

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK KLOOROFORM DAUN KENITU
(*Chrysophyllum cainito L.*) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA
DARAH TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus L.*)
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

Oleh :

**NOVI YUSRO MAULIDIYAH
NIM. 13670042**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK KLOOROFORM DAUN KENITU
(*Chrysophyllum cainito L.*) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA
DARAH TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus L.*)
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

Oleh :

**NOVI YUSRO MAULIDIYAH
NIM. 13670042**



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**UJI AKTIVITAS EKSTRAK KLOOROFORM DAUN KENITU
(*Chrysophyllum cainito L.*) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA
DARAH TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattus norvegicus L.*)
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

Oleh:

**NOVI YUSRO MAULIDIYAH
NIM. 13670042**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

UJI AKTIVITAS EKSTRAK KLOROFORM DAUN KENITU
(*Chrysophyllumcainito L.*) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA
DARAH TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattusnorvegicus L.*)
YANG DIINDUKSI ALOKSAN

SKRIPSI

Oleh :

Novi Yusro Maulidiyah

NIM. 13670042

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal: 9 Januari 2018

Pembimbing I

Burhan Ma'arif ZA., M.Farm., Apt
NIDT. 19900221 20170101 1 124

Pembimbing II

Meilina Ratna Dianti S.Kep.,Ns.,M.Kep
NIP. 19820523 200912 2 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



Dr. Rohatul Muli'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

UJI AKTIVITAS EKSTRAK KLOOROFORM DAUN KENITU
(*Chrysophyllumcainito L.*) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA
DARAH TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR (*Rattusnorvegicus L.*)
YANG DIINDUKSI ALOKSAN

SKRIPSI

Oleh :
Novi Yusro Maulidiyah
NIM. 13670042

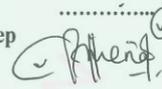
Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sarjana (S.Farm)
Tanggal : 9 Januari 2018

Penguji Utama : Dr. Yudi Purnomo, M.Kes., Apt
LB. 67012

Ketua Penguji : Meilina Ratna Dianti S.Kep.,Ns.,M.Kep
NIP. 19820523 200912 2 001

Sekretaris Penguji : Burhan Ma'arif ZA., M.Farm., Apt
NIDT. 19900221 20170101 1 124

Anggota Penguji : Abdul Hakim, M.P.I, M.Farm., Apt
NIP. 19761214 200912 1 002



Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi




Dr. Rohhafal Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini

Nama : Novi Yusro Maulidiyah

NIM : 13670042

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kesehatan dan Ilmu-ilmu Kesehatan

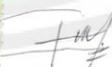
Judul Skripsi : Uji Aktivitas Ekstrak Kloroform Daun Kenitu (*Chrysophyllum Cainito L.*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus L.*) Yang Diinduksi Aloksan.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan menyantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 4 Januari 2018

Yang membuat pernyataan,




Novi Yusro Maulidiyah
NIM. 13670042

v

v

MOTO

HAPPINESS

Being happy doesn't mean That everything is perfect

It means ...

That you're decided to look beyond the imperfection



PERSEMBAHAN

Orang sukses juga pernah malas, bodoh & gagal. Tapi mereka tetap terus bergerak & mencoba. “Alhamdulillah” skripsi terselesaikan juga.

Teruntuk orang tua tercinta, tersayang, terkasih, terhormat,
Abaku Abdul Hakam Mubarak & umiku Mimmaziyah
Terimakasih karena tak pernah lelah memberikan motivasi serta memanjatkan do'a.

Saudara tersayang mas Indung, mbk Ima, dek Alu, dek Adil, dek Ifa dan dek Artsa terimakasih karena tak pernah lelah bosan memberi semangat.

Sahabat dunia antil jannah *Terserah*, teman-teman *piknik* (ifa, faiq, jauhar, ledy, ime Zahra, lisa, dafin, fadli dan okki') yang telah sudi dan ikhlas membantu dalam proses kehidupan yang keras ini dan banyak pihak yang tak bisa disebutkan satu persatu,

Terimakasih atas energi positif yang kalian berikan kepada penulis.

“Hidup adalah tentang belajar setiap detiknya disetiap kesempatan” (Khotim

Muhazla.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatu ...

Segala puji bagi Allah Swt, yang telah melimpahkan nikmat, rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana dalam bidang farmasi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis banyak mendapatkan bimbingan serta arahan dari berbagai pihak. Untuk itu ucapan terimakasih yang sebenar-benarnya dan penghargaan setinggi-tingginya penulis sampaikan teruntuk kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku rector Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. Bambang Pardjianto, Sp.B, Sp.BP-REDr selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. roihatul Muti'ah, m.Kes., Apt selaku ketua jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Burhan Ma'arif ZA selaku dosen pembimbing yang banyak memberikan arahan, nasihat, motivasi dan berbagai pengalaman yang berharga kepada penulis.
5. Meilina Ratna Dianti S.Kep.,Ns.,M.Kep selaku dosen konsultan yang banyak memberikan banyak arahan dan ilmunya kepada penulis.
6. Abdul Hakim, M.P.I, M.Farm., Apt selaku dosen agama yang banyak memberikan banyak arahan dan ilmunya kepada penulis.
7. Seluru dosen jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, terimakasih atas segala ilmu dan bimbingannya.

8. Aba dan Umi tercinta yang senantiasa memberikan kasih sayangnya dan senantiasa mendo'akan serta memberi motivasi penulis untuk menjadi anak yang baik.
9. Saudara-saudara tersayang yang telah memberikan semangat kepada penulis
10. Terimakasih buat temen-temen angkatan 2013 yang berjuang bersama-sama untuk meraih mimpi dan terimakasih untuk setiap kenangan indah yang dirajut bersama dalam menggapai mimpi.
11. Terimakasih Ain Ainul Ghofroh, Mariatik Cahyani, MbK Lilis dan dek elza yang telah senantiasa menemani penulis untuk begadang dalam penyelesaian skripsi ini.
12. Teman-teman *Terserah* yang telah memberikan *bullying* kepada penulis sehingga mendapat dorongan untuk menyelesaikan skripsi ini. Terimakasih tiada tara (bukan untuk mantan *terserah*).
Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh ...

Malang, 4 Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	v
MOTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
ABSTRAK INDONESIA	xvii
ABSTRAK INGGRIS	xviii
ABSTRAK ARAB	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.5 Batasan Masalah	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Tanaman Kenitu	7
2.1.1 Deskripsi Tanaman Kenitu	7
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Kenitu	9
2.1.3 Manfaat dan Kandungan Tanaman Kenitu	10
2.2 Diabetes Melitus	11

2.2.1 Diabetes Melitus Tipe 1	14
2.2.2 Diabetes Melitus Tipe 2	15
2.2.3 Diabetes Melitus Gestasional	16
2.2.4 Diabetes Melitus Incipidus	17
2.2.5 Patofisiologi	18
2.2.6 Penatalaksanaan Diabetes Melitus	19
2.2.7 Pengobatan Diabetes Melitus	21
2.3 Tinjauan Ekstraksi	24
2.3.1 Definisi Ekstraksi	24
2.3.2 Metode Ekstraksi	25
2.4 Gelombang Ultrasonik	26
2.5 Kromatografi Lapis tipis (KLT)	28
2.6 Aloksan	29
2.7 Tinjauan Metformine	33
2.8 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Strain Wistar	34
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	36
3.1 Kerangka Konseptual	36
3.2 Uraian Kerangka Konseptual	37
3.3 Hipotesis	38
BAB IV METODE PENELITIAN	39
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	39
4.1.1 Jenis Penelitian	39
4.1.2 Rancangan Penelitian	39
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	39
4.3 Alat dan Bahan Penelitian	40
4.3.1 Alat	40
4.3.1.1 Alat Ekstraksi	40
4.3.1.2 Alat Uji Aktivitas	40
4.3.2 Bahan	41

4.3.2.1 Tanaman.....	41
4.3.2.2 Hewan Coba.....	41
4.3.2.3 Kimia.....	41
4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	41
4.4.1 Variabel Penelitian	41
4.4.1.1 Variabel Bebas.....	41
4.4.1.2 Variabel Terikat.....	41
4.4.1.3 Variabel Kontrol.....	42
4.4.2 Definisi Operasional	42
4.5 Prosedur Perhitungan	42
4.5.1 Pemberian Larutan Aloksan.....	42
4.5.2 Pemberian Larutan Metformine.....	43
4.5.3 Pemberian Ekstrak Kloroform Daun Kenitu.....	43
4.5.3.1 Dosis Ekstrak Kloroform Daun Kenitu	43
4.5.3.2 Perhitungan Dosis dan Jumlah Ekstrak Kloroform Daun Kenitu	44
4.5.4 Pembagian Kelompok Hewan Uji	45
4.5.5 Preparasi Tikus Diabetes Melitus dan Kontrol	46
4.6 Prosedur Penelitian	47
4.6.1 Penyiapan Bahan Daun Kenitu	47
4.6.2 Pembuatan Ekstrak Kloroform Daun Kenitu	47
4.6.3 Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Kloroform Daun Kenitu dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah pada Tikus Putih Jantan	48
4.6.3.1 Penyiapan Hewan Coba	48
4.6.3.2 Pembagian Kelompok Hewan Coba	48
4.6.3.3 Penginduksian Diabetes	49
4.6.3.4 Preparasi Sampel	49
4.6.3.5 Uji Aktivitas Antidiabetes	50
4.6.3.6 Pengukuran Kadar Glukosa Darah	51
4.7 Skema Prosedur	52

4.8 Analisis Data	53
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	54
5.1 Preparasi Simplisia Daun Kenitu	54
5.2 Analisis Kadar Air.....	55
5.3 Ekstraksi Daun Kenitu	56
5.4 Uji Identifikasi Senyawa.....	58
5.5 Uji Aktivitas Ekstrak Daun Kenitu terhadap Penurunan Kadar Gula Darah	60
5.5.1 Pengukuran Kadar Gula Darah	62
5.5.2 Analisis Data	68
BAB VI PENUTUP.....	73
6.1 Kesimpulan	73
6.2 Saran.....	73
DAFTAR PUSTAKA	74
LAMPIRAN-LAMPIRAN	80

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Target Penatalaksanaan Diabetes	22
Tabel 2.2 Penggolongan Obat Hipoglikemik Oral.....	24
Table 2.3 Data Biologi Tikus Putih	35
Table 4.1 Ketentuan Dari Tiap-tiap Kelompok	46
Tabel 5.1 Nilai Kadar Air Simplisia Kering Daun Kenitu	56
Table 5.2 Hasil Uji KLT	58
Tabel 5.3 Hasil rata-rata pengukuran kadar gula darah pada tikus	63
Tabel 5.4 <i>P-Value</i> Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> Pengukuran Kadar Gula Darah	69
Tabel 5.5 <i>P-Value</i> Uji Homogenitas <i>Levene's Test</i> Pengukuran Kadar Gula Darah	69
Tabel 5.6 Data Pengukuran Uji Nonparametrik <i>Kruskal-Wallis</i>	70
Tabel 5.7 Data Pengukuran Uji Nonparametrik <i>Mann-Whitenay</i> Hari ke-7.....	70
Tabel 5.8 Data Pengukuran Uji Nonparametrik <i>Mann-Whitenay</i>	71

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Daun Kenitu	10
Gambar 5.1 Serbuk Simplisia Daun Kenitu	55
Gambar 5.2 Proses Ultrasonik Daun Kenitu	57
Gambar 5.3 Ekstrak Daun Kenitu Setelah Proses <i>Rotary Evaporator</i>	58
Gambar 5.4 Hasil KLT	60
Gambar 5.5 Injeksi Aloksan dengan Cara Intraperitoneal	62
Gambar 5.6 Sediaan Aloksan Bewarna Merah Muda	62
Gambar 5.7 Grafik pengukuran kadar gula darah pada tikus.....	63

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Analisis Statistik Pengukuran Kadar Gula Darah

Lampiran 2 Perhitungan Randemen Ekstrak Kloroform Daun Kenitu

Lampiran 3 Perhitungan Uji Kadar Air Simplisia Daun Kenitu

Lampiran 4 Dokumentasi Penelitian



ABSTRAK

Maulidiyah, Novi Yusro. 2018. **Uji Aktivitas Ekstrak Kloroform Daun Kenitu (*Chrysophyllum Cainito L.*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus L.*) yang Diinduksi Aloksan.** Skripsi. Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing: (1) Burhan Ma'arif Z. A., M.Farm., Apt.
(2) Meilina Ratna Dianti, S.Kep.,Ns., M.Kep.

Chrysophyllum cainito L. umumnya dikenal oleh masyarakat daerah Jawa Timur dengan istilah kenitu. Daun kenitu diketahui mengandung senyawa alkaloid, sterol dan triterpenoid yang diketahui bermanfaat untuk menurunkan kadar gula darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas dari ekstrak kloroform daun kenitu dan dosis optimalnya pada tikus terhadap penurunan kadar gula darah yang mengalami peningkatan kadar gula darah akibat pemberian aloksan.

Perlakuan ini dilakukan pada hewan coba tikus dengan pembagian 5 kelompok. Perlakuan yang dilakukan adalah kontrol negatif (penginduksian aloksan tanpa pemberian terapi), kontrol positif (pemberian terapi dengan metaformine), pemberian terapi ekstrak daun kenitu dengan 3 variasi dosis yaitu 25, 50 dan 75 mg/KgBB. Pengukuran kadar gula darah dilakukan dengan menggunakan alat *easy touch*.

Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan uji *Normalitas*, *Homogenitas* dan *Kruskal-Wallis* dilanjutkan uji *Mann-Whitney*. Hasil analisis menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan pada masing-masing kelompok perlakuan, perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok positif, 25, 50 dan 75 mg/KgBB yang ditunjukkan dengan nilai signifikan $p = 0,04$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak kloroform daun kenitu memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar gula darah pada tikus yang diinduksi dengan aloksan. Dosis optimal ekstrak daun kenitu terhadap penurunan kadar gula darah ditunjukkan pada dosis 50 mg/KgBB hewan coba.

Kata kunci: Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito L.*), Kadar Gula Darah, Aloksan.

ABSTRACT

Maulidiyah, Novi Yusro. 2018. **The Activity Test of Chloroform Leaf Extract Kenitu (*Chrysophyllum Cainito L.*) to Degradation of Blood Sugar Level of White Rods of Male Rodarian Rod (*Rattus Norvegicus L.*) Induced Alloxan.** Thesis. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Of Malang.

Advisor: (1) Burhan Ma'arif Z. A., M.Farm., Apt.

(2) Meilina Ratna Dianti, S.Kep.,Ns., M.Kep.

Chrysophyllum cainito L. generally known by the people of East Java with the term kenitu. Kenitu leaf have contain some compounds, there are alkaloid, sterol and triterpenoids. There are known usefull for lowering blood sugar levels. This purpose research to determine the activity of extrac choloform leaf kenitu and optimal dose in mice againts the decrease in blood sugar levels that heve increased blood sugar levels due to alloxan.

This treatment was performed on mice experiments with 5 groups. The treatments were negative control (induction of alloxan without therapy), positive control (therapy with metaformine), therapy of kenitu leaf extract with 3 dose variations, that 25, 50, and 75 mg/KgBB. Blood sugar level measurements were performed using the *Easy Touch* tool.

Statistical analyzes were performed using *Normality, Homogeneity, Kruskal-willis tests* and *Mann-Whitenay* tests. The results of the analysis showed that there was a significant difference in each treatment group, significant differencess were significant between the negative and positive control groups, 25, 50 and 75 mg/KgBB, that indicated with significant value $p = 0,04$. The results showed that chloroform kenitu leaf extract give effect to the decrease of blood sugar level in rats induced by alloxan. The optimal dose of kenitu leaf extract to decreased blood sugar levels was indicated by at a dose of 50 mg/KgBB experimental animals.

Keywords: Kenitu Leaf (*Chrysophyllum cainito L.*), Blood Sugar Level, Alloxan.

ملخص البحث

موليدية، نوفي يوسرا. 2017. اختبار النشطة مستخلص أوراق الكلوروفروم كينيتو (كرويسوفيلوم كينيتو ل.) إلى انخفاض مستوى السكر في الدم لدى ذكور الفئران من ويستار ريجوس (راتوس نورفيجيكيوس ل.) التي يسببها ألوكسان. البحث العلمي. قسم الصيدلية. كلية الطب والعلوم الصحية. جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج.

المشرف الأول: برهان، معرف ز.أ. الماجستير، المشرف الثاني: ميلينا رتنا ديانتى، الماجستير.

كرويسوفيلوم كينيتو ل. هو معروف عادة قبل شعب جاوة اشرقية مع كينيتو. ومن المعروف أن الأوراق كينيتو التي تحتوي على مركبات هو قلويد وستيرول، تريترينويد مفيدة لخفض مستويات السكر في الدم. وتهدف هذه البحث إلى تحديد وجود أو عدم وجود نشاط إضافية كلوفروم ورقة كينيتو والجرعات المثل في الفئران تماداب انخفاض مستويات السكر في الدم بسبب ألوكسان.

تم إجراء هذا البحث على التجارب الفئران مع 5 مجموعات. وكانت العلاجات السيطرة السلبية (تحريض ألوكسان دون العلاج)، والسيطرة الإيجابية (العلاج مع ميتاقورمين)، والعلاج من مستحاص أزراق كينيتو مع 3 جرعة الاختلافات، أي 25، 50 و 75 ميلي جرام/بب. تم إجراء قياسات الجولوكوز في الدم باستخدام أداة الايسي توتج.

وأجريت التحليلات الإحصائية باستخدام الإختبار الطبيعية الجنسية، اختبارات كروسكال-ويليس واختبارات مان-ويتني. وأظهرت نتائج التحليل وجود فرق معنوي في كل مجموعة معاملة، وكنت الفروق معنوية بين مجموعات السيطرة السلبية والإيجابية امشار 25، 50، و 75 ميلي جرام/بب إليها بواسطة نيلي سيغيف $p = 0,04$. وأظهرت النتائج أن مستخلص أوراق الكلوروفروم كينيتو يعتي تأثير لانخفاض مستويات السكر في الدم كادا في الفئران التي يسببها ألوكسن. يشار إلى الجرعة المثل من مستخلص أوراق كينيتو لانخفاض مستويات السكر في الدم بجرعة 50 ميلي جرام/بب ملغ من الحيوانات التجريبية.

الكلمات الرئيسية: ورق كينيتو (ايسوتوما لونجيفلورا)، السكر في الدم ، ألوكسان.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik yang prevalensinya cenderung meningkat di dunia. Meningkatnya prevalensi diabetes di beberapa negara, salah satunya diakibatkan peningkatan kemakmuran di negara tersebut. Indonesia sendiri menempati urutan keempat dalam daftar negara dengan penderita diabetes terbanyak di bawah India, China dan Amerika (Alvin P, 2008). *World Health Organization* (WHO) memprediksi adanya peningkatan jumlah pasien diabetes yang cukup besar pada beberapa tahun mendatang dengan kenaikan jumlah penyandang diabetes melitus di Indonesia dari 4,8 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. Senada dengan WHO, *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2009 juga memprediksikan kenaikan jumlah penyandang diabetes melitus di Indonesia dari 7 juta pada tahun 2009 menjadi 12,0 juta pada tahun 2030. Meskipun terdapat perbedaan angka prevalensi, laporan keduanya menunjukkan adanya peningkatan jumlah penyandang diabetes melitus sebanyak 2-3 kali lipat pada tahun 2030 (BP PERKENI, 2011).

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik yang berlangsung kronik dimana penderita diabetes tidak bisa memproduksi insulin dalam jumlah yang cukup atau tubuh tidak mampu menggunakan insulin secara efektif sehingga terjadilah kelebihan gula di dalam darah dan baru dirasakan setelah terjadi

komplikasi lanjut pada organ tubuh (Misnadiarly, 2006). Pada tahun 1997, *Expert Committe on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus of American Diabetes Association* menerbitkan klasifikasi diabetes yaitu, tipe 1 adalah diabetes melitus atau *Insulin-Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM), dan tipe 2 atau *non-insulin-dependent diabetes mellitus* (NIDDM) (Baradero *et al.*, 2005). Kedua jenis diabetes melitus ini sama-sama berakibat pada kekurangan atau ketidakmampuan insulin dalam mengatur gula darah.

Pengobatan yang diberikan pada penderita diabetes adalah terapi insulin. Terapi insulin merupakan suatu keharusan bagi penderita diabetes melitus tipe 1, karena sel-sel β *Langerhans* tidak lagi dapat memproduksi insulin, sedangkan bagi penderita diabetes melitus tipe 2 terapi insulin hanya dibutuhkan oleh 30% penderita disamping terapi hipoglikemik oral. Obat-obatan hipoglikemik oral pada penanganan pasien diabetes melitus tipe 2 menentukan keberhasilan terapi diabetes, berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat hipoglikemik oral dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu: (1) obat-obatan yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea dan glinida. (2) obat-obatan yang dapat meningkatkan sensitifitas sel terhadap insulin, meliputi golongan biguanida dan tiazolidindion. Dan (3) inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain inhibitor α glukosidase (Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, 2005). Namun pengobatan dengan insulin dan terapi hipoglikemik oral tersebut dirasakan cukup mahal bagi penderita (Jaya, 2007).

Fenomena tersebut menunjukkan bahwa kebutuhan akan solusi penyembuhan sangat diperlukan. Selama ini pasien yang menderita diabetes melitus masih

menggunakan obat kimia. Padahal secara klinis obat kimia yang digunakan secara berkelanjutan akan menimbulkan efek yang tidak baik bagi tubuh. Oleh karena itu kami menggunakan pengobatan menggunakan herbal yang bisa diterapkan di masyarakat dengan mudah dan tanpa efek samping. Banyak tanaman herbal yang bisa dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif pengobatan seperti daun kenitu. Allah telah memerintahkan kepada kita sebagai umatnya untuk mengonsumsi makan yang halal dan baik. Hal ini telah dijelaskan di al-Qur'an surat al-Baqarah ayat: 168

يَا أَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ ۚ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُّبِينٌ

Artinya: “Wahai manusia! Makanlah dari (makanan) yang halal dan baik yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah setan. Sungguh setan itu musuh yang nyata bagimu.”(Q.S al-Baqarah ayat: 168).

Tafsiran ayat di atas menjelaskan bahwa yang dimaksud dengan makanan yang baik dan dihalalkan oleh Allah adalah makanan yang berguna bagi tubuh, tidak merusak organ tubuh, tidak menjijikkan, enak, tidak kadaluarsa dan tidak bertentangan dengan perintah Allah SWT. Secara tidak langsung ayat di atas telah memerintahkan kepada manusia untuk menerapkan pola makan yang sehat dalam kehidupan sehari-hari agar terhindar dari penyakit yang merugikan (Departemen Agama RI, 2006). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai penerapan untuk hidup sehat adalah tanaman kenitu (*Chrisopillum cainito*).

Secara umum, kenitu banyak digunakan untuk pengobatan tradisional berbagai macam penyakit. Daun kenitu dapat digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Salah satunya yaitu rebusa air daun kenitu yang dapat digunakan untuk pengobatan diabetes (Das et al., 2010). Menurut Luo *et al.*, (2002) mengatakan

bahwa tanaman kenitu mempunyai fungsi medis, hampir dari semua bagian tumbuhan ini bisa dimanfaatkan. Tanaman kenitu diperlukan penelitian terhadap daun kenitu yang ketersediaannya di alam lebih berlimpah. Tanaman kenitu berfungsi sebagai pengganti obat berbahan kimia yang mengandung beberapa zat seperti alkaloid, sterol atau triterpena yang bisa memacu kinerja dari pankreas untuk menghasilkan insulin secara maksimal dan zat yang mampu memacu metabolisme glukosa sehingga dapat dihindari penumpukan zat tersebut dalam darah.

Secara empiris menurut (Koffie *et al.*, 2009) daun kenitu dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional diabetes. Namun demikian, hanya terdapat satu publikasi ilmiah tentang kenitu dengan aktivitas antidiabetes.

Menurut penelitian (Koffie *et al.*, 2009) ekstrak air daun kenitu menunjukkan efek hipoglikemia pada kelinci diabetes dengan dosis 10 g/l. Sejauh ini, belum terdapat publikasi tentang aktivitas antidiabetes daun kenitu dengan menggunakan ekstrak kloroform daun kenitu yang dapat menurunkan kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi dengan aloksan. Berdasarkan uraian di atas dilakukan penelitian terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi dengan aloksan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah berdasarkan latar belakang diatas adalah :

1. Apakah ada aktivitas ekstrak kloroform daun kenitu pada tikus terhadap penurunan kadar glukosa?
2. Berapa dosis optimal ekstrak kloroform daun kenitu pada tikus terhadap penurunan kadar glukosa?

1.3 Tujuan

Berdasarkan uraian diatas, maka tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengetahui adanya aktivitas antidiabetes pada ekstrak kloroform daun kenitu menggunakan hewan coba tikus.
2. Mengetahui dosis optimal ekstrak kloroform daun kenitu pada tikus terhadap penurunan kadar glukosa.

1.4 Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sabagai berikut:

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai aktivitas daun kenitu sebagai antidiabetes.
2. Uji aktivitas antidiabetes yang dilakukan dapat dijadikan sebagai salah satu upaya pengembangan pengetahuan dari bahan alam.
3. Meningkatkan nilai ekonomis daun kenitu yang selama ini belum pernah dimanfaatkan.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Parameter pada penelitian ini meliputi pengukuran kadar glukosa darah tipe 2 pada tikus.
2. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar dengan umur 3-4 bulan dan bobot badan antara 200-300 gram.
3. Pelarut yang digunakan untuk ekstrak daun kenitu adalah kloroform.
4. Senyawa diabetogenik yang digunakan adalah aloksan dosis 32 mg / 200gBB.
5. Dosis untuk terapi ekstrak kloroform daun kenitu pada hewan coba adalah 25, 50, 75 mg/KgBB.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kenitu

2.1.1 Deskripsi Tanaman Kenitu

Allah SWT berfirman dalam al-Qur'an surat Thaha ayat: 53

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ

نَبَاتٍ شَتَّىٰ

Artinya:”Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (Q.S Thaha ayat: 53).

Ayat diatas menjelaskan bahwa banyak jenis tumbuhan yang mampu tumbuh di bumi ini dengan adanya air hujan, banyak jenis tumbuhan seperti yang telah dijelaskan pada ayat sebelumnya, ada tumbuhan yang tergolong ke dalam tumbuhan tingkat rendah yaitu tumbuhan yang tidak jelas bagian akar, batang dan daunnya. Golongan selanjutnya lebih mengalami perkembangan adalah tumbuhan tingkat tinggi yaitu tumbuhan yang bisa dibedakan secara jelas bagian daun, batang dan akar (savitri, 2008).

Salah satu tanaman yang tumbuh di bumi ini adalah tanaman kenitu. Tanaman kenitu merupakan tanaman yang banyak tumbuh di daerah tropis dan subtropis terdiri dari 150 spesies. Namun buah kenitu di Jember memiliki empat varietas, yakni kenitu Bulat Besar (BB), kenitu Hijau Lonjong (HL), kenitu Ungu

(U), dan kenitu Bulat Kecil (BK). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hidayat *et al*, buah kenitu telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Buah kenitu merupakan buah musiman yang umumnya berbuah pada bulan Juli sampai Agustus, sehingga diperlukan penelitian terhadap daun kenitu yang ketersediaannya di alam lebih berlimpah. Berdasarkan penapisan fitokimia yang dilakukan oleh Koffie menunjukkan bahwa ekstrak daun kenitu mengandung alkaloid, sterol dan triterpena yang berfungsi sebagai antioksidan (Koffi *et al.*, 2009).

Chrysophyllum cainito L. umumnya dikenal oleh masyarakat daerah Jawa Timur dengan istilah kenitu, sedangkan di daerah asalnya (Amerika Tengah) disebut *star apple*. Kenitu berasal dari dataran rendah Amerika Tengah dan Hindia Barat. Karena manfaatnya, kini kenitu telah menyebar ke seluruh daerah tropis. Tanaman ini termasuk dalam famili Sapotaceae dan banyak tumbuh didaerah dengan curah hujan tinggi dan lembab yaitu pada ketinggian 5-1000 meter dari permukaan laut. Kenitu merupakan jenis tumbuhan pohon yang tingginya berkisar 10-30 meter, berumur menahun (perennial). Termasuk tumbuhan hermafrodit (USDA, 2003).

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Kenitu

Secara sistematika tumbuhan kenitu diklasifikasikan sebagai berikut

(USDA, 2003) :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Divisi	: Magnoliophyta
Subdivisi	: Spermatophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dileniidae
Ordo	: Ebenales
Famili	: Sapotaceae
Genus	: <i>Chrysophyllum L.</i>
Spesies	: <i>Chrysophyllum cainito L.</i>

Tanaman kenitu merupakan tumbuhan berakar tunggang, batangnya berkayu, bentuk silindris, tegak, permukaan bergaris kasar, kulit batang abu-abu gelap sampai keputihan dengan banyak bagian pohon yang mengeluarkan lateks (getah putih yang pekat apabila batangnya dilukai). Bunga kenitu terletak di ketiak daun, berupa kelompok 5-35 kuntum bunga kecil-kecil bertangkai panjang, kekuningan sampai putih lembayung, harum manis. Kelopak 5 helai, bundar sampai bundar telur, mahkota bentuk tabung bercuping 5, bundar telur, panjang sampai 4 mm (Das *et al.*, 2010).

Kenitu memiliki daun tunggal dengan permukaan atas berwarna hijau dan bawah coklat atau coklat keemasan karena ada bulu-bulu halus yang tumbuh terutama di sisi bawah daun dan rerantingan. Umumnya panjang daun kenitu 9-14 cm dan lebar 3-5 cm. Helaian daun kenitu agak tebal, kaku, bentuk lonjong (elliptica), ujung runcing (acutus), pangkal meruncing (acuminatus), tepi rata, dan pertulangan menyirip (pinnate). Duduk daun berseling, memencar, bentuk lonjong

sampai bundar telur terbalik dengan luas 3-6 x 5-16 cm, dan panjang tangkai daun 0,6-1,7 cm. Gambar daun kenitu dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Daun kenitu (Sumber: Koffie *et al.*, 2009)

2.1.3 Manfaat dan Kandungan Tanaman Kenitu

Kenitu oleh masyarakat banyak dikonsumsi sebagai buah segar, meski juga dapat digunakan sebagai bahan baku es krim atau serbat. Pohon kenitu umumnya digunakan sebagai tanaman hias dan peneduh di taman-taman dan tepi jalan. Kayunya cukup baik sebagai bahan bangunan, dan cabang-cabangnya yang tua dimanfaatkan untuk menumbuhkan anggrek.

Di samping itu, banyak bagian pohon yang berkhasiat obat misalnya kulit kayunya, getah, buah dan biji. Buah kenitu segar yang dikonsumsi dapat mengurangi peradangan pada tengorokan dan paru-paru. Di Venezuela buah setengah masak digunakan untuk mengobati gangguan usus, namun bila berlebihan dapat menyebabkan sembelit. Sedangkan infus kulit buah kaya akan zat tanin yang dapat digunakan untuk tonik, stimulan, obat diare, disentri, menghentikan pendarahan, radang dan obat gonorrhoe. Biji kenitu yang rasanya pahit dimanfaatkan sebagai obat penurun panas, tonik dan diuretik dengan cara ditumbuk. Getah pohon kenitu di Brazil dimanfaatkan untuk mengobati abses, sedangkan di tempat lain digunakan sebagai diuretik, obat penurun panas dan obat untuk disentri (Morton, 1987).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan pada 12 ekstrak buah yang dapat dimakan menunjukkan sembilan buah memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, diantaranya yaitu: buah kenitu menghasilkan senyawa antioksidan antosianin, dan sianidin-3-O- β -glukopiranosida (Einbond *et al.*, 2004). Penelitian sebelumnya membuktikan buah kenitu memiliki aktivitas antioksidan. Selain itu penelitian lain menunjukkan bahwa buah kenitu mengandung antioksidan polifenol, katekin, gallokatekin, kuersetin, kuersitrin, isokuersitrin, mirisitrin, dan asam galat (Luo *et al.*, 2002).

Daun kenitu digunakan sebagai ramuan tradisional antidiabetes oleh suku Aboude-Mandeke. Ekstrak daun kenitu mengandung alkaloid, sterol atau triterpena yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa dengan mekanisme antioksidan (Koffi *et al.*, 2009).

2.2 Diabetes Melitus

Diabetes Mellitus adalah suatu kumpulan gejala yang timbul pada seseorang yang disebabkan oleh karena peningkatan kadar glukosa darah akibat penurunan sekresi insulin yang progresif dilatar belakangi oleh resistensi insulin (Soegondo dkk., 2009). Diabetes Mellitus adalah kondisi abnormalitas metabolisme karbohidrat yang disebabkan oleh defisiensi (kekurangan) insulin, baik secara absolute (total) maupun sebagian (Hadisaputro, Setiawan. 2007).

Gangguan hormon insulin merupakan dasar terjadinya gejala pada diabetes melitus. Insulin diproduksi organ pankreas yang terletak di dekat hati dan berperan dalam melepaskan dan menyimpan bahan bakar tubuh. Hormon insulin

diproduksi sesuai “pesanan” artinya kadarnya dapat naik dan turun tergantung kebutuhan. Insulin bekerja pada keadaan “makan” dan “puasa”. Setelah makan banyak, kadar insulin akan naik dan gula (glukosa) akan disimpan oleh tubuh. Sebaliknya saat puasa, kadar insulin akan turun dan gula yang disimpan dalam organ tubuh seperti hati, otot, dan lemak dilepaskan untuk memenuhi kebutuhan tubuh. Semakin lama puasa, energi yang tadinya berasal dari pemecahan gula semakin habis, digantikan oleh lemak dan protein yang dapat menimbulkan efek merugikan. Pada diabetes melitus, kadar insulin terus menerus rendah atau kadarnya cukup tetapi tidak efektif sehingga meskipun penyandang diabetes melitus sudah makan banyak, insulin tidak meningkat dan tubuh tidak dapat menyimpan gula berlebihan (Herqutanto. 2009).

Diabetes melitus terdiri dari dua tipe yaitu, tipe 1 *Insulin-Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM) dan Tipe 2 atau *non-insulin-dependent diabetes mellitus* (NIDDM). Diabetes tipe 1 merupakan kondisi autoimun yang menyebabkan kerusakan sehingga timbul defisiensi insulin absolut. Diabetes melitus tipe 2 sel β *pankreas* merupakan jenis diabetes yang paling sering terjadi, mencakup sekitar 85% pasien diabetes. Keadaan ini ditandai oleh resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif (Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. 2005).

Sebagian besar patologi diabetes melitus dapat dikaitkan dengan satu dari efek utama kekurangan insulin sebagai berikut: (1) pengurangan penggunaan glukosa oleh sel-sel tubuh dengan akibat peningkatan konsentrasi glukosa darah setinggi 300 sampai 200 mg per 100 ml., (2) peningkatan nyata mobilisasi lemak

dari daerah penyimpanan lemak, menyebabkan kelainan metabolisme lemak maupun pengendapan lipid pada dinding vaskular yang menyebabkan aterosklerosis; dan (3) pengurangan protein dalam jaringan tubuh. Akan tetapi, selain itu, terjadi beberapa masalah patofisiologi pada diabetes melitus yang tidak mudah tampak yaitu (1) kehilangan glukosa ke dalam urine penderita diabetes. Bila jumlah glukosa yang masuk tubulus ginjal dalam filtrat glomerulus meningkat kira-kira diatas 225 mg permenit, glukosa dalam jumlah bermakna mulai dibuang ke dalam urine. Jika jumlah filtrasi glomerulus yang terbentuk tiap menit tetap, maka luapan glukosa terjadi bila kadar glukosa meningkat melebihi 180 mg persen. Akibatnya sering disebutkan bahwa “ambang darah” untuk timbulnya glukosa dalam urine sekitar 180 mg persen. Kehilangan glukosa dalam urine menyebabkan diuresis karena efek osmotik glukosa didalam tubulus mencegah reabsorpsi cairan oleh tubulus. Keseluruhan efek adalah dehidrasi ruangan ekstrasel, yang kemudian menyebabkan dehidrasi ruangan intrasel juga. Jadi, salah satu gambaran diabetes yang penting adalah kecenderungan timbulnya dehidrasi ekstrasel dan intrasel, dan ini juga disertai dengan kolapsnya sirkulasi.

(2) asidosis pada diabetes. Pergeseran metabolisme karbohidrat ke metabolisme lemak telah dibicarakan. Bila tubuh menggantungkan hampir seluruh energinya pada lemak, kadar asam aseto-asetat dan asam β -hidroksibutirat dalam cairan tubuh dapat meningkat dari 1 mEq/liter sampai setinggi 10 mEq/liter. Jelas, hal ini mudah mengakibatkan asidosis daripada peningkatan langsung asam-asam keto adalah penurunan konsentrasi natrium yang disebabkan oleh penurunan konsentrasi natrium yang disebabkan oleh efek berikut: Asam-asam keto

mempunyai ambang ekskresi ginjal yang rendah; oleh karena itu, bila kadar asam keto pada diabetes meningkat sebanyak 100 sampai 200 gram asam keto dapat diekskresi dalam urine setiap hari. Karena ia merupakan asam kuat, sangat sedikit yang dapat diekskresi dalam bentuk asam, sebagai gantinya ia diekskresi berikatan dengan natrium yang berasal dari cairan ekstrasel. Sebagai akibatnya, konsentrasi natrium dalam cairan ekstrasel biasanya berkurang, dan natrium diganti oleh peningkatan jumlah ion hidrogen, jadi sangat meningkatkan asidosis (Guyton dan Hall, 2006).

2.2.1 Diabetes Melitus Tipe 1

Seseorang dikatakan mengidap penyakit DM apabila kadar glukosa puasa ≥ 126 mg/dL atau pada 2 jam setelah makan ≥ 200 mg/dL atau HbA1c $\geq 8\%$. Jika kadar glukosa 2 jam setelah makan >140 mg/dL tetapi lebih kecil dari 200 mg/dL, maka dikatakan glukosa toleransi lemah (Sukandar *et al.*, 2008).

Diabetes Melitus Tipe 1 adalah penyakit hiperglikemia akibat ketiadaan absolut insulin. Pengidap penyakit ini harus mendapatkan insulin pengganti. Diabetes Melitus Tipe 1 biasanya dijumpai pada orang yang tidak gemuk berusia kurang dari 30 tahun, dengan perbandingan laki-laki sedikit lebih banyak daripada wanita. Insiden Diabetes Melitus Tipe 1 memuncak pada usia remaja atau usia dini, maka dulu sering disebut juga Diabetes Juvenil. Namun, Diabetes Melitus Tipe 1 ternyata dapat timbul pada gejala usia (Corwin, 2009).

2.2.2 Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes Melitus Tipe 2 merupakan DM yang lebih umum, lebih banyak penderitanya dibandingkan dengan Diabetes Melitus Tipe 1. Diabetes Melitus Tipe 2 mencapai 90-95 % dari keseluruhan populasi penderita Diabetes Melitus. Umumnya penderita berusia di atas 45 tahun, tetapi akhir-akhir ini penderita Diabetes Melitus Tipe 2 di kalangan remaja dan anak-anak populasinya meningkat. Penyebab Diabetes Melitus Tipe 2 belum terungkap dengan jelas. Faktor genetik dan pengaruh lingkungan cukup besar dalam menyebabkan terjadinya Diabetes Melitus Tipe 2, antara lain obesitas, diet tinggi lemak dan rendah serat, serta kurangnya aktivitas fisik (Ditjen Binfar & Alkes RI, 2005).

Individu yang mengidap Diabetes Melitus Tipe 2 tetap menghasilkan insulin, tetapi terjadi insensitivitas sel terhadap insulin. Mungkin terdapat kaitan genetik antara kegemukan dan rangsangan berkepanjangan reseptor-reseptor insulin. Rangsangan berkepanjangan atas reseptor tersebut dapat menyebabkan penurunan jumlah reseptor insulin yang terdapat pada sel-sel. Hal ini disebut *downregulation*. Mungkin juga individu yang menderita Diabetes Melitus Tipe 2 menghasilkan otoantibiotik insulin yang berkaitan dengan reseptor insulin, menghambat akses insulin ke reseptor, tetapi tidak merangsang aktivitas pembawa. Alasan ini yang menjadikan Diabetes Melitus Tipe 2 disebut juga sebagai *Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM), karena insulin tetap dihasilkan oleh sel-sel β pankreas (Corwin, 2009).

Diabetes melitus tipe 2, berbeda dengan Diabetes melitus tipe 1, tidak bermasalah dengan insulin, akan tetapi dengan reseptor insulin. Diperkirakan

karena defisien jumlah reseptor atau efektivitas reseptor, pada atau pasca-reseptor. Gambaran sentral resistensi insulin terlihat pada obesitas. Pada obesitas terjadi penurunan jumlah atau kualitas reseptor insulin. Tampak paradoks adanya starvasi seluler efektif pada keadaan kelebihan glukosa dan insulin yang berlebihan. Pada diabetes melitus tipe 2 glukosa, pada tingkat tertentu, dapat masuk ke intraseluler, sehingga starvasi intraseluler relatif tidak begitu parah. Karenanya, maka penggunaan asam lemak dan protein menurun, sehingga pembentukan benda keton tidak terjadi. Jadi, diabetes melitus tipe 2 adalah non-insulinopenik dan non-ketotik (BP PERKENI, 2011).

2.2.3 Diabetes Melitus Gestasional

Diabetes melitus gestasional (GDM = Gestasional Diabetes Melitus) adalah keadaan diabetes atau intoleransi glukosa yang timbul selama masa kehamilan, dan biasanya berlangsung hanya sementara atau temporer. Sekitar 4-5% wanita hamil diketahui menderita GDM, dan umumnya terdeteksi pada atau setelah trisemester kedua (Ditjen Binfar & Alkes RI, 2005).

Diabetes dalam masa kehamilan, walaupun umumnya kelak dapat pulih sendiri beberapa saat setelah melahirkan, namun dapat berakibat buruk terhadap bayi yang dikandung. Akibat buruk yang dapat terjadi antara lain malformasi kongenital, peningkatan berat badan bayi ketika lahir dan meningkatkan resiko mortalitas perinatal. Disamping itu, wanita yang pernah menderita GDM akan lebih besar resiko untuk menderita lagi diabetes di masa depan. Kontrol

metabolism yang ketat dapat mengurangi resiko-resiko tersebut (Ditjen Binfar & Alkes RI, 2005).

2.2.4 Diabetes Melitus Incipidus

Diabetes insipidus dijelaskan pertama kali pada abad ke-18. Kelainan ini ditandai dengan rasa haus yang hebat meskipun mendapat banyak asupan cairan (polidipsi), dan berkemih berlebihan (poliuri). Hal ini terjadi karena tubuh tidak cukup menghasilkan antidiuretik hormon (ADH)/ arginine vasopressin (AVP), atau karena ginjal tidak dapat merespons hormone tersebut. Diabetes insipidus juga dapat terjadi saat kehamilan (diabetes insipidus gestasional), namun sangat jarang (Saifan *et al.*, 2013). Diagnosis jenis dan penyebab perlu untuk menentukan terapi. Penatalaksanaan yang tepat dapat menghindari gangguan keseimbangan elektrolit dan komplikasinya.

Diabetes insipidus diklasifikasikan berdasarkan sistem yang terganggu (Saifan *et al.*, 2013) :

- a. Diabetes insipidus sentral pada dewasa penyebab yang sering antara lain karena kerusakan kelenjar hipofisis atau hipotalamus akibat pembedahan, tumor, inflamasi, cedera kepala, atau penyakit (seperti meningitis). Sedangkan pada anak-anak, penyebabnya karena kelainan genetik. Kerusakan ini mengganggu pembuatan, penyimpanan, dan pelepasan ADH.
- b. Diabetes insipidus nefrogenik. Kelainan akibat cacat tubulus ginjal, menyebabkan ginjal tidak berespons baik terhadap ADH. Beberapa obat juga menyebabkan kelainan ini.

- c. Diabetes insipidus dipsogenik (polidipsi primer). Kelainan akibat asupan cairan berlebihan yang merusak pusat haus di hipotalamus. Asupan air berlebihan jangka panjang dapat merusak ginjal dan menekan ADH, sehingga urin tidak dapat dikonsentrasikan.

2.2.5 Patofisiologi

Diabetes melitus merupakan penyakit yang disebabkan oleh adanya kekurangan insulin secara relatif maupun absolut. Defisiensi insulin dapat terjadi melalui 3 jalan, yaitu (Manaf, 2009): (a) Rusaknya sel-sel β pankreas karena pengaruh dari luar (virus, zat kimia tertentu, dll), (b) Desensitasi atau penurunan reseptor glukosa pada kelenjar pancreas dan (c) Desensitasi/kerusakan reseptor insulin (down regulation) di jaringan perifer.

Patofisiologi diabetes melitus tipe 2 terdapat beberapa keadaan yang berperan yaitu (1) Resistensi insulin dan (2) Disfungsi sel *B-pancreas*. Diabetes melitus tipe 2 bukan disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, namun karena sel sasaran insulin gagal atau tidak mampu merespon insulin secara normal. Keadaan ini lazim disebut sebagai “resistensi insulin” (Teixeria L. 2011).

Resistensi insulin banyak terjadi akibat dari obesitas dan kurangnya aktivitas fisik serta penuaan. Pada penderita diabetes melitus tipe 2 dapat juga terjadi produksi glukosa hepatic yang berlebihan namun tidak terjadi pengrusakan sel-sel *B-Langerhans* secara autoimun seperti diabetes melitus tipe 2. Defisiensi fungsi insulin pada penderita diabetes melitus tipe 2 hanya bersifat relatif dan tidak absolut (Harding, Anne Helen *et al.*, 2003).

2.2.6 Penatalaksanaan Diabetes Melitus

Prinsip penatalaksanaan diabetes melitus secara umum ada lima sesuai dengan konsensus Pengelolaan diabetes melitus di Indonesia tahun 2006 adalah untuk meningkatkan kualitas hidup pasien diabetes melitus. Tujuan Penatalaksanaan diabetes melitus adalah (a) Jangka pendek : hilangnya keluhan dan tanda DM, mempertahankan rasa nyaman dan tercapainya target pengendalian glukosa darah. (b) Jangka panjang: tercegah dan terhambatnya progresivitas penyulit mikroangiopati, makroangiopati dan neuropati (Buraerah, Hakim. 2010).

Tujuan akhir pengelolaan adalah turunnya morbiditas dan mortalitas DM. Untuk mencapai tujuan tersebut perlu dilakukan pengendalian glukosa darah, tekanan darah, berat badan dan profil lipid, melalui pengelolaan pasien secara holistik dengan mengajarkan perawatan mandiri dan perubahan perilaku. Diet Prinsip pengaturan makan pada penyandang diabetes hampir sama dengan anjuran makan untuk masyarakat umum yaitu makanan yang seimbang dan sesuai dengan kebutuhan kalori dan zat gizi masing-masing individu. Pada penyandang diabetes perlu ditekankan pentingnya keteraturan makan dalam hal jadwal makan, jenis dan jumlah makanan, terutama pada mereka yang menggunakan obat penurun glukosa darah atau insulin. Standar yang dianjurkan adalah makanan dengan komposisi yang seimbang dalam hal karbohidrat 60-70%, lemak 20-25% dan protein 10-15%. Untuk menentukan status gizi, dihitung dengan BMI (Body Mass Indeks). Indeks Massa Tubuh (IMT) atau Body Mass Index (BMI) merupakan alat atau cara yang sederhana untuk memantau status gizi orang

dewasa, khususnya yang berkaitan dengan kekurangan dan kelebihan berat badan. Untuk mengetahui nilai IMT ini, dapat dihitung dengan rumus berikut (Departemen Kesehatan. 2005):

$$IMT = \frac{\text{Berat Badan (Kg)}}{\text{Tinggi Badan (m)}}$$

Latihan fisik/olahraga, Dianjurkan latihan secara teratur (3-4 kali seminggu) selama kurang lebih 30 menit, yang sifatnya sesuai dengan *Continuous, Rhythmical, Interval, Progressive, Endurance* (CRIPE). Training sesuai dengan kemampuan pasien. Sebagai contoh adalah olah raga ringan jalan kaki biasa selama 30 menit. Hindarkan kebiasaan hidup yang kurang gerak atau bermalas-malasan (Departemen Kesehatan. 2005).

Pendidikan Kesehatan, Pendidikan kesehatan sangat penting dalam pengelolaan. Pendidikan kesehatan pencegahan primer harus diberikan kepada kelompok masyarakat resiko tinggi. Pendidikan kesehatan sekunder diberikan kepada kelompok pasien diabetes melitus. Sedangkan pendidikan kesehatan untuk pencegahan tersier diberikan kepada pasien yang sudah mengidap diabetes melitus dengan penyulit menahun (Departemen Kesehatan. 2005).

Obat : oral hipoglikemik, insulin jika pasien telah melakukan pengaturan makan dan latihan fisik tetapi tidak berhasil mengendalikan kadar gula darah maka dipertimbangkan pemakaian obat hipoglikemik pasien DM tipe 2 ringan sampai sedang yang gagal dikendalikan dengan pengaturan asupan energi dan karbohidrat serta olah raga. Obat golongan ini ditambahkan bila setelah 4-8 minggu upaya diet dan olah raga dilakukan, kadar gula darah tetap di atas 200 mg% dan HbA1c di atas 8%. Jadi obat ini bukan menggantikan upaya diet,

melainkan membantunya. Pemilihan obat antidiabetik oral yang tepat sangat menentukan keberhasilan terapi diabetes. Pemilihan terapi menggunakan antidiabetik oral dapat dilakukan dengan satu jenis obat atau kombinasi. Pemilihan dan penentuan regimen antidiabetik oral yang digunakan harus mempertimbangkan tingkat keparahan penyakit DM serta kondisi kesehatan pasien secara umum termasuk penyakit-penyakit lain dan komplikasi yang ada. Dalam hal ini obat hipoglikemik oral adalah termasuk golongan sulfonilurea, biguanid, inhibitor alfa glukosidase dan insulin sensitizing (Departemen Kesehatan. 2005).

2.2.7 Pengobatan Diabetes Melitus

Penatalaksanaan diabetes melitus mempunyai tujuan akhir untuk menurunkan mortalitas dan morbiditas diabetes mellitus, secara spesifik ditujukan untuk mencapai 2 target utama, yaitu: 1) menjaga agar kadar glukosa dalam plasma berada dalam kisaran normal dan 2) mencegah atau meminimalkan terjadinya komplikasi diabetes. *The American Diabetes Association* (2009) merekomendasikan beberapa parameter yang bisa digunakan untuk menilai keberhasilan penatalaksanaan diabetes (tabel 2.1)

Tabel 2.1 Target Penatalaksanaan Diabetes

Parameter	Kadar ideal yang diharapkan
Kadar glukosa darah puasa	80 – 120 mg/dL
Kadar glukosa plasma puasa	90 – 130 mg/dL
Kadar glukosa saat tidur	100 – 140 mg/dL
Kadar glukosa plasma saat tidur	110-150 mg/dL
Kadar Insulin	<7%
Kadar HbA1c	<7 mg/Dl
Kadar kolestrol HDL	>45 mg/dL (pria) >55 mg/dL (wanita)
Kadar trigliserida	<200 mg/dL
Tekanan darah	<130 – 180 mmHg

Kecurigaan adanya Diabetes Melitus perlu dipikirkan apabila ditemukan gejala khas Diabetes Melitus berupa poliuria, polidipsia, polifagia dan penurunan berat badan. Keluhan dan gejala yang khas disertai hasil pemeriksaan glukosa darah sewaktu >200 mg/dl atau glukosa darah puasa > 126 mg/dl sudah cukup untuk menegakkan diagnosis Diabetes Melitus (Mansjoer *et al.*, 2007)

Pada dasarnya ada dua pendekatan dalam penatalaksanaan diabetes melitus, yang pertama pendekatan tanpa obat dan yang kedua adalah pendekatan dengan obat. Dalam penatalaksanaan diabetes melitus, langkah pertama yang harus dilakukan adalah penatalaksanaan tanpa obat berupa pengaturan diet dan olahraga. Apabila langkah pertama belum tercapai, dapat dikombinasikan dengan langkah farmakologis berupa terapi insulin atau terapi obat hipoglikemik oral, atau kombinasi keduanya. Terapi insulin merupakan suatu keharusan bagi penderita diabetes melitus tipe 1. Pada diabetes melitus tipe 1, sel-sel β Langerhans kelenjar pankreas penderita rusak, sehingga tidak lagi dapat memproduksi insulin. Sebagai penggantinya, maka penderita diabetes mellitus tipe 1 harus mendapatkan insulin eksogen untuk membantu agar metabolisme

karbohidrat dalam tubuhnya berjalan normal. Sedangkan penderita diabetes mellitus tipe 2, hanya 30% penderita yang memerlukan terapi insulin disamping terapi hipoglikemik oral. Obat-obat hipoglikemik oral sendiri terutama ditujukan untuk membantu penanganan penderita diabetes melitus tipe 2. Pemilihan obat hipoglikemik oral yang tepat sangat menentukan keberhasilan terapi diabetes (Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. 2005).

Obat-obatan hipoglikemik oral terutama ditunjukkan untuk membantu penanganan pasien Diabetes Melitus Tipe 2. Rasilan Pemilihan obat hipoglikemik orang yang tepat sangat menentukan keberhasilan terapi diabetes. Bergantung pada tingkat keparahan penyakit dan kondisi pasien, farmakoterapi hipoglikemik oral dapat digunakan dengan menggunakan 1 jenis obat atau kombinasi dari 2 jenis obat. Pemilihan dan penentuan remijen hipoglikemik yang digunakan harus mempertimbangkan tingkat keparahan diabetes (tingkat glikemia) serta kondisi kesehatan pasien secara umum, termasuk penyakit-penyakit lain dan komplikasi (Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. 2005).

Tabel 2.2 Penggolongan obat hipoglikemik oral (Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. 2005).

Golongan	Contoh senyawa	Mekanisme Kerja
Sulfonilurea	Glipizida Gliburida/Glibenklamid Glikazida Glimepirida Glikuidon	Merangsang sekresi insulin di kelenjar pancreas, sehingga hanya efektif pada penderita diabetes yang sel-sel β pankreasnya masih berfungsi dengan baik.
Meglitinida	Rapaglinide	Merangsang sekresi insulin di kelenjar pancreas.
Turunan fenilalanin	Nateglinide	Meningkatkan kecepatan sintesis insulin oleh pancreas
Biguanida	Metformin	Bekerja langsung pada hati (hepar), menurunkan produksi glukosa hati. Tidak merangsang sekresi insulin oleh kelenjar pankreas.
Inhibitor α -glukosidase	Acarbose miglitol	Menghambat kerja enzim-enzim pencernaan yang mencerna karbohidrat, sehingga memperlambat absorpsi glikosa ke dalam darah.
Tiazolidindion (TZD)	Rosiglitazone Pioglitazone	Meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin dengan jalan berikatan dengan PPAR γ (peroxisome proliferasi aktivasi reseptor-gamma) di otot, jaringan lemak, dan hati untuk menurunkan resistensi insulin.
Glinid	Repaglinid Nateglinid	Meningkatkan produksi insulin, sel-sel β pankreasnya masih berfungsi dengan baik.
DPP-4-I (dipeptidyl peptidase-4 inhibitor)	Sitagliptin Vildagliptin Saxagliptin	Menghambat enzim DPP-4 yang menghambat GLP-1.

2.3 Tinjauan Ekstraksi

2.3.1 Definisi Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan menggunakan pelarut

cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam golongan minyak atsiri, alkaloida, flavonoida dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000).

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Mukhriani, 2014). Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuan dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Depkes RI, 2000).

2.3.2 Metode Ekstraksi

Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Depkes RI, 2000).

Pemilihan metode ekstraksi tergantung pada sifat bahan dan senyawa yang akan diisolasi. Sebelum memilih suatu metode, target ekstraksi perlu ditentukan terlebih dahulu. Salah satu metode ekstraksi adalah metode ekstraksi ultrasonik. Teknik ini dikenal dengan sonokimia yaitu pemanfaatan efek gelombang

ultrasonik untuk mempengaruhi perubahan-perubahan yang terjadi pada proses. Keuntungan utama dari ekstraksi dengan bantuan gelombang ultrasonik dibandingkan dengan ekstraksi konvensional menggunakan Soxhlet yaitu efisiensi lebih besar dan waktu operasinya lebih singkat. Selain itu ekstraksi konvensional menggunakan Soxhlet biasanya memberikan laju perpindahan yang rendah (Garcia & Castro, 2003).

2.4 Gelombang Ultrasonik

Gelombang ultrasonik merupakan gelombang mekanik longitudinal dengan frekuensi di atas 20 kHz. Gelombang ini dapat merambat dalam medium padat, cair dan gas, hal disebabkan karena gelombang ultrasonik merupakan rambatan energi dan momentum mekanik sehingga merambat sebagai interaksi dengan molekul dan sifat inersia medium yang dilaluinya (Izza, 2011)

Gelombang ultrasonik yang dirambatkan pada cairan akan menimbulkan suatu efek yang disebut kavitasi akustik. Tekanan cairan akan meningkat pada saat amplitudo positif dirambatkan dan tekanan menurun (rarefaction) pada saat amplitudo negatif disalurkan. Perubahan tekanan secara simultan dengan frekuensi tinggi dari tanduk getar ultrasonik direaksi lambat oleh cairan sehingga timbul gelembung mikro (micro bubble). Gelembung tersebut mengembang dan mengempis tidak stabil dengan laju pengembangan lebih besar dibandingkan laju pengempisan sehingga diameter gelembung tumbuh membesar hingga pecah (Kuldiloke, 2002).

Menurut Gogate *et al.* (2006), alat braun sonic 2000 merupakan pemancar gelombang dengan bentuk getaran sonik dengan frekuensi yang tinggi. Ada dua frekuensi yang dihasilkan yaitu frekuensi level bawah yang besarnya 19.3 kHz yang biasanya digunakan untuk pengolahan sayur-sayuran. Sedangkan frekuensi yang satu yaitu frekuensi level atas yang besarnya 29,5 kHz biasanya digunakan pada proses bahan cair seperti susu dan juice. Konfigurasi reaktor gelombang ultrasonik dikenal beberapa macam diantaranya adalah sistem tanduk getar, sistem bath, sistem rambatan frekuensi ganda, sistem rambatan frekuensi tripel, sistem bath dengan getaran longitudinal, homogenizer tekanan tinggi, homogenizer kecepatan tinggi dan plat orifice (Gogate *et al.*, 2006).

Secara sistematis pembangkit gelombang ultrasonik sistem tanduk getar sebagaimana, Gelombang yang ditransmisikan berkisar antara frekuensi 16 kHz sampai dengan 30 kHz dengan daya hingga 240 W. Luas penampang iradiasi tergantung dari kedalaman celup tanduk getar dan bisa digunakan untuk mengatur intensitas iradiasi. Konfigurasi ultrasonik sistem tanduk getar ini cocok untuk skala laboratorium dan bisa digunakan untuk kebutuhan merusak jaringan sel tanaman, homogenisasi dan juga untuk proses-proses percepatan reaksi kimia (Gogate *et al.*, 2006).

Peralatan ultrasonik sistem tanduk getar terdiri dari generator pembangkit gelombang, tanduk getar, pengatur frekuensi, pengatur amplitudo, dan tanduk getar. Penyangga tanduk getar bisa menggunakan rangka atau statif. Efisiensi pembangkit gelombang ultrasonik jenis ini paling rendah dibandingkan jenis lain

yang telah berkembang. Efisiensi rambatan energi dari tanduk getar ke cairan terhadap input total energi berkisar 7.6 % (Gogate et al., 2006).

2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi digunakan sebagai untuk memisahkan substansi campuran menjadi komponen-komponennya. Salah satu Kromatografi yang digunakan adalah kromatografi lapis tipis. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara pemisahan campuran senyawa menjadi senyawa murninya dan mengetahui kuantitasnya yang menggunakan. Kromatografi juga merupakan analisis cepat yang memerlukan bahan sangat sedikit, baik penyerap maupun cuplikannya. (Rahma, 2009).

Kromatografi lapis tipis dalam pelaksanaannya lebih mudah dan lebih murah dibandingkan dengan kromatografi kolom. Demikian juga peralatan yang digunakan. Dalam kromatografi lapis tipis, peralatan yang digunakan lebih sederhana dan dapat dikatakan hampir semua laboratorium dapat melaksanakan setiap saat secara cepat (Ibnu Gholib Gandjar & Abdul Rohman, 2007).

Kromatografi lapis tipis dapat dipakai dengan dua tujuan. Pertama, dipakai selayaknya sebagai metode untuk mencapai hasil kualitatif, kuantitatif, atau preparatif. Kedua, dipakai untuk menjajaki system pelarut dan system penyangga yang akan dipakai dalam kromatografi kolom atau kromatografi cair kinerja tinggi. (Roy *et al.*, 2009).

Kromatografi lapis tipis dapat digunakan untuk memisahkan senyawa – senyawa yang sifatnya hidrofobik seperti lipida – lipida dan hidrokarbon yang

sukar dikerjakan dengan kromatografi kertas. Kromatografi lapis tipis juga dapat berguna untuk mencari eluen untuk kromatografi kolom, analisis fraksi yang diperoleh dari kromatografi kolom, identifikasi senyawa secara kromatografi, dan isolasi senyawa murni skala kecil. Pelarut yang dipilih untuk pengembangan disesuaikan dengan sifat kelarutan senyawa yang dianalisis. Bahan lapisan tipis seperti silika gel adalah senyawa yang tidak bereaksi dengan pereaksi – pereaksi yang lebih reaktif seperti asam sulfat. Data yang diperoleh dari Kromatografi lapis tipis adalah nilai Rf yang berguna untuk identifikasi senyawa. Nilai Rf untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan nilai Rf dari senyawa standar. Nilai Rf dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal. Oleh karena itu bilangan Rf selalu lebih kecil dari 1,0. (Rahma, 2009).

2.6 Aloksan

Hewan percobaan diabetes mellitus yang pertama kali digunakan adalah hewan hiperglikemia. Hiperglikemia adalah kondisi kadar gula darah (glukosa) yang tinggi. Kondisi hiperglikemia pada hewan pertama kali dilakukan secara sederhana dengan cara pengambilan organ pankreas secara menyeluruh atau sebagian, cara ini kemudian dikenal dengan nama “pankreatektomi“. Pada penelitian berikutnya, metode tersebut sudah jarang digunakan karena secara menyeluruh kondisi patologi yang dihasilkan tidak secara kuat mencerminkan kondisi patologi pada manusia. Meskipun demikian, dengan tujuan penelitian

tertentu beberapa peneliti sampai sekarang masih menggunakan metode tersebut (Fernandez *et al.*, 2006; Ani *et al.*, 2006).

Sebagai pengganti dari metode tersebut, para peneliti menggunakan metode tanpa pembedahan (*non-surgical methods*) dalam menghasilkan hewan percobaan hiperglikemia. Metode tanpa pembedahan pertama kali dikenalkan adalah pemberian diabetogenik. Beberapa diabetogenik yang sering digunakan adalah streptozotosin alloxan, vacor, dithizone, 8-hidroksikuinolon (Covington *et al.*, 1993; Rees dalam Alcolado, 2005).

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

Penelitian terhadap mekanisme kerja aloksan secara invitro menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria mengakibatkan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel (Suharmiati, 2003).

Aloksan secara cepat dapat mencapai pankreas, aksinya diawali oleh pengambilan yang cepat oleh sel *β -langerhans*. Pembentukan oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut. Pembentukan oksigen reaktif diawali dengan proses reduksi aloksan dalam sel *β -langerhans*. Aloksan mempunyai aktivitas tinggi terhadap senyawa seluler yang mengandung gugus SH, glutathion tereduksi (GSH), sistein dan senyawa sulfhidril terikat protein (misalnya *SH-containing enzyme*). Hasil dari proses reduksi aloksan adalah asam dialurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan, menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida. Reaksi antara aloksan dengan asam dialurat merupakan proses yang diperantarai oleh radikal aloksan intermediet (HA) dan pembentukan “*compound 305*”. Radikal superoksida dapat membebaskan ion ferri dari ferinitin, dan mereduksi menjadi ion ferro. Selain itu, ion ferri juga dapat direduksi oleh radikal aloksan. Radikal superoksida mengalami dismutasi menjadi hydrogen peroksida, berjalan spontan dan kemungkinan dikatalisis oleh superoksida dismutase. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau langerhans pankreas. Kerusakan DNA tersebut menstimulasi *poly ADP-ribosylation*, proses yang terlibat pada DNA repair. Adanya ion ferro dan hydrogen peroksida membentuk radikal hidroksi yang sangat reaktif melalui reaksi fenton (Szkudelski, 2001).

Faktor lain selain pembentukan oksigen reaktif adalah gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler. Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel *β -langerhans* pankreas. Efek tersebut diikuti oleh beberapa kejadian : influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium

dari simpanannya secara berlebihan, dan eliminasinya yang terbatas dari sitoplasma. Influx kalsium akibat aloksan tersebut mengakibatkan depolarisasi sel β -*langerhans*, lebih lanjut membuka kanal kalsium tergantung voltase dan semakin menambah masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain kedua faktor tersebut di atas, aloksan juga diduga berperan dalam penghambatan glukokinase dalam proses metabolisme energi (Szkudelski, 2001).

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan (Watkins *et al.*, 2008; Filipponi *et al.*, 2008). Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan. Tikus hiperglikemik dapat dihasilkan dengan menginjeksikan 120-150 mg/kgBB (Foster, 2000). Aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal atau subkutan pada binatang percobaan (Szkudelski, 2001).

Aloksan merupakan salah satu zat diabetogenik yang bersifat toksik terutama terhadap sel β pancreas, dan apabila diberikan pada hewan coba seperti tikus maka dapat menyebabkan hewan tersebut menjadi diabetes melitus (Prameswari dan Simon, 2014). Pemilihan dosis aloksan berdasarkan pada uji pendahuluan yang dilakukan oleh Fitriani (2011) dalam menentukan dosis optimum yang digunakan untuk membuat hewan coba menjadi hiperglikemik.

Dosis aloksan yang digunakan dalam uji pendahuluan tersebut adalah 32, 36 dan 40 mg/ 200 gBB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh kelompok uji termasuk ketiga dosis di atas mengalami hiperglikemik pada hari ke-3 pasca induksi, akan tetapi beberapa hewan coba pada kelompok dosis 36 dan 40 mg/200gBB mengalami kematian pada hari berikutnya. Oleh karena itu dosis 32mg/200gBB hewan coba merupakan dosis optimum yang dapat mengakibatkan keadaan hiperglikemik pada hewan coba, namun tidak menyebabkan kematian. Selain itu Chaougle *et al.*, (2007) juga menyatakan bahwa dosis 160 mg/KgBB (32 mg/200 gBB) merupakan dosis pling bagus yang digunakan untuk hewan coba dengan kenaikan kadar glukosa darah sebesar 300-400 mg/dL.

2.7 Tinjauan Tentang Metformine

Metformin merupakan obatan untuk diabetes melitus, berkhasiat dalam menurunkan tingkat resistensi jaringan terhadap insulin. Seperti diungkapkan diatas, efektivitas metformin yang pada dasarnya terutama bekerja post reseptor, berdampak terhadap perbaikan mekanisme kerja glucose transporter (GLUT). Metformin dalam waktu bersamaan juga mempunyai khasiat dalam mencegah terjadinya kerusakan jaringan endotel akibat keadaan hiperglikemia. Khasiat ini diperoleh tidak saja oleh karena sifat anti hiperglikemia secara farmakologis, tapi juga langsung efek inhibisi terjadinya kerusakan sel endotel pembuluh darah.¹⁴ Beberapa khasiat Metformin yang berdampak positif perbaikan hiperglikemia sehingga mencegah *glucotoxicity* serta berbagai dampaknya telah terbukti (Raymond, 2014). faktor risiko terkait reaksi efek samping pada penggunaan

metformin yang terjadi terutama gangguan gastrointestinal antara lain dipengaruhi oleh faktor usia, cara minum obat, dan dosis dari obat metformin (Okayasu S *et al.*, 2012).

2.8 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar

Tikus merupakan spesies ideal untuk uji toksikologi karena berat badannya dapat mencapai 200-300 gram pada umur 2 bulan. Ukuran tikus yang lebih besar daripada mencit membuat tikus disukai untuk berbagai penelitian. Dengan ukuran itu menjadikan tikus lebih mudah dipegang, dikendalikan atau diambil darahnya dalam jumlah yang relative besar. Organ-organ tikuspun relative besar sehingga materi dapat diberikan melalui berbagai rute (Kusumawati, 2004).

Tikus dan mencit sering digunakan dalam penelitian dibidang kesehatan maupun biologi karena kemudahannya dalam berkembang biak dan waktu antar generasi yang pendek. Mencit memiliki keuntungan pada ukuran tubuhnya yang kecil dan dapat menjadi kerugian bila diperlukan pengamatan pada organ. Mencit memiliki laju metabolisme yang lebih tinggi dibandingkan tikus dan lebih sensitive terhadap penyimpangan kondisi lingkungan sehingga dapat mempengaruhi hasil penelitian (Ariefin, 2013).

Tikus jantan lebih sering digunakan dalam pengujian karena metabolisme tikus jantan lebih stabil dibandingkan tikus betina yang dipengaruhi sistem hormonal (Suckow *et al.*, 2006). Sistem hormonal sangat berpengaruh terhadap sistem metabolisme tubuh. Selain itu OECD (2001) juga menyatakan bahwa tikus

betina lebih sensitive terhadap efek toksik dibandingkan tikus jantan dalam uji toksik (Ariefin, 2013).

Tikus yang biasa digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian adalah *Rattus norvegicus Strain Wistar* yang memiliki klasifikasi sebagai berikut (Wuragil, 2006):

Phylum : Chordata
 Kelas : Mammalia
 Ordos : Rodetina
 Famili : Muridae
 Genus : Rattus
 Spesies : *Rattus norvegicus Strain Wistar*

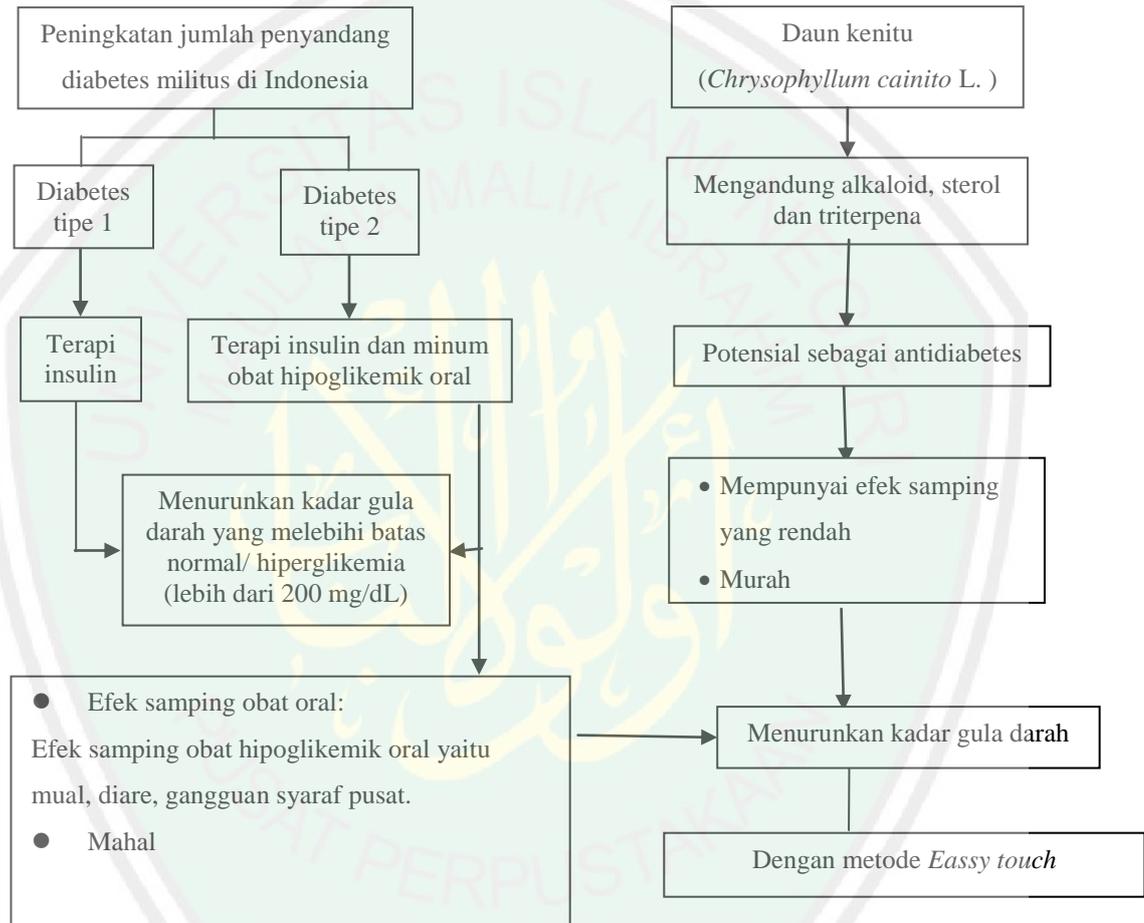
Tabel 2.3 Data biologi tikus putih menurut kusumawati (2004)

Data Biologi Hewan Coba Tikus	Keterangan
Badan Tikus Jantan	300-4—g
Berat Badan Tikus Betina	250-300g
Lama hidup (tahun)	2,5 - 3
Temperatur tubuh (drajat celsius)	37,5
Kebutuhan air ml/100 Gbb	8 - 11 ml
Kebutuhan makan (g/100 g BB)	5
Frekuensi Jantung (per menit)	330 - 480
Frekuensi respirasi (per menit)	66 -1114

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Kerangka Konseptual



Hipotesis:
 Ekstrak kloroform daun kenitu dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus diabetes militus tipe 2.

3.2 Uraian Kerangka Konseptual

Tahun 2000 diperkirakan sekitar 150 juta orang di dunia mengidap diabetes melitus. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi dua kali lipat pada tahun 2005, dan sebagian besar peningkatan itu akan terjadi di negara-negara yang sedang berkembang seperti Indonesia. Walaupun diabetes melitus merupakan penyakit kronik yang tidak menyebabkan kematian secara langsung, tetapi dapat berakibat fatal bila pengelolaannya tidak tepat. Pengelolaan diabetes melitus memerlukan penanganan secara multidisiplin yang mencakup terapi non-obat dan terapi obat.

Diabetes melitus terdiri dari dua tipe yaitu, tipe 1 *Insulin-Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM) dan Tipe 2 atau *non-insulin-dependent diabetes mellitus* (NIDDM). Diabetes tipe 1 merupakan kondisi autoimun yang menyebabkan kerusakan sehingga timbul defisiensi insulin absolut. Diabetes melitus tipe 2 sel β *pankreas* merupakan jenis diabetes yang paling sering terjadi, mencakup sekitar 85% pasien diabetes. Keadaan ini ditandai oleh resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif (Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, 2015).

Pendekatan dalam penatalaksanaan diabetes melitus pada dasarnya ada dua, yang pertama pendekatan tanpa obat dan yang kedua adalah pendekatan dengan obat. Dalam penatalaksanaan diabetes melitus, langkah pertama yang harus dilakukan adalah penatalaksanaan tanpa obat berupa pengaturan diet dan olahraga. Apabila langkah pertama belum tercapai, dapat dikombinasikan dengan langkah farmakologis berupa terapi insulin atau terapi obat hipoglikemik oral, atau kombinasi keduanya. Terapi insulin merupakan suatu keharusan bagi penderita

diabetes melitus tipe 1. Pada diabetes melitus tipe 1, sel-sel β Langerhans kelenjar pankreas penderita rusak, sehingga tidak lagi dapat memproduksi insulin. Sebagai penggantinya, maka penderita diabetes mellitus tipe 1 harus mendapatkan insulin eksogen untuk membantu agar metabolisme karbohidrat dalam tubuhnya berjalan normal. Sedangkan penderita diabetes mellitus tipe 2, hanya 30% penderita yang memerlukan terapi insulin disamping terapi hipoglikemik oral. Obat-obat hipoglikemik oral sendiri terutama ditujukan untuk membantu penanganan penderita diabetes melitus tipe 2. Pemilihan obat hipoglikemik oral yang tepat sangat menentukan keberhasilan terapi diabetes (Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, 2015).

Salah satu tanaman yang dapat dijadikan sebagai obat tradisional yang berfungsi sebagai antidiabetes adalah tanaman kenitu. Daun kenitu digunakan sebagai ramuan tradisional antidiabetes oleh suku Aboude-Mandeke. Ekstrak daun kenitu mengandung alkaloid, sterol atau triterpena yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa dengan mekanisme antioksidan.

3.3 Hipotesis

Ekstrak kloroform daun kenitu dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus diabetes melitus tipe 2.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

4.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan penelitian eksperimental laboratorium.

4.1.2 Rancangan Penelitian

- Penyiapan bahan, bahan yang akan di gunakan dalam penelitian ini yaitu daun kenitu yang diperoleh dari Materia Medika di daerah Batu, Malang, Jawa Timur. Daun kenitu yang telah di keringkan dengan oven sampai daun benar-benar kering pada suhu 40⁰ C sehingga terjadinya perubahan bentuk (daun kenitu yang basah menjadi kering renyah tetapi warna daun masih terlihat hijau), setelah simplisia kering di blender sehingga menjadi serbuk.
- Ekstraksi bahan, serbuk daun kenitu diekstraksi ultrasonik dengan pelarut kloroform. Ekstrak pekat digunakan untuk uji aktivitas antidiabetes.
- Uji aktivitas, uji aktivitas dilakukan dengan menggunakan hewan coba tikus yang telah di tentukan. Uji antidiabetes dilakukan dengan menggunakan *easy touch*.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan April - Juni 2017 di Laboratorium Farmasi dan Fisiologi Hewan jurusan Biologi di Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibram Malang.

4.3 Alat dan Bahan Penelitian

4.3.1 Alat

4.3.1.1 Alat Ekstraksi

- Alat ultrasonic
- Ayakan, blender
- Neraca analitik
- Peralatan gelas
- *Rotary evaporator*
- Alat ultrasonik
- Oven
- Corong
- Erlenmeyer

4.3.1.2 Alat uji aktivitas

- Alat injeksi
- Kapas
- Alat intubasi
- Gunting bedah
- Alat amputasi
- Alat *easy touch*
- Kandang tikus
- Tempat makan dan minum

4.3.2 Bahan

4.3.2.1 Tanaman

Daun kenitu diperoleh dari Materia Medika Batu, Malang.

4.3.2.2 Hewan Coba

- Tikus putih jantan galur wistar di peroleh dari Laboratorium Fakultas Biologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Pakan tikus

4.3.2.3 Kimia

- Aloksan
- NaCl 0,9 %
- Kloroform
- Alkohol 70%
- CMC-na

4.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1 Variabel Penelitian

4.4.1.1 Variabel bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak kloroform daun keniut dengan dosis 25 mg/KgBB, 50 mg/KgBB, dan 75 mg/KgBB.

4.4.1.2 Variabel terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah penurunan kadar gula darah.

4.4.1.3 Variabel kontrol

Variabel yang dikendalikan dalam penelitian ini adalah usia tikus 3-4 bulan, berat badan tikus 200-300 gram dan jenis putih jantan galur wistar, makan dan minuman tikus, waktu pemberian makanan.

4.4.2 Definisi Operasional

1. Ekstrak kloroform daun kenitu merupakan hasil ekstraksi yang dilakukan untuk mendapatkan ekstrak yang akan digunakan sebagai uji aktivitas pada kadar gula darah dengan menggunakan hewan coba tikus jantan galur wistar.
2. Glukosa darah merupakan hasil metabolisme karbohidrat di dalam tubuh. Pemeriksaan kadar gula darah yang dilakukan adalah menggunakan *easy touch*. Adapun satuan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mg/dL.
3. Kontrol positif merupakan kelompok perlakuan yang besar kemungkinan menghasilkan efek atau perubahan positif, yang bertujuan untuk membuktikan bahwa eksperimen yang digunakan sudah tepat.
4. Kontrol negatif biasanya disebut juga sebagai kelompok kontrol tanpa perlakuan.

4.5 Prosedur perhitungan

4.5.1 Pemberian larutan aloksan

Dosis aloksan 160 mg/KgBB dan BB tikus 200 g, maka dosis aloksan untuk tikus:

$$\text{Dosis tikus} = \frac{160 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ g} = 32 \text{ mg/tikus}$$

Cara penyiapan:

32 mg aloksan x 5 ekor tikus (tiap kelompok) = 160 mg

160 mg aloksan dilarutkan dalam NaCl 0.9 % sebanyak 10 ml. Jadi tiap ekor tikus diberikan larutan aloksan sebanyak 2 ml (Chaougle *et al.*, 2007).

4.5.2 Pemberian larutan Metformine

Tiap tablet metformine mengandung 500 mg metformine. Takaran konversi dosis untuk manusia dengan BB 70 kg pada tikus dengan BB 200 g adalah 0,018. Rata-rata orang Indonesia beratnya 70 kg, maka dosis untuk tikus adalah:

$$= 500 \text{ mg} \times 0,018 \text{ (konversi manusia ke tikus)} = 9 \text{ mg}/200 \text{ gBB}$$

$$= 9 \times 5 \times 14 = 630 \text{ mg}$$

Tablet metformine digerus, ditimbang sebanyak 1800 mg kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquades, kemudian diberikan kepada tikus secara peroral sebanyak 0,5 ml, karena 0,5 ml larutan metformine mengandung 9 mg metformin.

4.5.3 Pemberian Ekstrak Kloroform Daun Kenitu

4.5.3.1 Dosis Ekstrak Kloroform Daun Kenitu

Konversi dosis untuk manusia ke tikus adalah 0,018. Dosis daun kenitu yang digunakan adalah 25 mg/KgBB, 50 mg/KgBB, 75 mg/KgBB.

Misalnya berat badan manusia 70 Kg, maka dosis untuk tikus adalah:

$$\text{Dosis 1: } 25 \text{ mg/KgBB} \times 70 \text{ Kg} = 1.750 \text{ mg}$$

$$1.750 \text{ mg} \times 0.018 = 31,5 \text{ mg}/200\text{gBB}$$

$$\text{Dosis 2: } 50 \text{ mg/KgBB} \times 70 \text{ Kg} = 3.500 \text{ mg}$$

$$3.500 \text{ mg} \times 0.018 = 63 \text{ mg/200gBB}$$

$$\text{Dosis 3: } 75 \text{ mg/KgBB} \times 70 \text{ Kg} = 5.250 \text{ mg}$$

$$5.250 \text{ mg} \times 0.018 = 94,5 \text{ mg/200gBB}$$

4.5.3.2 Perhitungan Dosis dan Jumlah Ekstrak Kloroform Daun Kenitu

Rumus: dosis x berat badan tikus

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan x dosis x jumlah hari.

$$\text{Dosis 1: } 25 \text{ mg/KgBB} = 32 \text{ mg} \times 5 \times 14 = 2.240 \text{ mg}$$

Maka ekstrak yang ditimbang sebanyak 2.240 mg.

$$\text{Dosis 2: } 50 \text{ mg/KgBB} = 62 \text{ mg} \times 5 \times 14 = 4.340 \text{ mg}$$

Maka ekstrak yang ditimbang sebanyak 4.340 mg.

$$\text{Dosis 3: } 75 \text{ mg/KgBB} = 94 \text{ mg} \times 5 \times 14 = 6.580 \text{ mg}$$

Maka ekstrak yang ditimbang sebanyak 6.580 mg.

Keterangan:

Berat badan tikus = 200 gram

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan = 5

Jumlah terapi = 14 hari

Sehingga, jumlah total ekstrak untuk uji antidiabetes adalah $13.160 \text{ mg} = 13.160 \text{ gr}$

$= 13,2 \text{ gr}$.

4.5.4 Pembagian kelompok hewan uji

Penelitian dilakukan dengan 5 kelompok perlakuan. Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan dihitung menggunakan rumus Federer (Felicia, 2009).

Rumus Federer:

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

Keterangan:

n = besar sampel

t = jumlah perlakuan

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

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

$$(n - 1) 4 \geq 15$$

$$(n - 1) \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75$$

Setiap kelompok perlakuan terdapat minimal 5 ekor tikus putih wistar jantan. Peneliti memilih untuk menggunakan 5 ekor tikus wistar jantan tiap kelompok dengan jumlah kelompok perlakuan sebanyak 5 kelompok sehingga jumlah seluruh sampel penelitian sebanyak 25 ekor tikus dan tikus-tikus tersebut dipelihara dalam *animal house* Laboratorium Biologi UIN Malik Ibrahim Malang.

Tabel 4.1 Ketentuan dari tiap-tiap kelompok adalah sebagai berikut:

No	Nama Kelompok	Perlakuan	Jumlah tikus (ekor)
1	Kontrol Negatif (KN)	Diinduksi aloksan	5
2	Kontrol Positif (KP)	Diinduksi aloksan + Metformin	5
3	Dosis 1 (P1)	Diinduksi aloksan dosis 32 mg/ 200 g BB dan ekstrak kloroform daun kenitu 25 mg/KgBB	5
4	Dosis 2 (P2)	Diinduksi aloksan dosis 32 mg/ 200 g BB dan ekstrak kloroform daun kenitu 50 mg/KgBB	5
5	Dosis 3 (P3)	Diinduksi aloksan dosis 32 mg/ 200 g BB dan ekstrak kloroform daun kenitu 75 mg/KgBB	5

4.5.5 Preparasi Tikus Diabetes Melitus (DM) dan Kontrol

Sebelum tikus diinduksi aloksan, hewan uji dipuasakan terlebih dahulu namun tetap diberi minum. Ini dilakukan sesuai dengan protokol percobaan yang menyebutkan bahwa hewan uji yang dipuasakan selama 8-12 jam lebih rentang mengalami diabetes dibandingkan hewan uji yang tidak dipuasakan (Fitriani, 2011). Selama dipuasakan sekam dikeluarkan dari kandang agar tidak dimakan oleh hewan coba. Pertama, dilakukan pengukuran kadar puasa untuk mengetahui kadar gula darah hewan uji sebelum aloksan. Kedua, larutan aloksan monohidrat diinduksi pada tikus kelompok K(-), K(+), P1, P2, dan P3 dengan dosis 32 mg/200 gBB secara intraperitoneal dengan memposisikan tikus terlentang hingga terlihat abdomennya. Pada bagian abdomennya tikus dioleskan alkohol 70% agar tidak terjadi infeksi, kemudian dicubit hingga terasa bagian ototnya (Shofia, 2013). Setelah penyuntikan tikus diberi makan dan minum seperti biasa.

Pengukuran kadar gula darah pada tikus dilakukan kembali pada hari ke-7 setelah induksi aloksan untuk memastikan bahwa tikus mengalami diabetes permanen. Tikus dinyatakan diabetes melitus jika kadar gula darah lebih dari 200

mg/dl (Lukiati *et al.*, 2012). Bila tikus belum mengalami diabetes maka dilakukan induksi kembali dengan aloksan.

4.6 Prosedur Penelitian

Prosedur pengumpulan data pada penelitian yang akan dilakukan terdiri atas penyiapan bahan, ekstraksi bahan, dan uji aktivitas antidiabetes dengan ekstrak kloroform daun kenitu.

4.6.1 Penyiapan Bahan Daun kenitu

Daun kenitu yang masih segar dicuci sampai bersih, lalu dikeringkan dengan oven sampai daun benar-benar kering pada suhu 40⁰ C sehingga terjadinya perubahan bentuk (daun kenitu yang basah menjadi kering renyah tetapi warna daun masih terlihat hijau), setelah simplisia kering digiling dengan mesin penggiling sehingga menjadi serbuk.

4.6.2 Pembuatan Ekstrak Kloroform Daun Kenitu

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun tanaman kenitu yang diperoleh dari Materia Medika, Batu, Malang.

- Timbang serbuk kering daun kenitu sebanyak 75 g kemudian diultrasonik dengan 1500 ml kloroform selama 2 menit , kemudian disaring, lalu residu diultrasonik lagi.
- Pekerjaan tersebut diulang, sehingga secara keseluruhan pengestraksian dilakukan selama 3 kali setiap 25 gram dengan menggunakan pelarut 500 ml.

- Filtrat atau ekstrak cair yang dihasilkan diuapkan/dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga di dapat ekstrak kental (pekat).
- Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji antidiabetes.

4.6.3 Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Kloroform Daun Kenitu dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah pada Tikus Putih Jantan.

4.6.3.1 Penyiapan Hewan Coba

Tikus putih jantan yang akan digunakan, dilakukan adaptasi lingkungan selama satu bulan dalam kandang berupa bak plastik, dengan penutup kawat dan diberi alas serbuk gergaji, suhu dan kelembaban lingkungan dikontrol sehingga membiasakan tikus hidup dalam lingkungan dan perlakuan baru serta membatasi pengaruh lingkungan.

4.6.3.2 Pembagian Kelompok Hewan Coba

- Kelompok kontrol negatif diberi aloksan (K-)
- Kelompok kontrol positif diberi aloksan dan obat antidiabetik oral yaitu metformine (K+)
- Kelompok uji 1 diberi aloksan dan ekstrak kloroform daun kenitu dengan dosis 25 mg/kgBB (P1)
- Kelompok uji 2 diberi aloksan dan ekstrak kloroform daun kenitu dengan dosis 50 mg/kgBB (P2)
- Kelompok uji 3 diberi aloksan dan ekstrak kloroform daun kenitu dengan dosis 75 mg/kgBB (P3)

4.6.3.3 Penginduksian Diabetes

Bahan penginduksi diabetes yang digunakan adalah aloksan yang diberikan secara intraperitoneal untuk membuat tikus menjadi diabetes. Penginduksian tersebut dilakukan dalam prosedur penelitian.

- Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 8-12 jam, kemudian diukur kadar gula darahnya (H_0)
- Tikus diinduksi aloksan dengan dosis 32 mg/200gBB untuk menjadikan tikus diabetes.

4.6.3.4 Preparasi Sampel

A. Pembuatan Aloksan

Ditimbang aloksan sebanyak 32 mg, dilarutkan dalam 10 ml NaCl 0,9 %. Diinduksikan pada tikus sebanyak 2 ml untuk menjadikan tikus terkena diabetes melitus secara permanen.

B. Pembuatan CMC-Na

1. Dosis 25 mg/KgBB

$$= \frac{32 \times 100 \text{ ml}}{2.240} = 1,43 \text{ ml}$$

Sehingga untuk larutan stock dosis 25 mg/KgBB dibuat dengan melarutkan 2.240 mg ekstrak ke dalam 100 ml CMC-Na 0,5 % sehingga dalam 1,43 ml mengandung 32 mg ekstrak kloroform daun kenitu.

2. Dosis 50 mg/KgBB

$$= \frac{62 \times 100 \text{ ml}}{4.340} = 1,43 \text{ ml}$$

Sehingga untuk larutan stock dosis 50 mg/KgBB dibuat dengan melarutkan 4.340 mg ekstrak ke dalam 100 ml CMC-Na 0,5 % sehingga dalam 1,43 ml mengandung 50 mg ekstrak kloroform daun kenitu.

3. Dosis 75 mg/KgBB

$$= \frac{64 \times 100 \text{ ml}}{6.580} = 1,43 \text{ ml}$$

Sehingga untuk larutan stock dosis 75 mg/KgBB dibuat dengan melarutkan 56.580 mg ekstrak ke dalam 100 ml CMC-Na 0,5 % sehingga dalam 1,43 ml mengandung 94 mg ekstrak kloroform daun kenitu.

C. Pembuatan Mucilago CMC-Na

Ditimbang CMC-Na 0,5% sebanyak 500 mg, dipanaskan mortar dengan air panas sampai mortar terasa panas, kemudian di buang air, lalu dimasukkan aquades panas 10 ml kedalam mortar dan di taburkan CMC-Na. diaduk hingga homogen, setelah homogen dicampurkan ekstrak kloroform daun kenitu sesuai dosis yang digunakan yaitu 25, 50, 75 mg/KgBB.

4.6.3.5 Uji Aktivitas Antidiabetes

Uji Antidiabetes dengan Induksi Aloksan

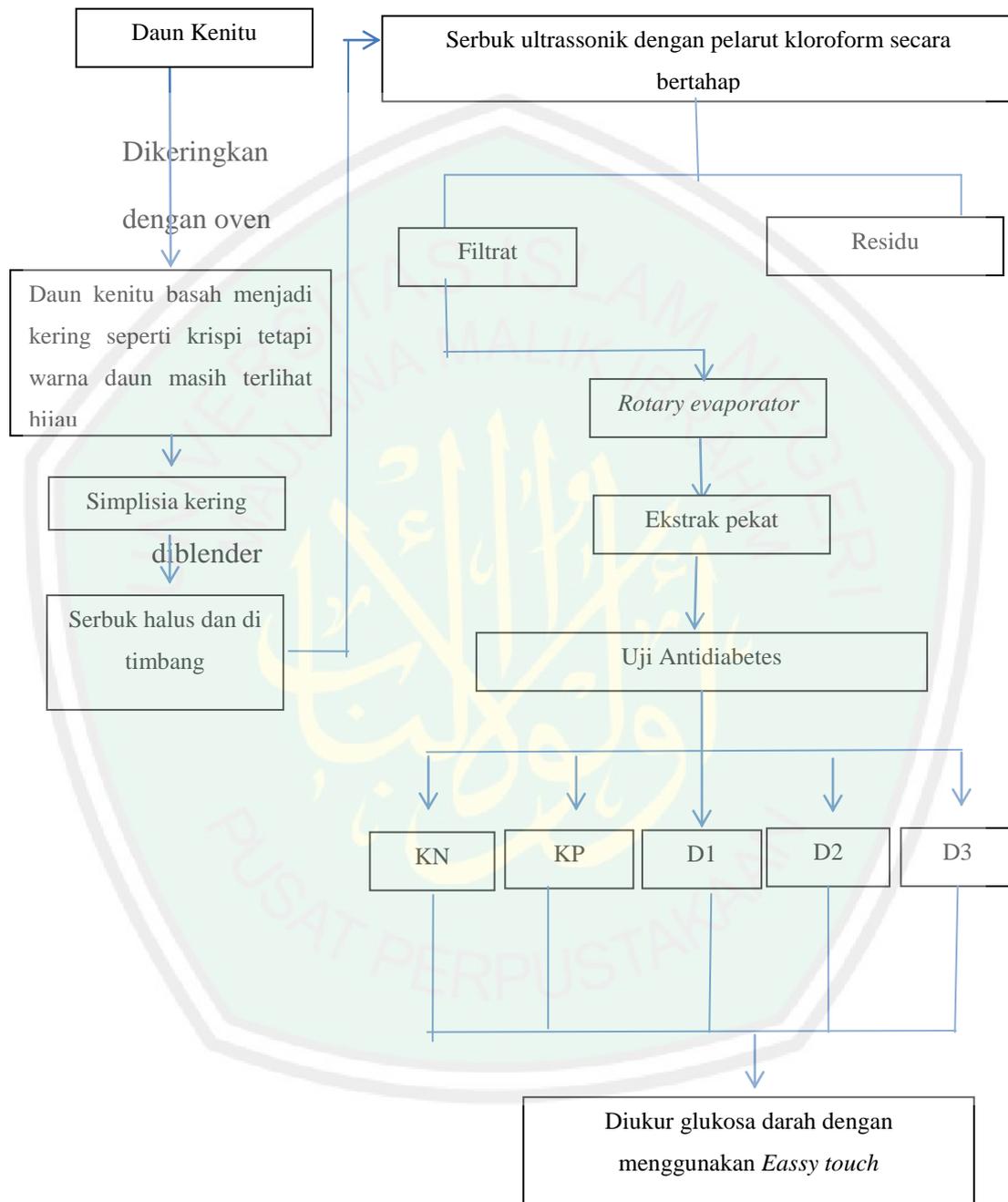
- Tikus dipuaskan selama 8-12 jam, tapi tetap diberi minum.
- Diukur kadar gula darah puasanya (H_0).

- Tikus diinduksi aloksan dengan dosis yang digunakan 32 mg/200 gBB secara intraperitoneal dengan cara tikus diposisikan ke arah frontal hingga terlihat bagian abdomennya.
- Diukur kadar gula darah tikus puasa, tikus dikatakan mengalami diabetes puasa apabila kadar gula darahnya >126 mg/dl.
- Kelompok kontrol negatif diberi aloksan (K-), kelompok kontrol positif diberi aloksan dan obat antidiabetik oral yaitu metformine (K+), kelompok uji 1 diberi aloksan dan ekstrak kloroform daun kenitu dengan dosis 25 mg/kgBB (P1), kelompok uji 2 diberi aloksan ekstrak kloroform daun kenitu dengan dosis 50 mg/kgBB (P2) dan kelompok uji 3 diberi aloksan dan ekstrak kloroform daun kenitu dengan dosis 75 mg/kgBB (P3)
- Perlakuan diberikan satu kali sehari selama 14 hari, kemudian pengukuran gula darah dilakukan pada hari ke 3, 7, dan 14.

4.6.3.6 Pengukuran Kadar Gula Darah

Ekor tikus dioleskan alkohol 70 % dan ditoreh dengan jarum atau dipotong ujung ekor hingga terbentuk luka kecil. Kemudian darah diteteskan pada *strip glucometer*. Hasil yang diperoleh dari *glukometer* merupakan kadar glukosa darah tikus tersebut.

4.7 Skema Prosedur



4.8 Analisis Data

Data hasil pengontrolan secara keseluruhan berupa pengukuran gula darah pada masing-masing kelompok tikus akan dilihat pengaruh dari pemberian ekstrak kloroform daun kenitu. Data yang didapat akan dilakukan dengan uji normalitas dan uji homogenitas serta dianalisis *Analysis Of Variance* (ANOVA) dengan hipotesis sebagai berikut:

H_0 : Tidak ada perbedaan nilai kadar gula darah antar kelompok

H_a : Ada perbedaan nilai kadar gula darah antar kelompok

Pengambilan kesimpulan diperoleh dari harga probabilitas (p) pada $\alpha = 0,05$. Apabila $p > 0,05$ maka H_0 diterima dan H_a di tolak, sebaliknya jika $p < 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_a diterima.

Apabila diperoleh data yang tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji nonparametrik uji *Kruskal-Wallis* dilanjutkan dengan uji nonparametrik *Mann-whitney* untuk melihat masing-masing kelompok mana yang berbeda.

Hipotesis

H_0 : Data pengukuran kadar gula darah tidak berbeda secara signifikan

H_a : Data pengukuran kadar gula darah berbeda secara signifikan

Pengambilan keputusan : Jika nilai signifikansi $< 0,05$ H_0 ditolak

: Jika nilai signifikansi $> 0,05$ H_0 diterima

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Tahap dalam penelitian ini dimulai dari preparasi sampel daun kenitu kemudian pembuatan ekstrak kloroform daun kenitu. Selanjutnya dilakukan uji identifikasi senyawa dengan metode KLT dan kemudian dilakukan uji antidiabetes yang meliputi penyiapan dan perlakuan terhadap herhadap hewan coba, pembuatan larutan aloksan, preparasi tikus diabetes mellitus dan kontrol, terapi tikus dengan ekstrak kloroform daun kenitu, pengukuran kadar gula darah. Tahap selanjutnya yaitu analisis data.

5.1 Preparasi Simplisia Daun Kenitu

Sampel yang digunakan daun kenitu didapatkan dari Balai Matera Medika Kota Batu, Jawa Timur, daunnya berwarna hijau tua bagian atasnya, sedangkan bagian bawah berbulu halus dan berwarna keemasan. Sampel dibersihkan dengan dicuci di bawah air mengalir untuk memisahkan kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya seperti tanah, kerikil, rumput maupun batang. Kemudian dilakukan pengeringan dengan cara oven sampai daun benar-benar kering pada suhu 40⁰C dengan waktu ± 72 jam pengeringan untuk mengeluarkan air dari daun, karena dengan menurunnya kadar air dapat mencegah tumbuhnya kapang dan menurunkan reaksi enzimatik sehingga dapat mencegah terjadinya pengrusakan simplisia. Menggunakan metode oven karena waktu yang diperlukan relatif cepat dan panas yang diberikan relatif konstan (Agoes, 2007; Laksana, 2010). Selain itu

dalam proses penyimpanan sampel kering mempunyai ketahanan lebih lama daripada sampel basah (Anwar, 2013) karena pengeringan akan mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatik, dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga sampel tidak mengalami perubahan (Hayati dkk., 2012).

Simplisia daun kenitu yang telah kering selanjutnya digiling dengan mesin penggiling. Selanjutnya simplisia disimpan dalam kantong plastik di tempat yang kering, tidak lembab dan terhindar dari sinar matahari langsung untuk melindungi simplisia agar tidak rusak atau berubah mutunya (Laksana, 2010).



Gambar 5.1 Serbuk simplisia daun kenitu

5.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dimaksudkan untuk mengetahui kandungan air dalam simplisia daun kenitu. Analisis kadar air dalam simplisia daun kenitu dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Analyzer*. Nilai kadar air dalam simplisia ditunjukkan dalam bentuk % MC dimana untuk memperoleh nilai tersebut simplisia daun kenitu sebanyak $\pm 0,500$ gram ditimbang dalam sample dan dianalisis menggunakan alat *Moisture Analyzer* dan dibutuhkan waktu sekitar 1-2 menit sehingga memperoleh nilai % MC.

Menurut Badan POM (2002) semakin kecil nilai kadar air maka penarikan senyawa aktif oleh pelarut lebih efektif ketika proses ekstraksi. Adapun persentase

10-12% adalah kadar air yang aman bagi bahan kering, sedangkan kurang dari 10% adalah kadar air yang baik. Kadar air ini memenuhi standart karena apabila kadar air yang terkandung dari sampel kurang dari 10 % maka kestabilan akan dapat tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat dikurangi (Puspita, 2009).

Pengukuran nilai kadar air serbuk simplisia kering daun *C.cainito* menggunakan *moisture content analyzer* disajikan pada tabel 5.1 berikut ini:

Tabel 5.1 Nilai kadar air simplisia kering daun kenitu

Replikasi	Berat sampel	Hasil dalam (%)	Rata-rata
1	0,519 g	6,47%	6,75%
2	0,505 g	6,53%	
3	0,510 g	7,25%	

Kadar air yang dihasilakn dari sampel setelah dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali adalah sebesar 6,75%. Dari nilai tersebut dikehui bahwa serbuk simplisia memiliki kadar air yang baik karena kurang dari 10%. Hal ini diduga karena pengeringan pada proses preparasi simplisia telah dilakukan secara maksimal pada suhu yang konstan.

5.3 Ekstraksi Daun Kenitu

Ekstraksi merupakan penarikan komponen aktif dengan menggunakan pelarut tertentu. Komponen aktif tersebut diperoleh dari daun kenitu dengan menggunakan pelarut kloroform. Tujuan pemilihan pelarut kloroform dalam penelitian ini adalah kloroform memiliki sifat semipolar sehingga dapat dengan baik melarutkan alkaloid. Namun tidak hanya senyawa alkaloid yang terekstraksi, tetapi juga senyawa metabolit sekunder lainnya yang memiliki kepolaran berdekatan dengan kloroform. Hal ini telah dibuktikan oleh Hsieh *et al.*, (2004)

yang menemukan senyawa diterpenoid, steroid, dan asetogenin juga terlarut dalam kloroform. Pranata (1997) dalam yanti (2014) mengatakan bahwa kloroform dapat melarutkan alkaloid dengan baik dan telah umum digunakan dalam proses isolasi.

Salah satu metode yang dapat digunakan dalam penelitian ini adalah dengan metode ekstraksi untrasonik, teknik ini dikenal dengan sonokimia yaitu pemanfaatan efek gelombang ultrasonik untuk mempengaruhi perubahan-perubahan yang terjadi pada proses kimia. Keuntungan utama ekstraksi gelombang ultrasonik antara lain efisiensi lebih besar, waktu operasi lebih singkat, dan biasanya laju perpindahan masa lebih cepat jika dibandingkan dengan ekstraksi konvensional menggunakan soxhlet (Garcia dan Castro, 2004). Waktu yang dibutuhkan dalam pengestraksian ini adalah 6 menit dengan pembagian 2 menit pertama simplisia 25 gram dilarutkan dalam 150 ml kloroform, menit ke-2 dilarutkan dalam 150 ml kloroform dan menit terakhir dilarutkan dalam 200 ml pelarut kloroform, salah satu manfaat dari metode ekstraksi untrasonik adalah mempercepat ekstraksi. Hal ini dibuktikan dengan Cameron dan Wang (2006) menyebutkan bahwa rendemen yang didapat dari proses ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik selama 2 menit sebesar 55,2-67,8% hampir sama dengan rendemen yang didapat dari pemanasan dengan air selama 1 jam yaitu 53,4%.



Gambar 5.2 Proses ultrasonik daun kenitu

Hasil ultrasonik selanjutnya dipisahkan dengan menggunakan corong untuk memisahkan filtrat dengan residu. Selanjutnya filtrat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* yang dilakukan pada suhu 50⁰C tujuannya adalah untuk memekatkan ekstrak dan memisahkan antara pelarut dengan senyawa aktif dalam daun kenitu (khunaifi, 2012). Proses penguapan pelarut dilakukan sampai diperoleh ekstrak pekat yang ditandai dengan tidak adanya pelarut yang menetes pada *receiving part* yang diasumsikan bahwa sudah tidak ada pelarut ekstrak pekat (Anwar, 2013).

Hasil ultrasonik dari 75 gram simplisia daun kenitu menggunakan 1500 ml pelarut kloroform adalah sekitar 14,209 gram ekstrak kloroform yang berwarna kecoklatan. Selain itu randemen yang dihasilkan ekstrak dari perbandingan berat ekstrak dengan berat simplisia sebelum di ultrasonik sebesar 18,945 % randemen. Hasil ekstraksi selanjutnya digunakan sebagai uji antidiabetes pada hewan coba.



Gambar 5.3 Ekstrak kental daun kenitu setelah proses *rotary evaporator*

5.4 Uji identifikasi senyawa

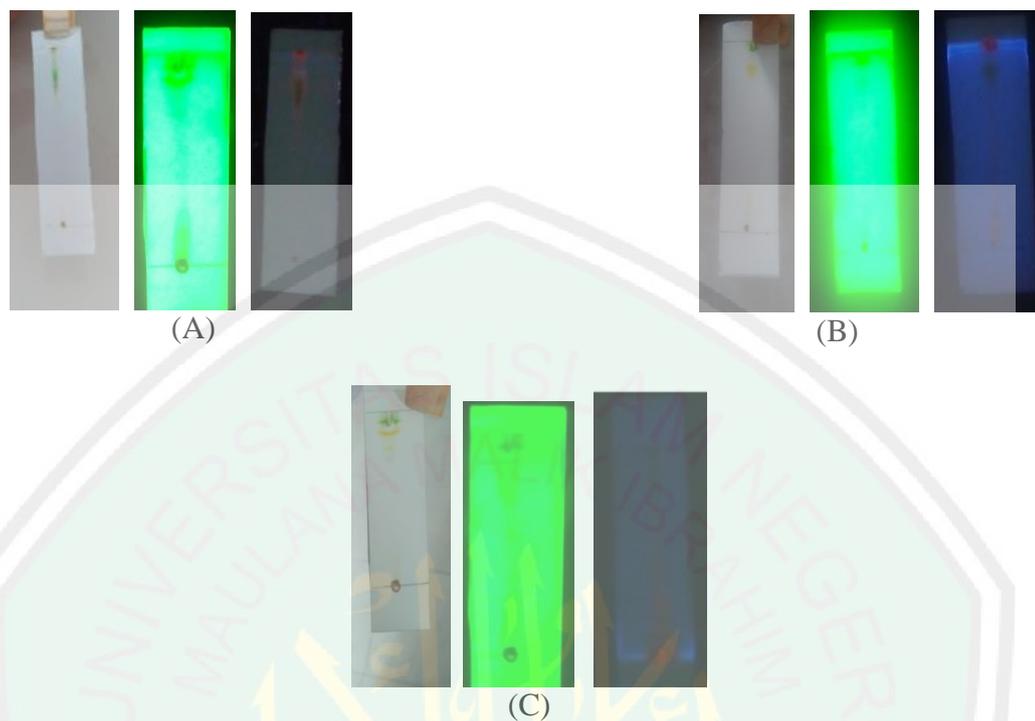
Uji identifikasi senyawa yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan metode kromatografi lapis tipis atau biasa disebut dengan KLT. Pada penelitian ini senyawa yang akan diidentifikasi dari daun kenitu yang diduga dapat menurunkan kadar gula darah adalah menggunakan metode KLT adalah senyawa alkaloid, sterol dan terpenoid.

Untuk mengisolasi suatu senyawa alkaloid pada suatu tumbuhan diperlukan pelarut yang baik untuk mengekstrak senyawa alkaloid tersebut, yaitu pelarut organik seperti eter, alkohol, benzena dan yang lainnya (Ayuni, 2013). Sedangkan pada ekstrak apabila mengandung alkaloid bebas bila dilihat dibawah sinar UV 365 nm berfluoresensi hijau / berwarna jingga dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis atau biasa disebut dengan KLT (Handayani, 2006).

Sedangkan untuk mengetahui adanya kandungan terprnoid dilakukan uji golongan senyawa menggunakan metode kromatografi lapis tipis, senyawa ini menampakan warna yang berbeda dengan senyawa 1 yaitu warna merah sebagai golongan terpenoid (Nurhidayah, dkk. 2015). Selanjutnya senyawa ini ditentukan golongannya menggunakan metode LierbermanBurchard, menunjukkan warna merah kehijauan sebagai golongan steroid (Nurhidayah, dkk. 2015). Hasil uji KLT daun kenitu disajikan pada tabel 5.2 berikut ini:

Tabel 5.2 Hasil Uji KLT

Uji Identifikasi Senyawa	Fase Diam	Fase Gerak	Hasil sinar UV 366	Hasil sinar UV 254	Keterangan
Alkaloid		Kloroform : 9 Metanol : 1	Noda berwarna jingga	Adanya bercak	Positif
Sterol	Silika Gel	n-Heksan : 7 Etl-asetat : 3	Noda berwarna Merah kehijauan	Adanya bercak	Positif
Terpenoid		n-Heksan : 2 Eter : 3 Etil-asetat: 3 Etanol : 2	Noda berwarna Merah	Adanya bercak	Positif



Gambar 5.4 (A) Uji alkaloid (+) mengandung senyawa pada sinar UV 254 & 366 (B) Uji steroid (+) mengandung senyawa pada sinar UV 254 & 366 (C) Uji Terpenoid (+) mengandung senyawa pada sinar UV 254 & 366

5.5 Uji Aktivitas Ekstrak Daun Kenitu terhadap Penurunan Kadar Gula Darah

Penelitian uji aktivitas ekstrak kloroform daun kenitu terhadap penurunan kadar gula darah yang dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui adanya aktivitas antidiabetes pada ekstrak kloroform daun kenitu dan mengetahui dosis optimal ekstrak kloroform daun kenitu pada tikus terhadap penurunan kadar glukosa.

Penelitian ini dilakukan dengan membagi 25 ekor tikus jantan putih galur wistar menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kontrol negatif tidak diberi perlakuan atau terapi, kelompok positif diberi perlakuan dengan memberikan terapi larutan

metformine serta tiga kelompok perlakuan dengan pemberian variasi dosis 25, 50, 75 mg/kgBB tikus. dimana dalam setiap kelompok terdapat 5 ekor hewan coba. Hal ini didasarkan dengan menggunakan rumus Federer (Felicia, 2009). Alasan pemilihan metformin dalam penelitian ini sebagai kontrol negatif adalah mekanisme larutan metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah meliputi stimulasi glikolisis langsung pada jaringan perifer dengan peningkatan pengeluaran glukosa dari darah. Mekanisme kerja metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah tidak bergantung atas adanya sel β pankreas yang berfungsi (Katzung, B.G. 2007).

Tikus yang akan digunakan dalam penelitian ini sebelumnya diaklimatisasi terlebih dahulu selama \pm 1 bulan, yang bertujuan agar hewan coba dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya. Penginduksian dilakukan dengan menggunakan larutan aloksan, Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan (Foster, 2000). Penginjeksian dilakukan dengan cara intraperitoneal yaitu dengan cara menginjeksikan aloksan pada bagian abdomen (perut) hewan coba, alasan pemilihan penginjeksian dengan menggunakan teknik intraperitoneal yaitu lebih menguntungkan jika dibandingkan dengan menggunakan teknik yang lain seperti intravena dan subkutan karena larutan aloksan langsung masuk ke dalam tubuh hewan coba (Giri, 2008).



Gambar 5.5 Injeksi aloksan dengan cara intraperitoneal

Pembuatan larutan aloksan, sebaiknya digunakan dalam keadaan segar (bisa dilihat dari warna) karena larutan aloksan yang segar akan berwarna merah muda, sementara aloksan yang telah teroksidasi menjadi tidak berwarna sehingga kemampuan aloksan dalam menginduksi tikus untuk diabetes melitus berkurang (Hasanah, 2014).



Gambar 5.6 Sediaan larutan aloksan berwarna merah muda

5.5.1 Pengukuran Kadar Gula Darah

Pengukuran kadar gula darah dalam penelitian ini dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh penurunan terhadap pemberian pada tikus yang telah diinduksi dengan aloksan dan diberi terapi dengan ekstrak kloroform daun kenitu.

Dalam penelitian ini darah yang digunakan untuk uji antidiabet adalah diukur kadar gula darah tikus puasa, kadar glukosa dalam darah bervariasi dengan daya penyerapan, akan menjadi lebih tinggi setelah makan dan akan menjadi turun bila tidak ada makanan yang masuk selama beberapa jam. Menurut Hartono

(2006) tikus yang dipuasakan mengalami penurunan kadar glukosa darah. Pengukuran kadar gula darah dilakukan pada hari ke-0, 3, 7, dan 14. Didapatkan hasil pada table 5.3



Gambar 5.7 Grafik pengukuran kadar gula darah pada tikus

Dari hasil rata-rata pengukuran kadar gula darah pada tikus ditunjukkan pada table 5.3 dalam bentuk data deskriptif. Hasil yang diperoleh dari pengukuran kadar gula darah pada tikus ditunjukkan pada table 5.3 yang menunjukkan adanya penurunan kadar gula darah pada tikus.

Tabel 5.3 Hasil rata-rata pengukuran kadar gula darah pada tikus

Kelompok	KGD ₀ mg/dl Mean ± SD	KGD ₃ mg/dl Mean ± SD	KGD ₇ mg/dl Mean ± SD	KGD ₁₄ mg/dl Mean ± SD
Negatif	348.33±97.336	458.67±93.645	579.00±36.373	.
Positif	479.67±72.748	402.67±97.388	187.67±64.671	140.33±15.822
25 mg/kgBB	314.33±133.470	237.00±130.150	182.33±114.605	148.00±67.912
50 mg/kgBB	341.33±169.187	245.67±88.286	167.00±108.885	112.33±18.771
75 mg/kgBB	360.00±75.286	276.33±77.526	134.67±23.007	118.00±25.159

Keterangan:

Jumlah sampel (n) : 3 ekor tikus tiap kelompok

Total sampel : 15 ekor tikus

Berdasarkan hasil yang didapatkan pada penelitian menunjukkan terjadi perubahan kadar gula darah setelah pemberian aloksan, peningkatan kadar gula darah ini disebabkan oleh nekrosis sel- β pada kelenjar pancreas oleh aloksan. Mekanisme perusakan yang selektif oleh aloksan menurut Szkudelski (2001) adalah aloksan berikatan dengan Glut-2 yang memfasilitasi masuknya aloksan ke dalam sitoplasma sel- β pankreas, meningkatkan depolarisasi pada mitokondria sebagai akibat pemasukan ion Ca^{2+} yang diikuti dengan penggunaan energi berlebih sehingga terjadi kekurangan energi dalam sel. Hasil yang diperoleh terlihat bahwa kelompok ekstrak daun kenitu dengan menggunakan varian dosis 25, 50 dan 75 mg/KgBB tikus dan kontrol positif menunjukkan adanya penurunan kadar gula darah pada tikus dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, hal ini menunjukkan adanya penurunan kadar gula darah pada hewan coba setelah pemberian terapi. Penurunan kadar gula darah pada tikus hasil penelitian menunjukkan penurunan kadar gula darah selama perlakuan. Penurunan kadar gula darah paling optimal terjadi pada kelompok diabetes dengan terapi ekstrak kloroform daun kenitu dengan dosis 75 mg/kgBB hewan coba.

Kelompok perlakuan negatif pada hari ke-14 tidak didapatkan data, hal ini disebabkan karena tikus hanya diberi aloksan mengalami kematian sebelum pengambilan darah pada tikus. Kematian ini disebabkan karena tikus mengalami hiperglikemik, dimana kadar gula darah mencapai > 600 mg/dl. Mekanisme toksisitas aloksan diawali dengan masuknya aloksan ke dalam sel-sel beta pancreas dan kecepatan pengambilan akan menentukan sifat diabetogenik aloksan. Kerusakan pada sel-sel β terjadi melalui beberapa proses secara bersamaan, yaitu

melalui oksidasi gugus sulfidril dan pembentukan radikal bebas. Mekanisme kerja aloksan menghasilkan kerusakan pada sel-sel β pancreas terutama menyerang pada senyawa-senyawa seluler yang mengandung gugus sulfidril, asam-asam amino sistein dan protein yang berikatan dengan gugus SH (termasuk enzim yang mengandung gugus SH). Aloksan bereaksi dengan dua gugus SH yang berikatan pada bagian sisi dari protein atau asam amino membentuk ikatan disulfide sehingga menginaktifkan protein yang berakibat pada gangguan fungsi protein tersebut (Szkuldelski, T. 2001).

Pada kelompok perlakuan positif dengan menggunakan terapi metformin, mengalami peningkatan pada hari ke-0 dan mengalami penurunan pada hari ke 3, 7, dan 14. Penurunan kadar gula darah ini disebabkan pemberian metformin dosis 9 mg metformin. Didapatkan hasil bahwa hewan coba yang diinduksi dengan aloksan dan diberi terapi mengalami penurunan kadar gula darah 140 mg/dl. Penurunan kadar gula darah pada tikus kelompok perlakuan diabetes melitus dengan terapi metformin (kontrol positif) dapat disebabkan oleh adanya mekanisme spesifik metformin dalam menurunkan kadar gula darah. Mekanisme metformin dalam menurunkan kadar gula darah meliputi stimulasi glikolisis langsung pada jaringan perifer dengan meningkatkan pengeluaran glukosa dari darah, mengurangi glikoneogenesis hati, memperlambat absorpsi glukosa dari darah, pengurangan kadar glucagon dalam plasma dan meningkatkan pengikatan insulin pada reseptor insulin. Mekanisme kerja metformin dalam menurunkan kadar gula darah tidak bergantung atas adanya sel β pancreas yang berfungsi (Katzung. 2007).

Dari tabel 5.3 terlihat kadar gula darah hari ke-3, 7 dan 14 pada kelompok perlakuan dengan varian dosis ekstrak kloroform daun kenitu yaitu 25, 50, dan 75 mg/KgBB hewan coba, mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan dengan hari ke-0. Penurunan kadar gula darah ini diduga akibat pemberian ekstrak kloroform daun kenitu. Kemampuan ekstrak kloroform daun kenitu dalam menurunkan kadar gula darah dalam penelitian ini diduga karena adanya kandungan senyawa alkaloid, sterol dan triterpen dalam ekstrak kloroform daun kenitu.

Penelitian yang dilakukan puspitasari (2016) skrining fitokimia dilakukan pada golongan alkaloid, saponin, steroid, triterpenoid, flafonoid dan fenolik. Hasil skrining fitokimia sampel ekstrak etanol daun kenitu berbagai varian daun kenitu mengandung golongan senyawa saponin, triterpenoid, flafonoid, fenolik dan tidak mengandung golongan senyawa alkaloid serta steroid. Hal ini sama dengan yang dikatakan Shailajan dan Gurjar (2014) bahwa tidak di temukan senyawa alkaloid pada ekstrak methanol daun kenitu namun, tidak sesuai dengan hasil penelitian Koffi *et al* (2009) yang mengatakan bahwa terdapat golongan senyawa alkaloid pada ekstrak air daun kenitu. Faktor yang dapat menyebabkan perbedaan tersebut adalah lingkungan tempat tumbuh yang berbeda. Daun kenitu secara kimia disaring dan diproduksi alkaloid, flavonoid, fenol, sterol dan triterpens (N'Guessan, 2008). Di antara senyawa ini, alkaloid, sterol dan triterpen dapat dikatakan aktivitas sebagai antidiabetes. Alkaloid digunakan sebagai stimulan dari glikogenogen hepar. Sterol dan triterpen dikenali untuk khasiatnya menurunkan kadar glukosa darah. Alkaloid, Sterol atau triterpen kandungan yang ada didaun

tanaman yang bertanggung jawab atas efek antidiabetes (Koffi *et al.*, 2009). Factor yang dapat menyebabkan perbedaan tersebut adalah lingkungan tempat tumbuh yang berbeda. Saputra (2008) mengatakan bahwa ekstrak kulit buah salak yang berasal dari Yogyakarta mengandung senyawa golongan tannin sedangkan ekstrak kulit buah salak yang berasal dari Balikpapan tidak mengandung golongan senyawa tannin.

Penelitian Arjadi dan Susatyo (2007) menunjukkan adanya peran alkaloid sebagai agen hiperglikemik yang bekerja melalui dua mekanisme utama, yaitu secara intra pankreatik dan ekstra pankreatik. Senyawa alkaloid dalam mekanisme intra pankreatik bekerja dengan cara memperbaiki (regenerasi) sel- β pankreas yang rusak dan melindungi sel- β dari kerusakan serta merangsang pelepasan insulin. Alkaloid terbukti mempunyai kemampuan regenerasi dimana ekstrak alkaloid terbukti secara nyata mempunyai kemampuan regenerasi sel- β pankreas yang rusak. Alkaloid juga mampu memberi rangsangan pada saraf simpatik (simpatomimetik) yang berefek pada peningkatan sekresi insulin. Kerja alkaloid dalam menurunkan gula darah dalam mekanisme ekstra pankreatik yaitu dengan cara meningkatkan transportasi glukosa di dalam darah, menghambat absorbs glukosa di usus, merangsang sintesis glikogen dan menghambat sintesis glukosa dengan menghambat enzim glukosa 6-fosfatase, fruktosa 1,6-bifosfatase yang merupakan enzim yang berperan dalam glukoneogenesis, serta meningkatkan oksidasi glukosa melalui glukosa 6-fosfat dehidrogenase. Penghambatan pada enzim 6-fosfatase dan fruktosa 1,6-bifosfatase ini akan menurunkan pembentukan glukosa dari substrat lain selain karbohidrat (Arjadi dan Susatyo. 2007). Alkaloid

terbukti mempunyai kemampuan regenerasi sel β pankreas yang rusak (Arjadi, F dan P. Susatyo. 2010).

Alkaloid berpotensi menurunkan kadar glukosa darah dengan cara mengurangi resistensi insulin dengan adanya protein kinase C-dependent up-regulasi pada reseptor insulin, meningkatkan glikolisis, merangsang sekresi GLP-1 dan menghambat DPP-4 (Azhari, *et al.*, 2016).

Sedangkan pada kerja triterpenoid dan sterol sebagai penurunan antidiabet dengan meningkatkan aktivitas sekresi insulin pada islet pancreas (Koffie *et al.*, 2009). Triterpenoid dapat bekerja sebagai anti diabetes dengan efek menstimulasi insulin-dependent dan melindungi sel β pankreas dari stress oksidatif dan juga berperan sebagai anti insulin resisten (Guttierez, 2013). Dengan adanya perbaikan pada jaringan pankreas, maka terjadi peningkatan jumlah insulin didalam tubuh sehingga glukosa darah akan masuk kedalam sel sehingga terjadi penurunan glukosa darah dalam tubuh. Dari hasil pengamatan, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kloroform daun kenitu mampu memperbaiki morfologi pulau Langerhans dengan lebih baik.

5.5.2 Analisis Data

Data hasil pengukuran kadar gula darah pada tikus kemudian diolah secara statistik dengan menggunakan *SPSS 16*. Analisis statistik dari data pengukuran kadar gula darah meliputi uji normalitas, uji homogenitas, uji *one way ANOVA* dan apabila diperoleh data yang tidak terdistribusi normal atau tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan

dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda signifikan.

Data pengukuran kadar gula darah pada tikus yang diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro Wilk* diketahui hasil pengukuran kadar gula darah pada tikus terdistribusi normal dengan nilai signifikan ($p > 0,05$). Hasil uji normalitas tersebut dianggap normal apabila nilai *p-value* $> 0,05$. *P-value* hasil uji normalitas pengukuran kadar gula darah terdapat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 *P-value* uji normalitas *Shapiro-Wilk* pengukuran kadar gula darah

Pengukuran	<i>P-value</i> normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	Keterangan
Hari ke-0	0,81	Normal
Hari ke-3	0,97	
Hari ke-7	0,43	

Berdasarkan tabel 5.4 didapatkan *p-value* keempat formula $> 0,05$, maka nilai penurunan kadar gula darah pada tikus normal. Setelah dinyatakan normal, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan *Levene's test*. Diketahui hasil pengukuran kadar gula darah pada tikus terdapat data yang tidak homogen dengan nilai (*p-value* $< 0,05$) yaitu terdapat pada pengukuran di hari ke-7 sebesar $p = 0,03$. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 *P-value* uji homogenitas *Levene's test* pengukuran kadar gula darah

Pengukuran	<i>P-value</i> homogenitas <i>Levene's test</i>	Keterangan
Hari ke-0	0,72	Homogen
Hari ke-3	0,85	
Hari ke-7	0,03	Tidak homogen

Karena adanya data yang tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*, untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok perlakuan.

5.6 Tabel data pengukuran uji nonparametrik *Kruskal Wallis*

Pengukuran	<i>P-value</i> nonparametrik <i>Kruskal-Wallis</i>	Keterangan
Kontrol positif	0,000	Berbeda signifikan
25 mg/KgBB		
50 mg/KgBB		
75 mg/KgBB		

Hasil uji pengukuran data uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* dapat dilihat pada table 5.6. Hasil analisis data pengukuran kadar gula darah dengan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis* diperoleh nilai sigifikasi ($p < 0,05$) yaitu terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan memiliki nilai $< 0,000$ pada hari ke-7. Adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan memiliki nilai $< 0,02$ pada hari ke-3, dan tidak adanya perbedaan yang signifikan pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan memiliki nilai $< 0,384$ pada hari ke-0. Dilanjutkan uji nonparametrik *Mann-Whitenay* untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna pada masing-masing kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol negatif.

5.7 Tabel data pengukuran uji nonparametrik *Mann-Whitenay*

Pengukuran	<i>P-value</i> nonparametrik <i>Mann-Whitenay</i>	Keterangan
Kontrol positif	0,04	Berbeda signifikan
25 mg/KgBB		
50 mg/KgBB		
75 mg/KgBB		

Hasil uji pengukuran data uji nonparametrik *Mann-Whitenay* dapat dilihat pada table 5.7. Hasil analisis data pengukuran kadar gula darah dengan uji nonparametrik *Mann-Whitenay* diperoleh nilai sigifikasi ($p < 0,05$) yaitu terdapat

perbedaan yang signifikan pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, kelompok dosis 25 mg/KgBB, kelompok dosis 50 mg/KgBB, dan kelompok dosis 75 mg/KgBB dengan nilai signifikan sebesar $p = 0,04$ pada hari ke-7.

5.8 Tabel data pengukuran uji nonparametric *Mann-Whitenay*

Pengukuran		<i>P-value</i> Hari ke- 0	<i>P-value</i> Hari ke- 3	<i>P-value</i> Hari ke- 7
Positif	Negatif	0,127	0,827	0,046*
	Dosis 25 mg/KgBB	0,827	0,127	0,827
	Dosis 50 mg/KgBB	0,827	0,127	0,827
	Dosis 75 mg/KgBB	0,827	0,275	0,275
Dosis 25 mg/KgBB	Negatif	0,827	0,127	0,046*
	Positif	0,127	0,127	0,827
	Dosis 50 mg/KgBB	0,827	0,827	0,513
	Dosis 75 mg/KgBB	0,827	0,827	0,827
Dosis 50 mg/KgBB	Negatif	0,827	0,050	0,046*
	Positif	0,127	0,127	0,827
	Dosis 25 mg/KgBB	0,827	0,827	0,513
	Dosis 75 mg/KgBB	0,827	0,275	0,827
Dosis 75 mg/KgBB	Negatif	0,827	0,050	0,046*
	Positif	0,127	0,275	0,275
	Dosis 25 mg/KgBB	0,827	0,827	0,827
	Dosis 50 mg/KgBB	0,827	0,275	0,827

*) adanya perbedaan yang signifikan dibawah p -value 0,05

Dari hasil analisis dengan uji nonparametrik *Mann-Whitenay* pada table 5.8, menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) pada kelompok kontrol positif dengan kelompok dosis 25 mg/KgBB, kelompok dosis 50 mg/KgBB, dan kelompok dosis 75 mg/KgBB. Tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) juga ditunjukkan pada kelompok kontrol dosis 25 mg/KgBB dengan kelompok kontrol positif, kelompok dosis 50 mg/KgBB, dan kelompok dosis 75 mg/KgBB.

Hasil uji nonparametrik *Mann-Whitney* menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) pada kelompok kontrol dosis 50 mg/KgBB dengan kelompok kontrol positif, kelompok dosis 25 mg/KgBB, dan kelompok dosis 75 mg/KgBB. Tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) juga ditunjukkan pada kelompok kontrol dosis 75 mg/KgBB dengan kelompok kontrol positif, kelompok dosis 25 mg/KgBB, dan kelompok dosis 50 mg/KgBB.

Adapun tujuan dari uji nonparametrik *Mann-Whitney* yaitu untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan pada masing-masing kelompok perlakuan, sehingga dari hasil analisis tersebut dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan yang ditunjukkan dengan nilai signifikan $p = 0,04$ pada hari ke-7.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan yang didapatkan peneliti, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kloroform daun kenitu memiliki aktivitas terhadap penurunan kadar gula darah yang ditunjukkan pada kelompok dosis 50 mg/KgBB > 75 mg/KgBB > 25 mg/KgBB dan > kelompok kontrol positif pada hari ke-7.
2. Dosis optimal daun kenitu pada terapi ekstrak kloroform daun kenitu memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar gula darah pada tikus yang diinduksi dengan aloksan terdapat pada dosis 50 mg/KgBB.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil yang didapatkan peneliti, disarankan:

1. Penelitian selanjutnya dilakukan dengan menggunakan pelarut lain, sehingga didapatkan randemen yang lebih tinggi.
2. Penelitian selanjutnya dilakukan penginduksian dengan menggunakan penginduksi yang lain.
3. Penelitian agar dapat dilakukan lebih lanjut dengan penentuan dosis dan pembuatan sediaan farmasi.
4. Peneliti selanjutnya agar dapat lebih memperhatikan pada pemilihan dosis harus sesuai dengan ketentuan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, 2007. *Teknologi Bahan Alam*. ITB Press Bandung.
- Al-Qur'an dan terjemahannya. 2006. Departemen Agama Republik Indonesia. Pustaka Agung Harapan
- Alvin P. 2008. *Diabetes Mellitus*. In: Fauci, editor. *Harrison's Principles of Internal Medicine Volume II (17th Edition)*. United States of America: The McGraw-Hill companies
- American Diabetes Association. 2009. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Available from: http://care.diabetesjournals.org/content/27/suppl_1/s5.full. [diakses tanggal 20 Oktober 2016].
- Ani, D. V., Savitha, B., Paulose, C.S. 2006. *Decreased alpha1-adrenergic receptor binding in the cerebral cortex and brain stem during pancreatic regeneration in rats*, *Neurochemical Research*, 31(6):34-727
- Ariefin. A,P. 2013. *Uji Efek Seduhan Daun Katuk (Sauropus androgynous L. Merr) terhadap Libido Tikus Jantan (Rattus norvegicus) dalam penggunaannya sebagai Afrodisiak dengan Alat Libidometer*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. Vol.2 No.1
- Arjadi F, Susatyo P. 2007. Regenerasi Sel Pulau Langerhans Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes yang Diberi Rebusan Daging Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarp scheff. Boerl.*), 2(2): 118-122.
- Asdie AH. 2000. *Klasifikasi dan Patogenesis Diabetes Mellitus Tipe 2*. Yogyakarta: Medika Press
- Ayuni. Ni putu sri dan Nyoman Sukarta. 2013. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Alkaloid pada Biji Mahoni (Swietenia mahagoni Jacq)*. UNDIKSHA.
- Azhari, Dwinthasari Meilinda , Yuliet , Khildah Khaerati. 2016. *Uji Aktivitas SerbukJamur Tiram Putih (Pleurotus ostreatus(jacq.) p.kumm) Terhadap Kadar Glukosa Darah Pada Model Hewan Hiperkolesterolemia-Diabetes*. *GALENKA Journal of Pharmacy* Vol. 2 (2) : 96 – 102
- Baradero, Marry. Wilfrit D, Marry. Siswadi, Yakobus. 2005. *Klien Gangguan Endokrin: Seri Asuhan Keperawatan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Buraerah, Hakim. 2010. *Analisis Faktor Risiko Diabetes Melitus tipe 2 di Puskesmas Tanrutedong, Sidenreg Rappan.*. Jurnal Ilmiah Nasional; [cited 2010 feb 17]. Available from [:http://lib.atmajaya.ac.id/default.aspx?tabID=61&src=a&id=186192](http://lib.atmajaya.ac.id/default.aspx?tabID=61&src=a&id=186192)
- BP PERKENI. 2011. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes melitus tipe 2 di Indonesia.
- Chougle, A. D, Sharimant N. P, Pradeep M, Gurao dan Akalpita U. A. 2007. *Optimization of Alloxan Done is Essential to Induce Stable Diabetes for Prologet Period.* Asian Journal of Biocamistry. Vol. 2. No. 6: 402-408
- Corwin, Elizabeth J. 2009. *Buku Saku Patofisiologi edisi 3.* Jakarta: Aditya Media
- Covington, D.S., Xue, H., Pizzini, R., Lally, K.P., Andrassy, R.J., 1993, *Streptozotocin and alloxan are comparable agents in the diabetic model of impaired wound healing*, Diabetes Research., 23(2):47-53
- Das, A., Dato I.R., Badaruddin, B.N., Amiya, B. 2010. *A Brief Review on Chrysophyllum cainito.* IJPI's Journal of Pharmacognosy and Herbal Formulations. Vol. 1. No 1: 1-7.
- Depkes. 2005. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Depker RI. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Jakarta.
- Ditjen POM. 2000. *Metode Analisa Pusat Pengujian Obat dan Makanan Nasional. No. 61/Mik/06 tentang Pengujian Angka Lempeng Total.* Jakarta: Badan Pengawas Obat dan Makanan R.I.
- Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Melitus.* Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Einbond, L.S., Kurt A.R., Xiao, D.L., Margaret, J.B., Edward, J.K. 2004. *Anthocyanin Antioxidants from Edible Fruits.* Food Chemistry. 84: 23-28.
- Felicia. 2009. Efek Neuroterapi Ekstrak Air Akar Acalypha Indica Linn. (Akar Kucing) Dosis 20 Mg dan 25 Mg Secara Eks Vivo pada Saraf-otot Gastroknemius Katak. *Skripsi Tidak Diterbitkan.* Jurusan Kedokteran Hewan Universitas Indonesia.
- Fitriani, W. S, 2011. *Pengaruh Pemberian Sari Buah Mengkudu terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan*

yang Dibuat Diabetes. Skripsi tidak diterbitkan. Depok. Jurusan Farmasi Universitas Indonesia.

Fernandez. E, Marti. M.A, Fajardo. S, Bailbe. D, Gangnerau. M.N, Portha. B, Escriva. F, Serradas. P, Alvarez. C, 2006. *Undernutrition does not alter the activation of beta-cell neogenesis and replication in adult rats after partial pancreatectomy*: American Journal Of Physiology-Endocrinology & Metabolism, 291(5):E913-21.

Filipponi P, Gregorio F, Cristallini S, Ferrandina C, Nicoletti I, Santeusanio F. 2008. *Selective impairment of pancreatic A cell suppression by glucose during acute alloxan – induced insulinopenia: in vitro study on isolated perfused rat pancreas*. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3522213>

Foster DW. 2000. *Diabetes Mellitus*. In: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL. Harrison *Prinsip – prinsip imu penyakit dalam*. Edisi 13. Volume 5. Alih bahasa : Asdie AH. Jakarta : EGC: 2196 – 217.

Garcia J.L.L., Castro M.L.L., 2003. *Ultrasound: a powerful for leaching*, *Trends in Anal. Chem.*, Vol. 22, pp. 41- 47.

Gogate Gogate, P.R., R.K. Tayal dan A.B. Pandit. 2006. *Cavitation: A technology on the horizon current science*, vol. 91, no.1

Gutierrez, R.M.P., (2013), *Evaluation of The Hypoglycemic and Hypolipidemic Effect of Triterpenoids From Prosthea Michuacana in Streptozotocin-induced Type 2 Diabetic mice*. Laboratorio de investigation de productos naturales, Escuela Superior de Ingenieria Quimicae industrials extractivas IPN, Mexico.

Guyton Dan Hall. 2006. Buku Ajar Fisiologi Kedokteran. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran.

Hadisaputro S, Setyawan H. 2007. *Epidemiologi dan Faktor-faktor risiko terjadinya diabetes mellitus tipe 2*. Dalam Diabetes mellitus ditinjau dari berbagai aspek penyakit. 133-53.

Handayani, Dian. 2006. *Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Eugenia Cumini Merr*. Universitas Andalas.

Harding, Anne Helen et al.2003. *Dietary Fat adn Risk of Clinic Type Diabetes*. *A,erican Journal of Epidemiology*;15(1);150-9.

Herqutanto. 2009. *Wahai Dokter Indonesia, Berkomunikasilah*. Available at www.digitaljournals.org [diakses tanggal 20 Oktober 2016].

- Hsieh TJ, Wu YC, Chen SC, Huang CS, Chen CY. 2004. *Chemical constituents from Annona glabra*. J Chinese Chem Soc. 51:869-876.
- Ibnu Gholib Gandjar & Abdul Rohman. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Izza, Ni'matul. 2011. Aplikasi Gelombang Ultrasonik Pada Proses Pengolahan Biodiesel Berbahan Baku Jarak Pagar (*Jatropha CurcL.*). Thesis. Universitas Brawijaya. Malang.
- Jaya. 2007. *Ekstrak Buah Pare untuk Penderita Diabetes Melitus*. Media Informasi Kesehatan.
- Nurhidayah, Minarti, Anugrah Pratama, Imran. 2015. *Uji aktivitas senyawa turunan terpenoid, steroid dan fenolik dari ekstrak jaringan kayu batang tumbuhan ndokulo (kleinhovia hospital.) Terhadap pertumbuhan sel kanker (leukemia p-388)*. Universitas Halu Oleo: Kendari.
- Katzung, B.G. 2007. Pancreatic Hormones and Antidiabetic Drugs. In: Basic and Clinical Pharmacology 10th Ed Chapter 41 : 683-705
- Koffi N, Ernest AK, Marie-Solange T, Beugre K, Noel ZG. 2009. *Effect of aqueous extract of Chrysophyllum cainito leaves on the glycaemia of diabetic rabbits*. Afr. J. Pharm. Pharmacol. Oktober; Vol. 3. No 10: 501-506
- Kuldiloke. 2002. *Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatment on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juice*. Dissertation der Technischen Universitat Berlin: Berlin
- Kusumawati, 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gajah Mada Universitas Press.
- Laksana, Toga. 2010. *Pembuatan Simplisia dan Standarisasi Simplisia*. Yogyakarta: UGM
- Lenzen S. 2008. *The mechanism of alloxan and streptozotocin induced diabete Diabetologia*. Vol 51: 216-226. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> [diakses tanggal 23 Januari 2016].
- Luo, X.D., Basile, M.J., Kennely, E.J., 2002. *Polyphenolic Antioxidants from Chrysophyllum cainito L. (Star Apple)*. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 50, 6, 1379-1382.
- Manaf A., 2009. *Buku Ajar Penyakit Dalam: Insulin : Mekanisme Sekresi Dan Aspek Metabolisme*. Jilid III, Edisi 4, Jakarta: FK UI pp. 1897-99.

- Mansjoer A, Triyanti K, Savitri R, Wardhani WI, Setiowulan W. 2007. *Kapita selekta kedokteran. Edisi 3. Jilid 1*. Jakarta: Media Aesculapius Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia: 580-8.
- Misnadiarly, 2006. *Diabetes Militus Gangren, Ulcer, Injeksi, Mengenali gejala, Menanggulangi dan Mencegah Komplikasi*. Jakarta: Pustaka Obor Populer.
- Morton, J. 1987. Star Apple. in: Morton, J., *Fruits of Warm Climates*, Miami Florida. 408–410
- N'Guessan K. 2008. *Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles chez les peuples Abbey et Krobou du Département d'Agboville (Côte-d'Ivoire)*. Thèse de Doctorat ès Sciences Naturelles. Université de Cocody-Abidjan, U.F.R. Biosciences, Laboratoire de Botanique. N° d'ordre : 561 / 2008, p. 235.
- Permatasari. 2007. *Sirup Diabetes Menggunakan Gula Xilitol dari Ampas Tebu dan Jeruk Purut*.
- Pramesti, O. M dan Simon, B. W. 2014. *Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Melitus*. Jurnal Pangan dan Agroindustri. Vol. 2. No. 2.
- Puspita. M. D. A. 2009. *Pengoptimuman Fase Gerak KLT Menggunakan Desain Campuran Untuk Pemisahan Komponen Ekstrak Meniran (Phyllanthus niruri)*. Skripsi. Diterbitkan departemen Kimia Fakultas MIPA: IPB.
- Rees, D, A and Alcolado, J. C., 2005, *Animal models of diabetes mellitus, Diabetic Medicine*, 22: 359-370.
- Rezchy Dhamuri Ayu, Fatimawali, Gayatri Citraningtyas. 2014. *Uji efektifitas Penurunan Kadar Gula Ekstrak Etanol Daun Sendok pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Sukrosa*. Jurnal Ilmia Farmasi. Vol. 3. No 2.
- Roy J. Gritter, James M. Bobbit, Arthur E. S., 2009. *Pengantar Kromatografi*. Penerbit ITB. Bandung
- Teixeria L. 2011. *Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammanatory properties*. Biomed Central Cardiovascular Diabetology; 10(2);1-15.
- USDA. 2003. URL: www.plants.usda.gov. [diakses tanggal 22 Agustus 2016]
- Saifan C, Nasr R, Mehta S, Acharya PS, Perrera I, Faddoul G. 2013. *Diabetes insipidus: A challenging diagnosis with new drug therapies*.

- Savitri, Evika Sandi. 2008. *Rahasia Tumbuhan Berkhasiat Obat Perspektif Islam*. Malang: UIN Press
- Soegondo S. 2005. *Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu*. Penerbit FKUI: Jakarta.
- Szkudelski T. 2001. *The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas*. *Physiology Research*. 50: 536-54
- Suharmiati. 2003. *Pengujian bioaktifitas anti diabetes melitus tumbuhan obat*. *Cermin Dunia Kedokteran*. Vol 9: 140
- Sukandar. 2008. *Iso Farmakoterapi*.i Jakarta: PT ISFI
- Watkins D, Cooperstein SJ, Lazarow A. 2008. *Effect of alloxan on permeability of pancreatic islet tissue in vitro*. Available from: <http://ajplegacy.physiology.org/cgi/content/abstract/207/2/436>
- Wuragil. 2006. *Potensi Ekstrak Sambiloto (Andrographis paniculata) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Keberadaan Tumor Nekrosis Faktor Alfa Pada Pankreas Tikus (Rattus norvegicus) Diabetes Hasil Paparan MLD-STZ*. Skripsi Jurusan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Malang: Universitas Brawijaya

Lampiran 1. Analisis Statistik Pengukuran Kadar Gula Darah

A. Uji Normalitas

Tujuan : Untuk mengetahui data pengukuran kadar gula darah terdistribusi normal atau tidak

Hipotesis

H_0 : Data pengukuran kadar gula darah terdistribusi normal

H_a : Data pengukuran kadar gula darah tidak terdistribusi normal

Pengambilan keputusan : Jika nilai signifikansi $>0,05$ H_0 diterima

: Jika nilai signifikansi $<0,05$ H_0 ditolak

Tests of Normality^b

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
harike0 Negative	.205	3	.	.993	3	.841
Positif	.353	3	.	.823	3	.171
25 mg/KgBB	.262	3	.	.956	3	.596
50 mg/KgBB	.273	3	.	.945	3	.549
75 mg/KgBB	.331	3	.	.865	3	.280
harike3 Negative	.220	3	.	.986	3	.776
Positif	.342	3	.	.845	3	.226
25 mg/KgBB	.213	3	.	.990	3	.809
50 mg/KgBB	.359	3	.	.811	3	.141
75 mg/KgBB	.362	3	.	.804	3	.123
harike7 Negative	.385	3	.	.750	3	.621
Positif	.380	3	.	.763	3	.430
25 mg/KgBB	.349	3	.	.831	3	.192
50 mg/KgBB	.324	3	.	.878	3	.317
75 mg/KgBB	.178	3	.	.999	3	.952
harike14 Positif	.258	3	.	.960	3	.614
25 mg/KgBB	.348	3	.	.833	3	.197
50 mg/KgBB	.244	3	.	.971	3	.675
75 mg/KgBB	.364	3	.	.800	3	.114

a. Lilliefors Significance Correction

b. harike14 is constant when kelompok = negatif. It has been omitted.

Keputusan:

H_0 (diterima) = data pengukuran kadar gula darah tikus selama hari pengukuran terdistribusi normal

B. Uji Homogenitas

Tujuan : Untuk mengetahui data pengukuran kadar gula darah terdistribusi homogen atau tidak

Hipotesis

H_0 : Data pengukuran kadar gula darah terdistribusi homogen

H_a : Data pengukuran kadar gula darah tidak terdistribusi homogen

Pengambilan keputusan : Jika nilai signifikansi $>0,05$ H_0 diterima

: Jika nilai signifikansi $<0,05$ H_0 ditolak

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Harike-0	.522	4	10	.722
Harike-3	.330	4	10	.852
Harike-7	4.066	4	10	.033
Harike-14	5.698	3	8	.022

Keputusan:

H_0 (ditolak) = data pengukuran kadar gula darah tikus pada hari ke-7 dan hari ke-14 tidak terdistribusi homogen

Nilai signifikansi ($p > 0,05$) yaitu hari ke-7 $p = 0,03$ dan hari ke-14 $p = 0,02$

C. Uji Nonparametrik *Kruskal-Wallis*

Tujuan : Untuk mengetahui data pengukuran kadar gula darah berbeda secara signifikan pada kelompok perlakuan.

Hipotesis

H_0 : Data pengukuran kadar gula darah tidak berbeda secara signifikan

H_a : Data pengukuran kadar gula darah berbeda secara signifikan

Pengambilan keputusan : Jika nilai signifikansi $<0,05$ H_0 ditolak

: Jika nilai signifikansi $>0,05$ H_0 diterima

Ranks

kelompok	N	Mean Rank
harike0 Kontron Negatif	3	6.67
Kontrol Positif	3	12.67
25 mg/KgBB	3	6.33
50 mg/KgBB	3	7.00
75 mg/KgBB	3	7.33
Total	15	
harike3 Kontron Negatif	3	12.33
Kontrol Positif	3	11.00
25 mg/KgBB	3	5.33
50 mg/KgBB	3	4.67
75 mg/KgBB	3	6.67
Total	15	
harike7 Kontron Negatif	3	14.00
Kontrol Positif	3	7.67
25 mg/KgBB	3	6.67
50 mg/KgBB	3	5.67
75 mg/KgBB	3	6.00
Total	15	

Test Statistics^{a,b}

	harike0	harike3	harike7
Chi-Square	4.167	7.167	7.113
df	4	4	4
Asymp. Sig.	.384	.021	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: kelompok



D. Uji Nonparametrik *Mann-Whitney*

Tujuan : Untuk mengetahui data pengukuran kadar gula darah berbeda secara signifikan pada masing-masing kelompok perlakuan.

Hipotesis

H_0 : Data pengukuran kadar gula darah tidak berbeda secara signifikan

H_a : Data pengukuran kadar gula darah berbeda secara signifikan

Pengambilan keputusan : Jika nilai signifikansi $<0,05$ H_0 ditolak

: Jika nilai signifikansi $>0,05$ H_0 diterima

1. Kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kontrol metformine

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
harike0	Negatif	3	2.33	7.00
	Positif	3	4.67	14.00
	Total	6		
harike3	Negatif	3	3.67	11.00
	Positif	3	3.33	10.00
	Total	6		
harike7	Negatif	3	5.00	15.00
	Positif	3	2.00	6.00
	Total	6		
harike14	Negatif	0	0.00	0.00
	Positif	3	5.00	15.00
	Total	3		

Test Statistics^b

	harike0	harike3	harike7
Mann-Whitney U	1.000	4.000	.000
Wilcoxon W	7.000	10.000	6.000
Z	-1.528	-.218	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127	.827	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a	1.000 ^a	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

2. Kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kontrol dosis 25 mg/KgBB

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
harike0	Negatif	3	3.67	11.00
	25mg/KgBB	3	3.33	10.00
	Total	6		
harike3	Negatif	3	4.67	14.00
	25mg/KgBB	3	2.33	7.00
	Total	6		
harike7	Negatif	3	5.00	15.00
	25mg/KgBB	3	2.00	6.00
	Total	6		
harike14	Negatif	0	0.00	0.00
	25mg/KgBB	3	5.00	15.00
	Total	3		

Test Statistics^b

	harike0	harike3	harike7
Mann-Whitney U	4.000	1.000	.000
Wilcoxon W	10.000	7.000	6.000
Z	-.218	-1.528	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827	.127	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a	.200 ^a	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

3. Kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kontrol dosis 50 mg/KgBB

Ranks

kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
harike0 Negatif	3	3.33	10.00
50mg/KgBB	3	3.67	11.00
Total	6		
harike3 Negatif	3	5.00	15.00
50mg/KgBB	3	2.00	6.00
Total	6		
harike7 Negatif	3	5.00	15.00
50mg/KgBB	3	2.00	6.00
Total	6		
harike14 Negatif	0	0.00	0.00
50mg/KgBB	3	5.00	15.00
Total	3		

Test Statistics^b

	harike0	harike3	harike7
Mann-Whitney U	4.000	.000	.000
Wilcoxon W	10.000	6.000	6.000
Z	-.218	-1.964	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827	.050	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a	.100 ^a	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

4. Kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kontrol dosis 75 mg/KgBB

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
harike0	Negatif	3	3.33	10.00
	75mg/KgBB	3	3.67	11.00
	Total	6		
harike3	Negatif	3	5.00	15.00
	75mg/KgBB	3	2.00	6.00
	Total	6		
harike7	Negatif	3	5.00	15.00
	75mg/KgBB	3	2.00	6.00
	Total	6		
harike14	Negatif	0	0.00	0.00
	75mg/KgBB	3	5.00	15.00
	Total	3		

Test Statistics^b

	harike0	harike3	harike7
Mann-Whitney U	4.000	.000	.000
Wilcoxon W	10.000	6.000	6.000
Z	-.218	-1.964	-1.993
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827	.050	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a	.100 ^a	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

5. Kelompok perlakuan kontrol metformine dengan kontrol dosis 25 mg/KgBB

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
harike0	Positif	3	4.67	14.00
	25mg/KgBB	3	2.33	7.00
	Total	6		
harike3	Positif	3	4.67	14.00
	25mg/KgBB	3	2.33	7.00
	Total	6		
harike7	Positif	3	3.67	11.00
	25mg/KgBB	3	3.33	10.00
	Total	6		
harike14	Positif	3	4.00	12.00
	25mg/KgBB	3	3.00	9.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	harike0	harike3	harike7	harike14
Mann-Whitney U	1.000	1.000	4.000	3.000
Wilcoxon W	7.000	7.000	10.000	9.000
Z	-1.528	-1.528	-.218	-.655
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127	.127	.827	.513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a	.200 ^a	1.000 ^a	.700 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

6. Kelompok perlakuan kontrol metformine dengan kontrol dosis 50 mg/KgBB

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
harike0	Positif	3	4.67	14.00
	50mg/KgBB	3	2.33	7.00
	Total	6		
harike3	Positif	3	4.67	14.00
	50mg/KgBB	3	2.33	7.00
	Total	6		
harike7	Positif	3	3.67	11.00
	50mg/KgBB	3	3.33	10.00
	Total	6		
harike14	Positif	3	4.67	14.00
	50mg/KgBB	3	2.33	7.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	harike0	harike3	harike7	harike14
Mann-Whitney U	1.000	1.000	4.000	1.000
Wilcoxon W	7.000	7.000	10.000	7.000
Z	-1.528	-1.528	-.218	-1.528
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127	.127	.827	.127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a	.200 ^a	1.000 ^a	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

7. Kelompok perlakuan kontrol metformine dengan kontrol dosis 75 mg/KgBB

Ranks

kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
harike0	Positif	3	4.67	14.00
	75mg/KgBB	3	2.33	7.00
	Total	6		
harike3	Positif	3	4.33	13.00
	75mg/KgBB	3	2.67	8.00
	Total	6		
harike7	Positif	3	4.33	13.00
	75mg/KgBB	3	2.67	8.00
	Total	6		
harike14	Positif	3	4.33	13.00
	75mg/KgBB	3	2.67	8.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	harike0	harike3	harike7	harike14
Mann-Whitney U	1.000	2.000	2.000	2.000
Wilcoxon W	7.000	8.000	8.000	8.000
Z	-1.528	-1.091	-1.091	-1.091
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127	.275	.275	.275
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a	.400 ^a	.400 ^a	.400 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

8. Kelompok perlakuan kontrol dosis 25 mg/KgBB dengan kontrol dosis 50 mg/KgBB

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
harike0	25mg/KgBB	3	3.33	10.00
	50mg/KgBB	3	3.67	11.00
	Total	6		
harike3	25mg/KgBB	3	3.33	10.00
	50mg/KgBB	3	3.67	11.00
	Total	6		
harike7	25mg/KgBB	3	4.00	12.00
	50mg/KgBB	3	3.00	9.00
	Total	6		
harike14	25mg/KgBB	3	3.83	11.50
	50mg/KgBB	3	3.17	9.50
	Total	6		

Test Statistics^b

	harike0	harike3	harike7	harike14
Mann-Whitney U	4.000	4.000	3.000	3.500
Wilcoxon W	10.000	10.000	9.000	9.500
Z	-.218	-.218	-.655	-.443
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827	.827	.513	.658
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a	1.000 ^a	.700 ^a	.700 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

9. Kelompok perlakuan kontrol dosis 25 mg/KgBB dengan kontrol dosis 75 mg/KgBB

Ranks

	kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
harike0	25mg/KgBB	3	3.33	10.00
	75mg/KgBB	3	3.67	11.00
	Total	6		
harike3	25mg/KgBB	3	3.33	10.00
	75mg/KgBB	3	3.67	11.00
	Total	6		
harike7	25mg/KgBB	3	3.33	10.00
	75mg/KgBB	3	3.67	11.00
	Total	6		
harike14	25mg/KgBB	3	3.83	11.50
	75mg/KgBB	3	3.17	9.50
	Total	6		

Test Statistics^b

	harike0	harike3	harike7	harike14
Mann-Whitney U	4.000	4.000	4.000	3.500
Wilcoxon W	10.000	10.000	10.000	9.500
Z	-.218	-.218	-.218	-.443
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827	.827	.827	.658
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a	1.000 ^a	1.000 ^a	.700 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: kelompok

10. Kelompok perlakuan kontrol dosis 50 mg/KgBB dengan kontrol dosis 75 mg/KgBB

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
harike0	50mg/KgBB	3	3.33	10.00
	75mgKgBB	3	3.67	11.00
	Total	6		
harike3	50mg/KgBB	3	2.67	8.00
	75mgKgBB	3	4.33	13.00
	Total	6		
harike7	50mg/KgBB	3	3.33	10.00
	75mgKgBB	3	3.67	11.00
	Total	6		
harike14	50mg/KgBB	3	3.33	10.00
	75mgKgBB	3	3.67	11.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	harike0	harike3	harike7	harike14
Mann-Whitney U	4.000	2.000	4.000	4.000
Wilcoxon W	10.000	8.000	10.000	10.000
Z	-.218	-1.091	-.218	-.218
Asymp. Sig. (2-tailed)	.827	.275	.827	.827
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a	.400 ^a	1.000 ^a	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

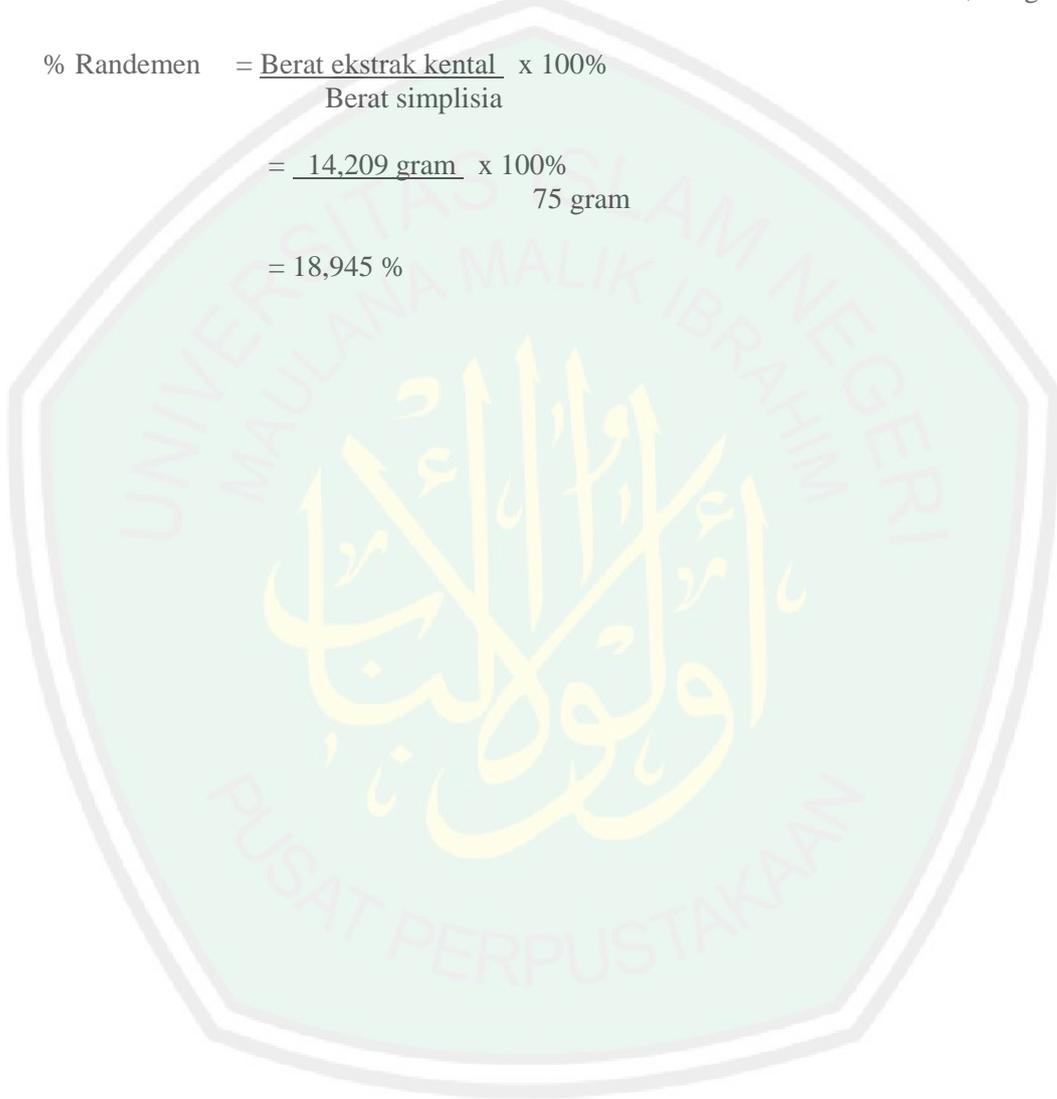
b. Grouping Variable: kelompok

Lampiran 2. Perhitungan Randemen Ekstrak Kloroform Daun Kenitu

Diketahui :Berat serbuk simplisia = 75 gram

:Berat ekstrak kental daun kenitu = 14,209 gram

$$\begin{aligned}\% \text{ Randemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\% \\ &= \frac{14,209 \text{ gram}}{75 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 18,945 \%\end{aligned}$$



Lampiran 3. Uji Kadar Air Simplisia Daun Kenitu

A. Pengukuran 1

Jumlah Sampel yang ditimbang : 0,519 gram
Hasil Kadar air simplisia (%MC) : 6,47 %MC

B. Pengukuran 2

Jumlah Sampel yang ditimbang : 0,050 gram
Hasil Kadar air simplisia (%MC) : 6,53 %MC

C. Pengukuran 3

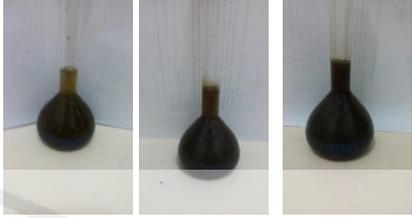
Jumlah Sampel yang ditimbang : 0,510 gram
Hasil Kadar air simplisia (%MC) : 7,25 %MC

Rata-rata kadar air simplisia daun kenitu:

$$\begin{aligned} &= \frac{\text{Pengukuran 1} + \text{pengukuran 2} + \text{pengukuran 3}}{3} \\ &= \frac{6,47\% + 6,53\% + 7,25\%}{3} \\ &= 6,75\%MC \end{aligned}$$

Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian

Perlakuan	Gambar
Proses pengukuran kadar air daun kenitu dengan alat <i>moisture analyzer</i>	
Proses Ultrasonik	
Proses pemekatan ekstrak dengan <i>rotary ewaporator</i>	
Ekstrak kloroform daun kenitu	
Adaptasi hewan coba tikus selama 1 bulan	
Pembuatan larutan aloksan, dilarutkan 800mg aloksan dalam 100 ml aquades dalam labu ukur.	
Pembuatan larutan metformine sebagai kontrol positif. Digerus 1800 mg metformine dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam labu ukur.	

<p>a. Pembuatan sediaan dosis 25 mg/KgBB</p> <p>b. Pembuatan sediaan dosis 50 mg/KgBB</p> <p>c. Pembuatan sediaan dosis 75 mg/KgBB</p>	 <p style="text-align: center;">a b c</p>
<p>Injeksi aloksan ke tikus dengan cara intraperitoneal</p>	
<p>Proses terapi pada hewan coba dengan cara pencengkokkan</p>	