



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN  
KLUWIH (*Artocarpus camansi*) DAN GAMBARAN HISTOLOGI  
PANKREAS MENCIT JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

**SKRIPSI**

Oleh

**Yun Earning Koeswono**

**NIM 112210101059**

**BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2015**



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN  
KLUWIH (*Artocarpus camansi*) DAN GAMBARAN HISTOLOGI  
PANKREAS MENCIT JANTAN 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

**Yun Earning Koeswono**

**NIM 112210101059**

**BAGIAN FARMASI KLINIK DAN KOMUNITAS**

**FAKULTAS FARMASI**

**UNIVERSITAS JEMBER**

**2015**

**PERSEMBAHAN**

Alhamdulillah dengan bangga skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Nining Ratna Himawati dan Ayahanda Adi Koeswono yang tercinta;
2. Eyang putri Hj.Siti Rodiyah yang terkasih;
3. Guru-guru penulis sejak TK Amelia, SDN 2 Kebonsari Jember, SMP Negeri 3 Jember, SMA Negeri 2 Jember dan Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember;
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTTO**

“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”

(Q.S. Al- Mujadalah : Ayat 11)

*“Learn from yesterday, live for today, hope for tomorrow. The important thing is not to stop questioning”*

(Albert Einstein)

“Belajar adalah proses perubahan yang relatif konstan dalam tingkah laku yang terjadi karena adanya suatu pengalaman atau latihan, belajar tidak hanya mengubah pikiran dan sikap namun ada yang lebih penting yakni mengubah perilaku”

(Subekhi & Jauhar, 2013)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Yun Earning Koeswono

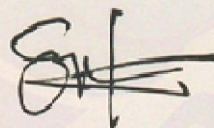
NIM : 112210101059

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*) dan Gambaran Histologi Pankreas Terhadap Mencit Jantan Yang Diinduksi Aloksan” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 11 Agustus 2015

Yang menyatakan,



Yun Earning Koeswono

NIM 112210101059

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN KLUWIH  
(*Artocarpus camansi*) DAN GAMBARAN HISTOLOGI PANKREAS MENCIT  
JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh

**Yun Earning Koeswono**

**NIM 112210101059**

Pembimbing:

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

Dosen Pembimbing Anggota : Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm.,M.Farm.,Apt



**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*) dan Gambaran Histologi Pankreas Terhadap Mencit Jantan Yang Diinduksi Aloksan” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Selasa, 11 Agustus 2015

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

**Tim Pembimbing**

Pembimbing Utama,

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

Pembimbing Anggota,

Fifteen Aprila F., S.Farm., M.Farm., Apt  
NIP 198204152006042002

**Tim Penguji**

Penguji I,

Afifah Machlaurin, S.Farm., M.Sc., Apt  
NIP 198501262008012003

Penguji II,

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

Mengesahkan

Dekan,



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

**RINGKASAN**

**Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*) dan Gambaran Histologi Pankreas Terhadap Mencit Jantan Yang Diinduksi Aloksan**; Yun Earning Koeswono; 112210101059; 2015; 67 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diabetes Melitus (DM) adalah suatu sindrom dengan terganggunya metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Hal tersebut disebabkan oleh berkurangnya sekresi insulin atau penurunan sensitivitas jaringan terhadap insulin. Meningkatnya jumlah penderita DM setiap tahunnya, bahaya DM hingga merusak jaringan pankreas, serta biaya pengobatan DM yang mahal terutama jika disertai dengan komplikasi klinis mendorong peneliti untuk mencari obat tradisional yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan. Salah satu spesies tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat antidiabetes adalah tanaman kluwih. Kandungan flavonoid sebagai antioksidan yang terkandung dalam daun kluwih diduga mampu meregenerasi sel-sel pankreas yang rusak akibat pembentukan oksigen reaktif sehingga dapat mengatasi defisiensi insulin.

Penelitian ini merupakan jenis *true experimental laboratories*, menggunakan mencit jantan galur Balb-C. Hewan uji diberi perlakuan ekstrak etanol daun kluwih selama 14 hari menggunakan tiga macam dosis yaitu 25, 50, dan 100 mg/kgBB dengan kontrol positif glibenklamid dosis 1,3 mg/kgBB. Penelitian ini menggunakan analisis data uji statistika *one way anova* untuk pengujian lebih dari satu sampel.

Berdasarkan hasil uji diperoleh ekstrak etanol daun kluwih dengan dosis 50 mg/kgBB memiliki persen penurunan kadar glukosa darah terbesar yaitu 68,99% dengan persentase kerusakan pankreas terkecil yaitu 4,06%. Kesimpulan penelitian ini bahwa ekstrak etanol daun kluwih dapat menurunkan kadar glukosa darah dan mengurangi tingkat kerusakan pada jaringan sel pulau Langerhans pankreas.



## PRAKATA

### **Bismillahirrohmanirohim**

Puji syukur ke hadirat ALLAH SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*) dan Gambaran Histologi Pankreas Terhadap Mencit Jantan Yang Diinduksi Aloksan”. Sholawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Dengan terselesaikannya skripsi ini, penulis menyadari dan mengakui bahwa upaya, doa, arahan, bimbingan, dan dukungan dari keluarga maupun dosen pembimbing serta pihak-pihak lainn yang sangat membantu dalam terselesaikannya skripsi ini. Oleh karena itu, pada kesempatan ini, dengan sepenuh hati penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada yang terhormat:

1. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari S.Si., M.Farm., Apt., atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
2. Ibu Yuni Retnaningtyas S,Si., M.Si., Apt selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa;
3. Ibu Diana Holidah, S.F., M. Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan. Ibu Fifteen Aprila Fajrin, S.Farm., M.Farm., Apt selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga dan perhatiannya dalam membantu penulisan skripsi ini.
4. Ibu Afifah Machlaurin, S.Farm., Apt., M.Sc. dan Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M. Sc., Apt. selaku dosen penguji yang telah memberikan waktu dan tenaga untuk menguji dan mengevaluasi skripsi ini;
5. Bapak dan Ibu dosen, pimpinan dan para karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang tanpa lelah telah mengamalkan ilmunya dan memperluas ilmu pengetahuan serta wawasan penulis selama menempuh masa kuliah;

6. Kedua orang tua penulis, Ibu Nining Ratna Himawati dan Bapak Adi Koeswono atas doa, semangat, dan kasih sayang tiada henti. Semoga keberhasilan sekolahku ini menjadi kebanggan untuk bapak dan ibu. Eyang dan mbah putri yang selalu mendoakan disetiap waktu;
7. Sahabat Biomed Crew (Yuni Winarni, Mely Novyyandani, Dio Alvinda, Prenagia Aldina) dan Laboran biomedik (Mbak Indri dan Mbak Dinik) terimakasih atas semangat kerja, motivasi, bantuan, dan cerita suka maupun duka selama pengerjaan skripsi dan penelitian ini;
8. Ibu Widi dan Mbak Anggra selaku laboran biologi farmasi, terimakasih atas bantuannya selama ini dalam proses pembuatan ekstrak;
9. Sepupu Mbah Ampong (Dek Nana, Dek Vani, Mas Wahyu, Dek Riyan, Dek Diva) yang selalu memberikan semangat ketika berada di Jember;
10. Sahabat kembar (Mely Novyyandani) terimakasih telah berbagi cerita selama 4 tahun dibangku kuliah, canda, tawa, suka, maupun duka akan selalu terkenang dihati;
11. Sahabat SMA (Lathiefa Rusli) yang selama ini selalu memberikan nasihat yang berarti;
12. Mas Novan Eko S., terimakasih untuk semangat, bantuan, bimbingan, dan kesabaran yang diberikan dalam pengerjaan skripsi ini;
13. Sahabat seangkatan ASMEF 2011 Fakultas Farmasi Universitas Jember;
14. Sahabat ketawa dan curhat dikampus (Mely, Sendi, Habibi, Iik, Iim, Moly, Alan, Alfia, Zuhro, Tintia, Rere, Dio, Yuni, Tante Dewi, Om Tri, Vita Ariati, Estika, Meyladia, dan masih banyak lain yang tidak dapat disebutkan satu persatu) Terimakasih buat canda tawanya tentang berbagai hal yang pernah ada;
15. Sahabat Kumpul (Mely, Iim, Bang Udin), terimakasih telah memberikan motivasi dan semangat.
16. Sahabat MPM angkatan 2014 (Alifia, Elisa, Yuni, Iik, Nikma, Aslyni, Fitria, Dhani, Nora, Uswah, Muffit, Hawwin, Alyu, Cila, Istiyam, Rifqi, Edwin, Ayunda);

17. Sahabat KKN Kecamatan Mlandingan (Fina, Dian, Luki, Wawan, Jamal, Santi, Intan, Reza, Bima, Nikma, Alifia, Dio);
18. Serta semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu atas bantuan dan perhatiannya baik langsung maupun tidak langsung serta inspirasi bagi penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 11 Agustus 2015

Penulis

**DAFTAR ISI**

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN BIMBINGAN</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	ix
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xv
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xvii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	4
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	4
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
<b>2.1 Tinjauan Tanaman Kluwih</b> .....	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman .....	5
2.1.2 Deskripsi Morfologi .....	6
2.1.3 Kandungan Kimia dan Kegunaan Daun Kluwih .....	6
<b>2.2 Ekstrak</b> .....	7
<b>2.3 Tinjauan Tentang Diabetes Melitus(DM)</b> .....	8
2.3.1 Definisi Diabetes Melitus (DM).....	8



2.3.2	Diagnosis Diabetes Melitus .....	8
2.3.3	Klasifikasi Diabetes Melitus.....	9
2.3.4	Manifestasi Diabetes Melitus .....	11
2.3.5	Faktor Penyebab Diabetes Melitus .....	12
2.3.6	Hormon Insulin.....	13
<b>2.4</b>	<b>Tinjauan Tentang Pankreas .....</b>	<b>16</b>
<b>2.5</b>	<b>Tinjauan Tentang Obat Antidiabetes .....</b>	<b>17</b>
<b>2.6</b>	<b>Tinjauan Tentang Glibenklamid.....</b>	<b>19</b>
<b>2.7</b>	<b>Tinjauan Tentang Aloksan .....</b>	<b>20</b>
<b>BAB 3.</b>	<b>METODE PENELITIAN.....</b>	<b>22</b>
<b>3.1</b>	<b>Jenis Penelitian.....</b>	<b>22</b>
<b>3.2</b>	<b>Waktu dan Tempat Penelitian.....</b>	<b>22</b>
<b>3.3</b>	<b>Penentuan Populasi Sampel.....</b>	<b>22</b>
<b>3.4</b>	<b>Rancangan Penelitian.....</b>	<b>23</b>
<b>3.5</b>	<b>Bahan dan Alat Uji .....</b>	<b>25</b>
3.5.1	Bahan Uji.....	25
3.5.2	Alat Uji .....	25
<b>3.6</b>	<b>Hewan Uji.....</b>	<b>25</b>
<b>3.7</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>25</b>
3.7.1	Variabel Bebas.....	25
3.7.2	Variabel Terikat.....	25
3.7.3	Variabel Terkendali .....	26
<b>3.8</b>	<b>Definisi Operasional Penelitian .....</b>	<b>26</b>
<b>3.9</b>	<b>Prosedur Kerja.....</b>	<b>27</b>
3.9.1	Tahapan Persiapan.....	27
3.9.2	Perlakuan Terhadap Hewan Coba .....	28
3.9.3	Pembuatan Preparat Pankreas.....	30
<b>3.10</b>	<b>Analisis Data .....</b>	<b>32</b>
<b>3.11</b>	<b>Skema Kerja.....</b>	<b>33</b>

3.11.1 Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kluwih.....	33
3.11.2 Skema Penelitian .....	34
3.11.3 Skema Alur Pembuatan Preparat Pankreas .....	35
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1 Hasil dan Analisis Data .....</b>	<b>36</b>
4.1.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kluwih .....	36
4.1.2 Perlakuan terhadap Hewan Coba.....	36
<b>4.2 Pembahasan .....</b>	<b>41</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>47</b>
<b>5.1 Kesimpulan.....</b>	<b>47</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>47</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>48</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>53</b>

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Kategori status glukosa darah .....	9
2.2 Faktor dan kondisi yang meningkatkan atau mengurangi sekresi insulin.....	15
2.3 Penggolongan obat hipoglikemik oral.....	18
4.1 Rendemen ekstrak etanol daun kluwih.....	36
4.2 Rata-rata kadar glukosa darah mencit sebelum dan sesudah perlakuan .....	36
4.3 Persentase penurunan kadar glukosa darah mencit .....	37
4.4 Persentase kerusakan pankreas mencit DM setelah pemberian perlakuan .....	39

**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Tanaman kluwih ( <i>Artocarpus camansi</i> ).....	6
2.2 Anatomi fisiologi pulau Langerhans dalam kelenjar pankreas .....	16
2.3 Histologi pulau Langerhans pankreas mencit normal dan hiperglikemi dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin.....	17
2.4 Struktur kimia glibenklamid.....	19
2.5 Struktur kimia aloksan .....	20
3.1 Skema rancangan penelitian.....	23
3.2 Skema pembuatan ekstrak etanol daun kluwih .....	33
3.3 Skema alur penelitian aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun kluwih .....	34
3.4 Skema pembuatan preparat pankreas .....	35
4.1 Histologi jaringan pankreas mencit hasil pewarnaan HE kelompok normal, kelompok negatif, positif, dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB .....	38



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Perhitungan Dosis Aloksan 210 mg/kgBB .....	54
B. Perhitungan Dosis Dan Volume Suspensi Uji Yang Diberikan Pada Hewan Coba .....	55
C. Data Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kluwih dan Pansen Kerusakan Pankreas Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan perlakuan Dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB .....	59
D. Hasil Uji One Way Anova Kadar Glukosa Darah .....	62
E. Hasil Uji One Way Anova Pansen Kerusakan Pankreas .....	65
F. Gambar Penelitian .....	67

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) adalah suatu sindrom dengan terganggunya metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Hal tersebut disebabkan oleh berkurangnya sekresi insulin atau penurunan sensitivitas jaringan terhadap insulin dan menghasilkan komplikasi kronis termasuk penyakit mikrovaskuler, makrovaskular dan gangguan saraf (Guyton and Hall, 2006; Dipiro *et al.*, 2008).

Perkembangan jaman yang semakin maju dan modern menyebabkan terjadinya perubahan gaya hidup sehingga berpengaruh terhadap pola hidup sehat pada masyarakat. Permasalahan kesehatan yang dihadapi masyarakat sebagai akibat pola hidup tidak sehat seperti penyakit tidak menular yang menyerang pada berbagai umur yaitu DM dan di beberapa negara berkembang prevalensi DM semakin meningkat.

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu bahaya utama bagi kesehatan manusia pada abad ke-21. Secara epidemiologi, diperkirakan bahwa pada tahun 2000 jumlah pengidap DM berjumlah 171 juta orang dan pada tahun 2030 jumlah tersebut akan meningkat menjadi 366 juta orang. Negara berkembang seperti Indonesia menempati urutan ke-4 jumlah penderita DM setelah India, Cina, dan Amerika sebanyak 8,4 juta orang pada tahun 2000 dan 21,3 juta pada tahun 2030. Prevalensi DM di Indonesia yang terdiagnosis dokter pada tahun 2013 sebesar 2,1% dan daerah prevalensi tertinggi terdapat di DI Yogyakarta (2,6%), DKI Jakarta (2,5%), Sulawesi Utara (2,4%), dan Kalimantan Timur (2,3%). Penderita DM di Amerika pada tahun 2012 mendekati 29,1 juta orang, sedangkan biaya pengobatan dan perawatan penyakit tersebut mencapai \$245.000.000 (Wild *et al.*, 2004; Sudoyo *et al.*, 2006; Dipiro *et al.*, 2008; Trihono, 2013; ADA, 2014).

Penderita DM pada umumnya mengalami gangguan sekresi insulin maupun resistensi insulin. Insulin disintesis oleh sel-sel beta pankreas, jika terjadi peningkatan kadar glukosa darah berulang maka dapat merusak jaringan pankreas. Kerusakan jaringan pankreas kronik dapat memperparah kondisi DM. Meningkatnya jumlah penderita DM setiap tahunnya, bahaya DM hingga merusak jaringan pankreas, serta biaya pengobatan DM yang mahal terutama jika disertai dengan komplikasi klinis mendorong peneliti untuk mencari obat tradisional yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan

Sejak jaman dahulu masyarakat Indonesia sudah mengenal dan memanfaatkan tanaman sebagai obat untuk mengobati beberapa penyakit. Salah satu spesies tanaman yang memiliki khasiat sebagai obat antidiabetes adalah tanaman kluwih. Tanaman kluwih yang termasuk genus *Artocarpus* dipilih dalam penelitian ini karena mudah ditemukan di Indonesia dan tersebar luas di daerah tropis lain. Terdapat dua variasi bentuk yang terjadi pada genus *Artocarpus*, yaitu kultivar yang tidak berbiji (*seedless*) atau sukun yang disebut juga *breadfruit* dan kultivar yang berbiji (*seeded*) atau kluwih yang disebut juga *breadnut* (Indrowati *et al.*, 2005).

Genus *Artocarpus* kaya kandungan senyawa fenol yang termasuk flavonoid, stilbenoid, dan arilbenzofuron. Sedangkan daun spesies *Artocarpus camansi* dapat digunakan untuk penyembuhan penyakit sirosis, hipertensi dan DM. Penduduk Nigeria Barat dulunya menggunakan tanaman dari genus *Artocarpus* sebagai terapi pengobatan penyakit DM (Jagtapet *et al.*, 2010).

Simplisia dan ekstrak etanol daun kluwih mengandung alkaloid, flavonoid, tannin, glikosida, antrakuinon dan steroid/triterpenoid. Hasil ekstraksi daun kluwih yang diekstraksi secara maserasi menggunakan etanol 96% menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi glukosa. Dosis 50 dan 100 mg/kg bb menghasilkan efek antidiabetes yang lebih baik dibandingkan dengan dosis 200 dan 400 mg/kgBB. Ekstrak etanol daun kluwih pada dosis 50 mg/kg bb menunjukkan efek yang paling baik terhadap penurunan kadar glukosa darah (Marianne *et al.*, 2011).

Peningkatan kadar glukosa darah (*hiperglikemia*) dapat menyebabkan perubahan histologi pada pulau Langerhans dalam jaringan pankreas, melalui efek pembentukan oksigen reaktif secara langsung pada sel  $\beta$  yang menyusun sebagian besar massa sel endokrin pulau Langerhans (Farid *et al.*, 2014). Kandungan flavonoid sebagai antioksidan yang terkandung dalam daun kluwih diduga mampu meregenerasi sel-sel pankreas yang rusak akibat pembentukan oksigen reaktif sehingga dapat mengatasi defisiensi insulin, oleh karena itu dilakukan pengamatan terhadap gambaran histologi pankreas agar dapat mengetahui seberapa besar perubahan sel-sel pankreas di tingkat seluler yang tidak tampak oleh pengamatan makroskopik setelah diberikan ekstrak etanol daun kluwih. Organ yang diperiksa yaitu organ pankreas mencit karena pankreas merupakan tempat dimana insulin diproduksi (Akrom *et al.*, 2014).

Penelitian tentang khasiat daun kluwih masih jarang dilakukan dan sangat terbatas, oleh karena itu berdasarkan uraian diatas, perlu dilakukan penelitian uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun kluwih (*Artocarpus camansi*) dan gambaran histologi pankreas pada mencit jantan yang diinduksi aloksan sehingga diperoleh informasi mengenai efek farmakologi yang dihasilkannya dalam terapi DM.

## 1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, dapat dirumuskan permasalahan yang perlu diteliti adalah sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak etanol daun kluwih (*Artocarpus camansi*) dapat menurunkan kadar glukosa darah dan mengurangi kerusakan pulau Langerhans pankreas mencit diabetes yang diinduksi aloksan?
2. Bagaimana perbedaan kadar glukosa darah mencit diabetes setelah pemberian ekstrak etanol daun kluwih (*Artocarpus camansi*) pada dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB.



### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui penurunankadar glukosa darah dan perbaikan kerusakan pulau Langerhans mencit diabetes yang diinduksi aloksan setelah pemberian ekstrak etanol daun kluwih (*Artocarpus camansi*).
2. Mengetahui perbedaan kadar glukosa darah mencit diabetes yang dihasilkan setelah pemberian ekstrak etanol daun kluwih (*Artocarpus camansi*) pada dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait potensi ekstrak etanol daun kluwih (*Artocarpus camansi*) sebagai obat antidiabetes yang berasal dari alam, sehingga ekstrak etanol daun kluwih dapat digunakan sebagai pertimbangan dalam formulasi sediaan farmasi.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan Tentang Kluwih

#### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Genus *Artocarpus* tersebar di Asia daerah bagian tropis dan subtropis (Akhil *et al.*, 2014). Kluwih berasal dari Papua Nugini, Indonesia, dan Filipina. Maluku merupakan salah satu daerah sebaran kluwih di Indonesia. Tanaman tersebut terdapat di daerah dataran rendah, beberapa pohonnya juga tersebar di New Caledonia, Pohnpei, Marquesas, Tahiti, Palau, dan Hawaii (Ragone, 2006).

Klasifikasi kluwih adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
- Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
- Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
- Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
- Kelas : Magnoliopsida (Berkeping dua / dikotil)
- Sub Kelas : Dilleniidae
- Ordo : Urticales
- Famili : Moraceae (suku nangka-nangkaan)
- Genus : *Artocarpus*
- Spesies : *Artocarpus camansi* (Park.) Fsb  
(Plantamor, 2015)



Gambar 2.1 Tanaman Kluwih (*Artocarpus camansi*) (Plantamor, 2015).

### 2.1.2 Deskripsi Morfologi

Pohon kluwih memiliki ketinggian 10-15 meter dengan ukuran batang sepanjang 1-5 meter. Bunga berumah satu dengan bunga jantan dan betina pada pohon yang sama di ujung cabang. Daun memiliki panjang 40-60 cm, dan dapat mencapai 4-6 lobus dalam satu tangkai. Buah berdaging besar dengan berat sekitar 800 gram, berbentuk oval atau bulat telur, panjang 13-20 cm dan diameter 7-12 cm. Kulit buah berwarna hijau kusam dan hijau kuning saat matang dengan tekstur berduri (Ragone, 2006).

### 2.1.3 Kandungan Kimia dan Kegunaan Daun Kluwih

Menurut Marianne *et al.* (2011) berdasarkan hasil skrining fitokimia, simplisia dan ekstrak etanol daun kluwih mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, glikosida, glikosida antrakuinon dan steroid/triterpenoid. Menurut Indrowati *et al.* (2005) telah terdeteksi adanya flavonoid pada ekstrak etanol daun kluwih yang tampak sebagai bercak kuning dengan uap amoniak pada KLT. Flavonoid yang terkandung dalam daun kluwih diduga berperan secara signifikan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan mampu meregenerasi sel-sel  $\beta$  pankreas yang rusak sehingga defisiensi insulin dapat diatasi. Flavonoid yang terkandung di dalam

tumbuhan diduga juga dapat memperbaiki daya kerja reseptor insulin, sehingga memberikan efek yang menguntungkan pada keadaan DM (Marianne *et al.*, 2011). Daun dari genus *Artocarpus* bisa digunakan untuk pengobatan penyakit kulit, asma, diabetes, dan batu empedu (Hari *et al.*, 2014). Menurut Jagtapet *al.*(2010)daun spesies *Artocarpus camansi* dapat digunakan untuk penyembuhan penyakit sirosis, hipertensi dan DM.

## 2.2 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok, diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Depkes RI, 2009). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dengan menggunakan pelarut etanol. Maserasi atau *steady-state extraction* adalah proses menempatkan simplisia kasar dalam wadah tertutup dan merendamnya dengan pelarut yang sesuai. Pelarut bekerja dengan cara berdifusi melalui dinding sel tanaman untuk melarutkan konstituen dalam sel dan menarik larutan di dalam sel untuk berdifusi keluar. Pengadukan membantu proses difusi dan memastikan penyebaran pelarut terakumulasi di sekitar permukaan partikel. Pengulangan proses maserasi (*remaserasi*) lebih efisien daripada proses maserasi tunggal, hal ini terjadi karena terdapat kemungkinan sejumlah senyawa aktif masih tertinggal pada saat maserasi pertama. Pengulangan maserasi digunakan ketika senyawa aktif sangat sedikit dan tanaman mengandung minyak atsiri (Handa, 2008).

Etanol sebagai pelarut atau cairan penyari karena etanol merupakan penyari umum, bertujuan agar semua senyawa yang terdapat dalam daun kluwih dapat terekstraksi. Etanol memiliki karakteristik, yaitu titik didih 78,5 °C, tetapan dielektrik sebesar 24,3 pada suhu 20°C dan viskositas 1,2 pada suhu 20°C (Indrowati, 2012).



## 2.3 Tinjauan Tentang Diabetes Melitus (DM)

### 2.3.1 Definisi Diabetes Melitus (DM)

Diabetes Melitus (DM) adalah gangguan metabolisme yang secara genetis dan klinis termasuk suatu kelompok penyakit heterogen dengan manifestasi berupa hilangnya toleransi karbohidrat, terganggunya metabolisme lemak maupun protein (Price *et al.*, 1994). Menurut Sudoyo *et al.* (2006) DM merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya. Hiperglikemia kronik pada diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi atau kegagalan beberapa organ tubuh, terutama mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah. *World Health Organization* (WHO) mendefinisikan DM secara umum sebagai suatu kumpulan problema anatomik dan kimiawi akibat dari sejumlah faktor seperti defisiensi insulin absolut/relatif dan gangguan fungsi insulin. Menurut Muchid *et al.* (2005) DM didefinisikan sebagai suatu penyakit gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel-sel  $\beta$ Langerhans kelenjar pankreas, atau disebabkan kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin.

### 2.3.2 Diagnosis Diabetes Melitus (DM)

Diagnosis klinis DM umumnya dilakukan jika terdapat keluhan khas DM berupa *poliuria*, *polidipsia*, *polifagia*, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya. Apabila ada keluhan khas, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu  $> 200$  mg/dl sudah cukup untuk menegakan diagnosis DM. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa  $\geq 126$  mg/dl juga dapat digunakan sebagai patokan diagnosis DM (Muchid *et al.*, 2005). Lebih jelasnya dapat dilihat pada tabel 2.1 kriteria penerimaan glukosa darah.



Tabel 2.1 Kategori status glukosa darah

	Glukosa plasma puasa	Glukosa plasma 2 jam setelah makan.
<b>Normal</b>	< 100 mg/dl	< 140 mg/dl
<b>Gangguan glukosa puasa.</b>	100-125 mg/dl	-
<b>Gangguan toleransi glukosa</b>	-	140 – 199 mg/dl
<b>Diabetes Mellitus (DM)</b>	$\geq$ 126 mg/dl	$\geq$ 200 mg/dl

(Dipiro *et al.*, 2008)

### 2.3.3 Klasifikasi Diabetes Melitus (DM)

Klasifikasi DM adalah sebagai berikut :

#### a. Diabetes Melitus (DM) Tipe 1

DM tipe 1 diakibatkan karena kerusakan autoimun sel-sel  $\beta$  pankreas. Bentuk DM ini biasanya terjadi pada anak-anak dan remaja, namun hal ini juga dapat terjadi pada semua usia (Dipiro *et al.*, 2008). Reaksi autoimunitas terhadap sel  $\beta$  islet timbul secara spontan atau dipicu oleh suatu kejadian lingkungan yang mengubah sel  $\beta$  sehingga sel ini menjadi imunogenik dan DM muncul setelah sebagian besar sel beta rusak. Penderita DM tipe 1 bergantung terhadap insulin, tanpa insulin mereka akan menderita penyakit metabolik yang parah seperti ketoasidosis akut dan koma (Kumar *et al.*, 2004).

Penderita DM tipe 1 selain mengalami defisiensi insulin, fungsi sel-sel  $\alpha$  kelenjar pankreas pada penderita DM tipe 1 juga menjadi tidak normal. Ditemukan sekresi glukagon yang berlebihan oleh sel-sel  $\alpha$  pulau Langerhans. Secara normal, hiperglikemia akan menurunkan sekresi glukagon, namun pada penderita DM tipe 1 hal ini tidak terjadi, sekresi glukagon tetap tinggi walaupun dalam keadaan hiperglikemia. Hal ini memperparah kondisi hiperglikemia (Muchid *et al.*, 2005).

## b. Diabetes Melitus (DM) Tipe 2

DM tipe 2 merupakan tipe yang lebih umum, lebih banyak penderitanya dibandingkan dengan DM tipe 1. Penderita DM tipe 2 mencapai 90-95% dari keseluruhan populasi penderita DM, umumnya berusia diatas 45 tahun, namun akhir-akhir ini penderita DM tipe 2 pada kalangan remaja dan anak-anak populasinya meningkat (Muchid *et al.*, 2005).

DM tipe 2 diakibatkan karena resistensi insulin dan kurangnya sekresi insulin, dimana sekresi insulin menurun secara terus menerus. DM tipe 2 dikaitkan dengan dengan peningkatan konsentrasi insulin plasma, hal ini terjadi sebagai upaya kompensasi oleh sel  $\beta$  pankreas terhadap penurunan sensitivitas jaringan terhadap efek metabolisme insulin, yaitu kondisi yang dikenal sebagai resistensi insulin. Penurunan sensitivitas insulin mengganggu penggunaan dan penyimpanan karbohidrat, yang kemudian akan meningkatkan kadar gula darah. Perkembangan resistensi insulin dan gangguan metabolisme glukosa biasanya terjadi secara bertahap, yang dimulai dengan peningkatan berat badan dan obesitas. Efek tambahan dari DM tipe 2 timbulnya penyakit hipertensi, dislipidemia (tingginya trigliserida dan rendahnya HDL kolestrol), dan makrovaskuler (Guyton and Hall, 2006; Dipiro *et al.*, 2008).

## c. Diabetes Melitus (DM) Tipe Lain

DM tipe lain adalah penyakit gangguan metabolik yang ditandai oleh kenaikan kadar gula darah akibat defek genetik fungsi sel beta, defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, endokrinopati, karena obat atau zat kimia, infeksi, sebab imunologi yang jarang, dan sindrom genetik lain yang berkaitan dengan DM (Yusharmen, 2008).

DM jenis ini sering ditemukan di daerah tropis dan negara berkembang. Di daerah tertentu kasus DM tipe lain lebih banyak disebabkan oleh adanya malnutrisi disertai kekurangan protein. Jumlah penderita DM tipe ini dimasa mendatang masih akan terus meningkat, mengingat jumlah penduduk yang berada dibawah garis

kemiskinan masih tinggi. Menurut survei yang telah dilakukan di daerah Jawa Timur, didapatkan bahwa prevalensi DM tipe lain yang dikarenakan penderita malnutrisi di pedesaan adalah 1,47% (Sudoyo *et al.*, 2006).

#### d. Diabetes Melitus (DM) Gestational

DM gestational adalah penyakit gangguan metabolik yang ditandai oleh kenaikan kadar gula darah yang terjadi pada wanita hamil, hal tersebut terjadi peningkatan sekresi berbagai hormon disertai pengaruh metaboliknya terhadap toleransi glukosa. Penderita DM gestational mencapai angka 2-5% dari keseluruhan populasi penderita DM. DM tipe ini penting untuk diketahui karena dampaknya terhadap janin kurang baik bila tidak ditangani dengan benar (Price *et al.*, 1994; Sudoyo *et al.*, 2006; Yusharmen, 2008).

DM gestational pada umumnya terdeteksi pada atau setelah trimester kedua. DM dalam masa kehamilan dapat pulih dengan sendiri beberapa saat setelah melahirkan, namun dapat berakibat buruk terhadap bayi yang dikandung. Akibat buruk yang terjadi antara lain malformasi kongenital, peningkatan berat badan bayi ketika lahir dan meningkatnya risiko mortalitas perinatal. Disamping itu, wanita yang pernah menderita DM gestational akan lebih besar risikonya untuk menderita lagi DM di masa depan. Kontrol metabolisme yang ketat dapat mengurangi risiko-risiko tersebut (Muchid *et al.*, 2005).

#### 2.3.4 Manifestasi Klinis Diabetes Melitus (DM)

Manifestasi klinis DM dikaitkan dengan konsekuensi metabolik defisiensi insulin. Pasien-pasien yang mengalami defisiensi insulin tidak dapat mempertahankan kadar glukosa plasma puasa yang normal, atau toleransi glukosa sesudah makan karbohidrat. Jika hiperglikeminya parah dan melebihi ambang ginjal, maka timbul glukosuria. Glukosuria ini akan mengakibatkan diuresis osmotik yang meningkatkan pengeluaran kemih (*poliuria*) dan timbul rasa haus (*polidipsia*). Karena glukosa hilang bersama kemih, maka pasien mengalami keseimbangan kalori

negatif dan berat badan berkurang. Rasa lapar semakin besar (*polifagia*) mungkin akan timbul sebagai akibat kehilangan kalori. Selain itu pasien merasa lelah dan mengantuk (Price *et al.*, 1994).

Pada DM tipe 1 gejala klasik yang umum dikeluhkan adalah *poliuria*, *polidipsia*, *polifagia*, penurunan berat badan, cepat merasa lelah (*fatigue*), *iritabilitas*, dan *pruritus* (gatal-gatal pada kulit). Pada DM tipe 2 gejala yang dikeluhkan umumnya hampir tidak ada. DM tipe 2 seringkali muncul tanpa diketahui, dan penanganan baru dimulai beberapa tahun kemudian ketika penyakit sudah berkembang dan komplikasi sudah terjadi. Penderita DM tipe 2 umumnya lebih mudah terkena infeksi, sukar sembuh dari luka, daya penglihatan semakin buruk, hingga menderita hipertensi, hiperlipidemia, obesitas, dan juga komplikasi pada pembuluh darah dan syaraf (Muchid *et al.*, 2005).

#### 2.3.5 Faktor Penyebab Diabetes Melitus (DM)

Faktor-faktor yang berhubungan dengan peningkatan prevalensi DM di Indonesia antara lain perubahan pola makan masyarakat, peningkatan jumlah anak obesitas, urbanisasi, kebiasaan merokok dan kurang berolahraga. Obat-obat tertentu dapat menyebabkan meningkatnya kadar glukosa darah dan mengakibatkan hiperglikemia pada penderita prediabetes. Obat-obat tersebut antara lain golongan glukokortikoid (kortison dan prednison), thiazide diuretik (*hidroklorthiazide*) dan epinefrin (Kamienski *et al.*, 2006; Akrom *et al.*, 2014).

Terdapat beberapa faktor yang menyebabkan DM, yaitu sebagai berikut.

##### a. Genetik atau Faktor Keturunan

Para ahli kesehatan menyebutkan bahwa sebagian besar diabetisi memiliki riwayat keluarga penderita DM. Penderita DM sekitar 6% berasal dari keluarga yang menderita DM. Tercatat sekitar 40% kedua orang kembar identik mengalami penyakit DM. DM yang dipengaruhi oleh genetik pada umumnya terjadi pada keturunan Eropa Utara dan jarang terjadi pada



kelompok ras lain termasuk kulit hitam, Spanyol, Amerika, dan Asia. DM merupakan penyakit yang terpaut kromosom seks. (Kumar *et al.*, 2004).

b. Virus dan Bakteri

Virus yang diduga menyebabkan DM adalah virus penyakit gondok (*mumps*), *coxsackievirus B4*, *parotitis*, *campak*, *rubella*, dan *mononukleosis infeksiosa*. Virus tersebut menyebabkan kerusakan genetik sehingga fungsi sel beta pankreas mengalami predisposisi dan terjadi kegagalan untuk memproduksi insulin. Pada keadaan tersebut, suatu antigen virus memicu serangan autoimun terhadap antigen sel  $\beta$  dan menimbulkan kerusakan langsung pada sel  $\beta$  sehingga merangsang respon imun terhadap antigen dari sel  $\beta$  yang mengalami perubahan (Katzung, 2002; Kumar *et al.*, 2004).

c. Bahan Toksik atau Beracun

Terdapat beberapa bahan toksik yang mampu merusak sel beta secara langsung, yakni *alloxan*, *pyrinuron (rodentisida)*, dan *streptozotocin* (produk sejenis jamur). Bahan toksik lain berasal dari singkong. Singkong merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis, merupakan sumber kalori utama penduduk di kawasan tertentu. Singkong mengandung sianida sehingga memberi efek toksik terhadap jaringan tubuh. Penelitian menunjukkan bahwa sianida dapat menyebabkan kerusakan pankreas yang akhirnya menimbulkan gejala DM jika disertai dengan kekurangan protein. Karenanya, protein dibutuhkan dalam proses detoksikasi sianida (Sudoyo *et al.*, 2006).

### 2.3.6 Hormon Insulin

Insulin adalah hormon yang terdiri dari rangkaian asam amino, dihasilkan oleh sel beta kelenjar pankreas. Dalam keadaan normal, bila ada rangsangan pada sel  $\beta$ , insulin disintesis dan kemudian disekresikan ke dalam darah sesuai kebutuhan tubuh untuk keperluan regulasi glukosa darah. Insulin pada manusia merupakan suatu



protein berukuran kecil dengan berat molekul 5808, mengandung 51 asam amino yang tersusun dalam dua rantai (A dan B) yang dihubungkan dengan jembatan disulfida. Sintesis insulin dimulai dalam bentuk preproinsulin (*precursor* hormon insulin) pada retikulum endoplasma sel  $\beta$ . Dengan bantuan enzim peptidase, preproinsulin mengalami pemecahan sehingga terbentuk proinsulin, yang kemudian diproses dalam badan (*apparatus*) Golgi dan dikemas dalam granula. Proinsulin tersebut akan diurai menjadi insulin dan peptida-C, yang keduanya sudah siap untuk disekresikan secara bersamaan melalui membran sel (Katzung, 2002; Sudoyo *et al.*,2006).

Kadar glukosa darah yang meningkat merupakan komponen utama yang memberi rangsangan terhadap sel  $\beta$  memproduksi insulin. Terdapat beberapa tahapan dalam proses sekresi insulin. Hiperglikemia menyebabkan peningkatan kadar ATP intraseluler, sehingga mengaktifkan penutupan *K channel* yang terdapat pada membran sel. Penurunan arus keluarnya ion K melalui kanal menyebabkan depolarisasi sel  $\beta$  dan diikuti oleh proses pembukaan *Ca channel* yang tergantung voltase. Hal inilah yang memungkinkan masuknya ion Ca ke dalam kanal, sehingga meningkatkan kadar ion Ca intrasel dan memicu sekresi dari hormon insulin (Katzung, 2002; Sudoyo *et al.*,2006).

*Glucose transporter* (GLUT) adalah senyawa asam amino yang terdapat didalam berbagai sel yang berperan dalam proses metabolisme glukosa. Berfungsi sebagai “kendaraan” pengangkut glukosa masuk dari luar ke dalam sel jaringan tubuh. *Glucose transporter 2* (GLUT 2) merupakan pengangkut yang terdapat dalam sel  $\beta$  yang diperlukan dalam proses masuknya glukosa dari darah ke dalam sel melewati membran (Sudoyo *et al.*,2006).

Aksi insulin berperan penting pada berbagai proses biologis dalam tubuh terutama menyangkut metabolisme. Insulin yang disekresikan oleh sel-sel  $\beta$  pankreas akan langsung diinfusikan ke dalam hati melalui vena porta, yang kemudian didistribusikan ke seluruh tubuh melalui peredaran darah. Hormon ini berfungsi

dalam proses utilisasi glukosa pada hampir seluruh jaringan tubuh, terutama pada otot, lemak, dan hepar. Pada jaringan perifer seperti jaringan otot dan lemak, insulin berikatan dengan sejenis reseptor (*insulin receptor substrate* = IRS) yang terdapat pada membran sel. Ikatan antara insulin dan reseptor akan menghasilkan semacam signal yang berguna bagi proses regulasi atau metabolisme glukosa didalam sel otot dan lemak. Disamping fungsinya membantu transport glukosa masuk ke dalam sel, insulin berpengaruh terhadap metabolisme karbohidrat, lipid, protein, dan mineral. Insulin akan meningkatkan lipogenesis, menekan lipolisis, serta meningkatkan transport asam amino masuk ke dalam sel. Insulin juga mempunyai peran dalam modulasi transkripsi, sintesis DNA dan replikasi sel (Muchid *et al.*, 2005; Sudoyo *et al.*, 2006).

Tabel. 2.2 Faktor dan kondisi yang meningkatkan atau mengurangi sekresi insulin

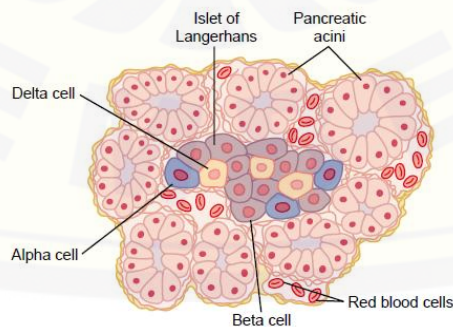
<b>Meningkatkan Sekresi Insulin</b>	<b>Menurunkan Sekresi Insulin</b>
1) Peningkatan kadar gula darah	1) Penurunan kadar glukosa darah
2) Peningkatan kadar asam lemak bebas dalam darah	2) Puasa
3) Peningkatan kadar asam amino dalam darah	3) Somatostatin
4) Hormon gastrointestinal (gastrin, kolesistokinin, sekretin, <i>gastric inhibitory peptide</i> )	4) Aktivitas $\alpha$ adrenergik
5) Glukagon, hormon pertumbuhan, kortisol	
6) Rangsangan parasimpatis; asetilkolin	
7) Rangsangan $\beta$ adrenergik	
8) Resistensi insulin; obesitas	
9) Obat-obatan sulfoniurea (glibenclamid/glyburide, tolbutamid)	

(Guyton and Hall, 2006)

## 2.4 Tinjauan Tentang Pankreas

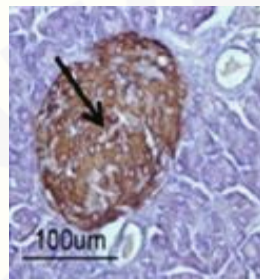
Pankreas adalah kelenjar campuran yang mengandung bagian eksokrin dan bagian endokrin. Sekitar 85% hingga 90% pankreas tersusun dari kelenjar eksokrin yang mengeluarkan enzim untuk diperlukan dalam pencernaan makanan. Sepuluh hingga lima belas persen substansi pankreas sisanya adalah kelenjar endokrin, terdiri atas pulau (*islet*) Langerhans yang mengeluarkan insulin, glukagon, dan berbagai hormon lain (Kumar, 2004).

Pankreas manusia memiliki 1-2 juta pulau Langerhans, setiap pulau Langerhans hanya berdiameter 0,3 milimeter dan tersusun mengelilingi pembuluh kapiler kecil yang merupakan tempat penampungan hormon yang disekresikan oleh sel-sel tersebut. Pulau Langerhans mengandung tiga jenis sel utama, yakni sel *alfa*, *beta* dan *delta* yang dapat dibedakan satu sama lain melalui ciri morfologi dan pewarnaannya. Sel *beta* yang mencakup 60% dari semua sel pulau berada di bagian tengah dari setiap pulau dan menyekresikan *insulin* dan *amilin*. Sel *alfa* yang mencakup 25% dari seluruh sel, menyekresikan *glukagon* sedangkan sel *delta* yang mencakup 10% dari seluruh sel menyekresikan *somasostatin*. Selain itu paling sedikit terdapat satu jenis sel lain yang disebut sel PP, terdapat dalam jumlah kecil di pulau Langerhans yakni polipeptida pankreas. Hubungan yang erat antara berbagai jenis sel yang terdapat dalam pulau Langerhans memungkinkan komunikasi dari sel ke sel dan pengaturan secara langsung sekresi beberapa jenis hormon oleh hormon lainnya (Guyton and Hall, 2006).

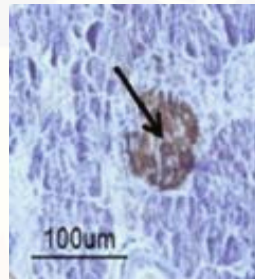


Gambar 2.2 Anatomi fisiologi pulau Langerhans dalam kelenjar pankreas (Guyton and Hall, 2006)

Secara histologis menurut penelitian Ridwan *et al.* (2012) pada mencit normal dan hiperglikemia memiliki perbedaan histologi pankreas dalam bentuk ukuran diameternya, umumnya kisaran diameter pulau Langerhans pankreas mencit normal adalah 100-400  $\mu\text{m}$  dan mencit hiperglikemia < 100  $\mu\text{m}$ .



Mencit normal



Mencit hiperglikemia

Gambar 2.3 Histologi pulau Langerhans pankreas mencit normal dan hiperglikemi dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin. Perbesaran 400x. Tanda panah ( $\rightarrow$ ) merupakan pusat dari pulau Langerhans. (Ridwan *et al.*, 2012).

Ukuran pulau Langerhans pada mencit hiperglikemia cenderung lebih kecil dibandingkan normal, diduga karena telah terjadi penurunan massa sel beta pankreas. Penurunan massa sel beta pankreas dapat disebabkan oleh kematian sel akibat efek toksik glukosa darah yang berlebih dalam waktu yang lama (Ridwan *et al.*, 2012). Kematian sel dapat terjadi karena stress oksidatif, yang disebabkan oleh peningkatan kadar kalsium intraseluler dan peningkatan beban produksi insulin oleh sel beta pulau Langerhans sebagai stimulus terhadap hiperglikemia (Farid *et al.*, 2014).

## 2.5 Tinjauan Tentang Obat Antidiabetes

Menurut Muchid *et al.* (2005) berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat hipoglikemik oral dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu :

- a. Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dan glinida (meglitinida dan turunan fenialanin).
- b. Sensitiser insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitifitas sel terhadap insulin), meliputi obat-obat hipoglikemik golongan biguanida dan



tiazolidindion yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara lebih efektif.

- c. Inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain inhibitor  $\alpha$ -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia post-prandial (*post-mealhyperglycemia*).

Berikut adalah tabel pengolongan beberapa senyawa hipoglikemik oral beserta mekanisme kerjanya.

Tabel 2.3 Penggolongan obat hipoglikemik oral

Golongan	Contoh senyawa	Mekanisme Kerja
<b>Sulfonilurea</b>	1) Gliburida/Glibenklamid 2) Glipizida 3) Glikazida 4) Glimepirida 5) Glikuidon	Merangsang sekresi insulin di kelenjar pankreas, sehingga hanya efektif pada penderita diabetes yang sel-sel $\beta$ pankreasnya masih berfungsi dengan baik
<b>Meglitinida</b>	Repaglinide	Merangsang sekresi insulin di kelenjar pancreas
<b>Turunan Fenilalanin</b>	Nateglinide	Meningkatkan kecepatan sintesis insulin oleh pancreas
<b>Biguanida</b>	Metformin	Bekerja langsung pada hati (hepar), menurunkan produksi glukosa hati. Tidak merangsang sekresi insulin oleh kelenjar pancreas
<b>Tiazolidindion</b>	1) Rosiglitazone 2) Troglitazone 3) Pioglitazone	Meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin. Berikatan dengan PPAR $\gamma$ ( <i>peroxisome proliferator activated receptor-gamma</i> ) di otot, jaringan lemak, dan hati untuk menurunkan resistensi insulin.
<b>Inhibitor <math>\alpha</math> – glukosidase</b>	1) Acarbose 2) Miglitol	Menghambat kerja enzim-enzim pencernaan yang mencerna karbohidrat, sehingga memperlambat absorpsi glukosa ke dalam darah.

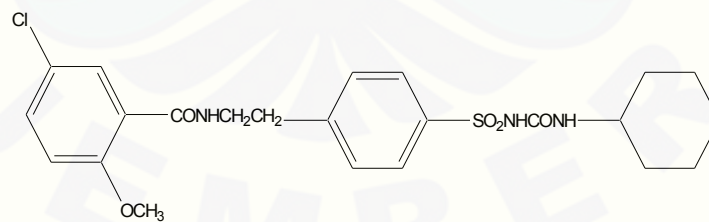
(Muchid *et al.*, 2005)



## 2.6 Tinjauan Tentang Glibenklamid

Glibenklamid (*gliburide*) merupakan obat golongan sulfonilurea yang dimetabolisme dalam hati dan diekskresikan melalui urin dan feses. Metabolit utama dari glibenklamid adalah 4-*trans*-hydroxyglibenklamid dan 3-*cis*-hydroxyglibenklamid (Rydberg *et al.*, 1994). Obat golongan sulfonilurea merangsang *channel* K yang tergantung pada ATP dari sel  $\beta$  pankreas. Bila sulfonilurea terikat pada kanal *sulfonylurea receptor-1* (SUR1) maka terjadi penutupan pada *channel* K. Keadaan ini akan menyebabkan terjadinya penurunan permeabilitas K pada membran sel  $\beta$  pankreas, kemudian terjadi depolarisasi membran dan *channel* Ca terbuka. Hal tersebut menyebabkan meningkatnya Ca intrasel, ion Ca akan terikat pada Calmodulin, dan menstimulasi pelepasan insulin dari vesikel-vesikel sel  $\beta$  pankreas (Sudoyo *et al.*, 2006).

Glibenklamid merupakan obat antidiabetes oral dengan efek antidiabetes yang cukup kuat (Siswandono, 2008). Glibenklamid mempunyai masa paruh 4 jam pada pemakaian akut, namun pada pemakaian jangka lama >12 minggu masa paruhnya memanjang sampai 12 jam atau bahkan sampai >20 jam pada pemakaian kronik dengan dosis maksimal. Oleh karena itu dianjurkan untuk mengkonsumsi glibenklamid sehari sekali. Pada pemakaian jangka lama, efektivitas obat golongan ini dapat berkurang (Nugroho *et al.*, 2006).



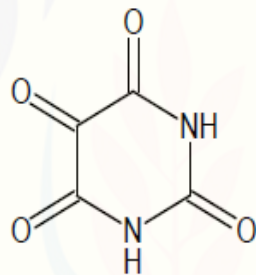
Gambar 2.4 Struktur kimia glibenklamid (Siswandono, 2008)

Efek samping obat golongan sulfonilurea umumnya ringan dan frekuensinya rendah, antara lain gangguan saluran cerna dan gangguan susunan syaraf pusat. Gangguan saluran cerna berupa mual, diare, sakit perut, hipersekresi asam lambung

dan sakit kepala. Gangguan susunan syaraf pusat berupa vertigo, bingung, dan lain sebagainya (Muchid *et al.*, 2005).

### 2.7 Tinjauan Tentang Aloksan

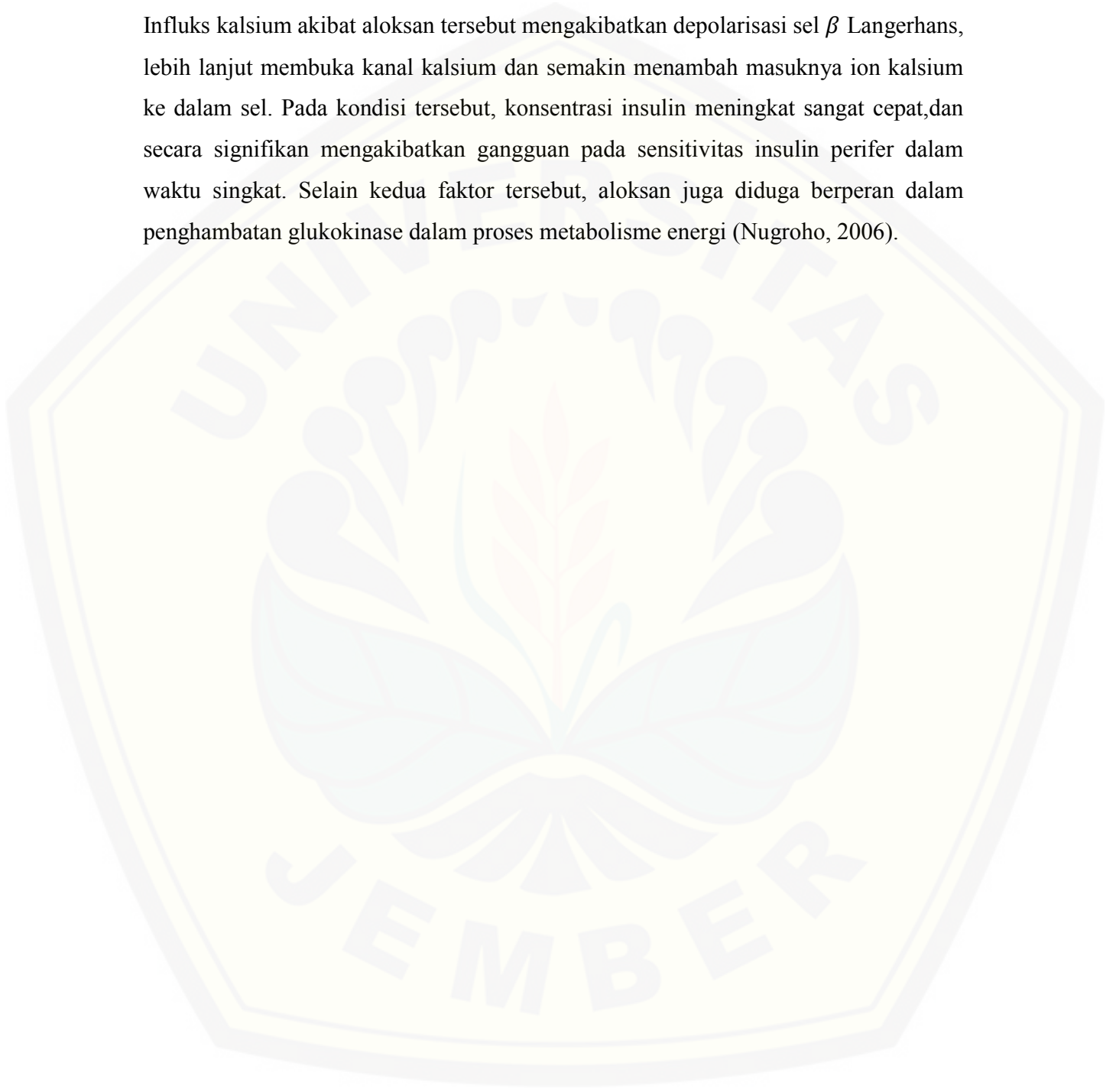
Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin; 5,6-dioksiurasil) merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil. Waktu paruh pada suhu 37°C dan pH netral adalah 1,5 menit dan bisa lebih lama pada suhu yang lebih rendah. Sebagai diabetogenik, aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal, dan subkutan.



Gambar 2.5 Struktur kimia aloksan (Nugroho, 2006)

Aloksan secara cepat dapat mencapai pankreas, aksinya diawali oleh pengambilan yang cepat oleh sel  $\beta$  Langerhans. Pembentukan oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut, hal tersebut diawali dengan proses reduksi aloksan dalam sel  $\beta$  Langerhans. Salah satu target oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas. Kerusakan DNA tersebut menstimulasi *poly ADP-ribosylation*, proses yang terlibat pada DNA *repair*. Adanya ion ferro dan hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksi yang sangat reaktif melalui reaksi fenton. Faktor lain selain pembentukan oksigen reaktif adalah gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler. Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel  $\beta$  Langerhans pankreas. Efek tersebut diikuti oleh beberapa kejadian seperti influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, dan eliminasinya yang terbatas dari sitoplasma.

Influks kalsium akibat aloksan tersebut mengakibatkan depolarisasi sel  $\beta$  Langerhans, lebih lanjut membuka kanal kalsium dan semakin menambah masuknya ion kalsium ke dalam sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain kedua faktor tersebut, aloksan juga diduga berperan dalam penghambatan glukokinase dalam proses metabolisme energi (Nugroho, 2006).



### **BAB 3. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun kluwih dan gambaran histologi pankreas pada mencit jantan galur Balb C yang diinduksi aloksan termasuk jenis penelitian *true experimental laboratories*, tujuannya untuk mengetahui penurunan kadar glukosa darah yang timbul akibat perlakuan dosis berbeda dan perubahan kerusakan sel pankreas mencit jantan galur Balb C hasil paparan aloksan monohidrat.

#### **3.2 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian ini dilakukan pada awal bulan Mei 2015-selesai yang bertempat di Laboratorium Biomedik Bagian Farmasi Klinik dan Komunitas dan Laboratorium Fitokimia Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Pembuatan preparat pankreas mencit diabetes dilakukan di laboratorium SMK Kesehatan Jember.

#### **3.3 Penentuan Populasi Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor mencit jantan dengan berat badan rata-rata 20-30 gram dan berumur 2-3 bulan. Penentuan jumlah sampel dalam tiap kelompok perlakuan dihitung dengan rumus Federer yaitu :

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

Keterangan :

n = Besar sampel tiap kelompok

t = banyaknya kelompok

Dengan rumus tersebut maka didapat jumlah sampel dalam tiap kelompok yaitu:

$$(n-1) \times (6-1) \geq 15$$

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

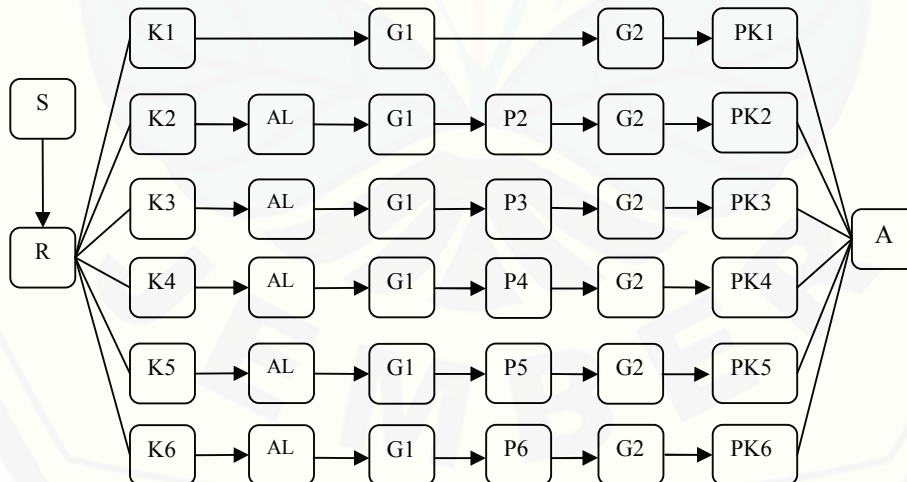
$$n - 1 \geq 3$$

$$n \geq 4$$

Dengan demikian, dalam setiap kelompok terdapat minimal 4 ekor mencit.

### 3.4 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *pre and post test control group design*. Hewan coba diukur kadar glukosa sebelum dan sesudah diberikan perlakuan, kemudian dilakukan pembuatan preparat pankreas. Penelitian terbagi menjadi kelompok normal, kelompok kontrol, dan kelompok perlakuan. Rancangan penelitian ditunjukkan pada gambar 3.1



Gambar 3.1 Skema Rancangan Penelitian



Keterangan :

- S : Populasi mencit
- R : Randomisasi mencit
- K1 : Kelompok normal
- K2 : Kelompok kontrol negatif
- K3 : Kelompok kontrol positif
- K4 : Kelompok uji dosis 25 mg/kgBB
- K5 : Kelompok uji dosis 50 mg/kgBB
- K6 : Kelompok uji dosis 100 mg/kgBB
- AL : Pemberian aloksan dosis 210mg/kgBB
- G1 : Pengukuran kadar glukosa dalam darah sebelum perlakuan (*pre test*)
- P2 : Pemberian CMC Na 1% dalam aquadest
- P3 : Pemberian suspensi glibenklamid dengan dosis 1,3 mg/kgBB dalam CMC Na 1% sebagai kontrol positif
- P4 : Pemberian suspensi ekstrak etanol daun kluwih dosis 25 mg/kgBB
- P5 : Pemberian suspensi ekstrak etanol daun kluwih dosis 50 mg/kgBB
- P6 : Pemberian suspensi ekstrak etanol daun kluwih dosis 100 mg/kgBB
- G2 : Pengukuran kadar glukosa dalam darah setelah perlakuan (*post test*)
- PK1 : Pembuatan preparat pankreas kelompok normal
- PK2 : Pembuatan preparat pankreas kelompok kontrol negatif
- PK3 : Pembuatan preparat pankreas kelompok kontrol positif
- PK4 : Pembuatan preparat pankreas kelompok uji dosis 25 mg/kgBB
- PK5 : Pembuatan preparat pankreas kelompok uji dosis 50 mg/kgBB
- PK6 : Pembuatan preparat pankreas kelompok uji dosis 100 mg/kgBB
- A : Analisis data dengan uji statistik

### **3.5 Bahan dan Alat Uji**

#### **3.5.1 Bahan Uji**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kluwih (*Artocarpus camansi*), aloksan monohidrat, tablet glibenklamid, etanol 96%, CMC-Na 1%, NaCl 0,9%, tween 80, reagen glukosa, aquabidest, dan larutan untuk pembuatan preparat pankreas.

#### **3.5.2 Alat Uji**

Alat yang digunakan adalah maserator, *rotary evaporator*, neraca analitik, timbangan hewan coba, spuit injeksi, alat-alat gelas, pipa kapiler, sonde, alat bedah, papan fiksasi, ependorf, gluco-DR, dan fotometer (*Bioalyzer 100*).

### **3.6 Hewan Uji**

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih galur Balb C, berkelamin jantan usia 2-3 bulan dengan berat 20-30 gram.

### **3.7 Variabel Penelitian**

#### **3.7.1 Variabel Bebas**

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kluwih dengan dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB.

#### **3.7.2 Variabel Terikat**

Variabel terikat dalam penelitian adalah persentase penurunan kadar glukosa darah pada mencit, persentase kerusakan pankreas pada mencit dan gambaran histologi pankreas mencit.

### 3.7.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini meliputi umur hewan coba 2-3 bulan; berat badan hewan coba 20-30 gram; jenis kelamin dan galur hewan coba, yaitu mencit jantan galur Balb C. Prosedur pemeliharaan hewan coba yang ditempatkan di Laboratorium Farmasi Klinik Fakultas Farmasi Universitas Jember sesuai dengan standar prosedur pemeliharaan hewan coba, sehingga hewan coba berada dalam kondisi yang homogen dan prosedur pengujian aktivitas antidiabetes secara *in vivo* pada hewan coba.

## 3.8 Definisi Operasional Penelitian

- 3.8.1 Daun kluwih yang digunakan untuk simplisia dalam penelitian ini berasal dari tanaman *Artocarpus camansi* yang berasal dari Kecamatan Kranjingan, Jember. Daun diambil dari cabang ke-4 hingga ke-6 dari ujung tangkai dan tidak terkena penyakit yang kemudian diekstrak menggunakan pelarut etanol 96%.
- 3.8.2 Darah diambil dari bagian mata (*pre test*) dan jantung (*post test*) pada hewan coba, kemudian kadar glukosa darah hewan coba diukur menggunakan fotometer.
- 3.8.3 Mencit yang digunakan untuk uji antidiabetes adalah mencit yang telah dinyatakan diabetes dengan kadar glukosa darah  $\geq 200$  mg/dl (Nurulita, 2008).
- 3.8.4 Persentase kerusakan pulau Langerhans didapatkan dari hasil perbandingan luas area kerusakan sel kelompok perlakuan dengan luas area pulau Langerhans.
- 3.8.5 Pengamatan histologi pulau Langerhans pankreas dilakukan dengan mengamati kerusakan seperti adanya vakuolisasi dan kongesti.
- 3.8.6 Ekstrak etanol daun kluwih dapat dikatakan memiliki aktivitas antidiabetes jika dosis ekstrak etanol daun kluwih memiliki nilai penurunan kadar glukosa darah yang berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol negatif.

### 3.9 Prosedur

#### 3.9.1 Tahapan Persiapan

a. Pembuatan simplisia daun kluwih

Sebanyak 3 kg daun kluwih dicuci dengan air mengalir ditiriskan dan dirajang, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan ditempat terbuka dan di oven pada suhu 50 C selama 2 jam dan diblender. Serbuk yang diperoleh ditimbang untuk proses selanjutnya.

b. Pembuatan ekstrak etanol daun kluwih

Sebanyak 500 gram serbuk daun kluwih, diekstraksi secara *remaserasi* sebanyak 3 kali dengan pelarut etanol sebanyak 5 Liter yaitu volume hasil 10 kali dari 500 gram berat serbuk simplisia (Depkes RI, 2009). Serbuk yang diekstraksi dalam maserator diaduk 2 jam sekali selama 5 menit hingga jam ke-6, kemudian maserator ditutup lalu biarkan selama 24 jam. Filtrat disaring dengan menggunakan corong. Ekstrak cair yang dihasilkan kemudian dipekatan dengan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak pekat dan dilakukan pengeringan sisa pelarut menggunakan waterbath 60°C lalu diuapkan dengan oven pada suhu 40°C hingga bobot ekstrak kental daun kluwih konstan.

c. Pembuatan Larutan Aloksan 2,1 %

Aloksan monohidrat 84 mg dilarutkan dalam NaCl 0,9 % sampai 4 ml. Larutan aloksan diinjeksikan pada mencit secara intraperitoneal dengan dosis 210 mg/kg BB.

d. Pembuatan Suspensi CMC Na 1%

CMC Na sebanyak 1 gram ditaburkan di atas 20 ml air panas (20 kali berat CMC Na) sampai mengembang. Kemudian diaduk hingga terbentuk mucilago dan ditambahkan air hingga volume 100 ml.

d. Pembuatan Suspensi Glibenklamid (Kontrol Positif)

Glibenklamid sebanyak 1,3 mg disuspensikan ke dalam mucilago CMC Na 1% hingga 10 ml. Suspensi glibenklamid diberikan pada mencit uji kelompok kontrol positif dengan dosis 1,3 mg/kgBB.

f. Pembuatan Suspensi Uji Ekstrak Etanol Daun Kluwih Dosis 25 mg/kg BB

Sebanyak 25 mg ekstrak etanol daun kluwih ditambah 3-5 tetes tween 80 kemudian disuspensikan dalam CMC Na 1% *ad* 10 ml.

g. Pembuatan Suspensi Uji Ekstrak Etanol Daun Kluwih Dosis 50 mg/kg BB

Sebanyak 50 mg ekstrak etanol daun kluwih ditambah 3-5 tetes tween 80 kemudian disuspensikan dalam CMC Na 1% *ad* 10 ml.

h. Pembuatan Suspensi Uji Ekstrak Etanol Daun Kluwih Dosis 100 mg/kg BB

Sebanyak 100 mg ekstrak etanol daun kluwih ditambah 3-5 tetes tween 80 kemudian disuspensikan dalam CMC Na 1% *ad* 10 ml.

### 3.9.2 Perlakuan Terhadap Hewan Coba

Pengujian *in vivo* dilakukan terhadap mencit putih jantan galur Balb C selama 14 hari. Hewan coba mencit dikelompokkan menjadi 6 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Perlakuan mencit diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 7 hari dengan tujuan menyesuaikan dengan lingkungan. Hewan coba dinyatakan sehat jika tidak mengalami perubahan berat badan lebih dari 10 % dan secara visual menunjukkan perilaku normal (Chairunnisa, 2012). Hari ke-8 mencit dipuasakan selama 16 jam namun tetap diberi minum. Selama dipuasakan, sekam dikeluarkan dari kandang agar tidak dimakan oleh hewan coba (Studiawan *et al.*, 2005), kemudian dilakukan induksi aloksan secara intraperitoneal 210 mg/kg BB pada 5 kelompok hewan coba mencit (kecuali kelompok normal) untuk memperoleh kondisi DM. Mencit diberi makan dan minum selama 5 hari, pada hari ke-5 mencit dicek kadar glukosa darahnya dan dapat digunakan untuk percobaan jika memiliki kadar glukosa



darah  $\geq$  200 mg/dl. Pengukuran kadar glukosa darah diukur menggunakan alat fotometer.

Hewan coba dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 1 kelompok normal yang tidak diinduksi aloksan dan 5 kelompok perlakuan (negatif, positif, dosis EEDK 25, 50, dan 100 mg/kgBB) yang diinduksi aloksan. Masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor mencit sebagai berikut :

- 1) K1 (kelompok normal) : Hanya diberi perlakuan makan dan minum
- 2) K2 (kelompok kontrol negatif) : Diberi perlakuan dengan suspensi CMC Na 1%
- 3) K3 (kelompok kontrol positif) : Diberi perlakuan dengan suspensi glibenklamid dosis 1,3 mg/kgBB
- 4) K4 (kelompok perlakuan I) : Diberi perlakuan dengan suspensi ekstrak etanol daun kluwih dosis 25 mg/kgBB
- 5) K5 (kelompok perlakuan II) : Diberi perlakuan dengan suspensi ekstrak etanol daun kluwih dosis 50 mg/kgBB
- 6) K6 (kelompok perlakuan III) : Diberi perlakuan dengan suspensi ekstrak etanol daun kluwih dosis 100 mg/kgBB

Pemberian CMC Na 1%, ekstrak etanol daun kluwih dan obat glibenklamid pada hewan coba mencit dilakukan dengan peroral (sonde) setelah mencit mengalami DM. Masing-masing kelompok diberi perlakuan sekali setiap hari selama 14 hari. Selama masa perlakuan, berat mencit ditimbang setiap 7 hari untuk menentukan banyaknya (volume) sediaan uji yang akan diberikan pada mencit. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-1 dan 15. Pengukuran hari ke-1 dilakukan pengambilan darah melalui mata (*sinus orbital*) guna pengujian kadar glukosa darah menggunakan alat fotometer. Pada hari ke-15 dilakukan pengambilan darah melalui jantung dan diukur kadar glukosa darahnya, selain itu dilakukan pula proses pengambilan jaringan pankreas mencit guna mengetahui histologi pankreas mencit DM.

### 3.9.3 Pembuatan Preparat Pankreas

Empat ekor hewan uji dari masing-masing kelompok dibedah pada hari ke-15 dan diambil organ pankreasnya dan dilakukan pemeriksaan terhadap gambaran pulau Langerhans pankreas dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Langkah-langkah pembuatan preparat pankreas adalah sebagai berikut :

- 1) Tahap pertama adalah fiksasi. Pankreas mencit yang telah diambil dimasukkan kedalam cairan fiksasi larutan formalin 10%, organ pankreas harus terendam seluruhnya dengan waktu tidak kurang dari 24 jam. Tujuan fiksasi adalah untuk mempertahankan susunan jaringan agar mendekati kondisi seperti sewaktu hidup dan mencegah terjadinya pembusukan.
- 2) Tahap kedua adalah dehidrasi. Jaringan pankreas yang telah difiksasi dimasukkan kedalam alkohol dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95%, dan 100%. Tujuan dehidrasi untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga nantinya jaringan tersebut dapat diisi dengan parafin atau zat lainnya yang digunakan untuk membuat blok preparat.
- 3) Tahap ketiga adalah pembeningan (*clearing*). Jaringan pankreas yang telah dikeluarkan dari cairan dehidrasi kemudian dimasukkan kedalam xylol I dan xylol II selama 1 jam. Kemudian jaringan pankreas direndam dalam parafin cair didalam oven dengan suhu 56-59 °C selama 30 menit. Tujuan pembeningan untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin.
- 4) Tahap keempat adalah pembenaman (*embedding*). Jaringan pankreas dibenamkan kedalam parafin I, II, dan III yang memiliki suhu 56-59°C selama 1-2 jam. Tujuan pembenaman (*embedding*) untuk mengeluarkan cairan pembening (*clearing*) dari jaringan dan diganti dengan parafin, hal ini karena sisa cairan pembening (*clearing*) dapat mengkristal dan sewaktu dipotong dengan mikrotom akan menyebabkan jaringan menjadi mudah robek.

- 5) Tahap kelima adalah pengecoran (*blocking*). Hasil *embedding* kemudian dibuat balok parafin dengan menggunakan cetakan besi. Tujuan pengecoran (*blocking*) untuk pembuatan blok preparat agar dapat dipotong dengan mikrotom.
- 6) Tahap keenam adalah pemotongan dengan mikrotom. *Cutter* dipanaskan dan ditempelkan pada dasar blok sehingga parafin sedikit meleleh. *Holder* dijepitkan pada mikrotom putar dan ditata sejajar dengan mata pisau mikrotom. Pengirisan atau penyayatan diawali dengan mengatur ketebalan irisan, untuk pankreas dipotong dengan ukuran 5 $\mu$ m kemudian pita hasil irisan diambil dengan menggunakan kuas dan dimasukkan air dingin untuk membuka lipatan lalu dimasukkan air hangat dan dilakukan pemilihan irisan yang terbaik. Irisan yang dipilih diambil dengan objek glass yang sudah dicoating lalu dikeringkan di atas *hot plate*.
- 7) Tahap ketujuh adalah pewarnaan (*staining*). Pewarnaan jaringan pankreas menggunakan *Hematoxylin Eosin* (HE), sebelumnya jaringan yang sudah kering dimasukkan kedalam *xylol* I, II, dan III masing-masing selama 3-5 menit. Jaringan pankreas selanjutnya dimasukkan kedalam alkohol absolut I, II, dan III, alkohol 95%, 90%, 80%, dan 70% masing-masing 1-3 menit. Kemudian preparat direndam dalam aquades selama 5 menit.
- 8) Proses selanjutnya jaringan pankreas ditetesi zat warna hematoxylin selama 4-10 menit atau sampai didapatkan hasil warna yang terbaik, kemudian dicuci dengan air mengalir selama 10 menit. Setelah itu preparat dimasukkan dalam pewarnaan eosin alkohol selama 3-8 menit.
- 9) Tahap berikutnya rehidrasi kembali dengan memasukkan preparat pada alkohol bertingkat dari 70%, 80%, 90%, alkohol absolut I,II, dan III masing-masing selama 1-3 menit. Kemudian jaringan dimasukkan kedalam *xylol* I,II,dan III masing-masing selama 3-5 menit.

- 10) Tahap terakhir adalah perekatan (*mounting*) yang dilakukan dengan *etellan*. Hasil diamati dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x10 (Hidayah, 2008).

### 3.10 Analisis Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah prosentase penurunan kadar glukosa darah pada masing-masing kelompok uji dan gambaran histologi pankreas dari mencit diabetes.

Penurunan atau peningkatan persentase tersebut dapat diketahui setelah membandingkan kadar glukosa darah mencit pada pengukuran awal (hari ke-1) dan pengukuran akhir (hari ke-15) setelah perlakuan. Menurut Studiawan *et al.* (2005) prosentase penurunan kadar glukosa darah dari masing-masing kelompok dianalisis menggunakan uji *One Way* Anova dengan tingkat kepercayaan 95%. Apabila hasil Uji *One Way* Anova menunjukkan adanya perbedaan bermakna, maka dilanjutkan menggunakan uji LSD (*Least Significant Different*) untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan bermakna.

Perhitungan penurunan kadar glukosa darah dapat dihitung sebagai berikut :

$$\begin{array}{l} \text{\% penurunan} \\ \text{kadar glukosa} \\ \text{darah} \end{array} = \frac{(\text{kadar glukosa darah hari ke-1}) - (\text{kadar glukosa darah hari ke-15})}{(\text{kadar glukosa darah hari ke-1})} \times 100\%$$

Hasil pemeriksaan sediaan histologi pankreas dianalisis secara deskriptif dengan parameter gambaran tanda-tanda kerusakan sel, kongesti, gambaran vakuola atau adanya reaksi inflamasi dalam sel. Analisis kuantitatif dilaporkan sebagai prosentase luas area kerusakan yang diamati menggunakan aplikasi *imageJ* dan kemudian dianalisis menggunakan uji *One Way* Anova dengan tingkat kepercayaan 95% dan dilanjutkan menggunakan uji LSD (*Least Significant Different*) (Akrom *et al.*, 2014; Andrie *et al.*, 2014).



Perhitungan prosentase kerusakan pulau Langerhans pankreas dapat dihitung sebagai berikut :

$$\% \text{ kerusakan} = \frac{\text{Luas area kerusakan sel kelompok perlakuan}}{\text{Luas area pulau Langerhans}} \times 100\%$$

(Andrie *et al.*,2014)

### 3.11 Skema Kerja

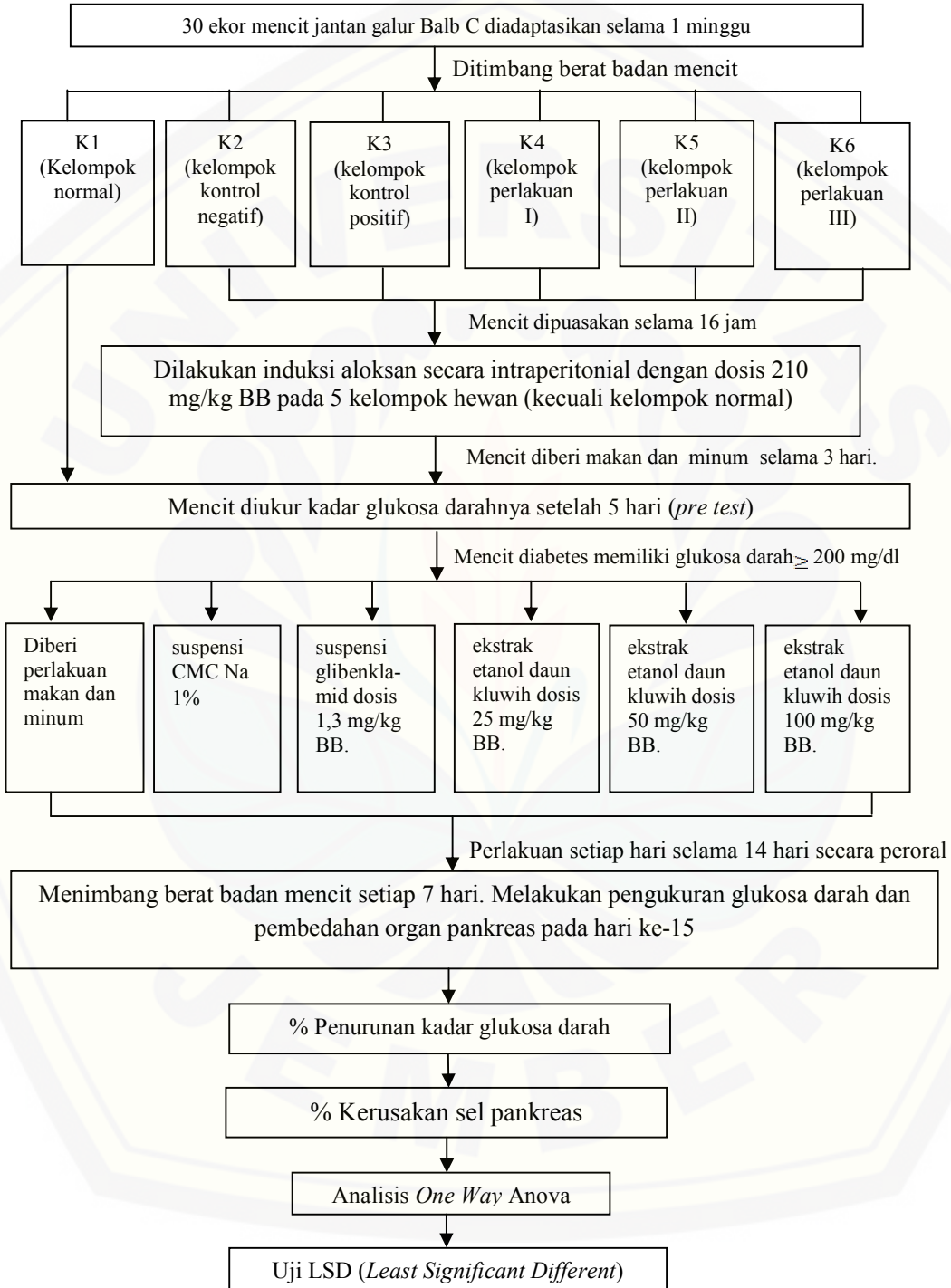
#### 3.11.1 Skema Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kluwih (*Artocarpus camansi*)



Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak etanol daun kluwih

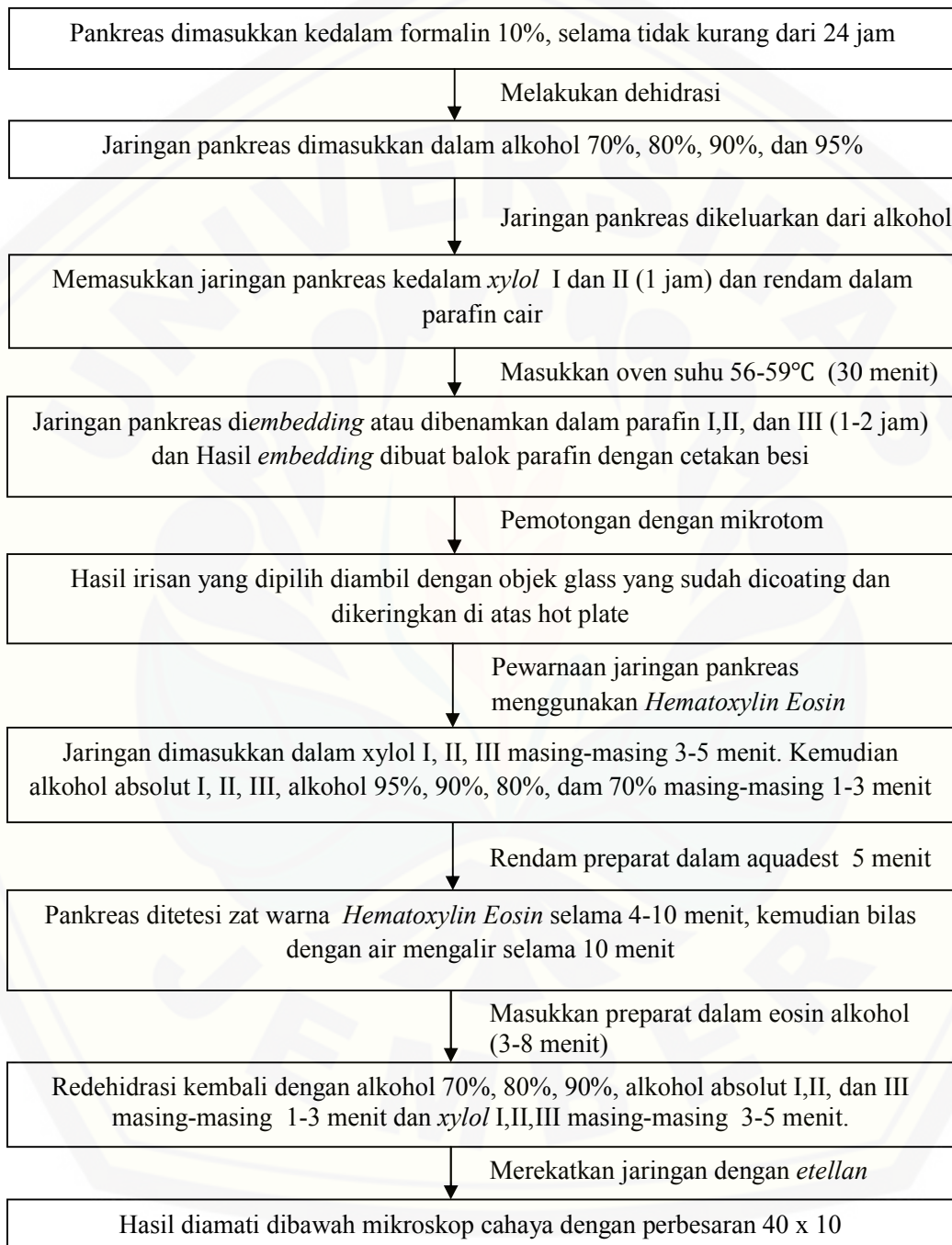


## 3.11.2 Skema Penelitian Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kluwih



Gambar 3.3 Skema alur penelitian aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun kluwih

3.11.3 Skema alur pembuatan preparat pankreas



Gambar 3.4 Skema pembuatan preparat pankreas

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil Dan Analisis Data

#### 4.1.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kluwih

Sebanyak 500 gram serbuk daun kluwih, diekstraksi secara remaserasisebanyak 3 kali menggunakan pelarut etanol dengan volume 10 kali berat serbuk simplisia yaitu 5 Liter (Depkes RI, 2009). Rendemen hasil ekstraksi yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Rendemen ekstrak etanol daun kluwih

Berat ekstrak kental (gram)	Berat simplisia (gram)	Rendemen (% b/b)
66,33	500	13,27

#### 4.1.2 Perlakuan terhadap Hewan Coba

Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah pada penelitian uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun kluwih terhadap mencit DM yang diinduksi aloksan adalah sebagai berikut :

Tabel 4.2 Rata-rata kadar glukosa darah mencit sebelum dan sesudah perlakuan

Perlakuan	Rata-rata kadar Glukosa darah $\pm$ SD (mg/dL)	
	Hari ke-0	Hari ke-15
Normal	137,45 $\pm$ 22,18	110,79 $\pm$ 9,85
Kontrol (-) CMC Na 1 %	643,57 $\pm$ 31,38	602,81 $\pm$ 41,58
Kontrol (+) Glibenklamid 1,3 mg/kgBB	493,31 $\pm$ 84,81	289,11 $\pm$ 94,88
Ekstrak Etanol Daun Kluwih 25 mg/kgBB	538,48 $\pm$ 86,72	405,41 $\pm$ 65,15
Ekstrak Etanol Daun Kluwih 50 mg/kgBB	477,27 $\pm$ 29,82	145,69 $\pm$ 43,69
Ekstrak Etanol Daun Kluwih 100 mg/kgBB	273,41 $\pm$ 50,01	133,23 $\pm$ 50,75

Tabel 4.2 menunjukkan data rata-rata kadar glukosa darah mencit pada hari ke-0 dan hari ke-15. Kadar glukosa darah mencit hari ke-0 setelah induksi aloksan mengalami peningkatan rata-rata diatas 200 mg/dl kecuali kelompok normal, sedangkan kadar glukosa darah mencit hari ke-15 setelah perlakuan mengalami penurunan. Hal tersebut menunjukkan bahwa perlakuan menggunakan obat glibenklamid maupun ekstrak kluwih dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit.

Perbedaan besarnya penurunan kadar glukosa darah antar masing-masing kelompok perlakuan dapat diketahui dengan menghitung rata-rata persen penurunan kadar glukosa darah yang ditunjukkan pada Tabel 4.3

Tabel 4.3 Persentase penurunan kadar glukosa darah mencit

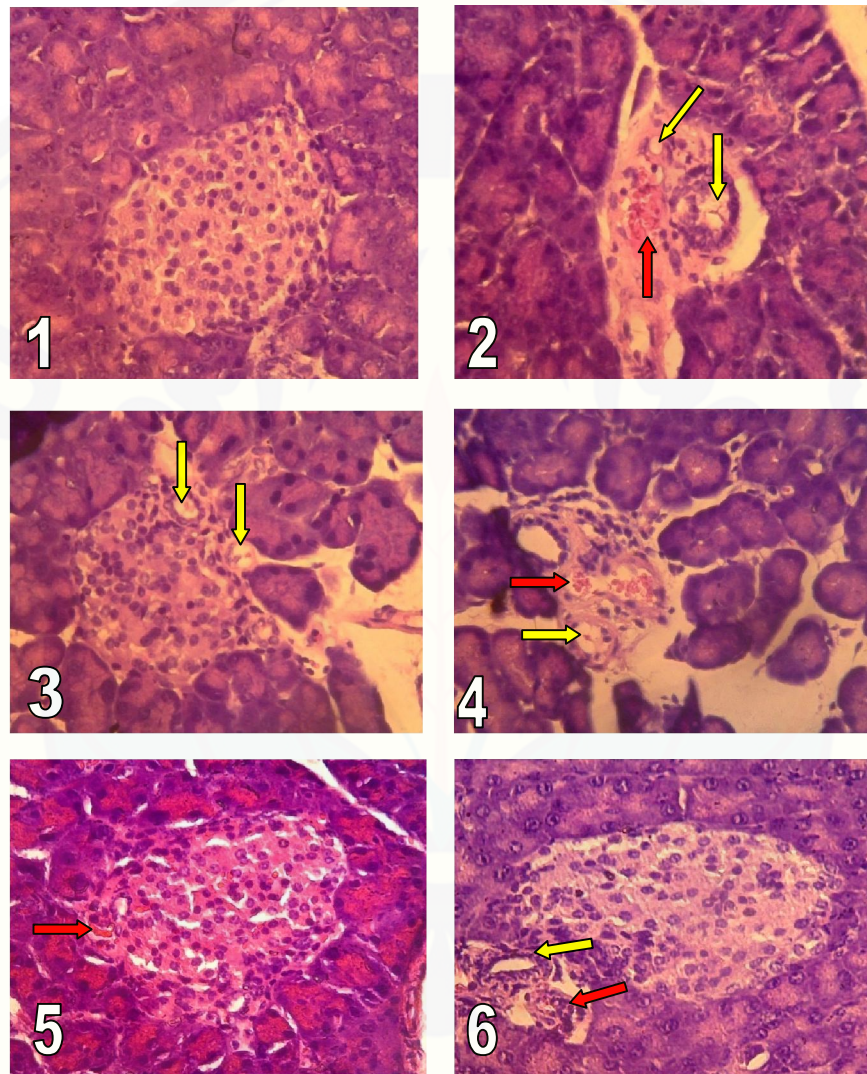
Kelompok Perlakuan	Rata-rata persentase penurunan glukosa darah (%) $\pm$ SD
Normal	18,62 $\pm$ 6,75 <sup>a</sup>
Kontrol (-) CMC Na 1 %	6,34 $\pm$ 4,19
Kontrol (+) Glibenklamid 1,3 mg/kgBB	42,33 $\pm$ 12,62 <sup>b</sup>
Ekstrak Etanol Daun Kluwih 25 mg/kgBB	23,99 $\pm$ 13,04 <sup>a</sup>
Ekstrak Etanol Daun Kluwih 50 mg/kgBB	68,99 $\pm$ 11,13 <sup>c</sup>
Ekstrak Etanol Daun Kluwih 100 mg/kgBB	49,71 $\pm$ 22,07 <sup>bc</sup>

Huruf yang sama, menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan berdasarkan uji *one way* Anova pada taraf kepercayaan 95%

Penelitian selanjutnya dilanjutkan dengan pengamatan histologi pankreas mencit. Organ yang diperiksa yaitu organ pankreas mencit karena pankreas merupakan tempat dimana insulin diproduksi. Pemeriksaan histologi bertujuan untuk melihat adanya kerusakan organ di tingkat seluler yang tidak tampak oleh pengamatan makroskopik (Akrom *et al.*, 2014). Pengukuran kerusakan pulau Langerhans pankreas juga dilakukan untuk mengetahui bahwa ekstrak etanol daun



kluwih dapat mengurangi tingkat kerusakan pulau Langerhans pankreas pada mencit yang diinduksi aloksan. Hasil histologi pankreas dapat dilihat pada Gambar 4.1



Gambar 4.1 Gambar Histologi Jaringan Pankreas Mencit hasil pewarnaan HE. Ket: (1)Kelompok normal; (2)Kelompok negatif; (3)Kelompok kontrol positif (glibenklamid); (4)Kelompok dosis 25 mg/kgBB; (5) Kelompok dosis 50 mg/kgBB; (6) Kelompok dosis 100 mg/kgBB; → Vakuolisasi; → Kongesti. Perbesaran 400x dengan posisi pemotongan melintang.



Gambar 4.1 menunjukkan histologi pulau Langerhans pankreas yang rusak dan memiliki bentuk yang tidak beraturan, namun pengamatan histologi pulau Langerhans dilakukan dengan mengamati kerusakan seperti adanya vakuolisasi dan kongesti yang terdapat dalam pankreas. Kongesti merupakan peningkatan sel darah pada jaringan dan bagian tubuh yang mengalami proses patologi (Assiam, *et al.*,2014). Pada gambar diatas kerusakan pankreas terjadi di setiap kelompok perlakuan, terlihat dari kelompok kontrol negatif yang diinduksi aloksan bentuknya tidak beraturan dan ukurannya lebih kecil jika dibandingkan dengan kelompok normal yang berbentuk bulat dan masih terdapat banyak sel pulau Langerhans, selain itu juga pada kelompok negatif banyak terdapat kongesti dan vakuolisasi disekitar pulau Langerhans. Kelompok kontrol positif dan dosis 50 mg/kgBB memiliki bentuk pulau Langerhans yang teratur dan berukuran lebih besar dibandingkan kelompok negatif, dosis 25 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB. Pada kelompok kontrol positif dan dosis 50 mg/kgBB hanya terdapat sedikit tanda kerusakan vakuolisasi maupun kongesti. Penelitian berikutnya dilanjutkan dengan perthitungan persentase kerusakan pankreas pada tiap kelompok perlakuan. Hasil data persentase kerusakan pankreas mencit setelah pemberian perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.4

Tabel 4.4 Persentase kerusakan pankreas mencit DMsetelah pemberian perlakuan

<b>Kelompok Perlakuan</b>	<b>Rata-rata persentase kerusakan pankreas (%) <math>\pm</math> SD</b>
Kontrol (-) CMC Na 1 %	30,25 $\pm$ 6,47
Kontrol (+) Glibenklamid 1,3 mg/kgBB	10,21 $\pm$ 2,43 <sup>a</sup>
Ekstrak Etanol Daun Kluwih 25 mg/kgBB	20,57 $\pm$ 4,59
Ekstrak Etanol Daun Kluwih 50 mg/kgBB	4,60 $\pm$ 2,18 <sup>a</sup>
Ekstrak Etanol Daun Kluwih 100 mg/kgBB	9,71 $\pm$ 3,28 <sup>a</sup>

Huruf yang sama, menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan berdasarkan uji *one way*Anova pada taraf kepercayaan 95%

Data penurunan kadar glukosa darah dan kerusakan pankreas mencit selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan uji *one way* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Tarafkepercayaan 95% digunakan karena dalam penelitian ini menggunakan sampel hewan uji mencit yang dimana faktor variasi biologis mencit dapat mempengaruhi hasil penelitian. Uji *one way* ANOVA (*Analysis of Variance*) merupakan pengujian untuk mengetahui perbedaan nyata rata-rata antar varian dari tiga kelompok atau lebih akibat adanya satu faktor perlakuan (Budi, 2006). Rangkaian dari uji *one way* anova adalah melakukan uji normalitas dan uji homogenitas terlebih dahulu, persyaratannya harus memiliki sebaran data yang normal dan varians data yang sama dengan nilai  $p > 0,05$ .

Uji normalitas dilihat pada kolom jenis data Shapiro-Wilk karena data  $< 50$  sampel. Data penurunan kadar glukosa darah dan kerusakan pankreas masing-masing menunjukkan hasil yang signifikan, terlihat pada setiap kelompok memiliki nilai  $p > 0,05$ . Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa data terdistribusi normal.

Uji homogenitas data penurunan kadar glukosa darah menunjukkan nilai  $p$  sebesar 0,084 sedangkan data kerusakan pankreas menunjukkan nilai  $p$  sebesar 0,315. Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa data memiliki varians yang sama atau tidak ada perbedaan varian antar kelompok yang dibandingkan karena memenuhi persyaratan  $p > 0,05$ , setelah persyaratan uji normalitas dan homogenitas terpenuhi, maka dapat dilanjutkan dengan uji *one way* anova.

Hasil analisis data penurunan kadar glukosa darah dan kerusakan pankreas didapatkan nilai probabilitas adalah 0,000 atau  $p < 0,05$ . Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan penurunan kadar glukosa darah secara bermakna atau signifikan pada taraf kepercayaan 95%. Lalu dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*. Uji *post hoc* bertujuan mengetahui lebih rinci mengenai pasangan kelompok sampel yang saling berbeda secara signifikan dan pasangan kelompok sampel yang tidak berbeda (Budi, 2006). Pengujian *post hoc* salah satunya dapat dilakukan dengan uji LSD (*Least Significantly Difference*). Data hasil analisis LSD menunjukkan terdapat kelompok yang berbeda signifikan dan yang tidak berbeda

signifikan. Berdasar pada data penurunan kadar glukosa darah dan kerusakan pulau Langerhans pankreas kelompok kontrol negatif (-) menunjukkan hasil yang berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol positif (+), dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB. Data penurunan kadar glukosa darah kelompok dosis 100 mg/kgBB menunjukkan hasil yang tidak signifikan terhadap kelompok kontrol positif dan dosis 50 mg/kgBB sedangkan data kerusakan pulau Langerhans pankreas dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda signifikan terhadap dosis 100 mg/kgBB.

#### 4.2 Pembahasan

Tahap awal penelitian adalah pembuatan ekstrak daun kluwih menggunakan pelarut etanol. Pemilihan etanol sebagai pelarut atau cairan penyari umum, bertujuan agar semua senyawa yang terdapat dalam daun kluwih dapat terekstraksi (Indrowati, 2012). Berdasarkan penelitian sebelumnya etanol dapat menarik senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, glikosida antrakuinon, dan steroid/triterpenoid, dimana flavonoid merupakan suatu senyawa yang diduga dapat menurunkan glukosa darah mencit jantan (Marianne *et al.*, 2011).

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur Balb-C umur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram. Pemilihan hewan uji mencit karena memiliki karakteristik fisiologi yang relatif sama dengan manusia, sedangkan menggunakan mencit jantan untuk menghindari keragaman biologis sehingga dapat mempengaruhi hasil percobaan (Sugiarso, 1993).

Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok, kelompok normal; kelompok kontrol negatif; kelompok kontrol positif; dan 3 kelompok perlakuan dosis ekstrak daun kluwih dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, dan 100 mg/kg BB. Kelompok normal sebagai pembandingan untuk mengetahui kadar glukosa darah normal hewan coba sebelum dalam keadaan diabetes. Kelompok kontrol negatif diberi perlakuan CMC Na 1% karena CMC Na merupakan zat pembawa atau pelarut dari ekstrak daun kluwih maupun obat glibenklamid. Kelompok kontrol positif menggunakan

glibenklamid yang merupakan obat antidiabetes golongan sulfonilurea. Pemilihan glibenklamid karena memiliki mekanisme kerja yang sama dengan zat aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kluwih yaitu mampu meregenerasi sel beta pankreas yang rusak sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin, selain itu juga glibenklamid merupakan salah satu obat turunan sulfonilurea dengan potensi penurunan kadar glukosa darah lebih tinggi dibandingkan dengan turunan sulfonilurea yang lain (Fahri *et al.*, 2005). Pemilihan dosis glibenklamid 1,3 mg/kgBB merupakan hasil dari konversi dosis terapi glibenklamid pada manusia sebesar 10 mg. Dosis terapi glibenklamid pada manusia adalah 5-15 mg (BNF, 2009).

Mencit dipuasakan terlebih dahulu sebelum diinduksi aloksan selama kurang lebih 16 jam untuk menjaga agar tidak terjadi perubahan kadar glukosa darah karena asupan makanan (Fahri *et al.*, 2005). Menurut penelitian sebelumnya, hari ke-2 setelah induksi aloksan akan terjadi peningkatan kadar glukosa darah dan puncaknya pada hari ke-5 sehingga mencit diukur kadar glukosa darahnya pada hari ke-5. (Sujono *et al.*, 2010). Sebagai agen diabetogenik aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal dan subkutan. Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kgBB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya. Model DM diperoleh dengan cara menginduksi aloksan ke tubuh mencit dengan dosis 210 mg/kg BB secara intraperitoneal. Aloksan digunakan karena bersifat merusak sel beta pankreas dan menyebabkan pankreas mengalami gangguan dalam produksi insulin sehingga akan terjadi kenaikan kadar glukosa darah pada mencit. Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel beta pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT2 (*Glucose Transporter 2*) (Yuriska, 2009). Pemberian juga berefek pada degradasi sel beta Langerhans, yaitu organ yang bertanggungjawab dalam pembuatan insulin dalam tubuh. Mekanisme aloksan dalam merusak sel  $\beta$  pankreas dengan cara pembentukan oksigen reaktif yang merupakan faktor utama penyebab kerusakan sel tersebut, diawali dengan proses reduksi aloksan dalam sel  $\beta$  Langerhans yang menyebabkan



kerusakan pada DNA pulau Langerhans pankreas, granula-granula pembawa insulin didalam sel beta pankreas berkurang sehingga menyebabkan defisiensi insulin dan pada akhirnya terjadi peningkatan kadar glukosa darah (Nugroho, 2006).

Perlakuan diberikan selama 14 hari dan pada hari ke-15 kadar glukosa darah menciit dari 6 kelompok tersebut mengalami penurunan yang berbeda-beda. Berdasarkan data penurunan kadar glukosa darah diketahui bahwa penurunan terbesar terjadi pada kelompok ekstrak etanol daun kluwih dosis 50 mg/kgBB sebesar 68,99%.

Hasil analisis LSD penurunan kadar glukosa darah menunjukkan terjadi perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif (-) dengan nilai penurunan kadar glukosa darah sebesar 6,34% terhadap kelompok kontrol positif (+) dengan penurunan kadar glukosa darah sebesar 42,33%. Penurunan kadar glukosa kelompok kontrol positif lebih besar, hal tersebut membuktikan bahwa kontrol positif dengan perlakuan obat glibenklamid dapat menurunkan kadar glukosa darah yang mekanisme kerjanya adalah berperan dalam merangsang sekresi insulin di kelenjar pankreas dengan cara penutupan *channel* K yang tergantung pada ATP dari sel beta pankreas, sehingga hanya efektif terhadap penderita diabetes yang sel-sel beta pankreasnya masih berfungsi dengan baik (Muchid *et al.*, 2005; Sudoyo *et al.*, 2006). Kadar glukosa darah kelompok negatif memiliki nilai terkecil (6,34%) hal tersebut membuktikan bahwa CMC Na 1% tidak menimbulkan efek farmakologi tertentu terhadap hewan uji, selain itu juga bahwa CMC Na tidak berpengaruh terhadap perubahan kadar glukosa darah karena tidak dicerna dan tidak diabsorpsi (Fahri *et al.*, 2005). Pada penelitian ini kelompok kontrol negatif tetap mengalami penurunan kadar glukosa darah dari awal perlakuan hingga akhir meskipun tidak signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa sebagian massa sel beta pankreasnya masih dapat berfungsi dengan baik untuk mensekresikan insulin, karena pemberian aloksan dosis rendah hanya akan menyebabkan kerusakan parsial massa sel beta pankreas (Nugroho, 2006).



Hasil analisis LSD kelompok kontrol negatif berbeda signifikan atau terdapat perbedaan bermakna terhadap semua kelompok perlakuan yaitu dosis 25 mg/kgBB, dosis 50 mg/kgBB dan dosis 100 mg/kgBB. Persentase penurunan kadar glukosa darah dosis 25 mg/kgBB (23,99%), dosis 50 mg/kgBB (68,99%) dan dosis 100 mg/kgBB (49,71%) cukup besar jika dibandingkan kelompok kontrol negatif (6,34%) dan ketiga dosis tersebut memiliki aktivitas sebagai antidiabetes. Kelompok perlakuan dosis 25 mg/kgBB (23,99%) memberikan efek terhadap penurunan kadar glukosa darah namun penurunan tersebut sangat kecil jika dibandingkan dengan kedua dosis lain, hal ini disebabkan karena dosis yang diberikan terlalu kecil sehingga jumlah zat aktif yang terkandung didalam ekstrak juga sedikit dan memberikan sedikit penurunan kadar glukosa darah. Data penurunan kadar glukosa darah kelompok perlakuan dosis 50 mg/kgBB sebesar 68,99% lebih besar dibandingkan dengan dosis 100 mg/kgBB yaitu 49,71%, namun hasil analisis LSD menunjukkan bahwa dosis 50 mg/kgBB tidak signifikan terhadap dosis 100 mg/kgBB. Pada kelompok perlakuan dosis 100 mg/kgBB menunjukkan hasil LSD yang tidak signifikan terhadap kelompok kontrol positif yang berarti bahwa efek zat aktif yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah memiliki efek yang sama dengan glibenklamid dosis 1,3 mg/kgBB.

Sel beta pankreas merupakan sel yang berperan dalam pengaturan kadar glukosa darah. Peningkatan kadar glukosa darah dapat terjadi karena adanya kerusakan sel beta pankreas yang dapat dilihat terjadinya kerusakan vakuolisasi dan kongesti. Berdasarkan data kerusakan sel pulau Langerhans pankreas, kelompok yang memiliki kerusakan paling besar yaitu pada kelompok kontrol negatif (-) yaitu 30,25%. Hal ini membuktikan bahwa pemberian aloksan dapat merusak DNA sel-sel pulau Langerhans pankreas karena persen kerusakan kontrol negatif lebih besar daripada kelompok perlakuan yang lain. Kontrol positif memiliki kerusakan sel pulau Langerhans sebesar 10,21%. Kelompok dosis 25 mg/kg BB memiliki kerusakan paling besar yaitu 20,57% karena berdasarkan data penurunan glukosa darah dosis 25 mg/kg BB memiliki penurunan yang sangat kecil hal ini dimungkinkan hanya

terdapat sedikit zat aktif yang terkandung dalam dosis tersebut, sehingga kerusakan pankreas karena radikal bebas dari aloksan lebih besar terjadi. Kelompok dosis 50 mg/kgBB memiliki kerusakan paling kecil yaitu 4,60% jika dibandingkan dengan dosis 100 mg/kgBB yaitu 9,71%, jika sesuai dengan data kadar glukosa darah dosis 50 mg/kgBB mengalami penurunan kadar glukosa darah lebih besar dibandingkan dengan 100 mg/kgBB. Penurunan yang besar menunjukkan bahwa terdapat banyak zat aktif yang terkandung dalam dosis 50 mg/kgBB, sehingga zat aktif tersebut dapat membantu lebih besar dalam mencegah kerusakan sel pulau Langerhans pankreas.

Hasil analisis LSD kerusakan pankreas menunjukkan kelompok kontrol negatif (-) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB. Hal tersebut membuktikan bahwa ketiga dosis tersebut secara signifikan dapat membantu mengurangi kerusakan sel pulau Langerhans pankreas akibat induksi aloksan. Kelompok kontrol positif (+) tidak berbeda signifikan terhadap kelompok dosis 50 mg/kgBB dan dosis 100 mg/kgBB, hal ini bahwa kedua dosis tersebut memberikan efek yang hampir sama dengan glibenklamid dosis 1,3 mg/kgBB dalam mengurangi kerusakan sel pulau Langerhans pankreas. Kelompok dosis 50 mg/kgBB tidak berbeda signifikan terhadap dosis 100 mg/kgBB, kedua dosis tersebut memberikan efek yang hampir sama namun jika dilihat berdasarkan data kerusakan pulau Langerhans pankreas dosis 50mg/kgBB memiliki kerusakan pulau Langerhans paling kecil jika dibandingkan dengan dosis 100 mg/kgBB.

Kemampuan ekstrak etanol daun kluwih dalam menurunkan kadar glukosa darah dan mengurangi kerusakan sel pulau Langerhans pankreas mencit diabetes pada penelitian ini, diduga disebabkan oleh senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun kluwih. Daun kluwih diketahui mengandung *artocarpine*, salah satu senyawa dari golongan flavonoid yang diduga berefek hipoglikemik (Indrowati *et al.*, 2005). Mekanisme flavonoid dari ekstrak etanol daun kluwih yaitu berperan secara signifikan meningkatkan aktivitas senyawa antioksidan, flavonoid yang terkandung dalam tumbuhan diduga juga dapat memperbaiki sensitifitas reseptor insulin,

sehingga adanya flavonoid dapat memberikan efek yang menguntungkan terhadap kondisi diabetes melitus (Marianne *et al.*, 2011). Efek antioksidan yang berperan dalam mengurangi kerusakan sel pulau Langerhans pankreas yaitu dengan cara mengurangi stress oksidatif yang berperan mencegah terjadinya reaksi berantai perubahan superoksida menjadi hidrogen superoksida dengan cara mendonorkan atom hidrogen dari kelompok aromatik hidroksil (-OH) untuk mengikat radikal bebas dan membuangnya dari dalam tubuh melalui sistem ekskresi (Andrie *et al.*, 2014). Antioksidan dapat menghambat terbentuknya TNF- $\alpha$ , sitokin, dan menghambat sintesis iNOS dengan cara menekan ekspresi mRNA iNOS. iNOS (*inducible Nitric Oxide Synthase*) pada suatu jaringan menyebabkan terjadinya proses peradangan seperti yang terjadi pada jaringan pankreas mencit. iNOS ini merupakan enzim yang mengaktifasi reaksi pembentukan produksi NO. Terhambatnya sintesis iNOS menyebabkan produksi NO berkurang, sehingga dapat menurunkan kadar NO pada jaringan pankreas (Ariyanti, 2014). Sehingga efek antioksidan dalam flavonoid mampu meregenerasi sel-sel beta pankreas yang rusak dan defisiensi insulin dapat diatasi.

Berdasarkan pada penelitian ini bahwa dosis 50 mg/kgBB merupakan dosis yang paling efektif terhadap penurunan kadar glukosa darah dan mempunyai tingkat kerusakan pankreas yang paling kecil. Hal tersebut membuktikan bahwa belum tentu semakin tinggi dosis akan memberikan efek penurunan kadar glukosa darah maupun perbaikan sel pulau Langerhans pankreas yang lebih baik. Kemungkinan hal ini berkaitan dengan hubungan antara konsentrasi ekstrak dengan respon. Pada umumnya respon-respon terhadap dosis rendah suatu obat meningkatkan proporsi dosis secara langsung, sehingga dengan bertambahnya dosis obat maka peningkatan respon berkurang dan akhirnya dosis dapat tercapai dimana peningkatan respon tidak bisa ditingkatkan lagi (Katzung, 2002). Dimungkinkan juga semakin tinggi dosis maka semakin cepat efek antagonis dari berbagai zat aktif yang terkandung didalam ekstrak tersebut muncul sehingga belum tentu dosis tinggi akan memberikan efek penurunan lebih besar (Marianne *et al.*, 2011).

## **BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN**

### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan beberapa hal yaitu :

1. Ekstrak etanol daun kluwih memiliki aktivitas antidiabetes dan dapat mengurangi kerusakan pulau Langerhans mencit diabetes yang diinduksi aloksan.
2. Ekstrak etanol daun kluwih dosis 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB menunjukkan aktivitas antidiabetes lebih baik dibandingkan dengan dosis 25 mg/kgBB. Ekstrak etanol daun kluwih dosis 50 mg/kgBB memiliki aktivitas antidiabetes terbesar dan kerusakan sel pulau Langerhans pankreas terkecil yakni rata-rata penurunan kadar glukosa sebesar 68,99% dan kerusakan pulau Langerhans 4,60%.

### **5.2 Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji toksisitas senyawa aktif daun kluwih yang berperan dalam penurunan kadar glukosa darah dan mengurangi kerusakan sel pulau Langerhans pankreas.
2. Perlu dilakukan juga penelitian lebih lanjut mengenai senyawa yang lebih berpengaruh dalam penurunan kadar glukosa darah menggunakan metode KLT.



DAFTAR PUSTAKA

- Adrie, M., Taruina, Wintari., dan Ayunda R. 2014. Activities Test Of “Jamu Gendong Kunyit Asam” (*Curcuma domestica* Val.; *Tamarindus indica* L.) As An Antidiabetic In *Streptozotocin*-Induced Rats. *Trad.Med.J.* Vol. 19 (2): 97.
- Akrom., Harjanti, P.D., Armansyah, T. 2014. Hypoglicemia Effect of Sweet Potatos (*Ipomoea batatas* P) Root Ethanolic Extract In Alloxan Induced Swiss Mice. *Pharmaciana.* Vol. 4 (1): 69.
- American Diabetes Association. 2014. Statistic About Diabetes. <http://www.diabetes.org/diabetes-basic/statistics>. [3 Juni 2015].
- Ariyanti, R. 2014. “Uji Aktivitas Jamu Gendong Kunci Suruh (*Boesenbergia pandurata* (Roxb) Schlect; *Piper betle* L.) Sebagai Antidiabetes Pada Tikus yang Diinduksi Streptozotocin. Naskah Publikasi. Skripsi. Pontianak: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Assiam, N., Setyawati, I., Sudirga, S.K. 2014. Pengaruh Dosis dan Lama Perlakuan Ekstrak Daun Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) Terhadap Struktur Histologi Ginjal Mencit (*Mus musculus*L.). *Jurnal simbiosis* II. (2): 236-246.
- Budi, T. P. 2006. *SPSS 13.0 Terapan: Riset Statistik Parametrik Edisi 1*. Yogyakarta: C.V Andi offset.
- BNF. 2009. *British National Formulary*. Germany: GGP Media GmbH
- Chairunnisa, R. 2012. Pengaruh Jumlah Pasta Tomat Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Pada Mencit Diabetes. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. Padang.

- Dahlan, M. S. 2006. *Statistika untuk Kedokteran dan Kesehatan*. Garut: PT. Arkans
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Pp 174-175.
- Dipiro, J.T., Talbert, R.L., Yee, G.C., Matzke, G.R., Wells, B.G., Possey, L.M. 2008. *Pharmacotherapy : A Pathophysiologic Approach Seventh Edition*. United States: The McGraw-Hill Companies.
- Fahri, C., Sutarno., Listyawati, S. 2005. Kadar Glukosa dan Kolesterol Total Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Hiperglikemik setelah Pemberian Ekstrak Metanol Akar Meniran (*Phyllanthus niruri* L.). *Biofarmasi*. Vol.3 (1): 1-6
- Farid, M., Darwin, E., Delmi, S. 2014. Pengaruh Hiperglikemia terhadap Gambaran Histopatologis Pulau Langerhans Mencit. *Jurnal Kesehatan Andalas*. Vol.3 (3): 424-427.
- Guyton, A.C. & Hall, J.E. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Alih bahasa oleh dr. Irawati. 2006. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G., Rakesh, D.D. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. Italy: United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology.
- Hari, A., Revikumar., Divya. 2014. *Artocarpus: A Review of Its Phytochemistry And Pharmacology*. *Jurnal of Pharma*. Vol. 9 (1).
- Hidayah, R. 2008. "Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) Terhadap Glukosa Darah Dan Gambaran Histologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Malang: Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Indrowati, M., Soegihardjo, C.J. 2005. Biological Learning Material: Detection Of Flavonoid From The Leaf Of Jack Fruit (*Artocarpus altilis* Park.). *Bioedukasi*. Vol. 2 (2): 61-64.

Indrowati, M., Ariyanto, J. 2012. Kadar Kolestrol Dan Trigliserida Darah Pada Diabetes Melalui Perlakuan Ekstrak Daun Kluwih *Artocarpus altilis* Park. *Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi FKIP UNS*. Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Jagtap, U.B., and Bapat, V.A. 2010. *Artocarpus*: A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. Vol.129 : 142-166.

Kamiensky, M., dan Keogh, J. 2006. *Pharmacology Demystified*. United States of America: The McGraw-Hill Companies.

Katzung, B.G. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Terjemahan oleh Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. 2002. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.

Kumar, V., Cotran, R.S., Robbins, S.L. *Buku Ajar Patologi Robbins*. (Edisi 7 Vol.2). Alih bahasa oleh dr.Brahm U.Pendit. 2004. Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Marianne., Yuandani., Rosnani. 2011. Antidiabetic Activity From Ethanol Extract Of Kluwih's Leaf (*Artocarpus camansi*). *Jurnal Natural*. Vol. 11 (2): 64-67.

Muchid, A., Umar, F., Ginting, N. M., Basri, C., Wahyuni, R., Helmi, R., Istiqomah, S. N., Lestari, S. B., Syamsudin, F., Pamela, D. S., Astuti, Fitra B., Retnohidayanti, D. dan Masrul. 2005. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Nugroho, A.E. 2006. Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*. Vol. 7 (4): 378-382.

Nurulita, Y., Dhanutirto, H., Soemardji, A. A. 2008. Penapisan Aktivitas dan Senyawa Antidiabetes Ekstrak Air Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*). *Jurnal Natur Indonesia*. Vol. 10 (2): 98-103.

- Plantamor. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=144>. [15 Februari 2015].
- Price, S.A., dan Wilson, L.M. 1994. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Alih bahasa oleh dr.Caroline Wijaya. 1994. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Ragone, D. 2006. *Artocarpus camansi* (breadnut). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. <http://www.traditionaltree.org>. [15 Februari 2014].
- Ridwan, A., Astrian, R.T., Barlian, A. 2012. Pengukuran Efek Antidiabetes Polifenol (*Polyphenon 60*) Berdasarkan Kadar Glukosa Darah dan Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus* L.) S.W. Jantan yang Dikondisikan Diabetes Mellitus. *Jurnal Matematika & Sains*. Vol 17 (2): 81.
- Rydberg, T., Jonsson, A., Roder, M., Melander, A. 1994. Hypoglycemic Activity of Glyburide (Glibenclamide) Metabolites in Humans. *Diabetes Care*. Vol. 17 (9): 1026.
- Siswandono, S. B. 2008. *Kimia Medisinal 2*. Surabaya: Arilangga University Press.
- Studiawan, H., dan Santosa, M. H. 2005. Test Pharmacological Effect of Ethanolic Extract of *Eugenia polyantha* Leaves as for Decreasing Glucose Level Activity on Mice Induced by Alloxan. *Media Kedokteran Hewan*. Vol. 21 (2): 62-64.
- Sudoyo, A. W., Setiyohadi, B., Alwi, I., Simadibrata, M., Setiati, S. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Sugiarso, N. C. 1993. Profil Aktivitas Farmakologi Dari Kayu Bidara Laut (*Strychnos ligustrina* Bi.). *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*. Vol. 2 (1): 23-24.
- Sujono, T. A., dan Sutrisna. E.M. 2010. Pengaruh Lama Praperlakuan Flavonoid Rutin Terhadap Efek Hipoglikemik Tolbutamid Pada Tikus Jantan Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. Vol.11 (2): 91-99



- Togubu., S., Momuat. L. I., Paendong., J. E., Salma N. 2013. Aktivitas Antihiperqlikemik dari Ekstrak Etanol dan Heksana Tumbuhan Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunt) pada Tikus Wistar (*Rattus norvegicus* L.) yang Hiperqlikemik. *Jurnal Mipa UNSRAT Online*. Vol. 2 (2): 109-114.
- Trihono. 2013. *Riset Kesehatan Dasar 2013*. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H. 2004. Global Prevalence of Diabetes. *Diabetes Care*. Vol. 27(5).
- Yuriska, A. 2009. “Efek Alokasan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar”. Tidak Diterbitkan. Skripsi. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
- Yusharmen. 2008. *Pedoman Pengendalian Diabetes Melitus dan Penyakit Metabolik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Halaman 8.

**LAMPIRAN**

**LAMPIRAN A. PERHITUNGAN DOSIS ALOKSAN (210 mg/kg BB)**

Dosis aloksan yang digunakan 210 mg/kg BB

Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram :

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= \frac{210 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} \\ &= 4,2 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

Volume maksimal sediaan untuk 1 mencit 20 gram = 0,2 ml

Volume yang dibutuhkan :

$$= \sum \text{mencit} \times \text{volume pemberian tiap mencit}$$

$$= 20 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ ml} = 4 \text{ ml untuk } 20 \text{ ekor mencit (kecuali kelompok normal)}$$

Volume yang dibuat = 4 ml

Jumlah aloksan yang ditimbang untuk 4 ml :

$$= \frac{4,2 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 4 \text{ ml} = 84 \text{ mg dalam } 4 \text{ ml NaCl } 0,9\%$$

Konsentrasi aloksan yang digunakan :

$$\% \text{ b/v} = \text{gram/ml} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,0042 \text{ gram}}{0,2 \text{ ml}} \times 100\%$$

$$= 2,1 \%$$

**LAMPIRAN B. PERHITUNGAN DOSIS DAN VOLUME SUSPENSI UJI  
YANG DIBERIKAN PADA HEWAN COBA**

**B.1 Kelompok Kontrol Negatif**

Sediaan muchilago CMC Na 1% = 1 gram/100 ml

Menimbang 1 gram CMC Na dalam 100 ml air.

Replikasi	BB hari ke-1 (gram)	Volume sediaan (ml)	BB hari ke-15 (gram)	Volume sediaan (ml)
1	27	0,27	28	0,28
2	23,6	0,236	24,5	0,245
3	21	0,21	23,5	0,235
4	27,3	0,273	26,5	0,265

**B.2 Kelompok Kontrol Positif (Glibenklamid 1,3 mg/kg BB)**

Dosis terapi glibenklamid pada manusia 10 mg

Dosis konversi mencit 20 gram = 0,0026 x 10 mg

= 0,026 mg

Dosis kg/BB mencit =  $\frac{1000 \text{ gram}}{20 \text{ gram}} \times 0,026 \text{ mg}$

= 1,3 mg/kg BB mencit

Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram :

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

= 0,026 mg dalam 0,2 ml

Volume maksimal sediaan untuk 1 mencit 20 gram = 0,2 ml

Volume yang dibutuhkan :

=  $\sum$  mencit x volume pemberian tiap mencit x  $\sum$  waktu perlakuan

= 4 ekor x 0,2 ml x 7 hari = 5,6 ml untuk 4 ekor mencit selama 7 hari

Volume yang dibuat = 10 ml

Jumlah glibenklamid yang ditimbang untuk 10 ml :

$$= \frac{0,026 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} = 1,3 \text{ mg dalam 10 ml CMC Na 1\%}$$

Replikasi	BB hari ke-1 (gram)	Volume sediaan (ml)	BB hari ke-15 (gram)	Volume sediaan (ml)
1	21,2	0,212	25,5	0,255
2	22	0,22	24,5	0,245
3	21,6	0,216	24	0,24
4	22,5	0,225	25	0,25

### B.3 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Kluwih (25 mg/kgBB)

Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram :

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= \frac{25 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} \\ &= 0,5 \text{ mg dalam 0,2 ml} \end{aligned}$$

Volume maksimal sediaan untuk 1 mencit 20 gram = 0,2 ml

Volume yang dibutuhkan :

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

Volume yang dibuat = 10 ml

Jumlah ekstrak yang ditimbang untuk 10 ml :

$$= \frac{0,5 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} = 25 \text{ mg dalam 10 ml CMC Na 1\%}$$



Replikasi	BB hari ke-1 (gram)	Volume sediaan (ml)	BB hari ke-15 (gram)	Volume sediaan (ml)
1	20,5	0,205	21	0,21
2	26	0,26	25,5	0,255
3	26	0,26	29,2	0,292
4	26,5	0,265	28	0,28

#### B.4 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Kluwih (50 mg/kgBB)

Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram :

$$\text{Dosis} = \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram}$$

$$= 1 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ ml}$$

Volume maksimal sediaan untuk 1 mencit 20 gram = 0,2 ml

Volume yang dibutuhkan :

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

$$= 4 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ ml} \times 7 \text{ hari} = 5,6 \text{ ml untuk } 4 \text{ ekor mencit selama } 7 \text{ hari}$$

Volume yang dibuat = 10 ml

Jumlah ekstrak yang ditimbang untuk 10 ml :

$$= \frac{1 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} = 50 \text{ mg dalam } 10 \text{ ml CMC Na } 1\%$$

Replikasi	BB hari ke-1 (gram)	Volume sediaan (ml)	BB hari ke-15 (gram)	Volume sediaan (ml)
1	27,5	0,275	29,5	0,295
2	29	0,29	30	0,30
3	26,5	0,265	25	0,25
4	28,5	0,285	30	0,30

**B.5 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Kluwih (100 mg/kgBB)**

Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram :

$$\text{Dosis} = \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram}$$

$$= 2 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ ml}$$

Volume maksimal sediaan untuk 1 mencit 20 gram = 0,2 ml

Volume yang dibutuhkan :

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

$$= 4 \text{ ekor} \times 0,2 \text{ ml} \times 7 \text{ hari} = 5,6 \text{ ml untuk 4 ekor mencit selama 7 hari}$$

Volume yang dibuat = 10 ml

Jumlah ekstrak yang ditimbang untuk 10 ml :

$$= \frac{2 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} = 100 \text{ mg dalam } 10 \text{ ml CMC Na } 1\%$$

Replikasi	BB hari ke-1 (gram)	Volume sediaan (ml)	BB hari ke-15 (gram)	Volume sediaan (ml)
1	26,7	0,267	28	0,28
2	23	0,23	26,7	0,267
3	26,2	0,262	30	0,30
4	20	0,20	24,5	0,245

**LAMPIRAN C. Data Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kluwih dan Persen Kerusakan Pankreas Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan perlakuan Dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB.**

**C.1 Kelompok Kontrol Normal**

Hewan Uji	Hari ke-0		Hari ke-15		% Penurunan Glukosa
	BB (g)	Glukosa (mg/dl)	BB (g)	Glukosa (mg/dl)	
1	24	120,25	27,5	102,14	15,06
2	21	158,77	24	123,04	22,5
3	23	154,32	25	114,45	25,84
4	25	116,44	28	103,52	11,09
Rata-rata					18,62
SD					6,75

**C.2 Kelompok Kontrol Negatif (CMC Na 1%)**

Hewan Uji	Hari ke-0		Hari ke-15		% Penurunan Glukosa	% Kerusakan Pankreas
	BB (g)	Glukosa (mg/dl)	BB (g)	Glukosa (mg/dl)		
1	27	663,13	28	649,67	2,03	34,62
2	23,6	596,68	24,5	599,33	6,26	21,29
3	21	657,58	23,5	624,50	5,03	29,73
4	27,3	656,87	26,5	577,72	12,05	35,34
Rata-rata					6,34	30,24
SD					4,19	6,47

**C.3 Kelompok Kontrol Positif (Suspensi Glibenklamid 1,3 mg/kgBB)**

Hewan Uji	Hari ke-0		Hari ke-15		% Penurunan Glukosa	% Kerusakan Pankreas
	BB (g)	Glukosa (mg/dl)	BB (g)	Glukosa (mg/dl)		
1	21,2	478,39	25,5	209,18	56,27	13,71
2	22	587,69	24,5	350,08	40,43	9,78
3	21,6	527,96	24	390,02	26,13	8,18
4	22,5	387,18	25	207,15	46,50	9,15
Rata-rata					42,33	10,21
SD					12,62	2,43

**C.4 Kelompok Uji Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kluwih Dosis 25 mg/kgBB**

Hewan Uji	Hari ke-0		Hari ke-15		% Penurunan Glukosa	% Kerusakan Pankreas
	BB (g)	Glukosa (mg/dl)	BB (g)	Glukosa (mg/dl)		
1	20,5	463,68	21	310,61	33,01	25,34
2	26	510,02	25,5	456,14	10,56	14,39
3	26	663,68	29,2	417,33	37,12	22,12
4	26,5	516,52	28	437,54	15,29	20,42
Rata-rata					23,99	20,57
SD					13,04	4,59



**C.5 Kelompok Uji Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kluwih Dosis 50 mg/kgB**

Hewan Uji	Hari ke-0		Hari ke-15		% Penurunan Glukosa	% Kerusakan Pankreas
	BB (g)	Glukosa (mg/dl)	BB (g)	Glukosa (mg/dl)		
1	27,5	433,48	29,5	194,11	55,22	5,37
2	29	486,02	30	166,07	66,83	3,9
3	26,5	489,36	25	128,57	73,73	2,01
4	28,5	500,22	30	93,99	81,21	7,13
Rata-rata					68,99	4,60
SD					11,13	2,18

**C.6 Kelompok Uji Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kluwih Dosis 100 mg/kgBB**

Hewan Uji	Hari ke-0		Hari ke-15		% Penurunan Glukosa	% Kerusakan Pankreas
	BB (g)	Glukosa (mg/dl)	BB (g)	Glukosa (mg/dl)		
1	26,7	204,04	28	151,48	25,76	11,56
2	23	303,85	26,7	190,24	37,39	13,05
3	26,2	315,32	30	121,21	61,56	5,67
4	20	270,41	24,5	70,00	74,11	8,57
Rata-rata					49,71	9,71
SD					22,07	3,28

**LAMPIRAN D. Hasil Uji One Way Anova Kadar Glukosa Darah**

**D.1 Test of Normality**

**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Gula normal	.217	4	.	.947	4	.700
negatif	.258	4	.	.950	4	.719
positif	.190	4	.	.988	4	.946
dosis 25 mg	.255	4	.	.882	4	.346
dosis 50 mg	.165	4	.	.990	4	.958
dosis 100 mg	.212	4	.	.950	4	.714

a. Lilliefors Significance Correction

**D.2 Test of Homogeneity of Variance**

**Test of Homogeneity of Variances**

Gula

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.336	5	18	.084

**D.3 ANOVA**

**ANOVA**

Gula

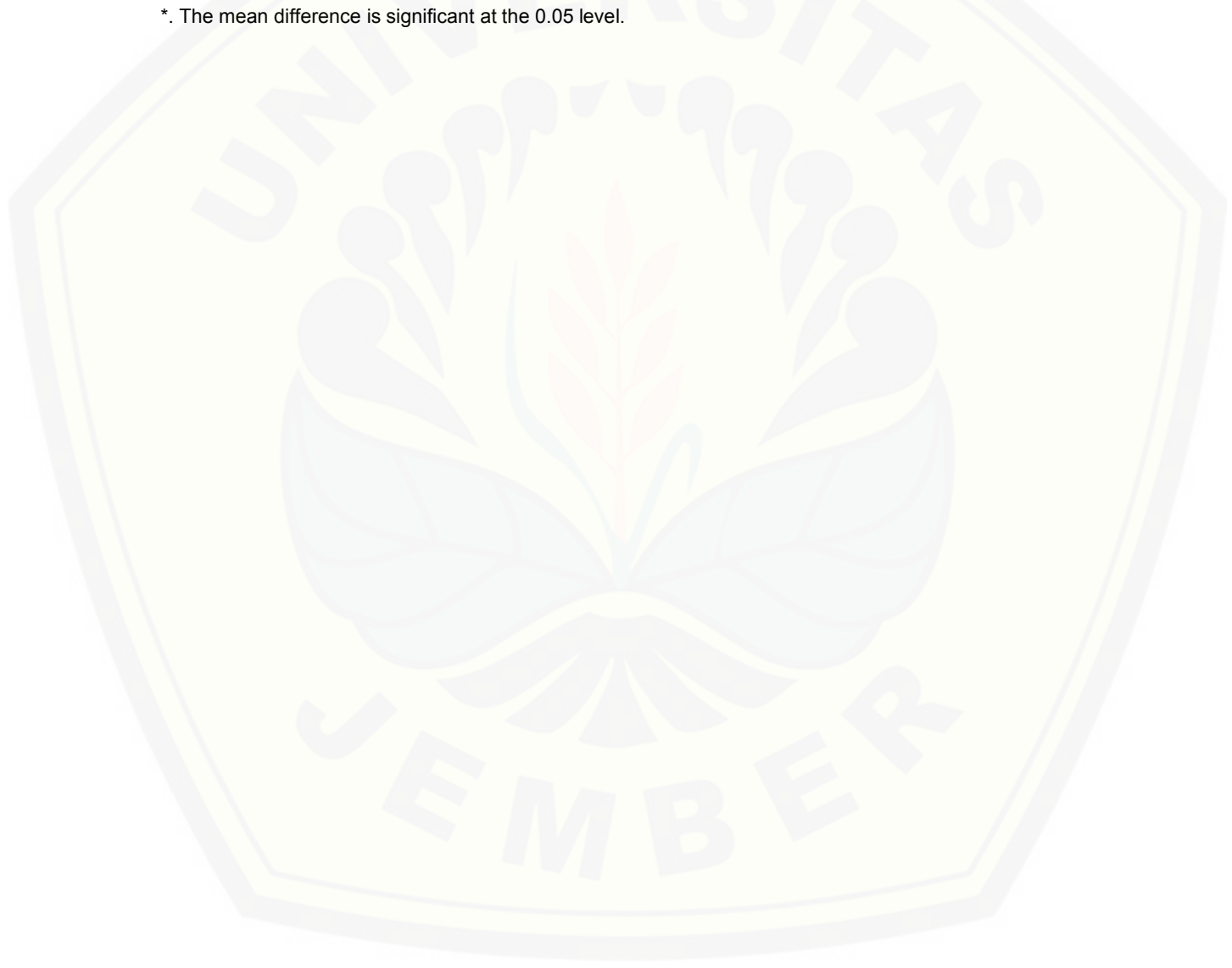
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	89.193	5	17.839	14.607	.000
Within Groups	21.982	18	1.221		
Total	111.175	23			

**D.4 LSD Penurunan kadar glukosa darah**

GulaLSD		Multiple Comparisons				
(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Normal	Negative	1.84919*	.78141	.029	.2075	3.4909
	Positif	-2.18826*	.78141	.012	-3.8299	-.5466
	dosis 25 mg	-.49008	.78141	.538	-2.1318	1.1516
	dosis 50 mg	-4.02631*	.78141	.000	-5.6680	-2.3846
	dosis 100 mg	-2.65182*	.78141	.003	-4.2935	-1.0101
Negatif	Normal	-1.84919*	.78141	.029	-3.4909	-.2075
	Positif	-4.03744*	.78141	.000	-5.6791	-2.3958
	dosis 25 mg	-2.33926*	.78141	.008	-3.9809	-.6976
	dosis 50 mg	-5.87550*	.78141	.000	-7.5172	-4.2338
	dosis 100 mg	-4.50101*	.78141	.000	-6.1427	-2.8593
Positif	Normal	2.18826*	.78141	.012	.5466	3.8299
	Negative	4.03744*	.78141	.000	2.3958	5.6791
	dosis 25 mg	1.69818*	.78141	.043	.0565	3.3399
	dosis 50 mg	-1.83806*	.78141	.030	-3.4797	-.1964
	dosis 100 mg	-.46357	.78141	.560	-2.1052	1.1781
dosis 25 mg	Normal	.49008	.78141	.538	-1.1516	2.1318
	Negative	2.33926*	.78141	.008	.6976	3.9809
	Positif	-1.69818*	.78141	.043	-3.3399	-.0565
	dosis 50 mg	-3.53624*	.78141	.000	-5.1779	-1.8946
	dosis 100 mg	-2.16175*	.78141	.013	-3.8034	-.5201
dosis 50 mg	Normal	4.02631*	.78141	.000	2.3846	5.6680
	Negative	5.87550*	.78141	.000	4.2338	7.5172
	Positif	1.83806*	.78141	.030	.1964	3.4797
	dosis 25 mg	3.53624*	.78141	.000	1.8946	5.1779
	dosis 100 mg	1.37449	.78141	.096	-.2672	3.0162

dosis 100 mg	normal	2.65182*	.78141	.003	1.0101	4.2935
	negatif	4.50101*	.78141	.000	2.8593	6.1427
	positif	.46357	.78141	.560	-1.1781	2.1052
dosis 25 mg		2.16175*	.78141	.013	.5201	3.8034
		-1.37449	.78141	.096	-3.0162	.2672

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





**LAMPIRAN E. Hasil Uji One Way Anova Persen Kerusakan Pankreas**

**E.1 Tes Normalitas**

**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kerusakan_pankreas Negatif	.251	4	.	.873	4	.310
Positif	.319	4	.	.863	4	.270
Dosis 25 mg	.237	4	.	.962	4	.792
Dosis 50 mg	.138	4	.	.998	4	.993
Dosis 100 mg	.214	4	.	.963	4	.800

a. Lilliefors Significance Correction

**E.2 Tes Homogenitas**

**Test of Homogeneity of Variances**

Kerusakan\_pankreas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.298	4	15	.315

**E.3 ANOVA**

**ANOVA**

Kerusakan\_pankreas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1689.771	4	422.443	25.046	.000
Within Groups	252.998	15	16.867		
Total	1942.768	19			

**E.4 LSD Persentase Kerusakan Pankreas**

**Multiple Comparisons**

Kerusakan\_pankreas

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Negatif	Positif	20.0400*	2.90401	.000	13.8503	26.2297
	Dosis 25 mg	9.67750*	2.90401	.005	3.4878	15.8672
	Dosis 50 mg	25.64250*	2.90401	.000	19.4528	31.8322
	Dosis 100 mg	20.53250*	2.90401	.000	14.3428	26.7222
Positif	Negatif	-20.0400*	2.90401	.000	-26.2297	-13.8503
	Dosis 25 mg	-10.36250*	2.90401	.003	-16.5522	-4.1728
	Dosis 50 mg	5.60250	2.90401	.073	-.5872	11.7922
	Dosis 100 mg	.49250	2.90401	.868	-5.6972	6.6822
Dosis 25 mg	Negatif	-9.67750*	2.90401	.005	-15.8672	-3.4878
	Positif	10.36250*	2.90401	.003	4.1728	16.5522
	Dosis 50 mg	15.96500*	2.90401	.000	9.7753	22.1547
	Dosis 100 mg	10.85500*	2.90401	.002	4.6653	17.0447
Dosis 50 mg	Negatif	-25.64250*	2.90401	.000	-31.8322	-19.4528
	Positif	-5.60250	2.90401	.073	-11.7922	.5872
	Dosis 25 mg	-15.96500*	2.90401	.000	-22.1547	-9.7753
	Dosis 100 mg	-5.11000	2.90401	.099	-11.2997	1.0797
Dosis 100 mg	Negatif	-20.53250*	2.90401	.000	-26.7222	-14.3428
	Positif	-.49250	2.90401	.868	-6.6822	5.6972
	Dosis 25 mg	-10.85500*	2.90401	.002	-17.0447	-4.6653
	Dosis 50 mg	5.11000	2.90401	.099	-1.0797	11.2997

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

LAMPIRAN F. Gambar Penelitian



Ekstrak cair dalam maserator



Proses *rotary evaporator*



Ekstrak cair daun kluwih



Pengelompokan hewan uji



Penimbangan hewan uji



Pemberian perlakuan ekstrak



Pembedahan hewan uji hari ke-15



Pengecekan kadar glukosa darah



Organ pankreas dalam formalin