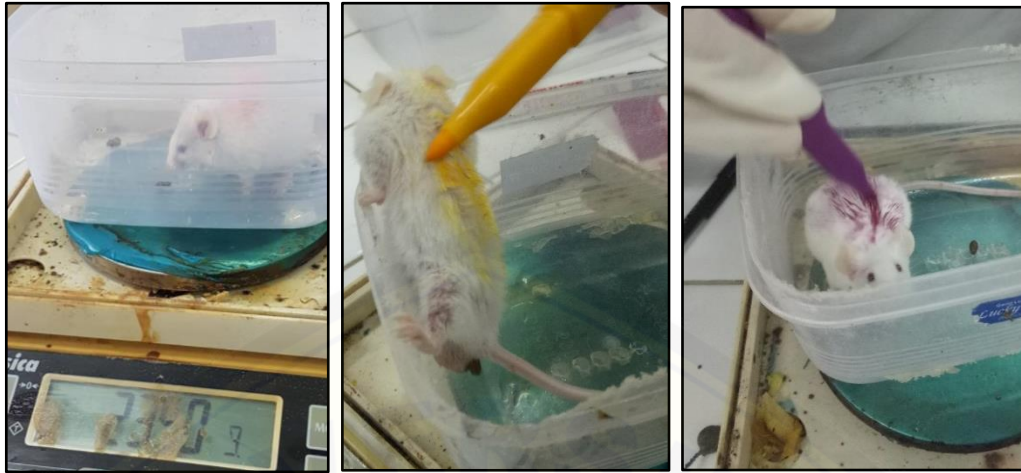


Pembuatan larutan obat



Adaptasi hewan coba





Penimbangan dan pemberian tanda pada masing-masing hewan coba



Injeksi *streptozotocin* 150 mg/kgBB secara intraperitoneal



Penyondean pada hewan coba





Pengambilan darah mencit dan pengukuran glukosa darah puasa



Proses kremasi hewan coba setelah penelitian selesai