

**LAPORAN AKHIR TAHUN  
PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI  
(PTUPT)**



**REVITALISASI FUNGSI SEL BETA PANKREAS TIKUS  
PUTIH PENDERITA DIABETES MILITUS BUATAN DENGAN  
PENGUNAAN SIMPLISIA KAYU MANIS (*Cinnamomum  
burmanii*) DAN KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*)**

**TAHUN KE – 1 DARI RENCANA 2 TAHUN**

Dr. Hani Plumeriastuti, drh., MKes.	00-0808-5905
Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.	00-1501-6209
Budiarto, drh., MP.	00-2807-6103

**DIBIYAI OLEH:**

**DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT  
DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN  
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI  
SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN  
KEPADA MASYARAKAT  
NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA  
NOVEMBER 2018**

**LAPORAN AKHIR TAHUN**  
**PENELITIAN TERAPAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**  
**(PTUPT)**



Kec  
Kic  
LP 52/19  
Plu  
r

**REVITALISASI FUNGSI SEL BETA PANKREAS TIKUS**  
**PUTIH PENDERITA DIABETES MILITUS BUATAN DENGAN**  
**PENGUNAAN SIMPLISIA KAYU MANIS (*Cinnamomum***  
***burmanii*) DAN KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*)**

**TAHUN KE - 1 DARI RENCANA 2 TAHUN**

Dr. Hani Plumeriastuti, drh., MKes.	00-0808-5905
Dr. Mustofa Helmi Effendi, drh., DTAPH.	00-1501-6209
Budiarto, drh., MP.	00-2807-6103

**DIBIYAI OLEH:**  
**DIREKTORAT RISET DAN PENGABDIAN MASYARAKAT**  
**DIREKTORAT JENDERAL PENGUATAN RISET DAN PENGEMBANGAN**  
**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI**  
**SESUAI DENGAN PERJANJIAN PENDANAAN PENELITIAN DAN PENGABDIAN**  
**KEPADA MASYARAKAT**  
**NOMOR: 122/SP2H/PTNBH/DRPM/2018**

**UNIVERSITAS AIRLANGGA**  
**NOVEMBER 2018**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul : REVITALISASI FUNGSI SEL BETA PANKREAS  
TIKUS PUTIH PENDERITA DIABETES MILITUS  
BUATAN DENGAN PENGGUNAAN SIMPLISIA  
KAYU MANIS (*Cinnamomum burmanii*) DAN  
KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*)

**Peneliti/Pelaksana**

Nama Lengkap : Dr HANI PLUMERIASTUTI, M.Kes  
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga  
NIDN : 0008085905  
Jabatan Fungsional : Lektor  
Program Studi : Biologi Reproduksi  
Nomor HP : 081330264550  
Alamat surel (e-mail) : hani-p@fkh.unair.ac.id

**Anggota (1)**

Nama Lengkap : Dr MUSTOFA HELMI EFFENDI  
NIDN : 0015016209  
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

**Anggota (2)**

Nama Lengkap : BUDIARTO M.P  
NIDN : 0028076103  
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

**Institusi Mitra (jika ada)**

Nama Institusi Mitra : -  
Alamat : -  
Penanggung Jawab : -  
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun  
Biaya Tahun Berjalan : Rp 90,000,000  
Biaya Keseluruhan : Rp 429,700,000

Mengetahui,  
Dekan FKH UNAIR



(Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., Mkes.)  
NIP/NIK 195601051986011001

Kota Surabaya, 15 - 11 - 2018  
Ketua,



(Dr HANI PLUMERIASTUTI, M.Kes)  
NIP/NIK 195908081987012001

Menyetujui,  
Ketua LPI UNAIR



(Prof. H. Hery Purnobasuki, Drs., M.Si., Ph.D.)  
NIP/NIK 196705071991021001

AYAH BUKU



## RINGKASAN RENCANA PENELITIAN

Penyakit Diabetes Melitus (DM) termasuk salah satu penyakit metabolik dengan kadar glukosa darah tinggi (hiperglikemia). Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu sindrom yang mengganggu proses metabolisme karbohidrat, lemak dan protein, sehingga mengakibatkan penurunan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas jaringan terhadap insulin. Hiperglikemia disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu penurunan sekresi insulin yang dihasilkan oleh sel beta pankreas, penurunan penggunaan glukosa di otot dan peningkatan produksi glukosa. Penyakit Diabetes Melitus (DM) ini bersifat kronis dan penderitanya terjadi pada segala umur.

Tanaman kembang bulan dan kayu manis merupakan tumbuhan yang mampu mengatasi penyakit DM. Kedua tanaman mengandung senyawa aktif yang mampu merevitalisasi sel beta pankreas. Tanaman ini mengandung zat aktif yang termasuk golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid dan polifenol. Daun kembang bulan sedikitnya mengandung 12 senyawa terpenoid dan 14 senyawa flavonoid.

Senyawa aktif polifenol yang dimiliki oleh tanaman ini berperan sebagai antioksidan yang mampu menghambat reaksi oksidasi radikal bebas aloksan melalui mekanisme penangkapan radikal dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang. Diduga tereduksinya radikal bebas aloksan oleh senyawa aktif polifenol pada struktur pankreas, berdampak pada perbaikan struktur pankreas dan respon imun limpa menurun sehingga terjadi normalisasi limpa.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) dalam menurunkan kadar gula darah pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan aloksan. Penggunaan aloksan dimaksudkan untuk memperoleh gambaran Diabetes Melitus (DM) buatan. Pembuktian tentang pengaruh ekstrak batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) dilihat adanya revitalisasi sel beta pankreas.

**Kata kunci :** *Cinnamomum burmanii*, *Tithonia diversifolia*, *Mus musculus*, sel beta pankreas, aloksan



## SUMMARY OF THE RESEARCH PLAN

Diabetes mellitus (DM) is one of the metabolic diseases with high blood glucose levels (hyperglycemia). Diabetes mellitus (DM) is a syndrome that interferes with the metabolism of carbohydrates, fats and proteins, resulting in a decrease in insulin secretion or a decrease in tissue sensitivity to insulin. Hyperglycemia is caused by several factors, namely decreased insulin secretion produced by pancreatic beta cells, decreased glucose use in the muscles and increased glucose production. Diabetes mellitus (DM) is chronic and sufferers occur at all ages.

Moon flower plants and cinnamon are plants that can overcome DM disease. Both plants contain active compounds which can revitalize pancreatic beta cells. This plant contains active substances which are classified as essential oils, alkaloids, flavonoids, saponins, triterpenoids and polyphenols. Moon kembang leaves contain at least 12 terpenoids and 14 flavonoids.

The active compounds of polyphenols possessed by these plants act as antioxidants that can inhibit the oxidation of alloxan free radicals through a mechanism of radical capture by donating one electron to unpaired electrons in free radicals so that the number of free radicals decreases. Allegedly reducing alloxan free radicals by the active compound polyphenols in the structure of the pancreas, has an impact on improving the structure of the pancreas and decreased splenic immune response resulting in normalization of the spleen.

The purpose of this study was to determine the ability of cinnamon stem extract (*Cinnamomum burmanii*) and kembang bulan leaf extract (*Tithonia diversifolia*) in reducing blood sugar levels in mice (*Mus musculus*) induced with alloxan. The use of alloxan is intended to obtain a picture of artificial Diabetes Militus (DM). Proof of the influence of cinnamon stem extract (*Cinnamomum burmanii*) and moon kembang leaf extract (*Tithonia diversifolia*) is seen as a revitalization of pancreatic beta cells.

**Keywords:** *Cinnamomum burmanii*, *Tithonia diversifolia*, *Mus musculus*, beta pancreatic cells, alloxan

## KATA PENGANTAR

Atas hidayah dari Allah Yang Maha Esa, penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan hasil penelitian ini dengan lancar. Dengan harapan, semoga tulisan ini dapat meningkatkan pengetahuan kita di bidang zoonosis tentang sumber infeksi yang berasal dari pangan asal hewan seperti susu segar atau daging. Penelitian yang berjudul **“REVITALISASI FUNGSI SEL BETA PANKREAS TIKUS PUTIH PENDERITA DIABETES MILITUS BUATAN DENGAN PENGGUNAAN SIMPLISIA KAYU MANIS (*Cinnamomum burmanii*) DAN KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*)”** dilakukan dengan tujuan meningkatkan pengetahuan tentang faktor virulensi dan aspek *antibiotics resistant* dari *Escherichia coli*. Sehingga dapat diketahui gen penyandi ekspresi protein yang bertanggung jawab terhadap patogenesis infeksi yang diakibatkan adanya *antibiotics resistant* pada manusia.

Penelitian ini dibiayai oleh Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Program Penelitian Nomer: 200/UN3.14/LT/2018, Tanggal 10 Maret 2018. Laporan akhir penelitian ini tidak akan selesai dengan baik tanpa bantuan dan bimbingan berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan rasa terima kasih yang sebesar besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga Prof. Dr. Moh. Nasih, SE Ak.
2. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Prof. Dr. Pudji Srianto, drh., Mkes.
3. Ketua Lembaga Penelitian dan Inovasi Prof. Drs. Hery Purnobasuki, Ph D.
4. Para staf Departemen Kesehatan Masyarakat Veteriner. yang selalu berusaha meluangkan waktunya untuk diskusi kepada penulis.

Akhir kata, dengan segala kerendahan hati semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmatnya kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya laporan akhir penelitian ini. Laporan akhir penelitian ini masih belum sempurna, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun, dan semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan bagi pembaca pada umumnya.

***Surabaya, 10 November 2018***



## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
SUMMARY	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah.	2
1.3. Rencana Target .	2
BAB 2. RENSTRA DAN PETA JALAN PENELITIAN PERGURUAN TINGGI	7
BAB 3. TINJAUAN PUSTAKA	9
3.1. <i>Diabetes Mellitus</i>	9
3.2. Kembang bulan	10
3.3. Kayu Manis	14
3.4. Glukosa darah	18
3.5. Aloksan	18
3.6. Glibenklamid	18
3.7. Mencit ( <i>Mus musculus</i> )	18
4 MATERI DAN METODE PENELITIAN	20
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	21
4.2 Bahan dan Metode	21
4.3 Pelaksanaan Penelitian	21
4.4. Pemberian perlakuan terhadap hewan uji	24
4.5 Analisis data	24
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
5.1.Hasil Pengujian minyak atsiri kayu manis dengan GC-MS	29
5.2.Hasil Pengujian simplisia daun kembang bulan pada tikus putih penderita DM.	30
BAB 6.. INDIKATOR CAPAIAN TAHUNAN	32
BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN	33
7. 1 Kesimpulan	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN-LAMPIRAN	36



## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1. Konstituen kimia dari minyak atsiri <i>Cinnamomum burmannii</i> dari berbagai daerah di Indonesia	19
Tabel 5.2. Hasil Pengujian simplisia daun kembang bulan pada tikus putih penderita DM.	21

**DAFTAR GAMBAR**

	<b>Halaman</b>
Gambar 3.1 Bunga Kembang bulan ( <i>Tithonia diversifolia</i> )	7
Gambar 3.2. Tanaman Kayu manis ( <i>Cinnamomum burmannii</i> )	8
Gambar 5.1 . Kromatogram GC-MS dari minyak esensial <i>Cinnamomum burmannii</i> menunjukkan satu puncak tertinggi senyawa Cinnamaldehida yang hadir dari Karanganyar, Jawa Tengah.	17
Gambar 5.2. Kromatogram GC-MS dari minyak atsiri <i>Cinnamomum burmannii</i> menunjukkan satu puncak tertinggi senyawa Cinnamaldehida yang hadir dari Padang, Sumatera Barat.	18
Gambar 5.3. Kromatogram GC-MS dari minyak atsiri <i>Cinnamomum burmannii</i> menunjukkan satu puncak tertinggi senyawa Cinnamaldehida hadir dari Kerinci, Jambi.	19
Gambar 5. 4. Perlakuan ekstrak daun kembang bulan pada mencit yang dibuat menderita DM.	27
Gambar 5.5. Pemberian per oral ekstrak daun kembang bulan dan penimbangan dosis.	28
Gambar 5.6. Pengukuran kadar glukosa darah mencit	29
Gambar 5. 7. Hasil pengukuran kadar glukosa darah mencit.	30

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
Lampiran.1. The <b>Journal of Applied Pharmaceutical Science</b>	<b>36</b>

## BAB 1 PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Penyakit Diabetes Melitus ini tidak hanya terjadi pada manusia. Penyakit DM merupakan salah satu penyakit yang sering menyerang anjing dan kucing. Menurut *Banfield Pet Hospitas's State of Pet Health*, data penyakit DM pada anjing meningkat dari 13.3 kasus per 10.000 pada tahun 2006 menjadi 17.5 kasus per 10.000 pada tahun 2010, dimana terjadi peningkatan 32%. Sedangkan, pada kucing meningkat dari 55.5 kasus per 10.000 pada tahun 2006 menjadi 64.3 kasus per 10.000 pada tahun 2010. Kendati demikian, data ini hanya menunjukkan kenaikan 16% pada kasus DM di kucing, penyakit ini lebih sering menyerang kucing daripada anjing.

Peningkatan kadar gula darah disebabkan oleh kerusakan pankreas sehingga tidak dapat menghasilkan insulin. Kerusakan pankreas ini dapat disebabkan oleh senyawa radikal bebas yang merusak sel-sel pada pankreas sehingga tidak dapat berfungsi (Studiawan, 2004). DM secara umum dapat diatasi dengan obat-obat antidiabetes yang disebut obat hipoglikemia oral (OHO), seperti metformin (Prapti, 2003). Namun, pada beberapa pasien obat ini memiliki efek samping berupa diare, mual, muntah, gangguan abdominal, kecap logam (*metallic taste*), dan anoreksia (Gunawan GS, *et al.*, 2009).

Salah satu golongan senyawa yang dapat mengatasi diabetes mellitus adalah flavonoid. Sudah banyak diteliti khasiat dari flavonoid dan terbukti secara ilmiah memiliki pengaruh yang bermakna pada penurunan kadar glukosa dalam darah. Diantara tanaman yang mengandung flavonoid adalah tanaman kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan kembang bulan (*Tithonia diversifolia*).

Indonesia memiliki 30.000 jenis tumbuhan dan 7.000 diantaranya diperkirakan memiliki khasiat sebagai obat. Kekayaan keanekaragaman hayati ini perlu diteliti, dikembangkan dan dimanfaatkan untuk peningkatan kesehatan maupun untuk tujuan ekonomi dengan tetap menjaga kelestariannya (Saifuddin, 2011). Kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) merupakan tanaman yang dapat ditemukan di dataran Indonesia. Tanaman ini digunakan secara empiris oleh masyarakat untuk mengatasi Diabetes Mellitus (DM). Akan tetapi, belum ada penelitian secara ilmiah yang membuktikan khasiat tanaman tersebut sehingga peneliti merasa perlu melakukan penelitian tentang efek tanaman kulit batang kayu manis maupun daun kembang bulan terhadap penurunan kadar gula darah.

Kedua tanaman ini banyak tumbuh tersebar di seluruh daerah Indonesia, umumnya dikenal sebagai tanaman insulin. Tumbuhan insulin ini banyak memiliki senyawa kimia yang

berkhasiat dalam bidang-bidang kesehatan. Saat ini banyak ditemukan pengobatan dengan menggunakan bahan alami. Obat-obat dari bahan alami memang tidak dapat dihilangkan dari kehidupan masyarakat Indonesia. Kelebihan pengobatan melalui ramuan-ramuan alami, yakni efek samping yang ditimbulkan relatif sedikit dibanding dengan pengobatan secara kimiawi. Selain itu, obat-obatan tradisional mudah diperoleh dan dapat diolah dengan mudah secara turun temurun. Tumbuhan ini memang kurang dikenal oleh masyarakat Indonesia, nyatanya tanaman ini memiliki manfaat yang sangat besar untuk berbagai pengobatan (Amnatie & Sulistyowati, 2015)

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek anti DM ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) dalam menurunkan kadar gula darah pada mencit (*Mus musculus*) sebagai hewan coba, yang diinduksi dengan aloksan sebagai model mencit penderita DM.

### 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut maka yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini adalah: Apakah pemberian ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dan ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) mampu menurunkan kadar gula darah pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dengan aloksan?

### 1.3 Rencana Target Capaian Tahunan (beri tanda V pada kolom yang sesuai)

No	Jenis Luaran				Indikator Capaian	
	Kategori	Sub Kategori	Wajib	Tambahan	TS	TS+1
1	Artikel ilmiah dimuat di jurnal	Internasional bereputasi	V	-	submitted	published
		Nasional Terakreditasi	-	-	-	-
2	Artikel ilmiah dimuat di prosiding	Internasional Terindeks		V	Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan
		Nasional		-	-	-
3	Hak Kekayaan Intelektual (HKI)	Paten		V	-	terdaftar

**BAB 2. RENSTRA DAN PETA JALAN PENELITIAN PERGURUAN TINGGI****TEMA RISET 2 : PENGEMBANGAN OBAT BAHAN ALAM**

<b>Kompetensi/ keahlian</b>	<b>Isu-isu strategis</b>	<b>Konsep pemikiran</b>	<b>Pemecahan masalah</b>	<b>Topik Penelitian Fakultas</b>
Ilmu Kedokteran Hewan Ilmu Farmasi	Keanekaragaman hayati asli Indonesia yang perlu lebih dieksplorasi, contoh kayu manis, sambiloto, curcumin, kayu putih, meniran dan kembang bulan	Eksplorasi potensi khasiat obat dalam bahan alam asli Indonesia bahan alam yang berindikasi memiliki potensi khasiat obat dilakukan penelitian ilmiah aplikasi, sosialisasi dan industrialisasi bahan obat	Eksplorasi bahan alam berpotensi obat penyakit menular dan tidak menular	Pengembangan hewan model untuk aplikasi obat bahan alam



## BAB 3. TINJAUAN PUSTAKA

### 3.1 *Diabetes Mellitus*

#### 3.1.1 Definisi

Diabetes Mellitus merupakan penyakit degenerative yang jumlah penderitanya akan mengalami peningkatan di masa mendatang dan menjadi masalah dunia. Peningkatan jumlah penderita ini berhubungan dengan meningkatnya jumlah populasi manusia, bertambahnya usia harapan untuk hidup, urbanisasi yang merubah pola hidup masyarakat dari tradisional menjadi modern, meningkatnya prevalensi obesitas dan berkurangnya kegiatan fisik (Ganong, 2008).

*Diabetes mellitus* berasal dari campuran kata Yunani dan Latin. Kata Diabetes berarti “mengalirkan atau mengalihkan”. Sedangkan kata Mellitus memiliki arti manis atau madu. Perpaduan kata ini bisa diartikan sebagai individu yang mengalirkan volume urine, yang memiliki kadar glukosa tinggi (Corwin, 2009).

Menurut PERKENI (2011) Diabetes Mellitus (DM) adalah suatu kelompok penyakit metabolik yang mengalami kenaikan kadar gula darah (hiperglikemia) karena kelainan sekresi insulin, gangguan kerja insulin, atau keduanya, yang mampu menimbulkan berbagai komplikasi kronik pada mata, ginjal, saraf dan pembuluh darah. Diabetes Mellitus merupakan penyakit yang membutuhkan perawatan medis lama dengan cara mengendalikan kadar gula darah untuk mengurangi resiko multifaktoral (*American Diabetes Association*, 2015).

#### 3.1.2 Etiopatogenesis

Diabetes melitus (DM) merupakan kelainan metabolik dengan etiologi multifaktorial. Penyakit ini ditandai oleh hiperglikemia kronis dan mempengaruhi metabolisme karbohidrat, protein serta lemak. Patofisiologi DM berpusat pada gangguan sekresi insulin dan atau gangguan kerja insulin.

Penyakit DM merupakan gangguan umum pada anjing dan kucing, dengan tingkat prevalensi sakit dilaporkan ~0.4-1.2%. Penyandang DM akan ditemukan dengan berbagai gejala seperti poliuria, polidipsia dan polifagia dengan penurunan berat badan (Gibney, 2008). Tanda-tanda klinis tidak akan berkembang sampai hiperglikemia mencapai konsenttasi yang mampu mengakibatkan glikosuria, biasanya pada konsentrasi glukosa darah 180-220 mg/dl pada anjing dan 220-270 mg/dl pada kucing.

Negara subklinis atau prediabetic seperti yang terjadi pada manusia jarang mendapat perhatian besar pada anjing dan kucing. Diagnose diabetes didasarkan pada adanya tanda-tanda klinis yang tepat dan hiperglikemia persisten dan glikosuria. Hiperkolesterolemia dan



hipertriglierida merupakan gejala yang lazim dan dapat berkembang menjadi ketonuria dan ketoasidosis, apabila pemilik tidak mampu mengenali tanda-tanda awal penyakit ini.

Klasifikasi DM pada anjing dan kucing secara lebih atau kurang mengikuti skema yang digunakan pada dunia kedokteran manusia (American Diabetes Association, 2013). Meskipun mekanisme etiopatogenik tidak sepenuhnya identik, “model manusia” memberikan panduan untuk identifikasi dan diferensiasi dari berbagai bentuk penyakit pada anjing dan kucing. Diabetes pada anjing menyerupai diabetes tipe 1 pada manusia, sementara diabetes pada kebanyakan kucing menyerupai diabetes tipe 2.

### 3.1.3 Gejala dan Diagnosa Klinis

Menurut Rucinsky, dkk (2010), hewan yang didiagnosis DM dilihat dari tingkat konsentrasi hiperglikemia dan tanda-tanda klinis. Hewan yang terkena DM menunjukkan gejala yang sepenuhnya, sebagian atau bahkan interval waktu *onset* hiperglikemia. Biasanya, klien sering menemui ke dokter hewan saat hiperglikemia sudah menjadi parah dan menjurus ke arah ketonemia dan akan muncul penyakit yang terjadi bersamaan, seperti pancreatitis. Gejala klinis seperti PU/PD tidak akan terjadi bila kadar glukosa darah tidak melebihi ambang batas dari tubulus ginjal yang akan menjadi urin. Pada anjing dan kucing, glycosuria biasanya terjadi ketika konsentrasi gula darah melebihi sekitar 200 mg/dl dan 250 mg/dl.

Tanda-tanda klinis dari DM secara umum tidak terlihat pada anjing dan kucing dengan kenaikan konsentrasi gula darah diatas kisaran referensi melainkan, tetap dibawah konsentrasi yang mampu menghasilkan glikosuria (referensi batas atas 200 mg/dl pada anjing dan kucing 250 mg/dl). Konsentrasi gula darah dapat terjadi dalam rentang tersebut karena beberapa alasan, termasuk stress hiperglikemia (kucing), adanya gangguan resistensi insulin (misalnya, obesitas, hyperadrenocortism), obat-obatan (glukostikoid) atau karena tahap awal terjadinya DM.

Anjing dan kucing yang berada pada tahap awal DM di klasifikasikan sebagai diabetes subklinis. DM subklinis sering terjadi pada kondisi sehat dan berat badan yang stabil. Diagnose DM klinis berdasarkan hiperglikemia yang persisten (>200 mg/dl pada anjing dan >250 mg/dl pada kucing). Menurut Crenshaw, dkk (1996) kenaikan konsentrasi fruktosamine dapat digunakan sebagai diagnosis pada kucing.

Hewan dengan manifestasi diabetes secara klinis PU/PD, polyphagia dan kehilangan berat badan. Beberapa hewan menunjukkan tanda yang sistemik saat mengalami ketoasidosis diabetik (DKA), seperti anoreksia, dehidrasi dan muntah. Masalah tambahan mungkin terjadi seperti, letargi, lemah, kondisi badan yang buruk, katarak (anjing) dan kemampuan melompat yang abnormal (kucing).

Pemeriksaan awal pada anjing dan kucing yang diabetes dapat dilakukan dengan menilai kesehatan keseluruhan dari hewan (sejarah, pemeriksaan fisik, obat-obatan, diet), mengidentifikasi komplikasi penyakit (mis; katarak (anjing), neuropati perifer (kucing)). Mengidentifikasi penyakit yang datang karena respons terapi diabetes (hyperadrenocortisme, hyperthyroid, penyakit ginjal). Mengidentifikasi penyakit yang datang secara bersamaan yang sering dikaitkan dengan penyakit DM (mis: infeksi saluran kemih, pancreatitis). Mengevaluasi factor resiko seperti, obesitas, pancreatitis, penyakit resistensi insulin, obat diabetogenik dan diestrus (anjing betina).

Pemeriksaan fisik pada anjing dan kucing yang terkena diabetes bisa jadi normal atau mungkin, menunjukkan dehidrasi, bulu kusam, katarak, kehilangan berat badan atau nyeri pada perut (apabila pankreatitis muncul). Bau manis pada nafas dapat dijadikan indikasi bahwa hewan tersebut mengalami ketosis. Beberapa kucing dengan kondisi hyperglikemia dalam waktu lama mungkin, memiliki sifat *plantigrade sekunder* ketika mengalami neuropati perifer.

### 3.1.4 Terapi dan Pencegahan

Pengobatan yang sering digunakan untuk DM klinis terhadap anjing dan kucing adalah insulin, bersamaan dengan perubahan pola makan. Bagaimanapun, pengobatan insulin tidak diindikasikan pada anjing dan kucing dengan penyakit subklinis, kecuali hyperglikemia yang memburuk.

Dokter hewan biasanya menggunakan produk insulin, tetapi hanya dua yang saat ini disetujui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) untuk digunakan pada anjing dan kucing. Salah satunya adalah produk *porcine lente* yang disetujui untuk digunakan pada anjing dan kucing (Monroe, *et al.*, 2005). Produk insulin lainnya yang disetujui oleh FDA adalah produk yang memiliki *longer acting* (rekombinan protamine zinc insulin pada manusia (PZI)) dan saat ini disetujui untuk digunakan pada kucing (Nelson, *et al.*, 2010).

Kucing dengan DM subklinis dapat mencapai euglikemia tanpa menggunakan insulin. Dimulai dengan perubahan pola makan. Memperbaiki dan mengelola berat badan, mengidentifikasi dan menghentikan setiap obat diabetogenik yang ada. Melakukan pemeriksaan kembali dengan analisi urin dan pengukuran glukosa darah setiap 2 minggu. Apabila, muncul DM klinis saat memperbaiki pola makan, segera lakukan terapi insulin.

### 3.2 Kembang bulan

Sebagai Negara dengan iklim tropis menjadikan Indonesia kaya akan berbagai macam jenis flora. Sebagian besar flora di Indonesia dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Salah

satu tanaman yang dapat dijadikan tanaman obat adalah kembang bulan (*Tithonia diversifolia*).



Gambar 3.1 Bunga Kembang bulan (*Tithonia diversifolia*)

### 3.2.1 Kandungan tanaman

Dalam pengobatan tradisional, bagian pucuk dari Tanaman kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) memiliki kandungan sebagai obat diabetes (Hui, *et al.*, 2009), malaria (Njoroge & Bussman, 2006a) dan penyakit infeksius lainnya (Maregesi, *et al.*, 2007). Pada penelitian yang dilakukan oleh Firsoni dan Andini (2011) menggunakan skrining fitokimia ekstrak daun kembang bulan, menunjukkan hasil bahwa tanaman ini kaya akan kandungan senyawa kimia golongan alkaloid, tannin dan flavanoid. Selain itu juga ditemukan 14 golongan flavonoid dan gula pada daun kembang bulan.

Isolasi senyawa aktif flavonoid dari tanaman kembang bulan dengan menggunakan berbagai pelarut telah banyak dilakukan. Ratih Pratiwi S (2014) menggunakan ekstrak dengan fraksi *n*-butanol untuk melarutkan batu ginjal kalsium secara in-vitro karena diduga adanya kandungan senyawa flavonoid. R Siregar (2011) menggunakan ekstrak etanol daun kembang bulan untuk uji aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*, *Propionibacterium acnes* dan *Pseudomonas aeruginosa*. M. Widari (2005) juga telah berhasil mengidentifikasi senyawa flavonoid dari daun kembang bulan yang mengarah pada 5,7,3',4' tetrahidroksiflavon atau luteolin.

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan yang memiliki zat hijau daun (klorofil), kecuali alga. Selain flavonoid tumbuhan paitan mengandung saponin, triterpenoid dan polifenol.

Aktivitas antidiabetes dapat ditimbulkan dari aktivitas antioksidan, karena konsumsi antioksidan dalam jumlah yang memadai dapat menurunkan resiko terjadinya penyakit degenerative seperti kardiovaskuler, diabetes, kanker, aterosklerosis dan osteoporosis (Winarsi, 2007).

Menurut Pasaribu, dkk (2015) Penurunan kadar gula darah ini diduga karena adanya senyawa aktif polifenol pada kembang bulan yang berkaitan dengan radikal hidroksil dan radikal alosan terpapar pada sel  $\beta$  pankreas sehingga jumlah radikal bebas penyebab diabetes mellitus pada mencit berkurang, sebagai akibatnya terjadi peningkatan sekresi insulin dari sel  $\beta$  pancreas yang akhirnya berdampak pada penurunan kadar gula darah mencit. Penelitian yang dilakukan oleh Ridwan, dkk (2012) juga mengatakan bahwa pemberian polifenol pada mencit DM mampu meningkatkan toleransi glukosa oral dan menurunkan kadar glukosa darah mencit walaupun tidak sampai batas normal. Ada indikasi bahwa polifenol dapat menghambat kerusakan sel  $\beta$  pancreas akibat stress oksidatif yang dihasilkan hyperglikemia kronis. Thongsom, *et al.*, (2013) juga berpendapat bahwa kembang bulan berpengaruh nyata terhadap kadar gula darah mencit yang diinduksi diabetes dengan alosan. Penurunan kadar gula darah disebabkan senyawa polifenol kembang bulan yang berfungsi meningkatkan sekresi insulin dari sel  $\beta$  pancreas dengan cara mengurangi kadar radikal bebas alosan. Kembang bulan mengandung senyawa aktif polifenol yang berperan sebagai antioksidan, penetral efek diabetogenik senyawa alosan dengan menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal (*radical scavenging*) dengan cara menyumbangkan satu electron pada electron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang. Miura (2005) melaporkan efek antidiabetik *Tithonia diversifolia*, mencit diabetes yang diberikan perlakuan ekstrak dun kembang bulan menunjukkan penurunan kadar gula darah yang signifikan. Penurunan kadar gula darah dengan pemberian Glibenklamid berbeda nyata dengan mencit control positif, disebabkan karena Glibenklamid merupakan obat oral hipoglikemik golongan sulfonilurea yang berfungsi merangsang sekresi insulin di kelenjar pancreas. Sifat perangsangan ini berbeda dengan perangsangan oleh glukosa karena pada saat glukosa gagal merangsang sekresi insulin (kondisi hyperglikemia), senyawa-senyawa obat ini masih mampu meningkatkan sekresi insulin (Ganiswara, 1995).

### 3.3 Kayu Manis

Kayu manis (*cinnamon*) adalah kulit kayu yang dikeringkan dari pohon dengan genus *Cinnamomum* (Alusinsing dkk, 2014). Berdasarkan penelitian beberapa tahun terakhir, ditemukan manfaat lain dari cinnamon yaitu dapat digunakan sebagai pengontrol gula darah dalam tubuh. Beberapa kandungan cinnamon yang diteliti dapat menurunkan kadar gula darah. Kandungan-kandungan tersebut diduga memiliki sifat mirip insulin (*insulin-like*) sehingga dapat bekerja seperti insulin di dalam tubuh (Kirkham et al, 2009). Teori lain menyatakan bahwa kandungan *cinnamon* dapat mempengaruhi kerja reseptor insulin pada jaringan yang mengakibatkan terjadi penurunan resistensi dari insulin (Hlebowicz et al, 2007).



Gambar 3.2. Tanaman Kayu manis (*Cinnamomum burmannii*)

Mekanisme kerja *cinnamon* dengan cara meningkatkan sensitivitas reseptor insulin, yaitu mengaktifkan reseptor PI 3-kinase dan menghambat tirosin fosfatase, meningkatkan konsentrasi dari substrat IRS-1 terfosforisasi dan pengikatannya pada PI 3-kinase, mengaktifkan sintase glikogen, menstimulasi pengambilan glukosa, dan mengaktifasi kinase dari reseptor insulin (Kannappan et al, 2006). Polifenol yang terkandung dalam *cinnamon* dapat mempengaruhi fungsi glukosa dan insulin didalam tubuh. Polifenol akan merangsang autofosforisasi reseptor insulin melalui peningkatan aktivitas forforisasi tirosin dan menurunkan proses defosforisasi (Ziegenfuss, 2006). Salah satu komponen lain dari *cinnamon* adalah *methylhydroxychalcone polymer* (MHCP), yaitu polimer purifikasi yang dapat menstimulasi oksidasi dari glukosa. Berdasarkan penelitian, ketika MHCP memasuki sel dan berinteraksi dengan bagian intraselular kinase, MHCP akan menghasilkan sifat *insulin-like*. Pada diabetes mellitus, insulin yang ada dalam tubuh berkurang, mengalami resistensi, bahkan mungkin tidak dihasilkan dalam tubuh. Keberadaan MHCP yang *insulin-like* ini seakan-akan menggantikan kerja insulin yang kurang dalam tubuh tersebut dan mengaktifasi pemberian informasi insulin (Jarvill-Taylor et al, 2001 dan Pham et al, 2007).

### 3.4 Glukosa darah

Glukosa merupakan karbohidrat terpenting yang kebanyakan diserap ke dalam aliran darah sebagai glukosa dan gula lain diubah menjadi glukosa di hati. Glukosa adalah bahan bakar utama dalam jaringan tubuh serta berfungsi untuk menghasilkan energi. Kadar glukosa darah merupakan factor yang sangat penting untuk kelancaran kerja tubuh. Karena pengaruh berbagai factor dan hormone insulin yang dihasilkan oleh kelenjar pankreas, sehingga hati dapat mengatur kadar glukosa dalam darah.

Apabila kadar glukosa dalam darah meningkat sebagai akibat naiknya proses pencernaan dan penyerapan karbohidrat, maka oleh enzim-enzim tertentu glukosa dirubah menjadi glikogen. Proses ini hanya terjadi di dalam hati dan dikenal sebagai glikogenesis. Sebaliknya bila kadar glukosa menurun, glikogen diuraikan menjadi glukosa. Proses ini dikenal sebagai glikogenolisis, yang selanjutnya mengalami proses katabolisme menghasilkan energy (dalam bentuk energy kimia, ATP). Kadar normal glukosa puasa dalam darah adalah 70 – 110 mg/dl (Koestadi, 1989). Kadar glukosa darah sangat erat kaitannya dengan penyakit DM. Peningkatan kadar glukosa darah  $\geq 200$  mg/dL yang disertai dengan

gejala poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM (Soegondo, *et al.*, 2009).

### 3.5 Aloksan

Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana (Nugroho & Purwaningsih, 2004). Aloksan diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer. Nama aloksan diperoleh dari penggabungan kata allantoin dan oksalurea (asam oksalurik). Nama lain dari aloksan adalah 2,4,5,6-tetraoxypyrimidin; 2,4,5,6-primidinetetron; 1,3-Diazinan-2,4,5,6-tetron (IUPAC) dan asam Mesoxalylurea 5-oxobarbiturat. Rumus kimia aloksan adalah  $C_4H_2N_2O_4$ . Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat (Watkins, *et al.*, 2008). Aloksan adalah senyawa kimia tidak stabil dan senyawa hidrofilik. Waktu paruh aloksan pada pH 7,4 dan suhu  $37^\circ C$  adalah 1,5 menit.

Aloksan berpengaruh terhadap 2 mekanisme patologi yang berbeda dengan jelas dalam menginduksi DM, yaitu secara selektif menghambat sekresi insulin yang diinduksi oleh glukosa melalui penghambatan khusus pada sensor glukosa didalam sel  $\beta$  (glukokinase), dan menginduksi pembentukan ROS (*reactive oxygen species*) yang menyebabkan nekrosis sel-sel  $\beta$  pancreas secara selektif dan menginduksi resistensi insulin (Lenzen, 2007).

Aloksan dengan konsentrasi tinggi tidak mempunyai pengaruh pada jaringan percobaan lainnya. Mekanisme aksi dalam menimbulkan kerusakan selektif sel  $\beta$  pankreas belum diketahui dengan jelas. Efek diabetogeniknya bersifat antagonis terhadap glutathion yang bereaksi dengan gugus SH. Aloksan bereaksi dengan merusak substansi murni di dalam sel  $\beta$  pankreas sehingga menyebabkan berkurangnya granula – granula pembawa insulin di dalam sel  $\beta$  pankreas. Menurut Watkins, dkk (2008) Aloksan meningkatkan pelepasan insulin dan protein dari sel  $\beta$  pancreas, tetapi tidak mempengaruhi sekresi glucagon. Efek ini, spesifik untuk sel  $\beta$  pankreas sehingga aloksan dengan konsentrasi tinggi tidak berpengaruh terhadap jaringan lain. Aloksan mungkin mendesak efek diabetogenik untuk merusak membran sel  $\beta$  dengan meningkatkan permeabilitas. Dean dan Matthew (1972) mendemonstrasikan adanya depolarisasi membran sel  $\beta$  pankreas dengan pemberian aloksan (Szkudelski, 2008). Kerusakan membrane akan mempermudah terjadinya kerusakan sel  $\beta$  pancreas sehingga produksi insulin menurun.

Aksi sitotoksik aloksan dimediasi oleh radikal bebas. Aksi toksik aloksan pada sel  $\beta$  diinisiasi oleh radikal bebas yang dibentuk oleh reaksi redoks. Aloksan dan produk reduksinya, asam dialurik, membentuk siklus redoks dengan formasi radikal superoksida. Radikal ini mengalami dismutasi menjadi hydrogen peroksida. Radikal hidroksil dengan

kereaktifan yang tinggi dibentuk oleh reaksi Fenton. Aksi radikal bebas dengan rangsangan tinggi meningkatkan konsentrasi kalsium sitosol yg menyebabkan destruksi cepat sel  $\beta$ . Penelitian yang dilakukan oleh Filipponi, dkk (2008) terhadap mekanisme kerja aloksan secara invitro menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria mengakibatkan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel (Suharmiati, 2003).

### 3.6 Glibenklamid

Glibenklamid merupakan Obat Hipoglikemik Oral (OHO) golongan sulfonilurea yang hanya digunakan untuk mengobati individu dengan DM tipe II (Moore, 1997). Obat golongan ini menstimulasi sel  $\beta$  pankreas untuk melepaskan insulin yang tersimpan. Mekanisme kerja obat golongan sulfonilurea dengan cara menstimulasi pelepasan insulin yang tersimpan (*stored insulin*) dan meningkatkan sekresi insulin akibat rangsangan glukosa (Soegondo, 2004). Efek samping OHO golongan sulfonilurea umumnya ringan dan frekuensinya rendah, antara lain gangguan saluran cerna dan gangguan susunan syaraf pusat. Golongan sulfonilurea cenderung meningkatkan berat badan. Bila pemberian dihentikan, obat akan bersih dari serum sesudah 36 jam (Soegondo, 2004).

### 3.7 Mencit (*Mus musculus*)

Mencit (*Mus musculus* L.) termasuk mamalia pengerat (rodensia) yang cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar serta sifat anatomisnya dan fisiologisnya terkarakteristik dengan baik. Mencit yang sering digunakan dalam penelitian di laboratorium merupakan hasil perkawinan tikus putih “inbreed” maupun “outbreed”. Dari hasil perkawinan sampai generasi 20 akan dihasilkan strainstrain murni dari mencit (Akbar, 2010).

Mencit (*Mus musculus* L.) memiliki ciri-ciri berupa bentuk tubuh kecil, berwarna putih, memiliki siklus estrus teratur yaitu 4-5 hari. Kondisi ruang untuk pemeliharaan mencit (*Mus musculus* L.) harus senantiasa bersih, kering dan jauh dari kebisingan. Suhu ruang pemeliharaan juga harus dijaga kisarannya antara 18-19°C serta kelembaban udara antara 30-70%. Dalam jurnal Nugrahani (2012) mengatakan rata-rata kadar glukosa darah pada saat puasa adalah 73 mg/dl – 96.6 mg/dl. Jadi pada kondisi dipuaskan, mencit berada dalam keadaan normal.



## BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN

### 4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Kandang Hewan Coba, Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga untuk pemeliharaan dan adaptasi tikus. Setelah itu dilanjutkan dengan pembuatan ekstrak daun *Tithonia diversifolia* di Laboratorium Farmakologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga, serta dilakukan pengambilan darah mencit (*Mus musculus* L.) dan pemeriksaan glukosa darah mencit di Kandang Hewan Coba, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret – Oktober 2018

### 4.2 Bahan dan Metode

#### 4.2.1 Persiapan Alat dan Bahan

Bahan penelitian adalah mencit jantan (*Mus musculus* L.) Strain Swiss Webster, daun kembang bulan, aloksan dan CMC. Alat yang digunakan adalah glukometer (*EasyTouch*® GCU), *EasyTouch*® blood glucose test strip.

#### 4.2.2 Pemeliharaan Hewan Penelitian

Penelitian menggunakan mencit (*Mus musculus* L.) Strain Swiss Webster, berjenis kelamin jantan yang sehat, umur mencit  $\pm$  3 bulan, belum pernah digunakan untuk percobaan lain dan mempunyai berat badan antara 25-35 gram. Mencit ditempatkan didalam kandang yang terbuat dari bahan plastic ukuran (50 cm x 50 cm x 40 cm) yang diutup dengan kawat kasa. Dasar kandang dilapisi dengan sekam setebal 0.5-1 cm dan diganti setiap tiga hari sekali. Cahaya ruangan, suhu dan kelembapan ruangan dikondisikan pada kisaran alamiah. Pakan dan air minum disuplai setiap hari secara ad libitum.

#### 4.2.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan lima kali ulangan. Jumlah hewan uji perkelompok ditentukan dengan rumus :

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

t: perlakuan

n: ulangan perkelompok

Dalam penelitian ini, dilakukan 6 kelompok perlakuan (*t*) dan jumlah ulangan perkelompok (*n*) yang diharapkan adalah 5. Jadi, jumlah hewan uji unuk penelitian ini berjumlah 30 ekor mencit.

### 4.3 Pelaksanaan Penelitian

#### 4.3.1 Persiapan dan pembuatan mencit DM

Mencit dibagi menjadi 2 kelompok, kelompok kontrol dan kelompok mencit diabetes. Pembuatan menjadi diabetes, mencit diinduksi aloksan sebanyak 150 mg/kg BB dengan buffer asetat (0.15 M, pH 4.5)

Kelompok kontrol hanya menerima larutan buffer. Sebelumnya, mencit diberi air secara *ad libitum* semalaman. Mencit kemudian di observasi selama seminggu beserta level glukosa darah nya. Mencit dengan kenaikan 3-4 kali lipat dari level gula darah normal, bisa dikatakan bahwa mencit terkena diabetes dan dapat digunakan sebagai tes lebih lanjut.

#### 4.3.2 Ekstraksi kembang bulan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) yang diperoleh dari Desa Mekikis Kediri. Pengambilan sampel daun kembang bulan dilakukan secara *purposive* tanpa membandingkan dengan tumbuhannya yang sama dari daerah lain. Daun kembang bulan dicuci dengan air bersih dan dikering anginkan, lalu dihaluskan dan diayak sampai diperoleh serbuk kering. Serbuk kering daun kembang bulan dimaserasi dengan etanol 70% selama 2 hari, selama perendaman dilakukan pengadukan beberapa kali, kemudian simplisia diaring dengan menggunakan kertas saring. Perendaman simplisia dilakukan sebanyak 2 kali, sampai diperoleh filtrate yang jernih. Kemudian filtrate yang didapat dipisahkan dengan rotavapor sehingga diperoleh ekstrak yang kental.

Ekstrak kental yang telah di *rotary evaporator* ditempatkan didalam beaker glass dan ditutup dengan aluminium foil lalu disimpan dalam freezer untuk mencegah kerusakan ekstrak. Pelarut yang digunakan yaitu karboksil metal selulosa (CMC) dengan konsentrasi 0.5% sehingga dihasilkan ekstrak yang diinginkan.

#### 4.3.3 Pembuatan Destilasi Minyak Atsiri Kulit Batang Kayu Manis

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dengan dua ukuran partikel, yaitu 1 – 2cm (kasar) dan -10 + 20 mesh (halus). Kulit kayu manis ukuran kasar disiapkan dengan memotong kulit kayu menggunakan pisau, sedang ukuran halus disiapkan dengan menggiling. Hasil penggilingan diayak melalui saringan dengan ukuran partikel yang sesuai keperluan. Proses pemisahan minyak atsiri dari kulit kayu manis dilakukan dengan destilasi uap air pada dua laju destilasi, yaitu 1,4 L/jam dan 2 L/jam. Nilai laju destiasi tersebut sebanding dengan laju kalor yang diterima oleh sistem dan setara dengan jumlah destilat yang terkondensasi selama satu jam, masing-masing sebanyak 1,4 L dan 2 L.

Perolehan minyak atsiri ditentukan berdasarkan percobaan dengan massa kulit kayu manis sebanyak 0,5, 1 dan 2 kg. Percobaan destilasi uap bahan kasar dilakukan dengan satu rak, sedang percobaan dengan bahan halus dilakukan dengan satu dan dua rak. Destilasi

dihentikan bila destilat yang keluar dari kondensor sudah terlihat jernih. Karakteristik minyak atsiri hasil destilasi uap, yang mencerminkan mutu minyak atsiri tersebut, ditentukan berdasarkan Standar Nasional Indonesia.

#### 4.3.4 Analisis Minyak Atsiri Kulit Kayu Manis dengan GC-MS

Cuplikan dimasukkan kedalam gerbang suntik pada sebuah alat GC-MS. Selanjutnya kondisi disesuaikan dengan kondisi dibawah ini kemudian diamati kromatogram yang dihasilkan oleh recorder dan mass recorder serta mass spektra masing-masing senyawa. Kondisi GC-MS yang digunakan analisa minyak atsiri kulit kayu manis seperti dibawah ini :

##### GCMS-QP2010S SHIMADZU

Kolom	: AGILENT HP 5MS
Panjang	: 30 meter
Gas pembawa	: Helium
Pengion	: EI [GC-2010]
Column Oven Temperatur	: 60.0°C
Injection Temperatur	: 310.00°C
Injection Mode	: Split
Flow Control Mode	: Pressure
Pressure	: 10.9 kPa
Total Flow	: 80.0 mL/min
Column Flow	: 0.50 mL/min
Linear Velocity	: 25.8 cm/sec
Purge Flow	: 3.0 mL/min
Split Ratio	: 153.0
Equilibrium Time	: 1.0 min [GCMS-QP2010]
IonSource Temperature	: 250.00°C
Interface Temperature	: 305.00°C
Solvent Cut Time	: 3.00 min
Detector Gain Mode	: Relative
Detector Gain	: +0.00 kV [MS]
Start Time	: 3.20 min
End Time	: 60.00 min
ACQ Mode	: Scan
Event Time	: 0.50 sec
Scan Speed	: 1250
Start m/z	: 28.00
End m/z	: 600.00

#### 4.4. Pemberian perlakuan terhadap hewan uji

Pada penelitian digunakan hewan uji coba mencit jantan sebanyak 75 ekor yang dibagi secara acak menjadi 5 kelompok dengan 15 kali ulangan. Pengamatan dilakukan tiga kali untuk mengukur kadar gula darah mencit yaitu, pada hari ke 1 (kadar darah puasa), ke 4 (kadar darah setelah pemberian aloksan) dan ke 7 (kadar gula darah setelah pemberian ekstrak daun kembang bulan). Sebelumnya, mencit dilakukan masa adaptasi selama satu minggu.

Pada masa adaptasi diberikan makan dan minum secara *ad libitum*, serta dilakukan pemeriksaan dan perawatan kesehatan.

Tikus dibagi menjadi 5 kelompok sebagai berikut :

- KN = Perlakuan mencit tanpa pemberian aloksan
- KP = Perlakuan mencit dengan aloksan 150 mg/kg BB
- P1 = Perlakuan mencit dengan aloksan 150 mg/kg BB dan ekstrak etanol daun kembang bulan 100 mg/kg BB
- P2 = Perlakuan mencit dengan aloksan 150 mg/kg BB dan ekstrak etanol daun kembang bulan 500 mg/kg BB
- P3 = Perlakuan mencit dengan aloksan 150 mg/kg BB dan ekstrak etanol daun kembang bulan 1000 mg/kg BB

(Etuk, 2010). Sedangkan perlakuan kelompok P1, P2, P3 diberikan ekstrak etanol daun kembang bulan dengan dosis yang berbeda yaitu: 100 mg/kg BB (P1), 500 mg/kg BB (P2), 1000 mg/kg BB (P3). Penentuan dosis ekstrak daun kembang bulan pada penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya yaitu, penelitian yang dilakukan oleh Pasaribu, dkk (2015). Ekstrak daun kembang bulan dengan dosis 100 mg/kg BB mampu menurunkan kadar gula darah mencit yang diinduksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB, sedangkan penentuan dosis ekstrak batang kayu manis merujuk Alusinsing, dkk (2014).

#### 4.5 Analisis data

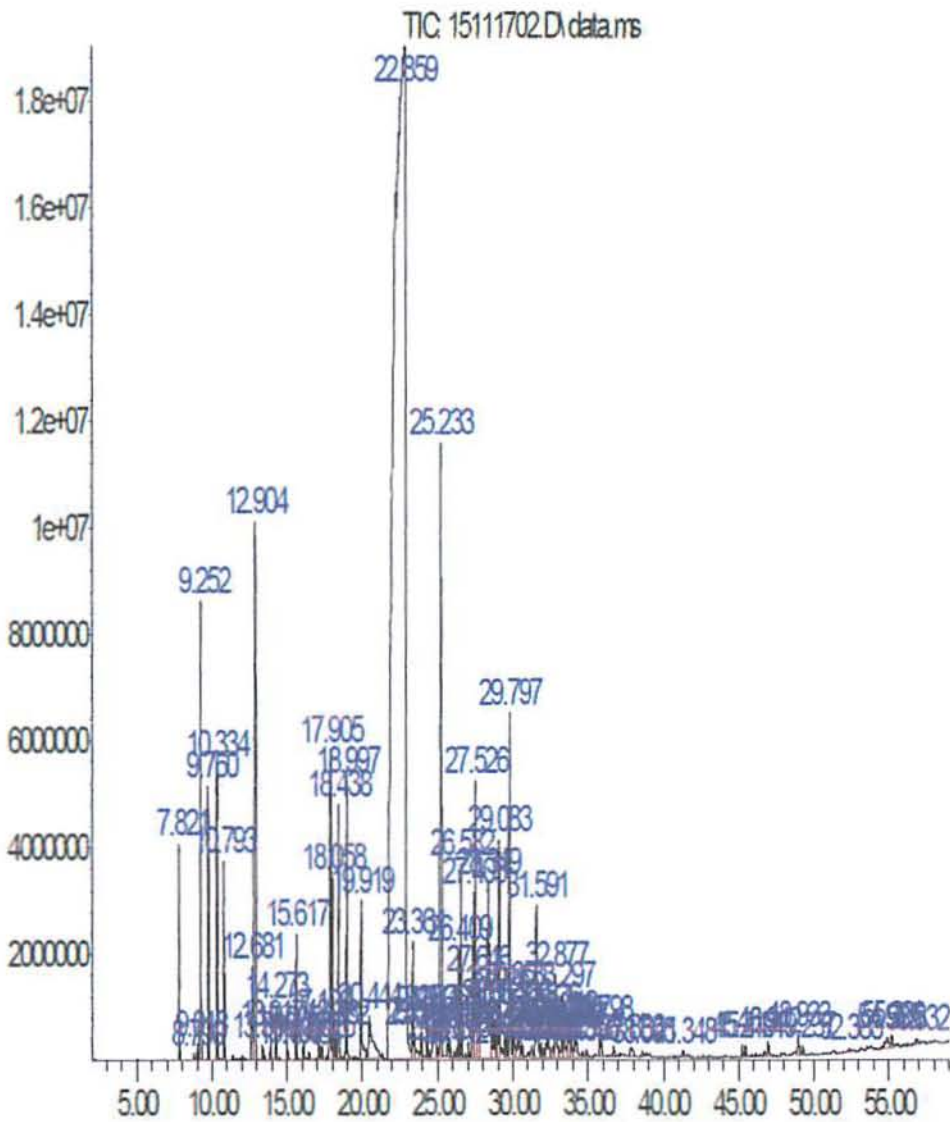
Data hasil pengamatan pengaruh ekstrak daun kembang bulan dan ekstrak batang kayu manis yang diberikan secara oral terhadap penurunan kadar gula darah mencit yang diinduksi aloksan, dilakukan juga pemeriksaan revitalisasi sel beta pankreas dengan metode imunohistokimia. Analisis data menggunakan ANOVA dan uji lanjut Bonferroni dengan tingkat signifikansi 5%. Untuk mempermudah pengolahan data, penghitungan menggunakan SPSS 21 *for windows*.

**BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pada pelaksanaan penelitian ini didapatkan hasil dari beberapa tahapan penelitian yaitu:

**5.1. Hasil Pengujian minyak atsiri kayu manis dengan GC-MS.**

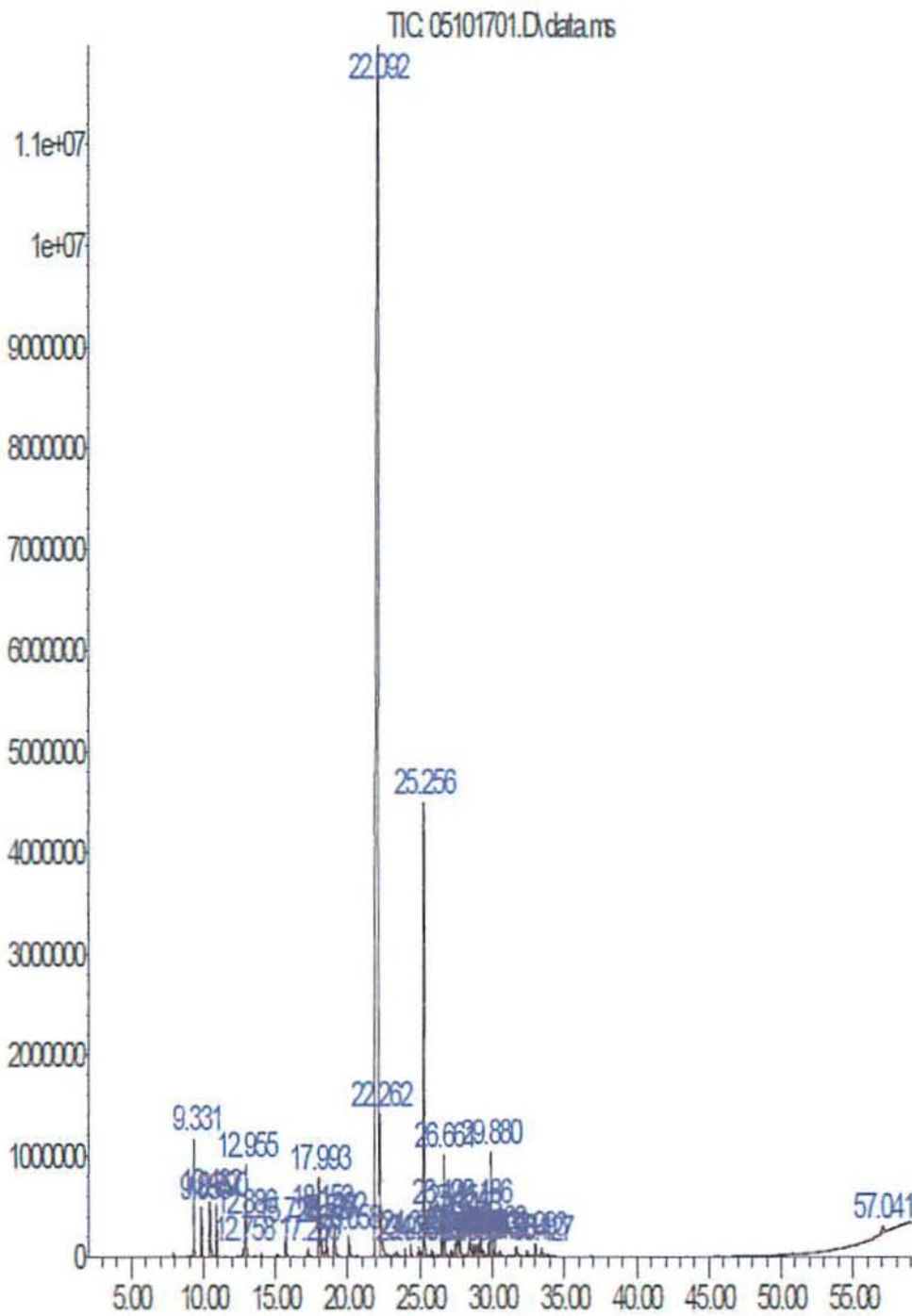
Abundance



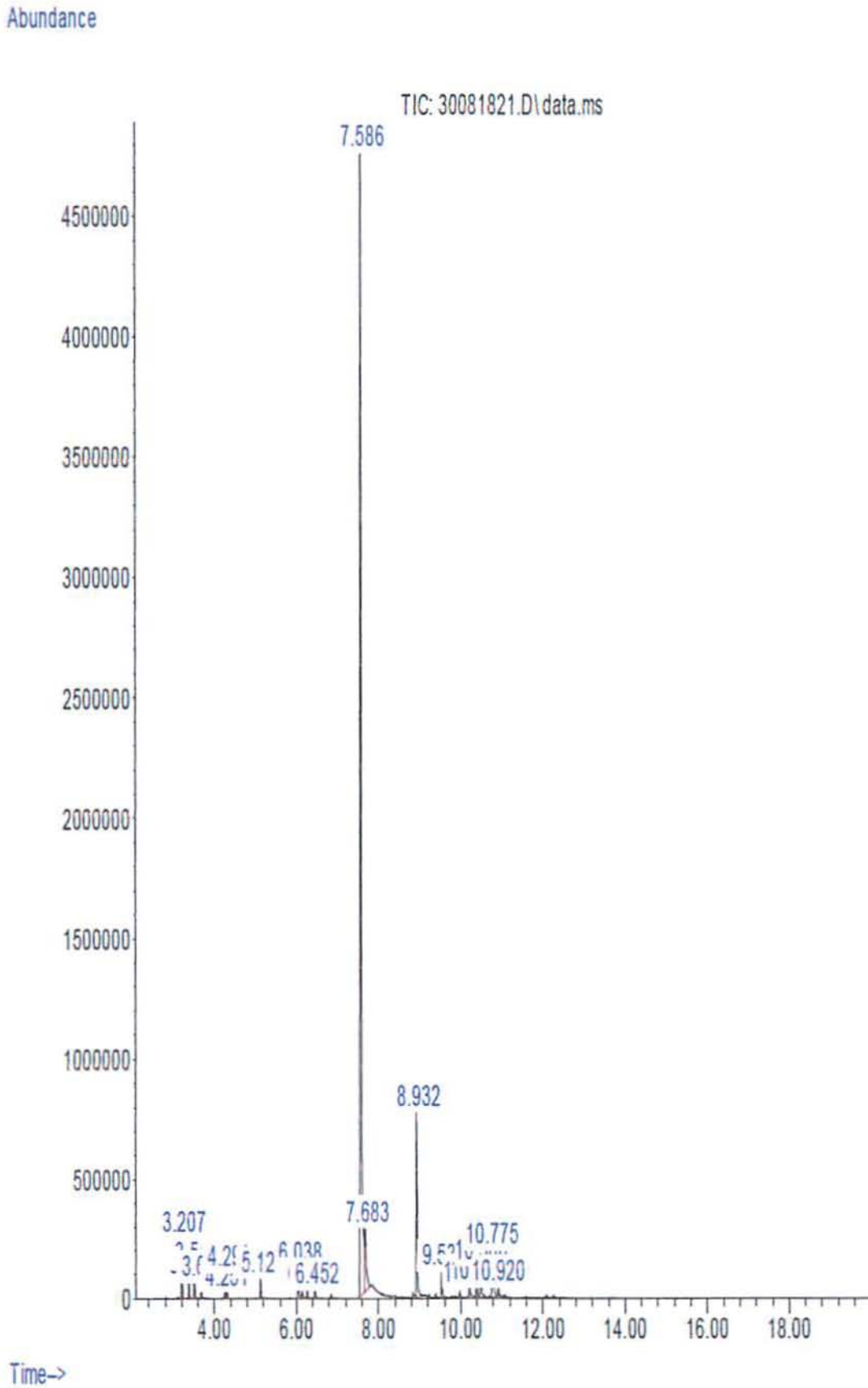
Gambar 5.1 . Kromatogram GC-MS dari minyak esensial Cinnamommum burmannii menunjukkan satu puncak tertinggi senyawa Cinnamaldehyda yang hadir dari Karanganyar, Jawa Tengah.



Abundance



Gambar 5.2. Kromatogram GC-MS dari minyak atsiri *Cinnamomum burmannii* menunjukkan satu puncak tertinggi senyawa Cinnamaldehyda yang hadir dari Padang, Sumatera Barat.



Gambar 5.3. Kromatogram GC-MS dari minyak atsiri *Cinnamomum burmannii* menunjukkan satu puncak tertinggi senyawa Cinnamaldehida hadir dari Kerinci, Jambi.

Tabel 5.1. Konstituen kimia dari minyak atsiri *Cinnamomum burmannii* dari berbagai daerah di Indonesia

no	Compound	Area origin		
		Karang anyar	Padang	Kerinci
1	<i>Styrene</i>	0,62(%)	0,00(%)	0,00(%)
2	<i>IR-<math>\alpha</math>-pinene</i>	1,68(%)	1,68(%)	2,06(%)
3	<i>Camphene</i>	0,88(%)	0,74(%)	0,68(%)
4	<i>Benzaldehyde</i>	1,21(%)	1,20(%)	1,22(%)
5	<i><math>\beta</math>-Pinene</i>	0,64(%)	0,76(%)	0,54(%)
6	<i>Eucalyptol</i>	3,46(%)	1,54(%)	1,03(%)
7	<i>Benzene propanal</i>	2,11(%)	1,85(%)	1,50(%)
8	<i>Borneol</i>	0,70(%)	1,01(%)	0,49(%)
9	<i>3-Cyclohexen-1-ol</i>	1,04(%)	0,67(%)	0,46(%)
10	<i>p-Ment-1-ol</i>	1,04(%)	0,86(%)	0,00(%)
11	<i>Cinnamaldehyde</i>	61,16(%)	64,15(%)	72,67(%)
12	<i>Benzene propanol</i>	0,89(%)	0,00(%)	0,00(%)
13	<i>Copaene</i>	3,54(%)	8,68(%)	8,94(%)
14	<i>Caryophyllene</i>	0,75(%)	1,96(%)	1,27(%)
15	<i>2H-1-Benzopyran-2-one</i>	1,16(%)	0,34(%)	0,00(%)
16	<i>2-Propen-1-ol, 3-phenyl-acetat</i>	1,46(%)	1,12(%)	0,00(%)
17	<i><math>\alpha</math>-Caryophyllene</i>	0,55(%)	0,29(%)	0,00(%)
18	<i>Naphthalene</i>	8,94(%)	4,23(%)	7,61(%)
19	<i><math>\alpha</math>-Cubebene</i>	0,00(%)	0,39(%)	0,00(%)
20	<i>Caryophyllene oxida</i>	0,98(%)	0,36(%)	0,00(%)

Sebanyak tiga mayor komponen yang berbeda, dengan waktu retensi yang berbeda, terelusi dari kolom GC seperti yang ditunjukkan oleh kromatogram (Gambar 1; gambar 2 dan gambar 3) dan dianalisis lebih lanjut dengan detektor voyager dampak elektron elektron. Identifikasi konstituen dilakukan atas dasar waktu retensi dan pencarian spektrum untuk perpustakaan massal. Bahwa spektrograf massa dari konstituen yang teridentifikasi diberikan dalam Tabel 1. Jumlah relatif dari setiap komponen dihitung berdasarkan area puncak GC. Perbandingan spektrograf GC-MS diperoleh dengan instrumen data bank bersama dengan komputer yang sesuai WILEY 275 dan Institut Nasional Standar dan Teknologi (NIST3.0) perpustakaan disediakan dengan komputer yang mengontrol GC-MS sistem mengungkapkan bahwa kayu manis minyak esensial mengandung senyawa organik berbeda yang dielusi pada waktu



retensi yang berbeda tergantung pada titik didih dari komponen yang diekstraksi. Itu Data bank instrumen juga dapat mengidentifikasi keberadaan Cinnamaldehyde, Naphthalene dan Copaene.

Mekanisme potensial yang mendasari efek antiobesitas CAE dan GAE dapat dikaitkan dengan efek hiperinsulinimik yang terbukti dalam penelitian ini. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa hiperinsulinemia dan resistensi insulin adalah ciri umum obesitas pada tikus dan manusia dalam. Mekanisme kemungkinan kedua dari aktivitas antiobesitas CAE dan GAE dapat disebabkan oleh kadar serum rendah hormon leptin yang dilaporkan dalam penelitian ini. Dalam masalah ini, Friedman menyatakan bahwa leptin adalah hormon peptida yang disekresikan oleh jaringan adiposa sebanding dengan massa lemak tubuh. Ketika leptin bersirkulasi dalam darah yang berfungsi di otak untuk mengatur asupan makanan (nafsu makan) dan pengeluaran energi. Ketika lemak tubuh, massa menurun tingkat serum leptin menurun sehingga merangsang nafsu makan dan mengurangi pengeluaran energi untuk memulihkan massa lemak. Atas dasar ini, antiobesitas dan penurunan aktivitas Iklan. Saya CAE dan GAE ketika diberikan tikus diabetes obesitas mungkin terkait dengan tingkat serum leptin rendah yang dilaporkan dalam penelitian. Inklusif, CAE dan efek anti-obesitas GAE dapat dijelaskan oleh aktivitas hiperinsulinimik dan penurunan kadar serum leptin. CAE dan GAE efek hepatoprotektif dilaporkan dalam hal ini. Studi telah terbukti dari penurunan yang signifikan dalam tingkat serum enzim hati (AST, ALT dan ALP) pada tikus diabetes obesitas. Ini efeknya sesuai dengan laporan sebelumnya untuk kayu manis ekstrak dan polifenol dan ekstrak jahe.

Mekanisme potensial yang mendasari CAE hepatoprotektif dan efek GAE dapat dikaitkan dengan antioksidan pada aktivitas kayu manis dan jahe. Stres oksidatif dilaporkan meningkatkan kadar serum enzim hati (AST, ALT dan ALP) pada tikus diabetes karena hiperglikemia meningkatkan produksi ROS, yang menginduksi stres oksidatif. Efek CAE dan

GAE hipolipidemic dilaporkan dalam hal ini. Penelitian serupa dengan laporan sebelumnya untuk kayu manis dan ekstrak jahe. Penulis sebelumnya menyimpulkan bahwa kedua ekstrak dapat menurunkan kadar TC, TG dan LDL yang meningkat pada manusia dan tikus. Mekanisme potensial yang mungkin mendasari efek hipolipidemic CAE dan GAE dapat disebabkan oleh tingginya kandungan polifenol (kayu manis) dan dari gingerol dan shogaols (jahe) yang menghambat penyerapan kolesterol usus dengan aktivitas hipokolesterolemik berikutnya.

Pemberian oral CAE dan GAE untuk tikus diabetes obesitas menyebabkan hiperinsulinemia. Efek ini juga dilaporkan pada penelitian sebelumnya pada tikus. Beberapa penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa obesitas umumnya terkait dengan hiperinsulinemia dan resistensi insulin pada tikus dan pada manusia. Itu CAE hiperinsulinemic dan efek GAE dapat mungkin menjelaskan efek anti-obesitas mereka, yang terbukti dalam penelitian ini, karena obesitas umumnya terkait dengan hiperinsulinemia.

## 5. 2. Hasil Pengujian simplisia daun kembang bulan pada tikus putih penderita DM.

Hasil rata rata kadar gula darah tikus putih yang diinduksi aloksan dan diberi pakan simplisia daun kembang bulan, terlihat pada tabel di bawah ini ;

**Tabel 5.2. Hasil Pengujian simplisia daun kembang bulan pada tikus putih penderita DM.**

Kelompok	Kadar Gula Darah Tikus Putih		
	Hari 1	Hari 4	Hari 7
K = Kontrol tanpa aloksan	101	99	109
KP = Kontrol Positif dengan aloksan	132	121	532
P1 = aloksan + kembang bulan 100mg/kg bb	103	109	138
P 2 = aloksan + kembang bulan 500mg/kg bb	95	129	131
P3= aloksan + kembang bulan 1000mg/kg bb	111	125	108

Berdasarkan analisis hasil penelitian yang dilakukan oleh peneliti menggunakan kadar glukosa darah rata-rata menunjukkan bahwa ada pengaruh ekstrak daun *T. diversifolia* terhadap penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih. Ini menunjukkan bahwa daun *T. diversifolia* memiliki efek antidiabetes atau bertindak sebagai antihiperqlikemik. Menurut Chon dkk. (2000) *T. diversifolia* memang mengandung dua komponen utama yang memiliki peran antidiabetes atau antihiperqlikemik, yaitu flavonoid dan seskuiterpen. Komponen flavonoid dan seskuiterpen adalah yang paling dalam daun. Flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang terkait dengan aktivitas antidiabetes (Jagtap & Bapat, 2010). Flavonoid diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang diyakini mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif, sehingga dapat menghambat terjadinya penyakit degeneratif seperti DM (Marianne et al., 2011). Mengenai mekanisme penyembuhan diabetes, flavonoid dianggap memainkan peran penting dalam meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan mampu meregenerasi sel  $\beta$  pankreas yang rusak sehingga kekurangan insulin dapat diatasi. Flavonoid yang terkandung dalam tanaman dianggap juga meningkatkan sensitivitas reseptor insulin. Sehingga keberadaan flavonoid memiliki efek menguntungkan pada keadaan DM (Abdelmoaty et al., 2010).

Flavonoid dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan kemampuan mereka sebagai antioksidan. Flavonoid bersifat melindungi terhadap kerusakan sel  $\beta$  sebagai penghasil insulin dan dapat mengembalikan sensitivitas reseptor insulin ke sel dan bahkan meningkatkan sensitivitas insulin (Winarsi et al., 2012). Antioksidan dapat menekan apoptosis sel  $\beta$  tanpa mengubah proliferasi sel  $\beta$  pankreas. Antioksidan dapat mengikat radikal bebas yang telah terbukti dalam beberapa penelitian, sehingga dapat mengurangi resistensi insulin (Ruhe & McDonald, 2001).

Ethanolicly extracted flavonoid memiliki potensi untuk mengurangi kadar glukosa darah pada DM tipe 1 yang diinduksi oleh Streptozotocin (STZ) di mana aktivitas enzim glukosa-6-fosfatase hati menurun secara signifikan, ini membuktikan bahwa efek dari pengurangan glukosa berhubungan dengan peningkatan metabolisme glukosa di dalam tubuh. kelompok tikus yang diberikan flavonoid selama 21 hari (Zhang & Tan, 2000; Syamsul et al., 2011). Tikus yang diobati dengan aloksan akan mengalami kerusakan sel pankreas dan menyebabkan hiperglikemia persisten. Sehubungan dengan itu menurut Winarsi et al. (2012) flavonoid bekerja di luar pankreas. Flavonoid merangsang pemanfaatan glukosa perifer, dengan meningkatkan jalur glikolitik dan glikogenik, yang secara bersamaan menekan jalur glikogenolisis dan glukoneogenesis. Melalui mekanisme ini flavonoid dapat mengontrol glukosa darah, sehingga kadar glukosa darah tikus menurun. Menurut Panjuantiningrum (2010) antioksidan dalam flavonoid dapat berkontribusi atom hidrogen. Flavonoid akan teroksidasi dan berikatan dengan radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil.

Aktivitas antioksidan ini dapat mengurangi stres oksidatif sehingga mengurangi ROS (Reactive Oxygen Species). Menurut Widowati (2008) sumber stres oksidasi diabetes terjadi karena perpindahan keseimbangan reaksi redoks karena perubahan karbohidrat dan metabolisme lipid yang akan meningkatkan pembentukan ROS dari reaksi oksidasi lipid dan oksidasi, sehingga mengurangi sistem pertahanan antioksidan.

Flavonoid dapat meregenerasi sel beta pankreas dan membantu merangsang sekresi insulin (Dheer & Bhatnagar, 2010). Mekanisme lain dari flavonoid yang menunjukkan efek hipoglikemik adalah mengurangi penyerapan glukosa dan mengatur aktivitas ekspresi enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat (Brahmachari, 2011). Ada beberapa mekanisme kerja obat hipoglikemik oral, yaitu meningkatkan sekresi insulin (kelompok sulfonilurea), meningkatkan sensitivitas reseptor insulin sehingga penyerapan glukosa dalam jaringan

perifer meningkat, meningkatkan sensitivitas insulin jaringan otot, jaringan lemak dan hati, dan menghambat pemecahan polisakarida menjadi monosakarida. Flavonoid memiliki mekanisme yang mirip dengan obat sulfonilurea hipoglikemik oral dalam mengurangi kadar glukosa darah pada tikus dengan meningkatkan sekresi insulin di organ pankreas (Octaria, 2013).

Flavonoid dapat mencegah komplikasi atau perkembangan DM dengan membersihkan radikal bebas yang berlebihan, memutus rantai reaksi radikal bebas, mengikat ion logam (chelating) dan menghalangi jalur poliol dengan menghambat enzim aldose reduktase. Flavonoid juga memiliki efek penghambatan pada enzim  $\alpha$ -glukosidase melalui ikatan hidrosilasi dan substitusi pada cincin  $\beta$ . Prinsip inhibisi mirip dengan acarbose yang telah digunakan sebagai obat untuk pengobatan diabetes mellitus, yaitu dengan memproduksi penundaan hidrolisis karbohidrat, disakarida dan penyerapan glukosa dan menghambat metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Ridwan et al., 2012; Taufiqurohman, 2015). Flavonoid adalah senyawa penghambat kuat terhadap enzim  $\alpha$ -amilase yang berfungsi untuk pemecahan karbohidrat. Daya inhibisi enzim ini menyebabkan proses pemecahan dan penyerapan karbohidrat menjadi terganggu, sehingga kadar gula darah dapat dikurangi (Yulianty et al., 2015).

*T. diversifolia* juga memiliki komponen yang disebut sesquiterpen yang berfungsi untuk mengurangi ketidakpekaan terhadap insulin (Miura et al., 2002). Sesquiterpenes secara signifikan mampu meningkatkan metabolisme glukosa tanpa efek toksik pada adiposit (Zhao et al., 2012). Sesquiterpen dapat menghambat faktor inflamasi pada sel mesangial ginjal manusia dalam kondisi hiperglikemik (Wang et al., 2010).

Sesquiterpenes diisolasi dari ekstrak daun *T. diversifolia* dilaporkan memiliki kekuatan sebagai agen phytotrophic terhadap infeksi bakteri di organ (Pradeep et al., 2010).

Seskuiterpen yang diisolasi dari tanaman menunjukkan aktivitas penghambatan  $\alpha$ -glukosidase yang signifikan (Choudhary, 2001). Seskuiterpen juga dapat menghambat ekspresi induksi glukosa tinggi dalam sitokin inflamasi pada sel mesangial manusia.

Mekanisme kedua dari sesquiterpenes berhubungan dengan kemampuannya untuk menghambat (Menghambat) Advanced Oxidation Protein Product-Induced MCP-1 Expression dalam Podocytes. Produk protein oksidasi lanjutan (AOPPs) pertama kali ditemukan dan dilaporkan sebagai racun uremik oleh Witko-SARSAT dan ditemukan terkait dengan diabetes (Piwowar et al., 2009). AOPPs adalah produk protein yang mengandung dityrosine dan terbentuk selama stres oksidatif oleh reaksi protein serum dengan oksidan terklorinasi (Witko-Sarsat, 1998). Penelitian terbaru menemukan bahwa akumulasi AOPPs kronis menyebabkan peradangan pada kedua ginjal pada penderita diabetes dan non-diabetes dengan makrofag yang meningkat secara signifikan dan berlebihan (Li et al., 2007). AOPPs juga dapat mengurangi ekspresi nephrine dan podocin di podocytes, menghasilkan apoptosis dan penghilangan podocyte (Yanget al., 2010).

Seskuiterpen telah dilaporkan untuk menunjukkan efek anti-inflamasi dengan menghambat fosforilasi IKK dan I $\kappa$ B $\alpha$  dan mempengaruhi kemampuan mengikat DNA (Saadane et al., 2007). Penelitian lain menunjukkan bahwa blok seskuiterpen memblokir mRNA MCP-1 dan ekspresi protein dengan menghambat aktivitas NF- $\kappa$ B dalam glomerulonefritis eksperimental dan sel mesangial ginjal manusia dan dalam podosit (Sanchez-Niño et al., 2013). Sesquiterpenes dapat secara efektif menipiskan dan mengaktifkan NF- $\kappa$ B yang diinduksi AOPP, degradasi I $\kappa$ B $\alpha$ , dan ekspresi MCP-1 yang distimulasi tinggi pada sel mesangial tikus (Wang et al., 2013).

Berdasarkan berbagai deskripsi di atas dapat dikatakan bahwa *T. diversivolia* memiliki efek pada metabolisme glukosa melalui berbagai mekanisme termasuk fungsinya seperti zat

insulin, menghambat aktivitas insulinase, meningkatkan sekresi insulin dari sel  $\beta$ -pankreas atau dari sumber insulin, dan memungkinkan peningkatan regenerasi sel pankreas. Menurut Thongsom et al. (2013) *T. diversivolia* memang merupakan sumber antioksidan, dapat meningkatkan metabolisme glukosa, dan mampu mengurangi ketinggian profil lipid dan peroksidasi lipid.



Gambar 5. 4. Perlakuan ekstrak daun kembang bulan pada mencit yang dibuat menderita DM.

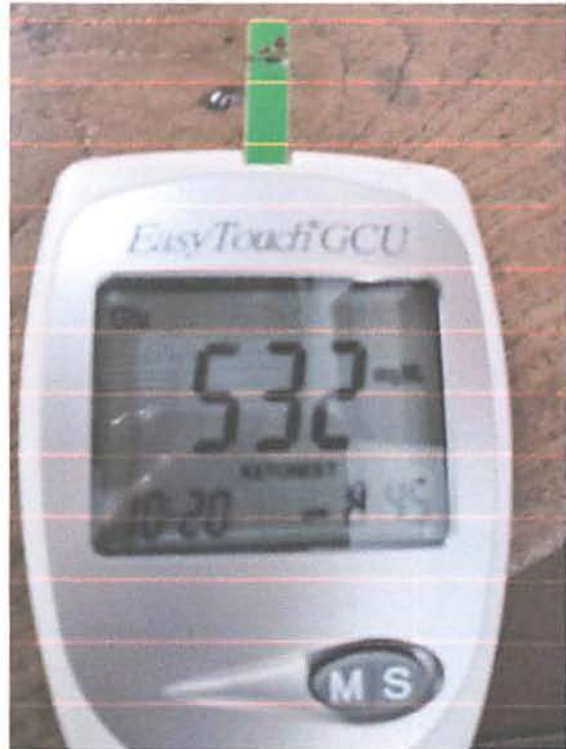


Gambar 5.5. Pemberian per oral ekstrak daun kembang bulan dan penimbangan dosis.





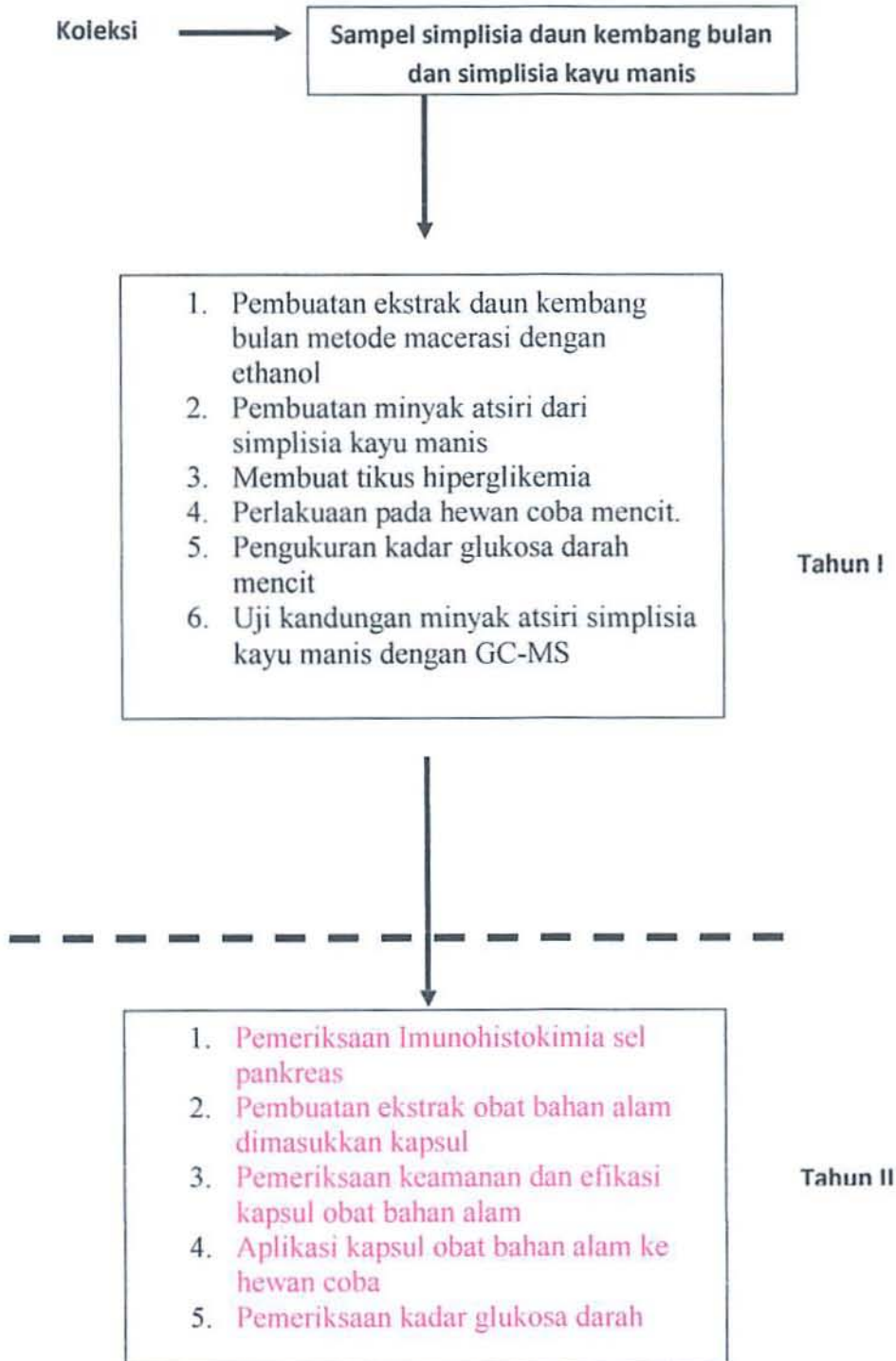
Gambar 5.6. Pengukuran kadar glukosa darah mencit



Gambar 5. 7. Hasil pengukuran kadar glukosa darah mencit.

## BAB 6. INDIKATOR CAPAIAN TAHUNAN

### Kerangka Penelitian



Yang berwarna merah akan dilakukan penelitian tahun depan.



## BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

### 7.1. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian untuk pembuktian dapat digunakannya simplisia kayu manis dan simplisia daun kembang bulan untuk perbaikan tikus yang menderita diabetes millitus, adalah:

1. Sebanyak 3 komponen utama dari minyak atsiri simplisia kayu manis yaitu; Cinnamaldehyde, Naphthalene dan Copaene diketahui mempunyai khasiat sebagai bahan yang potensial untuk antidiabetic.
2. Simplisia dari daun kembang bulan dapat digunakan sebagai bahan untuk mengurangi dan memperbaiki tikus yang diinduksi aloksan dan menderita diabetes millitus buatan.





## DAFTAR PUSTAKA

- Alusingsing G, Bodhi W., dan Sudewi S. 2014. *Uji Efektivitas Kulit Batang Kayu Manis (Cinnamomum burmanii) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (Rattus Norvegicus) Yang Diinduksi Sukrosa*. PHARMACON, Vol. 3 No. 3 273-278
- Darwis, D. 2000. *Teknik Dasar Laboratorium Dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati, Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia Dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati*. Padang: FMIPA. Universitas Andalas. Padang.
- Elofiyoye T.O and Agbedahunsi. J. M, 2004. *Antimalarial activities of Tithonia diversifolia (Asteraceae) and Crossopteryx febrifuga (Rubiaceae) on mice in vivo*. J. Ethnopharmacol.
- Etuk. E. U.2010. *Animals Model for Studying Diabetes Melitus*. Agriculture and Biology Journal of North America.
- Guthrie, D.W. and Guthrie, R. A. 2003. *The Diabetes Source Book*. New York: Mc Graw Hill Company.
- Harbone, B., J. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah Kosasih, P., dan Iwang Soediro. Penerbit ITB. Bandung.
- Hartono. 1989. *Histologi Veteriner*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat. Fakultas Kedokteran Hewan IPB. Bogor.
- Herra Studiawan dan Mulja Hadi Santosa, 2005. *Uji Aktivitas Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun Eugenia polyantha pada Mencit yang Diinduksi Aloksan*. Media Kedokteran Hewan Vol. 21, No. 2. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Hlebowicz J, Darwiche G, Bjorgell O, Almer L. 2007. Effect of cinnamon on postprandial blood glucose, gastric emptying, and satiety in healthy subjects. *The American Journal Of Clinical Nut.* 85(6): 1552-1556.
- Jarvill-Taylor K, Anderson R, Graves D. 2001. A hydroxychalcone derived from cinnamon functions as a mimetic for insulin in 3T3-L1 adipocytes. *Journal Of The American College Of Nutrition.* 20(4): 327-336.
- Jones TC, Ronald DH, Norval WK. 2006. *Veterinary Pathology*, 6th Ed. USA: Blackwell Publishing Profesional.
- Kannappan S, Jayaraman T, Rajasekar P, Ravichandran M, Anuradha C. 2006. Cinnamon bark extract improves glucose metabolism and lipid profile in the fructose-fed rat. *Singapore Medical Journal.* 47(10): 858-863.
- Kirana, L. 2008. *Hewan Uji dalam Eksperimen Farmakologi*. Jurnal Metode Farmakologi dan Toksikologi. Institut Teknologi Bandung.

Kirkham S, Akilen R, Sharma S, Tsiami A. 2009. The potential of cinnamon to reduce blood glucose levels in patients with type 2 diabetes and insulin resistance. *Diabetes, Obesity & Metabolism*. 1100-1113.

Lonyai, A. Kodama, S. Burger, Davis, Faustman. 2008. *The Promise of Hox 11 + Stem Cell of The Spleen for Treating Autoimmune Disease*. Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School. Boston, MA. USA.

Maksum, U. 2008. *Uji Efek Anti Diabetes Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (Thitonia difersifolia (hamsley) A. Gray) Terhadap Tikus yang Diinduksi Streptozotocin*. Fakultas Farmasi USU. Medan.

Maulana, Mirza. 2008. *Mengenal Diabetes: Panduan Praktis Menangani Penyakit Kencing Manis*. Penerbit Kata Hati. Yogyakarta.

Maureen, W. 2004. *Encouraging People with Diabetes to Get The Most From Blood Glucose Monitoring Observing and Acting Upon Blood Glucose Patters*. Article. Aintree Hospital. Liverpool.

Miura, T., Nosaka, K., Ishii, H and Ishida, T. 2005. *Antidiabetic Effect of Nitobegiku, the Herb Tithonia diversifolia, in KK-Ay Diabetic Mice*. Suzuka University of Medical Science. Japan.

Mycek, M. J., Harvey, R. A., Champe, C. C. 2001. *Farmakologi: Ulasan Bergambar*. Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology. Penerjemah Azwar Agoes. Edisi Kedua. Widya Medika. Jakarta.

Owoyele, B.V., O.C. Wuraola, A.O. Soladoye and S.B. Olaleye. 2004. Studies on anti-inflammatory and analgesic properties of *Tithonia diversifolia* leaf extract. *J. Ethnopharmacology*.

Pham A, Kourlas H, Pham D. 2007. Cinnamon supplementation in patients with type 2 diabetes mellitus. *Pharmacotherapy*. 27(4) : 595-599.

Price, S.A and Wilson. 1998. *Patofisiologi, Konsep klinik Proses-Proses Penyakit. Buku ke-2, Edisi keempat*. Penerbit Buku Kedokteran, EGC. Alih Bahasa P. Anugrah.

Robb. *The Development of Islet of Langerhans in The Human Fetus*. Exp Physiol. Edinburg University. Scotlandia.

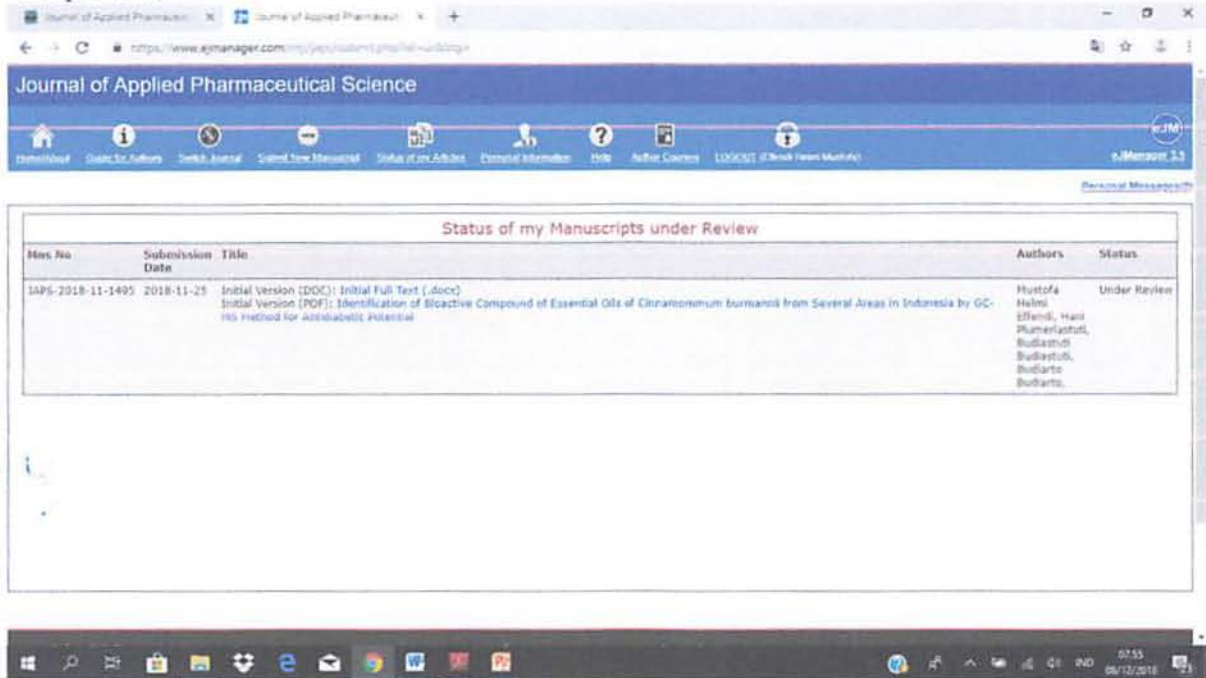
Robinson, Trevor. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Penerbit ITB. Bandung.

Santoso, M.H., dan N.C. Zaini. 2002. *Prospek Tantangan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat Untuk Terapi Diabetes*. Surakarta.

Smith, JB dan Mangkoewidjojo, S., 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : UI-Press

- Suharmiati. 2003. *Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat*. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Pusat Penelitian dan Pengembangan Pelayanan dan Teknologi Kesehatan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Surabaya.
- Sulistyowati, A; dan Didik, G. 2006. Efek Ekstrak daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) terhadap *Candida albicans* serta profil kromatografinya. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi. Departemen Kesehatan. Republik Indonesia. Jakarta.
- Sulastri, R. 1999. *Pemanfaatan Tanaman Obat Sebagai Alternatif untuk Pengobatan Diabetes Melitus*. Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Padang. Bandung.
- Suarsana, I., Priosoeryanto, Bintang dan Wresdiyati. 2010. *Profil Glukosa Darah dan Ultrastruktur sel  $\beta$  Pankreas Tikus yang Diinduksi Senyawa Aloksan*. JITV.
- Szkudelski, T. 2001. *The Mechanism of Aloksan and Streptozotocin Action in  $\beta$  Cells of The Rat Pancreas*. Journal Physiol. Res. 15(1): 6.
- Tjay, T.H. dan K. Rahardja. 2002. *Obat-Obat Penting, Berkhasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi-5. Penerbit PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia. Jakarta.
- Thomas, C. 1979. *Colour Atlas and Textbook Histopatology*. 7th Edition. Richter. W. Year Book Medical Publishes. Inc Chicago.
- Thongsom, M., Chunglok. W., Kuanchuea and Tangpong, J. 1995. *Antioxidant and Hypoglycemic Effects of Tithonia diversifolia Aqueous Leaves Extract in Alloxan-induced Diabetic Mice*. Biomedical Science Program. Walailak University, Nakhon Si Thammarat. Thailand.
- Waspandji, S. 2006. *Komplikasi kronik Diabetes Mekanisme Terjadinya Diagnosis dan Strategi Pengelolaan*. Edisi IV. Jilid III. Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Wijayakusuma, H. 2000. *Tanaman Berkhasiat di Indonesia*. Jilid II. Pustaka Kartini. Jakarta.
- Wresdiyati, T. 2010. *Profil Glukosa Darah dan Ultrastruktur Sel Beta Pankreas Tikus yang Diinduksi Senyawa Aloksan*. *JITV Vol. 15 No. 2 Th. 2010: 118-123*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Yuriska, F. 2009. *Efek Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar*. [Skripsi]. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Ziegenfuss T, Hofheins J, Mendel R, Landis J, Anderson R. 2006. Effects of a water-soluble cinnamon extract on body composition and features of the metabolic syndrome in pre-iabetic men and women. *Journal Of The International Society Of Sports Nutrition*. 345-353.

Lampiran 1;



J App Pharm Sci

Identification of Bioactive Compound of Essential Oils of Cinnamomum burmannii from Several Areas in Indonesia by GC-MS Method for Antidiabetic Potential

**Journal Name :** Journal of Applied Pharmaceutical Science  
**Manuscript ID :** 19-1543115764  
**Manuscript Type :** Original Article  
**Submission Date :** 25-Nov-2018

**Abstract :** Cinnamon is the ever green tree of tropical area, a member of family Lauraceae. has been used in day to day routine as a spice. Literature review on cinnamon revealed that it mainly contains essential oils and important compounds like Cinnamaldehyde, eugenol, cinnamic acid and cinnamate. It has got good anti-inflammatory, anti-oxidant, anti-diabetic, and many other activities. The present study attempts to encompass the up-to-date comprehensive bioactive compound analysis on essential oil of Cinnamomum burmannii with respect to its phytochemistry and its various pharmacological activities from several areas in Indonesia. Steam distillation was used for extraction of the essential oil. The identification of active compound from the essential oil was conducted using GC-MS techniques. The present study was able to clarify the crucial role of cinnamaldehyde as a potent antidiabetic compound of the C. burmannii's oil (CBO), the largest percentage of cinnamaldehyde on essential oil was from Kerinci, Jambi province.

**Keywords :** CBO, cinnamaldehyde, GC-MS techniques, antidiabetic

For your questions please send message to editor@japsonline.com



**ARTICLE for Journal of Applied Pharmaceutical Science**

Identification of Bioactive Compound of Essential Oils of *Cinnamomum burmannii* from Several Areas in Indonesia by GC-MS Method for Antidiabetic Potential.

Hani Plumeriastuti<sup>1</sup>, Budiastuti<sup>2</sup>, Mustofa Helmi Effendi<sup>3\*</sup> and Budiarto<sup>3</sup>

- 1) Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University, Indonesia
- 2) Doctoral Program in Pharmacy Science, Faculty of Pharmacy, Airlangga University, Surabaya, Indonesia
- 3) Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University, Surabaya, Indonesia

**Corresponding author:** Mustofa Helmi Effendi, Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Airlangga University, Surabaya, Indonesia. Post Code:

60115. Telp : +62315992785. Email : [mheffendi@yahoo.com](mailto:mheffendi@yahoo.com)

**ABSTRACT**

Cinnamon is the ever green tree of tropical area, a member of family Lauraceae, has been used in day to day routine as a spice. Literature review on cinnamon revealed that it mainly contains essential oils and important compounds like Cinnamaldehyde, eugenol, cinnamic acid and cinnamate. It has got good anti-inflammatory, anti-oxidant, anti-diabetic, and many other activities. The present study attempts to encompass the up-to-date comprehensive bioactive compound analysis on essential oil of *Cinnamomum burmannii* with respect to its phytochemistry and its various pharmacological activities from several areas in Indonesia. Steam distillation was used for extraction of the essential oil. The identification of active compound from the essential oil was conducted using GC-MS techniques. The present study was able to clarify the crucial role of cinnamaldehyde as a potent antidiabetic compound of the *C. burmannii*'s essential oil, the largest percentage of cinnamaldehyde on essential oil was from Kerinci, Jambi province.

**INTRODUCTION**

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease characterized by hyperglycemia due to insufficiency in the amount and function of insulin so that abnormalities of carbohydrate, fat and protein metabolism occur. DM is a non-communicable disease in Indonesia that needs attention, because the incidence and its incidence are increasing and can be fatal. Factors associated with an increase in the prevalence of DM in Indonesia include changes in people's diet, an increase in the number of children with obesity, urbanization, smoking habits and

lack of exercise. Various acute and chronic complications can affect DM patients due to oxidative stress caused by hyperglycemia conditions.

Cinnamon is a traditional Chinese medicine that has been used for thousands of years. The bark of Cinnamon cassia is often added to food preparations to improve taste and aroma. Recent years, this herb has been reported to possess potent antioxidants, antimicrobials, and antipyretic properties. Much attention has been paid to the effects of cinnamon on insulin action, which may provide benefits for diabetic patients. Interest in cinnamon as a potentially useful treatment for type-2 diabetes began almost 20 years ago. Since that time, numerous in vitro and in vivo studies have elucidated cinnamon effect on insulin signal transduction. Most experiments claim that cinnamon is a natural insulin sensitizer (Anderson, 2008) and an inhibitor of advanced glycation end products. Moreover, cinnamon has the ability to decrease serum glucose, triglycerides, LDL cholesterol, and total cholesterol in people with type-2 diabetes.

The use of sample of *C. burmannii*'s barks essential oils from the ground is expected to help reduce the progression of the disease and the emergence of complications as a result of preventing oxidative stress, but little research has been done on this. Research on the essential oils content of *C. burmannii*'s is expected to help determine the source of *C. burmannii*'s who can help resolve DM cases in Indonesia.

## MATERIALS AND METHODS

### A. Sample Preparation

*C. burmannii*'s barks were collected from Kerinci, Jambi province, Padang, West Sumatra province, Karanganyar, Central of Java province, Indonesia on February - June 2018. The bark was then cut into pieces and ground to produce coarse powder using a grinder. Ground samples had been kept in closed container and stored at room temperature until further used.

### B. Steam Distillation

Essential oil from the ground sample of *C. burmannii*'s barks was extracted using steam distillation technique. Liquid-liquid extraction was done for the collected distillate to separate the essential oil from water by adding dichloromethane to the mixture of water and essential oils in a separating funnel with a ratio of 1:3. The essential oil was collected and dried over anhydrous sodium sulfate to remove any traces of water. The extracted essential oil was stored at 4°C until further used.

### C. Compound identification

Isolated compound was identified by GC-MS analysis. A Shimadzu GCMS-QP2010 SE instrument was employed to investigate the aroma profile of the essential oils. It was equipped with a Restek RTX-5MS low-bleed fused-silica capillary column (length 30 m & inner diameter 0.25 mm) with a film thickness of 0.25 µm. The sample (0.1 µL) was injected to the instrument. The injector and interface temperature was kept at 200°C and 300°C, respectively. The initial oven temperature was programmed at 60°C and then was gradually increased to 300°C. The effluent of the capillary column was introduced directly into the ion source of the mass spectrometer. The ion source temperature was 200°C. The sector mass analyser was set to scan from 30 to 400 amu. The linear velocity of the helium carrier gas was 0.75 mL/min at a split ratio of 153: 1. Components of essential oil were identified by comparing mass spectra of each peak with those of authentic samples in a mass spectra library. The result was expressed as relative content (%) based on the result of area percentage.

## RESULTS AND DISCUSSION

The chemical composition of phytocomponents present in *Cinnamomum burmannii* bark essential oil are presented in Table 1.

Abundance

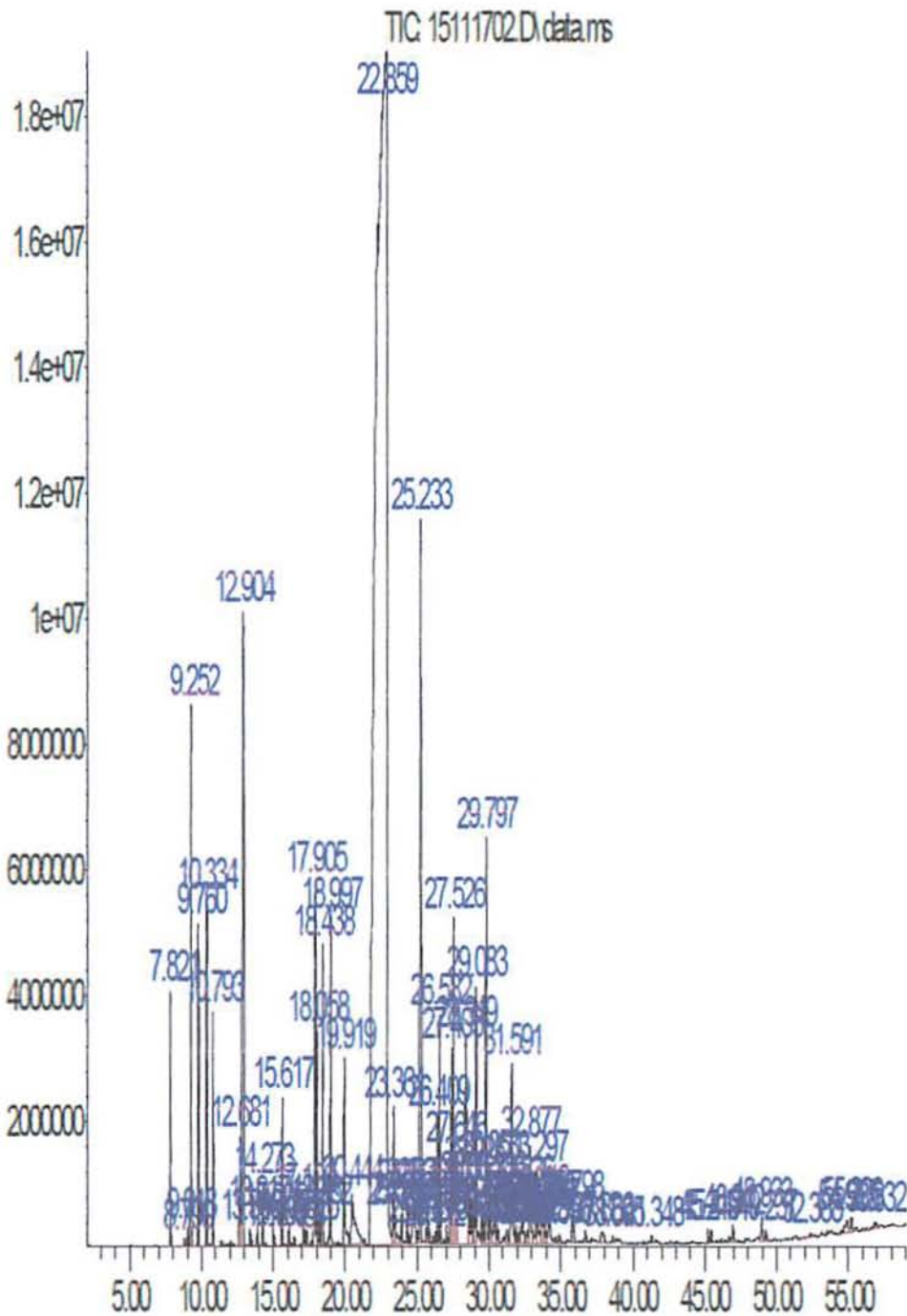
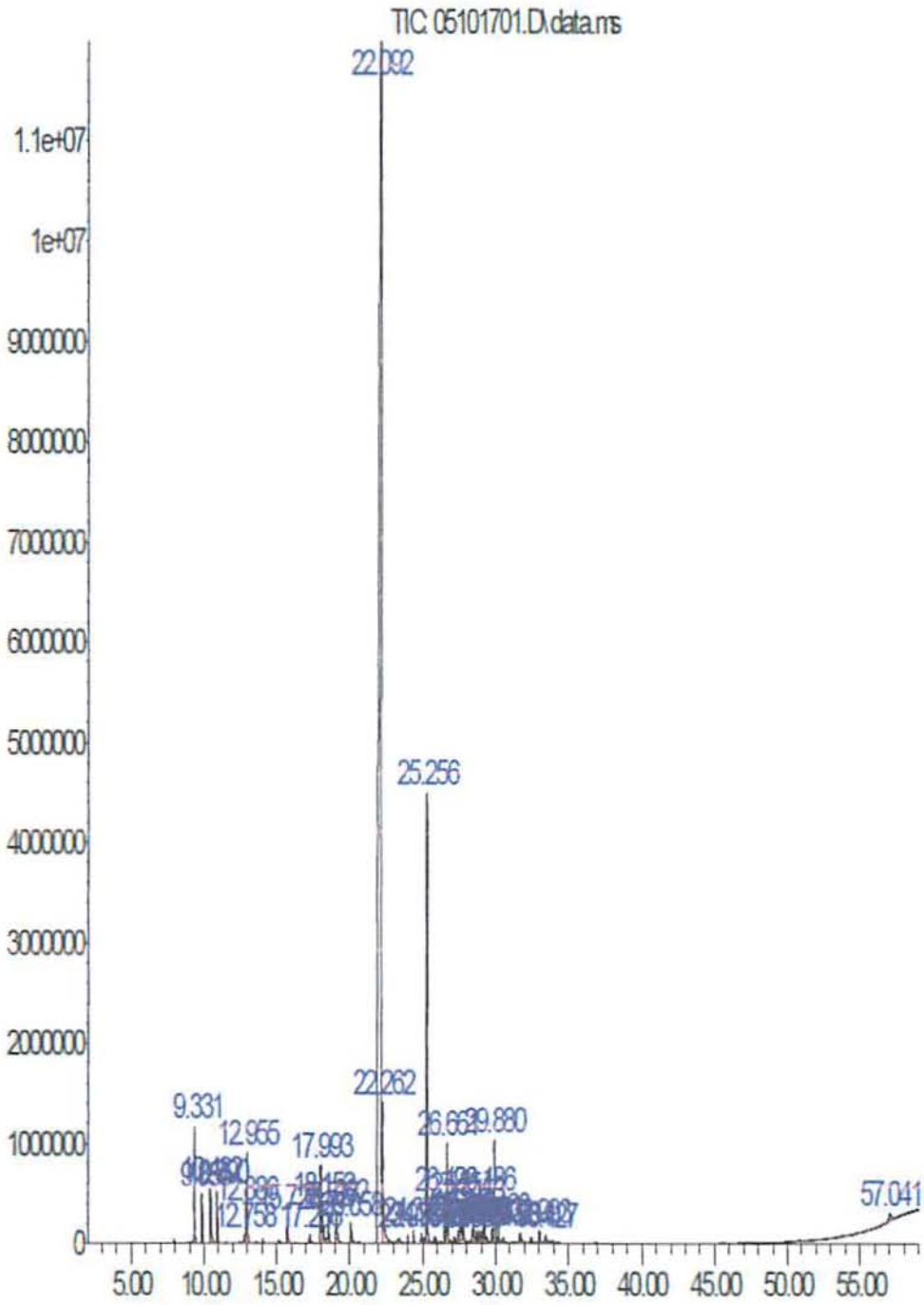


Figure 1 . GC-MS chromatogram of the essential oil of *Cinnamomum burmannii* shows one highest peak of *Cinnamaldehyde* compound is present from Karanganyar, Central of Java.

Abundance



Time→

Figure 2. GC-MS chromatogram of the essential oil of *Cinnamomum burmannii* shows one highest peak of *Cinnamaldehyde* compound is present from Padang, West Sumatra.

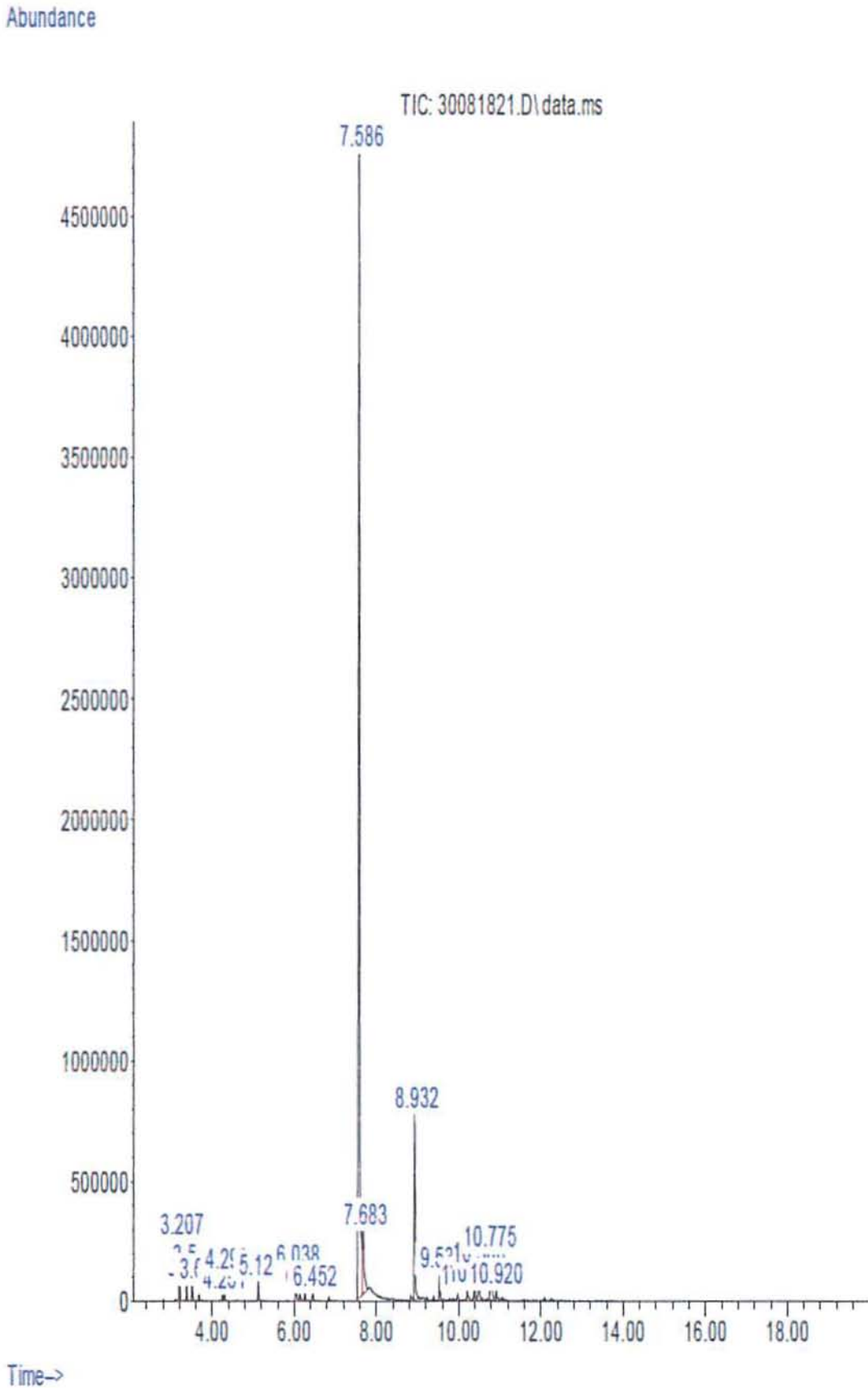


Figure 3. GC-MS chromatogram of the essential oil of *Cinnamomum burmannii* shows one highest peak of *Cinnamaldehyde* compound is present from Kerinci, Jambi.

Table 1. Chemical constituents of the essential oil of *Cinnamomum burmannii* from different areas of Indonesia

no	Compound	Area origin		
		Karang anyar	Padang	Kerinci
1	<i>Styrene</i>	0,62(%)	0,00(%)	0,00(%)
2	<i>IR-<math>\alpha</math>-pinene</i>	1,68(%)	1,68(%)	2,06(%)
3	<i>Camphene</i>	0,88(%)	0,74(%)	0,68(%)
4	<i>Benzaldehyde</i>	1,21(%)	1,20(%)	1,22(%)
5	<i><math>\beta</math>-Pinene</i>	0,64(%)	0,76(%)	0,54(%)
6	<i>Eucalyptol</i>	3,46(%)	1,54(%)	1,03(%)
7	<i>Benzene propanal</i>	2,11(%)	1,85(%)	1,50(%)
8	<i>Borneol</i>	0,70(%)	1,01(%)	0,49(%)
9	<i>3-Cyclohexen-1-ol</i>	1,04(%)	0,67(%)	0,46(%)
10	<i>p-Ment-1-eu-8-ol</i>	1,04(%)	0,86(%)	0,00(%)
11	<i>Cinnamaldehyde</i>	61,16(%)	64,15(%)	72,67(%)
12	<i>Benzene propanol</i>	0,89(%)	0,00(%)	0,00(%)
13	<i>Copaene</i>	3,54(%)	8,68(%)	8,94(%)
14	<i>Caryophyllene</i>	0,75(%)	1,96(%)	1,27(%)
15	<i>2H-1-Benzopyran-2-one</i>	1,16(%)	0,34(%)	0,00(%)
16	<i>2-Propen-1-ol, 3-phenyl-acetat</i>	1,46(%)	1,12(%)	0,00(%)
17	<i><math>\alpha</math>-Caryophyllene</i>	0,55(%)	0,29(%)	0,00(%)
18	<i>Naphthalene</i>	8,94(%)	4,23(%)	7,61(%)
19	<i><math>\alpha</math>-Cubebane</i>	0,00(%)	0,39(%)	0,00(%)
20	<i>Caryophyllene oxida</i>	0,98(%)	0,36(%)	0,00(%)

A total of three mayor different components, with different retention times, eluted from the GC column as shown by the chromatogram (Figure 1 ; figure 2 and figure 3) and further analyzed with MS electron impact voyager detector. Identification of constituents is carried out on the basis of their retention time and spectrum search for mass libraries. That a mass spectrograph of the identified constituents is given in the Table 1. The relative number of each component calculated based on the GC peak area. Comparison of GC-MS spectrographs was obtained by bank data instruments along with computers that match WILEY 275 and the National Institute of Standards and Technology (NIST3.0) the library is provided with a computer that controls GC-MS the system reveals that the cinnamon essential oil contained different organic compounds eluted at different retention times depending on the boiling point of the eluted component. That Instrument data banks are also able to identify the existence of *Cinnamaldehyde*, *Naphthalene* and *Copaene*.

The potential mechanism underlying the antiobesity effect CAEs and GAE may be associated with them hyperinsulinimic effects that were proven in this study. Previous studies have shown that hyperinsulinemia and insulin resistance is a common feature of obesity in mice and deep humans. The second possible mechanism of antiobesity CAE and GAE activity can be caused by low serum levels leptin hormone reported in this study. In this problem, Friedman stated that leptin is a peptide hormone secreted by adipose tissue is proportional to body fat mass. When leptin circulates in the blood which functions in the brain to regulate food intake (appetite) and energy expenditure. When body fat the mass decreases the serum

leptin level decreases so it stimulates appetite and reduce energy expenditure to fat mass recover. On this basis, antiobesity and decreased activity Advertisement. I CAE and GAE when given obesity diabetic rats may be associated with low serum leptin levels reported in research. Inclusive, CAE and anti-obesity effects GAE can be explained by hyperinsulinimic activity and decrease in serum leptin levels. CAE and GAE hepatoprotective effects are reported in this regard. Studies have proven from a significant decrease in serum levels liver enzymes (AST, ALT and ALP) in obese diabetic rats. This the effect is in accordance with the previous report for cinnamon its extract and polyphenols and ginger extract.

The potential mechanism underlying hepatoprotective CAE and GAE effects can be linked to antioxidants the activity of cinnamon and ginger. Oxidative stress is reported to increase serum levels of liver enzymes (AST, ALT and ALP) in diabetic rats because hyperglycemia increases ROS production, which induces oxidative stress.

The effects of hypolipidemic CAE and GAE are reported in this regard. Similar studies with previous reports for cinnamon and for ginger extract. The previous author concluded that both extracts can decrease the levels of TC, TG and LDL which increase in humans and mice. Potential mechanisms that might underlie Hypolipidemic effects of CAE and GAE can be caused by them high content of polyphenols (cinnamon) and from gingerol and shogaols (ginger) which inhibit intestinal absorption cholesterol with subsequent hypocholesterolemic activity.

Oral administration of CAE and GAE for obese diabetic rats cause hyperinsulinemia. This effect is also reported on previous research in mice. Several previous studies revealed that obesity is generally associated with hyperinsulinemia and insulin resistance in mice and in humans. That hyperinsulinimic CAE and GAE effects can be possible explain their anti-obesity effects, which is evident in this study, because obesity is generally associated with hyperinsulinemia.

## CONCLUSION

In general, the results drawn from the present work show that, all of these 3 area plants of *Cinnamomum burmanii* from Karanganyar, Padang and Kerinci have exhibited potential for antidiabetic. Most of the activity of these plants is due to their essential oils. The results of this work suggested that the use of these plants, as spices in a food or drug for humans or as nutraceutical, should be treated cautiously and caution should be exercised in the use of the other herbal spices preparations until exhaustive phytochemical and bioassay-guided fractionation of the components have been achieved. It is also probable to access some compounds with cytotoxicity activity from these herbal sources, however more investigations are needed for logical conclusion.

## Acknowledgement

Supported by Ministry of Research, Technology and Higher Education Indonesia on research of Penelitian Terapan Unggulan Perguruan Tinggi in title ; '**REVITALISASI FUNGSI SEL BETA PANKREAS TIKUS PUTIH PENDERITA DIABETES MILITUS BUATAN DENGAN PENGGUNAAN SIMPLISIA KAYU MANIS (*Cinnamomum burmanii*) DAN KEMBANG BULAN (*Tithonia diversifolia*)**' in fiscal year 2018.

## REFERENCES

1. Power ML, Schulkin J. Sex differences in fat storage, fat metabolism, and the health risks from obesity: Possible evolutionary origins. *Br J Nutr* 2008;99:931-40.
2. Hotamisligil GS, Erbay E. Nutrient sensing and inflammation in metabolic diseases. *Nat Rev Immunol* 2008;8:923-34.

3. Raza H, John A, Howarth FC. Increased metabolic stress in Zucker diabetic fatty rat kidney and pancreas. *Cell Physiol Biochem* 2013;32:1610-20.
4. Luis-Rodríguez D, Martínez-Castelao A, Górriz JL, De-Álvaro F, Navarro-González JF. Pathophysiological role and therapeutic implications of inflammation in diabetic nephropathy. *World J Diabetes* 2012;3:7-18.
5. Wang GG, Lu XH, Li W, Zhao X, Zhang C. Protective Effects of Luteolin on Diabetic Nephropathy in STZ-Induced Diabetic Rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011;2011:323171.
6. Qin B, Nagasaki M, Ren M, Bajotto G, Oshida Y, Sato Y. Cinnamon extract (traditional herb) potentiates *in vivo* insulin-regulated glucose utilization via enhancing insulin signaling in rats. *Diabetes Res Clin Pract* 2003;62:139-48.
7. Mang B, Wolters M, Schmitt B, Kelb K, Lichtinghagen R, Stichtenoth DO, *et al.* Effects of a cinnamon extract on plasma glucose, HbA, and serum lipids in diabetes mellitus type 2. *Eur J Clin Invest* 2006;36:340-4.
8. Qin B, Nagasaki M, Ren M, Bajotto G, Oshida Y, Sato Y. Cinnamon extract prevents the insulin resistance induced by a high-fructose diet. *Horm Metab Res* 2004;36:119-25.
9. Moselhy SS, Ali HK. Hepatoprotective effect of cinnamon extracts against carbon tetrachloride induced oxidative stress and liver injury in rats. *Biol Res* 2009;42:93-8.
10. Azab KSh, Mostafa AH, Ali EM, Abdel-Aziz MA. Cinnamon extract ameliorates ionizing radiation-induced cellular injury in rats. *Ecotoxicol Environ Saf* 2011;74:2324-9.
11. Vafa M, Mohammadi F, Shidfar F, Sormaghi MS, Heidari I, Golestan B, *et al.* Effects of cinnamon consumption on glycemic status, lipid profile and body composition in type 2 diabetic patients. *Int J Prev Med* 2012;3:531-6.
12. Shatwan IA, Ahmed LA, Badkook MM. Effect of barley flour, crude cinnamon, and their combination on glycemia, dyslipidemia, and adipose tissue hormones in type 2 diabetic rats. *J Med Food* 2013;16:656-62.
13. Lee SC, Xu WX, Lin LY, Yang JJ, Liu CT. Chemical composition and hypoglycemic and pancreas-protective effect of leaf essential oil from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum* Kanehira). *J Agric Food Chem* 2013;61:4905-13.
14. Abdel-Azeem AS, Hegazy AM, Ibrahim KS, Farrag AR, El-Sayed EM. Hepatoprotective, antioxidant, and ameliorative effects of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and vitamin E in acetaminophen treated rats. *J Diet Suppl* 2013;10:195-209.
15. Akhiani SP, Vishwakarma SL, Goyal RK. Anti-diabetic activity of *Zingiber officinale* in streptozotocin-induced type I diabetic rats. *J Pharm Pharmacol* 2004;56:101-5.
16. ElRokh el-SM, Yassin NA, El-Shenawy SM, Ibrahim BM. Antihypercholesterolaemic effect of ginger rhizome (*Zingiber officinale*) in rats. *Inflammopharmacology* 2010;18:309-15.
17. Mahmoud RH, Elnour WA. Comparative evaluation of the efficacy of ginger and orlistat on obesity management, pancreatic lipase and liver peroxisomal catalase enzyme in male albino rats. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2013;17:75-83.
18. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993;123:1939-51.
19. Shalaby MA, Hamowieh AR. Safety and efficacy of *Zingiber officinale* roots on fertility of male diabetic rats. *Food Chem Toxicol* 2010;48:2920-4.
20. Bhatt BA, Dube JJ, Dedousis N, Reider JA, O'Doherty RM. Diet-induced obesity and acute hyperlipidemia reduce IkappaBalpha levels in rat skeletal muscle in a fiber-type dependent manner. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006;290:R233-40.
21. Ashok DC, Shrimant NP, Panadeep MG, Akalpita UA. Optimization of alloxan dose is essential to induce stable diabetes mellitus for long period. *Asian J Biochem* 2007;2:402-8.



22. Pichon L, Huneau JF, Fromentin G, Tomé D. A high-protein, high-fat, carbohydrate-free diet reduces energy intake, hepatic lipogenesis, and adiposity in rats. *J Nutr* 2006;136:1256-60.
23. Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clin Chem* 1978;24:58-73.
24. Roy SE. Colorimetric determination of serum alkaline phosphatase. *Clin Chem* 1970;16:431-2.
25. Richmond N. Colorimetric determination of total cholesterol and high density lipoprotein cholesterol (HDL). *Clin Chem* 1973;19:1350-6.
26. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972;18:499-502.
27. Siest G, Henny F, Schiele F. Enzymatic determination of glucose. *Interpret Exam Lab* 1981;2:206-13.
28. Yallow R, Bauman WA. Plasma insulin in health and disease. In: Ellenberg M, Rifkin H, editors. *Diabetes Mellitus: Theory and Practice*. Vol. 15. New York: Excerpta Medica; 1983. p. 119-20.
29. Xiong Y, Shen L, Liu KJ, Tso P, Xiong Y, Wang G, *et al.* Antiobesity and antihyperglycemic effects of ginsenoside Rb1 in rats. *Diabetes* 2010;59:2505-12.
30. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967;70:158-69.
31. Spitz DR, Oberley LW. An assay for superoxide dismutase activity in mammalian tissue homogenates. *Anal Biochem* 1989;179:8-18
32. Sinha KA. Colorimetric assay of catalase enzyme. *Anal Biochem* 1972;47:328-30.
33. Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical Methods*. 7th ed. Ames, USA: Iowa State University Press; 1986. p. 90-9.
34. Kocic R, Pavlovic D, Kocic G, Pesic M. Susceptibility to oxidative stress, insulin resistance, and insulin secretory response in the development of diabetes from obesity. *Vojnosanit Pregl* 2007;64:391-7.
35. Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity: Implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obes Res Clin Pract* 2013;7:e330-41.
36. Nammi S, Sreemantula S, Roufogalis BD. Protective effects of ethanolic extract of *Zingiber officinale* rhizome on the development of metabolic syndrome in high-fat diet-fed rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2009;104:366-73.
37. Amin KA, Nagy MA. Effect of Carnitine and herbal mixture extract on obesity induced by high fat diet in rats. *Diabetol Metab Syndr* 2009;1:17.
38. Kay JP, Alemzadeh R, Langley G, D'Angelo L, Smith P, Holshouser S. Beneficial effects of metformin in normoglycemic morbidly obese adolescents. *Metabolism* 2001;50:1457-61.
39. Soegondo, S., Soewondo, P., dan Subekti, I. 2009. *Penataklaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu Edisi Kedua*. Balai Penerbit FKUI, Jakarta.