

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96% BEKATUL
(*Rice bran*) DAN PENGARUH TERAPINYA TERHADAP GAMBARAN
HISTOLOGI PANKREAS MENCIT (*Mus musculus*) DIABETES
MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh:
KHALIMATUL ULYAH
NIM. 14630014



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96% BEKATUL
(*Rice bran*) DAN PENGARUH TERAPINYA TERHADAP GAMBARAN
HISTOLOGI PANKREAS MENCIT (*Mus musculus*) DIABETES
MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh:
KHALIMATUL ULYAH
NIM. 14630014

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96% BEKATUL
(*Rice bran*) DAN PENGARUH TERAPINYA TERHADAP GAMBARAN
HISTOLOGI PANKREAS MENCIT (*Mus musculus*) DIABETES
MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh:
KHALIMATUL ULYAH
NIM. 14630014

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 11 Januari 2019

Pembimbing I



Diana Candra Dewi, M.Si
NIP. 19770720 200312 2 001

Pembimbing II



Ahmad Hanapi, M.Sc
NIDT. 19851225 20160801 1 069

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**



Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL 96% BEKATUL
(Rice bran) DAN PENGARUH TERAPINYA TERHADAP GAMBARAN
HISTOLOGI PANKREAS MENCIT (*Mus musculus*) DIABETES
MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh:
KHALIMATUL ULYAH
NIM. 14630014

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 14 Januari 2019

Penguji Utama : Elok Kamilah Hayati, M.Si (.....)
NIP. 19790620 200604 2 002

Ketua Penguji : Akyunul Jannah, S.Si, M.P (.....)
NIP. 19750410 200501 2 009

Sekretaris Penguji : Diana Candra Dewi, M.Si (.....)
NIP. 19770720 200312 2 001

Anggota Penguji : Ahmad Hanapi, M.Sc (.....)
NIDT. 19851225 20160801 1 069



PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Khalimatul Ulyah
NIM : 14630014
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul penelitian : Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Bekatul
(*Rice bran*) dan Pengaruh Terapinya Terhadap Gambaran
Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*) Diabetes
Mellitus

menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan 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, 14 Januari 2019
Yang membuat pernyataan,



Khalimatul Ulyah
NIM. 14630014

MOTTO

وَمَنْ جَاهَدَ فَإِنَّمَا يُجَاهِدُ لِنَفْسِهِ

“Barang siapa yang bersungguh-sungguh, maka sesungguhnya kesungguhan itu untuk dirinya sendiri”

(QS. Al-ankabut: 6)

“GOOD SCIENCE STARTS WITH GOOD ETHICS”

Ilmu yang baik dimulai dengan etika yang baik

HALAMAN PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT, sujud syukurku kusembahkan kepadaMu tuhan yang Maha Agung. Curahan cinta, kasih sayang serta hidayahMu, telah memberikanku kekuatan dan pelita dalam kegelapan. Atas ridhoMu pula, telah memberikanku kemudahan dalam menimba ilmu dan menyelesaikan skripsi yang sederhana ini. Semoga keberhasilan dalam menyelesaikan skripsi yang sederhana ini menjadi satu langkah awal bagiku untuk meraih cita-cita besarku.

Sholawat serta salam semoga tetap tercurah untuk sang revolusioner sejati, nabi agung Muhammad SAW yang telah menunjukkan kepada kita dari jalan yang gelap menuju jalan yang terang benderang yakni agama islam.

Sebuah karya sederhana dari perjuangan selama 4,5 tahun ini kupersembahkan kepada orang-orang istimewa yang ku cinta dan sayangi.

Teruntuk Bapak Alm. Sopan dan Ibu Marliyan, yang tiada hentinya selama ini memberiku semangat, do'a, motivasi, nasehat dan kasih sayang serta pengorbanan yang tak tergantikan hingga aku selalu kuat menjalani setiap rintangan yang ada dalam proses pendewasaan diri. Aku bersyukur bahwa Allah telah menempatinku diantara kedua malaikatNya yang setiap waktu ikhlas menjaga, mendidik dan membimbingku dengan baik tanpa mengenal lelah. Terima kasih Pak, Bu, semoga lembaran kertas yang kususun menjadi sebuah karya sederhana ini menjadi sebuah kebahagiaan tersendiri untuk kalian dan menjadi langkah awal ku untuk mencapai cita-cita ku.

Kepada Ibu Diana Candra Dewi, Ibu Akyunul Jannah, Ibu Hafidatul Hasanah dan Bapak Ahmad Hanapi sebagai dosen pembimbing. Terima kasih atas dukungan, motivasi, arahan, nasehat, kesabaran serta waktu yang Ibu Bapak luangkan untuk mengajarkan saya menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih juga saya ucapkan kepada seluruh dosen jurusan kimia, seluruh laboran jurusan kimia dan laboran biologi (Bapak M.Basyaruddin) atas seluruh bekal ilmu, jasa dan bantuan yang telah diberikan. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat, kesehatan dan umur yang panjang.

Untuk kakak-kakakku (Mat Nafik, Nurgianto dan Mulyadi). Terima kasih untuk segala bantuan baik secara moril maupun materiil, do'a dan semangat yang diberikan. Semoga ini menjadi awal bagi saya untuk membanggakan kalian.

Terima kasih kepada teman-teman tim DM (Nafis dan Marsya) yang telah bersedia menjadi teman penelitian, diskusi, berjuang bersama, tangis, canda dan tawa. Teman-teman Kimia A yang selalu memberikan kritik dan saran yang membangun serta Kimia Angkatan 2014 yang luar biasa.

Terima kasih kepada Ustadz Abu dan Ustadzah Nur Chanifah yang telah banyak memberikan ilmu serta do'a dan semangat. Keluarga PPTQ Oemah Al-Qur'an yang senantiasa memberikan semangat baik dalam hal agar rajin mengaji dan menyelesaikan kuliah.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur penulis ucapkan kehadiran Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan proposal penelitian ini dengan judul **“Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Bekatul (*Rice bran*) dan Pengaruh Terapinya Terhadap Gambaran Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus”**.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah memberikan kontribusi baik dukungan moral maupun spiritual demi suksesnya penyusunan proposal penelitian ini. Seiring terselesaikannya skripsi ini, dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak dan Ibu tercinta yang telah banyak memberikan perhatian, nasehat, do'a dan dukungan baik moral maupun materil yang tidak mungkin terbalaskan.
2. Bapak Prof. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maullana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains Dan Tekonlogi Universitas Islam Negeri Maulana Maik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Diana Candra Dewi, M.Si, selaku dosen pembimbing penelitian yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan laporan hasil penelitian ini.
6. Ibu Akyunul Jannah, S.Si, M.P, selaku dosen konsultan yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan laporan hasil penelitian ini.
7. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc, selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, dan nasehat kepada penyusun dalam menyelesaikan laporan hasil penelitian ini.

8. Seluruh dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penyusun.
9. Teman-teman kelompok DM (Marsya dan Nafis) dan semua mahasiswa kimia angkatan 2014 Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan motivasi dan informasi kepada penulis.

Penulis menyadari banyak kekurangan dalam penulisan laporan hasil penelitian ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritikan dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi penyempurnaan Skripsi ini.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb

Malang, 11 Januari 2019

Penulis,

Khalimatul Ulyah

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
LEMBAR ORISINALITAS	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
المخلص البحث	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Batasan Masalah.....	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	8
1.6 Hipotesis.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Bekatul (<i>Rice Bran</i>).....	9
2.2 Diabetes Mellitus.....	11
2.3 Antioksidan	12
2.3.1 Klasifikasi Antioksidan	13
2.3.2 Mekanisme Antioksidatif	14
2.3.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH.....	16
2.4 Alokasan.....	18
2.5 Hewan Coba Mencit (<i>Mus musculus L.</i>)	19
2.6 Histologi Pankreas.....	21
2.7 Metode Ekstraksi dengan Maserasi.....	22
2.8 Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)	23
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	27
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	27
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.2.1 Alat-alat	27
3.2.2 Bahan.....	27
3.3 Rancangan Penelitian	28
3.4 Tahapan Penelitian	29
3.5 Prosedur Penelitian.....	30
3.5.1 Preparasi Sampel	30

3.5.2 Penentuan Kadar Air secara Thermogravimetri	30
3.5.3 Ekstraksi bekatul	31
3.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).....	31
3.5.5 Persiapan Hewan Coba dan Pengkondisian Mencit Diabetes mellitus	33
3.5.6 Terapi Hewan Coba.....	35
3.5.7 Pengambilan Pankreas dan Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i> (HE)	35
3.5.8 Analisis Data	37
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Preparasi Sampel	38
4.2 Analisis Kadar Air.....	39
4.3 Ekstraksi Bekatul.....	40
4.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Pada Sampel	42
4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	42
4.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pada Sampel.....	43
4.5 Potensi Ekstrak Etanol 96% Bekatul Sebagai Antidiabetes Terhadap Mencit (<i>Mus Musculus</i> , L.) Diabetes Mellitus	48
4.5.1 Pengkondisian Mencit Diabetes Mellitus.....	48
4.5.2 Pengaruh Esktrak Etanol 96% Bekatul Terhadap Histologi Pankreas Mencit (<i>Mus Musculus</i> L.) Diabetes Mellitus	50
4.6 Pemanfaatan Tanaman Bekatul Sebagai Antidiabetes dalam Perspektif Islam.....	59
BAB V PENUTUP	61
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA	62
LAMPIRAN.....	69

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan zat gizi bekatul beras putih	9
Tabel 2.2 Klasifikasi diabetes mellitus	11
Tabel 2.3 Hasil pemeriksaan glukosa darah.....	12
Tabel 2.4 Ketentuan kekuatan antioksidan	17
Tabel 2.5 Aktivitas antioksidan berbagai jenis beras.....	17
Tabel 4.1 Nilai IC ₅₀ aktivitas antioksidan ekstrak bekatul dan pembanding	47
Tabel 4.2 Jumlah sel pankreas mencit sesudah terapi ekstrak etanol 96% bekatul	54
Tabel 4.3 Hasil perhitungan ANOVA jumlah sel pankreas mencit (<i>Mus musculus</i>) setelah perlakuan terapi ekstrak etanol 96% bekatul beras pada α 0,5%.....	57
Tabel 4.4 Ringkasan uji duncan α 5% pengaruh ekstrak etanol 96% bekatul beras terhadap jumlah sel pankreas mencit (<i>Mus musculus</i> L.) yang diinduksi aloksan	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Skema morfologi gabah kering	9
Gambar 2.2 Struktur vitamin C.....	13
Gambar 2.3 Mekanisme reaksi antioksidan menghambat radikal bebas	15
Gambar 2.4 Reaksi antara radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal....	15
Gambar 2.5 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan	16
Gambar 2.6 Struktur Aloksan	18
Gambar 2.7 Reaksi hormon glukagon dan insulin	18
Gambar 2.8 Hewan Coba Mencit (<i>Mus musculus</i>)	20
Gambar 2.9 Organ Pankreas	21
Gambar 2.10 Histologi Pankreas.....	24
Gambar 4.1 Sampel Bekatul	39
Gambar 4.2 Ekstrak etanol 96% bekatul.....	42
Gambar 4.3 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM.....	43
Gambar 4.4 Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan	45
Gambar 4.5 Grafik aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% bekatul	46
Gambar 4.6 Histologi organ pankreas mencit hasil pewarnaan HE (400x).....	52
Gambar 4.7 Grafik rata-rata kadar glukosa darah dan jumlah sel pankreas	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	70
Lampiran 2. Diagram Alir.....	70
Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan.....	76
Lampiran 4. Perhitungan Dosis.....	79
Lampiran 5. Perhitungan Uji Kadar Air.....	81
Lampiran 6. Perhitungan Rendemen.....	83
Lampiran 7. Pengujian Antioksidan.....	84
Lampiran 8. Data Kadar Glukosa Darah dan Uji Gambaran Histologi Pankreas Mencit	89
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian.....	94



ABSTRAK

Ulyah, Khalimatul. 2019. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Bekatul (*Rice Bran*) dan Pengaruh Terapinya Terhadap Gambaran Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sanis dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Diana Candra Dewi, M.Si.; Pembimbing II: Ahmad Hanapi, M.Sc.; Konsultan: Akyunul Jannah, S.Si, M.P.

Kata Kunci: Diabetes mellitus, bekatul beras padi, maserasi, antioksidan, gambaran histologi organ pankreas

Diabetes mellitus merupakan sindrom metabolik paling umum yang ditandai dengan hiperglikemia (peningkatan kadar gula darah) yang disebabkan oleh kegagalan sekresi insulin. Bekatul (*Rice Bran*) merupakan salah satu alternatif yang berpotensi sebagai antidiabetes dan diduga mengandung senyawa antioksidan yang dapat meningkatkan sensitivitas insulin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% bekatul (*rice bran*) dan pengaruh terapinya terhadap gambaran histologi pankreas mencit diabetes mellitus.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan hewan coba mencit jantan putih galur BALB/C yang berumur 2-3 bulan dengan berat 20-30 gram dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah kontrol normal (tanpa perlakuan), kontrol positif (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/KgBB) secara intraperitoneal, kontrol dosis 1 (terapi dosis ekstrak 350 mg/KgBB), kontrol dosis 2 (dosis ekstrak 400 mg/KgBB), kontrol dosis 3 (dosis ekstrak 500 mg/KgBB). Ekstrak etanol 96% bekatul diberikan secara oral selama 14 hari. Parameter yang diukur adalah aktivitas antioksidan, IC_{50} , glukosa darah dan jumlah sel pankreas secara mikroskopik.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% bekatul memiliki aktivitas antioksidan sebesar 81,830% pada konsentrasi 800 ppm dan nilai IC_{50} 185,7 mg/L. Hasil terapi ekstrak etanol 96% bekatul secara oral mampu menurunkan kadar glukosa darah dan berpengaruh terhadap peningkatan jumlah sel pankreas mencit diabetes mellitus pada dosis terbaik 400 mg/KgBB.

ABSTRACT

Ulyah, Khalimatul. 2019. Test of Antioxidant Activity of Ethanol Extract 96% Bran (Rice Bran) and Effect of Treatment on Histology of Pancreas Diabetes Mellitus Mice (*Mus musculus*). Essay. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Diana Candra Dewi, M.Si.; Supervisor II: Ahmad Hanapi, M.Sc.; Consultant: Akyunul Jannah, S.Si, M.P.

Keywords: Diabetes mellitus, rice rice bran, maceration, antioxidants, histology of pancreatic organs

Diabetes mellitus is the commonest metabolic syndrome characterized by hyperglycemia (increased blood sugar levels) caused by failure of insulin secretion. Rice bran is one alternative that has the potential to be antidiabetic and is thought to contain antioxidant compounds that can increase insulin sensitivity. This study aims to determine the antioxidant activity of ethanol extract 96% rice bran and the effect of its treatment on the histology of pancreas diabetes mellitus mice.

This study an experimental study using animals that tried to mice 2-3 years old BALB / C strain white males weighing 20-30 grams with 5 treatments and 4 replications. The treatment used was normal control (without treatment), positive control (induced by alloxan at a dose of 200 mg/KgBB) intraperitoneally, control dose 1 (therapy extract 350 mg/KgBB), control dose 2 (extract dose 400 mg/KgBB), control dose 3 (extract dose 500 mg/KgBB). Ethanol extract 96% bran was given orally for 14 days. The parameters measured were antioxidant activity, IC₅₀, blood glucose and pancreatic cell count microscopically.

The results showed that 96% ethanol extract of bran had an antioxidant activity of 81.830% at a concentration of 800 ppm and an IC₅₀ value of 185.7 mg/L. Treatment results of 96% ethanol extract of bran orally can reduce blood glucose levels and affect increase in the number of pancreatic cells in diabetes mellitus mice at a dose of 400 mg / KgBB.

الملخص البحث

العليا ، حليلة. ٢٠١٩. اختبار مضادات الأكسدة لمستخلص الإيثانول/٩٦ نخالة (نخالة الارز) وتأثير العلاج على الأنسجة البنكرياس نظرة عامة على الفئران (*Mus musculus*) داء السكري. بحث جامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا في جامعة الإسلامية الحكومية مولانامالك إبراهيم مالانج المشرفة الأولى: ديانا جنديرا ديوي الماجستير ، المشرفة الثانية: اعين الجنة الماجستير ، المشرف الثالث: أحمد حنفي الماجستير.

كلمات المفتاح: مرض السكري ، نخالة الأرز، والتنعيم ، ومضادات الأكسدة ، والأنسجة من أعضاء البنكرياس

داء السكري هو أكثر متلازمة الأمراض شيوعا التي تتميز ارتفاع السكر في الدم (ارتفاع مستويات السكر في الدم) الناجمة عن فشل إفراز الأنسولين. نخالة الأرز هي أحد البدائل التي لديها القدرة على أن تكون مضادات السكر ، ويعتقد أنها تحتوي على مركبات مضادة للأكسدة التي يمكن أن تزيد من حساسية الانسولين. تهدف هذه البحث إلى تحديد نشاط مضادات الأكسدة في استخراج الإيثانول /٩٦ نخالة الأرز وتأثير علاجه على نسيج البنكرياس الفئران الناجم عن اللوكسان.

هذا البحث بحث تجريب باستخدام الحيوانات التي اختبرت ذكور الفئران البيضاء (BALB / C) بالغ من العمر ٢-٣ أشهر وزنها ٢٠-٣٠ جرامًا مع ٥ معاملات و ٤ مكررات. كان العلاج المستخدم هو السيطرة الطبيعية (دون معالجة) ، والتحكم الإيجابي (الناجم عن ألوكسان بجرعة ٢٠٠ ملغم / كلغ ب ب) داخل الصفاق ، جرعة السيطرة ١ (استخراج علاجي ٣٥٠ مجم / كلغ ب ب) ، جرعة التحكم ٢ (جرعة استخراج ٤٠٠ مجم / كلغ ب ب) ، جرعة السيطرة ٣ (استخراج الجرعة ٥٠٠ ملغ / كلغ ب ب). استخراج الإيثانول أعطيت ٩٦ ٪ نخالة عن طريق الفم لمدة ١٤ يوما. المعلمات قياس النشاط المضادة للأكسدة ، IC_{50} ، والجلوكوز في الدم وعدد خلايا البنكرياس مجهريا.

أظهرت النتائج أن استخراج الإيثانول بنسبة ٩٦٪ كان لديه نشاط مضاد للأكسدة بنسبة ٨١,٨٣٠٪ وقيمة IC_{50} ١٨٥,٧ ملغم / لتر. نتائج معالجة استخراج الإيثانول بنسبة ٩٦٪ من نخالة عن طريق الفم بجرعة قادرة على خفض مستويات الجلوكوز في الدم والتأثير على الزيادة في عدد خلايا البنكرياس في الفئران المصابة بداء السكري بأفضل جرعة من ٤٠٠ ملغم / كغ ب.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus merupakan sindrom metabolik paling umum yang menjadi ancaman utama bagi kesehatan manusia di abad 21. Berdasarkan data *International Diabetes Federation* (IDF) jumlah penderita Diabetes Mellitus di dunia pada tahun 2011 telah mencapai 366 juta orang dan diperkirakan akan meningkat dua kali lipat pada tahun 2030 (IDF, 2011). Diabetes mellitus merupakan kelompok penyakit metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah (hiperglikemia) akibat kegagalan sekresi insulin serta terjadi perubahan progresif terhadap struktur sel beta pankreas. Diabetes Mellitus dapat terjadi ketika pankreas tidak mampu memproduksi insulin yang cukup, atau ketika tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif. Secara garis besar diabetes mellitus dibagi menjadi dua kelompok, yaitu diabetes mellitus tipe I dan diabetes mellitus tipe II (Rudy, 2003).

Penyakit diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit kronik yang tidak dapat disembuhkan, oleh karena itu beberapa penanganan telah dilakukan. Pengobatan diabetes mellitus yang telah dilakukan yaitu injeksi insulin dan pemberian obat oral antidiabetes (OAD) yang diketahui memiliki efek samping dan membutuhkan biaya yang besar. Mahalnya biaya pengobatan bagi penderita penyakit diabetes mellitus memicu para ahli untuk mencari obat alternatif dari bahan alami yang dapat dijangkau oleh masyarakat serta meminimalkan efek samping yang diperoleh dibandingkan dengan pengobatan kimia. Sebagai seorang hamba Allah SWT yang beriman, senantiasa diperintahkan untuk berfikir dan

mencari manfaat dari apa-apa yang diciptakan oleh Allah di muka bumi untuk pengobatan. Sebagaimana Allah SWT berfirman dalam Al-Qur'an pada surat Qaf ayat 9:

وَنَزَّلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً مُّبْرَكًا فَأَنْبَتْنَا بِهِ جَنَّاتٍ وَحَبَّ الْحَصِيدِ ﴿٩﴾

“Dan Kami turunkan dari langit air yang banyak manfaatnya lalu Kami tumbuhkan dengan air itu pohon-pohon dan biji-biji tanaman yang diketam” (QS. Qaf: 9).

Berdasarkan surat Qaf ayat 9, Allah SWT memberikan rahmatnya kepada manusia di muka bumi yakni dengan diturunkannya air dari langit yang membawa kebaikan dan manfaat serta ditumbuhkannya dengan air itu, kebun-kebun yang mempunyai pohon-pohonan, bunga-bunga, buah-buahan, dan biji tumbuhan yang dituai (Shihab, 2002). Tujuan diturunkan dan ditumbuhkan pula aneka tumbuhan adalah agar manusia senantiasa mencari dan mengambil manfaat dari setiap sesuatu yang diciptakan oleh Allah SWT. Salah satu pemanfaatan tumbuhan adalah sebagai obat dari suatu penyakit (Handayani, 2015).

Setiap manusia yang hidup pasti akan diuji oleh Allah SWT misalnya berupa sebuah penyakit. Maka sebagai hambanya yang beriman juga dibekali sebuah akal oleh Allah SWT mempunyai kewajiban untuk senantiasa berfikir dan mencari sebuah pengobatan untuk mengobatinya misalnya dengan memanfaatkan tumbuhan sebagai pengobatan alternatif karena sesungguhnya Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di bumi tiadalah yang sia-sia. Allah SWT memberikan suatu penyakit tentu ada penawarnya (obat), hal ini diperkuat dengan hadits yang diriwayatkan oleh imam Bukhari, Rasulullah bersabda:

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

“Tidaklah Allah turunkan penyakit kecuali Allah turunkan pula obatnya.” (HR. Imam Bukhari No.5678) (Al-albani, 2008).

Sebuah usaha untuk senantiasa berfikir dan mencari manfaat tersebut adalah pemanfaatan bekatul. Bekatul (*Rice bran*) merupakan lapisan terluar dari beras yang terlepas dari proses penggilingan gabah (padi) atau hasil samping penggilingan padi. Beras sebagai makanan utama masyarakat Indonesia, jumlah padi yang dipanen di seluruh dunia kurang lebih sekitar 600 juta ton setiap tahun (Esa, dkk., 2013). Hasil dari penggilingan padi yang melimpah menyebabkan kelimpahan bekatul tinggi. Ketidaktahuan masyarakat tentang bekatul yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, sehingga selama ini hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Oleh karena itu, sehingga perlu adanya pemanfaatan bekatul lebih luas.

Beberapa peneliti telah melaporkan bahwa bekatul memiliki kandungan antioksidan yang dapat menurunkan kadar gula darah di dalam tubuh atau bahkan hampir normal. Adom K dan Liu R (2002) melaporkan bahwa bekatul beras mengandung total fenol 5,56 $\mu\text{mol/g}$, asam ferulat total 153,39 $\mu\text{mol/100g}$, Flavonoid total 0,92 $\mu\text{mol/g}$ dan aktivitas antioksidan total 71%. Penelitian lain dari Xu, Z., Hua, N., dan Godber, J (2002) menunjukkan bahwa bekatul beras dari penggilingan rivania memiliki senyawa antioksidan γ -oryzanol (*cycloartenyl ferulate*, *24-methylenecycloartanyl ferulate*, dan *campesteryl ferulate*) yang memiliki aktivitas antioksidan 4 kali lebih efektif dibandingkan vitamin E (α -tocopherol, α -tocotrienol, γ -tocopherol, dan γ -tocotrienol), dan lemak tidak jenuhnya mampu menurunkan kolesterol.

Bekatul yang digunakan untuk uji coba merupakan ekstrak bekatul. Untuk mendapatkan ekstrak bekatul digunakan metode ekstraksi dengan cara maserasi. Maserasi menggunakan prinsip *like dissolve like*, yakni zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan zat yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar (Khopkar, 2008). Maserasi dilakukan menggunakan pelarut etanol 96% karena etanol mempunyai titik didih yang rendah (78,5°C), tidak beracun dan tidak berbahaya serta mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak senyawa antioksidan lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain. Widarta dkk (2013) telah melakukan ekstraksi maserasi pada bekatul beras putih dengan berbagai pelarut yakni metanol pa, etanol 96% dan aqua DM, diperoleh rendemen aqua DM sebesar 6,42%, etanol 96% sebesar 5% dan metanol pa sebesar 3,91%. Rima dkk (2014) telah melakukan ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 × 24 jam dengan bantuan *shaker* dan diperoleh rendemen ekstrak tertinggi yakni 38,55 (%b/b) dibandingkan etanol 70%, 80%, dan 95%. Kelebihan dari metode maserasi adalah biayanya yang murah, mudah untuk dilakukan dan tanpa pemanasan sehingga tidak merusak senyawa antioksidan (Kemit, dkk., 2017).

Ekstrak bekatul akan diterapikan ke hewan coba berupa mencit (*Mus Musculus*) putih jantan yang diinduksi agen diabetagonik. Pada penelitian ini menggunakan agen diabetagonik aloksan. Kelebihan aloksan menurut Ratimanjari (2011) aloksan dapat meningkatkan kadar glukosa darah dalam waktu 2-3 hari tanpa menimbulkan kematian pada dosis 32 mg/200g BB. Pasaribu (2015) menginjeksikan mencit dengan dosis aloksan 5,04 mg/ 20gBB secara intraperitoneal dan rata-rata kadar gula darah (KGD) pada hari ke-4 menunjukkan terjadinya

peningkatan KGD mencit sebesar 300 mg/dL. Sinata dan Arifin (2016) juga melakukan perlakuan induksi aloksan terhadap mencit putih jantan diabetes dengan dosis 200 mg/KgBB secara intraperitoneal dan tidak menyebabkan kematian.

Akibat dari pemberian aloksan menyebabkan meningkatnya radikal bebas di dalam tubuh sehingga menimbulkan kerusakan pada sel β pankreas dan karena jumlah antioksidan tubuh yang mengikat radikal bebas tidak seimbang sehingga membutuhkan antioksidan sekunder untuk memperbaiki kerusakan sel. Antioksidan sekunder diperoleh melalui terapi ekstrak etanol 96% bekatul beras. Metode yang digunakan untuk mengidentifikasi aktivitas antioksidan pada penelitian ini adalah dengan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Keuntungan menggunakan metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk *screening* aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa. Pengukuran aktivitas antioksidan dengan DPPH diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Hanani, 2005).

Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan Asam Askorbat (vitamin C) sebagai pembanding. Parameter lain untuk mengetahui kekuatan antioksidan ialah IC_{50} (*Inhibition Concentration 50 Value*). IC_{50} merupakan konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Berdasarkan penelitian Widarta dkk (2013) aktivitas antioksidan bekatul beras putih pada berbagai pelarut yang sudah diasamkan dengan HCl 37% pH 1 diperoleh pada pelarut aqua DM 53,11%, etanol 96% 49,14% dan metanol pa 78,61%. Berdasarkan penelitian Widarta dkk (2013) melaporkan bahwa ekstraksi bekatul beras merah menggunakan pelarut etanol 96% yang diasamkan dengan HCl 37% pH 1 dengan waktu maserasi 36 jam memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dibandingkan

dengan pelarut yang tidak diasamkan sebesar 88,10%. Ulfa, S.M (2016) juga melaporkan telah melakukan pengujian aktivitas antioksidan bekatul beras putih dengan pelarut etanol 99%, kloroform dan petroleum eter dan menunjukkan bahwa pada pelarut etanol 99% memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibanding pelarut kloroform dan petroleum eter sebesar 61,17% pada konsentrasi maksimum 800 ppm. Adanya potensi bekatul sebagai antidiabetes maka pada penelitian ini dilakukan terapi ekstrak bekatul dengan dosis terapi dikembangkan dari penelitian Dwinani (2014) dan Arifah (2015) dengan dosis 350 mg/KgBB, 400 mg/KgBB dan 500 mg/KgBB.

Adanya kerusakan struktur organ pankreas yang tidak tampak oleh pengamatan makroskopik pada mencit yang menderita diabetes mellitus maka dilakukan uji gambaran histologi melalui pemeriksaan histopatologi dengan cara pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Pewarnaan menggunakan *Hematoxylin-Eosin* (HE) dapat mengetahui Gambaran kerusakan jaringan yang diakibatkan oleh benda toksik yang masuk dalam tubuh, yakni meningkatnya radikal bebas. Penelitian ini akan dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% bekatul dan pengaruh terapinya terhadap Gambaran histologi organ pankreas mencit diabetes mellitus.

Berdasarkan uraian diatas, maka akan dilakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% bekatul dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil dan pengaruh terapinya terhadap Gambaran histologi pankreas mencit diabetes mellitus dan hasil penelitian akan dapat dijadikan sebagai obat alternatif bagi penderita diabetes mellitus.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% bekatul dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)?
2. Bagaimana pengaruh terapi ekstrak bekatul terhadap gambaran histologi organ pankreas mencit diabetes mellitus?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% bekatul dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil).
2. Untuk mengetahui terapi ekstrak bekatul terhadap gambaran histologi organ pankreas mencit diabetes mellitus.

1.4 Batasan Masalah

1. Bahan yang digunakan adalah bekatul hasil dari proses penggilingan beras putih yang berasal dari Desa Lasem Kabupaten Gresik.
2. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus Musculus*) putih jantan galur BALB/C.
3. Hewan Coba diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/KgBB mencit.
4. Variasi dosis terapi ekstrak etanol 96% bekatul yang digunakan dalam penelitian ini adalah 350 mg/KgBB, 400 mg/KgBB dan 500 mg/KgBB.
5. Gambaran histologi organ pankreas mencit menggunakan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin (HE)*.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memperoleh informasi tentang aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% bekatul dan pengaruh terapinya terhadap gambaran histologi organ pankreas mencit diabetes mellitus.
2. Pemanfaatan limbah penggilingan padi yang tersedia di masyarakat untuk mencegah dan terapi alternatif khususnya bagi penderita diabetes mellitus.
3. Meningkatkan nilai guna limbah penggilingan padi sebagai obat herbal alternatif penyakit diabetes mellitus.

1.6 Hipotesis

H_0 = Terapi ekstrak etanol 96% bekatul tidak berpengaruh terhadap Gambaran histologi organ pankreas mencit diabetes mellitus.

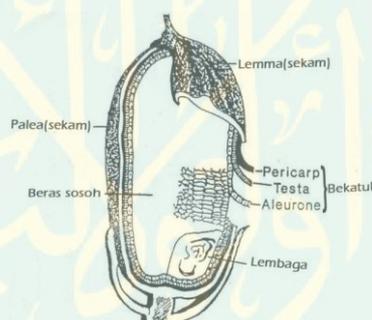
H_1 = Terapi ekstrak etanol 96% bekatul berpengaruh terhadap Gambaran histologi organ pankreas mencit diabetes mellitus.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bekatul (*Rice Bran*)

Bekatul merupakan limbah dari proses penggilingan padi yang jarang dimanfaatkan sebagai produk pangan oleh masyarakat. Mayoritas masyarakat memanfaatkan bekatul sebagai pakan ternak. Bekatul diperoleh dari proses penggilingan padi yang berasal dari lapisan terluar beras yaitu antara butir beras dan kulit padi berwarna coklat (Sukma, 2010). Bekatul merupakan produk samping penggilingan beras jumlahnya mencapai 8-12%, sekam 15-20% dan menir 5% (Damardjati, dkk., 1990 dalam Wirawati dan Nirmagustina, 2009).



Gambar 2.1 Skema morfologi gabah kering (Champagne, 1994 dalam Swastika, 2009)

Menurut Susanto (2010) berikut kandungan zat gizi bekatul beras putih yang

dapat dilihat pada Tabel 2.1:

Tabel 2.1 Kandungan zat gizi bekatul beras putih

Protein (%)	Lemak (%)	Karbohidrat (%)	Abu (%)	Serat kasar (%)	Air (%)
15,34	14,85	56,33	9,15	10,76	4,33

Penelitian Chen dan Bergman (2005) menyatakan bahwa bekatul beras mengandung komponen bioaktif seperti tokoferol, tokotrienol, γ -oryzanol. Antioksidan fenolik dan β -karoten (Chanprom, 2007). Beberapa peneliti telah melaporkan bahwa bekatul memiliki banyak manfaat. Hal ini telah dijelaskan dalam Al-Qur'an surat An-Nahl ayat 11 :

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

Artinya: “Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan) Allah bagi yang mau memikirkan” (Q.S. An-Nahl: 11).

Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di muka bumi ini tidak ada yang sia-sia. Berdasarkan Q.S. An-Nahl: 11 menjelaskan bahwa hanya Allah SWT yang mampu menumbuhkan tanam-tanaman seperti zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan dengan air yang diturunkan dari langit sebagai rizki dan makanan pokok bagi manusia dengan maksud agar menjadi nikmat dan tanda kekuasaan-Nya bagi hamba-Nya yang mempergunakan akalnyanya dan memikirkannya (Shihab, 2002). Salah satu manfaat dari bekatul adalah dapat dimanfaatkan sebagai salah satu obat alternatif untuk penyakit diabetes mellitus dan hal tersebut merupakan salah satu wujud bahwa kita mampu mengambil dan memikirkan tentang kekuasaan Allah SWT.

Menurut Mas'ud dan Pabbenteng (2016) kandungan bekatul padi yakni tokoferol, γ -oryzanol dan β -karoten yang merupakan golongan antioksidan non polar mampu menghambat proses peroksidasi lemak dan mencegah stres oksidatif.

Penelitian lain juga telah dilakukan oleh Chen dan Cheng (2006) pada tikus yang menderita diabetes dengan perlakuan diet minyak bekatul selama 4 minggu menunjukkan bahwa bekatul beras mengandung γ -oryzanol dan γ -tokotrienol mampu meningkatkan sensitivitas insulin sebesar 78,5%, menurunkan plasma trigliserida, LDL kolesterol dan hepatic trigliserida.

2.2 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) adalah gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas insulin, atau keduanya dan menyebabkan komplikasi kronis mikrovaskular dan makrovaskular (Sukandar, dkk., 2008). Klasifikasi diabetes mellitus dapat dilihat pada Tabel 2.2 berikut:

Tabel 2.2 Klasifikasi diabetes mellitus

No	Diabetes Mellitus	Keterangan
1	Tipe 1	Disebabkan gangguan produksi insulin akibat penyakit autoimun. Pasien mutlak membutuhkan insulin
2	Tipe 2	Terjadinya resistensi insulin, sehingga cukup ditangani dengan diet dan antidiabetik oral
3	Tipe Lain	Diabetes yang terjadi akibat adanya infeksi obat atau zat kimia, penyakit eksokrin pankreas dan endokrinopati
4	Gestasional	Muncul pada masa kehamilan, bersifat sementara, merupakan faktor resiko untuk diabetes mellitus tipe 2

[Sumber: Departemen Kesehatan RI, 2005]

Diabetes mellitus tipe I atau *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM) merupakan jenis diabetes yang mengalami kerusakan pankreas berat yang memiliki ketergantungan pada asupan hormon insulin dari luar. Sedangkan diabetes mellitus

tipe II atau *Insulin Non-Dependent Diabetes Mellitus* (INDDM) merupakan jenis diabetes yang tidak memiliki ketergantungan asupan hormon insulin dari luar, namun jumlah insulin yang disekresikan berkurang, dan pada organ pankreas tidak mengalami kerusakan yang berat (Widowati, 2008). Ketentuan glukosa darah diabetes mellitus dapat dilihat pada Tabel 2.3 berikut:

Tabel 2.3 Hasil pemeriksaan glukosa darah

Kelompok	Glukosa darah puasa		Glukosa darah postprandial	
	(mg/dL)	(mmol/L)	(mg/dL)	(mmol/L)
Normal	< 100	< 5,6	< 140	< 7,8
Pradiabetes	100-125	5,6-6,9	140-199	7,8-11,1
Diabetes Mellitus	≥ 126	≥ 7,0	≥ 200	≥ 11.1

(Departemen Kesehatan RI, 2005).

Apabila penderita telah menunjukkan gejala diabetes mellitus yang khas, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu 200 mg/dL. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa 126 mg/dL juga dapat digunakan sebagai patokan diagnosis diabetes mellitus (Departemen Kesehatan RI, 2005).

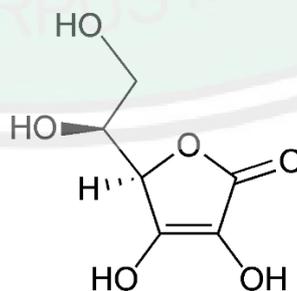
2.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa donor elektron atau reduktan. Senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menghambat dan menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007).

2.3.1 Klasifikasi Antioksidan

a) Antioksidan Alami

Antioksidan alami adalah antioksidan yang umumnya diisolasi dari sumber alami yang mayoritas berasal dari tumbuh-tumbuhan dan buah-buahan. Senyawa antioksidan alami diantaranya vitamin A, vitamin C, vitamin E, Antosianin, Isoflavon, Selenium, Karotenoid. Menurut Madhavi, dkk (1996) antioksidan alami secara toksikologi lebih aman untuk dikonsumsi dan lebih mudah diserap oleh tubuh daripada antioksidan sintesis. Salah satu antioksidan alami yang sering digunakan sebagai pembanding untuk uji aktivitas antioksidan adalah vitamin C. Vitamin C (asam askorbat) merupakan antioksidan alami yang mudah dan murah apabila dikonsumsi dari alam. Vitamin C sebagai antioksidan berfungsi untuk mengikat O_2 sehingga tidak terjadi reaksi oksidasi. Vitamin C mempunyai berat molekul 178 gr/mol dengan rumus molekul $C_6H_8O_6$, dalam bentuk kristal tidak berwarna, memiliki titik leleh $190-192^\circ C$, bersifat larut dalam air, sedikit larut dalam aseton/alkohol dan sukar larut dalam kloroform, eter, dan benzen. Berikut struktur senyawa vitamin C (Sayuti dan Yenrina, 2015):



Gambar 2. 2 Struktur vitamin C

b) Antioksidan Sintetis

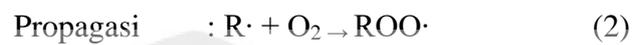
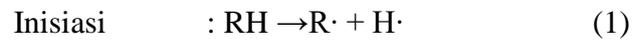
Beberapa antioksidan sintetis yang lebih populer digunakan adalah senyawa fenolik seperti BHA (*butylated hydroxy anisole*), BHT (*butylated hydroxy toluene*), TBHQ (*tersier butylhydroquinone*) dan ester dari asam galat, misalnya *propil gallate* (PG). Antioksidan sintetis utama yang digunakan mempunyai batas penggunaan yaitu 0,2% dari kandungan lemak atau minyak. Penambahan antioksidan sintetis ini harus memenuhi beberapa syarat, misalnya tidak berbahaya bagi kesehatan, tidak menimbulkan warna yang tidak diinginkan, efektif pada konsentrasi rendah, mudah didapat, dan ekonomis (Winarno, 2008).

2.3.2 Mekanisme Antioksidatif

Radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada disekitarnya (Soematmadji, 1998). Dampak reaktifitas senyawa radikal bebas bermacam-macam, mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, penyakit jantung koroner (PJK), dan diabetes Mellitus.

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada reaksi 1 atau tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif yang disebabkan oleh hilangnya satu atom hidrogen. Pada tahap selanjutnya yaitu propagasi (reaksi 2 dan 3), radikal asam ($R\cdot$) lemak yang telah terbentuk pada reaksi 1 akan bereaksi dengan oksigen

sehingga membentuk radikal peroksi ($\text{ROO}\cdot$). Radikal peroksi tersebut selanjutnya akan menyerang asam lemak sehingga menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3) (Nugroho, 2007).

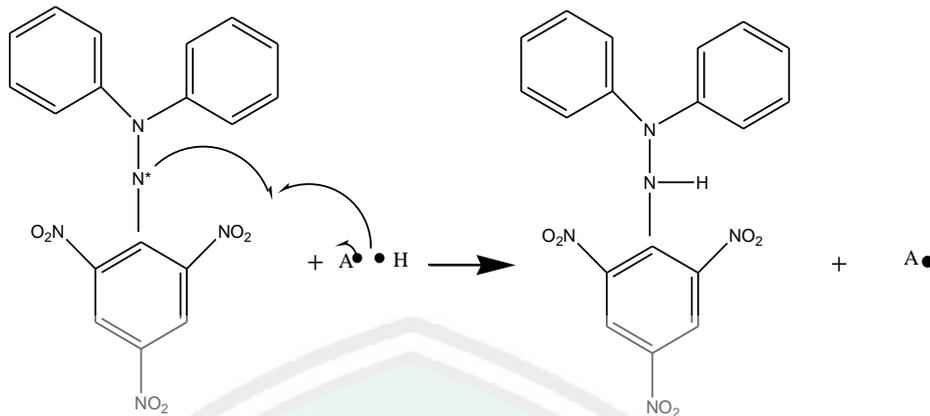


Gambar 2.3 Mekanisme reaksi antioksidan menghambat radikal bebas

Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggung jawab atas flavor makanan berlemak. Tanpa adanya antioksidan, reaksi oksidasi lemak akan mengalami terminasi melalui reaksi antara radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal (reaksi 4) (Nugroho, 2007).



Gambar 2.4 Reaksi antara radikal bebas membentuk kompleks bukan radikal



Gambar 2. 5 Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan (Windono, dkk., 2001).

2.3.3 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Analisis aktivitas antioksidan dapat diukur berdasarkan kemampuannya untuk menangkap radikal bebas. Salah satu metode yang digunakan untuk pengukuran yaitu metode DPPH, karena merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat dan membutuhkan sedikit sampel. DPPH merupakan radikal bebas sintetik berwarna ungu. Aktivitas peredaman DPPH dari zat antioksidan didasarkan pada kemampuan zat antioksidan dalam menetralkan radikal DPPH dengan cara menyumbangkan protonnya sehingga membentuk radikal yang lebih stabil. Penambahan zat yang bersifat antioksidan akan menyebabkan berkurangnya warna ungu dari larutan DPPH dan semakin aktif zat yang ditambahkan maka larutan DPPH akan berubah menjadi warna semakin kuning (Muharni, dkk., 2013). Aktivitas tersebut dinyatakan dalam konsentrasi efektif (*effective concentration*), EC_{50} (*inhibitory concentration*), IC_{50} . Parameter IC_{50} menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak uji yang mampu menangkap radikal bebas sebanyak 50% yang diperoleh melalui persamaan regresi. Pengukuran aktivitas antioksidan

menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm (Dewi, dkk., 2007).

Aktivitas penangkapan radikal bebas dapat dinyatakan dalam satuan persen (%) aktivitas antioksidan. Nilai ini diperoleh dengan persamaan berikut (Molyneux, 2004):

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan: A_0 = Abs kontrol
 A_1 = Abs Perlakuan

Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan kemampuan antioksidan suatu senyawa yang terkandung dalam ekstrak uji. Semakin kecil nilai IC_{50} maka kemampuan senyawa sebagai penangkal radikal bebas semakin besar (Indranila dan Ulfah, 2015). Ketentuan kekuatan antioksidan dapat dilihat pada Tabel 2.4 berikut:

Tabel 2.4 Ketentuan kekuatan antioksidan (Afriani, dkk., 2014)

Nilai IC_{50}	Kekuatan
<50 ppm	Sangat Kuat
50-100 ppm	Kuat
100-150 ppm	Sedang
150-200 ppm	Lemah
>200	Sangat Lemah

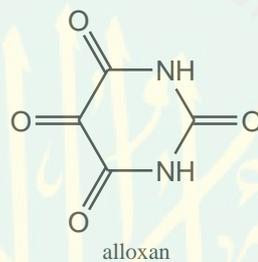
Berdasarkan penelitian Wanti (2008) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan beras putih lebih rendah dibandingkan dengan beras hitam dan beras merah, dapat dilihat pada Tabel 2.5 berikut:

Tabel 2.5 Aktivitas antioksidan berbagai jenis beras

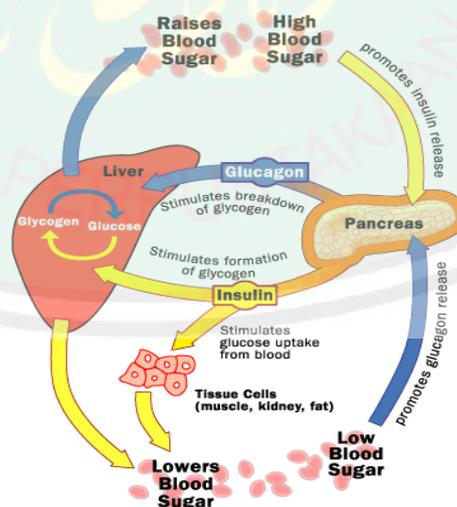
Sampel	Aktivitas Antioksidan (%)
Beras Putih	18,40
Beras Merah	39,50
Beras Hitam	46,20

2.4 Aloksan

Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin; 5,6-dioksiurasil) merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil (Gambar 2.6). Sebagai agen diabetogenik, aloksan dapat digunakan baik secara intravena, intraperitoneal maupun subkutan. Dosis intravena yang digunakan biasanya adalah 65 mg/kg BB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya. Memiliki waktu paro pada suhu 37°C dan pH netral adalah 1,5 menit dan bisa lebih lama pada suhu yang rendah (Szkudelski, 2001; Rees dan Alcolado, 2005 dalam Nugroho, 2006). Aloksan memiliki struktur yang dapat dilihat pada Gambar 2.6 berikut:



Gambar 2.6 Struktur Aloksan



Gambar 2.7 Reaksi hormon glukagon dan insulin

Mekanisme toksisitas aloksan diawali dengan masuknya aloksan ke dalam sel-sel β pankreas sehingga menghasilkan radikal superoksida (H_2O_2) dan radikal hidroksil. Aloksan secara cepat dapat mencapai pankreas dan kecepatan pengambilan tersebut akan menentukan sifat diabetogenik aloksan. Peningkatan radikal superoksida pada sel β pankreas menyebabkan peningkatan hidrogen peroksida dan radikal hidroksil yang menyebabkan kerusakan sel β pankreas. Kerusakan pada sel β terjadi melalui beberapa proses secara bersamaan, yaitu melalui oksidasi gugus sulfidril dan pembentukan radikal bebas. Mekanisme kerusakan pada sel-sel β pankreas terutama menyerang senyawa-senyawa seluler yang mengandung gugus sulfidril, asam-asam amino sistein, dan protein yang bereaksi dengan gugus SH. Aloksan bereaksi dengan dua gugus SH yang berikatan pada bagian sisi dari protein atau asam amino membentuk ikatan disulfida sehingga menginaktifkan protein yang berakibat pada gangguan fungsi protein tersebut (Szkuldelski, 2001).

Aloksan memiliki efek yang selektif sitotoksik terhadap β pankreas karena dapat terakumulasi di sel-sel β sebagai analog yang masuk ke dalam sel melalui transporter glukosa GLUT₂, sehingga menyebabkan tidak berfungsinya pankreas. Karena kerusakan pada jaringan pankreas menyebabkan terhambatnya sintesis dan sekresi insulin sehingga menyebabkan peningkatan kadar glukosa dalam tubuh atau keadaan hiperglikemia (Lenzen, 2008).

2.5 Hewan Coba Mencit (*Mus musculus L.*)

Menurut Arrington 1972 dalam Wardani (2016) Taksonomi mencit adalah sebagai berikut:

Kingdom: Animalia
Filum: Chordota
Kelas: Mamalia
Ordo: Rodentia
Famili: Muridae
Genus: *Mus*
Spesies: *Mus musculus* L.

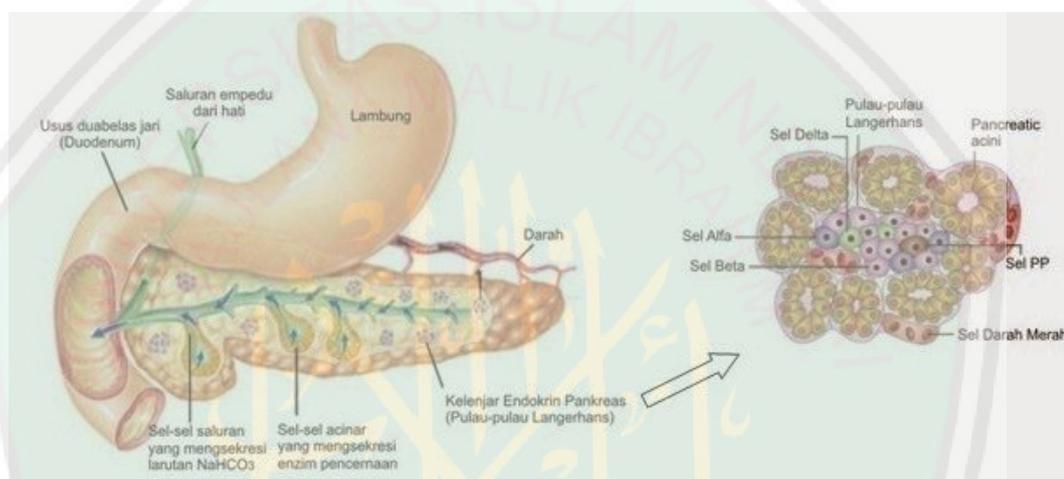


Gambar 2.8 Hewan coba mencit (*Mus musculus* L.)

Mencit (*Mus musculus* L.) merupakan hewan pengerat yang memiliki rambut berwarna keabu-abuan atau putih, warna perut sedikit lebih pucat, mata berwarna hitam, dan kulit berpigmen. Berat badan bervariasi, tetapi umumnya pada umur empat minggu berat badan mencapai 18-20 gram. Makanan yang diberikan untuk *Mus musculus* biasanya berbentuk pelet secara tanpa batas (*ad libitum*). Air minum dapat diberikan dengan botol-botol gelas atau plastik dan *Mus musculus* dapat minum air dari botol tersebut melalui pipa gelas. Kandang *Mus musculus* berupa kotak sebesar kotak sepatu yang terbuat dari bahan plastik (propilen atau polikarbonat), aluminium atau baja tahan karat. Syarat kandang mudah dibersihkan, tahan lama, tahan gigitan dan aman (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Mencit merupakan hewan percobaan yang efisien karena mudah dipelihara dan tidak memerlukan tempat yang luas. Keuntungan mencit yang tinggi membuat hewan ini memiliki banyak fungsi diantaranya dimanfaatkan sebagai hewan percobaan dalam model penelitian penyakit pada manusia seperti diabetes mellitus (Rakhmadi, dkk., 2009).

2.6 Histologi Pankreas



Gambar 2.9 Organ Pankreas

Organ pankreas terdiri atas eksokrin dan endokrin. Bagian sel-sel endokrin membentuk pulau Langerhans (Gambar 2.9). Pulau Langerhans dikelilingi oleh jaringan ikat retikulum dan berada tersebar diantara asini, yaitu bagian eksokrin pankreas. Diameter pulau Langerhans sebesar 0,1-0,2 mm dan di dalamnya berisi ribuan sel. Pulau Langerhans tampak lebih pucat dibandingkan dengan area eksokrin karena tidak memiliki granula zimogen (Gartner, 2012).

Penentuan adanya kerusakan organ pankreas yang tidak tampak oleh pengamatan makroskopik pada mencit yang terserang diabetes mellitus maka

dilakukan pemeriksaan histopatologi dengan cara pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE). Kondisi hiperglikemia menurut Robertson, dkk (2003) dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen relatif (ROS= *reactive oxygen spesies*). ROS yang terbentuk secara berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif dan dapat memperparah kerusakan sel beta pankreas. Kerusakan sel beta pankreas menyebabkan tubuh tidak bisa menghasilkan insulin sehingga menyebabkan kadar glukosa darah meningkat (terjadi keadaan hiperglikemia) (Suarsana, dkk., 2010).

Laju kerusakan sel beta pankreas dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsumsi diet tinggi karbohidrat dan diet tinggi lemak yang akan menyebabkan peningkatan glukosa darah dan plasma insulin, dislipidemia serta resisten insulin. Adanya perubahan konsentrasi glukosa akan menyebabkan perubahan pada metabolisme karbohidrat dan lemak, sehingga memicu terjadinya stress oksidatif, dan banyak sel mengalami apoptosis termasuk sel beta pankreas. Sel beta pankreas mempunyai resiko yang paling tinggi terjadinya kerusakan oksidatif serta meningkatkan sensitifitas terjadinya kematian sel (apoptosis) karena sel beta pankreas mempunyai kadar enzim antioksidan yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan sel-sel yang lainnya, seperti katalase, *gluthation peroksidase* dan *superoxide dismutase* (Mutiyani, dkk., 2014).

2.7 Metode Ekstraksi dengan Maserasi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan yang tidak saling larut. Prinsip dari ekstraksi adalah *Like Dissolve Like*, bahwa sebuah senyawa polar hanya dapat larut pada pelarut yang polar dan senyawa non polar larut dalam pelarut non polar. Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap proses ekstraksi adalah lama ekstraksi, suhu,

jenis pelarut, titik didih, sifat toksik, dan sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi (Khopkar, 2008).

Maserasi merupakan proses perendaman sampel dalam pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Penekanan utama pada maserasi adalah tersedianya waktu kontak yang cukup antara pelarut dan jaringan yang akan diekstraksi. Proses ini sangat menguntungkan dalam isolasi bahan alam karena dalam perendaman sampel metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut, sehingga senyawa akan terekstrak sempurna (Guenther, 2006).

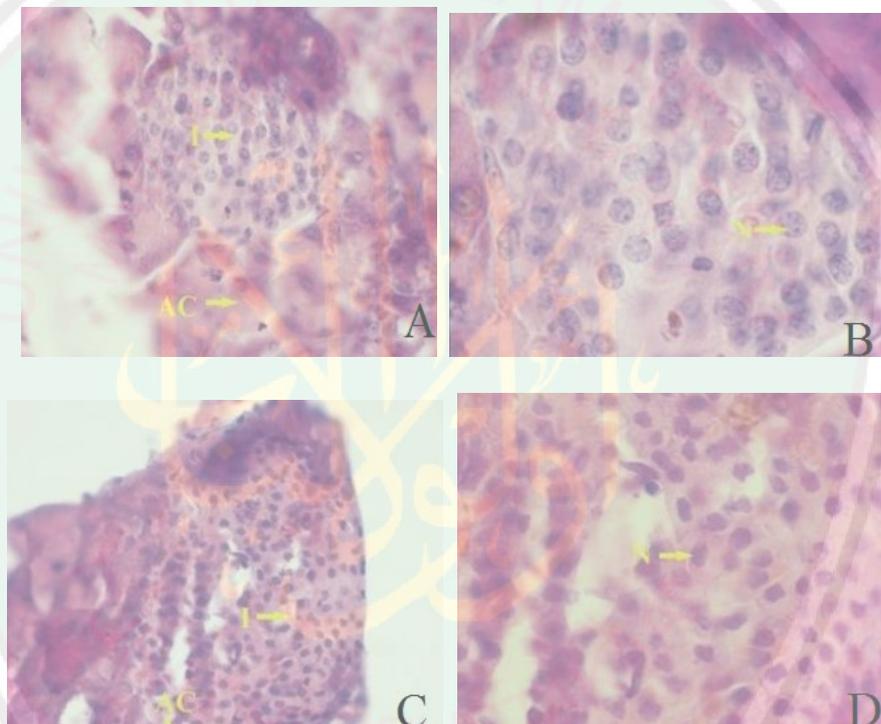
2.8 Pewarnaan Hematoxylin-Eosin (HE)

Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin (H&E) adalah jenis pewarnaan rutin yang paling umum dipakai. Prosedur ini digunakan dalam proses pembuatan preparat histopatologi dari berbagai spesies hewan sakit atau mati dan memerlukan pemeriksaan histopatologi untuk peneguhan diagnosis hewan yang bersangkutan (Muntiha, 2001). Prinsip pewarnaan jaringan adalah berdasarkan pada afinitas antara bahan cat (zat warna) dengan bahan yang diwarnai (sel/jaringan). Hematoksilin merupakan zat yang diambil dari ekstrak getah pohon *haematoxylon campechianus* yang memiliki afinitas sangat kecil yang perlu dikombinasikan dengan bahan lain agar dapat mempercepat proses pewarnaan, yaitu mewarnai inti sel. Eosin merupakan zat warna pembanding (*counter stain*) yang digunakan untuk mewarnai sitoplasma sel, agar pengamatan inti nampak dengan jelas (Sudiana, 2004 dalam Putra 2012).

Hasil penampakan pewarnaan menggunakan *hematoxylin eosin* (HE) dapat mengetahui Gambaran kerusakan jaringan, diakibatkan oleh benda toksik yang

masuk dalam tubuh, meningkatnya radikal bebas. Prinsip *pewarnaan hematoxylin eosin* (HE) adalah inti yang bersifat akan menarik zat/larutan yang bersifat basa sehingga berwarna biru. Sedangkan sitoplasma yang bersifat basa akan menarik zat/larutan yang bersifat asam sehingga berwarna merah.

Organ pankreas mencit yang normal dapat dilihat pada Gambar 2.10 berikut (Nubatonis, 2017):



Gambar 2.10 Histologi Pankreas ; A. Pankreas mencit kontrol negatif (normal) perbesaran 400X; B. Perbesaran 1000X; C. Pankreas mencit kontrol Positif perbesaran 400X; D. Perbesaran 1000X (Walvekar, dkk., 2016 dalam Nubatonis, 2017).

Berdasarkan Gambar 2.10 diatas dapat diketahui bahwa dengan metode pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE), terlihat pulau Langerhans tersebar diseluruh organ pankreas, berbentuk seperti pulau dan banyak dilalui oleh kapiler kapiler

darah yang terlihat lebih pucat dibandingkan dengan sel-sel kelenjar asinar yang berada disekelilingnya. Secara mikroskopik morfologi pankreas mencit normal terdiri dari duktus kelenjar, bagian eksokrin dan bagian endokrin. Kelenjar eksokrin terdiri atas kumpulan-kumpulan sel-sel serous yang berbentuk piramid dengan sel-sel asinarnya. Bagian sitoplasma dari sel-sel di pulau Langerhans yang mengambil warna bersifat eosinofilik lemah dan lebih muda pada pewarnaan HE sehingga sangat mudah untuk dibedakan dengan bagian eksokrin sel-sel asinar serta daerah pulau Langerhans menunjukkan batas yang jelas. Sel-sel yang terdapat di dalam pulau Langerhans ada;ah sel alfa dan sel beta. Sel beta berperan dalam proses sekresi insulin 70% dari sel-sel endokrin pulau langerhans dan terletak di tengah pulau Langerhans serta mempunyai inti besar dan bulat, sedangkan sel alfa berperan dalam proses sekresi glukagon (Nubatonis, 2017).

Sel alfa merupakan 15% dari sel-sel endokrin pulau Langerhans dan terletak sepanjang bagian perifer pulau Langerhans serta mempunyai inti yang berbentuk tidak teratur dan granula sekretori yang mengandung glukagon. Berdasarkan Gambar 2.10 bagian C dan D pada kontrol positif yang diinduksi aloksan secara intraperitoneal mampu merusak pulau langerhans, hal tersebut dapat diketahui melalui histopatologi dari pulau Langerhans yang menunjukkan bahwa sebagian sel-sel atau hampir seluruhnya di dalam pulau Langerhans mengalami nekrosis (kematian dini sel sebagai akibat adanya kerusakan sel akut atau trauma), selain itu batas dari pulau Langerhans yang tidak jelas lagi, sel alfa dan sel beta terlihat tidak jelas sehingga sulit untuk membedakan antara sel alfa dan sel beta, warna tampak pucat atau keruh dan ukuran pulau Langerhans yang mengecil (atrofi) (Nubatonis, 2017).

Sandberg dan Philip (2008) menyatakan bahwa pada penderita diabetes mellitus tipe I ditemukan perubahan-perubahan pada pankreas berupa pengecilan ukuran pankreas, atrofi pada bagian eksokrin pankreas, dan atrofi sel-sel asinar di sekitar pulau Langerhans yang mengalami degenerasi. Sedangkan pada diabetes mellitus tipe II yang terjadi adalah ketidakseimbangan dari sekresi endokrin dan gangguan kontrol glukosa darah.



BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi hewan Jurusan Biologi dan Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Februari sampai Agustus 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian adalah seperangkat alat gelas, ayakan 40 mesh, oven, cawan porselen, neraca analitik, kertas saring *Whatman*, penangas air, desikator, batang pengaduk, spatula, bola hisap, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, penjepit kayu, *shaker*, *aluminium foil*, penyaring *Buchner*, *rotary evaporator*, kandang pemeliharaan mencit berupa kotak berukuran 20 × 30 × 40 cm, sarung tangan, tempat air minum, tempat makan, spuit 1 mL, sonde lambung, jarum suntik, meja preparat, pisau bedah, gunting, pinset, lemari *freezer*, neraca analitik, mikropipet, *incubator*, spektrofotometer UV-Vis, dan mikroskop.

3.2.2 Bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul dari hasil penggilingan padi beras putih yang diperoleh dari mesin penggiling padi di Desa Lasem Kab. Gresik Jawa Timur. Bahan-bahan yang digunakan adalah aquades, etanol 96%, DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), asam askorbat (Vitamin C), aloksan, ekstrak bekatul, gas N₂, NaCl 0,9%, CMC-Na 0,5%, larutan Netral buffer

Formalin 10%, plastik, alkohol 70%, 80%, 90%, alkohol absolut I, absolut II, *xylol* dan air hangat.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di laboratorium untuk mengetahui aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% bekatul beras putih dan pengaruh terapinya terhadap Gambaran histologi organ pankreas hewan coba mencit (*Mus musculus L.*) diabetes mellitus. Sampel bekatul diayak dengan ayakan 40 mesh dan diuji kadar air. Serbuk yang diperoleh dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3x24 jam. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* dan dialiri dengan gas N₂. Ekstrak pekat yang diperoleh dimasukkan ke dalam gelas vial yang dilapisi alumunium dan disimpan pada suhu 4°C. Ekstrak selanjutnya, diuji aktivitas antioksidan dengan DPPH (1,1-difenil-hidrazil) pada konsentrasi ekstrak bekatul sebesar 10, 50, 100, 150, 200, 400 dan 800 ppm. Perbandingan yang digunakan adalah asam askorbat (vitamin C). Selain itu, penentuan nilai aktivitas antioksidan menggunakan parameter lain yaitu nilai IC₅₀.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan subjek uji sebanyak 20 ekor mencit (*Mus musculus L.*) putih jantan galur BALB/C yang memiliki berat rata-rata 20-30 gram, dibagi secara acak sederhana menjadi 5 kelompok. Mencit putih jantan galur BALB/C sebagai hewan coba diinduksi dengan senyawa diabetagonik aloksan 200 mg/kgBB untuk menjadikan hewan tersebut menderita penyakit diabetes mellitus (Sinata dan Arifin, 2016). Variasi dosis terapi yang digunakan dikembangkan dari penelitian Dwinani (2014) yakni 350 mg/KgBB, 400 mg/KgBB dan 500 mg/KgBB. Pada hari

ke-15 dilakukan pembedahan terhadap mencit (*Mus Musculus L.*) putih jantan galur BALB/C diabetes, dan dilakukan pengambilan organ pankreas dengan cara satu irisan kelenjar pankreas pada tiap ulangan dalam satu perlakuan dan untuk mengetahui gambaran histologinya dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop olympus dengan pembesaran 400x per lapang pandang. Perolehan data dari beberapa perlakuan tersebut kemudian diolah menggunakan uji statistik *one way ANOVA (Analysis Of Variance)* pada tingkat kepercayaan 5% yang selanjutnya dapat diketahui pengaruh perlakuan terhadap gambaran histologinya.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dirancang dengan tahapan sebagai berikut:

1. Preparasi Sampel
2. Penentuan Kadar Air
3. Ekstraksi Bekatul menggunakan Metode Maserasi
4. Uji Aktivitas Antioksidan menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)
5. Persiapan Hewan Coba dan Pengkondisian Mencit Diabetes Mellitus
6. Terapi variasi dosis terhadap hewan coba (350 mg/KgBB, 400 mg/KgBB dan 500 mg/KgBB)
7. Pengambilan Organ Pankreas untuk mengetahui Gambaran Histologi Pankreas
8. Analisis data

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Bekatul yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul dari jenis beras putih hasil penggilingan padi. Bekatul sebanyak 250 gram diayak dengan ayakan ukuran 40 mesh dan dibungkus dengan *aluminium foil*. Setelah itu, sampel diinkubasi menggunakan oven selama 3 menit pada suhu 102 °C, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Sampel kering disimpan pada suhu 4 °C untuk analisis lebih lanjut (Moko, dkk., 2014).

3.5.2 Penentuan Kadar Air secara Thermogravimetri

Sampel yang telah dipreparasi, selanjutnya dilakukan penetapan kadar air pada sampel bekatul. Disiapkan cawan porselen kemudian di oven pada suhu 100-105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada cawan porselen. Kemudian, cawan porselen kering disimpan dalam desikator selama 10 menit, kemudian ditimbang berat cawan porselen kosong hingga diperoleh berat cawan yang konstan. Selanjutnya, ditimbang dan dimasukkan 5 gram sampel bekatul ke dalam cawan porselen dan di oven pada suhu 100-105 °C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar air yang terdapat pada sampel. Kemudian sampel didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang. Selanjutnya sampel dipanaskan kembali dalam oven sekitar 15 menit dan didinginkan dalam desikator selama 10 menit dan ditimbang kembali hingga diperoleh berat konstan. Diulang perlakuan ini hingga diperoleh berat konstan. Kadar air dalam bekatul dapat dihitung menggunakan persamaan (3.1) dengan keterangan a = bobot cawan kosong, b = bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan, c = bobot cawan + sampel setelah dikeringkan (AOAC, 1984):

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

3.5.3 Ekstraksi bekatul

Ekstraksi bekatul menggunakan metode maserasi. Masing-masing 40 gram bekatul direndam menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 240 mL. Perbandingan bahan dengan pelarut adalah 1:6 b/v (Widarta, 2013). Kemudian di-shaker selama 24 jam dan disaring menggunakan penyaring vacum. Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali sebanyak dua kali dengan perlakuan yang sama. Filtrat bekatul dipisahkan dengan rotary evaporator. Kemudian, dialiri dengan gas N₂ untuk menghilangkan pelarut yang masih tersisa pada filtrat etanol. Ekstrak pekat dimasukkan ke dalam gelas vial yang dilapisi aluminium dan disimpan pada suhu 4°C (Moko dkk., 2014). Kemudian dihitung rendemen dari ekstrak bekatul dengan rumus berikut (Harborne, 1987).

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat sampel}} \times 100\% \dots\dots\dots 3.2$$

3.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)

3.5.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Dimasukkan etanol 96% sebanyak 3 mL ke dalam kuvet, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL. Selanjutnya dicari λ_{maks} larutan pada rentangan panjang gelombang 500-600 nm dan dicatat hasil pengukuran untuk digunakan pada tahap selanjutnya (Dewi, dkk., 2007).

3.5.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pada Sampel

Absorbansi kontrol: larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM dipipet sebanyak 1 mL, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan

etanol 96% sebanyak 3 mL. Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit (Dewi, dkk., 2007). Setelah itu larutan dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang didapatkan pada tahap sebelumnya.

Absorbansi sampel: Sampel ekstrak kasar dilarutkan dalam etanol 95% dengan konsentrasi 10, 50, 100, 150, 200, 400 dan 800 ppm. Disiapkan tabung reaksi untuk masing-masing ekstrak kasar dan diisi dengan 3 mL ekstrak dan ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL (perbandingan larutan DPPH : ekstrak yang dilarutkan dengan konsentrasi tertentu 1:3). Setelah itu larutan ditutup dengan aluminium foil dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, kemudian dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah didapatkan sebelumnya (Dewi, dkk., 2007). Perlakuan tersebut diulangi sebanyak tiga kali. Perbandingan asam askorbat (vitamin C) diperlakukan seperti sampel.

Data absorbansi yang diperoleh dari masing-masing konsentrasi ekstrak dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya. Persentase aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan rumus (Indranila dan Ulfah, 2015):

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan} = \frac{\text{Abs kontrol} - \text{Abs Perlakuan}}{\text{Abs kontrol}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.3)$$

Keterangan: Abs kontrol = Absorbansi larutan DPPH 0,2 mM

Abs perlakuan = Absorbansi konsentrasi ekstrak etanol bekatul atau baku pembanding vitamin C

3.5.5 Persiapan Hewan Coba dan Pengkondisian Mencit Diabetes mellitus

Mencit diaklimatisasi di laboratorium selama 1 minggu dalam kandang khusus untuk menyeragamkan cara hidup, makan dan kondisi kandang percobaan, seluruh mencit diberi pakan komersial dan air secara *ad libitum*. Sebelum diinduksi dengan diabetogenik aloksan, mencit terlebih dahulu diukur kadar glukosa dalam darah dengan pengambilan sampel melalui ujung ekor yang dipotong sedikit, ditetaskan pada kapiler trip dan diukur dengan alat glukometer.

Penentuan jumlah mencit pada setiap kelompok dihitung berdasarkan rumur federer: $(n-1)(t-1) \geq 15$, dimana n menunjukkan jumlah ulangan minimal dari tiap perlakuan dan t menunjukkan jumlah perlakuan (Jusman & Halim, 2009). Penelitian ini menggunakan 5 kelompok. Penentuan jumlah hewan uji dan pembagian kelompok adalah sebagai berikut (yayasan pengembangan obat bahan alam phyto medica, 1993):

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

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

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan tersebut maka jumlah ulangan minimal yang diperlukan adalah 4 ekor mencit untuk setiap kelompok perlakuan. Sehingga jumlah minimal seluruh sampel yang digunakan adalah 20 ekor mencit. Ketentuan dari tiap-tiap kelompok adalah sebagai berikut:

1. Kelompok kontrol normal, yaitu kelompok tanpa induksi aloksan dengan pemberian CMC-Na 0,5% secara peroral.

2. Kelompok kontrol positif, yaitu diperlakukan dengan pemberian aloksan 200 mg/KgBB + NaCl 0,9% tanpa terapi ekstrak bekatul.
3. Kelompok perlakuan dosis 1, yaitu mencit diabetes mellitus dan diterapi dengan ekstrak bekatul dosis 350 mg/KgBB + CMC-Na 0,5% secara peroral.
4. Kelompok perlakuan dosis 2, yaitu mencit diabetes mellitus dan diterapi dengan ekstrak bekatul dosis 400 mg/KgBB + CMC-Na 0,5% secara peroral.
5. Kelompok perlakuan dosis 3, yaitu mencit diabetes mellitus dan diterapi dengan ekstrak bekatul dosis 500 mg/KgBB + CMC-Na 0,5% secara peroral.

Sebelum pemberian aloksan, mencit dipuaskan selama 18 jam. Kemudian aloksan yang akan diinjeksikan diambil dari larutan stok. Volume yang diambil disesuaikan dengan berat badan mencit yang akan diinjeksi. Digunakan dosis 200 mg/KgBB yang dilarutkan dalam 1 mL NaCl 0,9% untuk 1 kali injeksi (Sinata dan Arifin, 2016). Cara penginjeksian aloksan menggunakan langkah injeksi interperitoneal, yaitu mencit diposisikan menghadap kearah frontal hingga terlihat bagian abdomennya. Pada bagian atas abdomen, mencit disemprotkan dengan alkohol 70%, kulit dicubit hingga terasa bagian ototnya. Kemudian spuit dimasukkan pada bagian abdomen dan dicoba digerakkan, apabila terasa berat, berarti sudah masuk pada daerah intraperitoneal. Setelah yakin pada daerah intraperitoneal maka segera diinjeksikan aloksan secara perlahan dan abdomen mencit disemprot dengan alkohol 70% kembali (Nahari, 2015).

3.5.6 Terapi Hewan Coba

Mencit diabetes mellitus hasil induksi aloksan selanjutnya diterapi dengan variasi dosis ekstrak bekatul. Perlakuan kelompok D1, D2 dan D3 diberikan ekstrak etanol bekatul dengan dosis yang berbeda yaitu 350 mg/KgBB (KD1), 400 mg/KgBB (KD2) dan 500 mg/KgBB (KD3) yang diberi perlakuan secara oral menggunakan sonde lambung dengan pencekakan 1 kali sehari selama 14 hari berturut-turut. Sedangkan untuk kelompok kontrol negatif hanya diberikan suspensi CMC-Na 0,5% tanpa ekstrak etanol bekatul.

3.5.7 Pengambilan Pankreas dan Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE)

3.5.7.1 Pengambilan Organ Pankreas

Mencit terlebih dahulu dilakukan dislokasi leher dengan cara bagian pundak mencit ditekan menggunakan benda tumpul dan tarik bagian ekor mencit, pastikan saat melakukan penarikan hanya satu kali agar tidak menyakiti mencit. Skalpel dan alat bedah disiapkan untuk membantu mengambil organ pankreas. Setelah mati, mencit diletakkan pada papan fiksasi dan ditata pada posisi ventral diatas. Organ pankreas diambil masing-masing 1 irisan kelenjar pankreas tiap ulangan dalam satu perlakuan selanjutnya direndam dengan larutan buffer formalin 10% sebagai tahap fiksasi pembuatan preparat histopatologi (Pasaribu, dkk., 2015).

3.5.7.2 Pembuatan Preparat Histopatologi dan Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE) (Pasaribu dkk., 2015)

Mencit kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan hasil terapi ekstrak bekatul masing-masing dibedah setelah terap terakhir yaitu pada hari ke-15. Langkah-langkah pembuatan preparat histopatologi adalah dilakukan dengan cara organ pankreas difiksasi dengan menggunakan larutan buffer formalin 10% selama

24 jam, kemudian dipotong dan dimasukkan ke dalam tempat spesimen yang terbuat dari plastik. Selanjutnya dilakukan proses dehidrasi. Jaringan pankreas dimasukkan ke dalam alkohol konsentrasi bertingkat yaitu alkohol 70%, 80%, 90%, alkohol absolut I, absolut II masing-masing 2 jam. Kemudian jaringan pankreas dimasukkan ke dalam paraffin cair dengan suhu 56°C selama 2 jam sebanyak 2 kali. Jaringan kemudian diambil menggunakan pinset dan dilakukan pemblokkan menggunakan paraffin blok. Blok-blok paraffin tersebut kemudian dipotong tipis menggunakan mikrotom dengan ketebalan 4-5 μ m. Hasil potongan diapungkan dalam air hangat bersuhu 60°C untuk meregangkan agar jaringan tidak berlipat. Sediaan kemudian diangkat dan diletakkan dalam gelas objek untuk dilakukan pewarnaan *Hematoxylin* dan *Eosin* (HE).

Tahapan pewarnaan HE adalah sebagai berikut, preparat dalam gelas objek direndam dalam larutan *xylol* dengan konsentrasi bertingkat yaitu *xylol* I, *xylol* II, dan *xylol* III masing-masing selama 5 menit. Kemudian preparat direndam dalam alkohol 100% I dan II masing-masing selama 5 menit, selanjutnya dicelupkan dalam aquades dengan cara mengangkat dan menurunkannya. Kemudian direndam dalam larutan *Hematoxylin* selama 15 menit. Preparat kemudian dicelupkan ke dalam *acid* alkohol 1% selama 7-10 celupan lalu direndam dalam aquades selama 15 menit, kemudian direndam dalam larutan *eosin* selama 2 menit. Selanjutnya preparat direndam dengan alkohol absolut I dan II masing-masing selama 3 menit dan dalam *xylol* IV dan V masing-masing selama 5 menit. Preparat selanjutnya dikeringkan dan dilakukan mounting menggunakan entelan. Preparat siap dilakukan pengamatan.

Pengamatan terhadap setiap preparat dilakukan menggunakan mikroskop olympus. Pada setiap pulau langerhans yang dipilih dihitung jumlah sel yang berada didalamnya tanpa melihat tipe sel yang ada didalamnya karena teknik pewarnaan HE tidak dapat membedakan jenis sel yang ada secara spesifik (Sumarsono, dkk., 2014). Penghitungan sel-sel pankreas dilakukan per lapang pandang pada pembesaran 400x (Suarsana, dkk., 2010).

3.5.8 Analisis Data

Metode analisis yang digunakan adalah dengan menginterpretasikan data baik berupa Gambar, Tabel, dan grafik. Data analisis antioksidan yang diperoleh berupa absorbansi-absorbansi dari kontrol, sampel, dan pembanding asam askorbat (Vitamin C). Setelah didapatkan data persen (%) aktivitas antioksidan pada masing-masing konsentrasi sampel dan pembanding. Selanjutnya, data persen (%) aktivitas antioksidan diolah menggunakan *GraphPad Prism8* untuk mengetahui nilai IC_{50} sampel dan pembanding. Sedangkan data gambaran histologi pankreas dianalisis menggunakan program *Statistical Analysis Software (SPSS)* secara statistik menggunakan *one way ANOVA* pada tingkat kepercayaan 5% dan apabila terdapat perbedaan nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah bekatul beras putih lokal sebesar 250 gram yang diperoleh dari penggilingan di daerah Lasem, Gresik Jawa Timur. Proses preparasi diawali dengan pengayakan sampel bekatul menggunakan ayakan berukuran 40 mesh. Hal tersebut bertujuan untuk menyeragamkan ukuran sampel, memperluas permukaan sampel sehingga interaksi antara sampel dan pelarut menjadi lebih efektif serta mempermudah kelarutan komponen bioaktif dan meningkatkan rendemen ekstraksi. Kemudian sampel diinkubasi dengan menggunakan oven selama 3 menit pada suhu 102 °C. Hal tersebut merupakan bentuk stabilisasi bekatul yang bertujuan untuk inaktivasi enzim lipase agar sampel tidak mengalami kerusakan dan dapat bertahan lama. Menurut Siswanti, dkk (2018) kandungan lemak pada bekatul yang cukup tinggi menyebabkan bekatul mudah mengalami kerusakan yang disebabkan oleh adanya aktivitas mikroba maupun enzim lipase yang dapat menghidrolisa trigliserida sehingga menghasilkan asam lemak dan gliserol yang sangat mudah dioksidasi. Bekatul kering diperoleh dengan karakteristik warna coklat kekuning-kuningan. Hasil preparasi bekatul dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4. 1 Sampel Bekatul

4.2 Analisis Kadar Air

Penentuan kadar air merupakan salah satu analisis penting dan paling luas dilakukan dalam pengolahan dan pengujian bahan, karena kadar air berkaitan dengan kualitas dan stabilitas bahan. Analisis kadar air pada sampel bekatul dilakukan dengan menggunakan metode Thermogravimetri. Prinsip metode thermogravimetri yaitu dengan menguapkan air yang terdapat dalam bahan melalui proses pemanasan. Penguapan air yang terdapat dalam sampel bekatul dilakukan pada suhu 100-105°C hingga diperoleh berat konstan. Selisih kadar air sebelum dan setelah pengeringan merupakan kadar air yang menguap. Menurut Indah, dkk (2017) apabila kadar air masih tinggi maka hal tersebut merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroba utamanya jenis kapang, sehingga perlu dilakukan stabilisasi pada sebuah bahan. Berdasarkan hasil penelitian, kadar air sampel bekatul diperoleh sebesar 1,211% (b/b) (lampiran 5). Kadar air yang diperoleh telah memenuhi kriteria menurut BPOM (2014) tentang persyaratan mutu obat tradisional bahwa kadar serbuk simplisia adalah $\leq 10\%$. Menurut Ketaren (1986) semakin rendah kandungan kadar air pada simplisia maka semakin tinggi nilai rendemen ekstrak yang berarti bahwa interaksi pelarut dan sampel bekerja maksimal. Sedangkan menurut Winarno (1997) dalam Fauziyah (2011) kadar air umumnya berbanding lurus dengan aktivitas air (a_w), yaitu semakin kecil kadar air,

maka semakin kecil a_w sehingga semakin awet bahan pangan tersebut. Nilai a_w yang rendah akan menghambat pertumbuhan mikroba pada bahan pangan sehingga bahan pangan menjadi lebih awet.

4.3 Ekstraksi Bekatul

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan yang tidak saling larut yang berbeda, biasanya air dan yang lainnya pelarut organik. Pada penelitian ini, metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi karena metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Mukhriani, 2014). Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel uji dalam cairan pada temperatur ruang.

Ekstraksi maserasi bekatul dilakukan menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:6 (b/v). Ulfa (2016) dan Syafitri (2016) melaporkan bahwa bekatul mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, steroid, triterpenoid dan flavonoid. Oleh karena senyawa flavonoid dan tanin bersifat polar, alkaloid bersifat semi polar, sedangkan steroid dan triterpenoid bersifat non polar. Sehingga etanol merupakan pelarut yang cocok digunakan sebagai pelarut untuk proses ekstraksi bekatul. Hal ini sesuai menurut Sa'adah (2015) bahwa etanol merupakan pelarut yang bersifat semi polar, dapat membentuk ikatan hidrogen antara molekul-molekulnya. Sehingga dapat menarik seluruh senyawa aktif yang terdapat dalam bekatul, baik senyawa polar, semi polar maupun non polar. Dalam maserasi, pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel, zat aktif dalam rongga sel karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, maka larutan dengan konsentrasi lebih tinggi akan terdesak keluar. Peristiwa ini berulang sehingga terjadi kesetimbangan antara konsentrasi senyawa

dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Hargono, 1986 dalam Sundaryono, dkk, 2016).

Ekstraksi maserasi dilakukan dengan merendam sampel selama 24 jam dan dibantu proses pengadukan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm (*rotation per minutes*) untuk memaksimalkan interaksi antara pelarut dengan senyawa yang terdapat dalam sampel, sehingga pelarut mampu menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel dan zat aktif dalam sampel dapat terdesak keluar dan menghasilkan ekstrak yang optimum. Proses perendaman dapat meluruhkan susunan sel dalam tanaman sehingga zat aktif yang terkandung di dalam sampel akan terlarut dalam pelarut. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel menggunakan corong Buchner karena proses penyaringan menjadi lebih cepat karena memisahkan endapan dari pelarutnya dari residunya dengan cara menyedot udara di dalam corong dengan pump Buchner atau pompa vakum sehingga tekanan didalamnya lebih kecil daripada yang didalamnya sehingga filtrat dapat mengalir dengan cepat. Filtrat yang diperoleh berwarna coklat kekuningan. Ampas hasil penyaringan pertama dilakukan remaserasi selama 48 jam (± 2 hari) dengan pengadukan menggunakan *shaker* pada kecepatan 120 rpm dan disaring menggunakan corong Buchner. Filtrat kedua diperoleh berwarna kekuningan.

Filtrat hasil ekstraksi dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* yang bertujuan untuk memisahkan antara zat pelarut dengan minyak bekatul berdasarkan perbedaan titik didih. Prinsip utama dari *rotary evaporator* terletak pada penurunan tekanan pada labu alas bulat dan pemutaran labu alas bulat hingga berguna agar pelarut dapat menguap lebih cepat dengan ketentuan bahwa pelarut yang memiliki titik didih lebih rendah dibandingkan minyak bekatul akan menguap terlebih dahulu

karena pemanasan dan akan diembunkan oleh kondensor yang selanjutnya akan dialirkan ke wadah penampung limbah, dari proses pemisahan ini akan didapat ekstrak pekat dari minyak bekatul beserta zat-zat pengotor. Proses evaporasi dilakukan hingga didapatkan ekstrak etanol 96% bekatul kental. Hasil rendemen ekstraksi maserasi diperoleh sebesar 14,65% (lampiran 6) dan berwarna hijau kecoklatan. Hasil ekstraksi maserasi etanol 96% bekatul dapat dilihat pada Gambar 4.2.

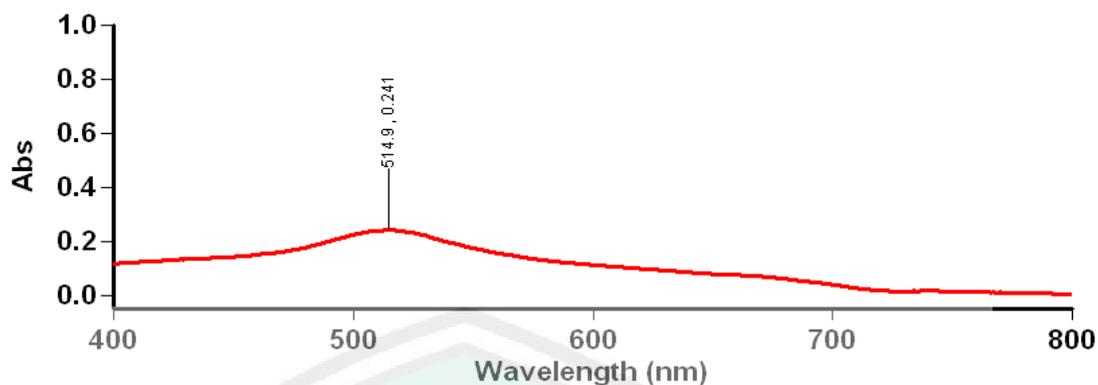


Gambar 4.2 Ekstrak etanol 96% bekatul

4.4 Pengujian Aktivitas Antioksidan Pada Sampel

4.4.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang dibutuhkan oleh larutan DPPH untuk mencapai serapan maksimal. Menurut Rohman dan Gandjar (2007) pengukuran sampel harus dilakukan pada panjang gelombang maksimum agar kepekaannya lebih dan meminimalkan kesalahan. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum larutan DPPH 0,2 mM dapat ditunjukkan pada Gambar 4.3:



Gambar 4.3 Spektra UV-Vis larutan DPPH 0,2 mM

Berdasarkan spektra pada Gambar 4.3, panjang gelombang (λ) maks DPPH 0,2 mM pada penelitian ini adalah 514,9 nm dengan absorbansi 0,241 yang memiliki warna ungu. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh tidak jauh berbeda dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Kuntorini dkk (2010) dan Hartati dkk (2015) bahwa panjang gelombang maksimum DPPH adalah 515 nm. Hal ini sesuai menurut Prakash (2001) bahwa panjang gelombang maksimum DPPH dengan menggunakan pelarut etanol adalah 515 – 520 nm. Panjang gelombang maksimum yang diperoleh akan digunakan untuk uji aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol 96% bekatul.

4.4.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Pada Sampel

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan pada ekstrak etanol 96% bekatul. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Metode ini menggunakan radikal DPPH sebagai radikal yang akan bereaksi dengan senyawa antioksidan. Kontrol yang digunakan pada pengukuran aktivitas antioksidan yaitu larutan DPPH 0,2 mM yang dilarutkan pada pelarut etanol 95%.

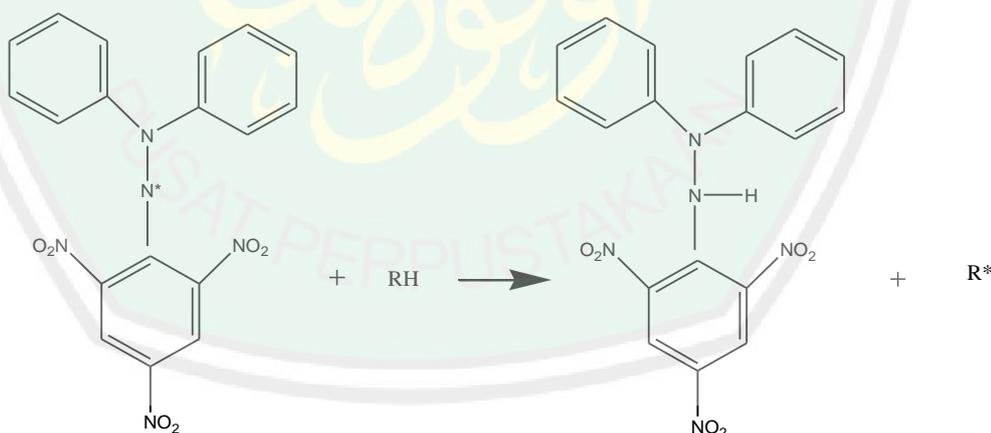
Kontrol digunakan sebagai pembanding pada saat pengukuran kapasitas antioksidan pada sampel dan mengetahui absorbansi radikal DPPH pada saat sebelum direduksi oleh sampel. DPPH memiliki warna komplementer ungu karena memiliki elektron yang tidak berpasangan.

Sampel ekstrak etanol 96% bekatul dengan variasi konsentrasi yang diuji yaitu 10, 50, 100, 150, 200, 400 dan 800 ppm, ditambahkan larutan DPPH dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit untuk mengoptimalkan terjadinya pengikatan antara senyawa antioksidan dalam menangkap elektron yang tidak berpasangan dari radikal bebas. Berdasarkan penelitian Irianti, dkk (2016) menyatakan bahwa DPPH memiliki kestabilan absorbansi pada menit ke-30 sampai 40. Pada waktu tersebut merupakan waktu yang dibutuhkan oleh radikal DPPH untuk bereaksi dengan senyawa antioksidan. Setelah dilakukan inkubasi selama 30 menit diketahui ekstrak etanol 96% bekatul mengalami perubahan warna. Perubahan warna yang terjadi yaitu dari warna ungu menjadi kekuningan. Hal ini sesuai menurut Molyneux (2004) DPPH yang bereaksi dengan antioksidan akan mengalami perubahan warna dari ungu menjadi kuning yang disebabkan oleh antioksidan akan bereaksi dengan DPPH yang menstabilkan radikal bebas dan mereduksi DPPH. Kemudian DPPH bereaksi dengan atom hidrogen dari senyawa peredam radikal bebas membentuk DPPH-H yang lebih stabil.

Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning juga disebabkan karena atom N pada radikal DPPH memiliki elektron tidak berpasangan menyebabkan terjadinya transisi $n-\pi^*$. Keadaan dasar pada transisi ini lebih bersifat polar dibandingkan keadaan tereksitasi sehingga ketika DPPH direaksikan dengan senyawa antioksidan maka akan membentuk ikatan hidrogen antara elektron dari

atom N dan atom H dari antioksidan. Ikatan hidrogen pada transisi $n-\pi^*$ akan mempunyai energi yang lebih besar sehingga menyebabkan pergeseran ke arah panjang gelombang yang lebih pendek (pergeseran hipsokromik). Hal ini menyebabkan warna DPPH yang awalnya berwarna ungu menjadi DPPH-H yang berwarna kuning. Berdasarkan hal tersebut, berubahnya warna dari larutan ekstrak etanol 96% bekatul dari ungu menjadi kuning menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% bekatul memiliki potensi sebagai antioksidan yang ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi kekuningan.

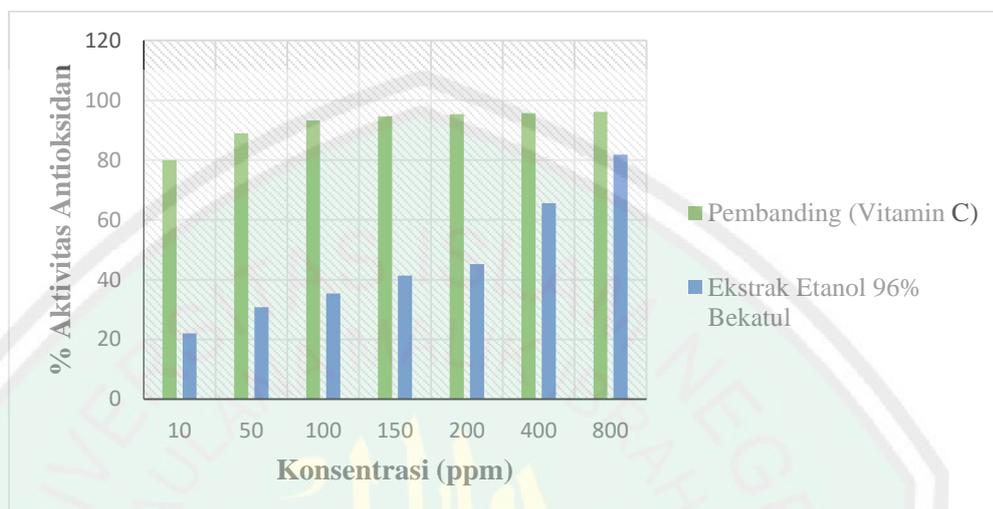
Selanjutnya pengujian antioksidan sampel dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dan diukur pada panjang gelombang 514,9 nm. Selisih absorbansi kontrol dengan absorbansi sampel yang telah direduksi oleh DPPH merupakan sisa radikal DPPH. Mekanisme reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan ditunjukkan pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Mekanisme reaksi DPPH dengan antioksidan (Prakash, dkk., 2001)

Hasil pengukuran antioksidan menggunakan spektrofotometri UV-Vis diperoleh berupa absorbansi dari kontrol dan sampel yang selanjutnya digunakan

untuk menentukan persen (%) aktivitas antioksidan. Hasil persentase ekstrak etanol 96% bekatul ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Grafik aktivitas antioksidan ekstrak etanol 96% bekatul

Berdasarkan Gambar 4.5 dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula nilai % aktivitas antioksidannya. Menurut Rahayu dkk (2010) persen (%) aktivitas antioksidan menunjukkan kemampuan suatu senyawa antioksidan dalam menghambat radikal bebas yaitu banyaknya atom hidrogen dari suatu senyawa antioksidan menangkap radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H yang lebih stabil.

Sampel pembanding yang digunakan yaitu vitamin C. Pada penelitian ini diperoleh hasil persentase aktivitas antioksidan vitamin C pada konsentrasi 800 ppm sangat aktif dalam meredam radikal DPPH yaitu sebesar 96,098% lebih besar dibandingkan ekstrak etanol bekatul yaitu 81,830%. Selain persen (%) aktivitas antioksidan, parameter lain yang digunakan adalah IC_{50} (*Inhibition Concentration*

50%) merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (mg/ml) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh dianalisis menggunakan persamaan regresi non linier dengan *GraphPad Prism 8 software* sehingga didapatkan nilai IC_{50} . Data nilai IC_{50} ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 1Nilai IC_{50} aktivitas antioksidan ekstrak bekatul dan perbandingan

No	Sampel	IC_{50} (ppm)
1	Ekstrak Etanol Bekatul	185,7
2	Asam Askorbat (Vitamin C)	0,6100

Berdasarkan Tabel 4.1 diketahui bahwa nilai IC_{50} ekstrak etanol bekatul lebih besar daripada nilai IC_{50} asam askorbat. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% bekatul memiliki kemampuan yang lebih rendah dibandingkan dengan asam askorbat dalam menghambat aktivitas radikal bebas DPPH. Menurut Molyneux (2004) jika nilai IC_{50} suatu ekstrak berada dibawah 50 ppm maka aktivitas antioksidannya kategori sangat kuat, nilai IC_{50} berada diantara 50-100 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori kuat, nilai IC_{50} berada di antara 100-150 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori sedang, nilai IC_{50} berada di antara 150-200 ppm berarti aktivitas antioksidannya kategori lemah, sedangkan apabila nilai IC_{50} berada diatas 200 ppm maka aktivitas antioksidannya dikategorikan sangat lemah. Sehingga dapat diketahui bahwa ekstrak etanol 96% bekatul memiliki aktivitas antioksidan yang termasuk dalam kategori lemah.

Hasil aktivitas antioksidan yang diperoleh berbeda dan lebih baik dibandingkan dengan hasil penelitian dari Ulfa (2016) yang melaporkan bahwa

nilai IC_{50} bekatul beras dengan pelarut etanol 99% sebesar 437 mg/L dan positif mengandung senyawa steroid dan triterpenoid. Syafitri (2016) juga melaporkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak etanol bekatul memiliki nilai IC_{50} sebesar 29,27 $\mu\text{g/mL}$ dan positif mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, steroid dan flavonoid. Diketahui pada hasil penelitian ini menghasilkan nilai IC_{50} bekatul beras putih lokal dengan pelarut etanol 96% sebesar 185,7 ppm (lampiran 7) dan positif mengandung saponin, tanin, steroid dan alkaloid.

4.5 Potensi Ekstrak Etanol 96% Bekatul Sebagai Antidiabetes Terhadap Mencit (*Mus Musculus*, L.) Diabetes Mellitus

4.5.1 Pengkondisian Mencit Diabetes Mellitus

Penelitian ini dilakukan secara *in-vivo* menggunakan hewan coba mencit putih jantan (*Mus musculus* L.) galur BALB/C yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram, yang sebelumnya diaklimatisasi selama satu minggu agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan baru. Pada penelitian ini mencit yang digunakan sebanyak 20 ekor yang dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor mencit. Masing-masing diberi makan dan minum setiap hari secara *ad libitum*, dan mengganti sekam setiap alas sekam basah (± 2 hari).

Penelitian ini terdiri dari 5 kelompok diantaranya, kelompok kontrol Normal (KN) adalah kelompok yang tidak diberikan perlakuan (hanya aquades), kelompok kontrol positif (KP) adalah kelompok mencit yang diinduksi aloksan, kelompok kontrol dosis (KD 1-3) adalah kelompok mencit yang diinduksi aloksan dan diterapi dengan ekstrak etanol 96% bekatul dengan variasi dosis 350 mg/KgBB; 400 mg/KgBB; 500 mg/ KgBB. Kelompok kontrol positif dan semua kelompok kontrol

dosis diberikan agen diabetagonik untuk induksi diabetes mellitus. Agen diabetagonik yang digunakan adalah aloksan.

Aloksan termasuk bahan kimia yang digunakan sebagai agen diabetagonik pada binatang percobaan. Pembuatan larutan aloksan dilakukan dalam keadaan fresh karena aloksan termasuk dalam bahan yang mudah teroksidasi dan tidak stabil sehingga perlakuan induksi terhadap mencit dengan warna larutan berwarna merah jambu dilakukan sesegera mungkin. Apabila larutan aloksan telah teroksidasi maka larutan aloksan akan mengalami perubahan warna dari merah jambu menjadi bening. Dosis aloksan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 200 mg/kgBB dan mencit dikategorikan diabetes apabila kadar glukosa ≥ 200 mg/dL. Pemilihan dosis induksi aloksan sesuai dengan penelitian Sinata dan Arifin (2016) yang telah melakukan perlakuan induksi aloksan monohidrat terhadap mencit putih jantan secara intraperitoneal dengan dosis 200 mg/kgBB dan tidak menyebabkan kematian terhadap mencit.

Mekanisme aloksan merusak jaringan sel didahului dengan penyerapan oleh sel β Langerhans yang menyebabkan pembentukan oksigen reaktif. Diawali dengan reduksi aloksan menjadi asam dialurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan, menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida. Pembentukan ROS (*reactive oxygen spesies*) dimulai dengan penyerapan cepat oleh oksigen, aktivasi NADPH oksidase dan produksi radikal anion superoksida.



Kemudian radikal anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$) dengan cepat dikonversi menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) oleh SOD (super okside dismutase) (Nimse dan Pal, 2015).



Radikal superoksida yang terbentuk dapat membebaskan ion ferri dari ferinitin, dan mereduksi menjadi ion ferro. Adanya ion ferro dan hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif melalui reaksi fenton (szkuldezki, 2001).



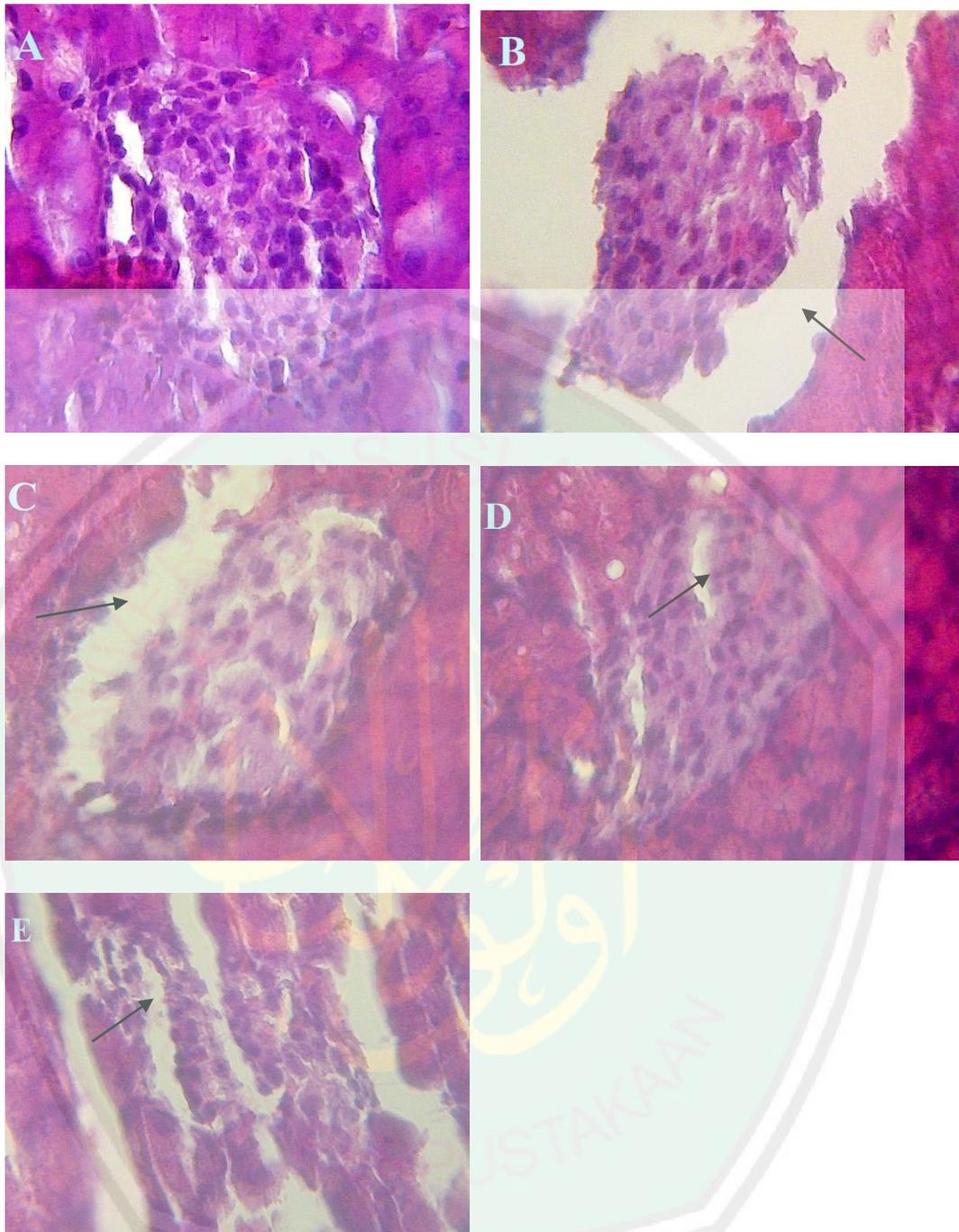
Radikal hidroksil (OH^{\bullet}) merupakan suatu molekul yang sangat reaktif dalam upaya untuk mendapatkan pasangan elektron. Radikal hidroksil menyebabkan fragmentasi DNA nukleus, kemudian terjadi aktivasi poli (ADP-Ribosa) sintetase, penyusutan nikotinamid adenine dinukleotida (NAD) intrasel, dan menimbulkan kematian sel (Takasu, dkk., 1991 dalam Widowati, dkk., 2004). Kerusakan dan kematian sel pada pankreas menyebabkan sel mengalami disfungsi sehingga menyebabkan sekresi dan sensitivitas insulin mengalami penurunan mengakibatkan kadar glukosa darah meningkat (hiperglikemia).

4.5.2 Pengaruh Ekstrak Etanol 96% Bekatul Terhadap Histologi Pankreas Mencit (*Mus Musculus L.*) Diabetes Mellitus

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak etanol 96% bekatul (*Rice Bran*) terhadap pankreas mencit dalam berbagai variasi dosis yaitu 350 mg/KgBB; 400 mg/KgBB; 500 mg/KgBB. Pankreas merupakan sebuah organ yang memiliki 2 fungsi utama menjalankan fungsi eksokrin dan endokrin. Eksokrin adalah kelenjar yang mengeluarkan cairan berupa enzim. Sedangkan endokrin

berperan dalam menghasilkan hormon insulin, glukagon dan somatostatin. Insulin mengubah glukosa (gula) menjadi sumber energi. Pankreas mencit diambil setelah 14 hari terapi (hari ke-15). Preparat histologi dibuat dengan metode blok paraffin dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* dan untuk mengetahui kerusakan setiap preparat dapat diamati dengan mikroskop. Hasil pengamatan histologi pankreas mencit kontrol normal, kontrol positif, dan kontrol dosis 350 mg/KgBB; 400 mg/KgBB; 500 mg/KgBB. Parameter histologi pankreas mencit yang diamati adalah jumlah sel pankreas secara umum. Data pengamatan histologi dapat dilihat pada Gambar 4.6.





Gambar 4. 6 Histologi organ pankreas mencit hasil pewarnaan HE (400x). A (Kontrol Normal), B (Kontrol Positif), C (Terapi dosis 350 mg/KgBB), D (Terapi 400 mg/KgBB) dan E (Terapi dosis 500 mg/KgBB). Keterangan: → Nekrosis adanya area kosong

Sel yang terdapat dalam pulau Langerhans ada empat jenis sel (alfa, beta, delta dan F). Oleh karena hasil pengamatan pulau Langerhans menggunakan

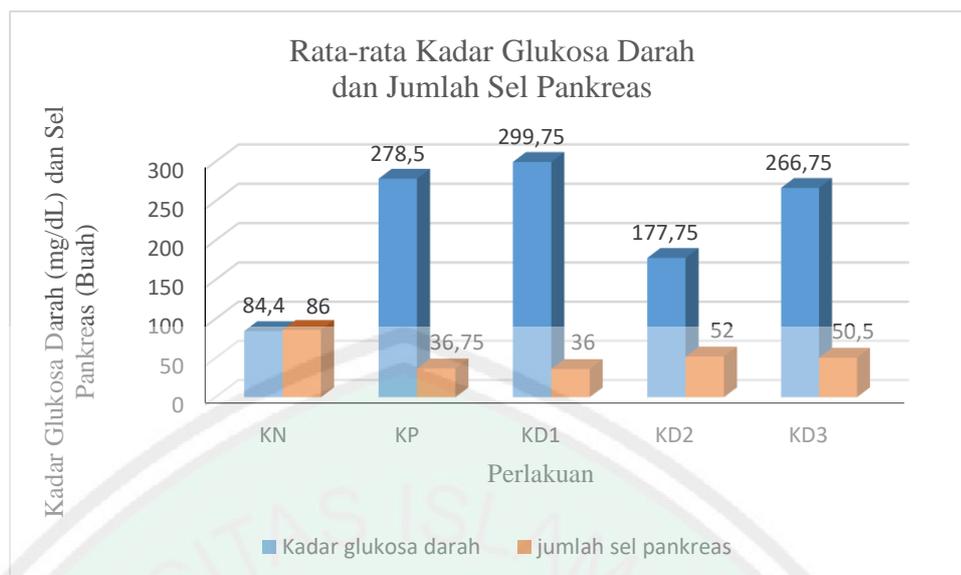
mikroskop sel-sel hasil penelitian tersebut tidak dapat dibedakan, sehingga pada penelitian ini hanya fokus terhadap jumlah sel pankreas. Berdasarkan hasil penelitian yang terdapat pada Gambar 4.6 diketahui bahwa pada Gambar A (Kontrol Normal) yakni tanpa diberi perlakuan menunjukkan kondisi sel pankreas yang normal, terlihat bahwa susunan sel teratur menyebar di dalam pulau langerhans dan bentuk sel yang seragam. Menurut Zubaidah (2014) pulau langerhans dikatakan normal apabila terdapat susunan sel endokrin yang teratur yang menyebar di pulau langerhans dengan bentuk sel yang seragam, bentuk bulat dan inti sel nampak jelas serta sel-sel tidak mengalami edema (pembengkakan). Pada Gambar B (Kontrol Positif) yang telah diinduksi aloksan terjadi perubahan sel dengan susunan sel tidak teratur menyebar di pulau langerhans, bentuk sel tidak seragam dan adanya ruang kosong pada islet langerhans disebabkan oleh sel telah mengalami nekrosis. Hal ini menunjukkan bahwa mencit mengalami gangguan sekresi insulin sehingga tidak mampu bekerja dengan baik, sehingga mencit menderita penyakit yaitu diabetes mellitus.

Sedangkan pada Gambar (C), (D) dan (E) masih nampak ruang kosong akan tetapi lebih baik dibandingkan dengan perlakuan kontrol positif, akan tetapi kondisi islet langerhans masih belum seperti kondisi sel pankreas normal. Hal tersebut dapat terlihat dengan luas area kosong relatif berkurang dan terlihat adanya perbaikan jaringan yang ditandai dengan adanya penambahan jumlah inti sel islet langerhans. Namun pada Gambar (D) yaitu hasil terapi dosis 400 mg/KgBB terlihat lebih baik dibandingkan Gambar (C) dan (E) ditandai dengan jumlah sel pankreas lebih padat dan area kosong relatif kecil. Data tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Jumlah sel pankreas mencit sesudah terapi ekstrak etanol 96% bekatul

Perlakuan	Rata-rata \pm SD
Kontrol Normal	86 \pm 15.77
Kontrol Positif	36,75 \pm 13.60
Kontrol Dosis 1	36 \pm 7.11
Kontrol Dosis 2	52 \pm 5.16
Kontrol Dosis 3	50,5 \pm 18.50

Berdasarkan Tabel 4.2 diketahui bahwa rata-rata jumlah sel pankreas mencit kontrol normal yaitu 86 buah sel, lebih banyak dibandingkan dengan jumlah sel pankreas mencit kontrol positif dan kontrol dosis. Pada kontrol positif hanya terdapat 36,75 buah sel, tidak jauh berbeda dengan jumlah sel dari kontrol dosis 1 yaitu 36 buah sel. Sedangkan pada kontrol dosis 2 dan 3 juga tidak jauh berbeda yaitu 52 dan 50,5 buah sel. Namun rata-rata jumlah sel pankreas pada kontrol dosis 2 lebih baik dibandingkan kontrol dosis 1 dan 3. Terapi ekstrak etanol 96% bekatul dilakukan selama 14 hari sehingga diperoleh data kadar glukosa darah dan jumlah sel pankreas hasil pengamatan menggunakan mikroskop. Data tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.7 berikut.



Gambar 4. 7 Diagram batang rata-rata kadar glukosa darah dan jumlah sel pankreas

Keterangan: KN : Kontrol Normal
 KP : Kontrol Positif
 KD1 : Kontrol Dosis 1 (350 mg/KgBB)
 KD2 : Kontrol Dosis 2 (400 mg/KgBB)
 KD3 : Kontrol Dosis 3 (500 mg/KgBB)

Berdasarkan Gambar 4.7, terlihat bahwa jumlah sel pankreas dengan kadar glukosa darah memiliki diagram yang sama, yang menunjukkan bahwa pada perlakuan dosis 2 memiliki grafik lebih baik namun belum seperti keadaan pada perlakuan kontrol normal. Namun, secara keseluruhan dapat diketahui bahwa terdapat penurunan kadar glukosa darah setelah terapi ekstrak etanol 96% bekatul beras padi selama 14 hari dan kenaikan jumlah sel pankreas. Hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat senyawa dalam ekstrak etanol 96% bekatul yang dapat membantu memperbaiki jaringan pankreas yang rusak sehingga sel-sel pankreas yang mati dapat beregenerasi kembali yang ditunjukkan dengan jumlah sel pankreas yang bertambah dan penurunan kadar glukosa darah. Akan tetapi, hasil penelitian yang telah diperoleh tidak sesuai menurut Rizkayanti, dkk (2017) yang

mengatakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka partikel-partikel senyawa antioksidan yang terkandung akan semakin banyak, sehingga semakin besar pula kemampuan untuk meredam radikal bebas. Hal ini disebabkan oleh metabolisme masing-masing hewan coba yang berbeda, serta terdapat kemungkinan bahwa pada perlakuan dosis 3, senyawa sudah berubah menjadi senyawa prooksidan karena menurut Gordon (1993) pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan berubah menjadi prooksidan karena besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh terhadap laju oksidasi.

Adanya perbaikan jaringan sel pankreas yang ditunjukkan dengan penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan jumlah sel pankreas oleh ekstrak etanol 96% bekatul disebabkan oleh adanya kandungan antioksidan yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, diketahui bahwa ekstrak etanol 96% bekatul memiliki aktivitas antioksidan pada konsentrasi 800 ppm sebesar 81,830% dan nilai IC_{50} sebesar 185,7 ppm dan positif mengandung senyawa aktif saponin, tanin, steroid dan alkaloid. Adanya kandungan senyawa alkaloid pada ekstrak etanol 96% bekatul termasuk dalam senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Sebagaimana menurut Rohim (2016) yang menyatakan bahwa senyawa berbasis nitrogen dari bahan alam dapat menghambat proses oksidatif. Karena senyawa radikal turunan dari senyawa amina memiliki tahap terminasi yang sangat lama, sehingga mampu menghentikan reaksi rantai radikal secara efisien. Menurut Zahra, dkk (2017) menyebutkan bahwa tanin dan alkaloid berpotensi menurunkan kadar glukosa darah dengan cara mengurangi resistensi insulin sehingga meningkatkan

sekresi insulin oleh adanya protein kinase *C-dependent up-regulation* pada reseptor insulin, namun bukan hanya itu senyawa fitokimia tersebut dapat memiliki kemampuan untuk meningkatkan regenerasi sel β pankreas.

Selain alkaloid, bekatul pada penelitian ini juga positif mengandung senyawa saponin dan tanin. Saponin bekerja dengan cara menghambat kerja enzim α -glukosidase yaitu enzim yang ada di dalam usus yang berfungsi untuk mengubah karbohidrat menjadi glukosa. Enzim α -glukosidase inhibitor ini menghambat absorpsi glukosa pada usus halus, sehingga berfungsi sebagai anti hiperglikemi (penurun kadar glukosa darah). Selain saponin, tanin juga memiliki peranan dalam menurunkan kadar glukosa darah. Tanin bersifat astringen (zat yang menyebabkan pengerutan jaringan sehingga dapat mengurangi sekresi) yang bekerja dalam membentuk lapisan dari protein selaput lendir yang melindungi usus sehingga dapat menghambat penyerapan glukosa (Fiana dan Oktaria, 2016).

Data pengamatan yang diperoleh selanjutnya diuji normalitas dan homogenitasnya. Hasilnya menunjukkan bahwa data penelitian yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen. Setelah itu data diuji menggunakan analisis variansi (ANOVA) satu arah dengan taraf signifikansi 5%. Hasil analisis ANOVA dilakukan untuk mengetahui pengaruh terapi ekstrak etanol 96% bekatul terhadap jumlah sel pankreas mencit (*Mus musculus*) dapat dilihat pada Tabel 4.3 berikut:

Tabel 4. 3 Hasil perhitungan ANOVA jumlah sel pankreas mencit (*Mus musculus* L.) setelah perlakuan terapi ekstrak etanol 96% bekatul beras pada α 0,5%

SK	Db	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel}	Sig.
Perlakuan	4	6586.000	1646.500	9.648	3.06	.000
Galat	15	2559.750	170.650			
Total	19	9145.750				

Berdasarkan Tabel 4.3 hasil yang diperoleh dari uji ANOVA dengan taraf signifikansi α 5%, didapatkan nilai signifikansi $0,000 < 0,05$ dan nilai F_{hitung} (9.648) $> F_{Tabel}$ 3,06, sehingga H_0 ditolak. Berdasarkan hal tersebut menunjukkan bahwa terdapat pengaruh terapi ekstrak etanol 96% bekatul terhadap jumlah sel pankreas mencit (*Mus musculus* L.) (Lampiran 8).

Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan pengaruh pada setiap perlakuan, maka dilakukan uji lanjut dengan uji jarak duncan pada α 5% sebagaimana pernyataan oleh Hanafiah (2014), bahwa jika KK bernilai besar (minimal 10% pada kondisi homogen atau minimal 20% pada kondisi heterogen) karena data yang diperoleh yakni data jumlah sel pankreas memiliki koefisien keragaman 25%. Berdasarkan uji duncan 5% maka didapatkan notasi seperti pada Tabel 4.4 berikut:

Tabel 4. 4 Ringkasan uji duncan α 5% pengaruh ekstrak etanol 96% bekatul beras terhadap jumlah sel pankreas mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan

Perlakuan	Jumlah sel dan notasi pada α 5%
KN	86 ^a
K+	36,75 ^b
KD1	36 ^b
KD2	52 ^b
KD3	50,5 ^b

Keterangan: KN = kontrol normal
 K+ = kontrol positif
 KD1 = Kontrol dosis 1
 KD2 = Kontrol dosis 2
 KD3 = Kontrol dosis 3
 Notasi yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Hasil uji duncan pada Tabel 4.4 diatas menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pengaruh yang tidak nyata pada jumlah sel pankreas mencit (*Mus musculus* L.) kelompok K+ dengan 3 kelompok perlakuan terapi ekstrak etanol 96% bekatul

beras yakni dosis 1, 2 dan 3. Namun pada dosis 2 dan 3 memiliki peningkatan jumlah sel pankreas yang lebih baik dibandingkan dengan dosis 1. Berdasarkan hal tersebut, ekstrak etanol 96% bekatul beras memiliki pengaruh terhadap jumlah sel pankreas mencit (*Mus musculus*) namun 3 dosis perlakuan memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata.

4.6 Pemanfaatan Tanaman Bekatul Sebagai Antidiabetes dalam Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan segala sesuatu yang ada di dunia ini tidak ada yang sia-sia. Allah menghamparkan bumi dan menurunkan air hujan dari langit sehingga tumbuh bermacam-macam tumbuhan. Menurut Shihab (2002) Allah menganugerahkan nikmat kehidupan dan pemeliharaan kepada hamba-hamba-Nya. Dengan kekuasaan-Nya, Allah telah menjadikan bumi sebagai hamparan untuk manusia, membuka jalan-jalan untuk dapat dilalui dan menurunkan hujan diatas bumi sehingga terciptalah sungai-sungai dan dengan air itu Allah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang berbeda-beda warna, rasa dan manfaatnya. Ada yang berwarna putih dan hitam, ada pula yang rasanya manis dan pahit.

Kekuasaan Allah SWT yang tidak terbatas bagi makhluk hidup yang ada di bumi merupakan suatu tanda bagi mereka yang dibekali oleh Allah sebuah pemikiran, serta nikmat kehidupan dan pemeliharaan tentang adanya sang pencipta. Salah satu nikmat terbesar Allah SWT yang seringkali terlupakan adalah berupa nikmat sehat. Allah juga akan menguji hamba-Nya melalui nikmat sehat dengan dicabutlah nikmat sehat tersebut dari manusia dan diuji dengan sebuah penyakit, misalnya menderita diabetes mellitus. Namun, sebagai hamba-Nya, kita harus tetap bertawakkal kepada Allah SWT. Karena Allah SWT dalam firmanNya yang terdapat dalam surat Asy-Syuaraa ayat 80.

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

“*dan apabila aku sakit, Dialah Yang menyembuhkan aku*”

Berdasarkan firman Allah SWT diatas, menunjukkan bahwa sesungguhnya Allah yang memberikan ujian sebuah penyakit juga yang akan menyembuhkan. Allah SWT menganjurkan kepada hambanya untuk selalu berserah diri dan berusaha apabila sedang ditimpa ujian ketika sakit. Salah satu bentuk usaha yang dapat dilakukan adalah dengan mencari obat yang terdapat di alam. Salah satunya menggunakan tanaman sebagai obat. Pada penelitian ini digunakan tanaman bekatul yang dimanfaatkan sebagai obat alternatif untuk penyakit diabetes mellitus. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, menunjukkan hasil bahwa ekstrak etanol bekatul memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang ditunjukkan dengan nilai aktivitas antioksidan pada konsentrasi maksimum yaitu 800 ppm sebesar 81,830 % dan nilai IC_{50} sebesar 185,7 ppm. Pada penelitian ini juga dilakukan secara *in-vivo* dengan menggunakan mencit sebagai hewan coba. Berdasarkan hasil terapi terhadap mencit dengan variasi dosis yaitu 350 mg/KgBB; 400 mg/KgBB; 500 mg/KgBB, menunjukkan bahwa ekstrak etanol bekatul mampu memperbaiki jaringan sel pankreas mencit yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan jumlah sel pankreas mencit (Tabel 4.2).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol 96% bekatul mempunyai kemampuan sebagai antioksidan dengan nilai aktivitas antioksidan sebesar 81,830 % pada konsentrasi 800 ppm dan nilai IC_{50} 185,7 mg/L.
2. Terapi ekstrak etanol 96% bekatul berpengaruh terhadap jumlah sel pankreas mencit diabetes mellitus dan pada dosis 400 mg/KgBB merupakan dosis terbaik.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan proses fermentasi, fraksinasi, isolasi senyawa aktif untuk meningkatkan aktivitas antioksidan.
2. Perlu dilakukan pewarnaan jaringan menggunakan pewarnaan imunohistokimia agar mengetahui perbedaan sel beta dan sel alfa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adom, K.K dan Liu, R.H. 2002. Antioxidant Activity Of Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(21):6182-6187.
- Afriani, S., Idiawati, N., Destianti, L. Arianie, L. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Daging Buah Asam Paya (*Eleiodoxa conferta* Burret) dengan Metode DPPH dan Tiosianat. *JKK*, 3 (1): 49 –56.
- Al-albani, M.N. 2008. *Ringkasan Shahih Bukhari 3 & 4*. Depok: Gema Insani.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2014. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 Tahun 2014 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional.
- Chanphrom, P. 2007. *Antioxidants and Antioxidant Activities Of Pigmented Rice Varieties and Rice Bran*. [Thesis]. Thailand: Faculty of Gratuated Studies, Mahidol University.
- Chen, C.W and Cheng, H.H. 2006. A Rice Bran Oil Diet Increases LDL-Receptor and HMGCoA Reductase mRNA Expressions and Insulin Sensitivity in Rats with Streptozotocin/Nicotinamide-Induced Type 2 Diabetes. *Journal of Nutrition*. 136:1472-1476.
- Chen, M.H. dan Bergman, C.J. 2005. A Rapid Procedure for Analysing Rice Bran tocopherol, Tocotrienol and γ -Oryzanol Contents. *Journal Food Compos Analysis*. 18: 139-151.
- Damardjati, D.S., santosa, B.A., dan Munarso, J. 1990. Studi Kelayakan dan Rekomendasi Teknologi Pabrik Pengolahan Bekatul. *Laporan akhir*. Balai penelitian Tanaman Pangan Sukamandi.
- Departemen Kesehatan RI. 2005. *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus*. Jakarta: Departemen kesehatan RI, 85 hlm.
- Dewi, D. 2007. Aktivitas Antioksidan Dedak Sorgum Lokal Varietas Coklat (*Sorghum Bicolor*) Hasil Ekstraksi Berbagai Pelarut. *Jurnal teknologi penelitian*. 8(3):188-197.
- Esa, N.M., Ling, T.B., dan Peng, L.S. 2013. By-Products Of Rice Processing. An Overview Of Health Benefits And Applications. *Journal Of Rice Research*, 1(1): 107-117.
- Fauziyah, A. 2011. Analisis Potensi Dan Gizi Pemanfaatan Bekatul dalam Pembuatan Cookies. Bogor: Departemen Gizi Masyarakat Fakultas Ekologi Manusia Institut Pertanian Bogor.

- Fiana, Z dan Oktaria, D. Pengaruh Kandungan Saponin dalam Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah. *Majority*, 5 (4).
- Gordon, M.H. 1993. The Mechanism Of Antioxidant Action In Vitro. *Food Antioxidants*.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri*. Jilid I. *Terjemahan Ketaren S*. Jakarta: Universitas Jakarta.
- Hanani, E. 2005. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Callyspongia Sp dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. II (3).
- Handayani, A. 2015. Pemanfaatan Tumbuhan Berkhasiat Obat Oleh Masyarakat Sekitar Cagar Alam Gunung Simpang Jawa Barat. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indo*. 1 (6).
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan, Terbitan Ke-2, Terjemahan K. Padmawinata dan I. Soediro*. Bandung: ITB.
- Hartati, S., Marsono, Y., Suparmo dan Santoso, S. 2015. Komposisi Kimia Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Hidrofilik Bekatul Beberapa Varietas Padi. *Agritech*, 35 (1).
- Indah., Mappiratu dan Musafira. 2017. Produksi Enzim Lipase Dari *Aspergillus Niger* Isolat Kapang Kopra dengan Menggunakan Medium Kelapa Parut. *Kovalen*, 3 (3):269-276.
- Indranila dan Ulfah, M. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Karika (*Carica Pubescens*) Dengan Metode DPPH Beserta Identifikasi Senyawa Alkaloid, Fenol dan Flavonoid. *Prosiding seminar nasional peluang sebagai alternatif medicine*.
- International Diabetes Federation. 2011. *One Adult In Ten Will Have Diabetes By 2030*. <http://www.idf.org/media-events/press-releases/2011/diabetes-atlas-8thedition>. Diakses 6 Mei 2017.
- Irianti, T., Murti, Y.B., Kanistri, D.N., Pratiwi, D.R., Kuswandi dan Kusumaningtyas, R.A. 2016. DPPH Radical Scavenging Activity Of Aqueous Fraction From Ethanolic Extract Of Talok Fruit (*Muntingia calabura L.*). *Traditional Medicine Journal*, 21 (1).
- Jusman, S. W., & Halim, A. 2009. Oxidative Stress In Liver Tissue Of Rat Induced By Chronic Systemic Hypoxia. *Makara kesehatan*, 13(1):34-38.
- Kemit, N., Widarta, W.R., Nocianitri, K.A. Pengaruh Jenis Pelarut Dan Waktu Maserasi Terhadap Kandungan Senyawa Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Alpukat. *Jurnal Online*. Diakses pada tanggal 7 November 2017.

- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kuntorini, E.M dan Astuti, M.D. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* Merr.). *Sains dan Terapan Kimia*, 4 (1).
- Lu, F.C. 1995. *Toksikologi Dasar. Asas, Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. Edisi ke 2. Jakarta: UI Press.
- Mas'ud, F dan Pabbenteng. 2016. Rasio Bekatul Padi Dengan Pelarut Pada Ekstraksi Minyak Bekatul Padi. *Journal INTEK*. 3(2): 82-86.
- Moko, E. M., Purnomo, H., Kusnadi, J. Dan Ijong, F.G. 2014. Phytochemical Content And Antioxidant Properties of Colored and non Colored Varieties of Rice Bran Form Minahasa, North Sulawesi, Indonesia. *International Food Research Journal* 21(3): 1053-1059.
- Molyneux, P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Original Article: Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2).
- Muharni, Elfita dan Amanda. 2013. Aktivitas Antioksidan Senyawa (+) Morelloflavon dari Kulit Batang Tumbuhan Gamboge (*Garcinia Xanthochymus*). *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*.
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2).
- Mutiyani, M., Soeatmadji, D.W., Sunindya, B.R. 2014. Efek Diet Tinggi Karbohidrat dan Diet Tinggi Lemak Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan Kepadatan Sel Beta Pankreas Pada Tikus Wistar. *Indonesian Journal Of Human Nutrition* 1(2): 106-113.
- Muntiha, M. 2001. *Teknik Pembuatan Preparat Histopatologi Dari Jaringan Hewan Dengan Pewarnaan Hematoksin Dan Eosin (H&E)*. Temu teknis fungsional non peneliti
- Nahari, D.S. 2014. Pemisahan Golongan Senyawa Aktif Dan Penentuan Kandungan Fenolik Total Umbi Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steens) Serta Efek Terapinya Terhadap Aktivitas Seperoksida Dismutase Hati Tikus Diabetes. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Islam Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Nanggiang, D. 2016. Pengaruh Perbandingan Bubur Rumput Laut (*Eucheuma Cottonii*) dengan Bubur Sawi (*Brassica Juncea*) dan Konsentrasi Ekstrak Daun Suji Terhadap Karakteristik Mix Vegetable Leather Panggang. *Artikel*.

- Nimse, S.B dan Pal, D. 2015. Free Radicals, Natural Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms. *Royal society of chemistry Advances*, (5).
- Nubatonis, D. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Terhadap Histopatologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Melitus (DM) Tipe I. *Jurnal Kajian Veteriner*. 3 (1) : 31-40.
- Nugroho, A.E. 2006. Review Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*. ISSN: 1412-033X. 7(4):378-382.
- Nugroho.2007.Antioksidan.<https://nugrohob.wordpress.com/2007/12/03/antioksidan/> diakses pada tanggal 24 Desember 2017.
- Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. *Journal of analytical chemistry. Medallion laboratories: analytical progress*. 10 (2).
- Putra, D.A.D. 2012. Identifikasi Komponen Kimia Minyak Atsiri Daun Bunga Tahu Ayam (*Tagetes Erecta* L.) Serta Uji Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan. *Skripsi*. Tidak diterbitkan. Universitas Sumatera Utara.
- Putrawan IDG, Maryana R, Rosmayanti I. 2009. Ekstraksi minyak Dedak Padi menggunakan Isopropil Alkohol. *Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia*. Bandung.
- Rahayu, D.R., Kusriani, D dan Fachriyah, E. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa* L) dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH). Diponegoro: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro.
- Rakhmadi, I., Muladno., Siregar, H.C.H dan Siagian, P.H. 2009. Performa Mencit Jantan (*Mus musculus*) Umur 28-63 Hari Pada Alas Kandang Sekam, Pasir Dan Zeolit Dengan Dan Tanpa Sekat Alas. *Jurnal Zeolit Indonesia*, 8(2):1411-6723.
- Ratimanjari, D.A. 2011. Pengaruh Pemberian Infusa Herba sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) Terhadap Glibenklamid dalam menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang dibuat Diabetes. *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengertahuan Alam. Universitas Indonesia. 1-17.
- Rima, Y.S. 2014. *Perbandingan Metode Ekstraksi Dan Variasi Pelarut Terhadap Rendemen Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kubis Ungu* (*Brassica oleracea* L. Var. Capitata f. Rubra).
- Rizkayanti, Anang, W.M., Diah dan Jura, M.R. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* LAM). *Jurnal Akademika Kimia*, 6 (2): 125-131.

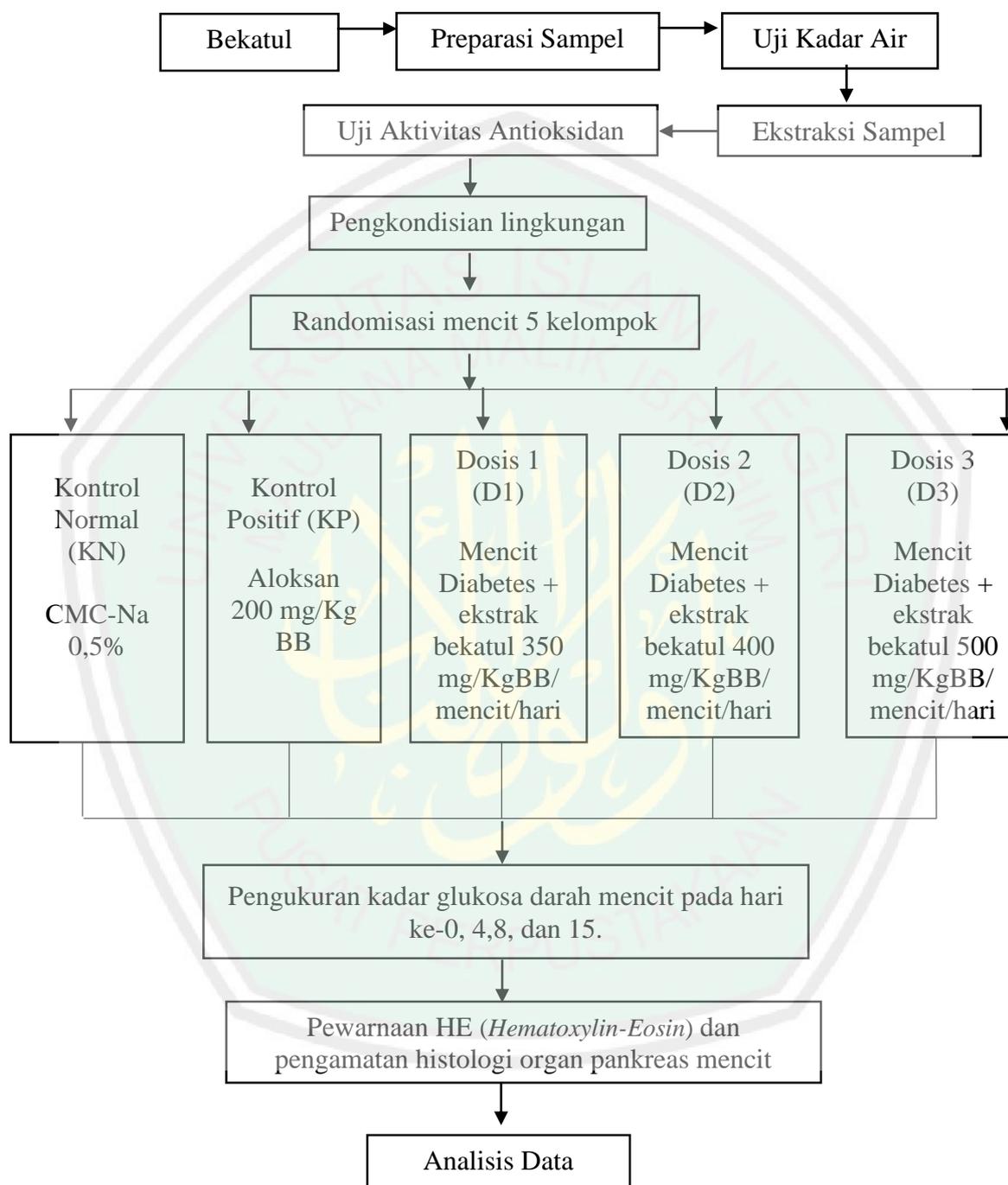
- Robertson, R.P., Harmon, P.O.T, Tanaka, Y., dan Takahashi, H. 2003. *Glucose Toxicity In Beta-Cells: Type 2 Diabetes, Good Radicals Gone Bad, And The Glutathione Connection*. Diabetes 52: 581-587.
- Rohim, A. 2016. Uji Fitokimia, Toksisitas Serta Antioksidan Ekstrak Propolis Pembungkus Madu Lebah Trigona Incisa Dengan Metode 2,2-Diphenyl-1-Picrylhidrazyl (DPPH). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 14 (1).
- Rohman, A dan Gandjar, I.G. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rudy, W.B. 2003. *Seri kesehatan bimbingan dokter pada diabetes*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Sa`adah, H dan Nurhasnawati, H. 2015. Perbandingan Pelarut Etanol Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana* Merr) Menggunakan Metode Maserasi. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 1(2):149-153.
- Sandberg, A.A dan Philip, D.H. 2008. Interactions Of Exocrine And Endocrine Pancreatic Diseases. *J. Pancreas*, 9(4): 541-575.
- Sayuti, K dan Yenrina, R. 2015. *Antioksidan, Alami dan Sintetik*. Padang: Andalas University Press.
- Shihab. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an Volume 10*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sinata, N dan Arifin, H. 2016. Antidiabetes Dari Fraksi Air Daun Karaunting (*Rhodomomyrtus Tomentosa* (Ait.) Hassk.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Diabetes. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 03 (01).
- Siswanti., Nurhartadi, E., Anandito, R.B.K dan Setyaningrum, E.A. 2018. Karakterisasi Sifat Fisik dan Kimia Bekatul Beras Hitam (*Oryza sativa* L.) Kultivar Melik dengan Berbagai Teknik Stabilisasi. *Seminar Nasional dalam Rangka Dies Natalis UNS ke-42 Tahun 2018*, 02 (01).
- Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press.
- Soematmadji, D.W. 1998. Peran Stress Oksidatif dalam Patogenesis Angiopati Mikro dan Makro DM. *Medica*. 5 (24): 318-325.
- Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G. dan Berghofer, E. 2011. Physicochemical And Antioxidative Propertise Of Red And Black Rice Varieties From Thailand, China And Sri Lanka. *Food Chemistry*. 124: 132-140.
- Suarsana, I-N., B.P. Priosoeryanto, M. Bintang dan T. Wresdiyati. 2010. Profil Glukosa Darah Dan Ultrastruktur Sel Beta Pankreas Tikus Yang Diinduksi Senyawa Aloksan. *JITV* 15(2): 118-123.

- Sukandar, Y.E., Andrajati, R., Sigit, I.P., Adyana, K.I., Setiadi, P., Adji, A., Kusnandar. 2008. *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan, 26-8.
- Sukma, L.N., Zackiyah, dan Gumilar, G.G. 2010. Pengkayaan Asam Lemak Tak Jenuh Pada Bekatul dengan Cara Fermentasi Padat Menggunakan *Aspergillus terreus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. 1(1): 66-72.
- Sumarsono, P., Wdjiati, dan Madyawati.S.P. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Ness) Terhadap Gambaran Histopatologi Sel Dalam Pulau Langerhans Pankreas Pada Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Model Sistik Ovarium. *Veterinaria Medika* 7(2).
- Sundaryono, A., Firdaus, M.L. Firdaus, S., Karyadi, B. 2016. Potensi Ekstrak Daun Tanaman Betadin Untuk Meningkatkan Jumlah Trombosit Penderita DBD Melalui Uji Terhadap Mus Musculus. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Sains (SNPS) 2016*.
- Susanto, D. 2011. Potensi Bekatul Sebagai Sumber Antioksidan Dalam Produk Selai Kacang. *Artikel penelitian*.
- Swastika, N. D. 2009. Stabilisasi Tepung Bekatul melalui Metode Pengukusan dan Pengeringsan RAK Serta Pendugaan Umur Simpannya. *Skripsi*. Departemen Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor. Jawa Barat.
- Syafitri, S. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Bekatul Dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. Bogor: Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Szkudelski, T. 2001, The Mechanism Of Alloxan And Streptozotocin Action In β Cells Of The Rat Pancreas. *Physiology Research*, 50: 536-54.
- Tazakori Z, Dehghan MH, Iranparvar M, Zare M, Foladi N, Mohmmadi R. 2007. Effect Of Rice Brand Powder On B Glucose Levels And Serum Lipid Parameters In Diabetes Patient II. *Res J Biol Sci* 2: 252-255.
- Ulfa, S.M. 2016. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dalam Bekatul Dengan Menggunakan Variasi Pelarut. *Skripsi*. Malang: Universitas Islam Negeri Malang.
- Wanti, S. 2008. Pengaruh Berbagai Jenis Beras Terhadap Aktivitas Antioksidan Pada Angkak Oleh *monascues porporues*. *Skripsi*.
- Wardani, N.P. 2016. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Kering Biji Mahoni Terstandar (*Swietenia Mahagoni* Jacq) Pada Mencit Yang Diinduksi Alokasan. *Skripsi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Widarta, I.W.R, Nocianitri K. A. Sari L.P.I.P. 2013. Ekstraksi Komponen Bioaktif Bekatul Beras Lokal dengan Beberapa Jenis Pelarut. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2 (2).

- Widowati, W. 2008. Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes. *JKM*, 7 (2): 1-9.
- Widowati, L. Sadikin, M dan Wahjoedi, B. 2004. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Bijiklabet (*Trigonella Foenum-Graecum* L.): Pengukuran Kadar Glutation Tikus Diabetes. *Media Litbang Kesehatan*, 14 (4).
- Winarsi. 2007. *Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Windono, T., Soedirman, S., Yudawati, U., Ermawati, E., Srielia, Erowati, T.I. 2001. Uji Peredam Radikal Bebas Terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) Dari Ekstrak Kulit Buah dan Biji Anggur (*Vitis Vinifera* L.) Probolinggo Biru Dan Bali. *Artocarpus*. 1: 34-44.
- Wirawati, C.U dan Nirmagustina, D.E. Studi In Vivo Produk Sereal Dari Tepung Bekatul dan Tepung Ubi Jalak Sebagai Pangan Fungsional. *Jurnal teknologi industri dan hasil pertanian*. 14 (2).
- Xu, Z., Hua, N., dan Godber, J. 2002. Rice And Rice Bran Oil In Functional Foods Development. *Louisiana Agriculture*. 45(4):9-10.
- Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam. 1993. *Penapisan farmakologi, pengujian fiokimia dan pengujian klinik*. Jakarta: Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam.
- Zahra, F., Budhiarta, A.A.G dan Pangkahila, W. 2017. Pemberian Ekstrak Daun Cincau (*Mesona Palustris* BL) Oral Meningkatkan Jumlah Sel B Pankreas dan Menurunkan Gula Darah Puasa Pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan Galur Wistar Diabetes. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 5 (1).
- Zubaidah, E dan Izzati, N.F. 2014. Efek Cuka Apel dan Cuka Salak terhadap Penurunan Glukosa Darah dan Histopatologi Pankreas Tikus Wistar Diabetes. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 28 (4).

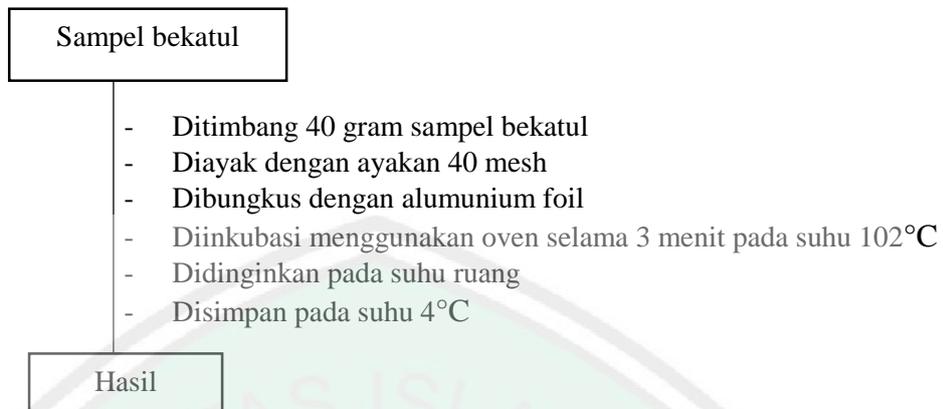
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

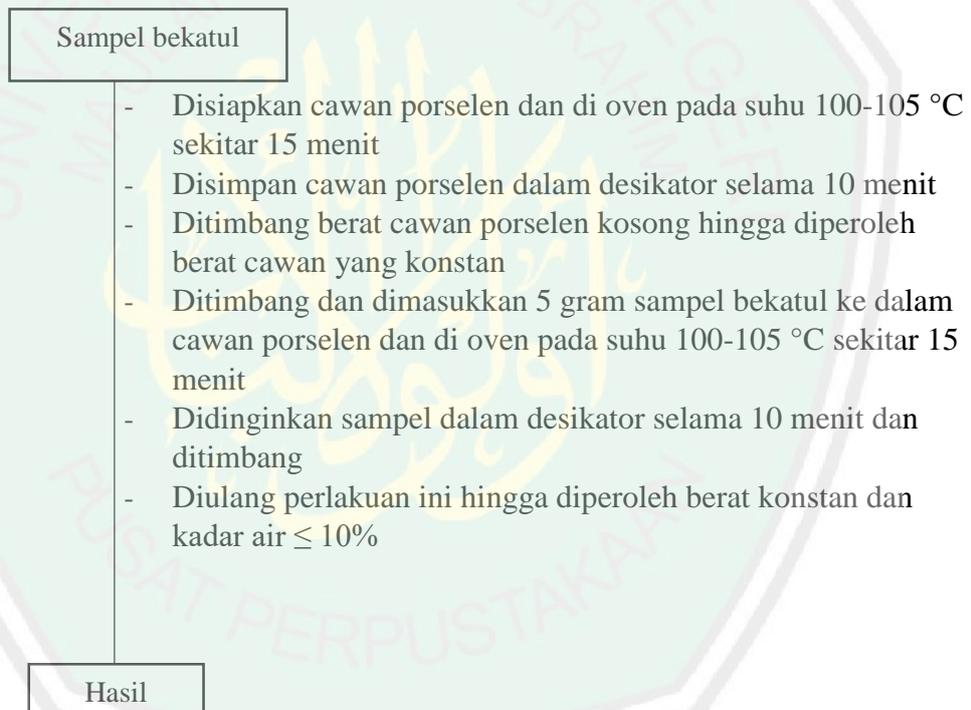


Lampiran 2. Diagram Alir

2.1 Preparasi Sampel



2.2 Penentuan Kadar Air



2.2 Ekstraksi Bekatul

Sampel bekatul 250 gram

- Direndam setiap 40 gram bekatul menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 240 mL
- Dishaker selama 3 jam dan disaring menggunakan penyaring vakum
- Ampas yang diperoleh dimaserasi kembali sebanyak dua kali dengan perlakuan yang sama
- Diambil filtrat
- Filtrat bekatul dipekatkan dengan rotary evaporator dan dialiri dengan gas N₂
- Ekstrak pekat disimpan pada suhu 4°C
- Dihitung rendemen

Hasil

2.3 Uji Aktivitas Antioksidan

a. Penentuan panjang gelombang maksimum

Larutan DPPH 0,2 mM

- Diambil sebanyak 1 mL
- Ditambahkan etanol 95% 3 mL
- Dimasukkan dalam kuvet
- Diukur panjang gelombang maksimum dengan spektrofotometer UV-Vis

Hasil

b. Pengukuran DPPH 0,2 mM

Larutan DPPH 0,2 mM

- Diambil 1 mL
- Dimasukkan ke dalam tabung reaksi
- Ditambahkan etanol 95% 3 mL
- Diinkubasi pada suhu selama waktu kestabilan yang telah didapatkan
- Dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh
- Diukur pada yang didapatkan dengan spektrofotometer UV-Vis

Ekstrak Bekatul

- Disiapkan tabung reaksi
- Dimasukkan 3 mL larutan sampel ke dalam tabung reaksi
- Ditambahkan DPPH 0,2mM sebanyak 1 mL
- Diinkubasi pada suhu selama waktu kestabilan yang telah didapatkan
- Dimasukkan ke dalam kuvet hingga penuh
- Diukur pada yang didapatkan dengan spektrofotometer UV-Vis
- Dilakukan cara yang sama untuk vitamin C
- Dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidannya dengan persamaan:

% Aktivitas Antioksidan

$$= \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Hasil

2.4 Persiapan hewan coba

Hewan Coba

- Digunakan mencit (*Mus Musculus L.*) BALB/C jantan umur 2-3 bulan dengan berat 20-30 g
- Dipelihara dalam kandang berukuran 20 x 30 x 40 cm yang diberi alas serbuk kayu dan anyaman kawat sebagai penutup
- Diberikan makan dan minum setiap hari secara *ad libitum*

Hasil

2.5 Perlakuan Hewan Coba

20 ekor Hewan Coba

- Dipelihara dalam *animal house* Laboratorium Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
 - Disamakan berat badannya
 - Dibagi menjadi 5 kelompok
- Ketentuan dari tiap-tiap kelompok adalah sebagai berikut:
- a. Kelompok kontrol Normal (KN) kelompok tanpa induksi aloksan dengan pemberian CMC-Na 0,5% secara peroral
 - b. Kelompok kontrol positif yang diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/KgBB dengan Pelarut NaCl 0,9% (KDM)
 - c. Kelompok kontrol ekstrak, yaitu mencit diabetes mellitus yang diterapi ekstrak etanol bekatul dosis 350 mg/KgBB + CMC-Na 0,5% secara peroral (KD1)
 - d. Kelompok kontrol ekstrak, yaitu mencit diabetes mellitus yang diterapi ekstrak etanol bekatul dosis 400 mg/KgBB + CMC-Na 0,5% secara peroral (KD2)
 - e. Kelompok kontrol ekstrak, yaitu mencit diabetes mellitus yang diterapi ekstrak etanol bekatul dosis 500 mg/KgBB + CMC-Na 0,5% secara peroral (KD3)

Hasil

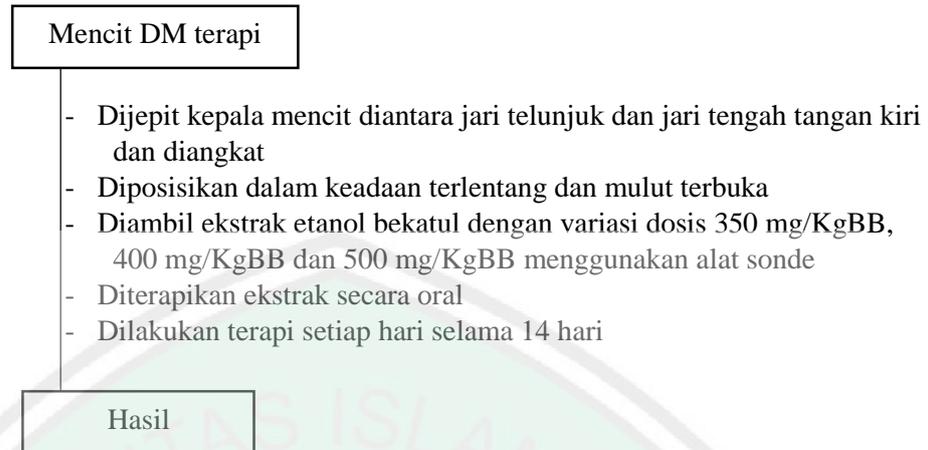
2.6 Pengkondisian Mencit Diabetes Melitus

Mencit

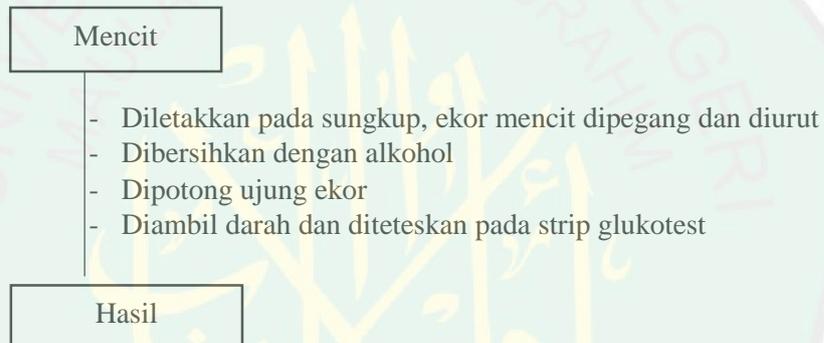
- Diukur kadar glukosa darah dalam darah sebagai kadar glukosa awal
- Disemprotkan alkohol 70% pada bagian abdomen mencit
- Dicitubit hingga terasa bagian ototnya
- Diinjeksidengan aloksan (200 mg/Kg BB) dibagian abdomennya
- Diinkubasi selama 3 hari
- Dipantau kadar glukosa darah mencit selama 5 hari menggunakan *glucometer* untuk mengetahui kadar glukosa darah mencit diabetes
- Mencit sudah menjadi diabetes mellitus apabila kadar glukosa darahnya lebih dari 200 mg/dL

Hasil

2.7 Perlakuan Eksperimen

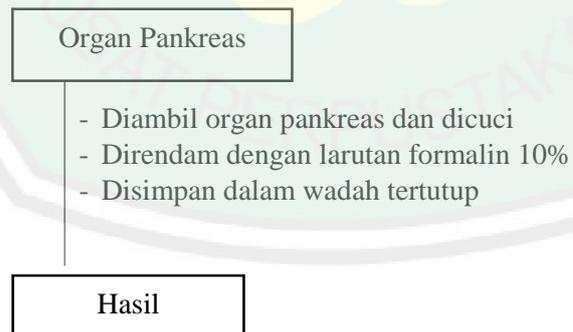


2.8 Pengukuran Kadar Glukosa Darah



2.9 Pengambilan sampel dan pengujian *Hematoxylin Eosin (HE)*

2.9.1 Pengambilan sampel



2.9.2 Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE)

Organ pankreas

- Difiksasi dengan menggunakan larutan netral buffer formalin 10%
- Dipotong dan dimasukkan ke dalam tempat spesimen yang terbuat dari plastik
- Dilakukan proses dehidrasi pada alkohol konsentrasi bertingkat yaitu alkohol 70%, 80%, 90% alkohol absolut I, absolut II masing-masing 2 jam
- Dilakukan penjernihan dengan *xylol*
- Dicetak menggunakan paraffin sehingga sediaan tercetak di dalam blok-blok paraffin dan disimpan dalam lemari es
- Dipotong tipis blok-blok paraffin setebal 4-5 μ m menggunakan mikrotom
- Diapungkan hasil potongan dalam air hangat bersuhu 40-50°C untuk meregangkan agar jaringan tidak berlipat
- Diangkat dan diletakan dalam geas objek untuk dilakukan pewarnaan
- Diperiksa dibawah mikroskop *Hematoxylin Eosin* (HE)

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Larutan

3.1 Pembuatan Larutan

3.1.1 Larutan NaCl 0,5%

Kristal NaCl ditimbang sebanyak 0,9 g menggunakan neraca analitik dalam gelas arloji, dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL untuk dilarutkan dengan ± 3 mL aquades. Aquades dialirkan pada gelas arloji (untuk mengambil sisa NaCl yang terdapat pada gelas arloji). Dilakukan pengadukan dengan gelas pengaduk sampai larut sempurna. Setelah larut sempurna, dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dengan menggunakan corong gelas dan ditambahkan aquades dengan menggunakan pipet tetes hingga tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.1.2 Larutan Aloksan

Aloksan sebanyak 112 mg dilarutkan pada NaCl 0,9% sampai volumenya 20 mL, selanjutnya divortex hingga homogen.

Dosis aloksan yang digunakan = $5,6 \text{ mg}/20 \text{ gr BB}$

Jumlah aloksan yang dibutuhkan tiap injeksi: $5,6 \text{ mg} \times 20 = 112 \text{ mg}$

Keterangan: Angka 20 = jumlah volume larutan

Jadi, volume injeksi untuk tiap tikus adalah 1 mL.

3.1.3 Larutan CMC-Na 0,5%

Serbuk CMC-Na ditimbang sebanyak 0,25 g dengan menggunakan neraca analitik, dimasukkan ke dalam beaker glass 50 mL dan dilarutkan dengan aquades hangat ± 25 mL (dilarutkan pengadukan dengan spatula hingga larut sempurna). Setelah larut semua, dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL dan ditandabatkan. Sehingga diperoleh larutan CMC-Na 0,5% sebanyak 50 mL.

3.1.4 Larutan alkohol 70%, 80%, dan 90%

3.1.4.1 Pembuatan alkohol 70%

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\96\% \times V_1 &= 70\% \times 100 \text{ mL} \\V_1 &= 72,9 \text{ mL} \\V_1 &= 73 \text{ mL}\end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan alkohol 96% sebanyak 73 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.1.4.2 Pembuatan alkohol 80%

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\96\% \times V_1 &= 80\% \times 100 \text{ mL} \\V_1 &= 83 \text{ mL}\end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan alkohol 96% sebanyak 83 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.1.4.3 Pembuatan alkohol 90%

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\96\% \times V_1 &= 90\% \times 100 \text{ mL} \\V_1 &= 93,7 \text{ mL} \\V_1 &= 94 \text{ mL}\end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan alkohol 96% sebanyak 94 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.1.4.4 Pembuatan Larutan Formalin 10%

$$\begin{aligned}
 M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\
 37\% \times V_1 &= 10\% \times 100 \text{ mL} \\
 V_1 &= 13,513 \text{ mL} \\
 V_1 &= 13,52 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan formalin 37% sebanyak 13,52 mL, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

3.1.5 Pembuatan Larutan DPPH 0,2 mM

$$\begin{aligned}
 &\text{DPPH } 0,2 \text{ mM dalam } 10 \text{ mL etanol } 95\% \\
 &\text{Mr DPPH} = 394,33 \text{ g/mol} \\
 &\text{Mol DPPH} = 10 \text{ mL} \times 0,2 \text{ mM} = 10 \times \frac{0,2 \text{ M}}{1000 \text{ mL}} \\
 &= 0,002 \text{ mmol}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &\text{Mg DPPH} = 0,002 \text{ mmol} \times \text{Mr DPPH} \\
 &= 0,002 \text{ mmol} \times 394,33 \text{ g/mol} \\
 &= 0,78866 \text{ mg} \\
 &= 0,8 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

Cara pembuatannya adalah ditimbang DPPH 0,8 mg, kemudian dilarutkan dan ditandabatkan dengan etanol 95% dalam labu takar 10 mL dan dikocok hingga homogen.

Lampiran 4. Perhitungan Dosis

Tabel L.4.1 Konversi perhitungan dosis untuk hewan dan manusia berdasarkan

konversi *Laurence & Bacharach* (1964):

Hewan dan BB rata-rata	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmut 400 g	Kelinci 1,5 Kg	Kucing 4 Kg	Kera 4 Kg	Anjing 12 Kg	Manusia 70 Kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	12,29	27,8	28,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,79	3,9	4,2	9,2	17,8	60,5
Marmut 400 g	0,06	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 Kg	0,04	0,25	0,44	1,0	2,25	2,4	4,5	14,2
Kucing 4 Kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 Kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 Kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 Kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,76	0,16	0,32	1,0

4.1 Dosis aloksan

Berdasarkan penelitian Sinata dan Arifin (2016) dosis aloksan yang digunakan adalah 200 mg/KgBB yang merupakan konversi dari dosis aloksan untuk tikus menjadi dosis aloksan untuk mencit.

Dosis aloksan untuk tikus adalah 200 mg/kgBB.

$$\text{Pada tikus } 200 \text{ g} = \frac{200 \text{ mg}}{\text{kgBB}} \times \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} = \frac{40 \text{ mg}}{200 \text{ gBB}}$$

Faktor konversi dari tikus 200 g ke mencit 20 g adalah 0,14. Sehingga dosisnya menjadi:

$$40 \text{ mg} \times 0,14 = 5,6 \text{ mg}$$

4.2 Dosis Terapi

Dosis terapi yang digunakan mengacu pada penelitian Dwinani (2014) yakni 350 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Namun Dwinani menggunakan hewan coba tikus, sehingga dosis yang digunakan harus dikonversi terlebih dahulu. Setiap variasi dosis terapi dilarutkan dalam 1 mL CMC-Na 0,5% untuk 1x terapi terhadap 1 mencit.

4.2.1 Dosis 350 mg/KgBB

$$\text{Pada tikus } 200 \text{ g} = \frac{350 \text{ mg}}{\text{kgBB}} \times \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} = \frac{70 \text{ mg}}{200 \text{ gBB}}$$

Faktor konversi dari tikus 200 g ke mencit 20 g adalah 0,14.

Sehingga dosisnya menjadi: $70 \text{ mg} \times 0,14 = 9,8 \text{ mg}$.

4.2.2 Dosis 400 mg/KgBB

$$\text{Pada tikus } 200 \text{ g} = \frac{400 \text{ mg}}{\text{kgBB}} \times \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} = \frac{80 \text{ mg}}{200 \text{ gBB}}$$

Faktor konversi dari tikus 200 g ke mencit 20 g adalah 0,14.

Sehingga dosisnya menjadi: $80 \text{ mg} \times 0,14 = 11,2 \text{ mg}$.

4.2.3 Dosis 500 mg/KgBB

$$\text{Pada tikus } 200 \text{ g} = \frac{500 \text{ mg}}{\text{kgBB}} \times \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} = \frac{100 \text{ mg}}{200 \text{ gBB}}$$

Faktor konversi dari tikus 200 g ke mencit 20 g adalah 0,14.

Sehingga dosisnya menjadi: $100 \text{ mg} \times 0,14 = 14 \text{ mg}$.

Lampiran 5. Perhitungan Uji Kadar Air

Berikut rumus perhitungan kadar air, yaitu:

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \%$$

Keterangan : a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dioven

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

Data Pengukuran Kadar Air Sampel Bekatul

1. Pengukuran berat cawan kosong

Cawan	Berat cawan kosong (gram)			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
1	54.259	54.259	54.259	54.259
2	49.822	49.822	49.822	49.822
3	55.769	55.769	55.769	55.769

2. Pengukuran berat cawan + sampel sebelum dioven

Sampel	Berat cawan + sampel sebelum dioven (gram)			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
1	58.850	58.853	58.856	58.853
2	54.404	54.393	54.399	54.398
3	60.358	60.361	60.364	60.361

3. Pengukuran berat cawan + sampel setelah dioven

Sampel	Berat cawan + sampel setelah dioven (gram)			
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rata-rata
1	58.789	58.792	58.794	58.792
2	54.342	54.344	54.347	54.344
3	60.307	60.309	60.312	60.309

a. Kadar air ulangan ke 1

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{58.853 - 58.792}{58.853 - 54.259} \times 100\% \\ &= \frac{0.061}{4.594} \times 100\% \\ &= 1.323 \% \end{aligned}$$

b. Kadar air ulangan ke 2

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{54.398 - 54.344}{54.398 - 49.822} \times 100\% \\ &= \frac{0.054}{4.576} \times 100\% \\ &= 1.18 \% \end{aligned}$$

c. Kadar air ulangan ke 3

$$\begin{aligned} \text{Kadar air} &= \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100 \% \\ &= \frac{60.361 - 60.309}{60.361 - 55.769} \times 100\% \\ &= \frac{0.052}{4.592} \times 100\% \\ &= 1.132 \% \end{aligned}$$

Kadar air rata-rata dari ulangan ke 1 sampai ulangan ke 3 adalah sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air} &= \frac{1.323 \% + 1.18 \% + 1.132 \%}{3} \\ &= 1.211 \end{aligned}$$

Lampiran 6. Perhitungan Rendemen

Ekstrak etanol 96% Bekatul

Berat ekstrak pekat = 36,6335 gram

Berat sampel = 250 gram

Rendemen = $\frac{\text{berat ekstrak pekat}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$

$$= \frac{36,6335 \text{ gram}}{250 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 14,6534 \%$$



Lampiran 7. Pengujian Antioksidan

7.1 Hasil uji aktivitas antioksidan

➤ Ekstrak Etanol 96% Bekatul

Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi					% Antioksidan
	Kontrol	1	2	3	Rata-rata	
10	0.6031	0.4685	0.4768	0.4658	0.4703	22.016
50	0.606	0.4239	0.4097	0.4255	0.4197	30.742
100	0.6044	0.3849	0.3950	0.3919	0.3906	35.374
150	0.6040	0.3640	0.3518	0.3481	0.3546	41.291
200	0.6050	0.3296	0.3271	0.3389	0.3318	45.140
400	0.6035	0.2102	0.2086	0.2040	0.2076	65.606
800	0.6032	0.0767	0.1241	0.1280	0.1096	81.830

➤ Asam Askorbat (Vitamin C)

Konsentrasi sampel (ppm)	Absorbansi		% Antioksidan
	Kontrol	Asam askorbat	
10	0.6556	0.1309	80.033
50	0.4656	0.0513	88.982
100	0.4645	0.0315	93.218
150	0.4650	0.025	94.624
200	0.4640	0.0217	95.323
400	0.4637	0.0198	95.730
800	0.4639	0.0181	96.098

7.2 Hasil nilai IC₅₀ menggunakan GraphPad Prism8

➤ Ekstrak etanol 96% bekatul

	% Aktivitas Antioksidan	Global (shared)
Comparison of Fits		Can't calculate
Null hypothesis		Different curve for each data set
Alternative hypothesis		One curve for all data sets
P value		
Conclusion (alpha = 0.05)		Models have the same DF
Preferred model		Different curve for each data set
F (DFn, DFd)		

Different curve for each data set

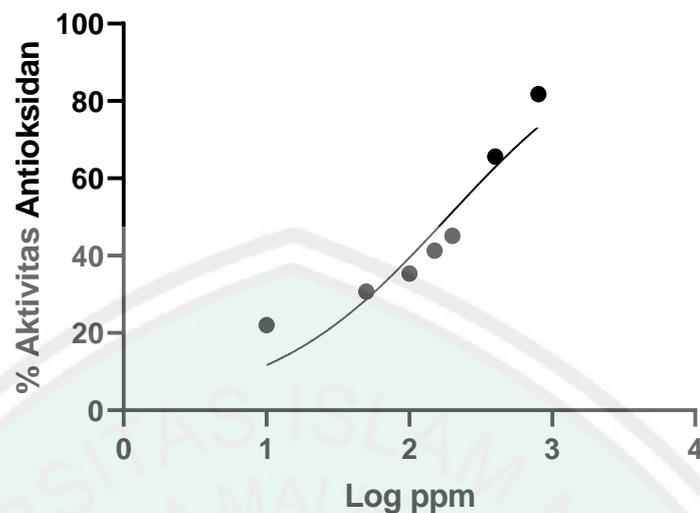
Best-fit values

Bottom

= 0.000

Top	= 100.0	
LogIC50	2.269	
HillSlope	0.6923	
IC50	185.7	
Span	= 100.0	
95% CI (profile likelihood)		
LogIC50	2.046 to 2.499	
HillSlope	0.3746 to 1.173	
IC50	111.1 to 315.5	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	5	
R squared	0.8968	
Sum of Squares	269.6	
Sy.x	7.343	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0.000	
Top	= 100.0	
LogIC50	2.269	2.269
HillSlope	0.6923	0.6923
IC50	185.7	185.7
Span	= 100.0	
95% CI (profile likelihood)		
LogIC50	2.046 to 2.499	2.046 to 2.499
HillSlope	0.3746 to 1.173	0.3746 to 1.173
IC50	111.1 to 315.5	111.1 to 315.5
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		5
R squared	0.8968	0.8968
Sum of Squares	269.6	269.6
Sy.x		7.343
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50	LogIC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
# of X values	7	
# Y values analyzed	7	

Ekstrak Etanol 96% Bekatul



➤ Asam askorbat (Vitamin C)

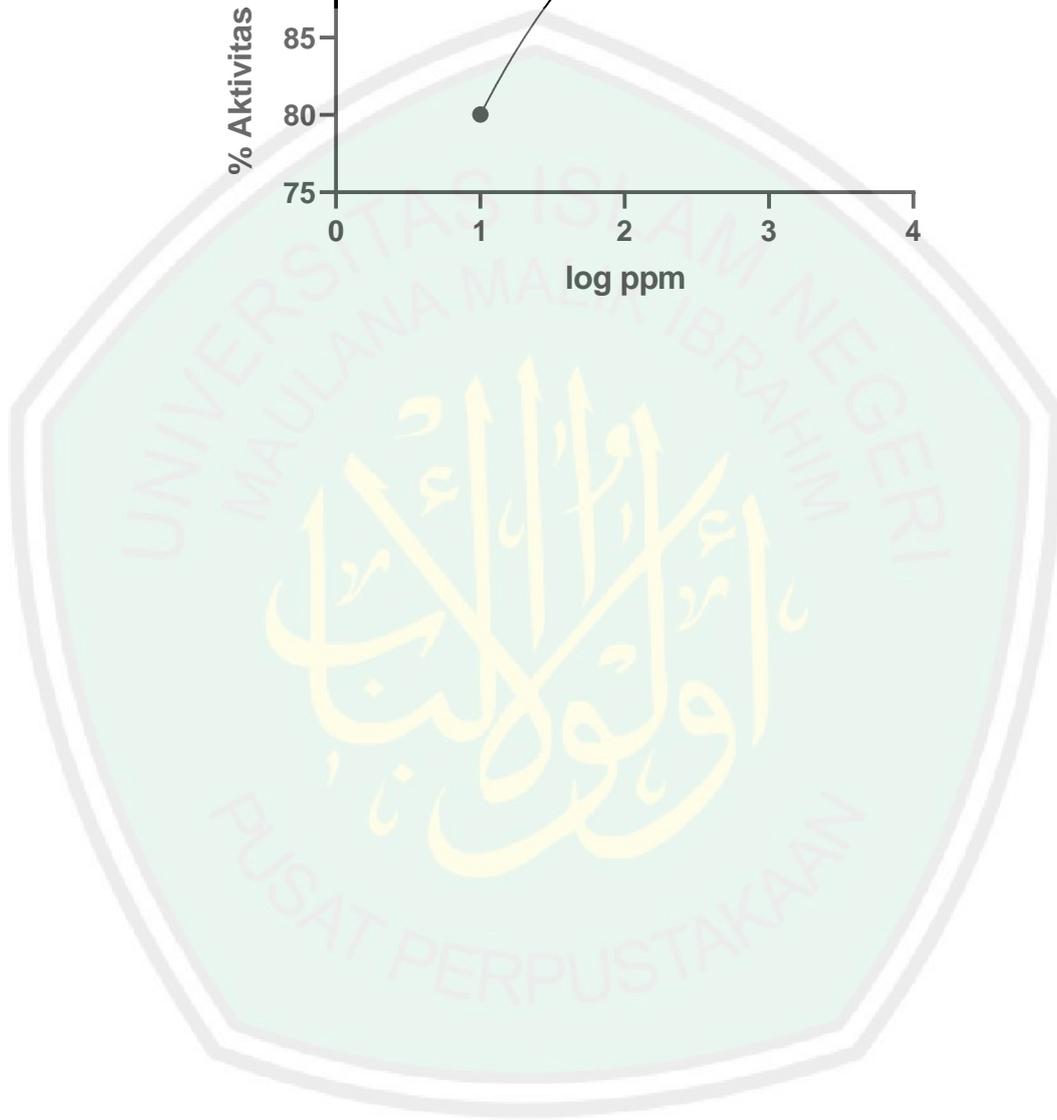
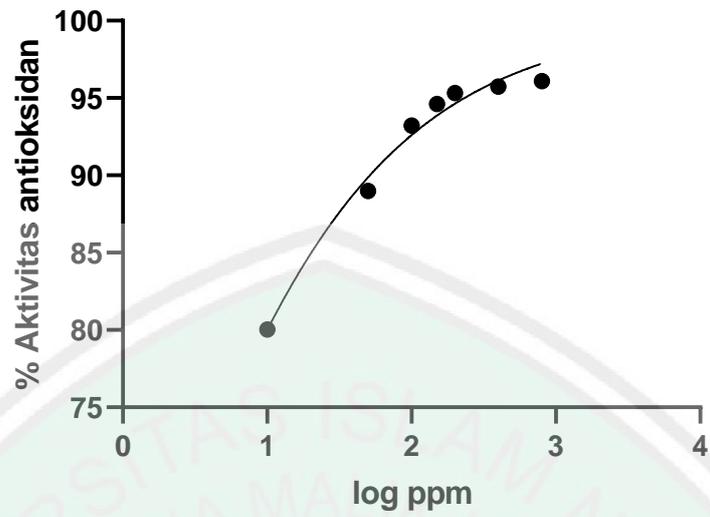
	% Aktivitas antioksidan	Global (shared)
Comparison of Fits		Can't calculate
Null hypothesis		Different curve for each data set
Alternative hypothesis		One curve for all data sets
P value		
Conclusion (alpha = 0.05)		Models have the same DF
Preferred model		Different curve for each data set
F (DFn, DFd)		

Different curve for each data set

Best-fit values	
Bottom	= 0.000
Top	= 100.0
LogIC50	-0.2147
HillSlope	0.4955
IC50	0.6100
Span	= 100.0
95% CI (profile likelihood)	
LogIC50	-0.5572 to 0.03474
HillSlope	0.4167 to 0.5805
IC50	0.2772 to 1.083
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	5
R squared	0.9819

Sum of Squares	3.668	
Sy.x	0.8565	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0.000	
Top	= 100.0	
LogIC50	-0.2147	-0.2147
HillSlope	0.4955	0.4955
IC50	0.6100	0.6100
Span	= 100.0	
95% CI (profile likelihood)		
LogIC50	-0.5572 to 0.03474	-0.5572 to 0.03474
HillSlope	0.4167 to 0.5805	0.4167 to 0.5805
IC50	0.2772 to 1.083	0.2772 to 1.083
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		5
R squared	0.9819	0.9819
Sum of Squares	3.668	3.668
Sy.x		0.8565
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogIC50	LogIC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
# of X values	7	
# Y values analyzed	7	

Asam Askorbat



Lampiran 8. Data Kadar Glukosa Darah dan Uji Gambaran Histologi Pankreas Mencit

8.1 Data Kadar Glukosa Darah

Kelompok	Ulangan	H ₀	H ₁	H ₁₅	Rata-rata H ₁₅
KN	1	105	103	100	84,4
	2	117	120	108	
	3	83	79	74	
	4	64	64	56	
KP	1	72	600	470	278,5
	2	40	409	111	
	3	56	600	261	
	4	68	570	272	
KD ₁	1	52	581	476	299,75
	2	67	247	424	
	3	87	264	221	
	4	96	597	320	
KD ₂	1	82	210	141	177,75
	2	101	600	192	
	3	125	600	217	
	4	74	394	161	
KD ₃	1	70	317	120	266,75
	2	115	528	418	
	3	66	395	377	
	4	67	284	152	

8.2 Jumlah Sel Pankreas

Perlakuan	Mencit ke-				Total	Rata-rata ± SD
	1	2	3	4		
Kontrol Normal	83	65	96	100	344	86 ± 15.77
Kontrol Positif	17	48	42	40	147	36,75 ± 13.60
Kontrol Dosis 1	30	30	40	44	144	36 ± 7.11
Kontrol Dosis 2	54	50	46	58	208	52 ± 5.16
Kontrol Dosis 3	78	38	42	44	202	50,5 ± 18.50

8.3 Hasil Uji Normalitas (Saphiro-wilk) Jumlah Sel Pankreas Mencit Dengan Menggunakan SPSS 16.00

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal

Hipotesis : H_0 : Data tidak terdistribusi normal

H_1 : Data terdistribusi normal

α : 0,05

Penarikan kesimpulan: H_0 diterima apabila nilai signifikansi $\leq 0,05$

H_0 ditolak apabila nilai signifikansi $\geq 0,05$

Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah_Sel_Pankreas	Kontrol Normal	.237	4	.	.921	4	.544
	Kontrol Positif	.344	4	.	.844	4	.207
	Dosis 1	.300	4	.	.838	4	.189
	Dosis 2	.151	4	.	.993	4	.972
	Dosis 3	.387	4	.	.754	4	.042

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan : Perlakuan 3 memiliki nilai signifikansi $\leq 0,05$ sehingga H_0 diterima dan data tidak terdistribusi secara normal. Namun, pada perlakuan yang lain memiliki nilai signifikansi $\geq 0,05$ sehingga data terdistribusi secara normal.

8.4 Hasil Uji Homogenitas Jumlah Sel Pankreas Mencit dengan Menggunakan SPSS 16.00

Tujuan : Untuk mengetahui apakah kelima perlakuan mempunyai varian yang sama

Hipotesis : H_0 : Kelima perlakuan adalah sama

H_1 : Kelima perlakuan adalah tidak sama

α : 0,05

Penarikan kesimpulan: H_0 diterima apabila nilai signifikansi $\geq 0,05$

H_0 ditolak apabila nilai signifikansi $\leq 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah_Sel_Pankreas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.579	4	15	.231

Kesimpulan : Nilai signifikansi $> 0,05$ sehingga H_0 diterima dan kelima perlakuan adalah sama.

8.5 Hasil Uji ANOVA Jumlah Sel Pankreas Mencit Dengan Menggunakan SPSS 16.00

Tujuan : Untuk mengetahui apakah kelima perlakuan mempunyai rata-rata yang sama

Hipotesis : H_0 : Tidak ada pengaruh perlakuan terhadap jumlah sel pankreas

H_1 : Ada pengaruh perlakuan terhadap jumlah sel pankreas

α : 0,05

Penarikan kesimpulan:

H_0 diterima apabila nilai signifikansi $\geq 0,05$ dan $F_{hitung} \leq F_{Tabel}$

H_0 ditolak apabila nilai signifikansi $\leq 0,05$ dan $F_{hitung} \geq F_{Tabel}$

ANOVA

Jumlah_Sel_Pankreas

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6586.000	4	1646.500	9.648	.000
Within Groups	2559.750	15	170.650		
Total	9145.750	19			

Kesimpulan: Nilai signifikansi $\leq 0,05$ dan nilai F_{hitung} (9.648) $\geq F_{Tabel}$ 3,06. Sehingga H_0 ditolak dan terdapat pengaruh perlakuan terhadap jumlah sel pankreas.

Post Hoc Test

Jumlah_Sel_Pankreas

Duncan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Dosis 1	4	36.0000	
Kontrol Positif	4	36.7500	
Dosis 3	4	50.5000	
Dosis 2	4	52.0000	
Kontrol Normal	4		86.0000
Sig.		.130	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Berdasarkan data yang diperoleh, dapat diketahui bahwa:

Perlakuan kontrol positif, dosis 1,2 dan 3 memiliki pengaruh namun tidak memiliki perbedaan yang nyata. Namun, terlihat bahwa dosis 2 memiliki jumlah sel pankreas yang lebih tinggi dibandingkan dosis 3 dan 1.

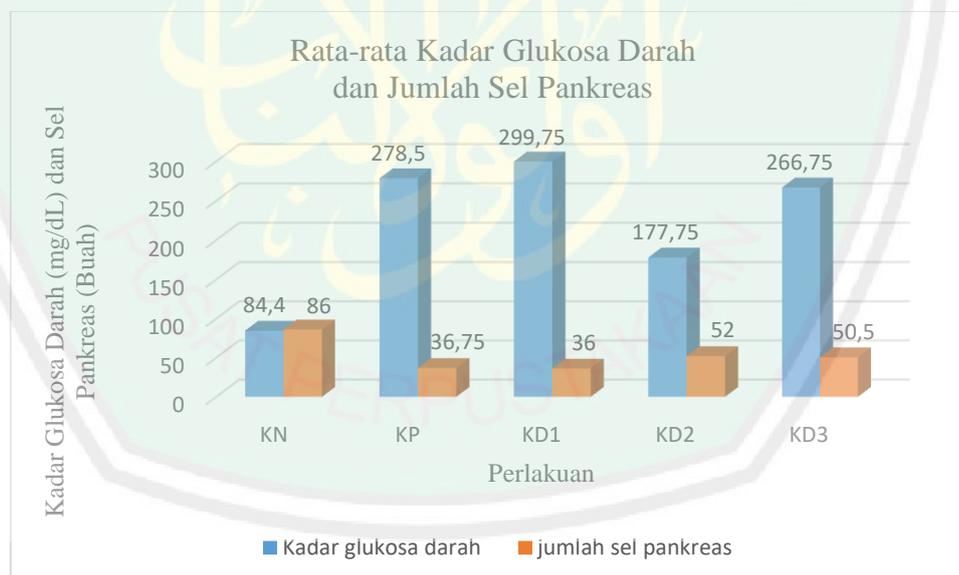
8.6 Koefisien Keragaman

SK	Db	JK	KT	F	Sig.
Perlakuan	4	6586.000	1646.500	9.648	.000
Galat	15	2559.750	170.650		
Total	19	9145.750			

$$\begin{aligned}
 \mathbf{KK} &= \frac{\sqrt{KT_{galat}}}{y} \times 100\% \\
 &= \frac{\sqrt{170,650}}{52,25} \times 100\% \\
 &= 25 \%
 \end{aligned}$$

8.7 Hubungan Rata-rata Kadar Glukosa Darah dengan Jumlah Sel Pankreas

Kelompok Perlakuan	Kadar Glukosa Darah	Jumlah Sel Pankreas
KN	84.4	86
KP	278.5	36.75
KD1	299.75	36
KD2	177.75	52
KD3	266.75	50.5



Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

9.1 Dokumentasi Penelitian



Bekatul Kasar



Bekatul Halus



Bekatul Kering



Preparasi Ekstraksi



Ekstraksi



Penyaringan



Filtrat Bekatul



Rotary Evaporator



Ekstrak Bekatul



Larutan DPPH 0,2 mM



Mencit Putih Terapi Ekstrak Bekatul



Pengukuran KGD



Dislokasi Leher



Preparasi pembedahan



Organ Mencit



Pewarnaan HE



Preparat dan Pengamatan Histologi



9.2 Dokumentasi Hasil penelitian

9.2.1 Uji Antioksidan



Blanko dan Kontrol

Asam Askorbat (Vit.C)

Sampel 10 dan 50 ppm

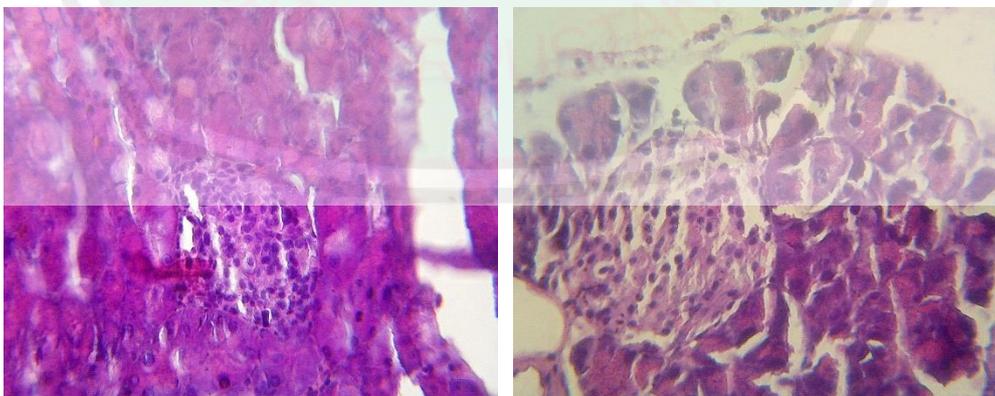


Sampel 100 dan 150 ppm

Sampel 200 dan 400 ppm

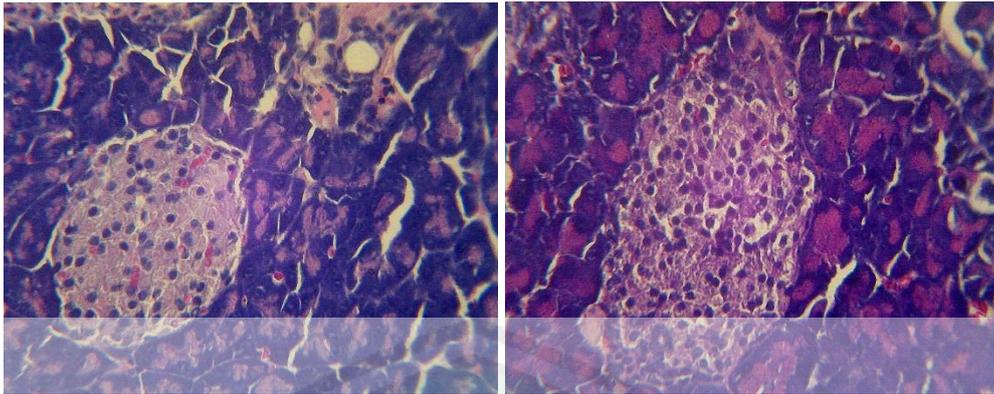
Sampel 800 ppm

9.2.2 Hasil Pengamatan Histologi



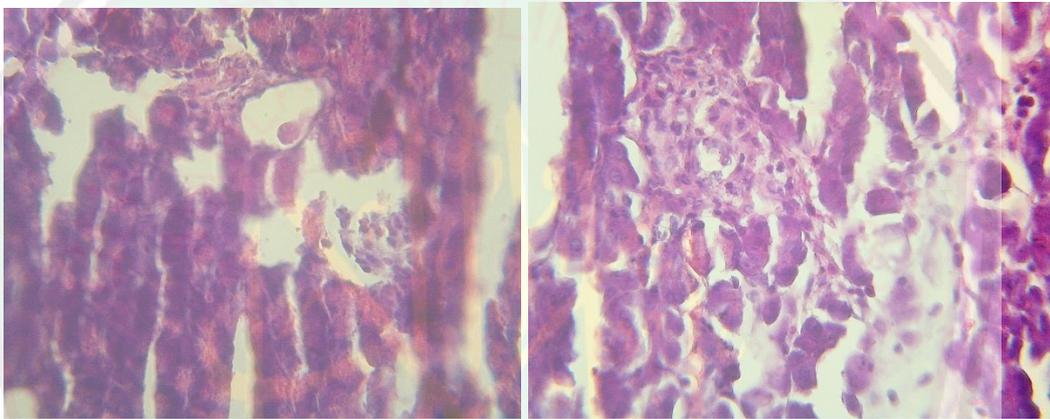
Normal U1

Normal U2



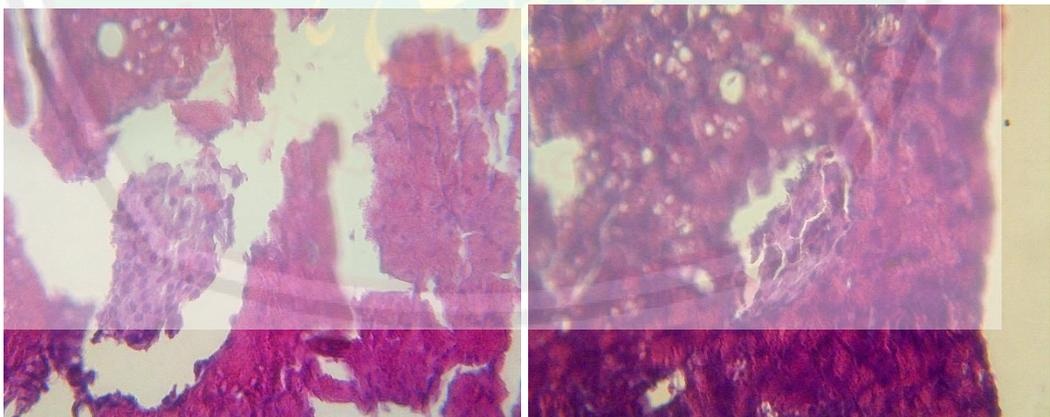
Normal U3

Normal U4



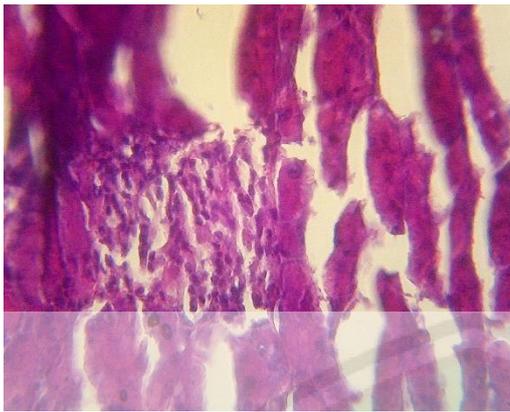
Positif U1

Positif U2

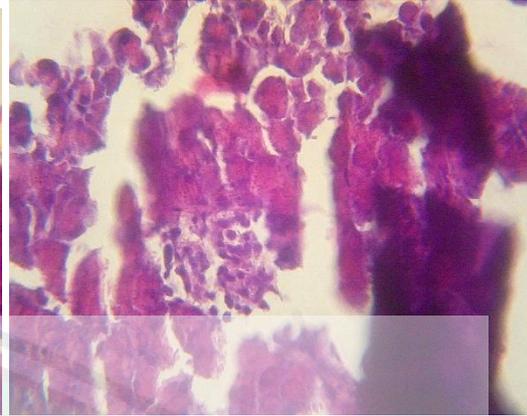


Positif U3

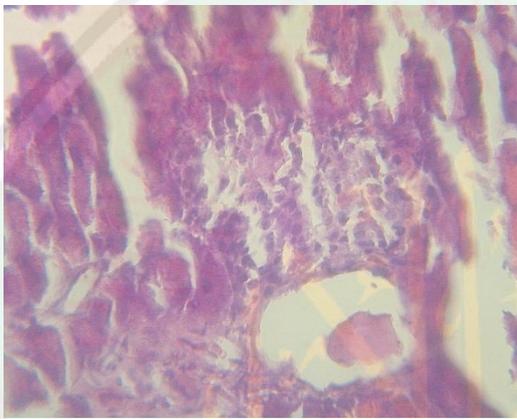
Positif U4



Dosis 1 U1



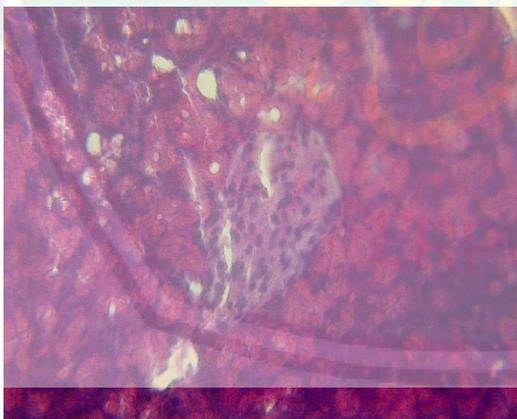
Dosis 1 U2



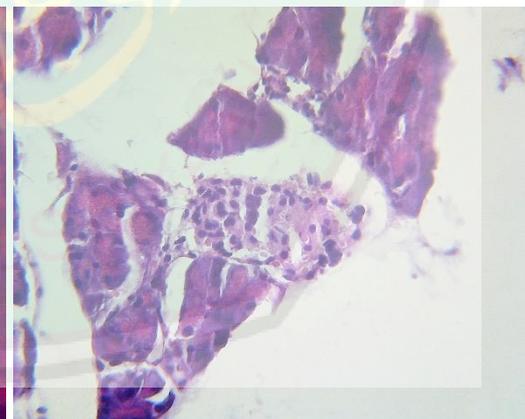
Dosis 1 U3



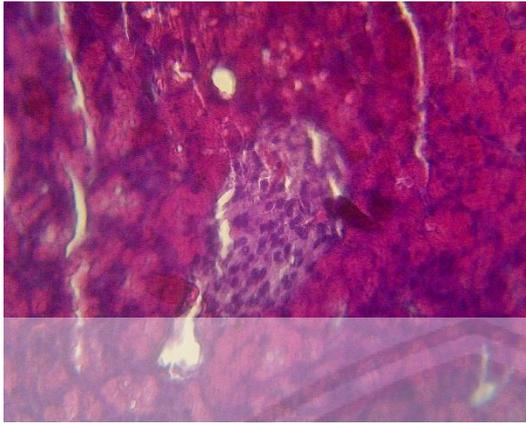
Dosis 1 U4



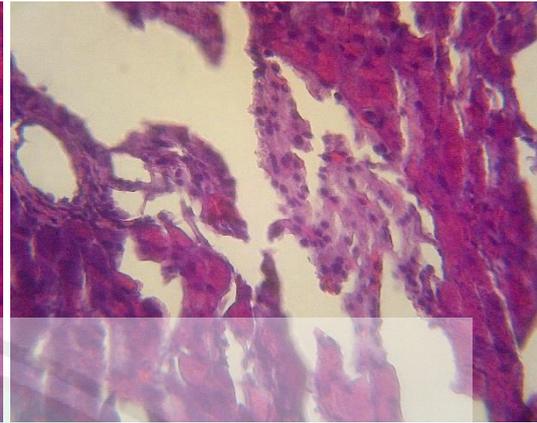
Dosis 2 U1



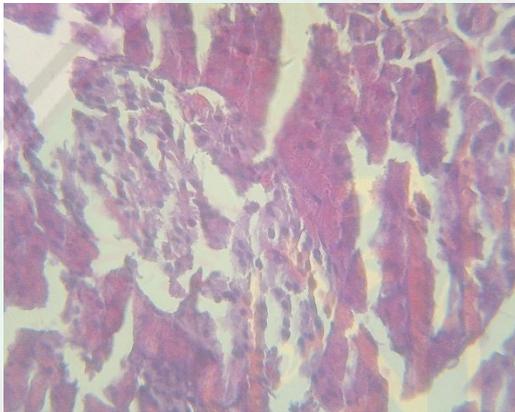
Dosis 2 U2



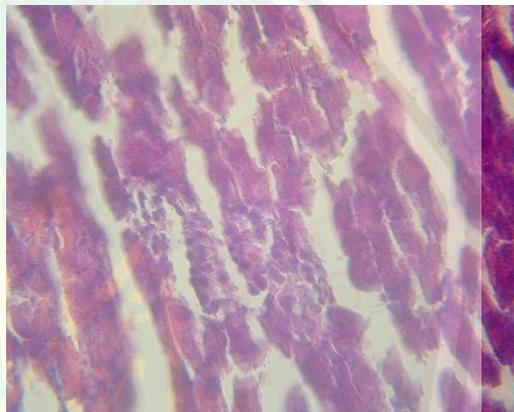
Dosis 2 U3



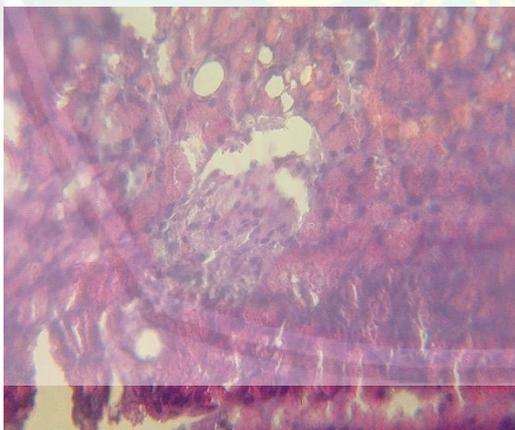
Dosis 2 U4



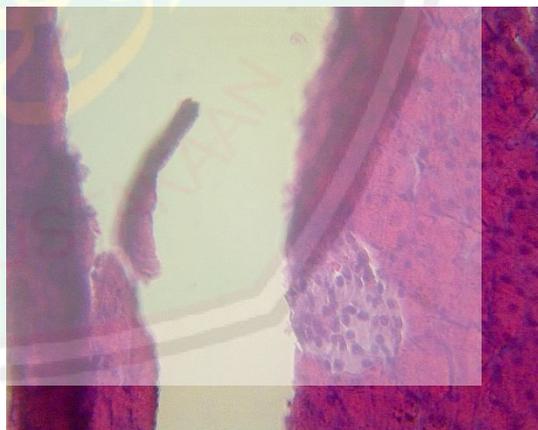
Dosis 3 U1



Dosis 3 U2



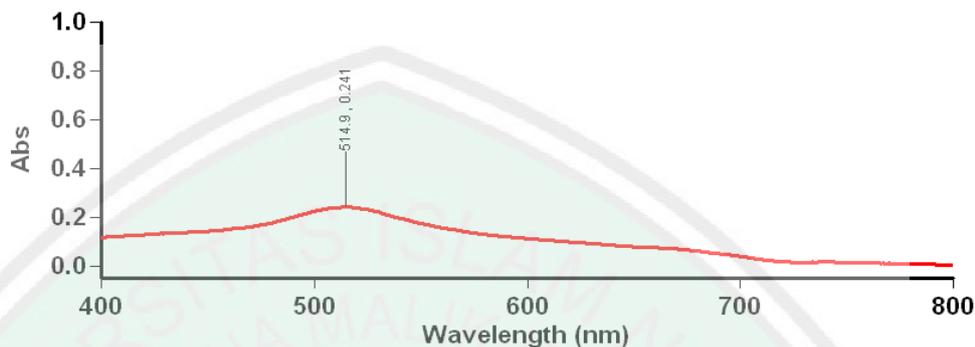
Dosis 3 U3



Dosis 3 U4

Lamdha Maks DPPH

Tanggal Analisa : 06 Juni 2018



Scan Analysis Report

Report Time : Wed 06 Jun 02:05:20 PM 2018

Method:

Batch: D:\Khalimatul Ulyah\Lamdha Maks DPPH (06-06-2018).DSW

Software version: 3.00 (339)

Operator: Rika

Sample Name: DPPH

Collection Time 6/6/2018 2:05:55 PM

Peak Table

Peak Style Peaks

Peak Threshold 0.0100

Range 800.0nm to 400.0nm

Wavelength (nm)	Abs
514.9	0.241

Absorbansi DPPH Sampel Vitamin C

Tanggal Analisa : 07 Agustus 2018

Advanced Reads Report

Report time 8/7/2018 3:44:26 PM
 Method
 Batch name D:\Khalimatul Ulyah\Absorbansi DPPH Sampel
 Vitamin C (07-08-2018).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 514.9
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.0957)	514.9

Analysis

Collection time 8/7/2018 3:44:26 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Kontrol					0.6560
					0.6561
		0.6556	0.0007	0.11	0.6548
10 ppm					0.1302
					0.1310
		0.1309	0.0006	0.46	0.1314
Kontrol					0.4651
					0.4658
		0.4656	0.0005	0.10	0.4660
50 ppm					0.0511
					0.0515
		0.0513	0.0002	0.41	0.0514
Kontrol					0.4646
					0.4646
		0.4645	0.0001	0.03	0.4643
100 ppm					0.0315
					0.0315
		0.0315	0.0000	0.11	0.0316
Kontrol					0.4646
					0.4653
		0.4650	0.0003	0.07	0.4650
150 ppm					0.0251
					0.0248
		0.0250	0.0002	0.70	0.0251
Kontrol					0.4639
					0.4639
		0.4640	0.0002	0.03	0.4641

200 ppm				0.0217
				0.0218
	0.0217	0.0000	0.08	0.0217
Kontrol				0.4639
				0.4636
	0.4637	0.0001	0.03	0.4636
400 ppm				0.0197
				0.0199
	0.0198	0.0001	0.41	0.0198
Kontrol				0.4640
				0.4639
	0.4639	0.0001	0.01	0.4639
800 ppm				0.0181
				0.0181
	0.0181	0.0000	0.19	0.0181

Results Flags Legend

R = Repeat reading

Absorbansi DPPH Sampel Ekstrak Bekatul

Tanggal Analisa : 31 Agustus 2018

Advanced Reads Report

Report time 8/31/2018 1:39:57 PM
 Method
 Batch name D:\Khalimatul Ulyah\Absorbansi DPPH Sampel
 Ekstrak Bekatul (31-08-2018).BAB
 Application Advanced Reads 3.00 (339)
 Operator Rika

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 514.9
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF

Comments:

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1091)	514.9

Analysis

Collection time 8/31/2018 1:39:57 PM

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
--------	---	------	----	------	----------

Kontrol				0.6065
				0.6002
	0.6031	0.0032	0.53	0.6025
10 ppm U1				0.4681
				0.4685
	0.4685	0.0004	0.08	0.4688
Kontrol				0.6044
				0.6038
	0.6038	0.0005	0.09	0.6033
10 ppm U2				0.4780
				0.4765
	0.4768	0.0010	0.22	0.4760
Kontrol				0.6027
				0.6026
	0.6026	0.0001	0.02	0.6025
10 ppm U3				0.4659
				0.4662
	0.4658	0.0005	0.10	0.4653
Kontrol				0.6088
				0.6094
	0.6092	0.0003	0.05	0.6094
50 ppm U1				0.4241
				0.4241
	0.4239	0.0003	0.08	0.4235
Kontrol				0.6043
				0.6042
	0.6045	0.0004	0.07	0.6049

50 ppm U2				0.4096
				0.4098
	0.4097	0.0001	0.03	0.4098
Kontrol				0.6047
				0.6043
	0.6044	0.0003	0.04	0.6043
50 ppm U3				0.4252
				0.4255
	0.4255	0.0003	0.06	0.4257
Kontrol				0.6050
				0.6054
	0.6053	0.0002	0.04	0.6055
100 ppm U1				0.3850
				0.3847
	0.3849	0.0002	0.04	0.3850
Kontrol				0.6041
				0.6037
	0.6041	0.0005	0.08	0.6046
100 ppm U2				0.3947
				0.3942
	0.3950	0.0010	0.24	0.3960
Kontrol				0.6035
				0.6039
	0.6039	0.0004	0.07	0.6043
100 ppm U3				0.3923
				0.3916
	0.3919	0.0004	0.10	0.3917
Kontrol				0.6031

				0.6026
	0.6030	0.0003	0.05	0.6032
150 ppm U1				0.3643
				0.3640
	0.3640	0.0003	0.09	0.3637
Kontrol				0.6038
				0.6044
	0.6043	0.0004	0.07	0.6047
150 ppm U2				0.3518
				0.3519
	0.3518	0.0001	0.03	0.3518
Kontrol				0.6044
				0.6048
	0.6048	0.0004	0.07	0.6052
150 ppm U3				0.3483
				0.3478
	0.3481	0.0003	0.08	0.3483
Kontrol				0.6045
				0.6046
	0.6045	0.0001	0.01	0.6044
200 ppm U1				0.3298
				0.3295
	0.3296	0.0001	0.04	0.3296
Kontrol				0.6041
				0.6037
	0.6037	0.0004	0.06	0.6033
200 ppm U2				0.3269
				0.3272

	0.3271	0.0002	0.06	0.3273
Kontrol				0.6072
				0.6070
	0.6068	0.0005	0.08	0.6063
200 ppm U3				0.3371
				0.3381
	0.3389	0.0022	0.66	0.3414
Kontrol				0.6040
				0.6042
	0.6041	0.0001	0.01	0.6041
400 ppm U1				0.2102
				0.2101
	0.2102	0.0002	0.09	0.2104
Kontrol				0.6036
				0.6032
	0.6034	0.0002	0.03	0.6033
400 ppm U2				0.2086
				0.2084
	0.2086	0.0001	0.06	0.2087
Kontrol				0.6032
				0.6030
	0.6032	0.0003	0.05	0.6035
400 ppm U3				0.2043
				0.2033
	0.2040	0.0006	0.31	0.2045
Kontrol				0.6035
				0.6034
	0.6033	0.0003	0.05	0.6029

800 ppm U1
 0.0762
 0.0773
 0.0767 0.0006 0.72 0.0766

Kontrol
 0.6032
 0.6037
 0.6033 0.0003 0.05 0.6031

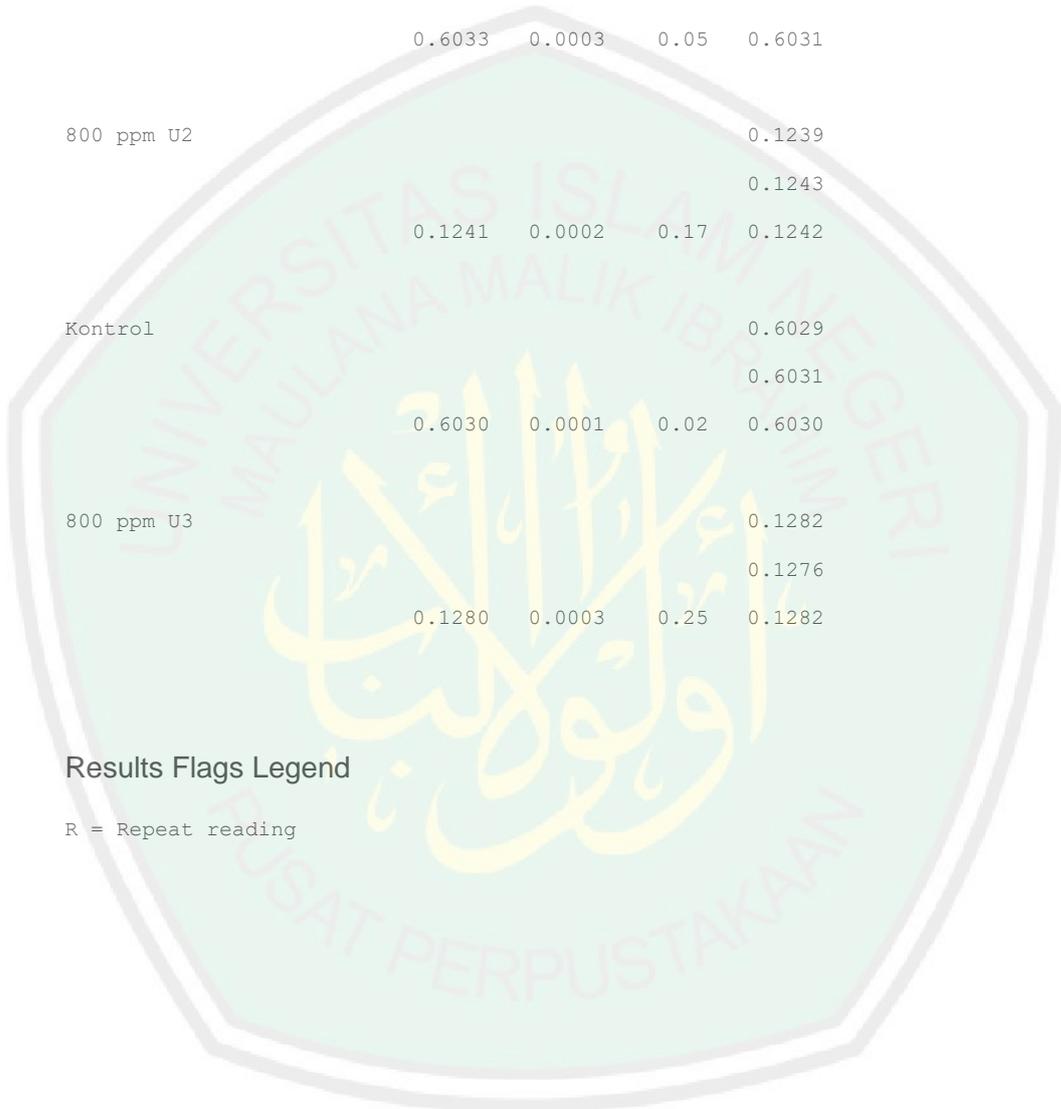
800 ppm U2
 0.1239
 0.1243
 0.1241 0.0002 0.17 0.1242

Kontrol
 0.6029
 0.6031
 0.6030 0.0001 0.02 0.6030

800 ppm U3
 0.1282
 0.1276
 0.1280 0.0003 0.25 0.1282

Results Flags Legend

R = Repeat reading





FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
 Gedung Klinik UMMI It 2
 Jalan Gajayana No. 50, Dinoyo. Kec Lowokwaru, Kota Malang
 E-mail: kepk.fkik@uin-malang.ac.id
 Website : <http://www.kepk.fkik.uin-malang.ac.id>

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
(ETHICAL CLEARANCE)
No. 027/EC/KEPK-FKIK/2018

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU-ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MEMPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

Judul Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Bekatul (*Rice Bran*) dan Pengaruh Terapinya Terhadap Kadar Glukosa Darah dan MDA (*Malondialdehyde*) Hati, Gambaran Histologi Pankreas, dan Aktivitas SOD (*Superoksida Dismutase*) Ginjal Mencit (*Mus Musculus*)
Sub Judul Identifikasi Senyawa Aktif dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 96% Bekatul (*Rice Bran*) dan Pengaruh Terapinya Terhadap Kadar Glukosa Darah dan MDA (*Malondialdehyde*) Hati, Gambaran Histologi Pankreas, dan Aktivitas SOD (*Superoksida Dismutase*) Ginjal Mencit (*Mus Musculus*)
Peneliti - Khalimatul Ulyah
 - Mar'atus Sholeha
 - Nafisatul Fuadah
Unit / Lembaga Program Studi Kimia Fakultas SAINS dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
Tempat Penelitian Laboratorium Hewan Coba Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

Mengetahui,
 Dekan FKIK-UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
 Malang, 22 OCT 2018
 Ketua



Prof. Dr.dr. Bambang Pardjianto, SpB. SpBP-RE(K)
 NIPT. 201612011545

dr. Avin Ajnur F, MBiomed
 NIP. 19800203 200912 2 002

- Keterangan:**
- Keterangan Laik Etik Ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
 - Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk *soft copy*.
 - Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amandemen Protokol).