



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL
DAUN MINDI (*Melia azedarach* L.) PADA MENCIT
DENGAN METODE INDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

Oleh

MUGAR BAKTI HANDOYO

102210101004

**BAGIAN BIOMEDIK
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018



**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL
DAUN MINDI (*Melia azedarach* L.) PADA MENCIT
DENGAN METODE INDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

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

Oleh

MUGAR BAKTI HANDOYO

102210101004

**BAGIAN BIOMEDIK
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2018

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua saya Bapak Supri Handoyo dan Ibu Cicik Iriantinah;
2. Kakak Bayu Handoyo dan Anike Dwi Noviantaka;
3. Adik almh. Aura Dinar Firdaus Handoyo;
4. Saudara Bapak Yudi Mardigdo, Ibu Marlita, Mbak Cis, Bima Vansa Dewa, dan Famadya Listikaningrum;
5. Saudara, sahabat, dan teman-teman tersayang;
6. Para guru sejak Taman Kanak-kanak sampai Sekolah Menengah serta para dosen di Perguruan Tinggi;
7. Almamater tercinta, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

*“Neque porro quisquam est qui dolorem ipsum quia dolor sit amet,
consectetur, adipisci velit”*

(Lorem Ipsum)

*“Not everything that is faced can be changed,
but nothing can be changed until it is faced”*

(James Baldwin)

*“Man can not remake himself without suffering,
for he is both the marble and the sculptor”*

(Anonim)

“

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Mugar Bakti Handoyo

NIM : 102210101004

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Uji Aktivitas Anti Diabetes Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia Azedarach* L.) Pada Mencit Dengan Metode Induksi 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 isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

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

Jember, 8 Juni 2018

Yang menyatakan,

Mugar Bakti Handoyo

NIM 102210101004

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTI DIABETES EKSTRAK ETANOL
DAUN MINDI (*Melia azedarach* L.) PADA MENCIT
DENGAN METODE INDUKSI ALOKSAN**

Oleh

MUGAR BAKTI HANDOYO

102210101004

Pembimbing

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

Dosen Pembimbing Anggota : Indah Yulia N., S. Farm., M. Farm., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Uji Aktivitas Anti Diabetes Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia Azedarach* L.) Pada Mencit Dengan Metode Induksi Aloksan” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Jum’at

Tanggal : 8 Juni 2018

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

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

Indah Yulia N., S. Farm., M. Farm., Apt.

NIP. 197812212005012002

NIP. 198407122008122002

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Ema R., S. Farm., M. Sc., Apt.

Fransiska M. C., S. Farm., M. Farm., Apt.

NIP. 198403082008012003

NIP. 198404062009122008

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,

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

NIP. 197604142002122001

RINGKASAN

Uji Aktivitas Anti Diabetes Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia Azedarach* L.) Pada Mencit Dengan Metode Induksi Aloksan; Mugar Bakti Handoyo, 102210101004, 2018; 32 halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia serta gangguan metabolisme karbohidrat, protein dan lemak akibat dari penurunan sekresi insulin, mekanisme aksi dari insulin, atau keduanya. Efek diabetes melitus meliputi kerusakan jangka panjang, disfungsi dan kegagalan berbagai organ. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan prevalensi global diabetes melitus pada tahun 2000 sekitar 2,8% atau \pm 171 juta orang dan diperkirakan pada tahun 2030 akan meningkat 4,4% atau \pm 366 juta orang. Prevalensi terjadinya diabetes tipe 2 sangat bervariasi pada berbagai ras dan kelompok etnis. Di Indonesia, tingkat kejadian diabetes melitus tipe 2 sekitar 14,7% di daerah perkotaan dan 7,2% di daerah pedesaan dari jumlah penduduk Indonesia. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach* L.) sebagai anti diabetes serta diharapkan dapat digunakan sebagai alternatif bahan baku anti diabetes.

Penelitian ini merupakan *True Experimental Laboratories* menggunakan induksi aloksan dengan hewan mencit jantan Galur Balb-C. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Pretest and Posttest Control Group Design*. Pemilihan sampel dilakukan dengan cara *simple random sampling* yang kemudian dibagi menjadi lima kelompok. Semua mencit dipuasakan selama \pm 16-18 jam namun tetap diberi minum, kemudian diukur kadar glukosa darah normal dan ditimbang berat badannya. Masing-masing diberi tanda pengenal pada bagian ekornya, kemudian diberikan dosis 210 mg/kgBB aloksan secara intraperitoneal. Hewan coba dikatakan diabetes jika kadar glukosa darahnya lebih dari 176 mg/dL. Pengukuran glukosa darah menggunakan alat *GlucoDrTM Blood Glucose Meter* AGM-2100.

Hasil analisis data menggunakan *One Way* ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significance Difference*) menunjukkan bahwa kontrol positif dan ketiga perlakuan dosis memiliki efek terhadap penurunan kadar glukosa darah dengan hasil uji LSD yang berbeda signifikan antara satu perlakuan dengan yang lainnya. Pada data kelompok perlakuan kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak dosis 200 mg/kg, ekstrak dosis 400 mg/kg, dan ekstrak dosis 800 mg/kg secara statistik memberikan perbedaan yang signifikan antara ke-5 perlakuan tersebut. Perbandingan rata-rata persen penurunan kadar glukosa darah antara ekstrak dosis 200 mg/kg, ekstrak dosis 400 mg/kg, dan ekstrak dosis 800 mg/kg masing-masing adalah 17,47 %; 32,34 %; dan 54,12 %.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Anti Diabetes Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia azedarach* L.) Pada Mencit Dengan Metode Induksi Aloksan”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan Pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

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

1. Allah SWT atas limpahan rahmat dan nikmat yang tak terhingga; serta Nabi Muhammad SAW yang telah membawa dunia dari masa jahiliah menuju masa yang terang benderang.
2. Ibuku Cicik Iriantinah dan Bapakku Supri Handoyo yang telah melahirkan, membesarkan, dan mendidiku dengan cinta dan kasih sayang, serta segala petuah dan semangat yang diberikan;
3. Kakakku Bayu Handoyo, Anike Dwi Noviantaka, adikku Almh. Aura Dinar Firdaus Handoyo yang telah selalu memberikan semangat, tempat berkeluh kesah, dan pemberi solusi;
4. Ibu Lesty Wulandari, S. Si., M. Farm., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
5. Ibu Diana Holidah, S. Farm., Apt., M. Farm., selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Indah Yulia Ningsih, S. Farm., M. Farm., Apt., selaku dosen pembimbing anggota yang telah memberikan kesabaran, kesempatan, waktu, tenaga, dan ilmunya selama penelitian dan penulisan skripsi ini;
6. Ibu Indah Yulia Ningsih, S. Farm., M. Farm., Apt; selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing penulis untuk menentukan SKS selama kuliah;
7. Ibu Ema Rachmawati, S. Farm., M. Sc., Apt., dan Ibu Fransiska Maria Christianty, S. Farm., M. Farm., Apt., selaku dosen penguji yang telah banyak

memberikan bantuan, kritik, saran, waktu, dan perhatiannya dalam penulisan skripsi ini;

8. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu yang berguna;
9. Keluarga Bapak Yudi Mardigdo, Ibu Marlita, Mbak Cis, dan Bima yang telah mendukung, mendorong, menyemangati, tempat berkeluh kesah, dan macam-macam. Selalu anti kemapanan.
10. Yohan, Riza, Bima, Afif, dan Aria yang telah membantu tertawa dan jalan-jalan.
11. Mas Mul, Mas Oni, Pak Sukri, Mas Badri, Pak Kaji Syaifuz, Mas Jun, Pak Deni Kantin, dan Bu Dian Kantin terima kasih atas canda tawa selama di kampus Farmasi tercinta.
12. Guru-guruku dari TK Persid, SDN Ganung Kidul II Nganjuk, SMPN 2 Nganjuk, SMAN 3 Nganjuk, dan Farmasi Unej 2010 (Farmakepo) terima kasih atas kebersamaannya selama ini;
13. Semua Dosen dan Karyawan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah banyak membantu;
14. Semua teman-teman dan pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu saran dan kritik dari semua pihak yang bersifat membangun penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi banyak orang dan tentunya dunia kesehatan Indonesia.

Jember, 8 Juni 2018

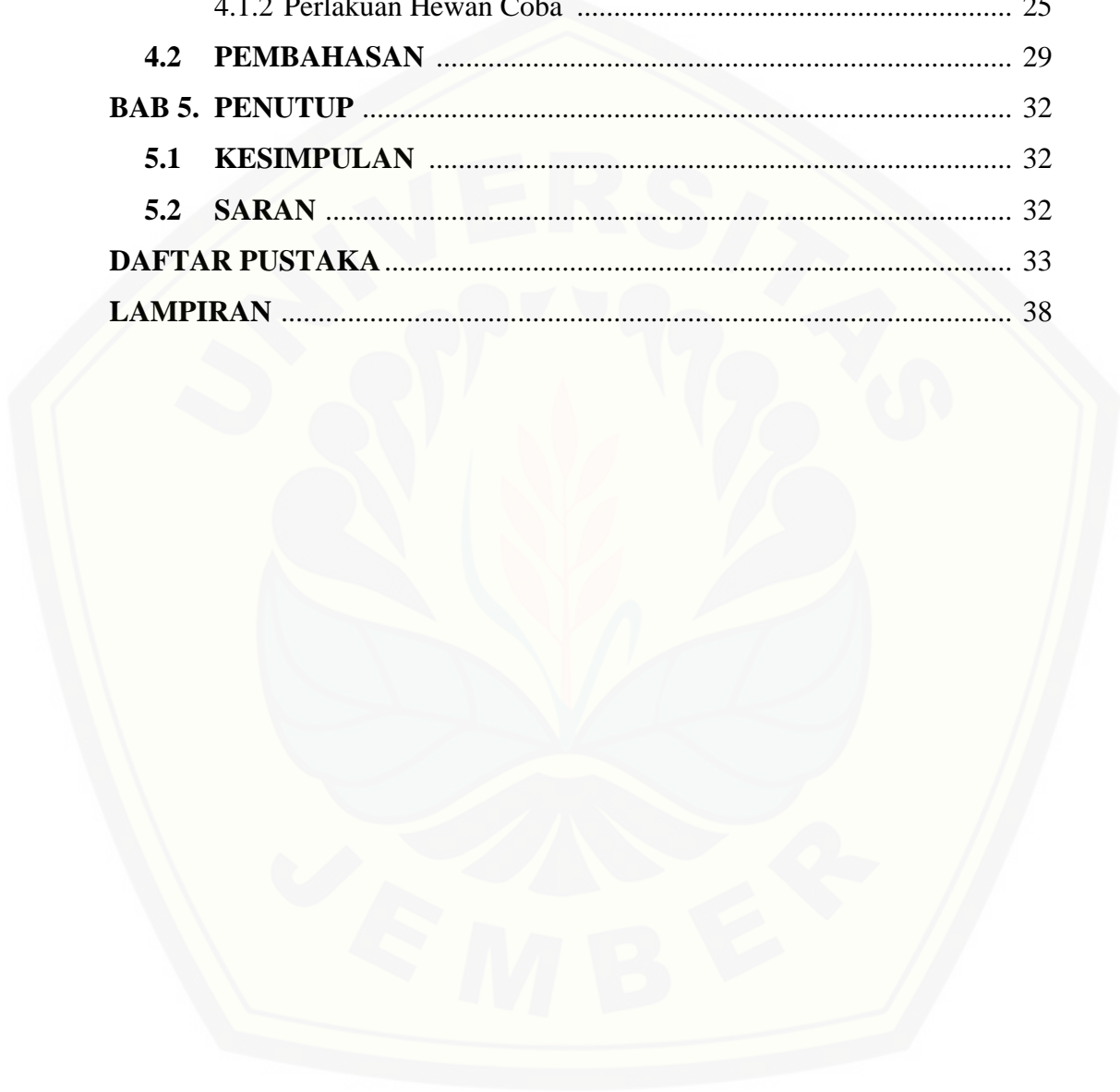
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Tanaman Mindi (<i>Melia azedarach</i> L.)	4
2.1.1 Deskripsi Tanaman Mindi (<i>Melia azedarach</i> L.)	4
2.1.2 Kegunaan Tanaman Mindi (<i>Melia azedarach</i> L.)	5
2.1.3 Kandungan Tanaman Mindi (<i>Melia azedarach</i> L.)	5
2.2 Tinjauan Tentang Diabetes	6
2.2.1 Definisi Diabetes Melitus	6
2.2.2 Hormon Insulin	7

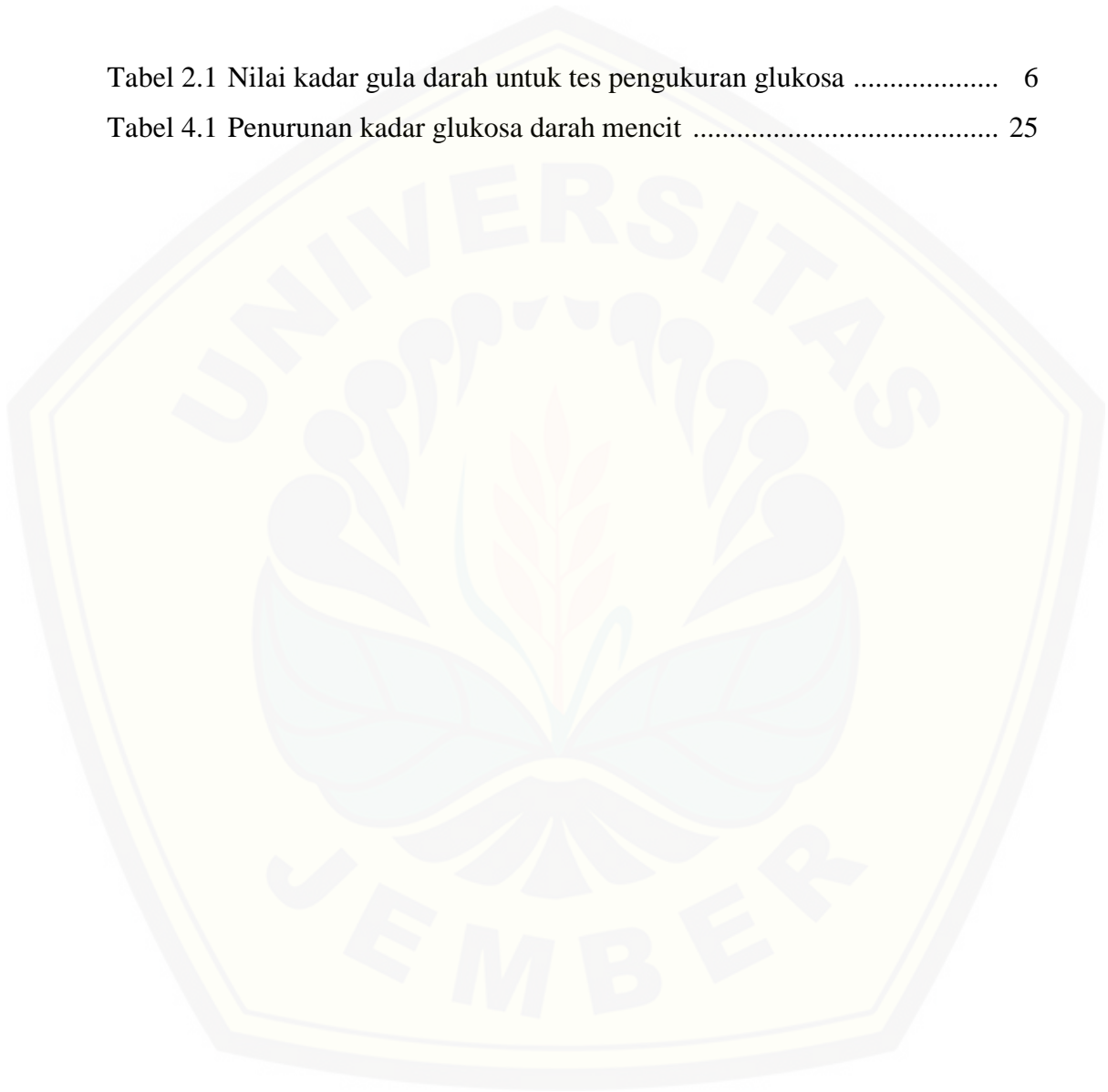
2.2.3	Klasifikasi Diabetes Melitus	8
2.2.4	Penyebab Diabetes Melitus	9
2.2.5	Gejala Klinik	10
2.3	Tinjauan Tentang Obat Anti Diabetes.....	11
2.4	Glibenklamid	14
2.5	Metode Pengukuran Glukosa Darah	14
2.6	Tinjauan Tentang Aloksan	15
2.7	Ekstraksi	17
BAB 3.	METODE PENELITIAN	18
3.1	Jenis, Tempat dan Waktu Penelitian	18
3.2	Rancangan Penelitian	18
3.3	Variabel Penelitian.....	19
3.3.1	Variabel Bebas	19
3.3.2	Variabel Terikat	19
3.3.3	Variabel Terkendali	19
3.4	Definisi Operasional.....	19
3.5	Bahan dan Alat yang Digunakan.....	20
3.5.1	Alat	20
3.5.2	Bahan	20
3.5.3	Hewan Coba	20
3.6	Prosedur	20
3.6.1	Pembuatan Simplisia Daun Mindi	20
3.6.2	Pembuatan Ekstrak Daun Mindi	20
3.6.3	Pembuatan Larutan Aloksan 2%	21
3.6.4	Pembuatan Suspensi CMC Na 1%	21
3.6.5	Pembuatan Suspensi Glibenklamid 0,026%	21
3.6.6	Pembuatan Suspensi Uji Ekstrak Daun Mindi	21
3.6.7	Pengujian Aktivitas Antidiabetes pada Mencit	22
3.7	Analisis Data	22
3.8	Alur Penelitian	23
3.8.1	Pembuatan Ekstrak Daun Mindi	23

3.8.2 Pengujian Aktivitas Anti Diabetes	24
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1 HASIL	25
4.1.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Mindi	25
4.1.2 Perlakuan Hewan Coba	25
4.2 PEMBAHASAN	29
BAB 5. PENUTUP	32
5.1 KESIMPULAN	32
5.2 SARAN	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	38



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Nilai kadar gula darah untuk tes pengukuran glukosa	6
Tabel 4.1 Penurunan kadar glukosa darah menciit	25



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Pohon mindi	4
Gambar 2.2 Struktur insulin	7
Gambar 2.3 Struktur kimia glibenklamid	14
Gambar 2.4 Struktur kimia aloksan	16
Gambar 3.1 Skema rancangan penelitian	18
Gambar 3.2 Diagram alir pembuatan ekstrak daun Mindi	18
Gambar 3.3 Diagram alir pengujian aktivitas antidiabetes	24
Gambar 4.1 Persentase penurunan kadar glukosa darah	26

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Cara Perhitungan Rendemen	38
Lampiran B. Cara Perhitungan Dosis Aloksan	38
Lampiran C. Cara Perhitungan dan Pemberian Dosis	38
Lampiran D. Data Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes	42
Lampiran E. Tabel Konversi Perhitungan Dosis Antar Jenis Hewan	45
Lampiran F. Volume Maksima Larutan Sediaan Uji yang Dapat Diberikan pada Beberapa Hewan Uji	45
Lampiran G. Hasil Uji <i>One Way</i> ANOVA.....	46
Lampiran H. Sertifikat Identifikasi Tanaman	48

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia serta gangguan metabolisme karbohidrat, protein dan lemak akibat dari penurunan sekresi insulin, mekanisme aksi dari insulin, atau keduanya. Efek diabetes melitus meliputi kerusakan jangka panjang, disfungsi dan kegagalan berbagai organ (WHO, 1999). Diabetes melitus selain mempengaruhi metabolisme karbohidrat juga berpengaruh dalam metabolisme lemak, protein dan elektrolit akibat kekurangan insulin atau ketidakpekaan organ target terhadap insulin. Gangguan ini ditandai oleh hiperglikemia kronis, poliuria, polifagia, polidipsia, abnormalitas profil lipid seperti kolesterol, densitas lipoprotein rendah dan tinggi serta trigliserida yang mengarah ke serangkaian komplikasi sekunder. Komplikasi tersebut meliputi ketosis, retinopati serta gangguan kardiovaskular (Rang *et al.*, 1991).

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan prevalensi global diabetes melitus pada tahun 2000 sekitar 2,8% atau \pm 171 juta orang dan diperkirakan pada tahun 2030 akan meningkat 4,4% atau \pm 366 juta orang (Wild *et al.*, 2004). Prevalensi terjadinya diabetes tipe 2 sangat bervariasi pada berbagai ras dan kelompok etnis. Di Indonesia, tingkat kejadian diabetes melitus tipe 2 sekitar 14,7% di daerah perkotaan dan 7,2% di daerah pedesaan dari jumlah penduduk Indonesia (Hossain *et al.*, 2007).

Jenis diabetes melitus menurut *Centers for Disease Control and Prevention* ada tiga, tipe 1 ditandai dengan sel β pankreas sangat sedikit atau sama sekali tidak menghasilkan insulin, tipe 2 ditandai dengan kurangnya produksi insulin dari sel β pankreas, serta diabetes gestasional yang merupakan penyakit yang timbul pada ibu hamil (Centers for Disease and Prevention, 2012). Diabetes tipe 2 memiliki perkiraan prevalensi global yang paling tinggi dibandingkan diabetes tipe 1 (Wild *et al.*, 2004). Hal ini dikarenakan perubahan gaya hidup yang menyebabkan penderita mengalami obesitas sehingga jumlah insulin ini tidak normal.

Pengobatan diabetes melitus dapat dilakukan dengan kontrol diet, terapi insulin dan obat hiperglikemik oral. Terapi diabetes melitus dengan insulin dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan resistensi begitu juga dengan obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dapat menyebabkan hipoglikemia, obat golongan insulin *sensitizing* dapat menyebabkan gangguan pencernaan dan obat golongan α -glukosidase dapat menyebabkan gangguan pada saluran cerna seperti diare, perdarahan, kembung serta tidak semua obat hiperglikemik oral dapat digunakan pada kondisi hamil (Johnson, 1998). Waktu terapi diabetes melitus yang tidak sebentar juga menuntut biaya yang cukup besar sehingga perlu pengembangan strategi alternatif pencegahan dan pengobatan diabetes untuk meminimalkan biaya pengobatan (Larner, 1985).

Obat tradisional telah diterima secara luas di hampir seluruh negara di dunia. Menurut WHO (2015), obat tradisional telah digunakan selama ribuan tahun yang dibuat oleh praktisi untuk kesehatan manusia, terutama sebagai penyedia perawatan kesehatan primer di lingkungan masyarakat. Pemanfaatan obat tradisional telah mendapatkan perhatian yang besar, baik dari masyarakat maupun dari pemerintah. Hal tersebut dibuktikan dengan peningkatan jumlah industri obat tradisional dan fitofarmaka, serta dukungan dari pemerintah melalui Departemen Kesehatan RI dalam mengupayakan perluasan penggunaan obat tradisional di masyarakat (Rukmana, 1995).

Salah satu tanaman yang memiliki aktivitas untuk pengobatan secara tradisional adalah *Melia azedarach* L. yang berasal dari famili Meliaceae (Mabberly *et al.* 1984) dan dikenal sebagai mindi, renceh (Sumatra), gringging dan cakra-cikri (Jawa) (Wijayakusuma *et al.*, 1994). Secara empiris, daun mindi (*Melia azedarach* L.) digunakan sebagai obat alternatif diabetes melitus dengan cara dikeringkan dan kemudian diseduh, sebagaimana ditunjukkan oleh Chaturvedi *et al.*, (2007) dalam penelitian tentang efek dari ekstrak metanol buah mindi (*Melia azedarach* L.) menunjukkan adanya aktivitas sebagai anti diabetes.

Dari penelitian ini diharapkan dapat mengetahui apakah daun mindi (*Melia azedarach* L.) memiliki efek dalam menurunkan gula darah setelah pemberian sediaan dosis selama periode waktu tertentu serta membantu penelitian yang akan

datang untuk menemukan obat herbal baru dengan aktivitas yang baik dengan efek samping minimum untuk pengobatan diabetes melitus.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka masalah dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

- a. Apakah ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach* L.) mempunyai aktivitas sebagai antidiabetes terhadap mencit yang diinduksi aloksan?
- b. Apakah terdapat perbedaan aktivitas antidiabetes pada berbagai dosis ekstrak daun mindi (*Melia azedarach* L.) yang digunakan?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk:

- a. Menguji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach* L.) terhadap mencit yang diinduksi aloksan.
- b. Menentukan perbedaan aktivitas berbagai dosis ekstrak daun mindi (*Melia azedarach* L.).

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

- a. Memberikan informasi mengenai aktivitas ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach* L.) sebagai anti diabetes serta diharapkan dapat digunakan sebagai alternatif bahan baku anti diabetes.
- b. Melandasi penelitian lebih lanjut tentang tanaman mindi (*Melia azedarach* L.).

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman Mindi (*Melia azedarach* L.)

2.1.1 Deskripsi Tanaman Mindi (*Melia azedarach* L.)

Tanaman *Melia azedarach* L. atau sering dikenal sebagai mindi kecil, renceh (Sumatra), mindi, gringing dan cakra-cikri (Jawa) merupakan tanaman dari ordo Sapindales, famili Meliaceae dan genus *Melia*. Mindi merupakan tanaman dengan tinggi 7-12 meter berbatang lurus berbentuk silindris dan tidak berbanir (akar yg menganjur ke luar menyerupai dinding penopang pohon pada pangkal pohon), namun beberapa jenis dapat mencapai tinggi \pm 40 meter pada kondisi tertentu. Pohon mindi memiliki diameter batang pohon 40-60 cm dan berwarna abu-abu kecoklatan, beralur membentuk garis-garis dan bersisik. Tajuknya ringan dan menyerupai payung, memiliki percabangan yang melebar serta sering kali menggugurkan daun. Akarnya berupa akar tunggang dalam dan memiliki akar cabang yang banyak. Tanaman ini dapat tumbuh dengan cepat dan dapat ditemukan pada daerah dataran rendah sampai pegunungan dengan ketinggian 1.110 mdpl. Pohon mindi banyak ditanam di sisi jalan sebagai pohon pelindung, kadang tumbuh liar di beberapa daerah (Wijayakusuma *et al.*, 1994).



Gambar 2.1 Pohon Mindi

Salah satu bagian dari tanaman mindi yang sering digunakan secara empiris dalam mengobati kondisi diabetes adalah bagian daun. Daun mindi memiliki daun

majemuk, menyirip ganda, tumbuh berseling dengan panjang 20-80 cm. Anak daun berbentuk bulat telur sampai lanset dengan panjang 3-7 cm dan lebar 1,5-3 cm, tepi daun bergerigi, ujung daun runcing, pangkal daun membulat atau tumpul, permukaan atas daun berwarna hijau tua, bagian bawah hijau muda (Wijayakusuma *et al.*, 1994).

2.1.2 Kegunaan Tanaman Mindi (*Melia azedarach* L.)

Tanaman mindi (*Melia azedarach* L.) memiliki banyak kegunaan untuk obat-obatan, seperti antifungi (Jabeen K., *et al.*, 2010), hepatoprotektif (Rao *et al.*, 2012, dan anti-inflamasi (Al-Badrani *et al.*, 2002). Buah dari mindi (*Melia azedarach* L.) dapat digunakan sebagai obat anti diabetes dengan cara dikeringkan dan kemudian ditumbuk menjadi serbuk. Setengah sendok teh serbuk buah mindi dicampur dengan segelas air sebelum makan pagi setiap hari selama 1 bulan (Ahmad *et al.*, 2009 dan Chaturvedi *et al.*, 2007). Aktivitas anti diabetes juga ditemukan pada buah dan kulit pohon mindi (Chaturvedi *et al.*, 2005). Chaturvedi *et al.* (2007) dalam penelitiannya dengan buah mindi (*Melia azedarach* L.) menunjukkan adanya aktivitas anti diabetes pada tikus albino jantan.

2.1.3 Kandungan Tanaman Mindi (*Melia azedarach* L.)

Ekstrak metanol 70% dari daun mindi (*Melia azedarach* L.) menunjukkan ada 48 senyawa. Senyawa utamanya adalah Phytol (11,04%; diterpen), Quercetin (16,47%; flavonoid) dan asam palmitat (15,49%; asam lemak jenuh) (Sen *et al.*, 2012). Senyawa lainnya berkadar kurang dari 5% antara lain 9,12,15-Octadecatrienoic acid (3,43%) berfungsi sebagai anti inflamasi, hepatoprotektor dan antihistamin (Kumar *et al.*, 2011). Senyawa lain seperti 2,3-Dihydro-3,5-Dihydroxy-6-Methyl-4H-Pyran-4-One (0,31%; *flavoring agent*) dan 4-Methyl-2-hexanone (2,25%; *flavoring agent*) berfungsi sebagai *flavoring agent* yang berpotensi dalam produk susu (Han *et al.*, 2003 dan Martin *et al.*, 2009).

2.2 Tinjauan Tentang Diabetes

2.2.1 Definisi Diabetes Melitus

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolisme karbohidrat pada sistem endokrin karena defisiensi absolut atau defisiensi relatif

pada sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya (Sudha *et al.*, 2011). Diabetes melitus selain mempengaruhi metabolisme karbohidrat juga berpengaruh dalam metabolisme lemak, protein dan elektrolit akibat kekurangan insulin atau ketidakpekaan organ target terhadap insulin. Gangguan ini ditandai oleh hiperglikemia kronis dan abnormalitas profil lipid seperti kolesterol, densitas lipoprotein rendah dan tinggi serta trigliserida yang mengarah ke serangkaian komplikasi sekunder. Komplikasi ini meliputi poliuria, polifagia, polidipsia, ketosis, retinopati serta gangguan kardiovaskular (Kumar, 2002.).

Menurut PERKENI (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia), seseorang dikatakan menderita diabetes melitus jika memiliki kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dL dan pada tes sewaktu ≥ 200 mg/dL (Tabel 2.1). Kadar glukosa darah sepanjang hari bervariasi dimana akan meningkat setelah makan dan kembali normal dalam waktu 2 jam (PERKENI, 2015).

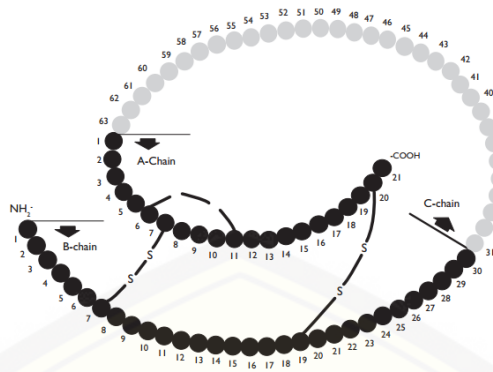
Tabel 2.1 Nilai Kadar Gula Darah untuk Tes Pengukuran Glukosa

	Puasa	Sewaktu	HbA1c (%)
Normal	< 100 mg/dL	< 140 mg/dL	< 5,7
Pre Diabetes	100-125 mg/dL	140-199 mg/dL	5,7-6,4
Diabetes	≥ 126 mg/dL	≥ 200 mg/dL	$\geq 6,5$

Sumber: PERKENI (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia).

2.2.2 Hormon Insulin

Insulin adalah protein yang terdiri 2 rantai polipeptida A (21 residu asam amino) dan B (30 residu asam amino) [Gambar 2.2] yang dihubungkan oleh dua antar-rantai dan satu intra-rantai jembatan disulfida (Joshi *et al.*, 2007). Insulin disintesis oleh sel β langerhans, pada saat disekresi ke dalam darah, insulin hampir seluruhnya beredar dalam bentuk tidak terikat dengan waktu paruh plasma rata-rata sekitar 6 menit, sehingga dalam waktu 10 sampai 15 menit insulin tidak berada dalam sirkulasi (Guyton dan John., 2007).



Gambar 2.2 Struktur Insulin (Sumber: Joshi *et al.*, 2007)

a. Mekanisme Sekresi Insulin

Insulin disekresikan oleh sel β pankreas dalam merespon berbagai rangsangan dari glukosa dan arginin tetapi peningkatan glukosa yang merupakan hal yang paling mempengaruhi sekresi insulin. Mekanisme sekresi insulin diawali dengan pengambilan glukosa dari sel β yang difasilitasi oleh GLUT-2 (*Glucose Transporter-2*) reseptor. Didalam sel β , glukosa akan teroksidasi menjadi glukonase dan selanjutnya mengalami oksidasi menghasilkan ATP. ATP kemudian berikatan dengan kanal kalium yang menyebabkan kanal kalium tertutup. Keadaan ini menyebabkan depolarisasi membran sel dan akhirnya kanal ion kalsium terbuka. Ion kalsium di luar sel akan masuk ke dalam sel dan merangsang penggabungan vesikel yang berisi insulin dengan membran sel dan sekresi insulin ke dalam cairan ekstraseluler (Joshi *et al.*, 2007).

b. Mekanisme Kerja Insulin

Mekanisme kerja insulin diawali dengan adanya ikatan antara insulin dengan reseptor insulin yang berada di permukaan membran sel. Reseptor terdiri dari empat subunit yang dihubungkan oleh ikatan disulfida. Dua dari sub unit β tersebut terletak di permukaan membran sel dan dua lainnya dari sub unit yaitu alpha α terletak di luar permukaan sel. Insulin akan mengikat sub unit α dan akan mengakibatkan autofosforilasi reseptor sub unit β yang memperluas sitoplasma dengan memiliki obligasi dari dua sub unit dan mengaktifkan protein aktif kinase. Aktivasi protein kinase ini menyebabkan fosforilasi berbagai enzim intrasel termasuk kelompok enzim substrat reseptor-insulin. Efek dari perangsangan insulin meliputi transport glukosa, sintesis glukosa,

protein, lemak serta pertumbuhan dan ekspresi gen. Pada transport glukosa, insulin dapat meningkatkan pengambilan glukosa oleh sel (Unal *et al*, 2012).

2.2.3 Klasifikasi Diabetes Melitus

Klasifikasi diabetes melitus menurut *Centers for Disease Control and Prevention* pada tahun 2012 ada tiga tipe yaitu:

a. Diabetes melitus tipe 1

Diabetes melitus tipe 1 atau disebut sebagai *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM), berjumlah 5-10% dari kasus diabetes yang terdiagnosis, dicirikan dengan hilangnya sel β penghasil insulin pada pulau-pulau langerhans pankreas sehingga terjadi kekurangan insulin pada tubuh. Diabetes melitus tipe ini dapat diderita oleh anak-anak maupun orang dewasa (Centers for Disease Control and Prevention, 2012). Hilangnya fungsi sel β mungkin disebabkan oleh invasi virus, kerja toksin kimia atau umumnya melalui kerja antibodi autoimun yang ditujukan untuk melawan sel β . Akibat dari destruksi sel β , pankreas gagal berespon terhadap masukan glukosa (Mycek *et al.*, 2001).

b. Diabetes melitus tipe 2

Diabetes melitus tipe 2 atau disebut *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM), berjumlah 90-95% dari kasus diabetes yang terdiagnosis merupakan tipe yang dialami oleh sebagian besar penderita diabetes melitus dimana dicirikan dengan kurangnya sekresi insulin (Centers for Disease Control and Prevention, 2012). Dalam diabetes melitus tipe 2 ini pankreas masih memiliki beberapa fungsi sel β , yang menyebabkan kadar insulin bervariasi dimana tidak cukup untuk memelihara homeostatis glukosa (Mycek *et al.*, 2001).

c. Diabetes melitus gestasional

Menurut ADA (American Diabetes Association), diabetes gestasional (diabetes kehamilan) merupakan kondisi diabetes dialami sementara selama masa kehamilan. Diabetes melitus gestasional berhubungan dengan meningkatnya komplikasi perinatal (sekitar waktu melahirkan) dan sang ibu memiliki resiko untuk menderita penyakit diabetes melitus yang lebih besar dalam jangka waktu 5-10 tahun setelah melahirkan. Diabetes tipe ini

merupakan intoleransi karbohidrat akibat terjadinya hiperglikemia dengan berbagai keparahan dengan serangan atau pengenalan awal selama masa kehamilan (American Diabetes Association, 2015).

2.2.4 Penyebab Diabetes Melitus

Pada dasarnya diabetes melitus disebabkan oleh aktivitas insulin yang tidak memadai baik karena sekresi insulin yang berkurang atau karena adanya resistensi insulin pada jaringan-jaringan yang peka terhadap insulin. Hal-hal tersebut dapat terjadi karena kerusakan sel-sel β pulau langerhans dalam kelenjar pankreas yang berfungsi menghasilkan insulin. Namun terdapat beberapa faktor yang dianggap menyebabkan diabetes melitus yaitu:

a. Genetik

Para ahli kesehatan menyebutkan bahwa sebagian besar penderita diabetes melitus juga memiliki riwayat keluarga penderita diabetes. Jika dalam suatu keluarga terdapat penderita diabetes melitus, kemungkinan anggota keluarga yang lain mengidap diabetes melitus menjadi dua kali lebih tinggi dari orang biasa yang tidak mempunyai keluarga yang menderita diabetes melitus (Johnson, 1998).

b. Obesitas

Obesitas terjadi karena penimbunan lemak di dalam tubuh, sehingga meningkatkan risiko terjadinya berbagai gangguan kesehatan. Diabetes melitus merupakan salah satu faktor resiko penting dari obesitas (Mulyono, 2009). Obesitas dapat membuat penurunan jumlah reseptor insulin di dalam sel target insulin di seluruh tubuh, sehingga membuat jumlah insulin yang media kurang efektif dalam meningkatkan efek metabolik insulin yang biasa (Guyton dan Hall, 2007).

c. Virus

Virus yang diduga dapat menyebabkan diabetes melitus melalui mekanisme infeksi sitolitik pada sel β yang mengakibatkan destruksi (perusakan sel) melalui reaksi otoimunitas yang menyebabkan hilangnya autoimun pada sel β adalah *rubela*, *mumps*, dan *human coxsakievirus* (Greenspan dan Baxter, 2000).

d. Bahan beracun

Bahan beracun yang mampu merusak sel beta pankreas secara langsung adalah aloksan, *pyrinuron* (rodentisida), dan sterptozotosin (produk dari sejenis jamur). Bahan lainnya adalah sianida (Johnson, 1998). Sebagian obat diperkirakan mengganggu pelepasan insulin dari sel β pankreas (feuitoin, dimetika terutama tiazid) dan sebagian lagi dengan menginduksi resistensi insulin (kortikosteroid, beberapa kontrasepsi oral, misalnya esterogen dan progesteron) (Greenspan dan Baxter, 2000).

2.2.5 Gejala Klinik

Diabetes melitus seringkali muncul tanpa gejala. Namun demikian ada beberapa gejala yang harus diwaspadai sebagai tanda munculnya diabetes melitus. Gejala umum yang sering dirasakan penderita diabetes melitus antara lain:

1) Poliuri (banyak kencing)

Banyak kencing (64,3%) merupakan gejala yang hampir dialami oleh setiap pasien diabetes melitus. Pada keadaan glukosa darah meningkat dan melebihi ambang ginjal, maka glukosa akan dikeluarkan. Secara kimiawi, glukosa menarik air dan akan keluar bersama-sama. Makin tinggi kadar glukosa darah maka semakin banyak air kemih yang dikeluarkan.

2) Polidipsi (sering haus)

Hal ini disebabkan pembakaran terlalu banyak dan kehilangan cairan banyak karena poliuri, sehingga untuk mengimbangi penderita lebih banyak minum.

3) Polifagi (keinginan untuk makan yang meningkat/mudah lapar)

Gejala polifagi ini muncul karena tubuh kehilangan sejumlah kalori yang dikeluarkan bersama air kemih sehingga terjadi penurunan berat badan. Untuk mengkompensasikan hal ini penderita seringkali merasakan lapar yang luar biasa sehingga banyak makan (polifagi).

4) Berat badan menurun, lemas, lekas lelah, tenaga kurang.

Hal ini disebabkan kehabisan glikogen yang telah dipecah menjadi glukosa, maka tubuh berusaha untuk mendapatkan dari bagian tubuh yang lain yaitu lemak dan protein, karena tubuh terus merasakan lapar, maka tubuh selanjutnya akan memecah cadangan makanan yang ada di tubuh termasuk yang berada di

jaringan otot dan lemak sehingga penderita dengan DM walaupun banyak makan akan tetap kurus (Ganiswara, 2007; Guyton, 2007).

2.3 Tinjauan Tentang Obat Anti Diabetes

Obat-obat hipoglikemik oral dapat dibagi menjadi 5 golongan, yaitu (1) golongan pemacu sekresi insulin (sulfonilurea, glinida); (2) golongan peningkat sensitivitas terhadap insulin (metformin, tiazolidindion); (3) golongan absorpsi glukosa; (4) golongan penghambat DPP-IV (*Dipeptidyl Peptidase-IV*); (5) golongan penghambat SGLT-2 (*Sodium Glucose Co-transporter 2*) (PERKENI, 2015).

1) Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dan glinida (meglitinida dan turunan fenilalanin).

a. Golongan sulfonilurea

Efek hipoglikemik sulfonilurea adalah dengan merangsang pelepasan insulin dari granul sel β pankreas, sehingga hanya efektif bila sel β pankreas masih dapat memproduksi; mengurangi kadar glukosa dalam serum; dan meningkatkan pengikatan insulin pada jaringan target dan reseptor (Mycek *et al.*, 2001). Rangsangan golongan sulfonilurea pada *ATP-sensitive K channel* dari sel β pankreas. Bila sulfonilurea terikat pada reseptor (SUR) maka kanal K akan tertutup. Keadaan ini akan menyebabkan terjadinya penurunan permeabilitas K pada membran sel β serta terjadi depolarisasi membran dan kanal Ca terbuka sehingga terjadi peningkatan Ca intrasel. Ion Ca akan terikat pada calmodulin. dan menyebabkan eksositosis granul yang mengandung insulin (Sudoyo *et al.*, 2006). Sulfonilurea dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu generasi I (asetoheksamid, klorpropamid, tolazamid, dan tolbutamid) dan generasi II (glipizid, gliburid (glibenklamid), dan glimepirid).

Golongan sulfonilurea dapat menyebabkan hipoglikemia yang berakibat fatal, terutama bagi lansia sehingga dalam pengobatan diabetes melitus pada lansia dipilih obat dengan masa kerja paling singkat. (Sudoyo *et al.*, 2000 dan Ganiswara, 2007)

b. Golongan glinida

Golongan senyawa hipoglikemik oral ini bekerja meningkatkan sintesis dan sekresi insulin oleh kelenjar pankreas (Muchid *et al.*, 2005), dan merupakan sekretagog yang khusus menurunkan glukosa pascaprandial dengan efek hipoglikemik yang minimal. Karena sedikit mempunyai efek terhadap glukosa puasa maka kekuatannya untuk menurunkan A1C tidak begitu kuat (Sudoyo *et al.*, 2007).

2) Obat-obat golongan peningkat sensitivitas terhadap insulin, meliputi obat-obat hipoglikemik golongan biguanida dan tiazolidindion, yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara lebih efektif.

a. Golongan metformin

Metformin mempunyai efek utama mengurangi produksi glukosa hati (glukoneogenesis), dan memperbaiki ambilan glukosa perifer. Metformin merupakan pilihan pertama pada sebagian besar kasus diabetes tipe 2 (PERKENI, 2015).

b. Golongan tiazolidinedion

Senyawa golongan tiazolidindion bekerja meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin dengan jalan berikatan dengan PPAR γ (*peroxisome proliferator activated receptor-gamma*) di otot, jaringan lemak, dan hati untuk menurunkan resistensi insulin (Muchid *et al.*, 2005). PPAR γ merupakan regulator hemostatis lipid, deferensiasi adipositi dan kerja insulin. Golongan obat ini dapat merangsang ekskresi beberapa protein yang dapat memperbaiki sensitivitas insulin dan memperbaiki glikemia, seperti GLUT-1, GLUT-4, p85 α PI-3K dan *uncoupling protein-2* (UCP). Selain itu juga dapat mempengaruhi ekskresi dan pelepasan mediator insulin seperti TNF alfa, leptin dan lain-lain (Sudoyo *et al.*, 2007).

3) Inhibitor α -glukosidase

Senyawa-senyawa inhibitor α -glukosidase bekerja menghambat enzim α -glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Enzim-enzim α -glukosidase (maltase, isomaltase, glukomaltase dan sukrase) berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida, pada dinding usus halus. Inhibisi kerja enzim ini secara efektif

dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa post prandial pada penderita diabetes, sementara glukosa puasa relatif tidak berubah (Dipiro, 2002 dan Muchid *et al.*, 2005).

4) Penghambat DPP-IV (Dipeptidyl Peptidase-IV)

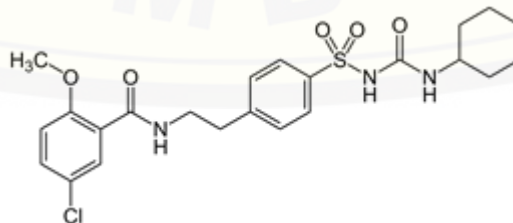
Obat golongan penghambat DPP-IV menghambat kerja enzim DPP-IV sehingga GLP-1 (*Glucose Like Peptide-1*) tetap dalam konsentrasi yang tinggi dalam bentuk aktif. Aktivitas GLP-1 untuk meningkatkan sekresi insulin dan menekan sekresi glukagon bergantung kadar glukosa darah (*glucose dependent*) (PERKENI, 2015).

5) Penghambat SGLT-2

Obat golongan penghambat SGLT-2 merupakan obat antidiabetes oral jenis baru yang menghambat reabsorpsi glukosa di tubuli distal ginjal dengan cara menghambat transporter SGLT-2. Obat yang termasuk golongan ini antara lain: Canagliflozin, Empagliflozin, Dapagliflozin, dan Inpragliflozin (PERKENI, 2015).

2.4 Glibenklamid

Glibenklamid adalah salah satu obat antidiabetes golongan sulfonilurea generasi II. Obat ini digunakan pada dosis yang sangat kecil dibandingkan bahan-bahan obat anti diabetes lain; yaitu antara 2,5-20 mg sehari (Katzung, 2002). Glibenklamid diindikasikan untuk pengobatan diabetes melitus tipe II ringan hingga sedang dengan efek anti diabetes cukup kuat (Siswandono, 2000).



Gambar 2.3 Struktur Kimia Glibenklamid

(Sumber: *Pharmacopeia Forum: Volume No.27(4) Page 2735*).

Glibenklamid memiliki durasi aksi yang panjang dan cukup diberikan sekali sehari. Glibenklamid mempunyai potensi 200 kali lebih kuat dari tolbutamid, mempunyai masa paruh sekitar 4 jam. Metabolisme glibenklamid ini terjadi di hepar, pada pemberian dosis tunggal hanya 25% metabolitnya diekskresi melalui urin, sisanya melalui empedu karena semua sulfonilurea dimetabolisme di hepar dan diekskresi melalui ginjal, sediaan ini tidak boleh diberikan pada pasien dengan gangguan fungsi hepar atau ginjal yang berat (Ganiswara *et al.*, 2007).

2.5 Metode Pengukuran Glukosa Darah

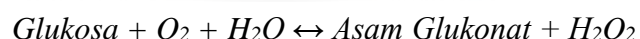
Menurut Widowati *et al.* (1997), secara umum metode penentuan glukosa darah dapat ditentukan dengan beberapa cara, yaitu:

a. Metode Kondensasi Gugus Amin

Prinsip metode kondensasi gugus amin yaitu dengan menggunakan pereaksi orto-toluidin. Prinsipnya aldosa dikondensasi dengan orto-toluidin dalam suasana asam dan menghasilkan larutan berwarna hijau setelah dipanaskan. Kadar glukosa dapat ditentukan sesuai dengan intensitas warna yang terjadi, diukur secara spektrofotometri.

b. Metode Enzimatik

Prinsip metode enzimatik yaitu dengan menggunakan enzim glukosa oksidase (GOD). Metode enzimatik bersifat lebih spesifik karena enzim hanya mengukur kadar glukosa. Dengan adanya oksigen atau udara, glukosa dioksidasi oleh enzim GOD menjadi asam glukoronat disertai pembentukan H_2O_2 . Dengan adanya enzim peroksidase (POD), H_2O_2 akan membebaskan O_2 yang mengoksidasi akseptor kromogen yang sesuai serta memberikan warna yang sesuai pula. Kadar glukosa darah ditentukan berdasarkan intensitas warna yang terjadi, diukur secara spektrofotometri, menurut persamaan reaksi:



c. Metode Reduksi

Prinsip metode reduksi adalah kadar glukosa darah ditentukan secara reduksi dengan menggunakan suatu oksidan ferisianida yang direduksi menjadi

ferosianida oleh glukosa dalam suasana basa dengan pemanasan. Kemudian kelebihan garam feri ditinasi secara iodometri.

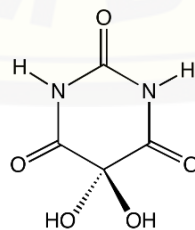
d. Metode Pemisahan Glukosa

Glukosa dipisahkan dalam keadaan panas dengan antron atau timol dalam suasana asam sulfat pekat. Glukosa juga dapat dipisahkan secara kromatografi, tetapi pemisahan glukosa ini jarang dilakukan.

2.6 Tinjauan Tentang Aloksan

Pengujian efektivitas antidiabetes pada hewan percobaan DM tipe I dan DM tipe II dapat dibuat melalui beberapa cara yaitu pankrektomi atau dengan zat yang bertindak sebagai induktor (diabetogenik), misalnya dengan streptozotisin, aloksan, asam dehidroaskorbat, asam dialurat, asam ksanturenat; induksi virus, ataupun secara genetika (Nugroho, 2006)

Diabetogenik yang lazim digunakan adalah aloksan, karena senyawa ini dengan cepat menimbulkan hiperglikemia yang permanen dalam waktu dua atau tiga hari. Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin; 5,6-dioksituasil) secara selektif merusak sel β dari pulau langerhans dalam pankreas yang mensekresi hormon insulin (Suharmiati, 2003). Sebagai diabetogenik, aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal dan subkutan. Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kg BB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya. Efek diabetogenik aloksan bersifat antagonis terhadap glutathion yang bereaksi dengan gugus SH. Aloksan bereaksi dengan merusak substansi esensial di dalam sel β pankreas sehingga menyebabkan berkurangnya granula-granula pembawa insulin di dalam sel β pankreas (Nugroho, 2006).



Gambar 2.4 Struktur Kimia Aloksan

(Sumber: *Merck's Index*, 11th Edition, Page 281).

Beberapa hipotesis tentang mekanisme aksi yang telah diajukan antara lain: pembentukan khelat terhadap Zn, interferensi dengan enzim-enzim sel serta deaminasi dan dekarboksilasi asam amino. Penelitian terhadap mekanisme kerja aloksan secara *in vitro* menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria sel β pankreas yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria ini mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal matinya sel (Suharmiati, 2003).

2.7 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Siplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang tidak larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dan simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai. Kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1994).

Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flafonoid, dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan serta stabilitas senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat dan derajat keasaman (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1994). Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung dalam simplisia, akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Faktor utama yang perlu dipertimbangkan pada pemilihan pelarut adalah selektivitas, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan penyari, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanan (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

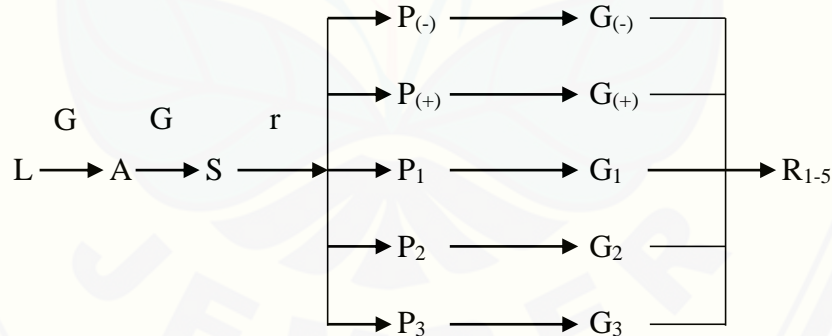
BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis, Tempat dan Waktu Penelitian

Uji aktivitas anti diabetes ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach* L.) pada mencit jantan galur Balb-C ini merupakan *True Experimental Laboratories*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia Bagian Biologi Farmasi dan Laboratorium Biomedik Fakultas Farmasi Universitas Jember mulai bulan Oktober 2017.

3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *The Pretest and Posttest Control Group Design*. Hewan coba diukur kadar glukosa darahnya sebelum dan setelah diberi perlakuan. Rancangan penelitian ini terbagi atas kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Rancangan penelitian ditunjukkan pada gambar 3.1.



Gambar 3.1. Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

- L : Populasi Mencit
- G : Pengukurang kadar glukosa darah awal mencit
- A : Mencit diinduksi aloksan (210 mg/kg BB)
- S : Sampel mencit diabetes (kadar glukosa darah lebih dari rentang kadar glukosa normal mencit 62,8 – 176 mg/dL)
- R : Randomisasi
- P₍₋₎ : Perlakuan berupa pemberian CMC Na 1% dalam aquades sebagai kontrol Negatif

- P₍₊₎ : Perlakuan berupa pemberian suspensi glibenklamid dalam CMC Na 1% sebagai kontrol positif
- P₁ : Perlakuan berupa pemberian suspensi ekstrak etanol daun mindi (200 mg/kg BB) dalam CNC Na 1% 1 kali sehari selama 14 hari
- P₂ : Perlakuan berupa pemberian suspensi ekstrak etanol daun mindi (400 mg/kg BB) dalam CNC Na 1% 1 kali sehari selama 14 hari
- P₃ : Perlakuan berupa pemberian suspensi ekstrak etanol daun mindi (800 mg/kg BB) dalam CNC Na 1% 1 kali sehari selama 14 hari
- G₍₋₎ : Pengukuran kadar glukosa darah akhir pada kelompok kontrol negatif
- G₍₊₎ : Pengukuran kadar glukosa darah akhir pada kelompok kontrol positif
- G₁ : Pengukuran kadar glukosa darah akhir pada kelompok perlakuan 1
- G₂ : Pengukuran kadar glukosa darah akhir pada kelompok perlakuan 2
- G₃ : Pengukuran kadar glukosa darah akhir pada kelompok perlakuan 3
- R₁₋₅ : Replikasi sebanyak 5 kali

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach* L.).

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah kadar glukosa darah mencit galur Balb-C jantan.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah hewan coba, cara ekstraksi, prosedur pengujian aktivitas anti diabetes secara *in vivo* pada mencit galur Balb-C jantan.

3.4 Definisi Operasional

- Daun mindi (*Melia azedarach* L.) diperoleh dari daerah Kabupaten Nganjuk.
- Hewan coba dikatakan diabetes apabila kadar glukosa darah melebihi rentang glukosa normal pada mencit, yaitu 62,8 – 176 mg/dL. (Mitruka *et al.*, 1977).

- c. Ekstrak etanol daun mindi dikatakan memiliki aktivitas sebagai anti diabetes apabila memiliki perbedaan penurunan kadar glukosa darah yang signifikan terhadap kontrol negatif ($p < 0,05$).

3.5 Bahan dan Alat yang Digunakan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan adalah maserator, rotary evaporator, water bath, neraca analitik digital, alat-alat gelas, alat suntik, sonde oral, *GlucodrTM Blood Glucose Meter* AGM-2100, strip *GlucodrTM*, dan gunting.

3.5.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun mindi (*Melia azedarach* L.) diperoleh dari daerah Kabupaten Nganjuk, glibenklamid, aloksan, etanol 70%, aquades, CMC Na 1%, dan NaCl 0,9%.

3.5.3 Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan mencit galur Balb-C jantan umur 2-3 bulan dengan berat 20-30 gram, sehat dan kadar glukosa awal 62,8-176 mg/dL.

3.6 Prosedur

3.6.1 Pembuatan Simplisia Daun Mindi

Daun mindi dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 14 hari, dirajang, dan diblender. Serbuk yang diperoleh ditimbang untuk proses selanjutnya.

3.6.2 Pembuatan Ekstrak Daun Mindi

Serbuk simplisia daun mindi sebanyak 400 gram, diekstraksi secara remaserasi sebanyak 2 kali dengan pelarut etanol 70%. Serbuk simplisia daun mindi direndam dalam etanol 70% sebanyak 7,5 kali dari berat serbuk simplisia. Maserator ditutup rapat, diaduk lalu biarkan selama 24 jam. Hasil maserat kemudian dimaserasi ulang dengan etanol 70% sebanyak 3 liter selama 24 jam. Ekstrak cair disaring dengan menggunakan corong buchner. Ekstrak cair yang

dihasilkan kemudian dipekatkan dengan rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak kental (g), dan dilanjutkan dengan pengeringan sisa pelarut yang terdapat pada ekstrak menggunakan oven pada suhu 40°C.

3.6.3 Pembuatan Larutan Aloksan 2%

Aloksan monohidrat 131,25 mg dilarutkan dalam NaCl 0,9% sampai 6,25 ml. Kemudian suspensi diinjeksikan pada mencit secara intraperitoneal dengan dosis 210 mg/kg BB.

3.6.4 Pembuatan Suspensi CMC Na 1%

CMC Na sebanyak 1 gram ditaburkan di atas 20 ml air panas (20 kali berat CMC Na) sampai mengembang. Kemudian diaduk kuat sampai terbentuk massa yang kental dan ditambah dengan air hingga volume 100 ml.

3.6.5 Pembuatan Suspensi Glibenklamid 0,00065%

Sebanyak 1,092 mg serbuk tablet glibenklamid disuspensikan ke dalam larutan CMC Na 1% sampai 14 ml. Kemudian diberikan pada mencit kelompok positif dengan dosis 0,65 mg/kg BB secara per oral (dikonversi dari dosis manusia yaitu 5 mg/kg BB) (Muchid *et al.*, 2005).

3.6.6 Pembuatan Suspensi Uji Ekstrak Daun Mindi

Dibuat tiga konsentrasi dosis, yaitu konsentrasi 2% untuk dosis 200 mg/kg BB (200 mg ekstrak dalam 10 ml suspensi CMC Na 1%), konsentrasi 4% untuk dosis 400 mg/kg BB (400 mg ekstrak dalam 10 ml suspensi CMC Na 1%), konsentrasi 8% untuk dosis 800 mg/kg BB (800 mg ekstrak dalam 10 ml suspensi CMC Na 1%).

3.6.7 Pengujian Aktivitas Antidiabetes pada Mencit

Semua mencit dipuaskan selama \pm 16-18 jam dan tetap diberi minum. Kemudian ditimbang dan diukur kadar glukosa darah normal, masing-masing diberi tanda pengenal pada bagian ekornya. Mencit diinduksi dengan aloksan monohidrat

dengan dosis 210 mg/kg BB secara intraperitoneal. Setelah 30 menit, mencit diberi makan dan minum seperti biasa dan dipelihara selama 3 hari. Pada hari ke-3 dilakukan pengukuran kadar glukosa darah mencit. Hewan coba dipilih yang memiliki kadar glukosa darah lebih dari kadar glukosa darah normal mencit yaitu 176 mg/dL.

Hewan coba dibagi dalam 5 kelompok, kelompok perlakuan diberi suspensi ekstrak etanol daun mindi 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB, 800 mg/kg BB, kontrol negatif hanya diberi suspensi CMC Na 1% dan kontrol positif diberi suspensi glibenklamid 1,3 mg/kg BB secara per oral. Masing-masing kelompok diberi perlakuan sekali sehari selama 14 hari dan selanjutnya kadar glukosa dalam darah ditentukan pada hari ke-15.

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan melukai ujung ekor mencit menggunakan gunting/scalpel hingga mengeluarkan darah. *Test strips GlucoDrTM* ditempelkan pada darah mencit, dan kadar glukosa dalam darah diukur menggunakan alat Glucose Test (Yulinah *et al.*, 2001; Sunarsih *et al.*, 2007). Prinsip kerja dari alat *GlucoDrTM Blood Glucose Meter AGM-2200* yaitu secara enzimatik, dimana enzim GOD diimobilisasi pada elektrode emas dan mengoksidasi glukosa hingga menghasilkan elektron yang dikirim ke elektrode emas. *GlucoDrTM Glucose Testing System* mengubah arus menjadi konsentrasi glukosa (mg/dL) dan menampilkan nilai kadar glukosa di layar.

3.7 Analisis Data

Data yang diperoleh dari metode ini berupa persen penurunan kadar glukosa darah puasa dari semua kelompok, baik kontrol positif, kontrol negatif, dan kelompok uji setelah pemberian sediaan uji selama 14 hari. Data tersebut selanjutnya dihitung secara statistik dengan *One Way ANOVA* untuk mengetahui apakah penurunan kadar glukosa darah tersebut bermakna atau tidak dan melihat apakah pengaruh lama pemberian terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit diabetes. Apabila hasil uji *One Way ANOVA* memberikan hasil adanya perbedaan yang bermakna, maka bisa dilanjutkan dengan uji LSD untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan bermakna (Sudjana, 2000).

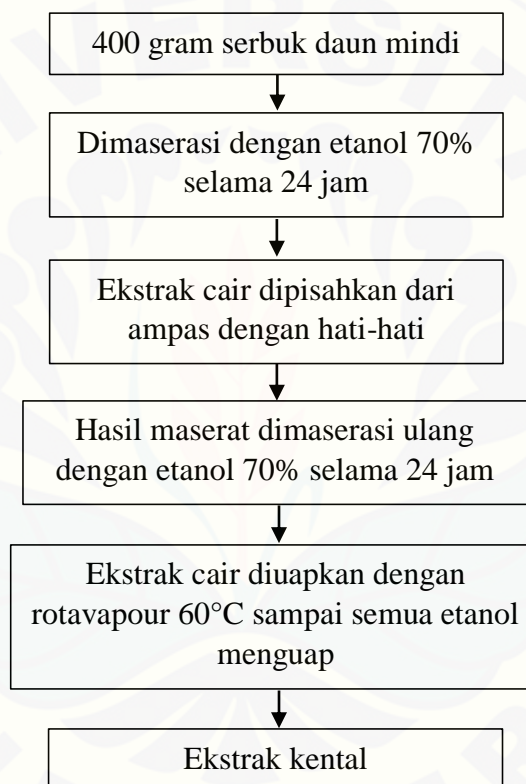
Perhitungan penurunan kadar glukosa darah:

% penurunan kadar glukosa darah

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

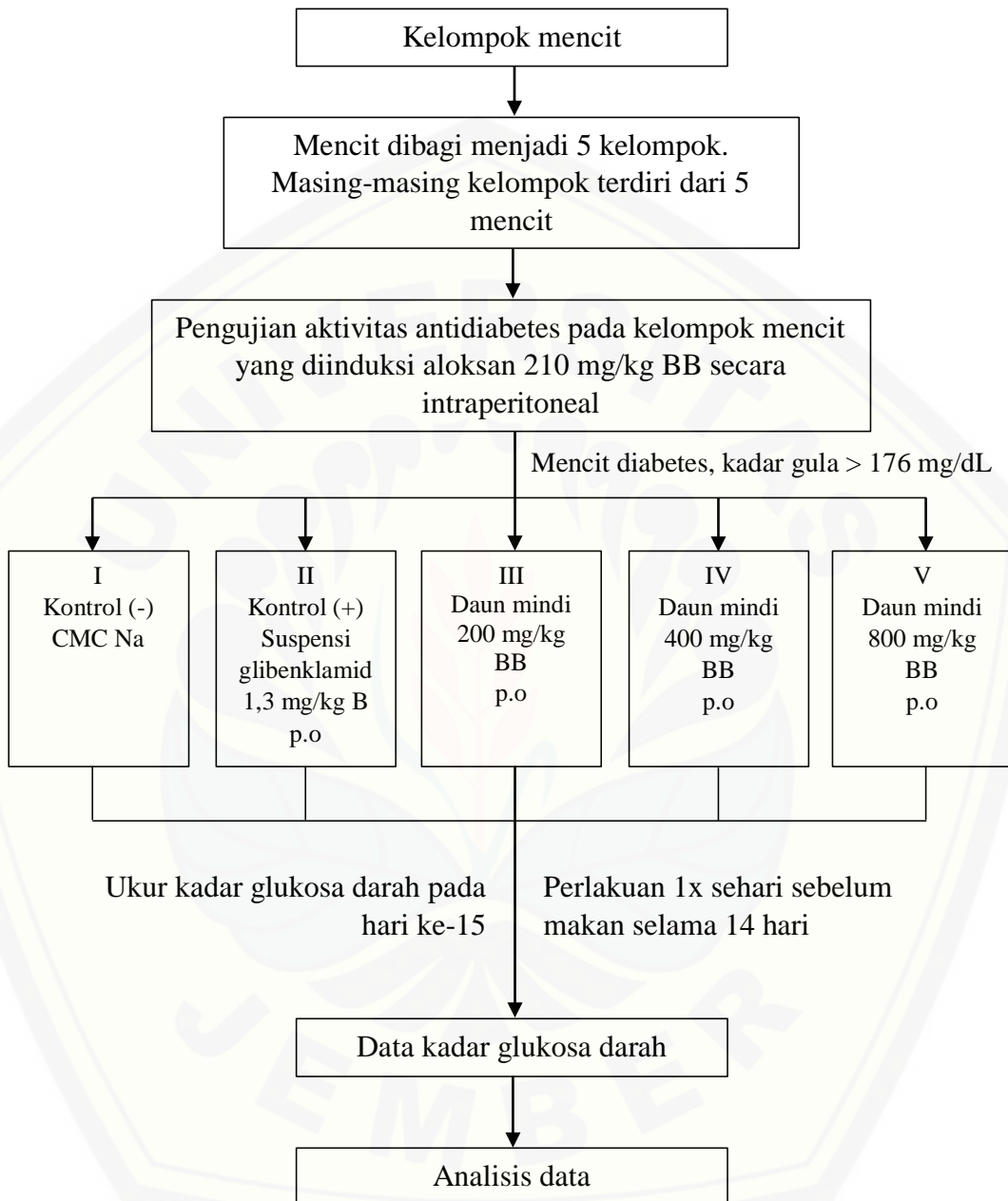
3.8 Alur Penelitian

3.8.1 Pembuatan Ekstrak Daun Mindi (*Melia azedarach* L.)



3.2 Diagram Alir Pembuatan Ekstrak Daun Mindi (*Melia azedarach* L.)

3.8.2 Pengujian Aktivitas Anti Diabetes



3.3 Diagram Alir Pengujian Aktivitas Anti Diabetes

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, dapat disimpulkan bahwa:

- a. Ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach*) memiliki aktivitas sebagai antidiabetes.
- b. Aktivitas antidiabetes antara semua kelompok dosis daun mindi yang berbeda memberikan aktivitas yang berbeda dan semakin besar dosis ekstrak daun mindi, maka semakin besar pula aktivitas penurunan kadar glukosa darah.

5.2 Saran

Dari hasil penelitian yang diperoleh, perlu dilakukan penelitian tentang:

- c. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis toksik dan dosis letal dari ekstrak etanol daun mindi (*Melia azedarach*) yang berguna sebagai obat antidiabetes.
- d. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas antidiabetes, baik berupa fraksi ataupun isolat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, M., Qureshi, R., Khan, M. A., Zafar, M. 2009. Traditional Herbal Remedies Used for The Treatment of Diabetes From District Attock (Pakistan). *Pak. J. Bot*, 41 (6): 2777-2782.
- Al-Badrani, B. A. 2002. Toxicological and Pharmacological Effects of Sibabhah (*Melia azedarach*) and Ornamental Zarur (*Cotoneaster prostratae*) Fruits. *Ph.D. Dissertation. College of Veterinary Medicine. University of Mosul, Iraq.*
- American Diabetes Association. 2015. *Gestational Diabetes*. <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/gestational/what-is-gestational-diabetes.html> [18 Juli 2015]
- Asmaliyah., Sumardi., Musyafa. 2010. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Nicolaia atropurpurea* Val. Terhadap Serangga Hama *Spodotera litura* Fabricus (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Jurnal Penelitian Hutan Tanaman*, Vol. 7 (5): 253-256.
- Baker, J. H., Lindsey, J. R., Weisbroth, S. H. 1980. *The Laboratory Rat Vol 2*. Academic Press, New York.
- Budavari, S., O'Neil, M. J., Smith, A., Heckelman, P. E. 1989. *The Merck Index Eleventh Edition*. Merck & Co, New Jersey.
- Centers for Disease and Prevention. 2012. *Diabetes Report Card 2012*. US Department of Health and Human Service, Atlanta.
- Chaturvedi, P., Batisane, B. 2005. Acute Effect of Some Organic Solvent Extracts of *Melia azedarach* Fruit on Glucose Levels in Albino Rats. *J. Appl. Zool. Res.* 16 (2): 238-241.
- Chaturvedi, P., Segale, M. 2007. Effects of Different Types of Water Decoctions of Fruit of *Melia azedarach* on Glucose Induced Hyperglycemia, Liver Transaminases, Lipid Peroxidation and Reduced Glutathione in Normal Rats. *Scientific Research and Essay*, 2 (12): 508-514.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1994. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.

- Dipiro, J. T. 2002. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. Mc Graw Hill, New York.
- Ganiswara, S. G. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. FK-UI, Jakarta.
- Greenspan, F. S., Baxter, J. D. 2000. *Endokrinologi Dasar dan Klinik Edisi 4*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Gunawan, S. S. R., Nafrialdi., Elysabeth. 2009. *Farmakologi dan Terapi Edisi 5*. Gaya Baru, Jakarta.
- Guyton, A. C., Hall, J. E. 2007. *Fisiologi Kedokteran*. Terjemahan: Irawati. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Han, B., Zhou, P., Cui, L., Fu, J., 2003. Characterization of The Key Aromatic Constituents in Tea Flowers of Elite Chinese Tea Cultivars. *Journal of Tea Science*, 6: 31-36.
- Hapsari, D. R. 2008. *Uji Efek Penurunan Kadar Glukosa Darah Ekstrak Etil Asetat Daun Seledri (Apium graveolens L.) Pada Kelinci Jantan*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. [Skripsi]
- Hossain, P., Kavar, B., El-Nahas, M. 2007. Obesity and Diabetes in the Developing Country World – A Growing Challenge. *New Engl. J. Med*, 356: 213-215.
- Jabeen, K., Javaid A., Ahmad, E., Athar, M. 2010. Antifungal Compounds From *Melia azedarach* Leaves for Management of *Ascochyta rabiei*, The Cause of Chickpea Blight. *Natural Product Research*, 1 (12): 1-13.
- Johnson, M. 1998. *Diabetes, Terapi dan Pencegahannya*. Indonesia Publishing House, Bandung.
- Joshi, R. S., Parikh, M. R., Das, K. A. 2007. Insulin History: Biochemistry, Physiology and Pharmacology. *Supplement of Japi*, 55: 19-25.
- Khan, M. F., Rawat, A. K., Pawar, B., Gautam, S., Srivastava, A. K., Negi, D. S. 2014. Bioactivity-guided Chemical Analysis of *Melia azedarach* L. (Meliaceae), Displaying Antidiabetic Activity. *Fitoterapia*, 98: 98-103.
- Kolář, P., Shen, J. W., Tsuboi, A., Ishikawa, T. 2002. Solvent Selection for Pharmaceuticals. *Fluid Phase Equilibria*, 194-197: 771-782.
- Katzung, B. G. 2002. *Basic and Clinical Pharmacology*, 474-482. Diterjemahkan oleh Bagian Farmakologi Kedokteran UNAIR, 8th Edition, buku 2. Penerbit Salemba Medika, Jakarta.

- Kumar, B. P., Kannana, M. M., Lanyaa, B., Suthakaranb, R., Quinec, D. S. 2011. GC-MS Analysis of Methanolic Extract of *Litsea decanensis* Gamble and Its Free Radical Scavenging Activity. *Journal of Pharma Res*, 4 (1): 100-103.
- Kumar, P., Clark, M. 2002. Diabetes Mellitus and Other Disorders of Metabolism. *In: Clinical Medicine*, 2: 1069-1071. WB Saunders, London.
- Kusumawardhani, I. 2005. *Uji Potensi Ekstrak Labu Siam (Sechium udele) Sebagai Antiabetes: Kajian Terhadap Glukosa Darah, Radikal Bebas, dan Aktivitas Transaminase Hepar Pada Tikus Diabetes*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Unversitas Brawijaya, Malang. [Skripsi]
- Larner, J. 1985. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. MacMillan, New York.
- Mabberley, D. J. 1984. A Monograph of *Melia* in Asia and the Pacific: The History of white Chedar and Persian Lilac. *The Gardens Bulletin Singapore* 37 (1): 49-64.
- Marianne., Yuandani., Rosnani. 2011. Antidiabetic Activity From Ethanol Extract of Kluwih's Leaf (*Artocarpus camansi*). *Jurnal Natural*, 2 (2): 64-68.
- Martin, P., Gimelfarb, L., Hui-Chen, L., Dias, B. E., Fahmy, F., White, J. 2009. Identification of dihydromaltol (2,3-dihydro-5-hydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one) in Ryazhenka Kefir and Comparative Sensory Impact Assessment of Related Cycloenolones. *Journal of Agric and Food Chem*, 11 (11): 42-47.
- Mitruka, B. M., Rawnsey H, M. 1977. *Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimenal Animal*, 118-119. Masson Publ, New York.
- Muchid, A., Umar, F., Ginting, N. M., Basri, C., Wahyuni, R., Helmi, R., Istiqomah, S. N., Lestari, S. B., Syamsudin, F., Pamela, D. S., Astuti, F. B., Retnohidayanti, D., Masrul. 2005. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Melitus*. Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Mulyono, K. 2009. *Bahaya Obesitas*.
http://medicastore.com/seminar/94/Bahaya_Obesitas.html [4 September 2015]
- Mycek, M. J., Harvey, R. A., Champe, P. C. 2001. *Farmakologi: Ulasan Bergambar Edisi 2*. Penerjemah: Agoes, A. Widya Medika, Jakarta.

- Nugroho, A. E. 2006. Hewan Percobaan Diabetes Melitus: Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*, 7: 378-382.
- Pankaj. P. P., Varma, M. C. 2013. Potential Role of *Spirulina Platensis* In Maintaining Blood Parameters In Alloxan Induced Diabetic Mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol 5 (4): 451-456.
- PERKENI (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia). 2015. *Konsesus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*. PB Perkeni, Jakarta.
- Rang, H. P., Dale, M. M., Ritters, J. M. 1991. The Endocrine Pancreas and the Control of Blood Glucose. In: *Barbara Simmons, Pharmacology 3rd Edition*. Longman Group LTD, United Kingdom.
- Rao, S., Ahmed, M. F., Ibrahim, M. 2012. Hepatoprotective Activity of *Melia azedarach* Leaf Extract Against Simvastatin Induced Toxicity in Rat. *Journal of Applied Phamacuetical Science*, 02 (07): 144-148.
- Rukmana, R. 1995. *Temulawak: Tanaman Rempah dan Obat*. Kanisius, Yogyakarta.
- Sen, A., Batra, A. 2012. Chemical Composition of Methanol Extract of The Leaves of *Melia Azedarach* L. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 5 (3): 42-45.
- Siswandono, S. B. 2000. *Kimia Medisinal 2, Edisi Kedua*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Srinivasan, K., Ramarao, P. 2007. Animal Models in Type 2 Diabetes. *Indian J Med Res*, 125: 451-472.
- Sudha, P., Remya, R., Smita, Z., Shobba, B., Ameeta, R. K. 2011. Evaluation of Traditional Indian Antidiabetic Medicinal Plants for Human Pancreatic Amylase Inhibitory Effect In Vitro. *Evidence-Based Complementary and Alternve Medicine*, 11: 3-10.
- Sudjana. 2000. *Metode Statistika*. Tarsito, Bandung.
- Suharmiati. 2003. Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Melitus Tumbuhan Obat. *Cermin Dunia Kedokteran*, 140: 20-28.
- Sunarsih, E. S., Djatmika., Utomo, R. S. 2007. Pengaruh Pemberian Infusa Umbi Gadung (*Dioscorea hispida* Dennst.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan Diabetes Yang Diinduksi Aloksan. *Majalah Farmasi Indonesia*, 18 (1): 29-33.

- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan And Streptozotocin Action in β Cells of The Rat Pancreas. *Physiology Research*, 50: 536-554.
- Thareja, S., Aggarwal, S., Bhardwaj, S. M., Kumar, M. 2012. Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitors: A Molecular Level Legitimate Approach For The Management of Diabetes mellitus. *Med Res Rev*, 32: 459-517.
- Unal, D., Kara, A., Aksa, S., Altunkaynak, Z. B., Yildirim, S. 2012. Insulin Hormone: Mechanism and Effects on the Body and Relationship with Central Nervous System. *Dicle Medical Journal*, 39 (2): 310-315.
- Walde, S. S., Dohle, C., Schott-Ohly, P., Gleichmann, H. 2002. Molecular Target Sctructures in Alloxan-induced Diabetes in Mice. *Life Sciences*, 71: 1681-1694.
- Widowati, L., Dzulkarnain, B, S. 1997. Tanaman Obat Untuk Diabetes Melitus. *Cermin Dunia Kedokteran*, 116: 53-55.
- Wijayakusuma, H. M. H., Dalimartha, S. 1994. *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*. Pustaka Kartini, Jakarta.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., King, H. 2004. Global Prevalence of Diabetes. International Diabetes Federation, *Diabetes Care: World Health Organization (WHO)*, 5 (5): 1047-1053.
- WHO. 2015. *Traditional Medicine*. http://www.who.int/topics/traditional_medicine/en/ [30 Agustus 2015]
- World Health Organization Department International Diabetes Federation. 2006. *Definiton and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycemia*.
- Yulinah, E., Sukrasno., Fitri, M. A. 2001. Aktivitas Antidiabetika Ekstrak Etanol Herba Sambiloto. *JMS*, 6 (1): 13-20.
- Zhao, Y., Tang, Z., Shen, A., Tao, T., Wan, C., Zhu, X., Huang, J., Zhang, W., Xia, N., Wang, S., Cui, S., Zhang, D. 2015. The Role of PTP1B O-GlcNAcylation in Hepatic Insulin Resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 22856-22869.

LAMPIRAN

LAMPIRAN A. Cara Perhitungan Rendemen

berat simplisia yang digunakan : 400 mg
 berat ekstrak kental : 34,14 mg
 berat rendemen yang didapat : $\frac{34,14 \text{ mg}}{400 \text{ mg}} \times 100\% = 8,54\%$

LAMPIRAN B. Cara Perhitungan Dosis Aloksan

Misal : berat mencit 20 mg, maka :

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

berat rata-rata mencit adalah 25 mg, maka :

vol. sediaan : 0,2 ml per 20 gramBB mencit

$$0,25 \text{ ml} \times 25 \text{ mencit} = 6,25 \text{ ml}$$

berat aloksan yang ditimbang jika membuat 6,25 ml sediaan:

$$\frac{4,2 \text{ mg}}{0,2 \text{ ml}} \times 6,25 \text{ ml} = 131,25 \text{ mg}$$

LAMPIRAN C. Cara Perhitungan dan Pemberian Dosis

C. 1 Kelompok Kontrol Negatif (CMC Na 10 mL/kgBB), sediaan 1%

Misal : sediaan mucilago CMC Na: 1% = 10 mg/mL

dosis CMC Na 10 mL/kgBB

berat badan mencit 20 gram, maka:

$$\text{vol. sediaan} : \frac{20 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 10 \text{ mL} = 0,2 \text{ mL}$$

Replikasi	BB hari ke-1 (g)	Volume sediaan (mL)	BB hari ke-14 (g)	Volume sediaan (mL)
1	33,5	0,34	35	0,35
2	25,9	0,26	24,4	0,25
3	25,8	0,26	26,8	0,27

C. 2 Kelompok Kontrol Positif (Glibenklamid 0,65 mg/kgBB), sediaan 0,00065%

Dosis terapi glibenklamid pada manusia 5 mg/kgBB (Dipiro *et al.*, 2008)

berat tablet : 602,3 mg
dosis glibenklamid dalam tablet : 500 mg
dosis glibenklamid per 1 mg tablet : $\frac{500 \text{ mg}}{602,3 \text{ mg}} \times 1 \text{ mg} = 0,83 \text{ mg}$
konversi dosis pada mencit : $5 \text{ mg/kgBB} \times 0,026$
0,013 mg / 20 gramBB mencit
0,65 mg/kgBB

Misal : sediaan suspensi glibenklamid: 0,00065% = 0,065 mg/mL

berat badan mencit 20 gram, maka:

dosis : $\frac{0,65 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} = 0,013 \text{ mg}$

jumlah : jml hewan \times lama pemberian \times dosis
 $5 \times 14 \text{ hari} \times 0,013 \text{ mg}$
0,91 mg

vol. 1 hewan uji : 0,2 mL / 20 gramBB mencit

vol. sediaan : $\frac{0,2 \text{ mL}}{0,013 \text{ mg}} \times 0,91 \text{ mg} = 14 \text{ mL}$

berat glibenklamid yang ditimbang jika membuat 25 mL sediaan:

tablet ditimbang untuk 14 ml : $\frac{1 \text{ mg}}{0,83 \text{ mg}} \times 0,91 \text{ mg} = 1,096 \text{ mg}$

tablet ditimbang untuk 25 ml : $\frac{1,096 \text{ mg}}{14 \text{ mL}} \times 25 \text{ mL} = 1,96 \text{ mg}$

Replikasi	BB hari ke-1 (g)	Volume sediaan (mL)	BB hari ke-14 (g)	Volume sediaan (mL)
1	24,3	0,25	23,3	0,24
2	20,7	0,21	21,5	0,22
3	23,6	0,24	24,1	0,24

C. 3 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia azedarach*) 200 mg

Misal : sediaan suspensi ekstrak: 2% = 20 mg/mL

dosis ekstrak 200 mg/kgBB

berat badan mencit 20 gram, maka:

$$\text{dosis} : \frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} = 4 \text{ mg}$$

jumlah : jml hewan \times lama pemberian \times dosis

$$5 \times 14 \text{ hari} \times 4 \text{ mg}$$

$$280 \text{ mg}$$

vol. 1 hewan uji : 0,2 mL / 20 gramBB mencit

$$\text{vol. sediaan} : \frac{0,2 \text{ mL}}{4 \text{ mg}} \times 280 \text{ mg} = 14 \text{ mL}$$

berat ekstrak yang ditimbang jika membuat 25 mL sediaan:

$$\frac{280 \text{ mg}}{14 \text{ mL}} \times 25 \text{ mL} = 500 \text{ mg}$$

Replikasi	BB hari ke-1 (g)	Volume sediaan (mL)	BB hari ke-14 (g)	Volume sediaan (mL)
1	28,7	0,29	29,7	0,30
2	37,3	0,37	29,1	0,29
3	26,5	0,27	28,5	0,29
4	25,9	0,26	24,2	0,24
5	22,8	0,23	20,8	0,21

C. 4 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia azedarach*) 400 mg

Misal : sediaan suspensi ekstrak: 4% = 40 mg/mL

dosis ekstrak 400 mg/kgBB

berat badan mencit 20 gram, maka:

$$\text{dosis} : \frac{400 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} = 8 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{jumlah} & : \text{jml hewan} \times \text{lama pemberian} \times \text{dosis} \\ & 5 \times 14 \text{ hari} \times 8 \text{ mg} \\ & 560 \text{ mg} \end{aligned}$$

$$\text{vol. 1 hewan uji} : 0,2 \text{ mL} / 20 \text{ gramBB mencit}$$

$$\text{vol. sediaan} : \frac{0,2 \text{ mL}}{8 \text{ mg}} \times 560 \text{ mg} = 14 \text{ mL}$$

berat ekstrak yang ditimbang jika membuat 25 mL sediaan:

$$\frac{560 \text{ mg}}{14 \text{ mL}} \times 25 \text{ mL} = 1000 \text{ mg}$$

Replikasi	BB hari ke-1 (g)	Volume sediaan (mL)	BB hari ke-14 (g)	Volume sediaan (mL)
1	26	0,26	25,2	0,25
2	27	0,27	27,9	0,28
3	27,1	0,27	27,5	0,28

C. 5 Kelompok Uji Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia azedarach*) 800 mg

Misal : sediaan suspensi ekstrak: 8% = 20 mg/mL

dosis ekstrak 800 mg/kgBB

berat badan mencit 20 gram, maka:

$$\text{dosis} : \frac{800 \text{ mg}}{1000 \text{ gram}} \times 20 \text{ gram} = 16 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{jumlah} & : \text{jml hewan} \times \text{lama pemberian} \times \text{dosis} \\ & 5 \times 14 \text{ hari} \times 16 \text{ mg} \\ & 1120 \text{ mg} \end{aligned}$$

vol. 1 hewan uji : 0,2 mL / 20 gram BB mencit

vol. sediaan : $\frac{0,2 \text{ mL}}{16 \text{ mg}} \times 1120 \text{ mg} = 14 \text{ mL}$

berat ekstrak yang ditimbang jika membuat 25 mL sediaan:

$$\frac{1120 \text{ mg}}{14 \text{ mL}} \times 25 \text{ mL} = 2000 \text{ mg}$$

Replikasi	BB hari ke-1 (g)	Volume sediaan (mL)	BB hari ke-14 (g)	Volume sediaan (mL)
1	31,5	0,32	21,6	0,22
2	24	0,24	27,7	0,28
3	18,9	0,19	21,9	0,22
4	27,9	0,28	29,9	0,30

LAMPIRAN D. Data Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia azedarach*) (200 mg, 400 mg, 800 mg) Pada Mencit Diabetes

D. 1 Data Kelompok Kontrol Negatif (CMC Na 1%)

Replikasi	Hari ke-0		Hari ke-15		% Penurunan
	BB	Kadar Glukosa	BB	Kadar Glukosa	
1	33,5	254	34,7	281	-10,63
2	25,9	208	22,9	212	-1,92
3	25,8	294	25,5	344	-17,01
Kadar Rata-rata		252		279	-9,85
SD		43,03		66,02	7,57

D. 2 Data Kelompok Kontrol Positif (Glibenklamid 0,65 mg/kgBB)

Replikasi	Hari ke-0		Hari ke-15		% Penurunan
	BB	Kadar Glukosa	BB	Kadar Glukosa	
1	24,3	574	24,8	224	60,97
2	20,7	564	22,5	231	59,04
3	23,6	504	24,8	181	64,08
Kadar Rata-rata		547,33		212	61,36
SD		37,86		27,07	2,54

D. 3 Data Hasil Uji Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia azedarach*) Dosis 200 mg

Replikasi	Hari ke-0		Hari ke-15		% Penurunan
	BB	Kadar Glukosa	BB	Kadar Glukosa	
1	28,7	491	27,3	402	18,12
2	37,3	193	30	160	17,09
3	26,5	203	28,6	174	14,28
4	25,9	220	24,4	183	16,81
5	22,8	532	21,2	420	21,05
Kadar Rata-rata		327,80		267,80	17,47
SD		168,60		131,13	2,45

D. 4 Data Hasil Uji Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia azedarach*) Dosis 400 mg

Replikasi	Hari ke-0		Hari ke-15		% Penurunan
	BB	Kadar Glukosa	BB	Kadar Glukosa	
1	26	198	24,4	132	33,33
2	27	340	27,9	219	35,58
3	27,1	356	27	257	27,81
Kadar Rata-rata		298		202,67	32,24
SD		86,97		64,08	4,00

D. 5 Data Hasil Uji Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia azedarach*) Dosis 800 mg

Replikasi	Hari ke-0		Hari ke-15		% Penurunan
	BB	Kadar Glukosa	BB	Kadar Glukosa	
1	31,5	228	17	101	55,70
2	24	335	26,6	154	54,02
3	18,9	260	20,8	120	53,84
4	27,9	395	28,6	186	52,91
Kadar Rata-rata		304,50		140,25	54,12
SD		75,17		37,56	1,16

**LAMPIRAN E. Tabel Konversi Perhitungan Dosis Antar Jenis Hewan
(Laurence & Bacharach, 1964)**

	mencit 20 g	tikus 200 g	marmut 400 g	kelinci 1,5 kg	kera 4 kg	anjing 12 kg	manusia 70 kg
mencit 20g	1	7	12,25	27,8	64,1	124,2	387,9
tikus 200 g	0,14	1	1,74	3,9	9,2	17,8	56
marmut 400 g	0,08	0,57	1	2,25	5,2	10,2	31,5
kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1	2,4	4,5	14,2
kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	1	1,9	6,1
anjing 12 kg	0,008	0,06	0,1	0,22	0,52	1	3,1
manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,31	0,07	0,16	0,32	1

**LAMPIRAN F. Volume Maksimal Larutan Sediaan Uji yang Dapat
Diberikan pada Beberapa Hewan Uji (Ritschell, 1974)**

Jenis Hewan Uji	Volume maksimal (mL) sesuai jalur pemberian				
	i.v	i.m	i.p	s.c	p.o
mencit 20 g	0,5	0,005	1,0	0,5 – 1,0	1,0
tikus 200 g	1,0	0,1	2 – 5	2 – 5	5,0
marmut 400 g	-	0,1	1 – 2	2,5	2,5
kelinci 1,5 kg	-	0,25	2 – 5	5,0	10,0
kera 4 kg	5 – 10	0,5	10 – 20	5 – 10	20,0
anjing 12 kg	5 – 10	1,0	10 – 20	5 – 10	50,0
manusia 70 kg	10 – 20	5,0	20 – 50	10,0	100,0

LAMPIRAN G. Hasil Uji One Way ANOVA

Tests of Normality

dosis		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
perguldar	negatif	.207	3	.	.992	3	.830
	positif	.228	3	.	.982	3	.743
	200	.195	5	.200*	.967	5	.853
	400	.274	3	.	.944	3	.545
	800	.283	4	.	.937	4	.634

a. Lilliefors Significance Correction

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

Test of Homogeneity of Variances

perguldar

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.535	4	13	.091

ANOVA

perguldar					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6989.527	4	1747.382	121.020	.000
Within Groups	187.704	13	14.439		
Total	7177.231	17			

Multiple Comparisons

perguldar

LSD

(I) dosis	(J) dosis	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
negatif	positif	-51.51000*	3.10256	.000	-58.2127	-44.8073
	200	-7.61667*	2.77501	.017	-13.6117	-1.6216
	400	-22.38667*	3.10256	.000	-29.0893	-15.6840
	800	-44.26417*	2.90218	.000	-50.5339	-37.9944
positif	negatif	51.51000*	3.10256	.000	44.8073	58.2127
	200	43.89333*	2.77501	.000	37.8983	49.8884
	400	29.12333*	3.10256	.000	22.4207	35.8260
	800	7.24583*	2.90218	.027	.9761	13.5156
200	negatif	7.61667*	2.77501	.017	1.6216	13.6117
	positif	-43.89333*	2.77501	.000	-49.8884	-37.8983
	400	-14.77000*	2.77501	.000	-20.7650	-8.7750
	800	-36.64750*	2.54901	.000	-42.1543	-31.1407
400	negatif	22.38667*	3.10256	.000	15.6840	29.0893
	positif	-29.12333*	3.10256	.000	-35.8260	-22.4207
	200	14.77000*	2.77501	.000	8.7750	20.7650
	800	-21.87750*	2.90218	.000	-28.1473	-15.6077
800	negatif	44.26417*	2.90218	.000	37.9944	50.5339
	positif	-7.24583*	2.90218	.027	-13.5156	-.9761
	200	36.64750*	2.54901	.000	31.1407	42.1543
	400	21.87750*	2.90218	.000	15.6077	28.1473

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

LAMPIRAN H. Sertifikat Identifikasi Tanaman



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI**

Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046
website : <http://www.krpurwodadi.lipi.go.id>

**SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN**

No: 843 /IPH.06/HM/VI/2018

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

Nama : Mugar Bakti Handoyo
NIM : 102210101004
Instansi : Fakultas Farmasi Universitas Jember.
Tanggal material diterima : 22 Juni 2018

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

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Rosidae
Ordo : Sapindales
Family : Meliaceae
Genus : Melia
Species : *Melia azedarach* L.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965 Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 120
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVI
3. I Faridah Hanum dan L.J.G.van der Maesen. 1997(esd) PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 11; Auxilliary plants, Hal.187

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 30 Juni 2018
An. Kepala
Kepala Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan

