



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN
KEPEL (*Stelechocarpus burahol*) TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHID PLASMA MENCIT DIABETES YANG
DIINDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

Oleh

Lisa Nurul Priskasari

NIM 142210101048

**BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN
KEPEL (*Stelechocarpus burahol*) TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHID PLASMA MENCIT DIABETES YANG
DIINDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

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

Oleh

Lisa Nurul Priskasari

NIM 142210101048

BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Allah SWT yang senantiasa memberikan rahmat dan hidayah-Nya;
2. Bapak Subarno dan Ibu Rusmini sebagai tanda bakti, hormat dan rasa terimakasih atas segala doa dan dukungan serta jerih payah yang telah dilakukan demi kebahagiaan dan kesuksesan penulis
3. Guru, Dosen dan pendidik Fakultas Farmasi Universitas Jember, SMAN 1 Kesamben, SMPN 2 Wates, SDN 04 Wates dan RA Perwanida II Sumberoto yang telah memberikan ilmu dan pengetahuan
4. Teman-teman angkatan 2014 PHARMAGEN yang telah memberikan semangat, pengalaman dan bantuan selama masa perkuliahan
5. Almamater tercinta, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTO

MAN JADDA WAJADA

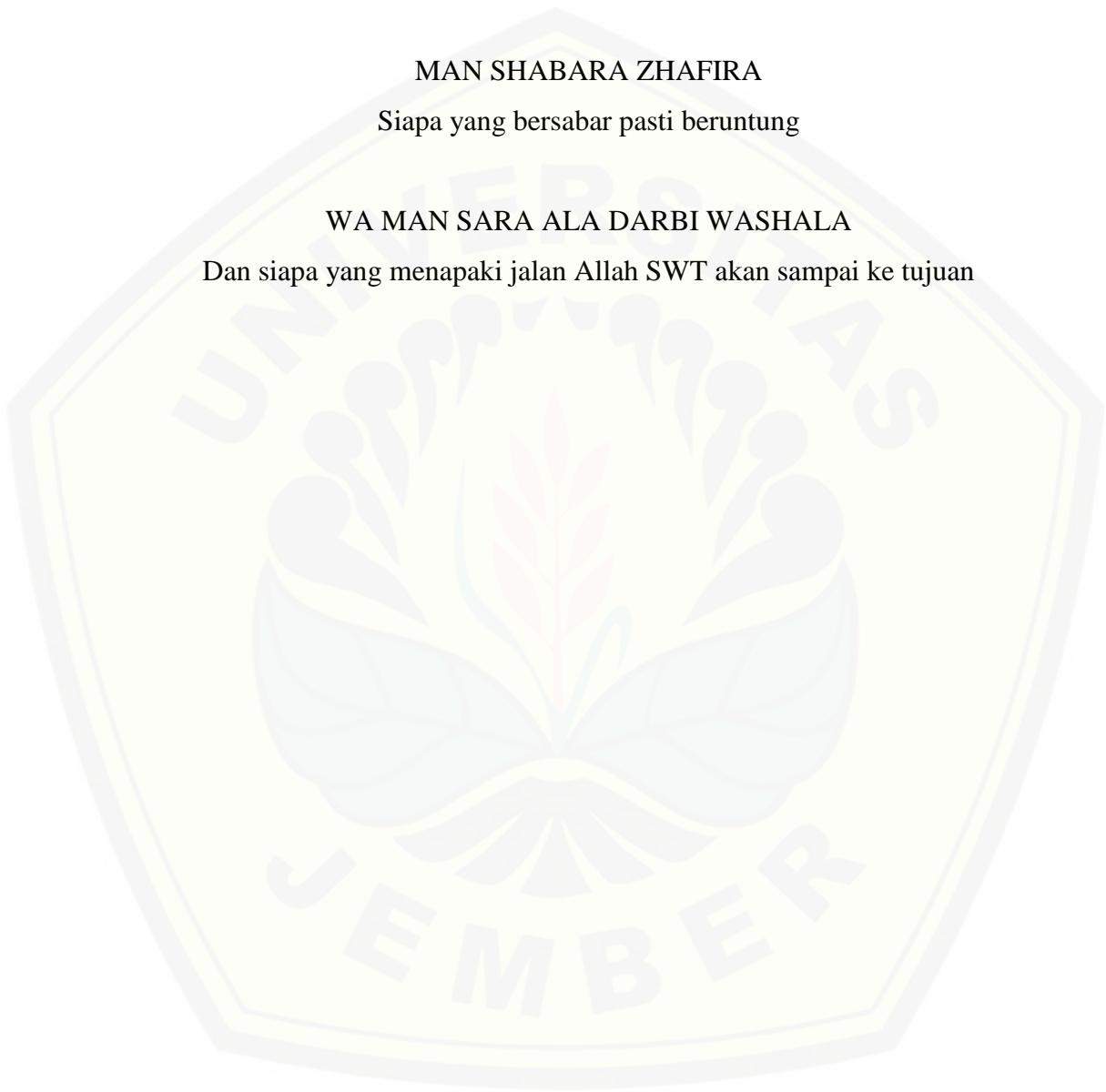
Siapa bersungguh-sungguh pasti berhasil

MAN SHABARA ZHAFIRA

Siapa yang bersabar pasti beruntung

WA MAN SARA ALA DARBI WASHALA

Dan siapa yang menapaki jalan Allah SWT akan sampai ke tujuan



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Lisa Nurul Priskasari

NIM : 142210101048

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 18 Juli 2018

Yang menyatakan,

Lisa Nurul Priskasari

NIM 142210101048

SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN KEPEL
(*Stelechocarpus burahol*) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID
PLASMA MENCIT DIABETES YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh

Lisa Nurul Priskasari

NIM 142210101048

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Fransiska Maria C, S.Farm., M.Farm., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan” telah diuji dan disahkan pada :

Hari, tanggal : Selasa, 24 Juli 2018

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Diana Holidah, S.F., M.Farm., Apt.
NIP 197812212005012002

Fransiska Maria C, S.Farm., M.Farm., Apt.
NIP 198404062009122008

Tim Penguji :

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP 198403082008012003

Ika Puspita Dewi, S.Farm., M.Biomed., Apt.
NIP 198406132008122001

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt.
NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan: Lisa Nurul Priskasari, 142210101048; 90 halaman: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia). Kondisi hiperglikemia disebabkan oleh kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Tingginya kadar glukosa darah menyebabkan terjadinya peningkatan jalur poliol, peningkatan autooksidasi glukosa dan peningkatan glikasi protein. Akibat yang ditimbulkan dari peningkatan jalur tersebut menyebabkan menurunnya aktivitas antioksidan endogen dan meningkatnya pembentukan *Advanced Glycation Endproduct* (AGEs). Ikatan AGEs dengan reseptornya pada membran sel memicu terbentuknya radikal bebas, sehingga ketika jumlah radikal bebas melebihi jumlah antioksidan didalam tubuh dapat memicu terjadinya peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS yang terbentuk menyebabkan kerusakan pada sel, salah satunya sel β pankreas dalam mensekresikan insulin yang disertai dengan peningkatan hasil peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa berbahaya yang merusak membran sel dan membentuk produk akhir berupa malondialdehid (MDA). Peningkatan kadar MDA di dalam tubuh dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan. Sumber antioksidan dari luar tubuh salah satunya berasal dari ekstrak daun kepel.

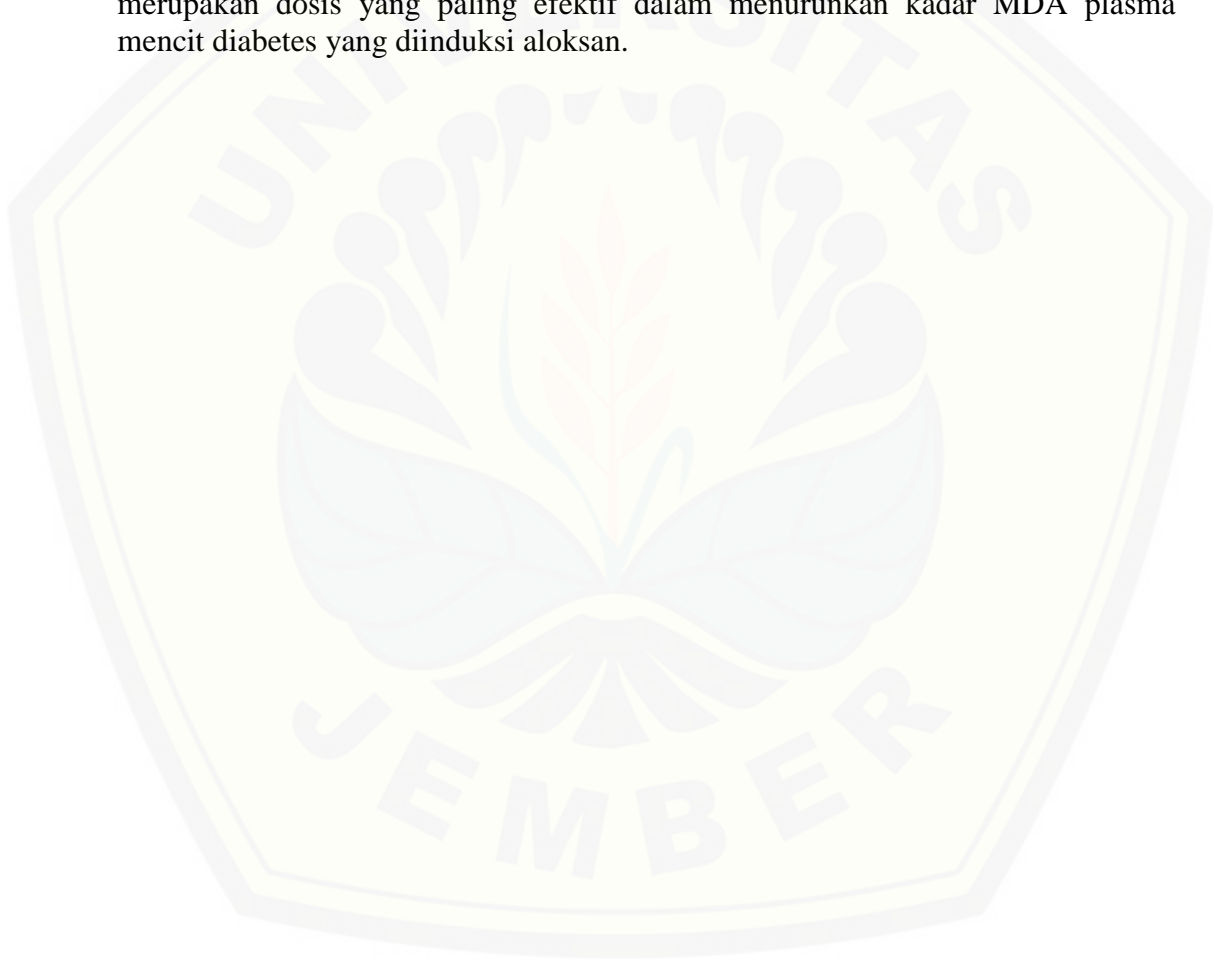
Ekstrak daun kepel memiliki kandungan senyawa flavonoid yang diduga memiliki aktivitas antioksidan. Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kepel terhadap kadar malondialdehid plasma mencit diabetes yang diinduksi aloksan.

Jenis penelitian ini adalah *True Experimental Laboratories* dengan rancangan penelitian *Pre and Post Test* untuk parameter kadar glukosa darah dan *Post Test* untuk parameter kadar MDA plasma. Sampel yang digunakan adalah mencit jantan sebanyak 24 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok diantaranya terdiri dari 3 kelompok kontrol yaitu kelompok kontrol normal, kontrol positif dan kontrol negatif serta 3 kelompok perlakuan dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB. Perlakuan dilakukan 14 hari, hari ke-0 dihitung ketika mencit dinyatakan diabetes dengan kadar glukosa ≥ 175 mg/dL setelah induksi aloksan. Pada hari ke-15 mencit di ambil darah dari jantung untuk mengukur kadar glukosa darah dan MDA plasma. Pengukuran penurunan kadar glukosa darah dilihat dari persentase penurunan pada hari ke-0 sampai hari ke-15, sedangkan pengukuran MDA plasma menggunakan metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS) dengan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kepel dapat menurunkan glukosa darah dan kadar MDA plasma pada mencit diabetes yang diinduksi aloksan. Pemberian dari masing-masing dosis ekstrak daun kepel menunjukkan perbedaan yang bermakna dalam menurunkan kadar MDA plasma.

Berdasarkan data yang diperoleh, kadar MDA plasma setelah pemberian ekstrak daun kepel dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB adalah $8,3695 \pm 0,4617 \mu\text{M}$, $7,0344 \pm 0,4937 \mu\text{M}$ dan $4,0159 \pm 0,3160 \mu\text{M}$, yang artinya semakin tinggi dosis ekstrak daun kepel yang diberikan, maka semakin tinggi pula kemampuannya dalam menurunkan kadar MDA plasma.

Kemampuan dalam penurunan kadar MDA plasma menunjukkan bahwa ekstrak daun kepel dosis 200 mg/kgBB lebih besar dibandingkan kontrol positif glibenklamid. Sementara pada ekstrak daun kepel dosis 100 mg/kgBB menunjukkan hasil statistik yang tidak berbeda signifikan antar perlakuan glibenklamid, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kepel dosis 100 mg/kgBB memiliki kemampuan yang setara dengan pemberian glibenklamid dosis 1,3 mg/kgBB dan pemberian ekstrak daun kepel dosis 200 mg/kgBB merupakan dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar MDA plasma mencit diabetes yang diinduksi aloksan.



PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) terhadap Kadar Malondialdehid Plasma Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan”. Skripsi ini disusun guna memenuhi persyaratan untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Allah SWT atas semua rahmat dan karunia yang telah diberikan;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
3. Ibu Diana Holiday, S.F., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Fransiska Maria C., S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
4. Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt. dan Ibu Ika Puspita Dewi, S.Farm., M.Biomed., Apt. serta Alm. Bapak Drs. Wiratmo, M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Ibu Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu untuk membimbing selama masa perkuliahan;
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah mengajarkan ilmu pengetahuan yang berguna dalam menyelesaikan skripsi;
7. Mbak Dinik dan Mbak Indri, selaku Teknisi Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah bersedia dengan sabar memberikan banyak bantuan selama menempuh penelitian ini;

8. Bapak Subarno, Ibu Rusmini, Mas Nanang, Mas Wawan, Mas Lendi, Mbak Afi, Mbak Lusi, Mbak Yayang, Dek Irene, Fafa, Derry dan Sabyan tercinta yang telah menjadi orangtua dan saudara terbaik yang selalu memberikan banyak motivasi dan nasehat, yang tiada lelah memberikan kasih sayang, perhatian serta doa yang tiada henti di setiap langkah penulis;
9. Sahabat Lab KEPEL SQUAD (Nadia Rosi Nur Haliza dan Laurensia Jeany) serta Sarah Faradillah yang telah memberikan dukungan, kebersamaan dalam susah dan senang serta kerjasama terbaik dalam penelitian ini;
10. Sahabatku BIDADARI SURGA (Hildawati Ilham, Tya Uswatun Hasanah, Frisda Savira Kusuma, Mas'uliyatul Hukmiyah dan Nadia Rosi) untuk semangat, nasihat dalam hal kebaikan, kebersamaan, canda dan tawa selama perkuliahan ini;
11. Geng CIMIW (Novi Artha LS, Ratih Dhiyah TR, Alfita Rahmawati, Laili Wafa NK, Yulintan Maulidar, Sheila Aprillia I, Ayu Maulida F, Yudistia A.N dan Vivi Dwi R.) dan keluarga YUDYA RESIDENCE. Terimakasih telah mengisi hari-hari, perhatian dan kebersamaan selama di perantauan ini;
12. Keluarga KKN 59 (Zidny, Eky, Intan, Mbak Mega, Fikri, Yoyok, Imin, Riyan, Ikhar). Terimakasih untuk canda tawa 45 hari, dukungan dan semangat bagi penulis untuk segera menyelesaikan skripsi;
13. Keluarga LPMF Lingkar. Terimakasih untuk pengalaman, bimbingan, dukungan, kritik dan saran untuk terus menjadi lebih baik lagi;
14. Tim Website IT Farmasi. Terimakasih untuk pengalaman, dukungan dan motivasi yang luar biasa untuk penulis di masa semester tua ini;
15. Keluarga besar PHARMAGEN Angkatan 2014 atas persaudaraan dan kebersamaan selama ini;
16. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu dan seluruh do'a yang terucap tanpa sepengetahuan penulis.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan

manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan maupun penelitian di masa mendatang.

Jember, 18 Juli 2018

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
PERSEMBAHAN	iii
MOTO	iv
PERNYATAAN	v
SKRIPSI	vi
PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xiii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tinjauan tentang Kepel	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kepel	5
2.1.2 Deskripsi Tanaman Kepel	5
2.1.3 Kandungan dan Peran Daun Kepel	6
2.2 Tinjauan tentang Ekstraksi	7
2.3 Tinjauan tentang Skrining Fitokimia	9
2.4 Tinjauan tentang Diabetes Melitus	9
2.4.1 Definisi Diabetes Melitus.....	9
2.4.2 Klasifikasi Diabetes Melitus	10
2.4.3 Manifestasi Klinik Diabetes Melitus.....	11
2.4.4 Diagnosis Diabetes Melitus	12
2.4.5 Faktor Resiko Diabetes Melitus	12
2.4.6 Penatalaksanaan Diabetes Melitus	12
2.5 Tinjauan tentang Glibenklamid	15
2.6 Tinjauan tentang Aloksan	16
2.7 Tinjauan tentang Radikal Bebas	17
2.7.1 Definisi Radikal Bebas.....	17
2.7.2 Hubungan Radikal Bebas dan Diabetes Melitus.....	17
2.8 Tinjauan tentang Antioksidan	18
2.9 Tinjauan tentang Malondialdehid	20
2.10 Tinjauan tentang Analisis MDA	21

BAB III. METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis Penelitian	23
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	23
3.3 Jumlah Sampel	23
3.4 Rancangan Penelitian	24
3.5 Alat dan Bahan.....	25
3.5.1 Alat Uji.....	25
3.5.2 Bahan Uji	25
3.6 Variabel Penelitian.....	25
3.6.1 Variabel Bebas	25
3.6.2 Variabel Terikat	25
3.6.3 Variabel Terkendali.....	26
3.7 Definisi Operasional.....	26
3.8 Prosedur Penelitian.....	26
3.8.1 Tahapan Persiapan	26
3.8.2 Skrining Fitokimia	27
3.8.3 Adaptasi Hewan Uji.....	29
3.8.4 Induksi Aloksan	29
3.8.5 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Uji.....	29
3.8.6 Pengambilan Sampel Darah	30
3.8.7 Pengukuran Kadar MDA.....	30
3.9 Analisis Data	32
3.10 Skema Rangkaian Kerja	33
3.10.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kepel	33
3.10.2 Perlakuan pada Hewan coba	34
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Hasil.....	35
4.1.1 Ekstraksi Daun Kepel.....	35
4.1.2 Skrinning Fitokimia	35
4.1.3 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah	36
4.1.4 Hasil Pengukuran Kadar MDA Plasma	37
4.2 Pembahasan	39
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Kesimpulan	44
5.2 Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman <i>Stelechocarpus burahol</i>	6
Gambar 2.2 Struktur glibenklamid.....	15
Gambar 2.3 Struktur aloksan.....	16
Gambar 2.4 Hubungan radikal bebas dan DM.....	18
Gambar 2.5 Skema pembentukan MDA dari PUFA.....	21
Gambar 2.6 Reaksi membentuk kompleks MDA-TBA.....	22
Gambar 3. 1 Skema rancangan penelitian.....	24
Gambar 3. 2 Skema pembuatan ekstrak daun kepel	33
Gambar 3. 3 Skema perlakuan ekstrak daun kepel	34
Gambar 4. 1 Rata-rata kadar MDA plasma <i>Post-Test</i>	37

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4. 1 Hasil skrinning fitokimia	35
Tabel 4. 2 Kadar glukosa darah mencit.....	36



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 4. 1 Perhitungan Larutan Aloksan Dosis 210 mg/kgBB	54
Lampiran 4. 2 Perhitungan Dosis Glibenklamid 1,3 mg/kgBB	55
Lampiran 4. 3 Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Kepel	56
Lampiran 4. 4 Perhitungan Konsentrasi Baku MDA	58
Lampiran 4. 5 Perhitungan Pembuatan Reagen	60
Lampiran 4. 6 Perhitungan Rendemen Ekstrak.....	61
Lampiran 4. 7 Kurva baku MDA	62
Lampiran 4. 8 Kadar Glukosa Darah	63
Lampiran 4. 9 Kadar MDA Plasma.....	64
Lampiran 4. 10 Hasil Analisis Data Kadar MDA Plasma	65
Lampiran 4. 11 Determinasi Daun Kepel	68
Lampiran 4. 12 Dokumentasi	69

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) (Dipiro *et al.*, 2015). Kondisi hiperglikemia disebabkan oleh kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Kelainan sekresi insulin akibat kerusakan sel β pankreas terjadi pada penderita diabetes tipe 1, sementara kelainan sekresi insulin dan resistensi insulin terjadi pada penderita diabetes tipe 2 (Bastaki, 2005). Diabetes melitus tipe 2 ini memiliki prevalensi lebih besar yaitu 90-95% dari total keseluruhan kasus diabetes (Depkes RI, 2005).

Prevalensi diabetes melitus semakin meningkat di hampir semua negara. Berdasarkan data *World Health Organization* (WHO) tahun 2016, penderita DM usia diatas 18 tahun mengalami peningkatan jumlah penderita dari 4,7% dengan total 108 juta penderita pada tahun 1980 menjadi 8,5% dengan total 422 juta penderita pada tahun 2014. Data Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 menunjukkan bahwa prevalensi DM mengalami peningkatan dari 1,1% pada tahun 2007 menjadi 2,1% pada tahun 2013. Menurut data *International Diabetes Federation* (IDF) tahun 2017, Indonesia sebagai negara tertinggi keenam di dunia dengan jumlah penderita DM yaitu sekitar 10,3 juta (8,9-11,1%) dan diprediksi meningkat menjadi 16,6 juta (14,6-18,2%) pada tahun 2045.

Tingginya kadar glukosa darah menyebabkan terjadinya peningkatan jalur poliol, peningkatan autooksidasi glukosa dan peningkatan glikasi protein (Khangholi, 2016). Akibat yang ditimbulkan dari peningkatan jalur tersebut menyebabkan menurunnya aktivitas antioksidan endogen dan meningkatnya pembentukan *Advanced Glycation Endproduct* (AGEs) (Ahmed, 2005). Ikatan AGEs dengan reseptornya pada membran sel memicu terbentuknya radikal bebas, sehingga ketika jumlah radikal bebas melebihi jumlah antioksidan didalam tubuh dapat memicu terjadinya stres oksidatif (Nowotny, 2015).

Stres oksidatif merupakan ketidakseimbangan antara pertahanan antioksidan dan peningkatan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS yang terbentuk menyebabkan kerusakan pada sel, salah satunya sel β pankreas dalam mensekresikan insulin yang disertai dengan peningkatan hasil peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa berbahaya yang merusak membran sel dan membentuk produk akhir berupa malondialdehid (MDA) (Maria & Pricilla, 2003). Semakin tinggi kadar MDA di dalam tubuh dapat menunjukkan semakin tinggi reaksi antara radikal bebas dan lemak tak jenuh dalam tubuh, sehingga MDA dapat dijadikan sebagai biomarker biologis untuk mengukur stres oksidatif (Gomes *et al.*, 2005).

Dalam upaya penanganan dan pencegahan stres oksidatif dibutuhkan senyawa antioksidan yang mempunyai kandungan flavonoid untuk melindungi membran lipid terhadap reaksi oksidasi (Lee *et al.*, 2004). Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang dapat menghambat pembentukan AGEs dan mampu menghambat reaksi oksidasi dengan menyumbangkan satu elektron kepada elektron tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang (Maria & Pricilla, 2003; Khangholi, 2016). Flavonoid dapat ditemukan pada beberapa jenis tanaman, salah satunya adalah tanaman kepel (*Stelechocarpus burahol*) (Diniatik, 2015).

Stelechocarpus burahol atau dikenal dengan nama kepel secara tradisional digunakan sebagai obat untuk menurunkan kadar asam urat dan kolesterol (Hidayat, 2015). Ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 50-400 mg/kgBB memiliki efek potensial antihiperurisemia dan efeknya sama dengan allopurinol (Purwatiningsih *et al.*, 2010). Fraksi larut petroleum eter dari daun kepel mampu menurunkan kadar asam urat dan hasil identifikasi menunjukkan adanya flavonoid (Sutomo, 2008). Penelitian oleh Diniatik (2015) menunjukkan bahwa kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% daun kepel dengan metode spektrofotometri adalah 9,3; 9,9 dan 10,1% (b/b). Kadar flavonoid paling tinggi ditemukan pada daun kepel dewasa sedangkan daun sedang dan daun muda kadar flavonoid daun kepel menurun (Ramadhan *et al.*, 2015). Penelitian secara *in vitro* dengan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), menunjukkan bahwa hasil identifikasi

isolat flavonoid yaitu 3,7,3',4'-tetrahidroksi-5-metil flavon pada daun kepel memiliki aktivitas antioksidan penangkap radikal dan memiliki nilai IC50 terendah yaitu 6,43 $\mu\text{L}/\text{mL}$ sebagai aktivitas antioksidan tertinggi (Sunarni *et al.*, 2007). Isolat flavonoid dari daun *Stelechocarpus cauliflorus* seperti astilbin dan engeletin secara *in vitro* memiliki potensi dalam perlindungan diabetes akibat akumulasi sorbitol dan AGEs (Wirasathien *et al.*, 2007).

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kepel dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB terhadap kadar malondialdehid plasma mencit diabetes yang diinduksi aloksan. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh pemberian ekstrak daun kepel dalam pengembangan obat pada penderita diabetes melitus melalui penurunan kadar MDA plasma.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan berikut:

- Apakah pemberian ekstrak daun kepel dapat berpengaruh terhadap kadar MDA plasma pada mencit diabetes karena induksi aloksan ?
- Bagaimana pengaruh perbedaan pemberian ekstrak daun kepel dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB terhadap kadar MDA plasma mencit diabetes karena induksi aloksan ?

1.3 Tujuan Penelitian

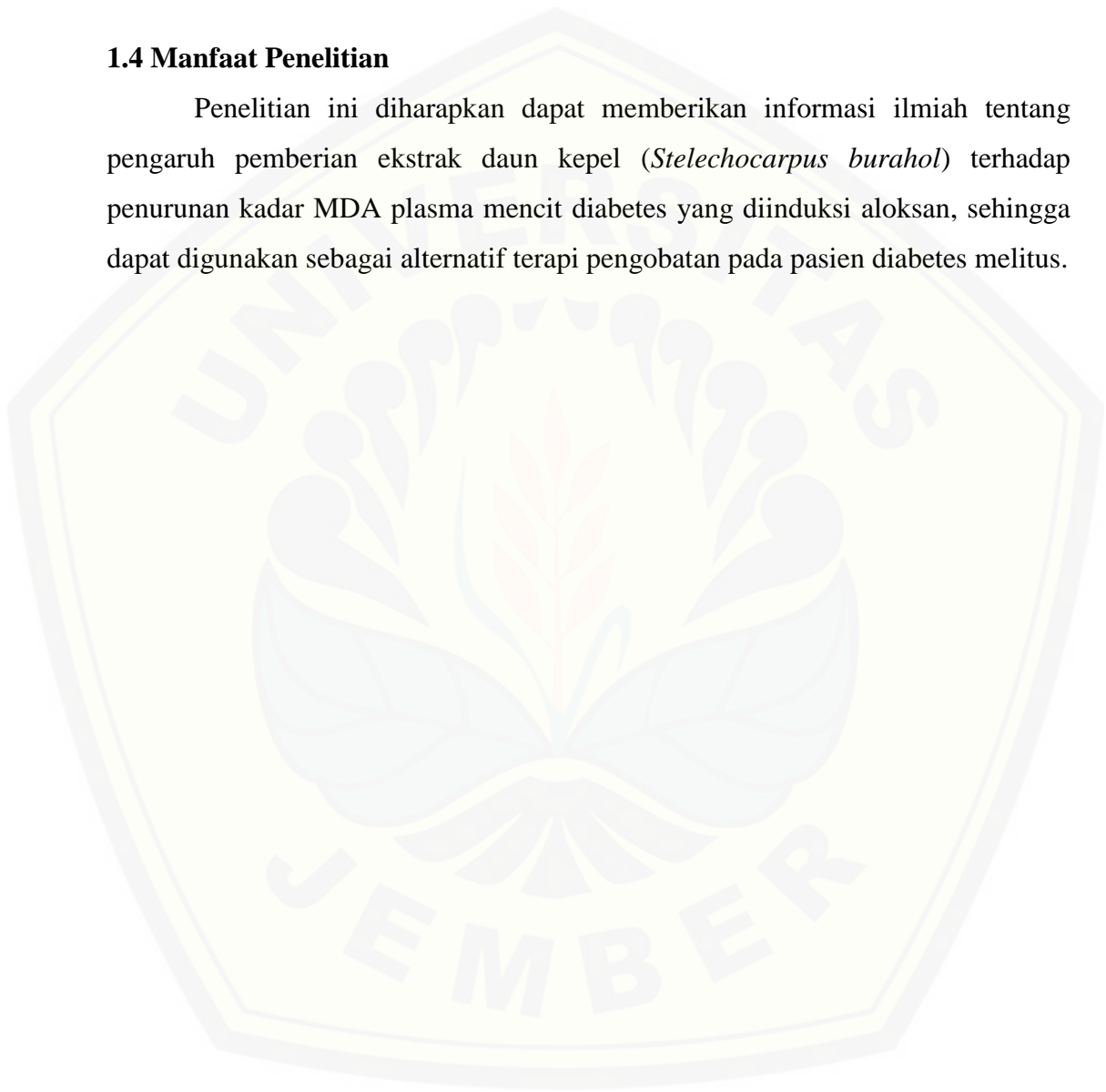
Berdasarkan rumusan masalah diatas, maka tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun kepel terhadap kadar MDA plasma mencit diabetes karena induksi aloksan.

- b. Mengetahui perbedaan pengaruh pemberian ekstrak daun kepel dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB terhadap kadar MDA plasma mencit diabetes karena induksi aloksan.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh pemberian ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) terhadap penurunan kadar MDA plasma mencit diabetes yang diinduksi aloksan, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif terapi pengobatan pada pasien diabetes melitus.



BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang Kepel

2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kepel

Menurut Backer & Bakhuizen (1963), klasifikasi tanaman kepel adalah sebagai berikut:

Kindom	: Plantae
Division	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Subclass	: Magnoliidae
Ordo	: Magnoliales
Family	: Annonaceae
Genus	: <i>Stelechocarpus</i>
Species	: <i>Stelechocarpus burahol</i> (B1) Hook. f. & Th

2.1.2 Deskripsi Tanaman Kepel

Tanaman kepel tersebar di Asia Tenggara, dari kawasan Malaysia sampai kepulauan Salomon yang tumbuh pada daerah tropis dan subtropis. Habitat tanaman kepel berupa hutan-hutan sekunder dataran rendah pada tanah liat yang basah, tumbuh hingga ketinggian 600 mdpl. Kepel akan tumbuh baik pada tanah yang subur, drainase yang baik dan pH 5.8-6.7 (Solikin, 2010).

Tanaman kepel merupakan jenis tanaman buah-buahan Indonesia yang memiliki beberapa nama lain seperti kecindul, cindul (Jawa), simpol, burahol (Indonesia) dan turalak (Sunda) (Hidayat, 2015). Tanaman kepel termasuk salah satu jenis tanaman buah yang telah ditetapkan menjadi salah satu tanaman penciri dari Daerah Istimewa Yogyakarta (Lamoureux, 1980; Haryjanto, 2012).

Tanaman kepel memiliki ciri umum pohon tingginya dapat mencapai 20 m dan berdiameter 40 cm. Batang tegak, bulat, berkayu, berwarna coklat sampai kehitaman, percabangannya menopodial. Daun tunggalnya berbentuk elips hingga

bulat telur dengan panjang 12-27 cm dan lebar 4-6 m. Ujung dan pangkal daun meruncing halus, pertulangan bawah menonjol, mengkilap serta berwarna hijau. Tanaman kepel memiliki bunga majemuk berbentuk tandan yang tersebar di batang dan cabang, memiliki benang sari dan putik yang halus berwarna kuning. Tangkai bunga silindris dengan panjang 4 cm. Mahkota lonjong berwarna kuning. Buah buni, bulat, kulit kasar, berwarna coklat dan berdiameter 5-6 cm, bergerombol 1-13 buah. Bijinya halus berbentuk ginjal dengan panjang hingga 3 cm dan berwarna hitam mengkilap. Akar tunggang berwarna putih kecoklatan (Hidayat, 2015).



Gambar 2.1 Tanaman *Stelechocarpus burahol* (Lim, 2013).

2.1.3 Kandungan dan Peran Daun Kepel

Stelechocarpus burahol atau dikenal dengan nama kepel secara tradisional digunakan sebagai obat untuk menurunkan kolesterol dan kadar asam urat (Hidayat, 2015). Menurut Tersono (2008), tanaman kepel memiliki kandungan kimia polifenol terutama pada daunnya. Berdasarkan BPOM RI (2011), menunjukkan bahwa daun kepel mengandung senyawa saponin, flavonoid, alkaloid, polifenol, asetogenin, stiril lakton dan isoflavan.

Penelitian oleh Hidayat (2011) melaporkan bahwa daun kepel memiliki aktivitas antibakteri dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 0,06 mg/mL dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) sebesar 0,50 mg/mL. Ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 50-400 mg/kgBB memiliki efek potensial

antihiperurisemia dan efeknya sama dengan allopurinol (Purwatiningsih *et al.*, 2010). Sutomo (2008) juga melaporkan fraksi tidak larut petroleum eter dari daun kepel dapat menurunkan kadar asam urat dan hasil identifikasi menunjukkan adanya flavonoid. Penelitian Ramadhan *et al.* pada tahun 2015, menunjukkan bahwa daun kepel dewasa memiliki kandungan flavonoid dan total klorofil yang paling tinggi dari pada daun sedang dan daun muda. Oleh sebab itu, daun kepel dewasa dapat dipilih sebagai bahan baku penelitian, karena mengandung kadar flavonoid dan total klorofil tertinggi. Penelitian oleh Diniatik (2015) menunjukkan bahwa kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% daun kepel dengan metode spektrofotometri adalah 9,3; 9,9 dan 10,1% (b/b).

Menurut Cos *et al.*, (1998) senyawa flavonoid pada daun kepel selain dapat menghambat enzim xantin oksidase juga bersifat sebagai antioksidan penangkap radikal superoksida. Isolat flavonoid dari daun *Stelechocarpus cauliflorus* seperti astilbin dan engeletin secara *in vitro* memiliki potensi dalam perlindungan DM akibat akumulasi sorbitol dan AGEs (Wirasathien *et al.*, 2007). Sunarni *et al.*, (2007) dalam penelitiannya melaporkan bahwa isolat flavonoid yaitu 3,7,3',4'-tetrahidroksi-5-metil flavon dari daun kepel memiliki aktivitas antioksidan penangkap radikal DPPH yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ 6,43 µg/mL. Semakin kecil harga IC₅₀ kemampuan aktivitas antioksidan semakin tinggi atau penangkapan radikal bebas yang semakin kuat (Cheng & Prusoff, 1973). Potensi toksisitas akut berdasarkan penelitian oleh Purwatiningsih & Nurlaila (2016) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kepel memiliki nilai pseudo-LD₅₀ lebih dari 5000 mg/kgBB dan tidak menimbulkan efek toksik pada pengamatan mikroskopis maupun makroskopis organ tikus jantan dan betina.

2.2 Tinjauan tentang Ekstraksi

Ekstrak merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia hewani atau nabati menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang ditetapkan. Proses

ekstraksi dapat dilakukan berdasarkan teori tentang penyarian. Penyarian merupakan peristiwa pemindahan massa yaitu zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut (Depkes RI, 1995). Menurut Harborne (1987), prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa non-polar dalam pelarut non-polar dan senyawa polar dalam pelarut polar.

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan sifat dari bahan mentah obat, daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna (Ansel, 1989). Terdapat beberapa metode ekstraksi, antara lain ekstraksi menggunakan pelarut dan destilasi uap. Ekstraksi menggunakan pelarut dapat dibagi menjadi cara dingin (maserasi dan perkolasi) dan cara panas (refluks, soklet, digesti). Maserasi adalah cara ekstraksi yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut ekstraksi. Pelarut ekstraksi akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat didesak ke luar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Keuntungan cara ekstraksi dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diperoleh (Hargono *et al.*, 1986).

Cairan pelarut dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang optimal untuk kandungan senyawa yang berkhasiat atau yang aktif agar senyawa tersebut dapat terpisahkan dari bahan serta ekstrak hanya mengandung sebagian besar kandungan senyawa yang diinginkan. Dalam hal ekstrak total, maka cairan pelarut yang dipilih adalah pelarut yang melarutkan hampir semua metabolit sekundernya. Faktor utama yang menjadi pertimbangan dalam memilih pelarut adalah ekonomis, ramah lingkungan, kemudahan bekerja serta keamanan (Dirjen POM RI, 2000).

2.3 Tinjauan tentang Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahap pendahuluan melalui suatu rangkaian pemeriksaan yang bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa bioaktif dalam tanaman yang diteliti. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan satu atau lebih pereaksi. Hal yang berperan penting dalam skrining fitokimia adalah metode ekstraksi dan pemilihan pelarut (Kristianti *et al.*, 2008).

Dalam skrining fitokimia diawali dengan pembuatan ekstrak dengan ekstraksi kemudian dilakukan penelitian golongan kandungan dengan cara reaksi warna, reaksi endapan atau dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Menurut Harborne (1987) senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman adalah: flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, tanin dan antrakuinon.

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan di dalam jaringan tanaman dan termasuk dalam golongan senyawa fenolik. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$, artinya kerangka karbon terdiri atas gugus C_6 (cincin benzen) disambungkan oleh rantai alifatik 3 karbon (Harborne, 1987). Flavonoid bertindak sebagai antioksidan yang mendonorkan atom hidrogennya atau melalui kemampuan dalam mengkelat logam (Redha, 2010).

2.4 Tinjauan tentang Diabetes Melitus

2.4.1 Definisi Diabetes Melitus

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) (Dipiro *et al.*, 2015). Kondisi hiperglikemia merupakan penyakit metabolik yang terjadi akibat gangguan sekresi insulin, sensitivitas insulin atau akibat dari keduanya (Dipiro *et al.*, 2008). Insulin adalah hormon hasil sekresi pankreas yang berfungsi memanfaatkan glukosa sebagai sumber energi dan mensintesis lemak. Kurangnya insulin menyebabkan glukosa menumpuk dalam

darah dan dikeluarkan bersama urin tanpa digunakan kembali oleh tubuh (Tjay & Rahardja, 2007).

2.4.2 Klasifikasi Diabetes Melitus

Menurut *International Diabetes Federation (IDF)* 2015, diabetes melitus dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori, yaitu :

a. DM Tipe 1

DM tipe 1 bisa disebut “*insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM)*” atau “*juvenile-onset diabetes*”. IDDM merupakan diabetes melitus yang terjadi akibat kerusakan sel β pankreas karena proses autoimun, sehingga insulin tidak diproduksi kembali (ADA, 2017). Akibatnya pada penderita DM tipe 1 diperlukan pemberian insulin setiap hari (Dipiro *et al.*, 2008). Menurut Depkes RI (2005) persentase penderita DM tipe 1 diperkirakan kurang dari 5-10% dari keseluruhan prevalensi penderita DM.

b. DM Tipe 2

DM tipe 2 bisa disebut “*noninsulin-dependent diabetes (NIDDM)*” atau “*adult-onset diabetes*” merupakan DM yang terjadi karena ketidakmampuan sel β pankreas dalam mensekresikan insulin secara progresif atau terjadi karena resistensi terhadap insulin. Resistensi insulin akan menyebabkan gangguan ikatan antara insulin dan reseptornya pada dinding sel sehingga insulin menjadi tidak efektif untuk menstimulasi pengambilan glukosa oleh jaringan. Dalam mengatasi resistensi insulin, sel β pankreas berusaha mempertahankan glukosa darah dalam keadaan normal dengan cara meningkatkan produksi insulin. Namun, ketika sel β pankreas tidak mampu mengimbangi peningkatan kebutuhan terhadap insulin, maka terjadi hiperglikemia (ADA, 2017). Terapi pada DM tipe 2 umumnya adalah antidiabetik oral (Tjay & Rahardja, 2007). Menurut Depkes RI (2005) persentase penderita DM tipe 2 mencapai sekitar 90-95% dari keseluruhan prevalensi penderita DM.

c. *Gestational Diabetes Melitus*

GDM merupakan intoleransi terhadap glukosa yang terjadi selama masa kehamilan, biasanya terjadi pada trimester kedua dan ketiga (ADA, 2017). Menurut Bastaki (2005) sekitar 4% wanita hamil diketahui menderita GDM dan penderita GDM memiliki resiko 30-50% menderita DM tipe 2.

Sejumlah penelitian melaporkan penyebab utama GDM adalah adanya gangguan pemberian sinyal insulin pada masa kehamilan. Pada awal kehamilan terjadi peningkatan hormon estrogen dan progesteron maternal yang akan meningkatkan hiperplasia sel β pankreas, sehingga meningkatkan pelepasan insulin dan resistensi insulin tubuh meningkat tiga kali lipat dibandingkan keadaan tidak hamil (Kurniawan, 2016). Pada masa kehamilan terjadi penurunan sensitivitas insulin ditandai dengan defek post-reseptor yang menurunkan kemampuan insulin untuk memobilisasi SLC2A4 (GLUT 4) dari dalam sel ke permukaan sel. Hal ini dapat terjadi karena peningkatan hormon seperti *human placental lactogenic* (HPL), prolaktin dan kortisol yang bersifat diabetogenik. Meskipun kehamilan dikaitkan dengan peningkatan massa sel β pankreas dan peningkatan kadar insulin, beberapa wanita tidak dapat meningkatkan produksi insulin yang kemudian terjadi resistensi insulin dan menderita GDM (Al-Noaemi & Shalayel, 2011).

2.4.3 Manifestasi Klinik Diabetes Melitus

Manifestasi klinik penderita diabetes melitus dikaitkan dengan kondisi defisiensi insulin. Pasien dengan defisiensi insulin tidak mampu mempertahankan kadar glukosa dalam darah, sehingga ketika konsentrasi glukosa naik melebihi rentang 160-180 mg/dL akan mengakibatkan glikosuria yaitu glukosa keluar bersama urin. Kenaikan kadar glukosa dalam darah menjadikan darah bersifat hipertonis sehingga terjadi kenaikan osmotik yang menyebabkan penarikan air ke dalam ruang vaskular dan menimbulkan rasa haus (polidipsia) yang diikuti dengan adanya peningkatan keluarannya urin (poliuria). Glukosa yang keluar bersama urin mengakibatkan ketidakseimbangan kalori sehingga berat badan akan menurun.

Glukosa yang seharusnya tersalurkan ke jaringan melalui pembentukan energi tidak dapat terpenuhi dan mengakibatkan pasien sering merasa lapar (polifagi) (Price & Wilson, 2003; Berkowitz, 2013).

2.4.4 Diagnosis Diabetes Melitus

Kriteria diagnosis diabetes melitus menurut standar pelayanan medis *American Diabetes Association* (ADA) tahun 2017 adalah sebagai berikut:

- a. Kadar glukosa darah pada waktu puasa > 126 mg/dL (7,0 mmol/L), puasa didefinisikan sebagai tidak ada asupan kalori selama setidaknya 8 jam.
- b. Kadar glukosa darah dua jam setelah *Oral Glucose Tolerance Test* (OGTT) > 200 mg/dL sesuai standar WHO menggunakan beban glukosa yang setara dengan 75 g glukosa anhidrat.
- c. HbA1C $> 6,5\%$ (48 mmol/mol).
- d. Pada pasien dengan gejala klasik hiperglikemia atau krisis hiperglikemik, glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L).

2.4.5 Faktor Resiko Diabetes Melitus

Tingginya prevalensi diabetes melitus dapat disebabkan karena adanya faktor resiko yang memicu. Faktor resiko tersebut meliputi adanya riwayat DM dalam keluarga, riwayat GDM, melahirkan bayi dengan berat > 4 kg, riwayat kista ovarium (*Polycystic ovary syndrome*), riwayat IFG (*Impaired Fasting Glucose*) atau IGT (*Impaired Glucose Tolerance*), obesitas lebih dari 120% berat badan ideal, usia lebih dari 65 tahun, hipertensi $>140/90$ mmHg, hiperlipidemia dengan kadar HDL < 35 mg/dL dan kadar lipid darah > 250 mg/dL serta faktor lain seperti kurang olahraga serta pola makan rendah serat (Depkes RI, 2005).

2.4.6 Penatalaksanaan Diabetes Melitus

Tujuan utama penatalaksanaan diabetes melitus adalah untuk mengurangi resiko komplikasi penyakit mikrovaskular dan makrovaskular, memperbaiki

gejala, mengurangi mortalitas dan meningkatkan kualitas hidup penderita DM (Dipiro *et al.*, 2008). Terapi DM dapat dibedakan menjadi 2, yaitu terapi non farmakologi dan terapi farmakologi (NDCP, 2010).

a. Terapi Non-Farmakologi

1). Diet

Perencanaan diet adalah salah satu komponen dalam keberhasilan terapi DM. Diet bertujuan untuk memperbaiki kesehatan pasien, mempertahankan kadar glukosa darah dan berat badan dalam rentang normal, mencegah komplikasi dan memodifikasi diet yang sesuai (ADA, 2008). Asupan gizi pada penderita DM dianjurkan mengkonsumsi makan dengan kandungan yang seimbang yaitu karbohidrat 15 g, lemak 20-35%, protein 15-20% dan serat 25-50 g/hari (NGD, 2016).

2). Olahraga

Pencegahan primer adalah tujuan utama untuk mencegah individu yang rentan menderita diabetes. Aktivitas fisik teratur adalah komponen penting dalam pencegahan dan manajemen DM tipe 2 (Bastaki, 2005). Olahraga secara teratur dapat menjaga kadar glukosa darah dalam rentang normal. Beberapa contoh olahraga yang disarankan bagi penderita DM adalah lari pagi, berenang dan bersepeda. Pada saat olahraga, otot yang aktif bergerak menyebabkan peningkatan sensitivitas reseptor insulin, sehingga pengambilan glukosa dalam darah meningkat (Depkes RI, 2005).

b. Terapi Farmakologi

1). Terapi Insulin

DM tipe 1 terjadi karena ketidakmampuan untuk menghasilkan insulin oleh sel β pankreas, sehingga pada tipe ini penderita sangat tergantung dengan pemberian insulin. Sementara pada DM tipe 2 umumnya tanpa insulin (Price & Wilson, 2003). Insulin eksogen digunakan untuk meniru pola normal fisiologis tubuh sehingga dapat melakukan metabolisme karbohidrat, protein dan lemak (Dipiro *et al.*, 2008).

2). Obat Hipoglikemik Oral

Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat hipoglikemik oral dibagi menjadi tiga golongan (Depkes RI, 2005), yaitu :

a. Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin

1). Sulfonilurea

Contoh obat sulfonilurea adalah glibenklamid, glipizida, glikazida, glimepirida, glikuidon. Golongan sulfonilurea bekerja dengan cara merangsang sel β pankreas untuk mensekresikan insulin (Dipiro *et al.*, 2015). Sehingga obat ini hanya efektif pada penderita diabetes yang sel-sel β pankreasnya masih berfungsi dengan baik (Depkes RI, 2005).

2). Meglitinida

Golongan meglitinida memiliki mekanisme kerja menurunkan kadar glukosa dengan menstimulasi sekresi insulin di kelenjar pankreas. Contoh obat meglitinid adalah repaglinide dan nateglinide (Dipiro *et al.*, 2015).

b. Sensitiser insulin

1). Biguanida

Contoh obat golongan biguanida adalah metformin yang bekerja langsung pada hati (hepar), menurunkan produksi glukosa hati dan tidak merangsang sekresi insulin oleh kelenjar pankreas (Depkes RI, 2005).

2). Tiazolidindion

Contoh obat golongan tiazolidindion adalah pioglitazon, rosiglitazon dan troglitazon yang bekerja meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin dengan cara berikatan dengan *peroxisome proliferator activated reseptor gamma* (PPAR γ) di otot, jaringan lemak dan hati untuk menurunkan resistensi insulin. Obat golongan ini dapat menurunkan kecepatan glikoneogenesis (Depkes RI, 2005).

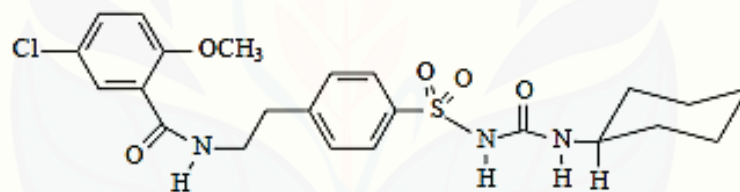
c. Inhibitor katabolisme karbohidrat

Contoh obat golongan ini meliputi akarbose dan miglitol. Golongan ini bekerja dengan menghambat kerja enzim α -glukosidase di saluran cerna pada proses metabolisme dan absorpsi karbohidrat sehingga absorpsi glukosa ke dalam

darah terhambat serta umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia post-prandial (*post-meal hyperglycemia*) (Depkes RI, 2005).

2.5 Tinjauan tentang Glibenklamid

Glibenklamid merupakan obat diabetes golongan sulfonilurea generasi II yang mempunyai rumus struktur $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ (Deruiter, 2003). Mekanisme kerja glibenklamid adalah merangsang sel-sel β pankreas untuk mensekresikan insulin. Obat ini hanya bekerja baik pada pasien yang masih memiliki sel β pankreas dalam kondisi cukup baik. Glibenklamid berikatan dengan *Adenosine triphosphate-sensitive K channel* pada membran sel β pankreas yang menimbulkan depolarisasi membran. Pada keadaan ini, kanal Ca^{2+} terbuka dan ion Ca^{2+} masuk ke dalam sel β pankreas dan merangsang terlepasnya insulin dari granula (Dipiro *et al.*, 2008).



Gambar 2.2 Struktur glibenklamid (Deruiter, 2003).

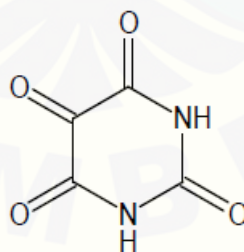
Glibenklamid disebut juga *intermediate-acting drug* yang memiliki waktu paruh berkisar antara 6-7 jam (Tjay & Rahardja, 2007). Memiliki onset 1,5 jam dengan waktu pemberian 30 menit sebelum makan. Absorbsinya pada usus, sekitar 90-99% terikat pada protein dan akan dieleminasi 50% melalui urin dan 50% melalui tinja (50%) (Aberg *et al.*, 2009).

Efek samping yang dapat ditimbulkan dari penggunaan glibenklamid adalah sakit kepala, mual, muntah, vaskulitis, eritema, gangguan hermatologis, *cholestatic jaundice*, hepatitis. Namun, frekuensi dari efek samping tersebut belum diketahui. Glibenklamid dapat berinteraksi dengan beberapa obat yaitu colesevelam, kortikosteroid, antidepresan siklik, siklosporin, derivat asam fibrat,

flukonazol, bosentan, analog LH-RH, antibiotik golongan kuinolon, kloramfenikol, rifampisin, salisilat, somatropin, sulfonamid dan herba yang bersifat hipoglikemik (Aberg *et al.*, 2009).

2.6 Tinjauan tentang Aloksan

Aloksan adalah substrat yang secara struktural merupakan derivat pirimidin sederhana. Rumus kimia aloksan adalah $C_4H_2N_2O_4$ (Nugroho, 2006). Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipiridin, 2,4,5,6-pirimidintetron) merupakan penginduksi DM tipe 1 dan tipe 2 (Etuk, 2010). Aloksan memiliki efek diabetogenik jika diberikan secara intraperitoneal, subkutan dan intravena. Dosis intravena biasanya adalah 65 mg/kgBB, sedangkan secara intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Nugroho, 2006). Kekurangan dari aloksan sebagai agen diabetogenik yaitu tidak stabil pada kondisi fisiologis tubuh dan memiliki waktu paruh yang pendek. Apabila aloksan terdekomposisi menjadi asam aloksalat, maka efek diabetogenik tersebut hilang. Oleh karena itu, aloksan harus segera terakumulasi cepat ke sel β pankreas setelah diinduksikan dan dosis yang digunakan juga berpengaruh terhadap tingkat kerusakan yang ditimbulkan pada sel β pankreas. (Szkudelski, 2001; Lenzen, 2008; Ellis dan West, 2011).



Gambar 2.3 Struktur aloksan (Nugroho, 2006)

Aloksan memiliki bentuk mirip glukosa (glukomimetik), sehingga aloksan yang diinduksikan dalam tubuh hewan coba akan dikenali sebagai glukosa oleh glukosa transporter GLUT 2 yang ada di dalam sel β pankreas. Aloksan dibawa menuju sitosol dan mengalami reaksi redoks yang menghasilkan ROS. ROS yang terbentuk menyebabkan depolarisasi membran sel β pankreas dan peningkatan

Ca^{2+} . Depolarisasi membran sel β pankreas dan peningkatan Ca^{2+} mengakibatkan meningkatnya permeabilitas membran sel, sehingga mempercepat kerusakan sel β pankreas yang selanjutnya berdampak pada menurunnya produksi insulin atau tidak diproduksi kembali (Rohilla & Ali, 2012).

2.7 Tinjauan tentang Radikal Bebas

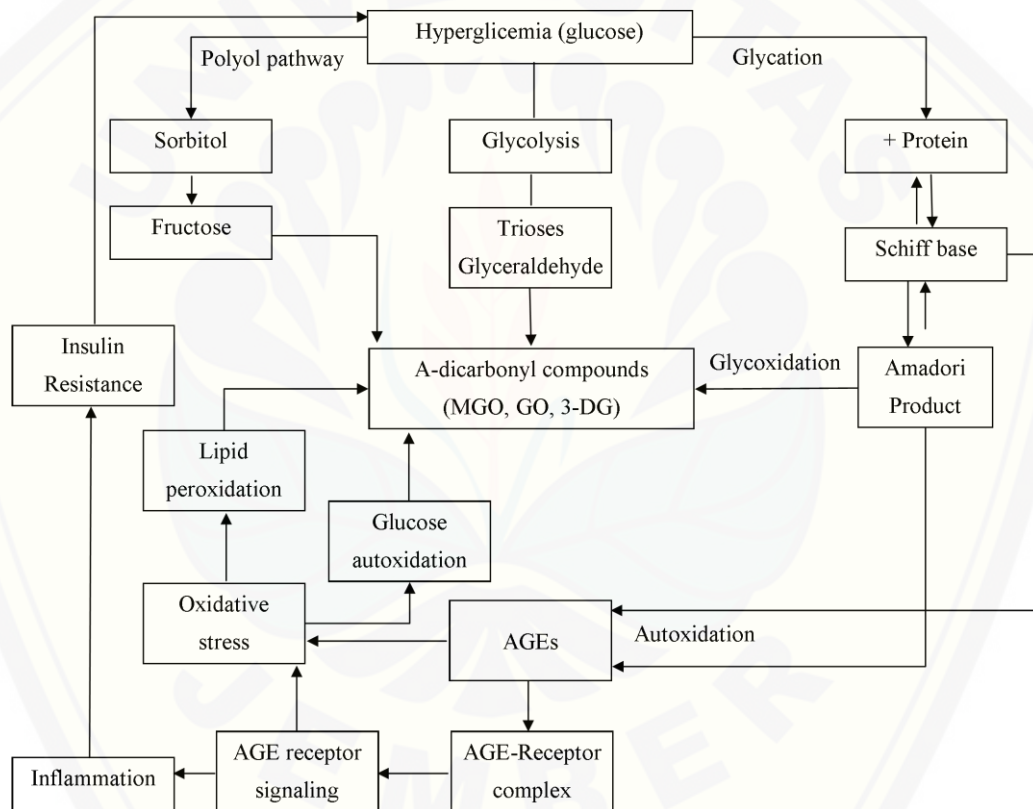
2.7.1 Definisi Radikal Bebas

Radikal bebas dapat berasal dari proses metabolisme makanan di dalam tubuh serta berasal dari luar tubuh seperti paparan polusi udara, asap rokok, sinar X dan ozon (Lobo *et al.*, 2010). Radikal bebas merupakan salah satu senyawa oksigen reaktif yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Clarkson & Thompson, 2000). Radikal bebas dengan adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif dan bersifat tidak stabil sehingga akan berusaha menarik elektron dari molekul lain untuk menjadi stabil. Elektron tersebut dapat diambil dari makromolekul seluler di sekitarnya seperti karbohidrat, lipid, protein dan asam deoksiribonukleat (DNA) (Lobo *et al.*, 2010). Radikal bebas memiliki target utama yaitu ikatan lemak tak jenuh ganda makromolekul lipid yang merupakan senyawa paling rentan terhadap serangan radikal bebas untuk menyebabkan stres oksidatif (Sayuti & Yenrina, 2015).

2.7.2 Hubungan Radikal Bebas dan Diabetes Melitus

DM termasuk penyakit degeneratif dimana jika tidak terkontrol dengan baik dapat mengakibatkan stres oksidatif, yaitu terjadinya produksi radikal bebas yang melebihi kemampuan antioksidan tubuh dalam menghambatnya (Setiawan & Suhartono, 2005). Penderita DM yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia menyebabkan terjadinya peningkatan jalur poliol, peningkatan glikasi protein peningkatan dan autooksidasi glukosa (Khangholi, 2016). Akibat yang ditimbulkan dari peningkatan ketiga jalur tersebut menyebabkan menurunnya

mekanisme antioksidan endogen dan meningkatnya pembentukan *Advanced Glycation Endproduct* (AGEs) (Ahmed, 2005). Ikatan AGEs dengan reseptornya pada membran sel memicu meningkatnya produksi radikal bebas, sehingga ketika jumlah radikal bebas melebihi jumlah antioksidan didalam tubuh mengakibatkan terjadinya stres oksidatif (Nowotny, 2015). Kondisi stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan pada sel, salah satunya adalah kerusakan sel β pankreas yang berperan dalam produksi insulin untuk menurunkan kadar glukosa darah (Lin *et al.*, 2013).



Gambar 2.4 Hubungan radikal bebas dan DM (Khangholi *et al.*, 2016)

2.8 Tinjauan tentang Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dengan cara menstabilkan radikal bebas, dimana antioksidan bekerja dengan cara melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas

dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas (Hättenschwiler & Vitousek, 2000). Antioksidan dapat menghambat reaktivitas radikal bebas melalui 3 cara, yaitu menghambat dan mencegah pembentukan radikal bebas, menangkap radikal dan memotong propagasi (pemutusan rantai), memperbaiki kerusakan oleh radikal bebas. Mekanisme ini yang paling penting adalah reaksi dengan radikal bebas lipid yang membentuk produk non-aktif. (Gordon *et al.*, 2001). Semakin tinggi reaktivitas antara antioksidan dan radikal bebas dalam tubuh dapat dikurangi dengan pemberian antioksidan dari luar, salah satunya antioksidan alami. Adanya kekhawatiran efek samping yang belum diketahui dari antioksidan sintetik menyebabkan antioksidan alami dapat menjadi alternatif pengobatan (Sayuti & Yenrina, 2015).

Jenis antioksidan berdasarkan fungsi dan mekanisme kerjanya dibagi menjadi 3 golongan, yaitu sebagai berikut:

a. Antioksidan Primer

Antioksidan primer bekerja mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi lebih stabil dan kurang reaktif. Antioksidan primer adalah antioksidan yang sifatnya sebagai pemutus reaksi berantai (*chain-breaking antioxidant*) yang dapat bereaksi dengan radikal-radikal lipid dan mengubahnya menjadi produk-produk yang lebih stabil (Winarsi, 2007).

Contoh antioksidan primer adalah *Superoksida Dismutase* (SOD), *Glutation Peroksidase* (GPx) disebut juga dengan antioksidan enzimatik yaitu antioksidan endogenus yang melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif karena disebabkan oleh radikal bebas oksigen seperti anion superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Contoh lain adalah enzim katalase yang mengkatalisis reaksi dekomposisi hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air (Sayuti & Yenrina, 2015).

b. Antioksidan Sekunder

Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, beta-karoten, isoflavon, bilirubin dan albumin. Mekanisme antioksidan sekunder adalah memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara

menangkapnya (*scavenger free radical*) sehingga radikal bebas tidak bereaksi dengan komponen seluler serta mencegah terjadinya reaksi berantai (Sayuti & Yenrina, 2015).

c. Antioksidan Tersier

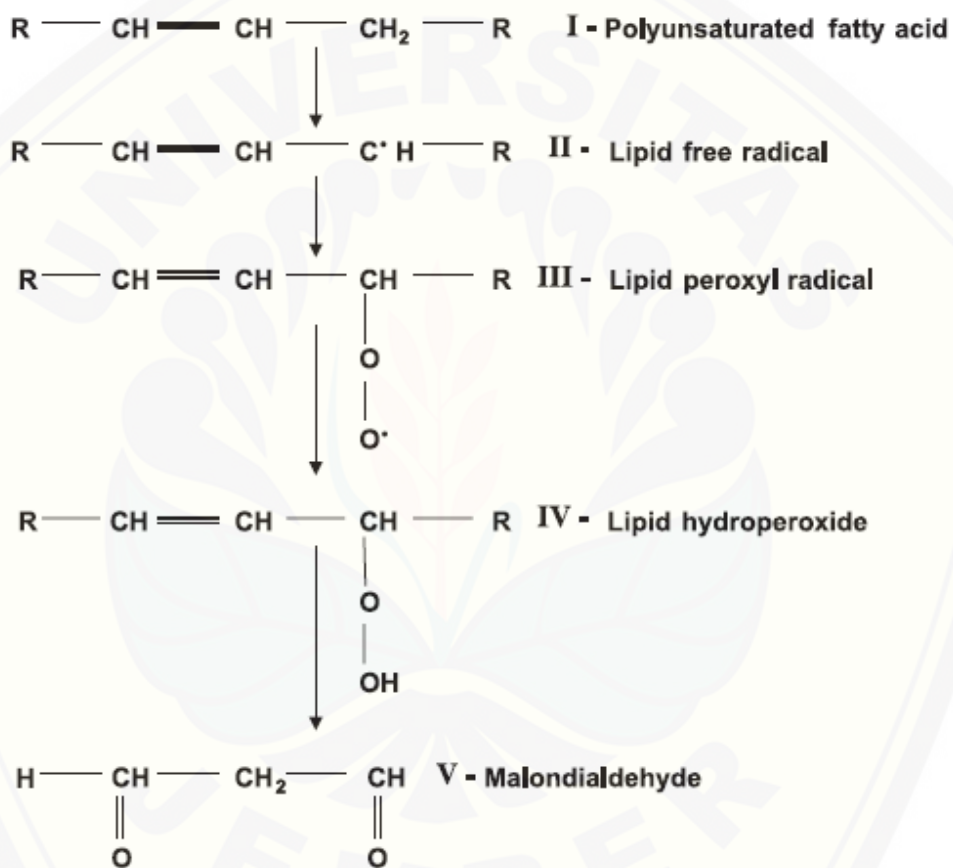
Antioksidan tersier bekerja memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan *metionin sulfida reduktase* (Sayuti & Yenrina, 2015).

2.9 Tinjauan tentang Malondialdehid

Komplikasi diabetes melitus menghasilkan gangguan pada tubuh dimana membuat sel lebih rentan terhadap peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menyebabkan terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa berbahaya yang merusak membran sel dan membentuk produk akhir berupa malondialdehid (MDA) (Maria & Pricilla, 2003). Peningkatan kadar MDA di dalam darah dapat menunjukkan tingginya reaksi antara radikal bebas dan lemak tak jenuh dalam tubuh, sehingga MDA dapat dijadikan sebagai parameter pengukuran aktivitas antioksidan dan antidiabetes dalam sel (Arora *et al.*, 2013).

Radikal bebas memiliki target utama yaitu ikatan ganda karbon-karbon dari asam lemak tak jenuh atau *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) pada membran fosfolipid yang merupakan komponen penyusun membran sel (I). Proses autooksidasi PUFA oleh radikal bebas diawali dengan tahap inisiasi yaitu tahap pembentukan radikal bebas (II). Pada tahap ini, radikal bebas hidroksil menyerang PUFA mampu melepaskan atom H dari gugus metilen (-CH₂-) dan membentuk suatu radikal yang disebut *carbon-centered radical*. Selanjutnya tahap propagasi yaitu tahap pemanjangan rantai radikal. Pada tahap ini, radikal mengalami penataulangan molekul menjadi diena terkonjugasi yang akan bereaksi dengan molekul O₂ membentuk radikal lipid peroksil (III). Kemudian tahap terminasi yaitu tahap bereaksinya senyawa radikal dengan radikal lain. Pada tahap ini, radikal lipid peroksi mampu menarik atom H dari PUFA lainnya sehingga terbentuk lipid hidroperoksida (IV). Lipid hidroperoksida tidak stabil dan

fragmentasinya menghasilkan produk seperti MDA (V) (Grotto *et al.*, 2009; Tangvarasittichai, 2015). MDA bersifat toksik karena dapat memutus ikatan dan beragregasi dengan protein membran untuk membentuk adisi yang dapat menghasilkan kerusakan biomolekuler. Pengukuran kadar MDA adalah metode penting untuk menentukan sejauh mana peroksidasi lipid telah menyebabkan kerusakan (Sharma, 2003).

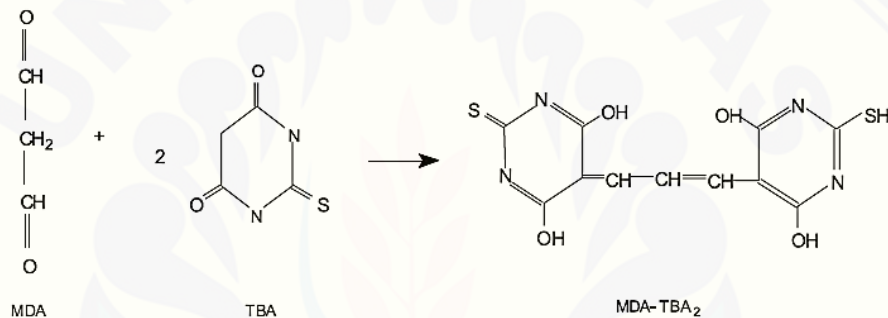


Gambar 2.5 Skema pembentukan MDA dari PUFA (Grotto *et al.*, 2009).

2.10 Tinjauan tentang Analisis MDA

Analisis radikal bebas dilakukan secara tidak langsung dengan mengukur peroksidasi lipid yang terbentuk berupa MDA yang merupakan produk dekomposisi dari PUFA peroksidasi (Grotto *et al.*, 2009). Metode penentuan peroksidasi lipid yang paling sering dan relatif mudah dikerjakan adalah dengan

metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substances* (TBARS). Prinsip metode TBARS didasarkan pada reaksi kondensasi antara 1 molekul MDA dengan 2 molekul TBA menghasilkan produk akhir stabil berupa MDA-TBA *adduct* yang kecepatan reaksinya dipengaruhi oleh suhu, pH dan konsentrasi TBA (Khoubnasabjafari *et al.*, 2015). Reaksi ini berjalan pada pH 2-3 dan akan memberikan warna pink-kromogen yang dapat diperiksa menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532-535 nm. Kadar MDA dapat diperiksa dari plasma, jaringan maupun urin (Lykkesfeldt, 2001; Tangvarasittichai, 2015).



Gambar 2.6 Reaksi membentuk kompleks MDA-TBA (Grotto *et al.*, 2009).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian *True Experimental Laboratories* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kepel dengan dosis berbeda terhadap kadar MDA plasma mencit diabetes yang diinduksi aloksan.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember yang berlangsung mulai bulan November 2017 - Juni 2018

3.3 Jumlah Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian adalah mencit jantan galur Balb/C sebanyak 24 ekor masing-masing 4 ekor hewan coba tiap kelompok dengan berat badan 20-35 gram dan berumur 2-3 bulan (Malole & Pramono, 1989). Penentuan jumlah sampel didasarkan pada perhitungan menggunakan rumus Federer dikutip dari (Ridwan, 2013) yaitu :

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

Keterangan :

n : jumlah sampel

t : jumlah kelompok kontrol dan perlakuan

jika, $t = 6$ maka, $\{(6-1)(n-1)\} \geq 15$

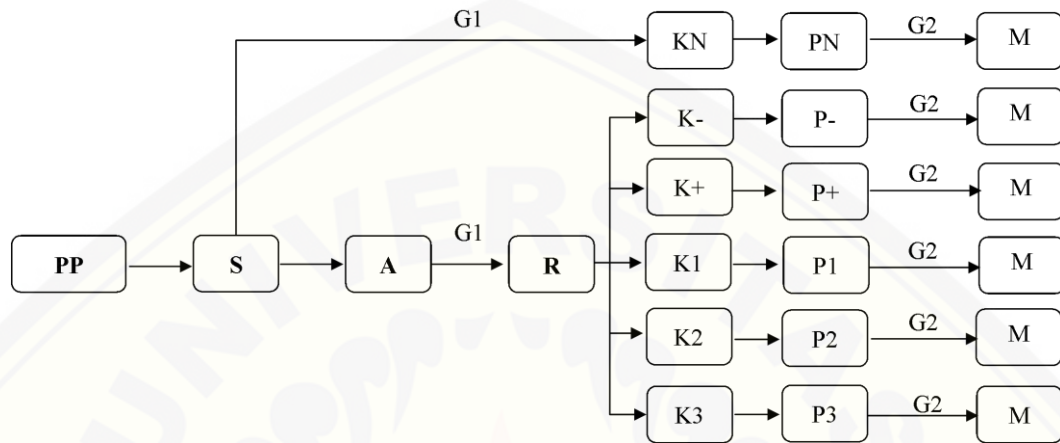
$$5n - 5 \geq 15$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut, pada setiap kelompok perlakuan terdapat minimal 4 ekor hewan coba.

3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan *Pre and Post Test* untuk parameter glukosa darah dan *Post Test* untuk parameter MDA Plasma. Dengan rancangan penelitian:



Gambar 3. 1 Skema rancangan penelitian

- PP : Populasi hewan coba
 S : Sampel hewan coba
 A : Induksi aloksan dosis 210 mg/kgBB secara intraperitoneal
 G1 : Pengukuran kadar glukosa darah sebelum perlakuan
 R : Randomisasi hewan coba
 K : Kelompok
 N : Kontrol normal dengan pemberian CMC-Na 1% per oral
 - : Kontrol negatif dengan pemberian CMC-Na 1% per oral
 + : Kontrol positif dengan pemberian glibenklamid 1,3 mg/kgBB per oral
 1 : Pemberian suspensi ekstrak daun kepel dosis 50 mg/kgBB
 2 : Pemberian suspensi ekstrak daun kepel dosis 100 mg/kgBB
 3 : Pemberian suspensi ekstrak daun kepel dosis 200 mg/kgBB
 P : Perlakuan selama 14 hari
 G2 : Pengukuran kadar glukosa darah
 M : Pengukuran kadar MDA plasma hewan coba

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat Uji

Alat yang digunakan adalah alat maserasi, Fotometer (*Biolyzer 100*), spektrofotometer UV-Vis (Labomed, Inc UVD-2950), kandang hewan coba, timbangan hewan, timbangan analitik (Ohaus), sentrifuge (*Hettich, EBA 20*), *hotplate*, vortex, mortir, stamper, mikropipet (*Socorex Swiss*), alat-alat gelas, spuit, sonde, vial, *microtube*, kuvet, *microhaematocrit* dan alat bedah (pisau bedah, gunting, papan bedah, pinset).

3.5.2 Bahan Uji

Bahan yang digunakan adalah daun kepel (Daerah Mangli, Jember), aloksan monohidrat (TCI), tablet glibenklamid, CMC-Na 1%, NaCl 0,9%, kloroform, aquadest, 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP), TCA 20%, Na-TBA 1%, HCl 1 N, NaOH, *glucotest*, HCL pekat, HCL 2 N, NaCl, NaCl 10%, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, etanol, asam asetat anhidrat, asam asetat glasial, lempeng magnesium, n-heksana, H₂SO₄ encer, H₂SO₄ pekat, KOH 5 N, butanol, FeCl₃, gelatin, toluena.

3.6 Variabel Penelitian

3.6.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak daun kepel, yaitu 50, 100 dan 200 mg/kgBB yang diberikan per oral (p.o) pada kelompok perlakuan.

3.6.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar MDA Plasma.

3.6.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah jenis hewan uji yakni mencit jantan galur Balb/C, berat badan mencit 20-35 gram, umur mencit 2-3 bulan, pemeliharaan mencit meliputi pemberian pakan, minum serta frekuensi pemberian perlakuan yang seragam dan prosedur pengujian penurunan kadar MDA plasma.

3.7 Definisi Operasional

- a. Daun kepel yang diekstraksi dengan etanol 70% dalam penelitian ini berasal dari daerah Mangli Jember dan dilakukan determinasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Purwodadi. Hasil determinasi dapat dirujuk pada Lampiran 4.10.
- b. Hewan uji dianggap diabetes jika kadar glukosa darah ≥ 175 mg/dL (Malole & Pramono, 1989).
- c. Ekstrak daun kepel dikatakan memiliki pengaruh sebagai antidiabetes dan antioksidan jika ekstrak daun kepel mampu menurunkan kadar glukosa darah dan MDA plasma mencit dibandingkan kontrol negatif.

3.8 Prosedur Penelitian

3.8.1 Tahapan Persiapan

- a. Pembuatan Ekstrak Daun Kepel

Daun kepel segar sebanyak 3 kg disortasi basah dengan dicuci air mengalir selanjutnya diangin-anginkan. Daun kepel dirajang dan dikeringkan di udara terbuka. Kemudian simplisia daun ditimbang dan dibuat serbuk melalui proses penggilingan dan pengayakan. Sejumlah 750 gram serbuk daun kepel dimaserasi 2x24 jam dengan etanol 70% sebanyak 3,75 Liter, kemudian dienaptuangkan dan diperas. Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan etanol 70% sebanyak 3 Liter. Setelah itu pisahkan maserat dari endapan dengan hati-hati. Uapkan maserat dengan *rotavapor* sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental disimpan dalam wadah tertutup dan disimpan dalam lemari pendingin.

b. Pembuatan Larutan Aloksan Dosis 210 mg/kgBB

Dosis aloksan yang digunakan adalah 210 mg/kgBB (Holidah & Christianty, 2015). Pembuatan sediaan dengan melarutkan aloksan monohidrat 210 mg dalam NaCl 0,9 % sampai 10 mL untuk 20 ekor mencit. Larutan aloksan diinjeksikan pada mencit secara intraperitoneal dengan dosis 210 mg/kgBB. Perhitungan pembuatan larutan aloksan dapat dirujuk pada Lampiran 4.1.

c. Pembuatan Suspensi Glibenklamid 1,3 mg/kgBB

Sebanyak 1,3 mg/kgBB glibenklamid disuspensikan kedalam mucilago CMC-Na 1% sampai 10 mL. Suspensi glibenklamid diberikan pada mencit uji kelompok kontrol positif dengan dosis 1,3 mg/kgBB. Perhitungan pembuatan suspensi glibenklamid dapat dirujuk pada Lampiran 4.2.

d. Pembuatan Suspensi Ekstrak Daun Kepel Dosis 50, 100, 200 mg/kgBB

Ekstrak daun kepel masing-masing sebanyak 50, 100 dan 200 mg/kgBB disuspensikan ke dalam CMC-Na 1% sampai 10 mL, diaduk sampai homogen. Diberikan pada mencit kelompok perlakuan I, II dan III satu kali sehari secara per oral sesuai dengan dosis masing-masing. Perhitungan dosis ekstrak daun kepel dapat dirujuk pada Lampiran 4.3.

3.8.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia ekstrak daun kepel mengacu pada Harborne (1987).

a. Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah 5 mL HCl 2 N, dipanaskan di atas *hotplate* selama 2-3 menit, sambil diaduk. Setelah dingin ditambah 0,3 gram NaCl, diaduk kemudian disaring. Filtrat diperoleh ditambah 5 mL HCl 2 N dan dibagi menjadi 3 yaitu blanko, pereaksi Mayer dan pereaksi Wagner. Jika terdapat kekeruhan atau endapan menunjukkan adanya alkaloid.

b. Flavonoid

Ekstrak sebanyak 0,3 gram dikocok dengan 3 mL n-heksana berkali-kali sampai tidak berwarna. Residu dilarutkan dalam etanol dan dibagi menjadi 3 bagian yaitu blanko, uji Bate-Smith dan uji Wilstater. Pada uji Bate-Smith larutan

ditambah 0,5 mL HCl pekat dan dipanaskan diatas *hotplate*, jika terjadi warna merah terang atau ungu menunjukkan adanya leukoantosianin. Pada uji Wilstater larutan ditambah 0,5 mL HCl pekat dan 4 potong magnesium kemudian diencerkan dengan air suling dan ditambah 1 mL butanol, jika berubah warna merah jingga menunjukkan adanya flavon, merah pucat adanya flavonol dan merah tua adanya flavonon.

c. Tanin

Menimbang 0,1 gram ekstrak ditambah 3 mL aquadest panas, diaduk dan dibiarkan sampai suhu ruang lalu ditambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk dan disaring. Filtrat diberi beberapa tetes larutan FeCl₃, jika terjadi warna hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

d. Polifenol

Menimbang 0,1 gram ekstrak ditambah 3 mL aquadest panas, diaduk dan dibiarkan sampai suhu ruang lalu ditambahkan 3-4 tetes 10% NaCl, diaduk dan disaring. Larutan ditambah dengan gelatin dan 5 mL larutan NaCl 10% lalu ditambahkan larutan FeCl₃, jika terjadi perubahan warna menjadi hijau biru hingga hitam menunjukkan adanya senyawa polifenol.

e. Saponin

Ekstrak sebanyak 0,3 gram dimasukkan tabung reaksi, kemudian ditambah air suling 10 mL, dikocok kuat-kuat selama ±30 detik. Jika terjadi buih yang stabil selama lebih dari 30 menit dengan tinggi 3 cm diatas permukaan cairan menunjukkan adanya saponin.

f. Triterpenoid

Ekstrak sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam 5 mL etanol ditambah 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat, lalu dikocok perlahan. Jika terjadi warna hijau biru menunjukkan adanya saponin steroid, warna merah ungu menunjukkan adanya triterpen steroid dan warna kuning muda menunjukkan adanya saponin jenuh.

g. Steroid

Ekstrak sebanyak 0,1 gram dilarutkan dalam 5 mL etanol ditambah 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung reaksi, jika timbul cincin berwarna merah menunjukkan adanya steroid tak jenuh.

h. Antrakuinon

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah dengan 1 mL KOH 5 N dan 1 mL H₂SO₄ encer. Dipanaskan dan disaring, filtrat ditambah asam asetat glasial, kemudian diekstraksi dengan toluena. Fase toluena diambil dan dibagi 2 sebagai blanko dan uji Modifikasi Borntrager. Pada uji Modifikasi Borntrager larutan ditambah amonia, jika terjadi warna merah atau merah muda pada lapisan alkalis menunjukkan adanya antrakuinon.

3.8.3 Adaptasi Hewan Uji

Mencit diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama satu minggu dan diberi makan *ad libitum* pada semua kandang. Hewan uji yang digunakan adalah mencit yang tidak ada perubahan berat badan yang melebihi 10% selama adaptasi serta secara visual menunjukkan perilaku yang normal (Ridwan, 2013).

3.8.4 Induksi Aloksan

Hewan coba diinduksi aloksan dengan dosis 210 mg/kgBB dalam pelarut NaCl 0,9% secara intraperitoneal. Pada hari ke-3, kadar glukosa hewan coba diukur sebagai glukosa darah *pre-test*. Hewan coba dengan kadar glukosa darah puasa ≥ 175 mg/dL adalah hewan yang digunakan untuk penelitian.

3.8.5 Pengelompokan dan Perlakuan Hewan Uji

Hewan dibagi menjadi 6 kelompok diantaranya terdiri dari 3 kelompok kontrol yaitu kelompok kontrol normal, kontrol positif dan kontrol negatif serta 3 kelompok perlakuan dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB. Pembagian tiap kelompok terdiri dari 4 mencit sebagai berikut :

- a. K (kelompok normal) : suspensi CMC-Na 1% secara p.o
- b. K- (kelompok kontrol negatif) : suspensi CMC-Na 1% secara p.o
- c. K+ (kelompok kontrol positif) : suspensi glibenklamid dosis 1,3 mg/kgBB secara p.o
- d. K1 (kolompok uji I) : ekstrak etanol daun kepel dosis 50 mg/kgBB
- e. K2 (kelompok uji II) : ekstrak etanol daun kepel dosis 100 mg/kgBB
- f. K3 (kelompok uji III) : ekstrak etanol daun kepel dosis 200 mg/kgBB

Perlakuan semua kelompok mencit dilakukan selama 14 hari menggunakan sonde dan bobot mencit ditimbang setiap hari selama perlakuan untuk menentukan volume sediaan yang diberikan.

3.8.6 Pengambilan Sampel Darah

Pada hari ke-15, mencit dipuasakan selama 16 jam sebelum dilakukan pengambilan darah. Darah mencit diambil secara intrakardial, disuntikkan langsung ke dalam jantung. Darah 1,5 mL ditampung menggunakan vaculab K3 EDTA. Untuk mendapatkan plasma selanjutnya darah disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit. Plasma yang sudah terpisah diambil menggunakan mikropipet dan ditampung pada *microtube* dan siap untuk pemeriksaan kadar MDA plasma.

3.8.7 Pengukuran Kadar MDA

Pengukuran kadar MDA plasma mengacu pada Grotto *et al.*, (2007).

a. Persiapan reagen

Reagen yang digunakan dalam mengukur kadar MDA plasma adalah TCA 20% untuk mengendapkan protein sehingga tidak mengganggu hasil serapan pada saat pengukuran, Na-TBA 1% berfungsi untuk membentuk ikatan kompleks

MDA-TBA dan HCl 1 N berfungsi untuk mempercepat reaksi. Pembuatan TCA 20% dilakukan dengan melarutkan 1 gram TCA ke dalam aquadest sampai 5 mL. Na-TBA 1% diperoleh dengan melarutkan TBA sebanyak 0,1 gram ke dalam NaOH 1 M sampai 10 mL. NaOH 1 M dibuat dengan melarutkan 1 gram NaOH ke dalam aquadest sampai 25 mL, sedangkan HCl 1 N dibuat dengan mengencerkan 2 mL HCl 6 N dalam aquadest sampai 12 mL.

b. Penentuan kurva baku MDA

Pembuatan larutan stok I dengan cara memipet 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP) sebanyak 5 μ L dilarutkan dalam aquadest sampai 10 mL. Selanjutnya dari larutan stok I diambil 1 mL diencerkan dengan aquadest sampai 10 mL sehingga didapatkan larutan stok II. Pembuatan kurva baku dengan mengambil larutan stok II kemudian dibuat 10 seri konsentrasi berbeda yaitu 5, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35 dan 39 μ M. Selanjutnya 50 μ L dari masing-masing konsentrasi ditambahkan 1 mL aquadest, 100 μ L TCA 20%, 250 μ L HCl 1 N dan 100 μ L Na-TBA 1%, setiap penambahan 2 reagen dihomogenkan dengan vortex. Tabung yang berisi supernatan dengan reagen ditutup aluminium foil dan dipanaskan dalam air suhu 100°C selama 30 menit untuk mempercepat reaksi. Setelah itu didinginkan pada suhu ruang selama 10 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm.

c. Prosedur Pengukuran Kadar MDA Plasma

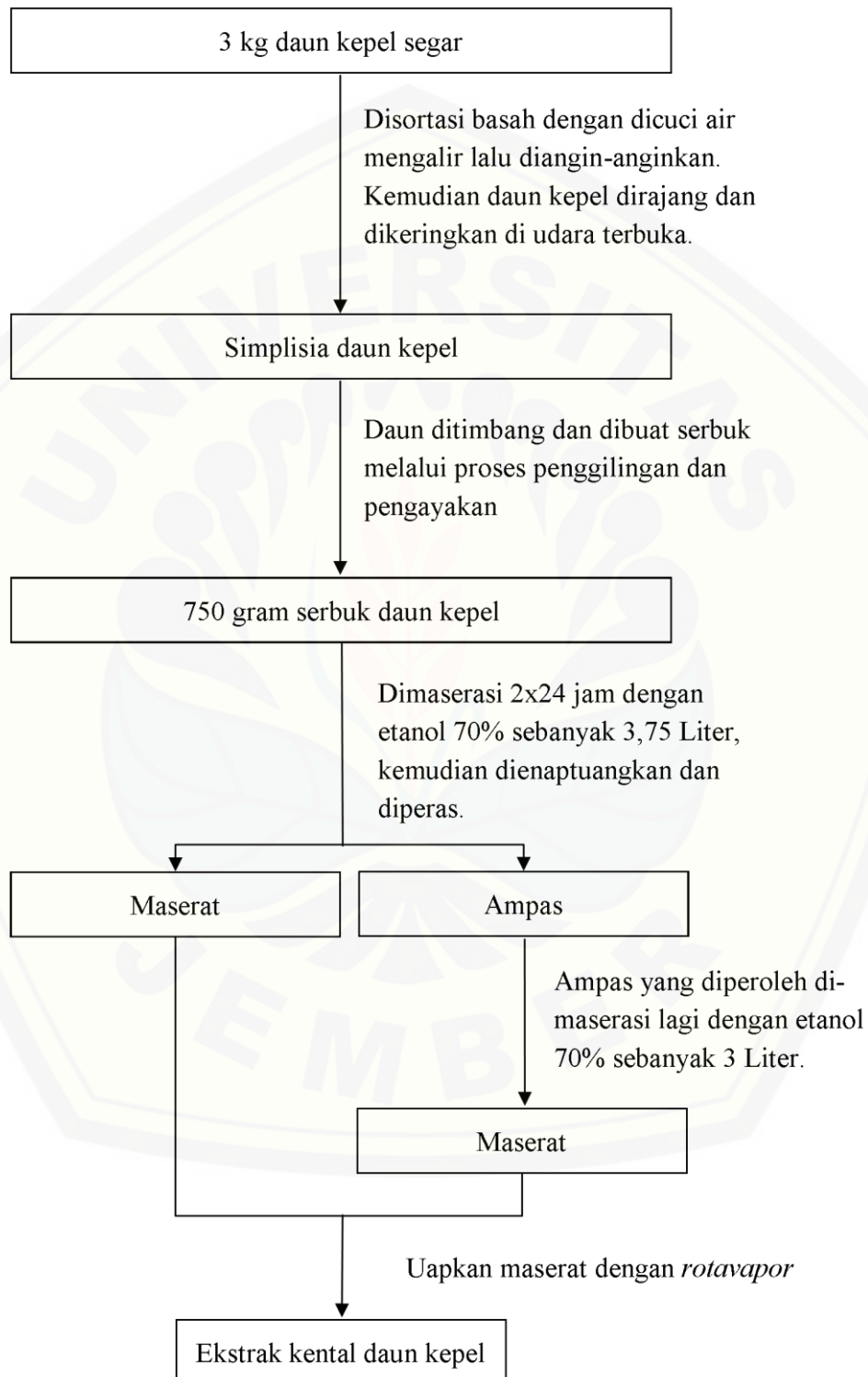
Plasma darah mencit sebanyak 50 μ L dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL aquadest, 100 μ L TCA 20%, 250 μ L HCl 1 N dan 100 μ L Na-TBA 1%, setiap penambahan 2 reagen dihomogenkan dengan vortex. Selanjutnya dipanaskan dalam air suhu 100°C selama 30 menit dan didinginkan pada suhu ruang selama 10 menit. Campuran tersebut disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit dan dipindahkan hasil supernatannya ke dalam kuvet. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm.

3.9 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis normalitasnya secara statistik untuk mengetahui normal atau tidaknya distribusi data dengan uji *Shapiro-Wilk*, sedangkan untuk mengetahui varian data dilakukan uji homogenitas dengan uji *Levene*. Jika data terdistribusi normal dan homogen, maka dilanjutkan dengan uji *One-way Anova* untuk melihat signifikansi tiap kelompok. Apabila ada perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan yang ditandai dengan nilai $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BLT) atau uji *Least Significant Differences* (LSD) untuk menentukan kelompok mana yang memberikan nilai berbeda secara signifikan. Jika data normalitas dan homogenitas tidak dapat dipenuhi maka data dianalisis menggunakan uji non parametrik yaitu uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*. Uji statistik dilakukan pada derajat kepercayaan 95% ($p < 0,05$).

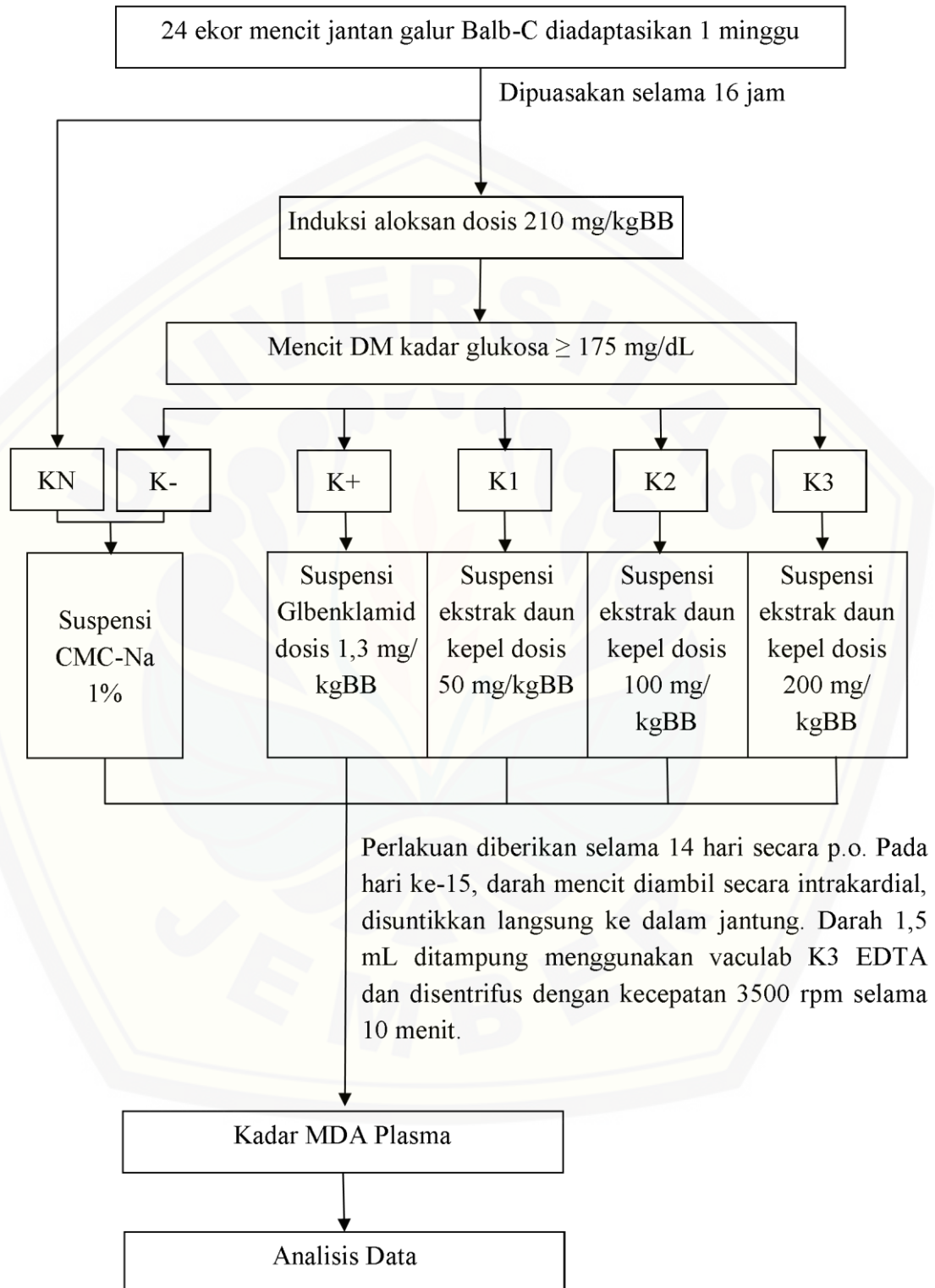
3.10 Skema Rangkaian Kerja

3.10.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kepel



Gambar 3. 2 Skema pembuatan ekstrak daun kepel

3.10.2 Perlakuan pada Hewan coba



Gambar 3. 3 Skema perlakuan ekstrak daun kepel

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun kepel dapat menurunkan kadar MDA plasma pada mencit diabetes yang diinduksi aloksan.
2. Ekstrak daun kepel dosis 200 mg/kgBB merupakan dosis yang paling efektif dibandingkan dosis 50 dan 100 mg/kgBB dalam menurunkan kadar MDA plasma mencit diabetes yang diinduksi aloksan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang diberikan oleh peneliti adalah perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan senyawa ekstrak daun kepel yang paling berpengaruh dalam aktivitas penurunan kadar MDA plasma.

DAFTAR PUSTAKA

- Aberg, J. A., Lacy, C. F., Amstrong, L. L., Goldman, M. P. & Lance, L. L. 2009. *Drug Information Handbook, 17th edition*, Lexi-Comp for the American Pharmacists association.
- Ahmed, R. G. 2005. The physiological and biochemical effects of diabetes on the balance between oxidative stress and antioxidant defense system. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*. Vol.15(1): 31-42.
- Al-Noaemi, M. C. & Shalayel, M. H. F. 2011. Pathophysiology of Gestational Diabetes Melitus: The Past, the Present and the Future. *Radenkovic M editor. InTech*. 91-114.
- Amic, D., Beslo, D., Trinajstic, N. 2002. Structure-Radical Scavenging Activity Relationships of Flavonoids. *Croatica Chemica Acta*. Vol.6(1): 55-60
- Ansel, H. C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV diterjemahkan oleh Ibrahim, F. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia Press.
- American Diabetes Association (ADA). 2008. Nutrition recommendations and interventions for diabetes. *Diabetes Care*. Vol.31(1): 61-78.
- American Diabetes Association (ADA). 2017. Standards of medical care in diabetes 2017. *The Journal of Clinical and Applied Research and Education*. Supplement 1.Vol.40: 51-5135.
- Arora, R., Vig, A. P. & Arora, S. 2013. Lipid peroxidation: a possible marker for diabetes. *Journal of Diabetes Metabolism*. Vol.11(7): 1-6.
- Backer, C. A. & Bakhuizen, van den Brick RC. 1963. *Flora of Java*. The Netherlands: NVP No ordhoff, Groningen. Vol.1: 102.
- Balcombe, J. P. 2006. Laboratory environments and rodents' behavioural needs: a review. *Physicians Communittee for Responsible Medicine*. Vol.40(2): 217-235.

- Bastaki, S. 2005. Diabetes mellitus and its treatment. *International Journal Diabetes & Metabolism*. Vol.13: 111-134.
- Berkowitz, A. 2013. *Lecture Notes Patofisiologi Klinik: Disertai Contoh Kasus Klinik*. Tangerang Selatan: Binarupa Aksara Pubisher.
- BPOM RI. 2011. *Acuan Sediaan Herbal Volume 6 Edisi I*. Jakarta: BPOM
- Burcham, P. C. 1998. Genotic lipid peroxidation products: their DNA damaging properties and role in formation of endogenous DNA adducts. *Mutagenesis*. Vol.13(3): 287-305.
- Chang, R. 2006. *Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti Edisi Ketiga*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Cheng, Y. & Prusoff, W. H. 1973. Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction. *Biochem Pharmacol*. Vol.22(23): 3099-3108.
- Clarkson, P. M. & Thompson, H. S. 2000. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health ?. *American journal Clinical Nutrition*. Vol.25: 790-796.
- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J. P., Cimanga, K., Poel, B. V., Pieters, L., Vlietinck, A. J. & Berghe, D. V. 1998. Structure-Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. *J.Nat. Prod*. Vol.61: 71-76.
- Depkes RI. 1995. *Materia Medika Indonesia, Jilid VI*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Depkes RI. 2005. *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes melitus*. 1-85.
- Deruiter, J. 2003. Overview of the antidiabetic agents. *Endocrine Pharmacotherapy Module*. 1-33.

- Dheer, R. & Bhatnagar, P. 2010. A study of the antidiabetic activity of *Barleria prionitis* Linn. *Indian J Pharmacol.* Vol.42(2): 70-73.
- Diniatik, 2015. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) Dengan Metode Spektrofotometri. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi.* Vol.3(1): 1-5.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yess, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G. & Posey, L. M. 2008. *Pharmacotherapy: A Patophysiology Approach Seventh Edition.* New York: MC Graw Hill Education.
- Dipiro, J. T., Wells, B. G., Schwinghammer, T. L. & Dipiro, C. V. 2015. *Pharmacotherapy Handbook Ninth Edition.* New York: MC Graw Hill Education.
- Dirjen POM RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Jakarta: Departemen Kesehatan.
- Doughari, J. H. 2012. *Phytochemicals – A Global Perspective of Their Role in Nutrition and Health.* Cina: Intech
- Etuk, E. U. 2010. Animals model for studying diabetes mellitus. *Agriculture and Biology of North. America.* Vol.1(2): 130-134.
- Ellis, G. P. & West, G. B. 2011. *Progress in Medicinal Chemistry, Volume 8.* Inggris: Butterworth-Heinemann.
- Federer, W. T. 1977. A problem in Residual Analysis, An M.S Thesis Problem. *Biometrics Unit Memo Series,* Cornell University.
- Gomes, G. N., Barbosa, F. T., Radaeli, R. F., Cavanal, M. F., Aires, M. M. & Gill, F. Z. 2005. Effect of D- α Tocopherol on Tubular Nephron acidification by Rats with Induced Diabetes Mellitus. *Brazilian Journal of medical and Biological Research.* Vol.38: 1043-1051.
- Gordon, M. H. 2001. The Mechanism of Antioxidant Action in Vitro. *Food Antioxidants.* London: Elsevier Applied Science.

- Grotto, D., Maria, L. D. S., Boeira, S., Valentini, J., Charao, M. F., Moroa, A. M., Nascimento, P. C., Pombum, V. J. & Garcia, S.C. 2007. Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography–visible detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Vol.43(07): 619–624.
- Grotto, D., L. S. Maria., Valentini, J., Paniz, C., Solange, G. S. & Garcia, C. 2009. Importance of lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects for malondialdehyde quantification. *Quim. Nova*. Vol.32(1): 169-174.
- Gwarzo, M. Y., Ahmadu, J. H., Ahmad, M. B., Dikko, A.U.A. 2014. Serum Glucose and Malondialdehyde Levels in Alloxan Induced Diabetic Rats Supplemented with Methanolic Extract of *Tacazzea Apiculata*. *International Journal of Biomedical Science*. Vol.10(4): 236-242
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. 2007. *Fisiologi Manusia dan Mekanisme Penyakit*. Jakarta: EGC
- Harborne, J.B., 1987. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. London: Chapman and Hall.
- Hargono, D., Farouq., Sutarno, S., Pramono, S., Rahayu, T. R., Tanuatmadja, U. S. & Sumarsono. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Haryjanto, L. 2012. Konservasi kepel (*Stelechocarpus Burahol* [Blume] Hook. F & Thomson): jenis yang telah langka. *Mitra Hutan Tanaman*. Vol.7(1): 11-17.
- Hättenschwiler, S., & Vitousek, P. M. 2000. Review the role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trend in Ecology & Evolution*. Vol.15(6): 238-242.
- Hidayat, A. 2011. Fraksionasi golongan flavonoid dari daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) yang berpotensi sebagai antibakteri. Skripsi. Bogor: FMIPA Institut Pertanian Bogor.
- Hidayat, Syamsul. 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Jakarta: AgriFlo.

- IDF. 2015. *IDF Diabetes Atlas. Seventh Edition*. Belgium: International Diabetes Federation.
- Karadeniz, F., Burdurlu, H. S., Koca, N., Soyer, Y. 2005. Antioxidant Activity of Selected Fruits and Vegetables Grown in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. Vol.29(4): 297-303.
- Katzung, B. G., 2002. *Farmakologi Dasar Klinik*. Terjemahan oleh Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Khangholi, S., Majid, F.A., Berwary, N. J., Ahmad, F. & Aziz, R. 2016. The mechanisms of inhibition of advanced glycation end products formation through polyphenols in hyperglycemic condition. *Planta Med*. Vol.82: 32-45.
- Khoubnasabjafari, M., Ansarin, K. & Jouyban, A. 2015. Reliability of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in psychological disorders. *BioImpacts*. Vol.5(3): 123-127.
- Kristianti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M. & Kurniadi, B. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Jurusan FMIPA Universitas Airlangga.
- Kurniawan, L. B. 2016. Patofisiologi, Skrining dan Diagnosis Laboratorium Diabetes Melitus Gestasional. *Jurnal Ilmu Patologi Klinik, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar*. Vol.43(11): 811-813.
- Lamoureux, C. H. 1980. *Fruits*. Rome: IBPGR Secretariat.
- Lim, T.K. (2012) *Stelechocarpus burahol*. In: Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants. *Springer, Dordrecht*. Vol.1: 227-230.
- Lee, J., Koo, N. & Min, D.B. 2004. Reactive oxygen species, aging and antioxidative nutraceuticals. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. Vol.3(1): 21-33.
- Lenzen, S. 2008. The mechanism of alloxan and streptozotocin induced diabetes. *Diabetologia*. Vol.51: 216-226.

- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. & Chandra, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*. Vol.4(8): 118-126.
- Lin, N., Zhang, H. & Su, Q. 2012. Advanced glycation end-product induce injury to pancreatic beta cells through oxidative stress. *Diabetes & Metabolism*. Vol.38: 250-257.
- Lykkesfeldt, J. 2001. Determination of Malondialdehyde as Dithiobarbituric Ction Comparison with Ultraviolet Visible Spectrophotometry. *Clinical Chemistry*. Vol.47(9): 25-27.
- Maria, L. & Pricilla, M. C. 2003. Oxidative stress, exercise and antioxidant supplementation. *Journal Toxicology*. Vol.189: 41-45.
- Malole, M. B. M., & Pramono, C. S. U. 1989. *Pengantar Hewan-Hewan Percobaan di laboratorium*. Bogor: Pusat Antara Universitas Bioteknologi IPB.
- National Diabetes Control Programme (NDCP). 2010. *National Clinical Guidelines for Management of Diabetes mellitus*. Kenya: Ministry of Public Health and Sanitation.
- Nowontny, K., Jung, T., Hohn, A., Weber, D. & Grune, T. 2015. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. *Biomoleculs*. Vol.5: 194-222.
- Nugroho, A. E. 2006. Hewan percobaan diabetes melitus: patologi dan mekanisme aksi diabetogenik. *Biodiversitas*. Vol.7(4): 378-382.
- Nutrition Guideline Diabetes (NGD). 2016. *Nutrition guideline diabetes aplicable to: nurses, physicians and other health professionals*. Alberta health services: 1-24.
- Pereira, D. M., P. Valentao., J. A. Pereira. & P. B. Andrade. 2009. Phenolics: from chemistry to biology. *Molecules*. Vo.14: 2202-2211.

- Pinent, M., A. Castell., I. Baiges., G. Montagul., L. Arola., A. Ardevol. 2008. Bioactivity of flavonoids on insulin-secreting cell. *Comprehensive Reviews In Food Science and Food Safety*. Vol.7: 299-308.
- Price, S. A. & Wilson, L. M. 2003. *Patofisiologi : Konsep Klinis Prose-Prose Penyakit*. Edisi 6. Alih bahasa oleh B. U. Pendit., H. Hartanto., P. Wulansari. & D. A. Mahanani. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Purwatiningsih., Hakim, R. A., Purwantini, I. 2010. Antihyperuricemic activity of the Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. & Th.) leaves extract and xanthine oxidase inhibitory study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (IJPPS)*. Vol.2(2): 123-127.
- Purwatiningsih & Nurlaila. 2016. Effect of the Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F. & Th.) leaves extract on sprague-dawley rats: an acute toxicity study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. Vol.9(1): 304-307.
- Ramadhan, B. C., Arifin, S. & Ghulamahdi, M. 2015. Potensi Kadar Bioaktif Yang Terdapat Pada Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*). *Jurnal Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian IPB*. Vol.26(2): 99-108.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Berlian*. Vol.9(2): 196-202.
- Ridwan, E. 2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *Journal Indon Med Assoc*. Vol.63: 112-116.
- Rohilla, A. & Ali, A. 2012. Alloxan induced diabetes: mechanism and effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. Vol.3(2): 819-823.
- Rowe, R. C., P. J. Sheskey. & S. C. Owen. 2006. *Handbook of Pharmaceutical Excipients 5th Ed*. Washington: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
- Sayuti, K. & Yenrina, R. 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.

- Setiawan, B. & Suhartono, E. 2005. Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. *Majalah Kedokteran Indonesia*. Vol.55(2): 86-91.
- Sharma, A., Bansal, S. & Nagpal, R. K. 2003. Lipid peroxidation in bronchial asthma. *Indian Journal of Pediatrics*. Vol.70: 715-717.
- Slonina, D., D. Matewski., R. Czajkowski., K. Olszewski., A. Wozniak., G. Sypniewska., K. Lis., D. Musialkiewicz., B. Kowaliszyn. 2011. The concentration of Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) and paraoxonase activity in blood of patients with osteoarthritis after endoprosthesis implantation. *Med Sci Monit*. Vol.17(9): 498-504.
- Solikin. 2010. Ecology of Kepel (*Stelechocarpus Burahol* (Blume) Hook. F. & Thomson) in Purwodadi Botanical Garden. *Proceeding of International Conference on Medicinal Plant*.
- Sunardi, C. 2010. Several Standard Parameter and Phytochemical Screening of *Stelechocarpus Burahol* Hook F. & Thomson Stem Bark. *Proceeding of International Conference on Medicinal Plant*.
- Sunarni, T., Pramono, S. & Asmah, R. 2007. Flavonoid antioksidan penangkap radikal dari daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.). *Indonesian Journal of Pharmacy*. Vol.18(3): 111-116.
- Sutomo, 2008. Penurunan Kadar Asam Urat Darah Ayam Jantan Broiller Hiperurisemia oleh Fraksi Petroleum Eter Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* Hook.). *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*. Vol.2(1): 14-22.
- Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Journal Physiol Res*. Vol.50: 536-546.
- Tangvarasittichai, S. 2015. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, Vol.6(3): 456-480.
- Tersono, L. 2008. *Tanaman obat dan jus untuk mengatasi penyakit jantung, hipertensi, kolesterol, dan stroke*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka. Hal 97-98.

Tjay, T. H. & Rahardja, K. 2007. *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Samping*. Edisi VI. Jakarta: Elex Media.

Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

Wirasathien, L., Pengsuparp, T., Suttisri, R., Ueda, H., Moriyasu, M. & Kawanishi, K. 2007. Inhibitors of aldose reductase and advanced glycation end-products formation from the leaves of *Stelechocarpus cauliflorus* R.E. Fr. *Journal Phytomedicine*. Vol.14(7-8): 546–550.

World Health Organization (WHO), 2016. Diabetes. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>. (Diakses pada 24 Maret 2018).

Zemuik, Peruzoci, Apkun, Zekan, Tomi & Milkovi. 2003. Reproductive ability of pubertal male and female rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. Vol.36(7): 871-877,

LAMPIRAN

Lampiran 4. 1 Perhitungan Larutan Aloksan Dosis 210 mg/kgBB

- a. Dosis aloksan yang digunakan 210 mg/kgBB

$$\text{Dosis} = \frac{210 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} = 4,2 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ mL}$$

- b. Volume optimum sediaan untuk 1 mencit (20 gram) = 0,2 mL

- c. Volume yang dibutuhkan :

$$= \text{Jumlah Mencit} \times \text{volume pemberian tiap mencit}$$

$$= 20 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ mL}$$

$$= 4 \text{ mL untuk } 20 \text{ ekor mencit}$$

- d. Volume yang dibuat = 10 mL

$$= \frac{4,2 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL} = 210 \text{ mg dalam } 10 \text{ mL NaCl } 0,9\%$$

Lampiran 4. 2 Perhitungan Dosis Glibenklamid 1,3 mg/kgBB

a. Dosis terapi glibenklamid pada manusia = 10 mg/hari

b. Dosis konversi mencit (20 gram)

$$= 0,0026 \times 10 \text{ mg} = 0,026 \text{ mg}/20 \text{ gram mencit}$$

$$\frac{0,026 \text{ mg}}{20 \text{ gram}} = \frac{x}{1000 \text{ gram}}$$

$$x = 1,3 \text{ mg/kgBB}$$

c. Dosis mencit (20 gram)

$$\frac{1,3 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} = \frac{x}{20 \text{ gram}}$$

$$x = 0,0026 \text{ mg}$$

d. Volume optimum untuk 1 mencit (20 gram) = 0,2 mL

e. Volume yang dibutuhkan :

$$= \text{Jumlah mencit} \times \text{volume pemberian tiap mencit} \times \text{waktu perlakuan}$$

$$= 4 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ mL} \times 7 \text{ hari}$$

$$= 5,6 \text{ mL untuk 4 ekor mencit selama 7 hari perlakuan}$$

f. Volume yang dibuat = 10 mL

g. Jumlah glibenklamid yang dibutuhkan untuk 10 mL

$$\frac{0,026 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} = \frac{x}{10 \text{ mL}}$$

$$x = 1,3 \text{ mg dalam 10 mL CMC-Na 1\%}$$

Lampiran 4. 3 Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Kepel

4.3.1 Kelompok Uji Ekstrak Daun Kepel (50 mg/kgBB)

- a. Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram :

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} \\ &= 1 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ mL} \end{aligned}$$

- b. Volume pemberian mencit 20 gram = 0,2 mL

- c. Volume yang dibutuhkan :

$$\begin{aligned} &= \text{jumlah mencit} \times \text{volume pemberian tiap mencit} \times \text{waktu perlakuan} \\ &= 4 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ mL} \times 7 \text{ hari} \\ &= 5,6 \text{ mL untuk } 4 \text{ ekor mencit selama } 7 \text{ hari} \end{aligned}$$

- d. Volume yang dibuat = 10 mL

- e. Jumlah ekstrak daun kepel yang ditimbang untuk 10 mL:

$$\begin{aligned} &= \frac{1 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 50 \text{ mg dalam } 10 \text{ mL CMC-Na } 1\% \end{aligned}$$

4.3.2 Kelompok Uji Ekstrak Daun Kepel (100 mg/kgBB)

- a. Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram :

b.
$$\text{Dosis} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram}$$
$$= 2 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ mL}$$

- c. Volume pemberian mencit 20 gram = 0,2 mL

- d. Volume yang dibutuhkan :

$$\begin{aligned} &= \text{jumlah mencit} \times \text{volume pemberian tiap mencit} \times \text{waktu perlakuan} \\ &= 4 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ mL} \times 7 \text{ hari} \\ &= 5,6 \text{ mL untuk } 4 \text{ ekor mencit selama } 7 \text{ hari} \end{aligned}$$

- e. Volume yang dibuat = 10 mL

- f. Jumlah ekstrak daun kepel yang ditimbang untuk 10 mL:

$$\begin{aligned} &= \frac{2 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL} \\ &= 100 \text{ mg dalam } 10 \text{ mL CMC-Na } 1\% \end{aligned}$$

4.3.3 Kelompok Uji Ekstrak Daun Kepel (200 mg/kgBB)

a. Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram :

$$\begin{aligned} \text{b. Dosis} &= \frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} \\ &= 4 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ mL} \end{aligned}$$

c. Volume pemberian mencit 20 gram = 0,2 mL

d. Volume yang dibutuhkan :

= jumlah mencit x volume pemberian tiap mencit x waktu perlakuan

= 4 ekor x 0,2 mL x 7 hari

= 5,6 mL untuk 4 ekor mencit selama 7 hari

e. Volume yang dibuat = 10 mL

f. Jumlah ekstrak daun kepel yang ditimbang untuk 10 mL:

$$= \frac{4 \text{ mg}}{0,2 \text{ mL}} \times 10 \text{ mL}$$

= 200 mg dalam 10 mL CMC-Na 1%

Lampiran 4. 4 Perhitungan Konsentrasi Baku MDA

a. Profil TEP

Kadar : $\geq 96\%$

Mr : 220,31 g/mol

Massa Jenis : 0,919 g/mL

b. Konsentrasi TEP

Molaritas : $\frac{\text{Massa jenis} \times 1000 \times \text{kadar}}{\text{Mr}}$ Molaritas : $\frac{0,919 \text{ g/mL} \times 1000 \times \frac{96}{100}}{220,31 \text{ g/mol}}$

Molaritas : 4,0045 mol/L

c. Larutan Stok 1

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$4,0045 \text{ mol/L} \times (5 \mu\text{L} \times 10^{-3}) \text{ mL} = M_2 \times 10 \text{ mL}$$

$$0,02002 \text{ mol} = M_2 \times 10 \text{ mL}$$

$$0,002002 \text{ mol/mL} = M_2$$

$$2002 \mu\text{M} = M_2$$

Dipipet 5 μL TEP dilarutkan dalam aquadest sampai 10 mL.

d. Larutan Stok 2

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$2002 \mu\text{mol/mL} \times 1 \text{ mL} = M_2 \times 10 \text{ mL}$$

$$2002 \mu\text{mol} = M_2 \times 10 \text{ mL}$$

$$0,002002 \text{ mol/mL} = M_2$$

$$200,2 \mu\text{M} = M_2$$

Dipipet 1 mL Larutan Stok 1 dilarutkan dalam aquadest sampai 10 mL

e. Pengenceran

Konsentrasi 5, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 31, 35 dan 39 μM 1) Konsentrasi 5 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 5 \mu\text{M}$$
$$x = 0,25 \text{ mL} = 250 \mu\text{L}$$

2) Konsentrasi 7 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 7 \mu\text{M}$$
$$x = 0,350 \text{ mL} = 350 \mu\text{L}$$

3) Konsentrasi 11 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 11 \mu\text{M}$$
$$x = 0,550 \text{ mL} = 550 \mu\text{L}$$

4) Konsentrasi 15 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 15 \mu\text{M}$$
$$x = 0,750 \text{ mL} = 750 \mu\text{L}$$

5) Konsentrasi 19 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 19 \mu\text{M}$$
$$x = 0,950 \text{ mL} = 950 \mu\text{L}$$

6) Konsentrasi 23 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 23 \mu\text{M}$$
$$x = 1,150 \text{ mL} = 1150 \mu\text{L}$$

7) Konsentrasi 27 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 27 \mu\text{M}$$
$$x = 1,350 \text{ mL} = 1350 \mu\text{L}$$

8) Konsentrasi 31 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 31 \mu\text{M}$$
$$x = 1,550 = 1550 \mu\text{L}$$

9) Konsentrasi 35 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 35 \mu\text{M}$$
$$x = 1,750 \text{ mL} = 1750 \mu\text{L}$$

10) Konsentrasi 39 μM

$$\frac{x}{10 \text{ ml}} \times 200,2 \mu\text{M} = 39 \mu\text{M}$$
$$x = 1,950 \text{ mL} = 1950 \mu\text{L}$$

Lampiran 4. 5 Perhitungan Pembuatan Reagen

1. Pembuatan TCA 20%

dibutuhkan 100 μ L TCA untuk 11 konsentrasi = 1,1 mL TCA

$$20\% = \frac{20 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = \frac{1 \text{ g}}{5 \text{ mL}}$$

Menimbang 1 gram TCA dilarutkan dalam aquadest sampai 5 mL.

2. Pembuatan Na-TBA 1%

TBA larut dalam NaOH 1 M. Untuk membuat Na-TBA 1%, dibuat larutan NaOH 1 M sebagai berikut :

$$\text{Molaritas} = \frac{\text{Massa}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{V}$$

$$1 \text{ M} = \frac{\text{Massa}}{40} \times \frac{1000}{25 \text{ mL}}$$

$$\text{Massa} = 1 \text{ gram}$$

Melarutkan 1 gram NaOH dalam aquadest sampai 25 mL.

Setelah itu, membuat larutan Na-TBA 1% :

$$1\% = \frac{1 \text{ g}}{100 \text{ mL}} = \frac{0,1 \text{ g}}{10 \text{ mL}}$$

Menimbang 0,1 gram TBA dan dilarutkan dalam NaOH 1 M samapai 10 mL.

3. Pembuatan larutan HCl 1 N

Mengencerkan HCL 12 N menjadi HCl 6 N :

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12 \text{ N} \times 5 \text{ mL} = 6 \text{ N} \times V_2$$

$$V_2 = 10 \text{ mL}$$

Memipet 5 mL HCL 12 N, dilarutkan dalam aquadest sampai 10 mL

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$6 \text{ N} \times 2 \text{ mL} = 1 \text{ N} \times V_2$$

$$V_2 = 12 \text{ mL}$$

Memipet 2 ml HCl 6 N, dilarutkan dalam 12 mL aquadest.

Lampiran 4. 6 Perhitungan Rendemen Ekstrak

1. Ekstrak Daun kepel

$$\text{Berat simplisia daun kepel} = 750 \text{ gram}$$

$$\text{Berat ekstrak daun kepel} = 164,65 \text{ gram}$$

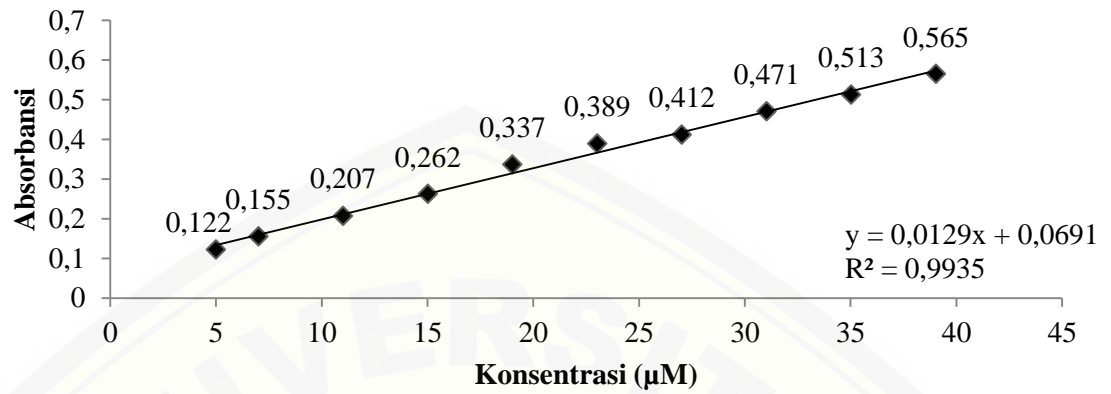
$$\text{Rendemen ekstrak daun kepel} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

$$= \frac{164,65 \text{ gram}}{750 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 21,95 \%$$



Lampiran 4. 7 Kurva baku MDA



Persamaan kurva baku :

$$y = 0,0129x + 0,0691$$

Keterangan : y = nilai absorbansi sample
x = konsentrasi malondialdehid sampel (µg/mL)

Lampiran 4. 8 Kadar Glukosa Darah

Perlakuan	Kadar Glukosa Darah Hari ke-0 (mg/dL)	Kadar Glukosa Darah Hari ke-15 (mg/dL)	% Penurunan Kadar Glukosa Darah
Kontrol Normal	101,21	107,77	-6,48
CMC-Na 1%	127,82	139,53	-9,16
	112,56	122,51	-8,84
	104,69	114,08	-8,97
Rata-rata ± SD	111,57 ± 11,83	120,98 ± 13,78	-8,36 ± 1,26
Kontrol (-)	566,10	528,32	6,67
CMC-Na 1%	208,47	399,66	-91,71
	282,42	313,17	-10,89
	184,27	304,42	-65,20
Rata-rata ± SD	310,32 ± 175,56	386,40 ± 103,92	-40,28 ± 45,95
Kontrol (+)	643,14	227,36	64,65
Glibenklamid	602,42	238,24	60,45
	437,68	191,74	56,19
	412,08	160,28	61,10
Rata-rata ± SD	523,83 ± 115,93	204,41 ± 35,49	60,60 ± 3,47
Ekstrak Daun Kepel	677,00	574,89	15,08
Dosis 50 mg/kgBB	210,78	167,64	20,47
	500,40	377,26	24,61
	222,98	192,67	13,60
Rata-rata ± SD	402,79 ± 226,51	328,12 ± 189,22	18,44 ± 5,063
Ekstrak Daun Kepel	511,29	391,89	23,35
Dosis 100 mg/kgBB	181,00	146,62	18,99
	517,34	399,66	22,75
	209,68	160,85	23,29
Rata-rata ± SD	354,83 ± 184,55	274,75 ± 139,90	22,09 ± 2,08
Ekstrak Daun Kepel	354,84	146,62	58,68
Dosis 200 mg/kgBB	231,05	135,34	41,42
	272,98	146,96	46,16
	237,50	105,87	55,42
Rata-rata ± SD	274,10 ± 56,90	133,70 ± 19,32	50,42 ± 8,00

Lampiran 4. 9 Kadar MDA Plasma

Perlakuan	Kadar MDA (μM)	Rata-rata \pm SD
Kontrol Normal CMC-Na 1%	5,022	5,273 \pm 0,231
	5,564	
	5,177	
	5,332	
Kontrol (-) CMC-Na 1%	12,45	10,709 \pm 1,320
	9,356	
	10,13	
	10,90	
Kontrol (+) Glibenklamid	6,260	6,221 \pm 0,205
	6,493	
	6,106	
	6,028	
Ekstrak Daun Kepel Dosis 50 mg/kgBB	9,047	8,3695 \pm 0,462
	8,118	
	8,273	
	8,040	
Ekstrak Daun Kepel Dosis 100 mg/kgBB	7,189	7,034 \pm 0,494
	7,112	
	7,499	
	6,338	
Ekstrak Daun Kepel Dosis 200 mg/kgBB	4,171	4,015 \pm 0,316
	4,093	
	4,248	
	3,551	

Lampiran 4. 10 Hasil Analisis Data Kadar MDA Plasma

4.9.1 Uji Normalitas

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kontrol Normal	,307	4	.	,879	4	,335
Kontrol Negatif	,192	4	.	,971	4	,850
Kontrol Positif	,215	4	.	,946	4	,689
Dosis 50 mg/kgBB	,333	4	.	,804	4	,111
Dosis 100 mg/kgBB	,312	4	.	,899	4	,428
Dosis 200 mg/kgBB	,347	4	.	,807	4	,115

a. Lilliefors Significance Correction

Makna : Nilai Sig > 0,05 pada semua kelompok, maka dapat disimpulkan bahwa data sampel terdistribusi normal.

4.9.2 Uji Homogenitas

MDA Plasma

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,594	5	18	,062

Makna : Nilai sig. > 0,05. Hal ini berarti data memiliki varian yang sama atau tidak terdapat perbedaan yang signifikan (homogen).

4.9.3 Uji *One-way Anova*

ANOVA

MDA Plasma

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	114,874	5	22,975	52,271	,000
Within Groups	7,912	18	,440		
Total	122,786	23			

Makna : Nilai sig. < 0,05. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kadar MDA plasma secara signifikan.

4.9.4 Uji *Least Significant Different* (LSD)

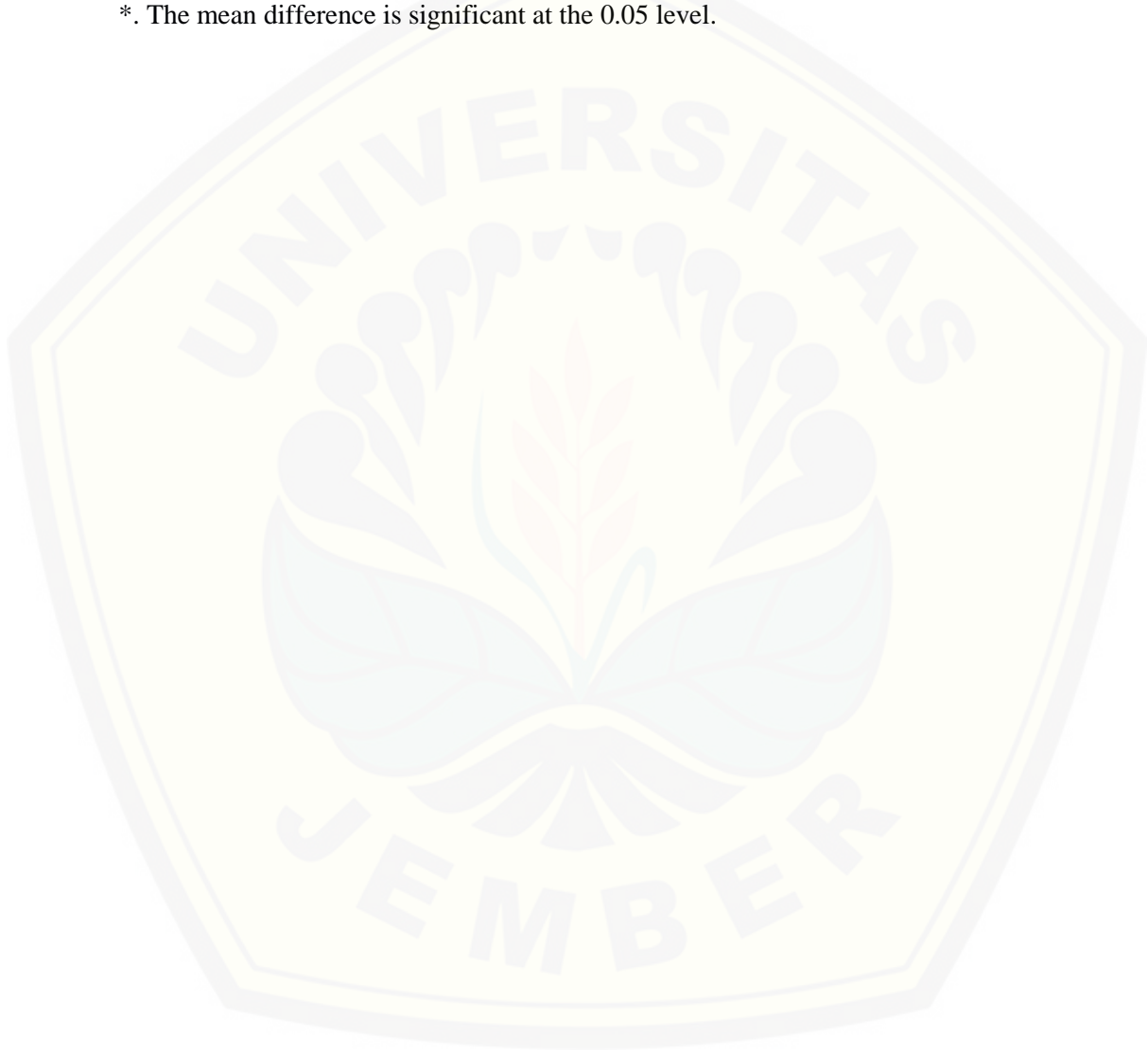
Dependent Variable: MDA Plasma

LSD


(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-5,611262 [*]	,468794	,000	-6,59616	-4,62636
	Kontrol Positif	-1,122252 [*]	,468794	,028	-2,10715	-,13735
	Dosis 50 mg/kgBB	-3,270011 [*]	,468794	,000	-4,25491	-2,28511
	Dosis 100 mg/kgBB	-1,934918 [*]	,468794	,001	-2,91982	-,95002
	Dosis 200 mg/kgBB	1,083554 [*]	,468794	,033	,09866	2,06845
Kontrol Negatif	Kontrol Normal	5,611262 [*]	,468794	,000	4,62636	6,59616
	Kontrol Positif	4,489010 [*]	,468794	,000	3,50411	5,47391
	Dosis 50 mg/kgBB	2,341251 [*]	,468794	,000	1,35635	3,32615
	Dosis 100 mg/kgBB	3,676344 [*]	,468794	,000	2,69145	4,66124
	Dosis 200 mg/kgBB	6,694816 [*]	,468794	,000	5,70992	7,67972
Kontrol Positif	Kontrol Normal	1,122252 [*]	,468794	,028	,13735	2,10715
	Kontrol Negatif	-4,489010 [*]	,468794	,000	-5,47391	-3,50411
	Dosis 50 mg/kgBB	-2,147759 [*]	,468794	,000	-3,13266	-1,16286
	Dosis 100 mg/kgBB	-,812666	,468794	,100	-1,79756	,17223
	Dosis 200 mg/kgBB	2,205807 [*]	,468794	,000	1,22091	3,19071
Dosis 50 mg/kgBB	Kontrol Normal	3,270011 [*]	,468794	,000	2,28511	4,25491
	Kontrol Negatif	-2,341251 [*]	,468794	,000	-3,32615	-1,35635
	Kontrol Positif	2,147759 [*]	,468794	,000	1,16286	3,13266
	Dosis 100 mg/kgBB	1,335093 [*]	,468794	,011	,35019	2,31999
	Dosis 200 mg/kgBB	4,353566 [*]	,468794	,000	3,36867	5,33846
Dosis 100 mg/kgBB	Kontrol Normal	1,934918 [*]	,468794	,001	,95002	2,91982
	Kontrol Negatif	-3,676344 [*]	,468794	,000	-4,66124	-2,69145
	Kontrol Positif	,812666	,468794	,100	-,17223	1,79756
	Dosis 50 mg/kgBB	-1,335093 [*]	,468794	,011	-2,31999	-,35019
	Dosis 200 mg/kgBB	3,018472 [*]	,468794	,000	2,03357	4,00337

Dosis 200 mg/kgBB	Kontrol Normal	-1,083554*	,468794	,033	-2,06845	-,09866
	Kontrol Negatif	-6,694816*	,468794	,000	-7,67972	-5,70992
	Kontrol Positif	-2,205807*	,468794	,000	-3,19071	-1,22091
	Dosis 50 mg/kgBB	-4,353566*	,468794	,000	-5,33846	-3,36867
	Dosis 100 mg/kgBB	-3,018472*	,468794	,000	-4,00337	-2,03357


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



Lampiran 4. 11 Determinasi Daun Kepel



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN
No: 95/IPH.06/HM/X/2017

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh :

1.	Nama	:	Lisa Nurul Priskasari
	NIM	:	142210101048
2.	Nama	:	Laurensia Jeany
	NIM	:	142210101057
3.	Nama	:	Nadia Rosi Nur Haliza
	NIM	:	142210101076
	Instansi	:	Fakultas Farmasi Universitas Jember.
	Tanggal material diterima	:	23 Oktober 2017

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut :

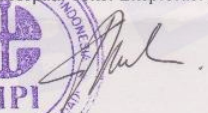
Kingdom	:	Plantae
Division	:	Magnoliophyta
Class	:	Magnoliopsida
Subclass	:	Magnoliidae
Ordo	:	Magnoliales
Family	:	Annonaceae
Genus	:	Stelechocarpus
Species	:	<i>Stelechocarpus burahol</i> (Bl.) Hook. f. & Th.

Referensi :


1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1963. Flora of Java Vol.I. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 102
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XIII
3. Verheij E.W.M. dan R.E. Coronel, tahun. 1992 PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 2; Edible fruits and nuts, Hal.290

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 30 Oktober 2017
At: Kepala
Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Ruchmawan Adi Laksono, S.Kom



Lampiran 4. 12 Dokumentasi



Pembuatan simplisia Daun Kepel
(*Stelechocarpus burahol*)



Ekstraksi serbuk daun kepel dengan
Maserasi



Menguapkan maserat dengan
rotavapor



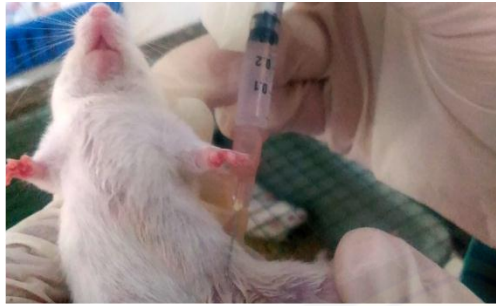
Ekstrak Daun Kepel



Kelompok perlakuan CMC-Na,
Glibenklamid dan dosis ekstrak daun kepel



Pengelompokan hewan coba



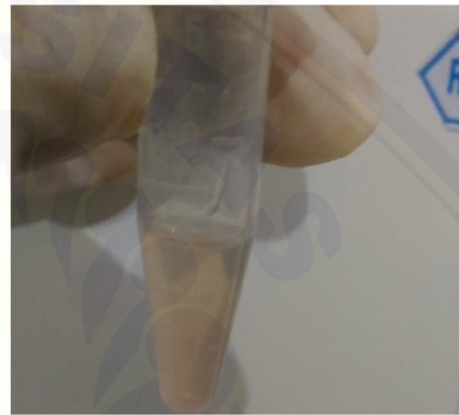
Induksi aloksan pada hewan coba



Pengambilan darah dari jantung



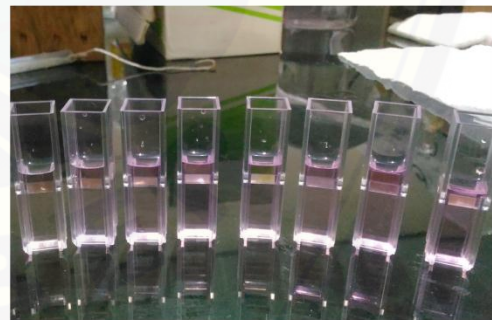
Pengukuran glukosa dengan
Fotometer



Supernatan plasma



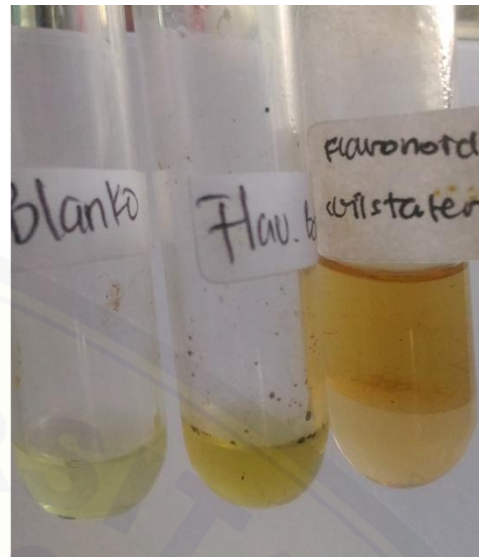
10 seri konsentrasi kurva baku



Pengukuran kadar MDA dengan
Spektrofotometer UV-Vis



Alkaloid ditandai timbulnya kekeruhan



Flavonoid ditandai timbulnya warna merah jingga



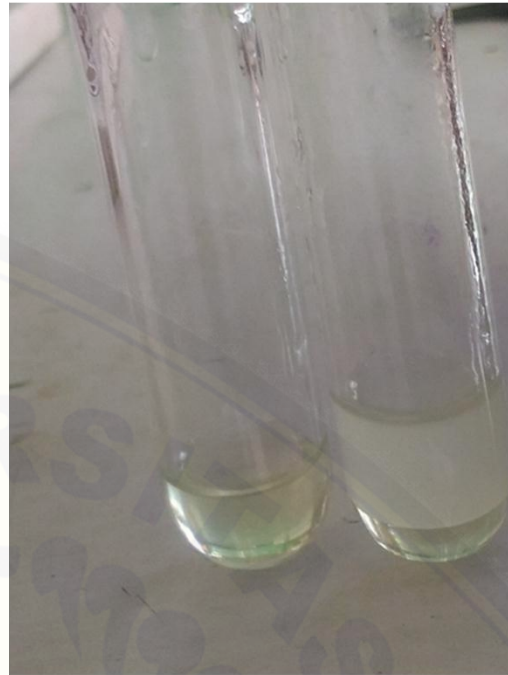
Polifenol ditandai timbulnya warna hijau biru hingga hitam



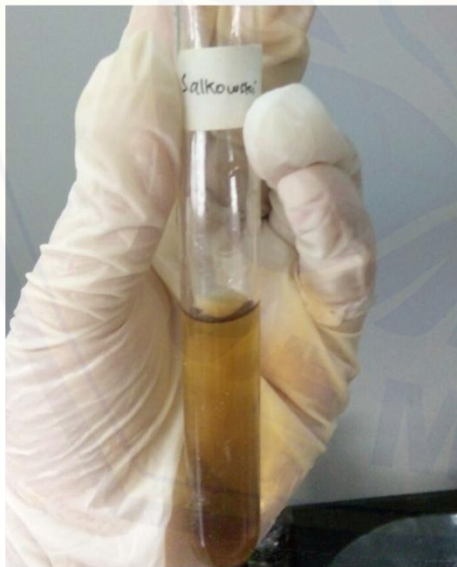
Saponin ditandai adanya buih yang stabil selama ± 30 menit



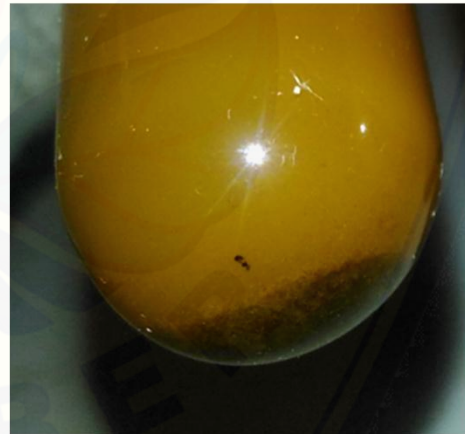
Terpenoid ditandai timbulnya warna kuning muda



Tidak terkandung Antrakuinon yang ditandai dengan warna merah muda



Steroid tak jenuh dengan timbulnya cincin berwarna merah



Tanin ditandai dengan timbulnya endapan putih