



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES  
EKSTRAK ETANOL DAUN KEPEL ( *Stelechocarpus burahol* )  
PADA MENCIT YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

**SKRIPSI**

Oleh :

**Laurensia Jeany**

**NIM 142210101057**

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

**2018**



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES  
EKSTRAK ETANOL DAUN KEPEL ( *Stelechocarpus burahol* )  
PADA MENCIT YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

**SKRIPSI**

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

Oleh :

**Laurensia Jeany**  
**NIM 142210101057**

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

**2018**

## PERSEMBAHAN

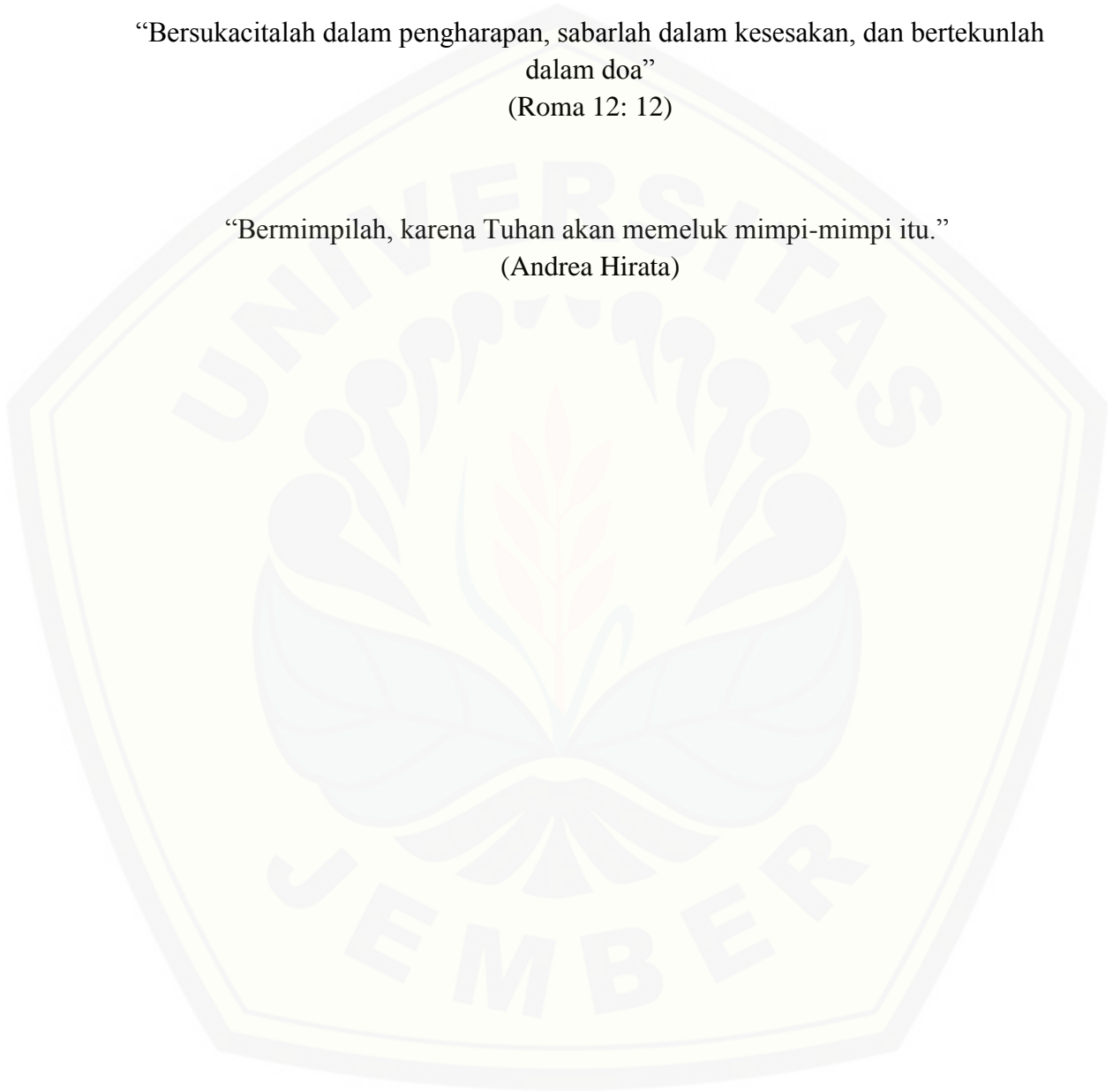
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Tuhan Yesus Kristus yang senantiasa memberikan berkat dan rahmatNya dalam setiap langkah penulis;
2. Bangsa Indonesia dengan segala keanekaragamannya;
3. Papa Edi Sugianto dan Mama Meliana yang telah membesarkan dan mendidik penulis dengan kasih yang tidak terhingga;
4. Segenap keluarga besar yang selalu mendukung penulis;
5. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember, Bapak/Ibu Guru SMAK Santo Paulus Jember, SMPK Mgr. Soegijapranata Tanggul, SDK Yos Sudarso Balung dan TKK Yos Sudarso Balung;
6. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

**MOTO**

“Bersukacitalah dalam pengharapan, sabarlah dalam kesesakan, dan bertekunlah dalam doa”  
(Roma 12: 12)

“Bermimpilah, karena Tuhan akan memeluk mimpi-mimpi itu.”  
(Andrea Hirata)



**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Laurensia Jeany

NIM : 142210101057

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

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

Jember, 4 Juli 2018

Yang menyatakan,

Laurensia Jeany

NIM. 142210101057

**SKRIPSI**

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES  
EKSTRAK ETANOL DAUN KEPEL (*Stelechocarpus burahol*)  
PADA MENCIT YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh  
Laurensia Jeany  
NIM 142210101057

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : Diana Holiday, S. F., Apt., M. Farm.  
Dosen Pembimbing Anggota: Fransiska Maria C., S. Farm., Apt., M. Farm.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) pada Mencit yang Diinduksi Aloksan” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 17 Juli 2018

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Tim Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama,

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

Dosen Pembimbing Anggota,

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

Tim Penguji:

Dosen Penguji I,

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

Dosen Penguji II,

Ika Norcahyanti, S.Farm., M.Sc., Apt.  
NIP. 198505112014042001

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember



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



## RINGKASAN

**Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus Burahol*) pada Mencit yang Diinduksi Aloksan:** Laurensia Jeany, 142210101057; 2018; halaman: Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diabetes adalah penyakit kronis yang serius yang terjadi karena pankreas tidak menghasilkan cukup insulin (hormon yang mengatur glukosa darah, atau glukosa), atau tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkan. Jumlah kasus dan prevalensi diabetes terus meningkat selama beberapa dekade terakhir. Pengobatan diabetes merupakan pengobatan menahun atau seumur hidup sehingga membutuhkan biaya yang relatif tinggi. Penggunaan obat antidiabetes oral jangka panjang dapat menyebabkan penderita diabetes menjadi resisten dengan obat yang digunakan. Oleh karena itu, alternatif pengobatan diperlukan untuk penyakit kronis seperti diabetes. Saat ini pengobatan tradisional telah banyak digunakan. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai tanaman obat adalah kepel (*Stelechocarpus burahol*). Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun kepel pada darah mencit yang diinduksi aloksan.

Jenis penelitian ini adalah *true experimental laboratories* dengan rancangan penelitian *pre and post test control group*. Hewan coba yang digunakan sebagai sampel adalah mencit jantan sebanyak 24 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yaitu, kelompok normal, kontrol negatif (-), kontrol positif (+) dengan glibenklamid 1,3 mg/kgBB, kelompok ekstrak etanol daun kepel dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB. Perlakuan terhadap hewan coba dilakukan selama 14 hari, hari ke-1 dihitung saat hewan coba dinyatakan diabetes dengan kadar glukosa  $\geq 175$  mg/dl setelah induksi aloksan. Darah hewan coba diambil pada hari ke-1 untuk pengukuran *pre test* dan pada hari ke-15 untuk pengukuran *post test*. Selain itu, dilakukan pula proses pengambilan organ pankreas guna mengetahui histopatologi mencit diabetes. Penurunan kadar glukosa darah hewan uji dilihat dari persentase penurunan kadar pada hari ke-1 (*pre test*) sampai hari ke-15 (*post test*). Gambaran histopatologi dilakukan dengan mengamati kerusakan seperti adanya vakuolisasi, keteraturan bentuk pulau Langerhans dan ketersediaan sel beta pankreas. Kerusakan pulau Langerhans didapat dari hasil perbandingan luas area kerusakan sel dengan luas area pulau Langerhans.

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Different (LSD)*. Data menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kepel dapat menurunkan kadar glukosa mencit yang diinduksi aloksan (DM). Ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 200 mg/kgBB memiliki aktivitas antidiabetes lebih tinggi dibandingkan kedua dosis lainnya. Kelompok ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 200 mg/kgBB tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif sehingga ekstrak daun kepel pada dosis 200 mg/kgBB memiliki aktivitas antidiabetes yang setara dengan kontrol positif.



Gambaran histopatologi pankreas mencit diabetes menunjukkan adanya kerusakan pulau Langerhans yang ditandai dengan adanya vakuolisasi, kongesti dan perubahan bentuk pulau Langerhans menjadi tidak beraturan. Pemberian glibenklamid sebagai kontrol positif dan pemberian ekstrak etanol daun kepel pada berbagai dosis menunjukkan adanya perbaikan dengan vakuolisasi dan kongesti yang relatif lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Data persentase kerusakan pulau Langerhans menunjukkan kerusakan pulau Langerhans yang lebih rendah pada kelompok kontrol positif dan ekstrak etanol daun kepel pada berbagai dosis dibandingkan dengan kelompok negatif. Persentase kerusakan pulau Langerhans semakin rendah dengan peningkatan dosis ekstrak etanol daun kepel. Kelompok kontrol negatif berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok dengan pemberian ekstrak etanol daun pada berbagai dosis sehingga pemberian glibenklamid dan ekstrak etanol daun kepel pada berbagai dosis mampu mengurangi kerusakan pankreas akibat induksi aloksan. Pada kelompok dengan pemberian ekstrak etanol daun kepel, perbedaan signifikan hanya terdapat pada dosis 50 mg/kgBB dengan dosis 200 mg/kgBB ( $p = 0,013$ ). Kelompok ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 100 dan 200 mg/kgBB tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 100 dan 200 mg/kgBB memiliki aktivitas yang setara dengan kontrol positif yaitu glibenklamid 1,3 mg/kgBB.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul: “Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) Pada Mencit yang Diinduksi Aloksan”. Skripsi ini disusun dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Tuhan Yang Maha Esa atas semua karunia yang telah diberikan;
2. Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. Ibu Diana Holidah, S.F., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Ibu Fransiska Maria C., S.Farm., Apt., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga serta perhatiannya untuk memberikan ilmu, bimbingan, dan pengarahan demi terselesaikannya penulisan skripsi ini;
4. Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt. dan Ibu Ika Norcahyanti, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
5. Ibu Ema Rachmawati, S.Farm., M.Sc., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan pengarahan selama masa perkuliahan;
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu pengetahuan dan bimbingan kepada penulis selama menempuh studi;
7. Papa Edi Sugianto dan Mama Meliana, Adik Felicia Ariani Sugianto dan seluruh keluarga besar atas doa, motivasi dan kasih sayang yang diberikan;

8. Mbak Dinik dan Mbak Indri selaku Teknisi Laoratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember yang banyak membantu penelitian ini;
9. Kepel Squad (Lisa Nurul Priskasari dan Nadia Rosi Nur Haliza) yang telah memberikan dukungan dan kerjasama terbaik dalam penelitian ini.
10. Keluarga besar PHARMAGEN angkatan 2014 atas persaudaraan dan kebersamaan yang indah selama ini;
11. Keluarga besar UKMKK FILADELFIA dan UKM KARISMA atas semua persaudaraan, pertemanan, pengalaman dan dukungannya kepada penulis;
12. Keluarga KKN 92 Tematik DESBUMI, Rumah Produksi DESBUMI Desa Sabrang, Ibu Hamidah, keluarga besar Mbah Rembon dan seluruh perangkat desa Sabrang atas keluarga baru selama penulis menempuh KKN;
13. Bapak/Ibu guru mulai dari TKK hingga SMA yang memberikan ilmu dan pengetahuan tanpa pamrih;
14. Keluarga PAMADIKSI UNEJ dan Bidikmisi FF UJ atas persaudaraan dan kerjasama selama ini;
15. Keluarga besar DFJ Fellowship 6, DFJ Fellowship 15 dan TERANG BULAN (Kak Samuel dan Kak Carlos) yang selalu memberikan semangat dan doa pada penulis;
16. Sahabat penulis Yolanda Rachel, Jimmy Sanjaya, Tommy Wijaya, Dedy Van Hauten, dan Aprillia Dita Farizki yang selalu mendukung dan membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi;
17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung atas bantuan dan kerjasamanya.

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

Jember, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iii
HALAMAN MOTO .....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
RINGKASAN .....	viii
PRAKATA.....	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR TABEL .....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat .....</b>	<b>4</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Tanaman Kepel.....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kepel.....	5
2.1.2 Deskripsi Tanaman Kepel.....	5
2.1.3 Kandungan dan Manfaat Tanaman Kepel.....	6
<b>2.2 Ekstraksi.....</b>	<b>7</b>
<b>2.3 Skrining Fitokimia.....</b>	<b>9</b>
<b>2.4 Diabetes Melitus.....</b>	<b>9</b>

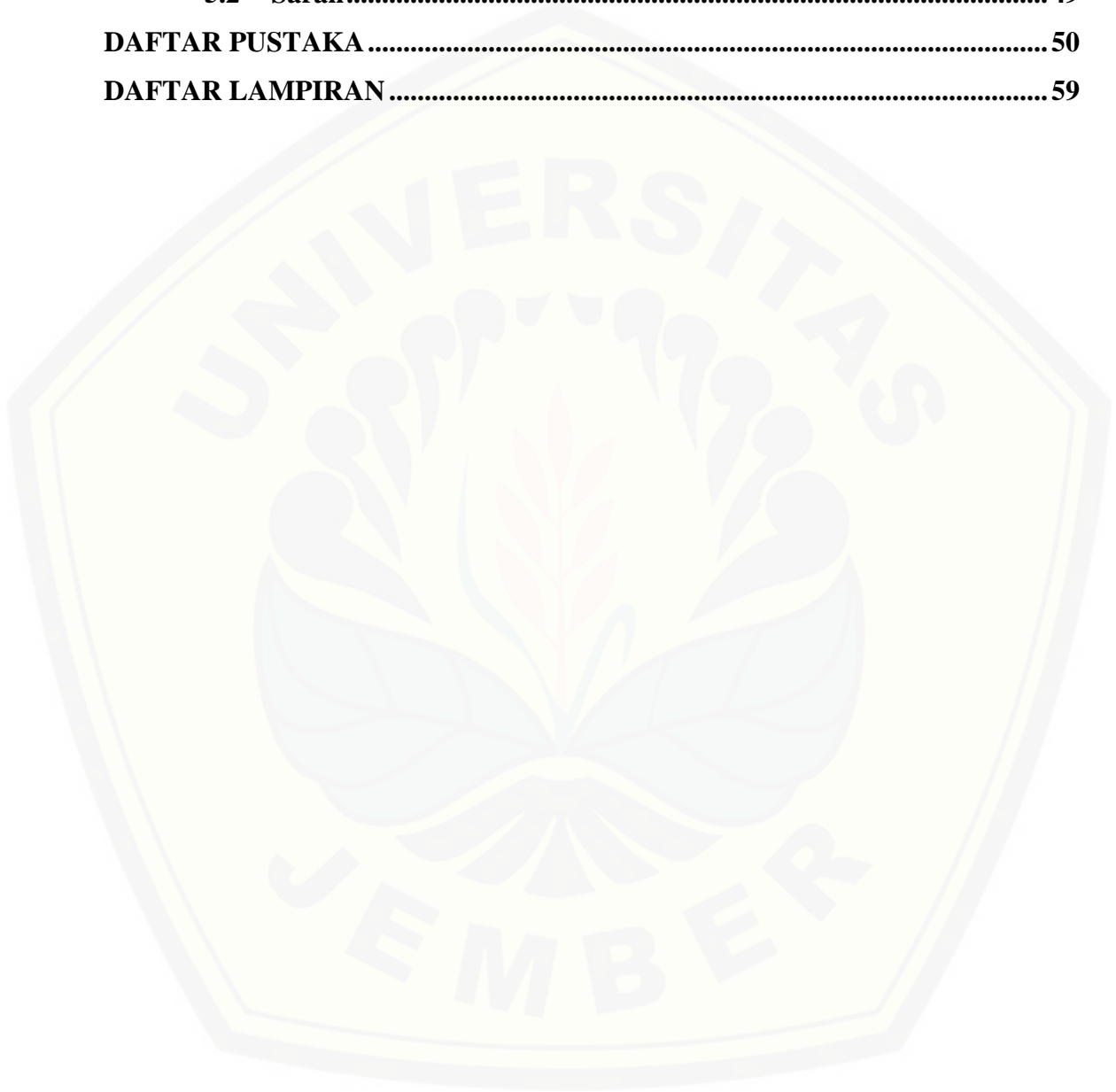
2.4.1	Definisi Diabetes.....	9
2.4.2	Klasifikasi Diabetes .....	10
2.4.3	Tinjauan Umum Obat Diabetes.....	12
<b>2.5</b>	<b>Glibenklamid.....</b>	<b>13</b>
<b>2.6</b>	<b>Insulin .....</b>	<b>14</b>
<b>2.7</b>	<b>Aloksan .....</b>	<b>15</b>
<b>2.8</b>	<b>Pankreas .....</b>	<b>16</b>
<b>2.9</b>	<b>Pembuatan Preparat Histologi.....</b>	<b>19</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>Tempat dan Waktu Penelitian .....</b>	<b>22</b>
<b>3.3</b>	<b>Rancangan Penelitian.....</b>	<b>22</b>
<b>3.4</b>	<b>Variabel Penelitian .....</b>	<b>23</b>
3.4.1	Variabel Bebas .....	23
3.4.2	Variabel Terikat .....	24
3.4.3	Variabel Terkendali.....	24
<b>3.5</b>	<b>Definisi Operasional .....</b>	<b>24</b>
<b>3.6</b>	<b>Bahan, Alat dan Hewan yang Digunakan .....</b>	<b>25</b>
3.6.1	Bahan .....	25
3.6.2	Alat.....	25
3.6.3	Hewan Coba.....	25
<b>3.7</b>	<b>Penentuan Sampel .....</b>	<b>26</b>
<b>3.8</b>	<b>Prosedur Penelitian .....</b>	<b>26</b>
3.8.1	Pembuatan Ekstrak Daun Kepel ( <i>Stelechocarpus burahol</i> ).....	26
3.8.2	Skrining Fitokimia .....	27
3.8.3	Pembuatan Sediaan Aloksan 210 mg/kgBB .....	29
3.8.4	Pembuatan Mucilago CMC-Na 1 % .....	29
3.8.5	Pembuatan Suspensi Glibenklamid 1,3 mg/kgBB .....	30



3.8.6	Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kepel ( <i>Stelechocarpus burahol</i> ) Dosis 50 mg/kgBB .....	30
3.8.7	Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kepel ( <i>Stelechocarpus burahol</i> ) Dosis 100 mg/kgBB .....	30
3.8.8	Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kepel ( <i>Stelechocarpus burahol</i> ) Dosis 200 mg/kgBB .....	31
3.8.9	Perlakuan Hewan Uji .....	31
3.8.10	Pengukuran dan Perhitungan Kadar Glukosa Darah .....	32
3.8.11	Pembuatan Preparat Histologi Pankreas .....	33
3.8.12	Perhitungan Persentase Kerusakan Pulau Langerhans .....	33
<b>3.9</b>	<b>Analisis Data .....</b>	<b>34</b>
<b>3.10</b>	<b>Alur Penelitian .....</b>	<b>35</b>
3.10.1	Ekstraksi Daun Kepel ( <i>Stelechocarpus burahol</i> ) .....	35
3.10.2	Prosedur Pengujian Aktivitas Diabetes .....	36
3.10.3	Skema Alur Pembuatan Preparat Pankreas .....	37
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>38</b>
<b>4.1</b>	<b>Hasil dan Analisis Data .....</b>	<b>38</b>
4.1.1	Pembuatan Ekstrak Daun Kepel .....	38
4.1.2	Skrining Fitokimia .....	38
4.1.3	Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah .....	39
4.1.4	Pengamatan Histopatologi Pankreas .....	41
<b>4.2</b>	<b>Pembahasan .....</b>	<b>44</b>



<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>49</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>49</b>
<b>5.2 Saran.....</b>	<b>49</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>50</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>59</b>

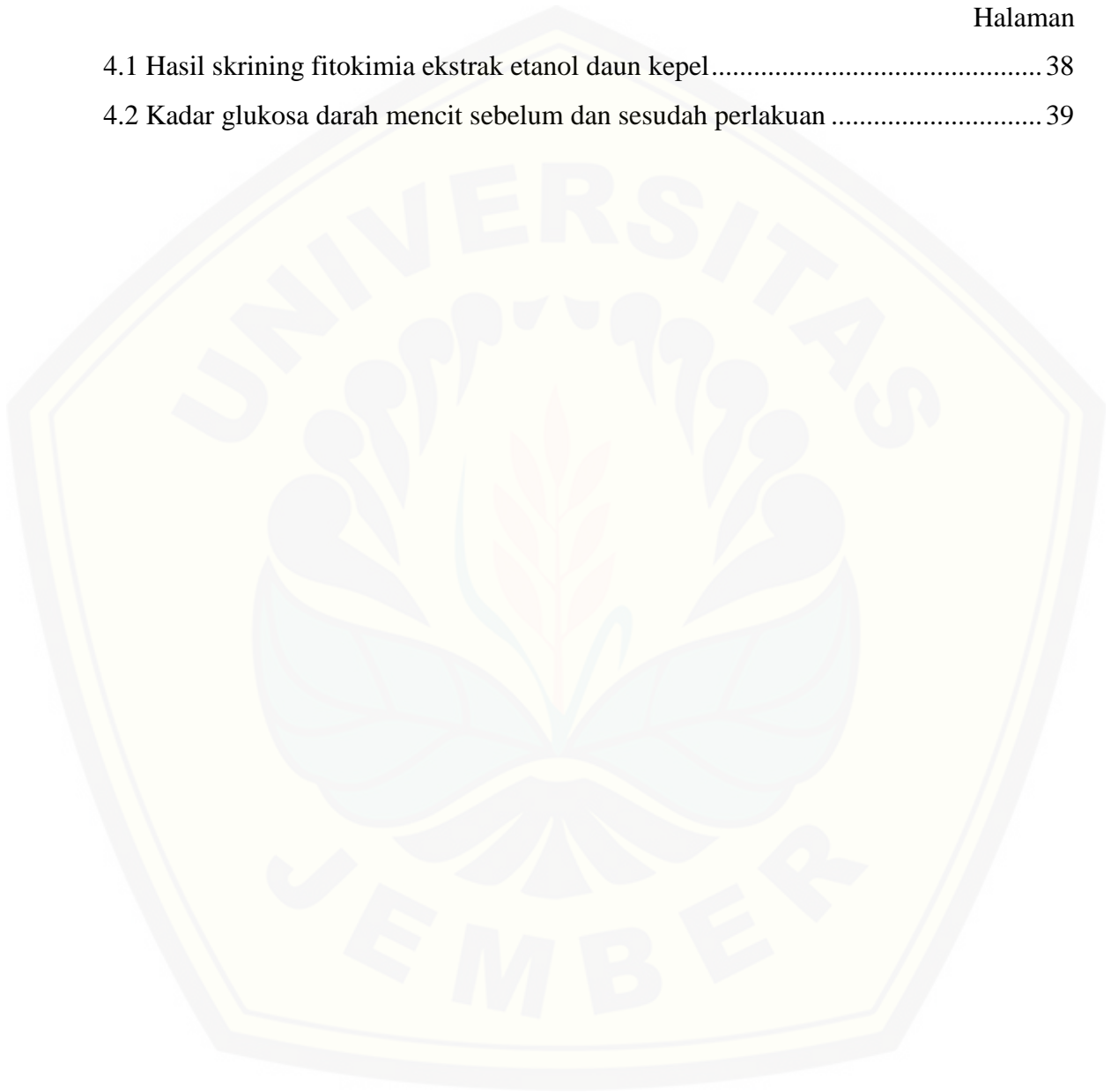


DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Daun Kepel.....	6
2.2 Struktur kimia Glibenklamid .....	13
2.3 Struktur kimia Aloksan .....	15
2.4 Gambaran histologi eksokrin dan endokrin pankreas dengan perwarnaan <i>hematoxylin eosine</i> .....	16
2.5 Gambaran histologi islet pankreas dengan pewarnaan <i>hematoxylin eosin</i> .....	17
2.6 Gambaran histologi pankreas dengan perwarnaan <i>hematoxylin eosine</i> dan perbesaran 400 X .....	18
3.1 Skema rancangan penelitian.....	22
3.2 Skema pembuatan ekstrak daun kepel .....	35
3.3 Skema alur penelitian uji aktivitas diabetes daun kepel.....	36
3.4 Skema Alur Pembuatan Preparat Pankreas .....	37
4.1 Grafik Penurunan Kadar Glukosa Darah (%). .....	40
4.2 Gambar histologi jaringan pankreas mencit dengan perwarnaan <i>hematoxylin eosine</i> , perbesaran 400 x dengan posisi pemotongan melintang.....	42
4.3 Kerusakan Pulau Langerhans pankreas (%). .....	43

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
4.1 Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun kepel.....	38
4.2 Kadar glukosa darah mencit sebelum dan sesudah perlakuan .....	39



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
4.1 Rendemen Ekstrak Daun Kepel .....	59
4.2 Perhitungan Dosis Aloksan 210 mg/kgBB .....	59
4.3 Perhitungan Dosis dan Volume Suspensi Uji yang Diberikan pada Hewan Uji ..	60
4.4 Data Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah .....	63
4.5 Data Persentase Kerusakan Pankreas Mencit Diabetes .....	65
4.6 Hasil Analisis Uji <i>One Way ANOVA</i> dan <i>LSD</i> .....	69
4.7 Dokumentasi .....	76

## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Diabetes adalah penyakit kronis yang serius yang terjadi karena pankreas tidak menghasilkan cukup insulin (hormon yang mengatur glukosa darah, atau glukosa), atau tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkan (WHO, 2016a). Terdapat 3 tipe penyakit diabetes yaitu diabetes tipe 1, diabetes tipe 2 dan diabetes gestasional. Diabetes tipe 1 ditandai dengan kurangnya produksi insulin sehingga memerlukan pemberian insulin setiap hari. Diabetes tipe 2 terjadi pada mayoritas penderita diabetes di seluruh dunia, dan sebagian besar disebabkan oleh obesitas dan kurangnya aktivitas fisik (Dipiro *et al.*, 2008). Diabetes gestasional merupakan hiperglikemia yang terjadi pada masa kehamilan yang diakibatkan karena adanya aktivitas hormon seperti *human placental lactogenic* (HPL), prolaktin, dan kortisol yang bersifat diabetogenik. Wanita dengan diabetes gestasional berisiko tinggi mengalami komplikasi selama kehamilan dan saat melahirkan (Schaefer *et al.*, 2018).

Diabetes menjadi masalah kesehatan yang penting dan merupakan salah satu dari empat *noncommunicable disease* (NCD). Jumlah kasus dan prevalensi diabetes terus meningkat selama beberapa dekade terakhir. Jumlah penderita diabetes telah meningkat dari 108 juta pada tahun 1980 menjadi 422 juta pada tahun 2014. Prevalensi global diabetes pada usia dewasa (di atas 18 tahun) telah meningkat dari 4,7% pada tahun 1980 menjadi 8,5% pada tahun 2014 (WHO, 2016a). Prevalensi diabetes meningkat lebih tinggi pada negara-negara berpenghasilan menengah dan rendah. Indonesia merupakan salah satu negara berkembang dengan prevalensi diabetes yang cukup tinggi (WHO, 2016b).

Diabetes dapat menyebabkan beberapa komplikasi seperti kebutaan, gagal ginjal, serangan jantung, stroke dan amputasi pada anggota tubuh bagian bawah (WHO, 2016a). Pengobatan diabetes merupakan pengobatan menahun atau seumur

hidup sehingga membutuhkan biaya yang relatif tinggi. Salah satu terapi terhadap pasien diabetes adalah menggunakan obat golongan sulfonilurea. Penggunaan obat golongan sulfonilurea dapat menimbulkan satu atau lebih efek samping pada 46,5 % pasien diabetes dengan efek samping berupa peningkatan berat badan (25,5 %), hipoglikemia/*severe hypoglycemia* (14,5 %), dan gangguan sistem pencernaan (6,5 %) (Confederat *et al.*, 2016). Di samping itu, penggunaan obat antidiabetes oral jangka panjang dapat menyebabkan penderita diabetes menjadi resisten dengan obat yang digunakan. Misalnya, sulfonilurea kehilangan efektivitasnya pada 44 % penderita diabetes dalam penggunaannya selama 6 tahun (Jarald *et al.*, 2008). Hal ini dapat menyebabkan tujuan terapi menjadi tidak tercapai (Wulandari, 2008). Oleh karena itu, alternatif pengobatan diperlukan untuk penyakit kronis seperti diabetes.

Salah satu upaya pengobatan alternatif diabetes adalah dengan penggunaan tanaman. WHO merekomendasikan penggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker (WHO, 2003). Di sisi lain, saat ini penggunaan obat tradisional semakin berkembang. Faktor pendorong terjadinya peningkatan penggunaan obat herbal di negara maju adalah usia harapan hidup yang lebih panjang pada saat prevalensi penyakit kronik meningkat, adanya kegagalan penggunaan obat modern untuk penyakit tertentu di antaranya kanker serta semakin luas akses informasi mengenai obat herbal di seluruh dunia (Sukandar, 2006).

Indonesia memiliki potensi untuk mengembangkan tanaman sebagai bahan alami obat karena Indonesia memiliki keanekaragaman hayati yang besar. Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah kepel (*Stelechocarpus burahol*). Kepel merupakan tumbuhan yang secara tradisional telah digunakan sebagai pewangi khususnya di kalangan keraton (Hidayat, 2011) yaitu dengan mengkonsumsi buahnya dapat membuat bau keringat dan nafas menjadi harum, bahkan dapat mengharumkan bau air seni (Fachurozi, 1980). Daun kepel memiliki kandungan flavonoid yang cukup besar dan bekerja sebagai antioksidan (Sunarni *et al.*, 2007). Flavonoid merupakan komponen yang cukup menjanjikan



sebagai antidiabetes tipe 2 (Nicolle *et al.*, 2011). Oleh karena itu, daun kepel dimungkinkan memiliki potensi sebagai antidiabetes. Akan tetapi, saat ini belum ada penelitian terkait aktivitas daun kepel sebagai antidiabetes sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mendukung hal tersebut.

Berdasarkan latar belakang tersebut, pada penelitian ini akan diuji aktivitas ekstrak etanol daun kepel sebagai antidiabetes. Melalui penelitian ini diharapkan pemanfaatan tanaman kepel menjadi lebih beragam, terutama sebagai alternatif pengobatan diabetes melitus. Penelitian ini diharapkan memberikan kontribusi terhadap lingkungan, ekonomi dan kesehatan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, permasalahan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1.2.1 Apakah ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) memiliki aktivitas antidiabetes ?
- 1.2.2 Bagaimana perbedaan pengaruh ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) pada dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes ?
- 1.2.3 Bagaimana perbedaan pengaruh ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) pada dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB terhadap gambaran histopatologi dan kerusakan pulau Langerhans pankreas mencit diabetes ?

## 1.3 Tujuan

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut :

- 1.3.1 Menentukan aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*).

- 1.3.2 Menentukan perbedaan pengaruh ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) pada dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes.
- 1.3.3 Menentukan perbedaan pengaruh ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) pada dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB terhadap gambaran histopatologi dan kerusakan pulau Langerhans pankreas mencit diabetes.

#### **1.4 Manfaat**

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

- 1.4.1 Memberikan informasi tentang aktivitas antidiabetes ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*).
- 1.4.2 Ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) dapat dimanfaatkan sebagai alternatif antidiabetes alami sehingga dapat meningkatkan nilai ekonomi tanaman kepel (*Stelechocarpus burahol*).
- 1.4.3 Menjadi landasan atau sumber rujukan untuk penelitian lebih lanjut terkait penyakit diabetes dan tanaman kepel (*Stelechocarpus burahol*).

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Kepel

#### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman Kepel

Menurut USDA (2007), klasifikasi ilmiah tanaman kepel adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Trachebionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Magnoliales
Famili	: Annonaceae
Genus	: <i>Stelechocarpus</i>
Spesies	: <i>Stelechocarpus burahol</i> (Blume) Hook & Thompson

#### 2.1.2 Deskripsi Tanaman Kepel

Tanaman kepel atau burahol (*Stelechocarpus burahol*) adalah flora identitas Daerah Istimewa Yogyakarta. Kepel merupakan tumbuhan yang secara tradisional telah digunakan sebagai pewangi khususnya di kalangan keraton (Hidayat, 2011). *S. burahol* merupakan jenis tanaman buah khas Indonesia, dengan nama lain kepel, simpel, dan kecindul (Jawa). Tinggi pohon ini dapat mencapai 25 m, batang lurus berwarna cokelat tua, diameter mencapai 40 cm, memiliki benjolan-benjolan bekas keluar bunga dan buah, daun tunggal, elips-lonjong sampai bundar telur, lanset, panjang 12-27 cm dan lebar 5-9 cm. Buah berbentuk bulat, berwarna kecoklatan, diameter 5-6 cm, berbiji empat atau lebih dan berbentuk elips (LIPI, 2000). Kepel akan tumbuh baik pada tanah yang subur, drainase yang baik, dan pH 5,8-6,7 (Solikin,

2010). Tanaman ini tidak dapat berbuah sepanjang tahun (Ramadhan *et al.*, 2015). Alternatif untuk pemanfaatan dari bagian tanaman ini selain buah adalah daun kepel.

Daun yang dipilih sebaiknya memenuhi kriteria yang diinginkan. Kriteria pemilihan daun kepel antara lain (Ramadhan *et al.*, 2015) :

- a. Daun muda : berwarna merah daun yang masih ada warna merah atau sampai sekitar 14 hari setelah *flush* muncul (Gambar 2.1A).
- b. Daun sedang: warna merah sudah mulai menghilang dan berganti menjadi hijau muda atau sekitar 14-28 hari setelah *flush* muncul (Gambar 2.1B).
- c. Daun dewasa: daun yang sudah berwarna hijau tua atau daun yang berumur lebih dari 28 hari setelah *flush* muncul (Gambar 2.1C).



Gambar 2.1 Daun Kepel : (A) Daun muda; (B) Daun sedang; (C) Daun dewasa (Ramadhan *et al.*, 2015)

### 2.1.3 Kandungan dan Manfaat Tanaman Kepel

Kepel merupakan tumbuhan yang secara tradisional telah digunakan sebagai pewangi khususnya di kalangan keraton (Hidayat, 2011). Secara tradisional kepel telah digunakan sebagai bahan parfum, khususnya di kalangan keraton, dengan mengkonsumsi buahnya dapat membuat bau keringat dan nafas menjadi harum, bahkan dapat mengharumkan bau air seni (Fachurozi, 1980). Daging buah kepel

mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, triterpenoid, dan saponin serta mempunyai efek antiimplantasi (Sunardi *et al.*, 2010). Daging buah kepel mengandung antioksidan yang cukup tinggi (Tisnadjaja *et al.*, 2006).

Penelitian Sunardi (2010), menunjukkan bahwa hasil uji fitokimia kepel mengandung alkaloid, flavonoid, tanin dan steroid-triterpenoid. Daun kepel mengandung terpenoid dan flavonoid seperti auron, flavon dan flavonol (Ramadhan *et al.*, 2015). Penelitian oleh Diniatik (2015) menunjukkan bahwa kadar flavonoid total ekstrak etanol 70% daun kepel dengan metode spektrofotometri adalah 9,3; 9,9 dan 10,1 % (b/b). Kadar flavonoid daun kepel tertinggi ditunjukkan daun dewasa, sedangkan daun kepel sedang dan muda memiliki kadar flavonoid yang sama. Daun kepel dewasa memiliki kadar flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan daun kepel sedang sebesar 45,53 % dan daun kepel muda 60,24 % pada bulan November (Ramadhan *et al.*, 2015). Daun kepel juga memiliki aktivitas sebagai antibakteri dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) sebesar 0,06 mg/mL dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) sebesar 0,50 mg/mL (Hidayat, 2011). Potensi toksisitas akut ekstrak etanol daun kepel menunjukkan bahwa daun kepel praktis tidak toksik dengan dosis pseudo letal 50 % (pseudo-LD<sub>50</sub>) lebih dari 5000 mg/kgBB (Purwatiningsih dan Nurlaila, 2016). Ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 50-400 mg/kgBB mempunyai efek antihiperurisemik yang potensial dan efeknya sama dengan allopurinol (Purwatiningsih *et al.*, 2010). Daun kepel memiliki kandungan flavonoid yang cukup besar dan bekerja sebagai antioksidan (Sunarni *et al.*, 2007).

## 2.2 Ekstraksi

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, 2011). Ekstraksi merupakan proses untuk mendapatkan ekstrak dari suatu tanaman. Ekstraksi terkait dalam penelitian bahan alam merupakan pemisahan bagian yang aktif, konstituen dari matriks biologis yang kompleks baik tanaman atau hewan. Prosesnya dilakukan dengan menggunakan pelarut yang



memiliki polaritas yang sesuai dengan menggunakan metode baik yang menggunakan penerapan energi panas maupun tidak. Hasil yang diperoleh relatif berupa cairan tidak murni, semisolid atau serbuk yang ditujukan untuk penggunaan oral atau eksternal (Mandal *et al.*, 2015). Pemilihan metode ekstraksi didasarkan pada tujuan ekstraksi, skala, komponen senyawa yang diekstrak dan pelarut yang digunakan (Houghton dan Raman, 1998).

Maserasi merupakan teknik ekstraksi dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai untuk jangka waktu tertentu, di mana saja dari beberapa jam sampai beberapa hari, jumlah konstituen yang sesuai dilarutkan dalam menstrum. Maserasi merupakan metode ekstraksi dingin yang sering digunakan karena lebih sederhana dan mudah (Mandal *et al.*, 2015). Pada metode maserasi menggunakan pelarut yang dapat menyari sebagian besar metabolit sekunder yang terkandung dalam serbuk simplisia. Kecuali dinyatakan lain dalam monografi, digunakan etanol 70 % (Depkes RI, 2011). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Oleh karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang pekat akan terdesak keluar untuk memperoleh kesetimbangan konsentrasi di dalam dan luar sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, n-hexana, etil asetat atau pelarut lain (Mandal *et al.*, 2015).

Pengulangan proses maserasi (remaserasi) lebih efisien daripada proses maserasi tunggal. Hal ini disebabkan masih terdapat sejumlah senyawa yang masih tertinggal setelah proses maserasi pertama (Handa, 2008). Remaserasi dilakukan dengan serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari yang pertama, diendapkan dan diperas, dan ampas dimaserasi kembali dengan cairan penyari yang kedua (Mandal *et al.*, 2015). Remaserasi dapat digunakan untuk senyawa aktif yang sangat sedikit dan tanaman yang mengandung minyak atsiri (Handa, 2008).



### 2.3 Skrining Fitokimia

Fitokimia adalah senyawa kimia yang berasal dari tumbuhan dan istilah ini sering digunakan untuk menggambarkan sejumlah besar metabolik sekunder yang ditemukan pada tumbuhan (Sasidharan *et al.*, 2011). Skrining fitokimia merupakan tahapan pendahuluan dalam suatu penelitian fitokimia yang bertujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam tanaman yang sedang diteliti. Salah satu metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Houghton dan Raman, 1998). Uji skrining fitokimia ini merupakan prosedur sederhana, cepat, dan murah yang dapat memberikan hasil cepat untuk berbagai jenis fitokimia dalam campuran dan merupakan sarana penting dalam analisis senyawa bioaktif (Sasidharan *et al.*, 2011). Skrining fitokimia serbuk simplisia atau sampel meliputi pemeriksaan kandungan senyawa seperti alkaloid, flavonolid, terpenoid/steroida, polifenol, tanin dan antrakinon (Houghton dan Raman, 1998).

### 2.4 Diabetes Melitus

#### 2.4.1 Definisi Diabetes

Diabetes adalah penyakit kronis yang serius yang terjadi karena pankreas tidak menghasilkan cukup insulin (hormon yang mengatur glukosa darah, atau glukosa), atau tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkan (WHO, 2016a). Diabetes melitus (DM) ditandai oleh poliuri, polidipsi dan polifagi, disertai dengan peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemia (glukosa puasa  $\geq 126$  mg/dL atau postprandial  $\geq 200$  mg/dL) (Suherman, 2007).

Kriteria penegakan diagnosis pada diabetes adalah glukosa darah puasa  $\geq 126$  mg/dL (7,0 mmol/L). Puasa dimaksudkan tidak adanya kalori yang masuk dalam tubuh kurang lebih 8 jam. Kadar glukosa darah 2 jam setelah tes toleransi glukosa oral (TTGO)  $\geq 200$  mg/dL (11,1 mmol/L) sesuai standar WHO menggunakan glukosa yang setara dengan 75 g glukosa anhidrat. Nilai HbA1C  $> 6,5\%$  (48 mmol/mol). Pada

pasien dengan gejala klasik hiperglikemia, kadar glukosa darah acak yaitu  $\geq 200$  mg/dL (11,1 mmol/L) (ADA, 2017).

Pada penyakit diabetes terjadi defisiensi insulin yang dikarenakan oleh rusaknya sel  $\beta$  pankreas karena pengaruh dari luar (virus, zat kimia tertentu, dll), desensitasi atau penurunan reseptor glukosa pada kelenjar pankreas, desensitasi reseptor insulin (*down regulation*) di jaringan perifer (Manaf, 2009). Diabetes dapat menyebabkan kebutaan, gagal ginjal, serangan jantung, stroke dan amputasi pada anggota tubuh bagian bawah (WHO, 2016a). Faktor risiko diabetes menurut ADA (*American Diabetes Association*) antara lain A1C  $> 5,7$  % (39 mmol/mol), IGT (*Impaired Glucose Tolerance*), atau IFG (*Impaired Fasting Glucose*) pada uji sebelumnya, riwayat keluarga dengan penderita DM, etnik/suku (misalnya Amerika-Afrika latin, suku asli Amerika, Amerika-Asia, Pasifik), wanita dengan diagnosa DM gestasional, riwayat CVD, hipertensi ( $\geq 140/90$  mmHg atau terapi hipertensi), kadar HDL ( $< 35$  mg/dL) dan TG ( $> 250$  mg/dL), wanita dengan *polycystic ovary syndrome*, *physical inactivity*, dan kondisi klinis lain yang berhubungan dengan resistensi insulin (*obesitas, acanthosis, nigricans*) (ADA, 2017).

#### 2.4.2 Klasifikasi Diabetes

Terdapat 3 tipe penyakit diabetes yaitu diabetes tipe 1, diabetes tipe 2 dan diabetes gestasional (IDF, 2015).

##### a. Diabetes Tipe 1

Diabetes tipe 1 disebut juga sebagai *insulin-dependent, juvenile* atau *childhood-onset*. Diabetes tipe 1 ditandai dengan kurangnya produksi insulin sehingga memerlukan pemberian insulin setiap hari (Dipiro *et al.*, 2008). Diabetes tipe 1 disebabkan adanya reaksi autoimun. Sistem kekebalan tubuh menyerang sel beta pankreas yang berfungsi dalam produksi insulin sehingga tubuh tidak dapat lagi memproduksi insulin yang dibutuhkan (IDF, 2015). Penyebab hal ini belum diketahui. Gejala dari diabetes tipe 1 antara lain haus,

mulut kering, sering buang air kecil, kelelahan, sering merasa lapar, kehilangan berat badan secara drastis, dan pandangan kabur (IDF, 2015).

b. Diabetes Tipe 2

Diabetes tipe 2 disebut juga *non-insulin-dependent*, atau *adult-onset*. Diabetes tipe 2 disebabkan penggunaan insulin yang tidak efektif oleh tubuh (Dipiro *et al.*, 2008). Pada diabetes tipe 2, tubuh mampu menghasilkan insulin tetapi menjadi resisten sehingga insulin tidak cukup efektif dan tidak mencukupi kebutuhan tubuh. Resistensi dan defisiensi insulin ini menyebabkan tingginya kadar glukosa darah. Diabetes tipe 2 terjadi pada mayoritas penderita diabetes di seluruh dunia, dan sebagian besar disebabkan oleh obesitas dan kurangnya aktivitas fisik. Gejala diabetes tipe 2 antara lain sering buang air kecil, haus berlebihan, kehilangan berat badan, dan pandangan kabur. Pasien dengan diabetes tipe 2 jarang diketahui kondisi/gejala yang ada dan dapat dikenali setelah bertahun-tahun dengan pada umumnya terdapat komplikasi saat terdiagnosa diabetes tipe 2 (IDF, 2015).

c. Diabetes Gestasional

Diabetes gestasional merupakan hiperglikemia yang terjadi pada masa kehamilan yang diakibatkan karena adanya aktivitas hormon seperti *human placental lactogenic* (HPL), prolaktin, dan kortisol yang bersifat diabetogenik. Diabetes gestasional terjadi pada minggu ke 24 pada masa kehamilan (IDF, 2015). Wanita dengan diabetes gestasional berisiko tinggi mengalami komplikasi selama kehamilan dan saat melahirkan (Schaefer *et al.*, 2018). Diabetes gestasional secara normal akan hilang pasca melahirkan. Wanita yang terdiagnosa diabetes gestasional sebelumnya akan memiliki risiko tinggi terjadinya diabetes gestasional pada kehamilan berikutnya. Bayi yang dilahirkan dari ibu yang terdiagnosa dengan diabetes gestasional memiliki risiko tinggi diabetes tipe 2 saat masa remaja atau dewasa (IDF, 2015).

### 2.4.3 Tinjauan Umum Obat Diabetes

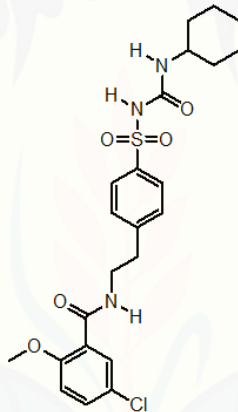
Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat hipoglikemia oral dapat dibagi menjadi tiga golongan antara lain (Muchid *et al.*, 2005).

- a. Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemia oral golongan sulfonilurea dan glinida (meglitinida dan turunan fenilalanin). Obat golongan sulfonilurea seperti glibenklamid, glipizida, glimepirida bekerja dengan merangsang sekresi insulin di kelenjar pankreas, sehingga hanya efektif pada penderita diabetes yang sel-sel beta pankreasnya masih berfungsi dengan baik. Obat golongan meglitinida seperti rapaglinida bekerja dengan merangsang sekresi insulin di kelenjar pankreas. Obat golongan turunan fenilalanin seperti nateglinida dapat meningkatkan kecepatan sintesis insulin oleh pankreas
- b. Sensitiser insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitifitas sel terhadap insulin), meliputi obat-obat hipoglikemia golongan biguanida dan tiazolidindion yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin dengan lebih efektif. Obat golongan biguanida seperti metformin bekerja langsung pada hati hati (pankreas) dan menurunkan produksi glukosa hati. Obat golongan tiazolidindion seperti rosiglitazon, troglitazon, dan pioglitazon dapat meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin. Berikatan dengan PPAR- $\gamma$  (*peroxisome proliferator activated receptor-gamma*) di otot, jaringan lemak dan hati untuk menurunkan resistensi insulin.
- c. Inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain inhibitor  $\alpha$ -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia post-prandial (*post-meal hyperglycemia*). Obat golongan ini dapat menghambat kerja enzim pencernaan yang mencerna karbohidrat, sehingga memperlambat absorpsi glukosa ke dalam darah. Contoh obat golongan inhibitor glukosidase adalah acarbose dan miglitol.



## 2.5 Glibenklamid

Glibenklamid merupakan salah satu obat diabetes yang sering digunakan. Struktur glibenklamid ditunjukkan pada gambar 2.2. Glibenklamid termasuk golongan sulfonilurea generasi II. Golongan ini disebut sebagai *insulin secretagogues* yang merangsang sekresi insulin dari granul sel beta Langerhans pankreas (ADA, 2017). Glibenklamid berikatan dengan *adenosine triphosphate-sensitive K channel* pada membran sel  $\beta$  pankreas sehingga menimbulkan depolarisasi membran. Dengan terbukanya kanal Ca maka ion  $\text{Ca}^{2+}$  akan masuk ke dalam sel beta dan merangsang sekresi insulin dari granula (Dipiro *et al.*, 2008).



Gambar 2.2 Struktur kimia Glibenklamid  
(PubChem, 2016)

Glibenklamid (Gliburid) memiliki potensi lebih kuat dari tolbutamid, dengan waktu paruh sekitar 4 jam. Metabolismenya di hepar, pada pemberian dosis tunggal hanya 25 % metabolitnya diekskresi melalui urin, sisanya melalui empedu. Dosis glibenklamid adalah 10 mg. Golongan sulfonilurea tidak dapat diberikan pada pasien dengan gangguan hati dan ginjal (Suherman, 2007). Penggunaan obat golongan sulfonilurea dapat menimbulkan satu atau lebih efek samping pada 46,5 % pasien diabetes dengan efek samping berupa peningkatan berat badan (25,5 %), hipoglikemia/*severe hypoglicemia* (14,5 %), dan gangguan sistem pencernaan (6,5 %) (Confederat *et al.*, 2016). Efek samping obat golongan sulfonilurea umumnya ringan dan frekuensinya rendah seperti gangguan susunan saraf pusat dan saluran

cerna. Gangguan saluran cerna meliputi mual, diare, sakit perut, hipersekresi asam lambung dan sakit kepala. Gangguan susunan saraf pusat berupa vertigo, bingung dan sebagainya (Muchid *et al.*, 2005).

## 2.6 Insulin

Insulin merupakan hormon polipeptida yang terdiri dari 51 asam amino yang tersusun dalam 2 rantai. Preparat insulin didapat dari ekstraksi pankreas babi atau sapi, berupa kristal putih dan tidak berbau. Insulin disintesis oleh sel  $\beta$  pulau Langerhans dari proinsulin. Produksi insulin pada orang normal, sehat yang kurus antara 18-40 U per hari atau 0,2-0,5 U/kgBB per hari dan hampir 50 % disekresi pada keadaan basal (Suherman, 2007).

Insulin dihasilkan oleh sel beta pankreas sebagai respon terhadap hiperglikemia (Bender dan Mayes, 2006). Glukosa masuk ke dalam sel  $\beta$  melalui *glucose transporter 2* (GLUT2) yang merupakan transporter spesifik. Glukosa kemudian mengalami fosforilasi oleh glukokinase. Enzim ini terutama terdapat pada organ tempat terjadinya regulasi metabolisme glukosa seperti hepar dan sel  $\beta$  pankreas. Sekresi insulin sangat bergantung dari kadar  $\text{Ca}^{2+}$  intrasel (Suherman, 2007). Metabolisme glukosa yang diinduksi oleh glukokinase menyebabkan peningkatan aliran metabolik melalui glikolisis siklus asam sitrat dan pembentukan ATP. Peningkatan ATP menyebabkan terjadinya penutupan kanal ion  $\text{K}^+$  yang sensitif ATP (*ATP-sensitive  $\text{K}^+$  channel*) dan depolarisasi sel  $\beta$ . Sebagai kompensasi, adanya aktivasi kanal  $\text{Ca}^{2+}$  dan ion ini akan masuk ke dalam sel  $\beta$ . Selanjutnya  $\text{Ca}^{2+}$  intrasel merangsang sekresi insulin dari granulanya. Oleh karena itu, kadar insulin dalam darah setara dengan konsentrasi glukosa darah (Bender dan Mayes, 2006).

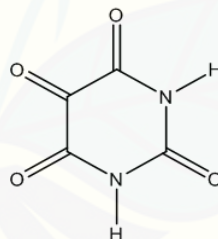
Insulin cepat menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan pemindahan glukosa ke dalam jaringan adiposa dan otot melalui GLUT4 (Bender dan Mayes, 2006). Insulin masuk ke reseptor  $\alpha$  di luar sel kemudian ke reseptor  $\beta$  di dalam sel. Hal ini menyebabkan fosforilase intrasel yang kompleks dan berakhir



dengan pembentukan GLUT4. GLUT4 ditranslokasi ke dinding sel, glukosa plasma masuk ke sel melalui GLUT4. Insulin merangsang transpor glukosa dengan menginduksi energi untuk mentranslokasi GLUT4 dan GLUT1 dari vesikel intrasel ke membran plasma. Efek ini bersifat reversibel. GLUT kembali ke intrasel saat insulin tidak bekerja lagi. Gangguan proses regulasi ini dapat menjadi salah satu penyebab DM tipe 2 (Suherman, 2007).

## 2.7 Aloksan

Pengujian aktivitas antidiabetes pada hewan coba dilakukan melalui beberapa cara seperti pankreatomi atau dengan zat yang bertindak sebagai diabetogenik seperti aloksan (Szkudelski, 2001). Aloksan (2,4,5,6(1H,3H)-Pyrimidinetetrone) memiliki berat molekul 142,07 g/mol (PubChem, 2015). Struktur aloksan ditunjukkan pada gambar 2.3. Aloksan bersifat hidrofilik dan tidak stabil. Waktu paruh pada pH netral dan suhu 37 °C sekitar 1,5 menit dan lebih lama pada suhu yang lebih rendah (Szkudelski, 2001).



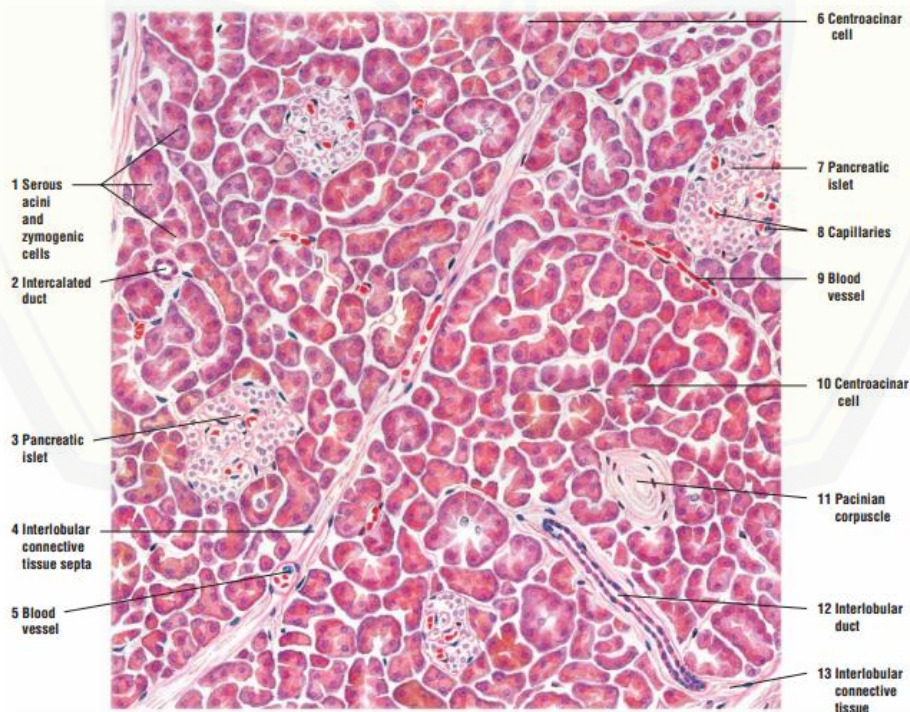
Gambar 2.3 Struktur kimia Aloksan (PubChem, 2015)

Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel beta pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT2. Aloksan dan produk reduksinya, asam dialurat, membentuk siklus redoks dengan pembentukan radikal superoksida. Radikal superoksida akan mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida. Setelah itu radikal hidroksil yang sangat reaktif terbentuk oleh reaksi Fenton. Aksi dari adanya senyawa oksigen reaktif

dengan peningkatan konsentrasi kalsium sitosolik secara simultan menyebabkan kerusakan sel B secara cepat (Szkudelski, 2001). Pola hiperglikemia dari induksi aloksan pada respon glukosa oral pada tikus terhadap agen antidiabetes menyimpulkan kesesuaian induksi kimia sebagai model pada diabetes melitus tipe 2 dalam penelitian yang menggunakan hewan uji (Etuk dan Muhammed, 2010). Aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal dan subkutan. Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kgBB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Nugroho, 2006).

## 2.8 Pankreas

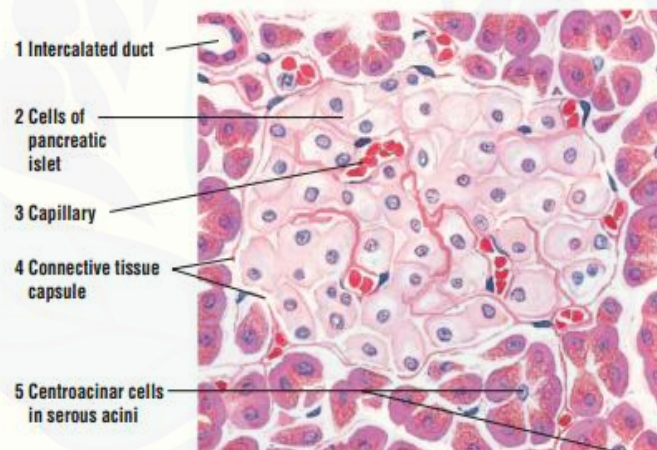
Pankreas merupakan organ retroperitoneal yang terletak di bagian posterior dari dinding lambung (Agur, 2013). Letaknya diantara duodenum dan limfa, di depan aorta abdominalis dan arteri serta *vena mesenterica superior*. Pankreas merupakan kelenjar dengan fungsi ganda yaitu eksokrin dan endokrin (Dipiro, 2008). Gambaran histologi eksokrin dan endokrin pankreas ditunjukkan dalam gambar 2.4.



Gambar 2.4 Gambaran histologi eksokrin dan endokrin pankreas dengan perwarnaan hematoxylin eosin (Eroschenko, 2008)

Fungsi endokrin diperankan oleh pulau Langerhans. Di dalam Acini serosa terdapat insula pankreatik atau pulau Langerhans yang merupakan ciri khas pankreas. Acini berfungsi untuk memproduksi cairan pankreas yang mengandung enzim pencernaan yang dialirkan ke duodenum. Pulau Langerhans berperan penting dalam metabolisme karbohidrat dan membantu mempertahankan kadar glukosa darah (Guyton dan Hall, 2011).

Fungsi eksokrin pankreas terdiri dari asini serosa dan sel zimogenik yang tersusun rapat dan memiliki banyak lobulus kecil. Lobulus dikelilingi oleh septum jaringan ikat intralobularis dan interlobularis yang mengandung pembuluh darah, duktus interlobularis, saraf, reseptor sensorik seperti *corpuseculum lamellosum* (Eroschenko, 2008). Gambaran islet pankreas ditunjukkan pada gambar 2.5.

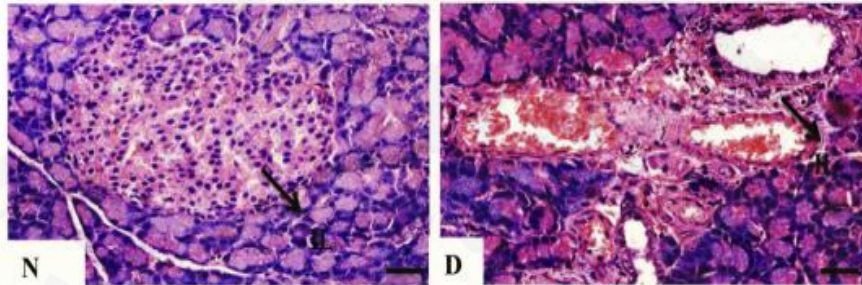


Gambar 2.5 Gambaran histologi islet pankreas dengan pewarnaan *hematoxylin eosin* (Eroschenko, 2008)

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). Secara histologi terjadi perubahan struktur pada organ pankreas dalam kondisi hiperglikemia. Pada mencit diabetes dapat diamati terjadinya perubahan patologis dari organ pankreas yang dapat diamati dari adanya kerusakan yang parah pada pulau



Langerhans, pendarahan pada saluran interlobular, dan terdapat sel asinar yang tidak beraturan dibandingkan dengan penampakan histologi pankreas dalam keadaan normal (Adam *et al.*, 2016). Gambaran histologi pankreas normal dan diabetes ditunjukkan pada gambar 2.6.



Gambar 2.6 Gambaran histologi pankreas dengan pewarnaan *hematoxylin eosine* dan perbesaran 400 X; (N) Normal, (D) Diabetes (Adam *et al.*, 2016)

Pada kondisi diabetes, fungsi dan massa sel beta pankreas menurun merupakan onset klinis dari kedua jenis diabetes mellitus (DM) dan ini disertai dengan adanya kerusakan kontrol glikemik (Cernea dan Dobreanu, 2013). Salah satu faktor yang menyebabkan kerusakan sel beta pankreas pada kondisi diabetes adalah glukotoksisitas. Sel beta pankreas sangat sensitif terhadap konsentrasi glukosa darah dan perubahan homeostasis mempengaruhi fungsi dan populasi sel beta. Kadar glukosa darah yang tinggi dapat mempengaruhi sintesis/sekresi insulin, kelangsungan hidup sel dan sensitivitas insulin melalui berbagai mekanisme (glukotoksisitas), yang pada dapat menyebabkan hiperglikemia dan akhirnya dapat merusak fungsi sel beta. Pada desensitisasi sel beta, glukotoksisitas memberikan perubahan ireversibel pada komponen seluler yang berperan dalam produksi insulin. Sel-sel islet berada pada keadaan desensitisasi, *exhaustion* atau apoptosis pada waktu yang sama (Cernea dan Dobreanu, 2013).

Terdapat beberapa mekanisme hiperglikemia kronis dapat merusak fungsi sel beta dan menyebabkan apoptosis sel beta. Adanya paparan yang lama terhadap

peningkatan konsentrasi glukosa menyebabkan hilangnya ekspresi gen insulin secara bertahap, akibat aktivitas yang berkurang dari regulator utama aktivitas promotor insulin (seperti aktivator transkriptor gen insulin) dan gen spesifik sel-sel beta lainnya yang dimediasi dengan adanya stres oksidatif (Poitout *et al.*, 1996).

Retikulum endoplasma (RE) adalah organel sel yang berperan dalam biosintesis lipid dan protein. RE menghasilkan protein transmembran dan lipid untuk sel dan bertanggung jawab untuk sintesis semua protein yang disekresikan. RE juga memiliki peran penting dalam penyimpanan dan sinyal  $Ca^{2+}$ . Sel beta dengan peningkatan sekresi insulin membutuhkan tempat dengan RE yang banyak untuk sintesis proinsulin. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya stres seluler. Stres RE meliputi akumulasi dari *unfolded protein* dan memicu respon *unfolded protein response* (UPR) untuk mengembalikan homeostasis pada RE. Dalam kasus yang parah, stres RE kronis dan UPR yang kuat menyebabkan kematian sel beta melalui apoptosis. Hal ini dimediasi oleh stres kinase dan faktor transkripsi. Asam lemak bebas dan islet amiloid polipeptida (IAPP) dapat berperan sebagai pemicu stress RE pada sel beta (Eizirik *et al.*, 2008).

Hiperglikemia berkelanjutan jangka panjang meningkatkan fluks metabolik ke mitokondria dan menginduksi *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan stres oksidatif kronis. Pada kondisi hiperglikemik, produksi ROS berlebihan dihasilkan oleh fosforilasi oksidatif mitokondria selama glikolisis anaerobik. Stres oksidatif akan mengaktifkan jalur yang menginduksi stres sehingga dapat menyebabkan kerusakan sel beta dengan menginduksi biosintesis dan sekresi insulin yang rusak dan apoptosis (Robertson *et al.*, 2003).

## 2.9 Pembuatan Preparat Histologi

Histoteknik adalah metode atau cara/proses untuk membuat sajian histologi dari spesimen tertentu melalui suatu rangkaian proses hingga menjadi sajian yang siap untuk diamati atau dianalisa. Rangkaian proses pembuatan preparat histologi meliputi



fiksasi (*fixation*), dehidrasi (*dehydration*), pembenangan (*clearing*), pembedanan (*impregnasi/embedding*), pengecoran (*blocking*), pemotongan jaringan (*sectioning*), pewarnaan (*staining*), perekatan (*mounting*) dan pelabelan (*labelling*) (Jusuf, 2009).

Fiksasi bertujuan untuk mengawetkan jaringan, mempertahankan susunan jaringan agar mendekati kondisi seperti sewaktu hidup dan mengeraskan jaringan terutama jaringan lunak agar memudahkan pembuatan irisan tipis (Jusuf, 2009). Jaringan difiksasi dengan cara direndam dalam larutan fiksasi kurang lebih 24 jam (National Society for Histotechnology, 2001). Tahap selanjutnya adalah dehidrasi. Dehidrasi bertujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga jaringan nantinya dapat diisi dengan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Hal ini perlu dilakukan karena air tidak dapat bercampur dengan cairan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Pada tahap ini dapat menggunakan alkohol (Jusuf, 2009).

Pembenangan adalah suatu tahap untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin (Jusuf, 2009). Bahan atau reagen pembenang yang paling sering dipakai adalah kloroform, xylene/xylol, dan sebagainya. Pada pembenangan direkomendasikan menggunakan 3 tahapan xylene (National Society for Histotechnology, 2001). Selanjutnya, dilakukan pembedanan (*impregnasi*) yaitu proses untuk mengeluarkan cairan pembenang (*clearing agent*) dari jaringan dan diganti dengan parafin. Pada tahap ini jaringan harus benar-benar bebas dari cairan pembenang karena sisa cairan pembenang dapat mengkristal dan sewaktu dipotong dengan mikrotom akan menyebabkan jaringan menjadi mudah robek (Suvarna *et al.*, 2013). Zat pembedan yang dipakai adalah parafin cair panas (Jusuf, 2009).

Pengecoran (*blocking*) adalah proses pembuatan blok preparat agar dapat dipotong dengan mikrotom. Pengecoran dilakukan dengan menggunakan potongan besi berbentuk L (Leuckhart). Dua buah potongan besi disusun diatas lembaran logam hingga rapat dan membentuk ruang seperti kubus. Hal yang harus dicegah adalah jangan sampai gelembung udara mengisi kedalam blok parafin tersebut.

Tahapan selanjutnya adalah pemotongan (*mounting*) yaitu proses pemotongan blok preparat dengan menggunakan mikrotom (Jusuf, 2009).

Pewarnaan adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat diamati dengan mikroskop. Proses timbulnya warna terkait dengan terjadinya ikatan antara molekul tertentu yang terdapat pada daerah dan struktur jaringan yang tertentu. Sinar dengan panjang gelombang tertentu yang terdapat dalam sinar yang berasal dari cahaya matahari atau lampu mikroskop yang dipaparkan pada sajian yang telah diwarnai akan diabsorpsi atau diteruskan. Zat warna yang terikat pada jaringan akan menyerap sinar dengan panjang gelombang tertentu sehingga jaringan tersebut akan tampak berwarna (Jusuf, 2009). Sebelum dicelupkan dalam pewarna dilakukan deparafinasi dan hidrasi. Hidrasi dilakukan dengan menggunakan alkohol. Alkohohl pertama yang digunakan yaitu alkohohl absolut kemudian diikuti dengan alkohohl dengan konsentrasi lebih rendah 95%, 70%, dan 50% (National Society for Histotechnology, 2001).

Pewarnaan hematoxylin dan eosin (HE) merupakan pewarnaan yang paling banyak digunakan dalam pewarnaan histologis. Hal ini dikarenakan pewarnaan HE sangat sederhana dan kemampuan komparatifnya menunjukkan dengan jelas sejumlah besar struktur jaringan yang berbeda. Pada dasarnya, komponen hematoxylin memberikan warna biru kehitaman pada warna sel, khususnya kromatin dalam nukleus dan membran inti (Suvarna *et al.*, 2013). Eosin dalam prosedur H & E disebut sebagai *counterstain*. Eosin memberikan warna pada bagian yang tidak terwarnai oleh hematoxylin. Ketika diterapkan dengan benar, eosin menghasilkan tiga warna yang berbeda yang dapat digunakan untuk membedakan berbagai elemen jaringan; sel darah merah dengan warna oranye kemerahan gelap, kolagen lebih berwarna merah muda terang, dan otot merah muda polos cerah (National Society for Histotechnology, 2001).

### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

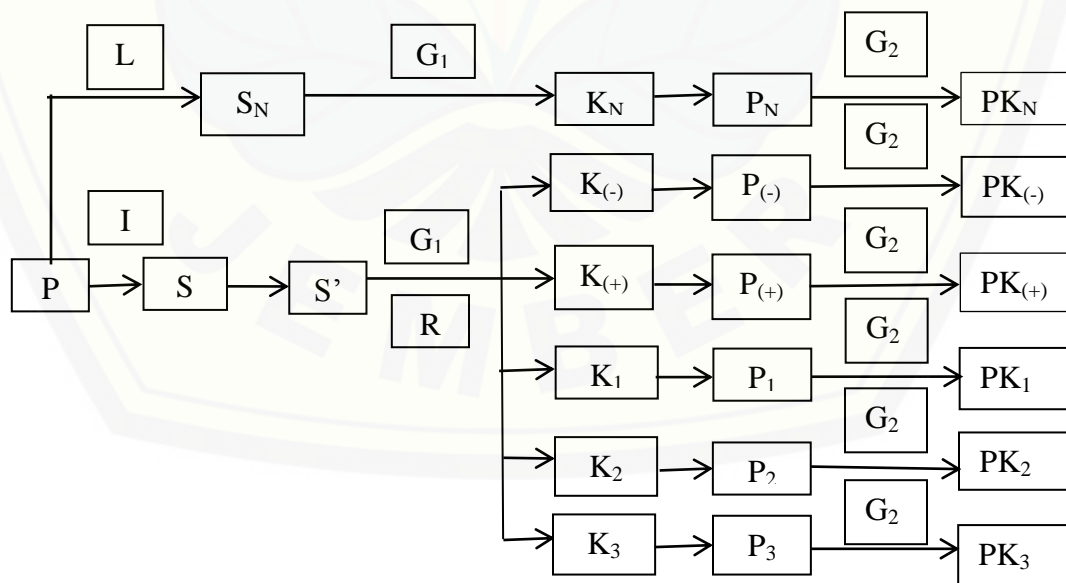
Penelitian ini merupakan jenis penelitian *true experimental laboratories* dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) pada mencit yang diinduksi aloksan.

#### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan bulan Januari hingga Juni 2018 di Laboratorium Biologi dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

#### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan *Pre and Post Test Control Group Design*. Secara skematis rancangan penelitian digambarkan sebagai berikut.



Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian

Keterangan :

- P : Populasi mencit sebelum diinduksi  
I : Induksi aloksan 210 mg/kgBB intraperitoneal  
L : Pemberian NaCl 0,9 %  
S<sub>N</sub> : Sampel mencit yang diinduksi NaCl 0,9 %  
S : Sampel mencit yang diinduksi aloksan 210 mg/kgBB intraperitoneal  
S' : Sampel mencit diabetes  
G<sub>1</sub> : Pengukuran glukosa darah setelah diinduksi aloksan dan NaCl  
R : Randomisasi  
N : Kelompok normal  
(-) : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian CMC Na 1 %  
(+) : Kelompok kontrol positif dengan pemberian suspensi glibenklamid dengan dosis 1,3 mg/kgBB dalam CMC Na 1 %  
1 : Pemberian suspensi ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 50 mg/kgBB  
2 : Pemberian suspensi ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 100 mg/kgBB  
3 : Pemberian suspensi ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 200 mg/kgBB  
P : Perlakuan selama 14 hari  
G<sub>2</sub> : Pengukuran kadar glukosa darah akhir  
PK : Pembuatan preparat pankreas

### 3.4 Variabel Penelitian

#### 3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) yaitu 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB.

### 3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah persentase penurunan kadar glukosa darah dan kerusakan pulau langerhans mencit jantan galur Balb-C serta gambaran histopatologi pankreas mencit diabetes.

### 3.4.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini meliputi cara ekstraksi, berat badan hewan coba, umur hewan coba, jenis kelamin hewan coba dan prosedur pengujian aktivitas antidiabetes secara *in vivo* pada mencit jantan galur Balb-C.

## 3.5 Definisi Operasional

- a. Simplisia daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) berasal dari tanaman kepel yang ditanam di daerah Mangli, Kabupaten Jember dengan memenuhi kriteria daun dewasa dan dipetik dari daun kelima dari pucuk daun. Tanaman kepel telah dideterminasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Purwodadi.
- b. Sampel darah *pre test* (kadar glukosa darah setelah induksi aloksan) pada hewan uji diambil melalui bagian mata (*sinus orbital*) dan *post test* (kadar glukosa darah setelah perlakuan) diambil melalui jantung kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah menggunakan fotometer.
- c. Mencit yang digunakan untuk uji antidiabetes adalah mencit yang telah dinyatakan diabetes melitus dengan kadar glukosa darah  $\geq 175$  mg/dL (Malole dan Purnomo, 1989).
- d. Persentase kerusakan pulau Langerhans dihitung dari hasil perbandingan luas area kerusakan sel dengan luas area pulau Langerhans (Andrie *et al*, 2014).
- e. Gambaran histopatologi pankreas dilakukan dengan mengamati kerusakan seperti adanya vakuolisasi, keteraturan bentuk pulau Langerhans dan ketersediaan sel  $\beta$  pankreas.



- f. Ekstrak etanol daun kepel memiliki aktivitas antidiabetes jika ekstrak etanol daun kepel dapat menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (-).

### 3.6 Bahan, Alat dan Hewan yang Digunakan

#### 3.6.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kepel (daerah Mangli, Kabupaten Jember), aloksan monohidrat (TCD), glibenklamid, etanol (50%, 70 %, 95% dan absolut), CMC Na 1 %, NaCl 0,9%, reagen Fluitest dan *neutral buffered formalin* (NBF), parafin, xylene, pewarna hematoxylin eosin.

#### 3.6.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserator, *rotatory evaporator*, neraca analitik digital (Ohaus), ayakan mesh 20/40, timbangan hewan uji, spuit injeksi (Terumo), sonde, scalpel, pinset, papan fiksasi, pipa kapiler, alat gelas, ependorf, *microtube*, mikrotom, mikroskop binokuler (Olympus) dan fotometer (Biolyzer 100).

#### 3.6.3 Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan galur Balb-C, umur 2-3 bulan, berat 20-30 g, sehat dan memiliki kadar glukosa darah awal 62-175 mg/dL (Malole dan Purnomo, 1989). Penelitian ini menggunakan 24 mencit jantan yang terbagi dalam enam kelompok. Kelompok yang digunakan adalah kelompok kontrol dan perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari empat mencit jantan.

### 3.7 Penentuan Sampel

Penentuan jumlah sampel dalam tiap kelompok perlakuan dihitung dengan rumus Federer (Ridwan, 2013) 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 :

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

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

$$n-1 \geq 3$$

$$n \geq 4$$

Jadi, sampel yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 24 ekor mencit jantan dengan tiap kelompok minimal 4 ekor mencit.

### 3.8 Prosedur Penelitian

#### 3.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*)

Pembuatan ekstrak daun kepel dimulai dengan pengumpulan bahan baku. Bahan baku daun kepel didapatkan dari pohon kepel di daerah Mangli, Kabupaten Jember. Sebanyak 3 kg daun kepel disortasi basah dan dilakukan pencucian dengan air mengalir. Daun kepel dirajang, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat terbuka tanpa terkena sinar matahari langsung dan dilakukan sortasi kering. Simplisia daun kepel digiling dengan alat penyerbuk dan dilakukan pengayakan dengan ayakan mesh 20/40. Serbuk yang diperoleh ditimbang untuk proses selanjutnya.

Metode ekstraksi yang dipilih yaitu remaserasi. Serbuk simplisia ditimbang 750 gram dengan perbandingan 1 : 5 terhadap pelarut etanol 70 % (3,75 L) dan dilakukan

pengadukan dan maserasi selama 2 x 24 jam. Selanjutnya diendapkan dan diperas. Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali dengan perbandingan 1 : 4 menggunakan etanol 70 % (3 L) (Diniatik, 2015). Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan *rotatory evaporator* hingga diperoleh konsistensi kental dan dilakukan pengeringan sisa pelarut dengan oven pada suhu 40°C. Bobot ekstrak ditimbang dan dihitung besar % rendemen. Hitung rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan dengan penimbangan (Depkes RI, 2011).

### 3.8.2 Skrining Fitokimia

#### a. Identifikasi Senyawa Golongan Alkaloid

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambah dengan 5 ml HCl 2 N, dipanaskan di atas penangas air selama 2-3 menit, sambil diaduk. Setelah dingin ditambahkan 0,3 gram NaCl, diaduk rata kemudian disaring. Filtrat ditambahkan 5 ml HCl 2 N dan dibagi menjadi 3 bagian. Larutan pertama ditambahkan dengan 2 ml pereaksi Mayer dan larutan kedua ditambahkan beberapa tetes pereaksi Wagner. Larutan ketiga digunakan sebagai blanko. Uji alkaloid dinyatakan positif apabila terdapat kekeruhan atau endapan berwarna krem dengan penambahan pereaksi Mayer dan endapan coklat pada pereaksi wagner (Houghton dan Raman, 1998).

#### b. Identifikasi Glikosida Saponin, Triterpenoid dan Steroid

Pada identifikasi glikosida saponin, triterpenoid dan saponin digunakan uji buih dan reaksi warna. Pada uji buih, ekstrak 0,3 gram dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan air suling 10 ml dan dikocok kuat. Pada reaksi warna, 0,3 gram ekstrak dilarutkan dalam 15 ml etanol lalu dibagi menjadi 3 bagian.

Larutan pertama digunakan dalam uji Lieberman Burchard dan larutan kedua pada uji Salkowski. Larutan ketiga digunakan sebagai blanko. Pada uji Lieberman Burchard larutan ditambah dengan 3 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, lalu dikocok perlahan dan diamati perubahan warna. Terjadinya warna hijau

biru menunjukkan adanya saponin steroid, warna merah ungu menunjukkan adanya triterpen steroid dan warna kuning muda menunjukkan adanya saponin jenuh (Harborne, 1984). Pada uji Salkowski, larutan ditambahkan dengan 1-2 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat melalui dinding tabung reaksi. Adanya saponin tak jenuh ditandai dengan timbulnya cincin berwarna merah (Harborne, 1984).

c. Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid

Ekstrak ditimbang sebanyak 0,3 gram dikocok dengan 3 ml n-heksana berkali-kali sampai tidak berwarna. Residu dilarutkan dengan etanol dan dibagi menjadi 3 bagian. Larutan pertama digunakan dalam uji Bate Smith dan Metcalf. Larutan ditambahkan dengan 0,5 ml HCl pekat dan diamati perubahan warna yang terjadi, kemudian dipanaskan dengan penangas air dan diamati kembali perubahan warna yang terjadi. Larutan kedua digunakan pada uji Wilstater yaitu dengan menambahkan 0,5 ml HCl pekat dan potongan magnesium, kemudian amati perubahan warna yang terjadi. Larutan kemudian diencerkan dengan air suling, kemudian ditambahkan dengan 1 ml butanol dan diamati perubahan warna yang terjadi. Larutan ketiga digunakan sebagai blanko (Houghton dan Raman, 1998).

d. Identifikasi Senyawa Golongan Polifenol dan Tanin

Ekstrak sebanyak 0,3 gram ditambahkan dengan 10 ml akuades panas, diaduk, dibiarkan sampai temperatur kamar, lalu ditambahkan dengan 3 tetes NaCl 10 %, diaduk dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian. Larutan pertama digunakan dalam uji feriklorida. Larutan ditambahkan dengan beberapa tetes feriklorida ( $\text{FeCl}_3$ ), kemudian diamati perubahan warna yang terjadi. Ekstrak dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  1 % dalam air, yang menimbulkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam yang kuat (Harborne, 1984).

Larutan kedua digunakan dalam uji gelatin. Larutan ditambahkan dengan larutan gelatin dan 5 ml larutan NaCl 10 %. Uji gelatin merupakan pengujian awal untuk memperkuat dugaan adanya senyawa tanin dalam ekstrak suatu tanaman. Harborne (1987) menyatakan bahwa semua tanin menimbulkan endapan sedikit atau banyak jika ditambahkan dengan gelatin. Larutan tanin (0,5-1%) dapat

mengendapkan larutan gelatin 1% yang mengandung NaCl 10%. Hasil positifnya yaitu terbentuknya endapan putih. Larutan ketiga digunakan sebagai blanko.

e. Identifikasi Senyawa Golongan Antrakinon

Identifikasi senyawa golongan antrakinon dilakukan dengan menggunakan uji Borntrager dan modifikasi Borntrager. Pada uji Borntrager, 0,3 gram ekstrak diekstraksi dengan 10 ml air suling, disaring, kemudian filtrat diekstraksi dengan 3 ml toluena dalam corong pisah dan dibagi menjadi 2 bagian. Larutan pertama ditambahkan dengan amonia, dikocok dan diamati perubahan warna. Adanya antrakinon ditunjukkan dengan adanya warna merah muda atau merah (Mandal *et al.*, 2015). Larutan kedua digunakan sebagai blanko.

Pada modifikasi Borntrager, 0,3 gram ekstrak ditambah dengan 1 ml KOH 5 N dan 1 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> encer, dipanaskan dan disaring. Filtrat ditambahkan dengan asam asetat glasial dan diekstraksi dengan toluena. Fase toluena diambil dan dibagi menjadi 2 bagian. Larutan pertama digunakan sebagai blanko dan larutan kedua ditambahkan dengan amonia dan diamati perubahan warna. Antrakinon ditunjukkan dengan adanya warna *rose pink* hingga *cherry red* (Mandal *et al.*, 2015).

### 3.8.3 Pembuatan Sediaan Aloksan 210 mg/kgBB

Dosis aloksan yang digunakan adalah 210 mg/kgBB. Pembuatan sediaan dilakukan dengan melarutkan aloksan monohidrat 90 mg dalam NaCl 0,9 % hingga 4 ml untuk 20 ekor mencit. Perhitungan pembuatan sediaan aloksan dapat dirujuk pada lampiran 4.2.

### 3.8.4 Pembuatan Mucilago CMC-Na 1 %

Pembuatan suspensi CMC Na 1 % dilakukan dengan menimbang sebanyak 1 gram CMC Na, ditaburkan di atas 20 ml air panas (20 kali berat CMC Na), dibiarkan



mengembang kemudian diaduk hingga homogen dan ditambahkan air hingga volume 100 ml.

#### 3.8.5 Pembuatan Suspensi Glibenklamid 1,3 mg/kgBB

Pembuatan glibenklamid dilakukan dengan menimbang sebanyak 1,3 mg disuspensikan dengan CMC Na 1 % hingga 10 ml. Suspensi glibenklamid diberikan pada mencit uji kelompok kontrol positif (+) dengan dosis 1,3 mg/kgBB. Perhitungan pembuatan larutan aloksan dapat dirujuk pada lampiran 4.2.

#### 3.8.6 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*)

Dosis 50 mg/kgBB

Sebanyak 50 mg ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) disuspensikan dalam CMC Na 1 % ad 10 ml. Suspensi ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 50 mg/kgBB diberikan pada mencit uji kelompok dosis perlakuan 1. Perhitungan pembuatan suspensi ekstrak etanol daun kepel dosis 50 mg/kgBB dapat dirujuk pada lampiran 4.2.

#### 3.8.7 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*)

Dosis 100 mg/kgBB

Sebanyak 100 mg ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) disuspensikan dalam CMC Na 1 % ad 10 ml. Suspensi ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 100 mg/kgBB diberikan pada mencit uji kelompok dosis perlakuan 2. Perhitungan pembuatan suspensi ekstrak etanol daun kepel dosis 100 mg/kgBB dapat dirujuk pada lampiran 4.2.

### 3.8.8 Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*)

Dosis 200 mg/kgBB

Sebanyak 200 mg ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) disuspensikan dalam CMC Na 1 % ad 10 ml. Suspensi ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 200 mg/kgBB diberikan pada mencit uji kelompok dosis perlakuan 3. Perhitungan pembuatan suspensi ekstrak etanol daun kepel dosis 200 mg/kgBB dapat dirujuk pada lampiran 4.2.

### 3.8.9 Perlakuan Hewan Uji

Pengujian *in vivo* dilakukan terhadap mencit putih jantan galur Balb/C selama 14 hari. Hewan uji dikelompokkan menjadi enam kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari empat ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Perlakuan mencit diadaptasi pada kondisi laboratorium selama tujuh hari dengan tujuan menyesuaikan dengan lingkungan.

Mencit dipuasakan selama 18 jam namun tetap diberi minum (Etuk dan Muhammed, 2010), selanjutnya dilakukan induksi aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 210 mg/kgBB pada lima kelompok hewan uji (kecuali kelompok normal) untuk memperoleh kondisi diabetes melitus. Mencit diberi makan dan minum selama tiga hari, pada hari ke-3 setelah induksi, mencit dicek kadar glukosa darahnya dan dapat digunakan untuk percobaan jika memiliki kadar glukosa darah  $\geq$  175 mg/dL (Malole dan Purnomo, 1989). Pengukuran kadar glukosa darah diukur menggunakan alat fotometer.

Hewan uji dibagi menjadi enam kelompok yang terdiri dari kelompok normal, kontrol negatif, kontrol positif dan tiga kelompok dosis ekstrak yakni ekstrak etanol daun kepel dengan dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB. Kelompok normal dan kontrol negatif diberi perlakuan dengan suspensi CMC-Na 1 %. Kelompok kontrol positif diberi suspensi glibenklamid 1,3 mg/kgBB. Kelompok perlakuan I diberi suspensi ekstrak etanol daun kepel dosis 50 mg/kgBB. Kelompok perlakuan II diberi

perlakuan suspensi ekstrak etanol daun kepel dosis 100 mg/kgBB. Kelompok perlakuan III diberi suspensi ekstrak etanol daun kepel dosis 200 mg/kgBB.

Pemberian CMC Na 1 %, ekstrak etanol daun kepel, dan obat glibenklamid pada hewan uji mencit dilakukan secara per oral dengan sonde setelah mengalami diabetes. Masing-masing kelompok diberi perlakuan sekali setiap hari selama 14 hari. Selama masa perlakuan, berat mencit ditimbang setiap 7 hari untuk menentukan volume sediaan uji yang akan diberikan pada mencit. Pengukuran kadar glukosa dilakukan pada hari ke-1 dan hari ke-15 setelah dinyatakan diabetes. Pengukuran hari ke-1 dilakukan pengambilan darah melalui mata (*sinus orbital*) sebagai kadar glukosa darah *pretest*. Glukosa darah *post-test* diambil pada hari ke-15 yang dilakukan melalui jantung dan diukur kadar glukosa darah menggunakan alat fotometer. Selain itu, dilakukan pula proses pengambilan organ pankreas mencit guna mengetahui histopatologi mencit diabetes.

#### 3.8.10 Pengukuran dan Perhitungan Kadar Glukosa Darah

Pengambilan darah hewan uji mencit diambil darah melalui mata (*sinus orbital*). Darah ditampung dengan *microtube*, lalu didiamkan selama 30 menit. Setelah itu, darah disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 4000 rpm kemudian serum dipisahkan untuk pengukuran kadar glukosa. Serum darah sampel dipipet sebanyak 5  $\mu$ L yang dicampurkan dengan reagen glukosa sebanyak 500  $\mu$ L dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 546 nm terhadap blanko. Pengukuran serapan standar dilakukan dengan cara yang sama dengan pengukuran serapan sampel. Kadar glukosa yang didapat pada hari ke-1 dan ke-15 kemudian dibandingkan hasilnya dan dihitung dengan menggunakan rumus untuk mengetahui persentase (%) penurunan kadar glukosa darah.

Persentase (%) penurunan kadar glukosa darah dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut.

$$\% \text{ Penurunan kadar glukosa darah} = \frac{\text{Kadar G1} - \text{Kadar G15}}{\text{Kadar G1}} \times 100 \%$$

(Anas *et al.*, 2010)

Keterangan :

G<sub>1</sub> : glukosa darah hari ke-1

G<sub>15</sub> : glukosa darah hari ke-15

#### 3.8.11 Pembuatan Preparat Histologi Pankreas

Mencit dibedah pada hari ke-15 dan diambil organ pankreas untuk pembuatan preparat. Organ pankreas difiksasi dalam *neutral buffered formalin* (NBF) 10 % dengan pH 7,4 pada suhu kamar selama 24 jam (Jusuf, 2009). Setelah itu, sampel didehidrasi menggunakan alkohol, dicuci dengan *xylene* I dan II selama 1 jam, dan direndam dalam parafin cair. Organ pankreas dipotong melintang pada bagian lumbar menggunakan mikrotom setebal 4-5  $\mu\text{m}$  dan diletakkan pada gelas obyek. Gelas obyek diletakkan di tempat hangat selama 15 menit agar potongan jaringan melekat pada gelas obyek. Jaringan dimasukkan dalam xylol I, II, III kemudian alkohol absolut, 95 %, 70 % dan 50 %. Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan pewarnaan *hematoxylin eosin*. Jaringan kemudian diredehidrasi alkohol 50 %, 70 % dan 95 % dan alkohol absolut. Preparat kemudian direkatkan dengan etellan dan dititip dengan *cover glass*. Selanjutnya, analisis histopatologi dilakukan dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 sampai 400 kali.

#### 3.8.12 Perhitungan Persentase Kerusakan Pulau Langerhans

Preparat jaringan pankreas dari masing-masing kelompok yang telah disiapkan diamati dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100 sampai 400 kali. Pengamatan dilakukan sebanyak tiga lapang pandang dan dianalisis secara deskriptif

dengan parameter adanya kerusakan pulau Langerhans berupa vakuolisasi, keteraturan bentuk pulau Langerhans dan ketersediaan sel  $\beta$  pankreas. Pengukuran kerusakan pulau Langerhans dilakukan dengan menghitung luas area pulau Langerhans yang mengalami kerusakan dibandingkan dengan luas area pulau Langerhans secara keseluruhan dengan menggunakan aplikasi *imageJ*. Perhitungan % kerusakan pankreas dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut.

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

( Andrie *et al*, 2014)

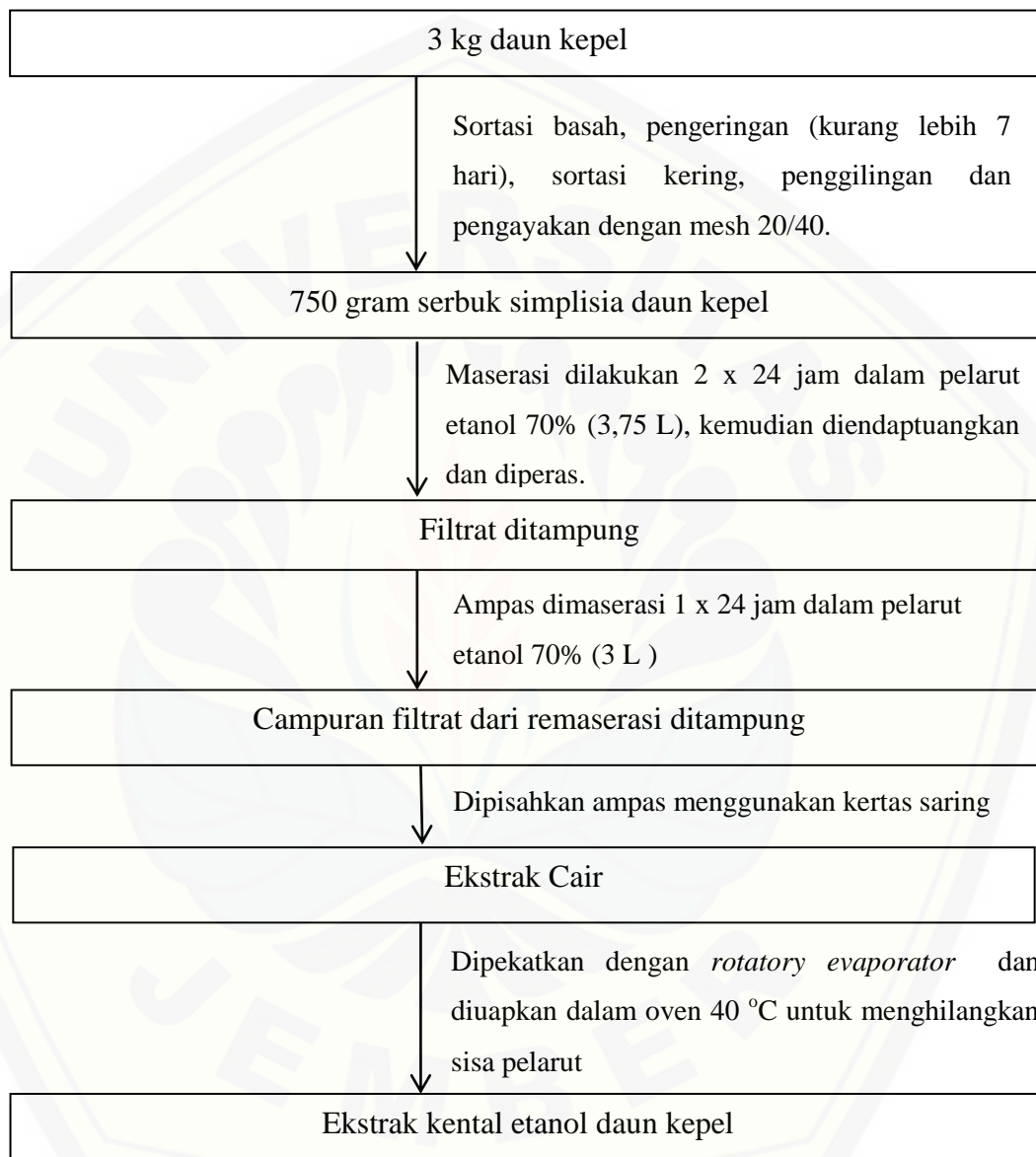
### 3.9 Analisis Data

Data yang digunakan dalam penelitian ini adalah persentase penurunan kadar glukosa darah dan persentase kerusakan pulau Langerhans. Semua data yang diperoleh dianalisis menggunakan *One-Way* ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95%. Data terlebih dahulu diuji homogenitas dan normalitas. Apabila hasil uji *One-Way* ANOVA memberikan hasil adanya perbedaan bermakna, maka dapat dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Different*) untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan yang bermakna. Persentase penurunan kadar glukosa dan kerusakan pula Langerhans memiliki perbedaan secara signifikan apabila memiliki nilai  $p < 0,05$ .



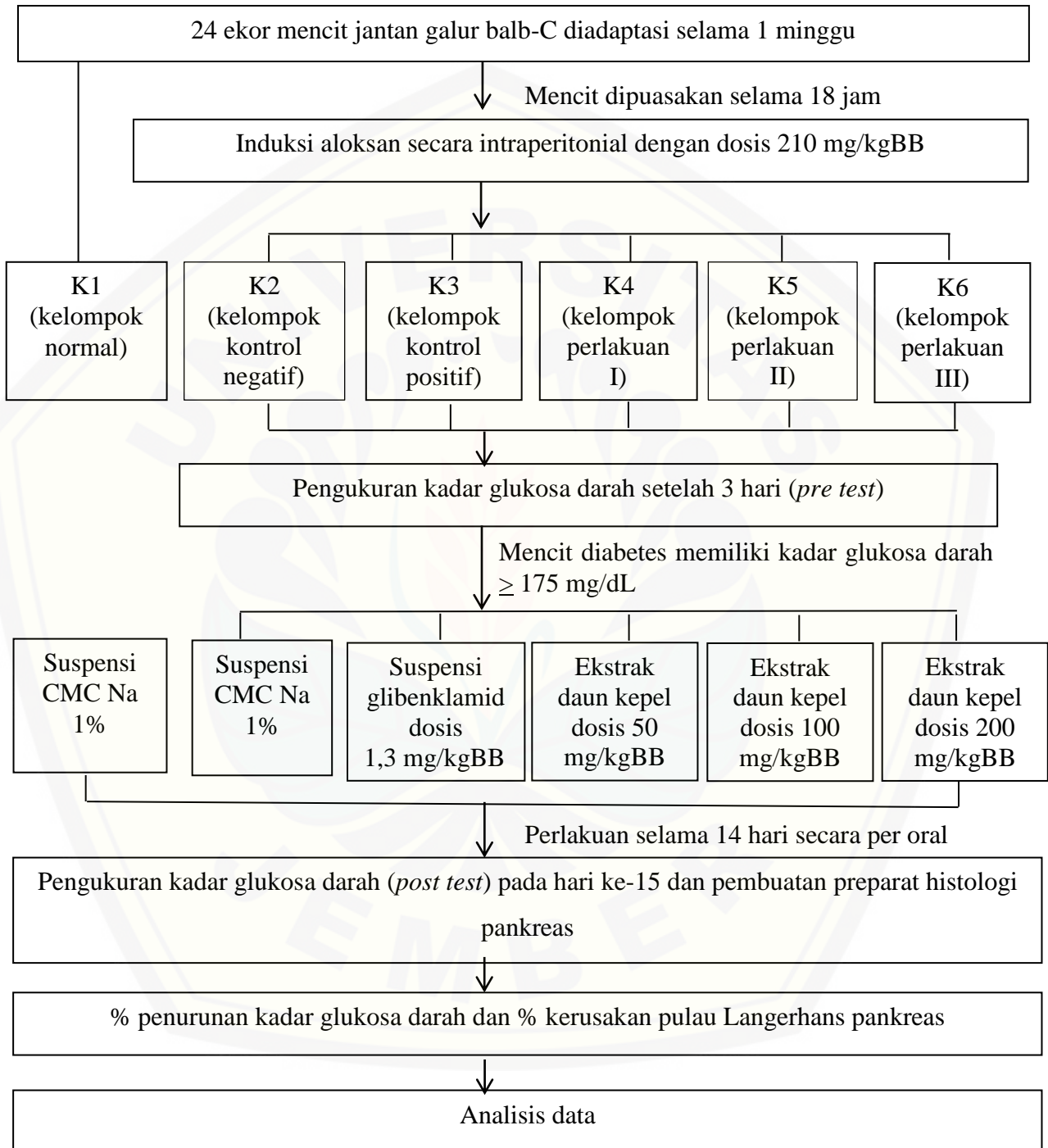
### 3.10 Alur Penelitian

#### 3.10.1 Ekstraksi Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*)



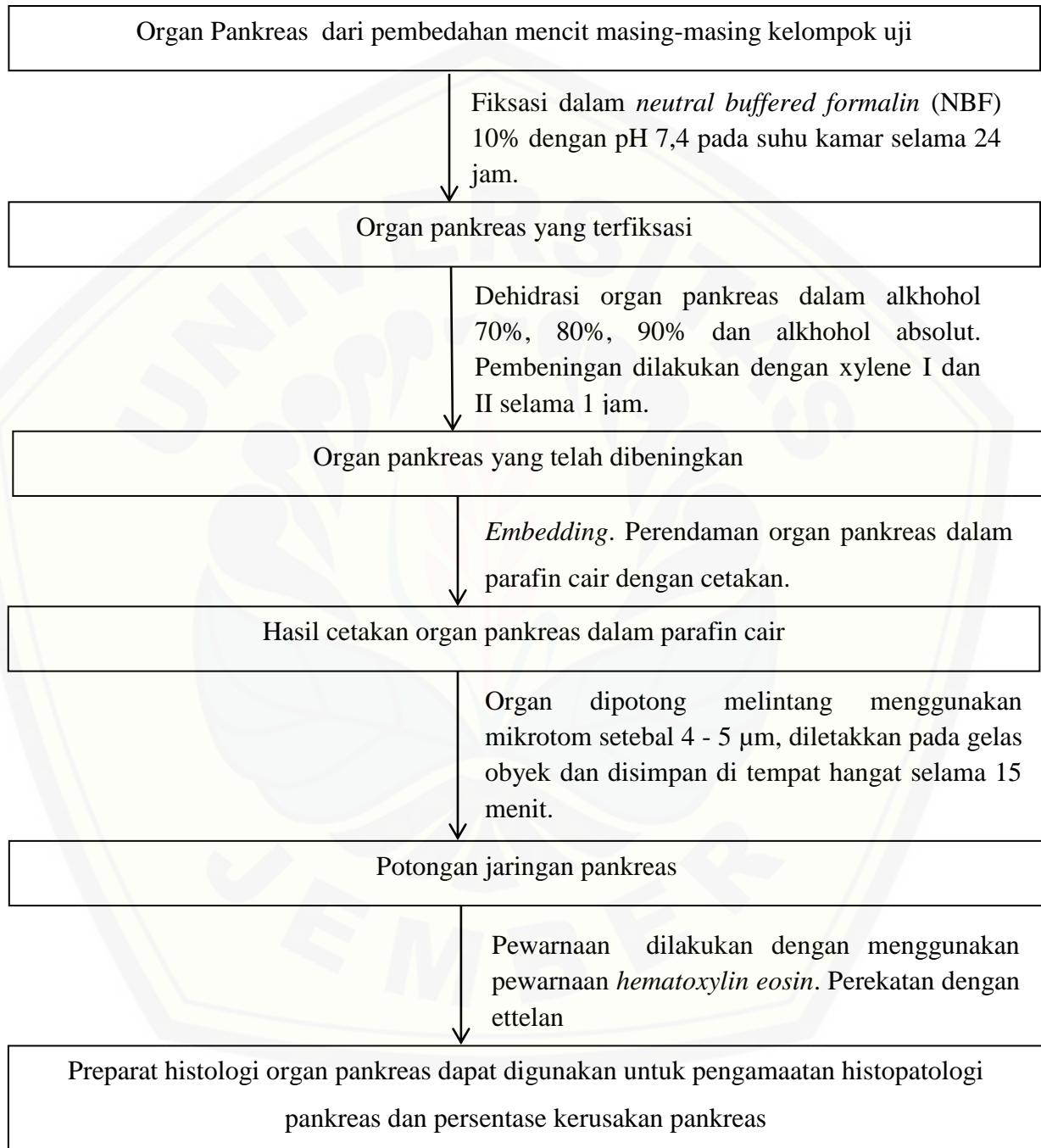
Gambar 3.2 Skema pembuatan ekstrak daun kepel

## 3.10.2 Prosedur Pengujian Aktivitas Diabetes



Gambar 3.3 Skema alur penelitian uji aktivitas diabetes daun kepel

## 3.10.3 Skema Alur Pembuatan Preparat Pankreas



Gambar 3.4 Skema Alur Pembuatan Preparat Pankreas

## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan beberapa hal yaitu :

1. Ekstrak etanol daun kepel memiliki aktivitas antidiabetes dan dapat mengurangi kerusakan pulau Langerhans mencit diabetes yang diinduksi aloksan.
2. Ekstrak etanol daun kepel dosis 200 mg/kgBB memiliki persentase penurunan kadar glukosa darah terbesar dibandingkan dengan dosis 50 dan 100 mg/kgBB sehingga memiliki aktivitas antidiabetes terbesar yang setara dengan glibenklamid 1,3 mg/kgBB.
3. Ekstrak etanol daun kepel pada dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dapat memperbaiki kerusakan pankreas akibat induksi aloksan yang setara dengan glibenklamid. Dosis 200 mg/kgBB memiliki persentase kerusakan pankreas terendah dibandingkan dosis 50 dan 100 mg/kgBB sehingga memiliki aktivitas antidiabetes terbesar.

### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang berperan dalam penurunan kadar glukosa darah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdelmoaty, M.A., Ibrahim, M.A., Ahmed, N.S., Abdelaziz, M.A. 2010. Confirmatory Studies on the Antioxidant and Antidiabetic Effect of Quercetin in Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 25(2):188-192.
- Adam, S.H., N. Giribabu, N Kassim, K. E. Kumar, M.Brahmayya, A. Arya, dan N.Salleh. 2016. Protective effect of aqueous seed extract of *Vitis vinifera* against oxidative stress, inflammation and apoptosis in the pancreas of adult male rats with diabetes melitus. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 81(6): 439-452.
- Agur, AMR, MJ Lee, dan Grant JCB. 2013. *Grant's Atlas of Anatomy*. 13<sup>th</sup> Ed. London, UK: Lippincott Williams and Wilkins.
- American Diabetes Association (ADA). 2017. Standards of Medical Care in Diabetes 2017. *Diabetes Care: The Journal of Clinical and Applied Research and Education*.
- American Pharmacist Association (APhA). 2009. *Drug Information Handbook: A Comprehensive Resource For All Clinicians and Healthcare Professionals*. 17<sup>th</sup> Ed. Ohio: Lexi Comp Inc.
- Anas, Y., Rosalita, R, Fitriani, dan M. R, Suharjono. 2010. Pengembangan model hewan coba tikus diabetes tipe 2 karena resistensi insulin yang diinduksi dengan *human insulin* jangka panjang. *E-Publikasi Universitas Wahid Hasyim*.
- Andrie, M., W Taurina, dan R Ayunda. 2014. Activites test of Jamu Gendong Kunyit Asam (*Curcuma domestica* val; *Tamarindus indica* l.) as an antidiabetic in streptozotocin induced rats. *Traditional Medicine* 19(5):3-7.
- Bender, David A. dan P.A. Mayes. 2006. *Harper's Illustrated Biochemistry*. 27<sup>th</sup> Ed. London: McGraw-Hill Companies Inc. Terjemahan oleh N. Wulandari. 2009. *Biokimia Harper*. Edisi 27. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.



- Bouwens, Luc dan Ilse Rooman. 2005. Regulation of Pancreatic Beta-Cell. *American Physiological Society*.85:1255-1270.
- Cernea, Simon dan M. Dobreanu. 2013. Diabetes and beta cell function : from mechanisms to evaluation and clinical implications. *Biochemia Medica*. 23(3): 266-280.
- Chevion, Shlomit., D.S. Moran, Y. Heled, Y. Shani, G. Regev, B. Abbou, E. Berenshtein, E.R. Stadtman dan Y. Epstein. 2003. Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *PNAS*. 100(9): 5119-5123.
- Confederat, Luminita., R. Stefan, F. Lupascu, S. Constantin, I. Avram, Adrian D dan Lenuta Profire. 2016. Side Effects Induced By Hypoglycaemic Sulfonylurea To Diabetic Patients-A Retrospective Study. *Farmacia*. 64(5):674-679.
- Cos, P., Ying, L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K., Van Poel, B., et al. (1998). Structureactivity relationship and classification of flavonoids as inhibitors of xanthine oxidase and superoxide scavengers. *Journal of Natural Products* (61): 71-76.
- Daliamartha, S. 2005. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Diabetes Mellitus. Penebar Swadaya. Bogor
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Diniatik. 2015. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook f. & Th.) Dengan Metode Spektrofotometri. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*. Vol.3(1): 1-5.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B., dan Posey, L. M. 2008. *Pharmacotherapy : A Pathophysiologic Approach Seventh Edition*. Edisi Ketujuh. New York : Mc Graw Hill.
- Eizirik DL, Cardozo AK, dan Cnop M. The role for endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. 2008. *Endocrine Reviews*. 29(1): 42-61.

- Eroschenko, Victor P. 2008. *diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations*. 11<sup>th</sup> Ed. United States: Lippincott Williams and Wilkins.
- Etuk, E. U., dan Muhammed, B. J. 2010. Evidence Based Analysis of Chemical Method of Induction of Diabetes Mellitus in Experimental Animals. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences* 1(2): 331–336.
- Fachrurozi, Z. 1980. Burahol (*Stelechocarpus burahol* (Bl) Hk.f. & Th.) deodoran tempo dulu dan masalah pelestariannya. *Buletin Kebun Raya* 4 (4): 127-130
- Francis, George, Zohar Kerem, Harinder P.S. Makkar dan Klaus Becker. 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition* (88): 587-605
- Guyton, A.C., dan Hall, J.E. 2011. *Textbook Of Medical Physiology*. 12<sup>th</sup> Ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Handa, S.S., S.P.S Khajuna, G. Longo, dan D.D Rakesh. 2008. *Extraction Technologies for medicinal and aromatic plants*. Italy: United Nations Industrial Development Organization and The International Centre for Science and Hight Technology.
- Harborne, J.B., 1984. *Phytochemical Methods*. 2<sup>nd</sup> Ed., New York: Chapman and Hall Ltd.
- Harjasaputra, S.L.P., G. Budipranoto, S.U. Sembiring, I. Kamil. 2002. *Data Obat Indonesia*. Edisi 10. Jakarta: Grafidian Media Press.
- Hidayat, A. 2011. Fraksionasi Golongan Flavonoid Dari Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*) yang Berpotensi Sebagai Antibakteri. *Skripsi*. Bogor : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Houghton, Peter J. dan A. Raman. 1998. *Laboratory Handbook For The Fractionation of Natural Extracts*. 1<sup>st</sup> Ed. London: Springer-Science+Business Media, B.V.

- Ighodaro, Osasenaga M., Abiola Mohammed Adeosun, dan Oluseyi Adeboye Akinloye. 2017. Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies. *Medicina* (210): 10
- International Diabetes Federation (IDF). 2015. *IDF Diabetes Atlas Seventh Edition*. United Kingdom: International Diabetes Federation.
- Jarald, Edwin, S.B Joshi, dan D.C Jain. 2008. Diabetes and Herbal medicines. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics* (7): 97 - 106
- Jusuf, Ahmad Aulia. 2009. *Histoteknik Dasar*. Jakarta : Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Kato, Camila Gabriel., G.A Gonçalves, R.A. Peralta, F.A.V Seixas, A.B. Sá-Nakanishi, L. Bracht, J.F. Comar, A. Bracht, and R.M. Peralta. 2017. Inhibition of  $\alpha$ -amylases by condensed and hydrolysable tannins: Focus on kinetics and hypoglycemic actions. *Enzyme Research* (2017):12
- Katzung, Bertram G. 2002. *Basic and Clinical Pharmacology*. 9th Ed. Boston: McGraw Hill
- Khangholi, S., Majid, F.A., Berwary, N. J., Ahmad, F. & Aziz, R. 2016. The mechanisms of inhibition of advanced glycation end products formation through polyphenols in hyperglycemic condition. *Planta Med.* Vol.82: 32-45
- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). 2000. *Tanaman Buah Kebun Raya Bogor*. Bogor: Seri Koleksi Kebun Raya. LIPI 1:70-71
- Malole MBM dan CSU Pramono. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan Percobaan Di Laboratorium*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Manaf A., 2009. *Buku Ajar Penyakit Dalam*. Edisi 4. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

- Mandal , Subhash C, V. Mandal, dan A.K Das. 2015. *Essentials of Botanical Extraction : Principles and Applications*. London : Elsevier.
- Mills, S dan K. Bone. 2002. *Principles and Practice of Phytotherapy : Modern Herbal Medicine*. Edinburgh, Scotland, Churral Livingstone
- Muchid A., F. Umar, M.N Ginting, C. Basri, R. Wahyuni, R. Helmi, dan S. N. Istiqomh. 2005 *Pharmaceutical Care* untuk penyakit diabetes melitus. *Departemen Kesehatan Republik Indonesia*. 1-89.
- National Society for Histotechnology. 2001. *Guidelines for hematoxylin and eosin staining*. United States : National Society for Histotechnology.
- Nicolle, E., Souard, F., Faure, P., dan Boumendjel, A. 2011. Flavonoids As Promising Lead Compounds In Type 2 Diabetes Mellitus: Molecules Of Interest And Structure-Activity Relationship. *Current Medicinal Chemistry*, 18(17): 2661-72.
- Nugroho, A.E. 2006. Animal models of diabetes melitus : pathology and mechanism of some diabetogenics. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity*. 7(4): 378-382.
- Nurdiana,. N.P., Setyawati dan M. Ali. 1998. Efek Streptozotozin Sebagai Bahan Diabetogenik pada Tikus Wistar dengan Cara Pemberian Intraperitoneal dan Intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw*. Vol XIV, No 2: hal 66-67
- Pan GY, Huang ZJ, Wang GJ, Fawcett JP, Liu XD, Zhao XC, Sun JG, Xie YY 2003 The antihyperglycaemic activity of berberine arises from a decrease of glucose absorption. *Planta Med* 69:632–636
- Poitout V, Olson LK, Robertson RP. 1996. Chronic exposure of betaTC-6 cells to supraphysiologic concentrations of glucose decreases binding of the RIPE3b1 insulin gene transcription activator. *J Clin Invest*. 97(4) :1041-1046.
- Prameswari, Okky Meidinia dan Simon Bambang Widjanarko. 2014. Uji efek air



daun pandan wangi terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi tikus diabetes melitus. *Jurnal pangan dan agroindustri* (2): 16-17.

PubChem. Alloxan. 2015. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Alloxan>. Diakses tanggal 4 November 2017 pukul 17.00 WIB.

PubChem. Glyburide. 2016. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Glyburide>. Diakses tanggal 12 Desember 2017 pukul 18.00 WIB.

Punitha, Isaac Sam Raj, Arun Shirwaikar, dan Annie Shirwalkar. 2006. Antidiabetic activity of benzyl tetra isoquinoline alkaloid berberine in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *Diabetologia Croatica* 34(4): 117-127

Purwatiningsih, A. Rahman dan I. Purwantini. 2010. Antiheperuremic Activity of the Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook. F&TH) Leaves Extract and Xanthenne Oxidase Inhibitory Study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2(1)

Purwatiningsih dan Nurlaila. 2016. Effect Of The Kepel Leaves Extract (*Stelechocarpus burahol* [Bl.] Hook. F. & Th.) On Sprague-Dawley Rats : An Acute Toxicity Study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 9(1): 304–307.

Ramadhan, B. C., Aziz, S. A., dan Ghulamahdi, M. 2015. Potensi Kadar Bioaktif yang Terdapat Pada Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* ). *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat* 26(2): 99–108.

Ridwan, E. 2013. Etika pemanfaatan hewan percobaan dalam penelitian kesehatan. *Journal Indon Med Assoc.* Vol.63: 112-116.

Ridwan, A., R.T. Astrian dan A.B Arlian. 2012. Pengukuran efek antidiabetes polifenol (polyphenon 60) berdasarkan kadar glukosa darah dan histologi pankreas mencit (*Mus musculus* L.) s.w jantan yang dikondisikan diabetes melitus. *Jurnal Matematika dan Sains* 17(2):81.

Robertson, RP., Harmon J, Tran PO, Tanaka Y dan Takahashi H. 2003. Glucose



toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes*. 52: 581-587.

Rohilla, A. & Ali, A. 2012. Alloxan induced diabetes: mechanism and effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. Vol.3(2): 819-823.

Sandhar, H.K., Kumar, B., Prashes, P., Tiwari, P., Salhan, M., dan Sharma, P., 2011, A Review Of Phytochemistry and Pharmacology Of Flavonoids, *Internationale Pharmaceutica Scienta*, 1 (1): 25-41

Sari, Lusita Oktora Ruma Kumala. 2006. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *Majalah ilmu Kefarmasian*. 3(1): 1-7.

Sasidharan, S. Y.Chen, Saravanan dan K.M. Sundram. 2011. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plant's extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 8(1): 1-10.

Schaefer, Ute, Graf, A. Napoli, C.J. Nolan. 2018. Diabetes in pregnancy: a new decade of challenges ahead. *Diabetologia*. 61: 1012-1021

Siregar, A.A. 2013. Efek Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (EESDM) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Serta Gambaran Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus* L) Diabetes. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara. Medan

Solikin. 2010. Ecology of Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook.F.&Thomsom) in Purwodadi Botanical Garden. *Proceeding of International Conference on Medicinal Plant*. Surabaya 21-21 July 2010. Surabaya Indonesia.

Suherman, Suharti K. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.

Sukandar E Y, Tren dan Paradigma Dunia Farmasi, Industri-KlinikTeknologi Kesehatan, disampaikan dalam orasi ilmiah Dies Natalis ITB,

[http://itb.ac.id/focus/focus\\_file/orasi-ilmiah-dies-45.pdf](http://itb.ac.id/focus/focus_file/orasi-ilmiah-dies-45.pdf).

Sunardi C, SA Sumiwi dan A Hertati. 2010. Penelitian antiimplantasi ekstrak etanol daging buah burahol (*Stelechocarpus burahol* Hook F. & Thomson) pada tikus putih. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 7(1): 1-8.

Sunardi, C. 2010. Several Standard Parameter and Phytochemical Screening of *Stelechocarpus Burahol* Hook F. & Thomson Stem Bark. *Proceeding of International Conference on Medicinal Plant*.

Sunarni, T., Pramono, S., dan Asmah, R. 2007. Antioxidant-Free Radical Scavenging Of Flavonoid From The Leaves Of *Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook F. & Th. *Indonesian Journal of Pharmacy* 18(3): 111-116.

Suvarna, S.Kim, Christoper L, dan J Bancroft. 2013. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 7<sup>th</sup> Ed. China: Churchill Living Stone Elsevier.

Szkudelski, T. 2001. The Mechanism Of Alloxan And Streptozotocin Action In B Cells Of The Rat Pancreas. *Physiological Research* 50(6): 537-546.

Tisnadjaja, D. 2006. Study Of Burahol (*Stelechocarpus burahol* (Blume) Hook & Thomson) As An Anti-Oxidative Compounds Containing Fruit. *Biodiversitas, Journal of Biological Diversity* 7(2): 199-202.

Tiwari, Kumar, Kaur Mandeep, Kaur Gurpreet dan Kaur Harleem. 2011. Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale pharmaceutica scientia* 1(1)

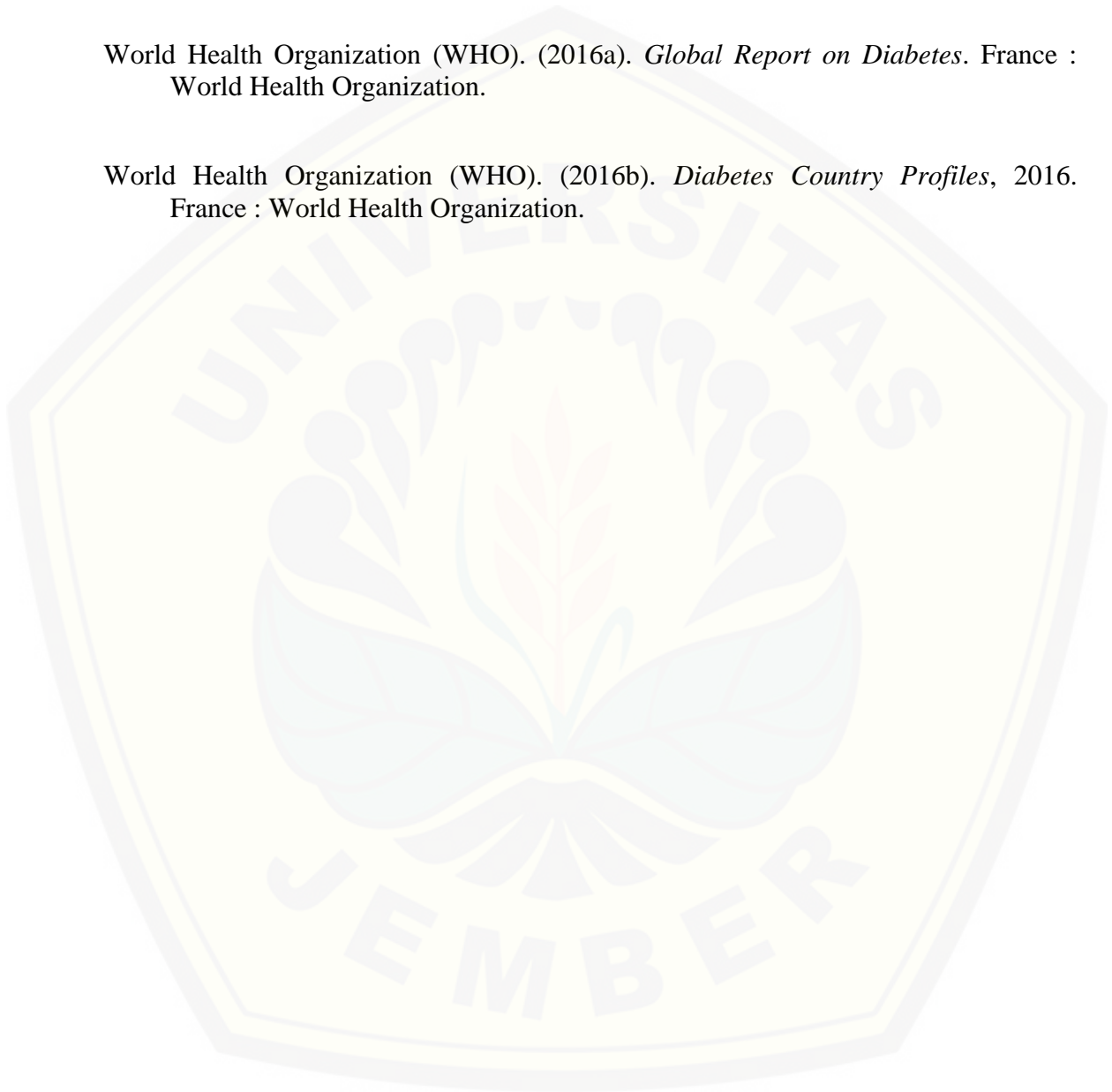
United States Departement of Agricuture (USDA). 2007. *Stelechocarpus burahol* <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=STBU2>. Diakses pada tanggal 13 Januari 2018 pukul 13.00 WIB.

Wulandari, Ayu. 2008. Evaluasi pemilihan obat antidiabetes pada penderita diabetes melitus di instalasi rawat inap rumah sakit umum daerah kota Salatiga. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

World Health Organization (WHO). 2003. Traditional medicine. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs134/en/>. Diakses pada tanggal 15 Juni 2018 pukul 16.00 WIB.

World Health Organization (WHO). (2016a). *Global Report on Diabetes*. France : World Health Organization.

World Health Organization (WHO). (2016b). *Diabetes Country Profiles*, 2016. France : World Health Organization.



## DAFTAR LAMPIRAN

### 4.1 Rendemen Ekstrak Daun Kepel

Bobot serbuk daun kepel	: 750	gram
Bobot ekstrak	: 164,15	gram
% rendemen	$= \frac{164,15 \text{ gram}}{750 \text{ gram}} \times 100\%$ $= 21,95\%$	

### 4.2 Perhitungan Dosis Aloksan 210 mg/kgBB

Dosis aloksan yang digunakan adalah 210 mg/kgBB

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 :

$$\begin{aligned} &= \sum \text{mencit} \times \text{volume pemberian tiap mencit} \\ &= 20 \text{ ekor} \times 0,2 \\ &= 4 \text{ ml untuk } 20 \text{ ekor mencit (kecuali kelompok normal)} \end{aligned}$$

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 :

$$\begin{aligned} \% \text{ b/v} &= \text{gram/ml} \times 100\% \\ &= \frac{0,0042 \text{ gram}}{0,2 \text{ ml}} \times 100\% \\ &= 2,1\% \end{aligned}$$

### 4.3 Perhitungan Dosis dan Volume Suspensi Uji Yang Diberikan Pada Hewan Uji

#### 4.3.1 Kelompok Normal dan Kontrol Negatif

Sediaan suspensi CMC Na

Konsentrasi CMC Na 1 % (1 gram dalam 100 ml)

Tabel Kelompok Normal

Hewan Uji	BB hari ke-1 (gram)	Volume sediaan (ml)	BB hari ke-15 (gram)	Volume sediaan (ml)
1	20,5	0,205	20	0,200
2	22,5	0,225	22,5	0,225
3	20	0,200	20	0,200
4	21	0,210	21	0,210

Tabel Kelompok Kontrol Negatif

Hewan Uji	BB hari ke-1 (gram)	Volume sediaan (ml)	BB hari ke-15 (gram)	Volume sediaan (ml)
1	22,5	0,225	23	0,230
2	22	0,220	21	0,210
3	20	0,200	19,5	0,195
4	20	0,200	18,5	0,185

#### 4.3.2 Kelompok Kontrol Positif

Dosis terapi glibenklamid pada manusia 10 mg

Dosis konversi mencit 20 gram =  $0,0026 \times 10 \text{ mg}$

= 0,026 mg

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

= 1,3 mg/kgBB 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 :

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

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

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

Volume yang dibuat = 10 ml

Jumlah glibenklamid yang ditimbang untuk 10 ml :

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

Hewan Uji	BB hari ke-1 (gram)	Volume sediaan (ml)	BB hari ke-15 (gram)	Volume sediaan (ml)
1	22,1	0,221	22,1	0,221
2	22,8	0,228	22,8	0,228
3	24,5	0,245	24,5	0,245
4	21	0,210	21	0,210

#### 4.3.3 Kelompok Uji Ekstrak Daun Kepel 50 mg/kg BB

Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram

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

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

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 :

$$= \frac{1 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml}$$

$$= 50 \text{ mg dalam 10 ml CMC Na 1\%}$$

Hewan Uji	BB hari ke-1 (gram)	Volume sediaan (ml)	BB hari ke-15 (gram)	Volume sediaan (ml)
1	21,5	0,215	24	0,240
2	20,5	0,205	21	0,210
3	21	0,210	22	0,220
4	25	0,250	25	0,250

#### 4.3.4 Kelompok Uji Ekstrak Daun Kepel 100 mg/kg BB

Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram

$$\begin{aligned} \text{Dosis} &= \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} \\ &= 2 \text{ mg dalam } 0,2 \text{ ml} \end{aligned}$$

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

Volume yang dibutuhkan :

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

Volume yang dibuat = 10 ml

Jumlah ekstrak yang ditimbang untuk 10 ml :

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

Hewan Uji	BB hari ke-1 (gram)	Volume sediaan (ml)	BB hari ke-15 (gram)	Volume sediaan (ml)
1	23	0,230	23	0,230
2	20	0,200	27	0,270
3	24,5	0,245	20	0,200
4	20,5	0,205	24,5	0,245

#### 4.3.5 Kelompok Uji Ekstrak Daun Kepel 200 mg/kg BB

Dimisalkan untuk berat badan mencit 20 gram

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

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

Volume yang dibutuhkan :

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

Volume yang dibuat = 10 ml

Jumlah ekstrak yang ditimbang untuk 10 ml :

$$\begin{aligned} &= \frac{4 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} \\ &= 200 \text{ mg dalam } 10 \text{ ml CMC Na } 1\% \end{aligned}$$

Hewan Uji	BB hari ke-1 (gram)	Volume sediaan (ml)	BB hari ke-15 (gram)	Volume sediaan (ml)
1	26,5	0,265	29,8	0,298
2	20,5	0,205	18	0,180
3	21,4	0,214	22	0,220
4	23	0,230	26	0,260

#### 4.4 Data Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah

##### 4.4.1 Kelompok Normal

Hewan Uji	Kadar glukosa hari ke-0 (mg/dL)	Kadar glukosa hari ke-15 (mg/dL)	Persentase penurunan glukosa (%)
1	127,82	139,53	-9,16
2	165,56	186,82	-12,84
3	126,21	137,67	-9,08
4	101,21	116,89	-15,49
Rata-rata $\pm$ SD	130,20 $\pm$ 26,54	145,23 $\pm$ 29,57	-11,64 $\pm$ 3,11

## 4.4.2 Kelompok Kontrol Negatif

Hewan Uji	Kadar glukosa hari ke-0(mg/dL)	Kadar glukosa hari ke-15 (mg/dL)	Persentase penurunan glukosa (%)
1	243,95	364,53	-49,43
2	277,02	419,93	-51,59
3	398,39	521,50	-30,90
4	184,27	304,42	-65,20
Rata-rata $\pm$ SD	275,91 $\pm$ 90,23	402,60 $\pm$ 92,24	-49,28 $\pm$ 14,10

## 4.4.3 Kelompok Kontrol Positif

Hewan Uji	Kadar glukosa hari ke-0 (mg/dL)	Kadar glukosa hari ke-15 (mg/dL)	Persentase penurunan glukosa (%)
1	643,14	227,36	64,65
2	514,11	223,31	56,56
3	409,68	173,31	57,70
4	646,77	153,72	76,23
Rata-rata $\pm$ SD	553,43 $\pm$ 113,97	194,43 $\pm$ 36,61	63,79 $\pm$ 9,04

## 4.4.4 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Kepel Dosis 50 mg/kgBB

Hewan Uji	Kadar glukosa hari ke-0 (mg/dL)	Kadar glukosa hari ke-15 (mg/dL)	Persentase penurunan glukosa (%)
1	210,78	167,64	20,47
2	222,98	192,67	13,59
3	351,61	291,22	17,18
4	260,71	217,30	16,65
Rata-rata $\pm$ SD	261,52 $\pm$ 63,71	217,21 $\pm$ 53,34	16,97 $\pm$ 2,82

## 4.4.5 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Kepel Dosis 100 mg/kgBB

Hewan Uji	Kadar glukosa hari ke-0 (mg/dL)	Kadar glukosa hari ke-15 (mg/dL)	Persentase penurunan glukosa (%)
1	209,68	160,85	23,29
2	189,11	147,59	21,96
3	349,19	256,48	26,55
4	233,87	176,59	24,49
Rata-rata $\pm$ SD	245,46 $\pm$ 71,53	185,38 $\pm$ 48,86	24,07 $\pm$ 1,95

## 4.4.6 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Kepel Dosis 200 mg/kgBB

Hewan Uji	Kadar glukosa hari ke-0(mg/dL)	Kadar glukosa hari ke-15 (mg/dL)	Persentase penurunan glukosa (%)
1	272,98	146,96	46,17
2	279,03	114,23	59,06
3	237,50	105,87	55,42
4	273,39	128,04	53,17
Rata-rata $\pm$ SD	265,73 $\pm$ 19,02	123,78 $\pm$ 17,96	53,45 $\pm$ 5,43

## 4.5 Data Persentase Kerusakan Pankreas Mencit Diabetes

## 4.5.1 Kelompok Kontrol Negatif (CMC Na 1 %)

Hewan Uji	Lapang Pandang	% Kerusakan Pankreas	Rata-rata
1	1	66,97	58,68
	2	79,73	
	3	26,81	
	4	52,80	
2	1	46,68	51,79
	2	79,07	



	3	29,63	
3	1	4,17	33,58
	2	37,80	
	3	58,78	
4	1	71,41	74,95
	2	64,65	
	3	88,79	
Rata-rata $\pm$ SD			54,75 $\pm$ 17,13

#### 4.5.2 Kelompok Kontrol Positif (Glibenklamid 1,3 mg/kgBB)

Hewan Uji	Lapang Pandang	% Kerusakan Pankreas	Rata-rata
1	1	1,01	10,80
	2	1,10	
	3	30,29	
2	1	10,82	15,08
	2	9,11	
	3	34,15	
	4	13,28	
	5	8,02	
3	1	25,80	21,78
	2	34,97	
	3	4,57	
4	1	12,68	14,26
	2	20,14	
	3	9,97	
Rata-rata $\pm$ SD			15,48 $\pm$ 4,59

## 4.5.3 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Kepel Dosis 50 mg/kgBB

Hewan Uji	Lapang Pandang	% Kerusakan Pankreas	Rata-rata
1	1	72,93	31,59
	2	3,30	
	3	18,55	
2	1	63,59	38,85
	2	2,74	
	3	50,21	
3	1	40,51	38,25
	2	41,41	
	3	69,78	
	4	1,30	
4	1	35,61	40,33
	2	30,28	
	3	55,10	
Rata-rata $\pm$ SD			37,25 $\pm$ 3,87

## 4.5.4 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Kepel Dosis 100 mg/kgBB

Hewan Uji	Lapang Pandang	% Kerusakan Pankreas	Rata-rata
1	1	17,03	22,77
	2	9,06	
	3	42,21	
2	1	20,06	24,86
	2	20,27	
	3	7,73	
	4	0,13	
3	1	1,55	29,52
	2	51,84	

	3	35,18	
4	1	17,80	31,91
	2	45,83	
	3	37,91	
	4	26,11	
Rata-rata $\pm$ SD			27,27 $\pm$ 4,19

#### 4.5.5 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Kepel Dosis 200 mg/kgBB

Hewan Uji	Lapang Pandang	% Kerusakan Pankreas	Rata-rata
1	1	5,79	18,99
	2	8,49	
	3	42,69	
2	1	33,80	14,41
	2	2,84	
	3	6,58	
3	1	2,42	28,28
	2	46,59	
	3	35,82	
4	1	11,96	17,25
	2	7,94	
	3	31,83	
Rata-rata $\pm$ SD			19,73 $\pm$ 6,00

#### 4.6 Hasil Analisis Uji One Way ANOVA Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Kerusakan Pulau Langerhans

##### 4.6.1 Hasil Pengukuran Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah

###### a. Uji Normalitas

###### Tests of Normality

Kelompok_Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Persen_ normal	.288	4	.	.869	4	.295
Penurunan_ kontrol negatif	.254	4	.	.960	4	.779
Kadar_ kontrol positif	.250	4	.	.879	4	.335
Glukosa dosis 50 mg/kgBB	.221	4	.	.974	4	.864
dosis 100 mg/kgBB	.165	4	.	.988	4	.948
dosis 200 mg/kgBB	.229	4	.	.964	4	.805

###### a. Lilliefors Significance Correction

###### b. Uji Homogenitas

###### Test of Homogeneity of Variance

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Persen_Penurunan_ Based on Mean	1.807	5	18	.162
Kadar_Glukosa Based on Median	1.594	5	18	.212
Based on Median and with adjusted df	1.594	5	6.278	.287
Based on trimmed mean	1.756	5	18	.173

c. Uji *One Way* ANOVA**ANOVA**

Persen\_Penurunan\_Kadar\_Glukosa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35110.807	5	7022.161	127.127	.000
Within Groups	994.274	18	55.237		
Total	36105.081	23			

d. *Post Hoc Test***Multiple Comparisons**

Persen\_Penurunan\_Kadar\_Gluk

osa

LSD

(I) Kelompok_ Perlakuan	(J) Kelompok_ Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
normal	kontrol negatif	37.636500 *	5.255352	.000	26.59542	48.67758
	kontrol positif	- 75.429000 *	5.255352	.000	-86.47008	- 64.38792
	dosis 50 mg/kgBB	- 28.615250 *	5.255352	.000	-39.65633	- 17.57417
	dosis 100 mg/kgBB	- 35.715000 *	5.255352	.000	-46.75608	- 24.67392
	dosis 200 mg/kgBB	- 65.097750 *	5.255352	.000	-76.13883	- 54.05667



kontrol negatif	normal	-				
		37.636500*	5.255352	.000	-48.67758	26.59542
	kontrol positif	-				
		113.065500*	5.255352	.000	-124.10658	102.02442
	dosis 50 mg/kgBB	-				
	66.251750*	5.255352	.000	-77.29283	55.21067	
	dosis 100 mg/kgBB	-				
	73.351500*	5.255352	.000	-84.39258	62.31042	
	dosis 200 mg/kgBB	-				
	102.734250*	5.255352	.000	-113.77533	91.69317	
kontrol positif	normal	75.429000*	5.255352	.000	64.38792	86.47008
	kontrol negatif	113.065500*	5.255352	.000	102.02442	124.10658
	dosis 50 mg/kgBB	46.813750*	5.255352	.000	35.77267	57.85483
	dosis 100 mg/kgBB	39.714000*	5.255352	.000	28.67292	50.75508
	dosis 200 mg/kgBB	10.331250	5.255352	.065	-.70983	21.37233
dosis 50 mg/kgBB	normal	28.615250*	5.255352	.000	17.57417	39.65633
	kontrol negatif	66.251750*	5.255352	.000	55.21067	77.29283
	kontrol positif	-				
	46.813750*	5.255352	.000	-57.85483	35.77267	

dosis 100 mg/kgBB	-7.099750	5.255352	.193	-18.14083	3.94133
dosis 200 mg/kgBB	- 36.482500*	5.255352	.000	-47.52358	- 25.44142
dosis 100 normal mg/kgBB	35.715000*	5.255352	.000	24.67392	46.75608
kontrol negatif	73.351500*	5.255352	.000	62.31042	84.39258
kontrol positif	- 39.714000*	5.255352	.000	-50.75508	- 28.67292
dosis 50 mg/kgBB	7.099750	5.255352	.193	-3.94133	18.14083
dosis 200 mg/kgBB	- 29.382750*	5.255352	.000	-40.42383	- 18.34167
dosis 200 normal mg/kgBB	65.097750*	5.255352	.000	54.05667	76.13883
kontrol negatif	102.734250*	5.255352	.000	91.69317	113.77533
kontrol positif	- 10.331250	5.255352	.065	-21.37233	.70983
dosis 50 mg/kgBB	36.482500*	5.255352	.000	25.44142	47.52358
dosis 100 mg/kgBB	29.382750*	5.255352	.000	18.34167	40.42383

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

## 4.6.2 Hasil Pengukuran Persentase Kerusakan Pankreas

## a. Uji Normalitas

**Tests of Normality**

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Persentase_ kontrol negatif	.181	4	.	.994	4	.975
kerusakan_ kontrol positif	.285	4	.	.933	4	.613
pankreas dosis ekstrak 50 mg/kgBB	.351	4	.	.827	4	.161
dosis ekstrak 100 mg/kgBB	.217	4	.	.946	4	.692
dosis ekstrak 200 mg/kgBB	.299	4	.	.893	4	.396

## a. Lilliefors Significance Correction

## b. Uji Homogenitas

**Test of Homogeneity of Variance**

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Persentase_ Based on Mean	2.433	4	15	.093
kerusakan_ Based on Median	2.298	4	15	.107
pankreas Based on Median and with adjusted df	2.298	4	5.663	.179
Based on trimmed mean	2.422	4	15	.094

c. Uji *One Way* ANOVA**ANOVA**

Presentase\_kerusakan\_pankreas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3940.069	4	985.017	12.854	.000
Within Groups	1149.428	15	76.629		
Total	5089.498	19			

d. *Post Hoc* Test**Multiple Comparisons**

Presentase\_kerusakan\_pankreas

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol negatif	kontrol positif	39.27175*	6.18985	.000	26.0784	52.4651
	dosis ekstrak 50 mg/kgBB	17.49775*	6.18985	.013	4.3044	30.6911
	dosis ekstrak 100 mg/kgBB	27.48625*	6.18985	.000	14.2929	40.6796
	dosis ekstrak 200 mg/kgBB	35.02100*	6.18985	.000	21.8276	48.2144
kontrol positif	kontrol negatif	-39.27175*	6.18985	.000	-52.4651	-26.0784
	dosis ekstrak 50 mg/kgBB	-21.77400*	6.18985	.003	-34.9674	-8.5806
	dosis ekstrak 100 mg/kgBB	-11.78550	6.18985	.076	-24.9789	1.4079
	dosis ekstrak 200 mg/kgBB	-4.25075	6.18985	.503	-17.4441	8.9426



dosis ekstrak 50 mg/kgBB	kontrol negatif	-17.49775*	6.18985	.013	-30.6911	-4.3044
	kontrol positif	21.77400*	6.18985	.003	8.5806	34.9674
	dosis ekstrak 100 mg/kgBB	9.98850	6.18985	.127	-3.2049	23.1819
	dosis ekstrak 200 mg/kgBB	17.52325*	6.18985	.013	4.3299	30.7166
dosis ekstrak 100 mg/kgBB	kontrol negatif	-27.48625*	6.18985	.000	-40.6796	-14.2929
	kontrol positif	11.78550	6.18985	.076	-1.4079	24.9789
	dosis ekstrak 50 mg/kgBB	-9.98850	6.18985	.127	-23.1819	3.2049
	dosis ekstrak 200 mg/kgBB	7.53475	6.18985	.242	-5.6586	20.7281
dosis ekstrak 200 mg/kgBB	kontrol negatif	-35.02100*	6.18985	.000	-48.2144	-21.8276
	kontrol positif	4.25075	6.18985	.503	-8.9426	17.4441
	dosis ekstrak 50 mg/kgBB	-17.52325*	6.18985	.013	-30.7166	-4.3299
	dosis ekstrak 100 mg/kgBB	-7.53475	6.18985	.242	-20.7281	5.6586

\*. The mean difference is significant at the 0,05 level.



## 4.7 Dokumentasi

## 4.7.1 Surat Determinasi

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

---

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**  
 No: 1495/IPH.06/HM/X/2017

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

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

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

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

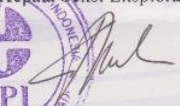
Referensi :


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

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 30 Oktober 2017

Kepala  
Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan

  
Ruchmawan Adi Laksono, S.Kom



## 4.7.2 Skrining Fitokimia

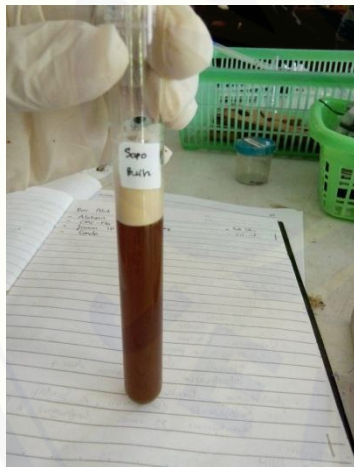
## a. Alkaloid



Uji Alkaloid (dari kiri ke kanan):

Pereaksi Mayer, Pereaksi Wagner dan Blanko

## b. Saponin, Triterpenoid dan Steroid



Uji Buih

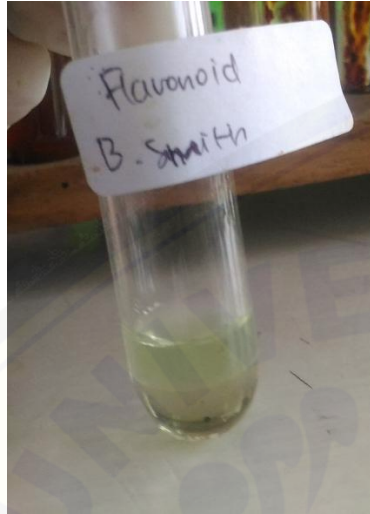


Lieberman Burchard



Salkowski

c. Flavonoid



Uji Bate Smith



Wilstater

d. Polifenol dan Tanin



Uji Gelatin dan Uji FeCl<sub>3</sub>



Endapan Putih pada Uji Gelatin



e. Antrakinon



4.7.3 Dokumentasi Penelitian



Daun kepel (*Stelechocarpus burahol*)



Ekstraksi daun kepel dengan teknik remaserasi dan pelarut etanol



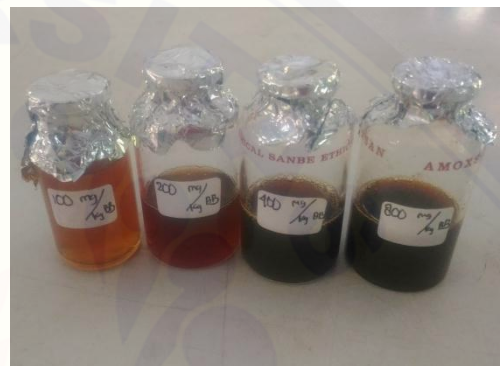
Pemekatan dengan *rotatory evaporator*



Ekstrak etanol daun kepel



Proses skrining fitokimia ekstrak etanol daun kepel



Pembuatan sediaan suspensi ekstrak etanol daun kepel



Proses induksi aloksan pada hewan coba

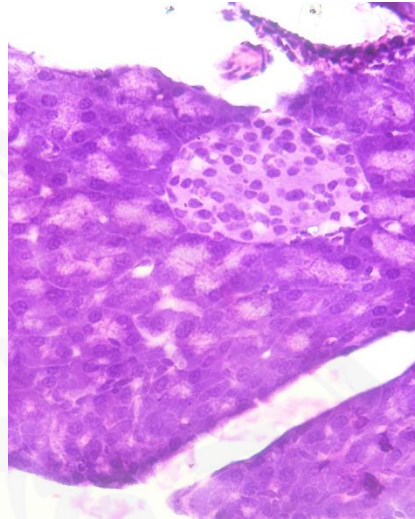


Pengecekan kadar darah menggunakan fotometer





Pembedahan pada hari ke-15 dan pengambilan darah dari jantung



Pengamatan histopatologi pankreas dengan menggunakan mikroskop