

**PENGARUH TERAPI EKSTRAK ETANOL 96% BEKATUL (*Rice bran*)
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN MDA (*Malondialdehyde*)
PADA HATI MENCIT (*Mus musculus*) DIABETES MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh:
NAFISATUL FUADAH
NIM. 14630025



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

**PENGARUH TERAPI EKSTRAK ETANOL 96% BEKATUL (*Rice bran*)
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN MDA (*Malondialdehyde*)
PADA HATI MENCIT (*Mus musculus*) DIABETES MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh:
NAFISATUL FUADAH
NIM. 14630025

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 IBRAHIMMALANG
2019

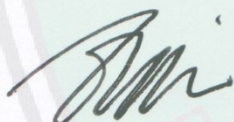
**PENGARUH TERAPI EKSTRAK ETANOL 96% BEKATUL (*Rice bran*)
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN MDA (*Malondialdehyde*)
PADA HATI MENCIT (*Mus musculus*) DIABETES MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh:
NAFISATUL FUADAH
NIM. 14630025

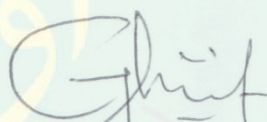
Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji :
Tanggal, 04 Januari 2019

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Ahmad Ghanaïm Fasya, M.Si
NIP. 19820616 200604 1 002

**Mengetahui,
Ketua Jurusan**



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

**PENGARUH TERAPI EKSTRAK ETANOL 96% BEKATUL (*Rice bran*)
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN MDA (*Malondialdehyde*)
PADA HATI MENCIT (*Mus musculus*) DIABETES MELLITUS**

SKRIPSI

Oleh:
NAFISATUL FUADAH
NIM. 14630025

Telah dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 11 Januari 2019

Penguji Utama	: Rachmawati Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010	(.....)
Ketua Penguji	: Akyunul Jannah, S.Si, M.P NIP. 19750410 200501 2 009	(.....)
Sekretaris Penguji	: Diana Candra Dewi, M.Si NIP. 1977020200312 2 001	(.....)
Anggota Penguji	: Ahmad Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(.....)



Mengesahkan,
Ketua Jurusan

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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nafisatul Fuadah
NIM : 14630025
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol 96% Bekatul (*Rice bran*)
Terhadap Kadar Glukosa Darah dan MDA
(*Malondialdehyde*) Pada Hati 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, 11 Januari 2019
Yang membuat pernyataan,



Nafisatul Fuadah
NIM 14630025

MOTTO

إِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

(QS. Al Insyirah ayat 6)

“Your Future Is Your Unknown Paradise”

*Masa Depan Kamu Adalah Surga Yang Tidak Kamu
Ketahui*

HALAMAN PERSEMBAHAN

Sujud dan syukur kepada Allah SWT,

Taburan cinta, kasih sayangMu serta ridhoMu telah memberikanku kekuatan, ketegaran, kemudahan dalam kesulitan, membekaliku dengan ilmu, dan memperkenalkanku dengan cinta. Atas karuniaMu skripsi yang sederhana ini bisa terselesaikan.

Sholawat serta salam semoga tetap terlimpahkan keharibaan Baginda Muhammad SAW. Semoga senantiasa diakui sebagai pengikut Beliau dan mendapatkan syafa'atnya kelak di akhirat.

Sebuah karya sederhana dari 4,5 tahun perjuangan yang tulus ini kupersembahkan kepada orang-orang istimewa yang sangat kusayangi dan kukasihi.

Ibu Suparti dan Bapak Sofwan, pasangan orang tua yang sangat luar biasa. Segala dukungan baik moril maupun materiil, doa tulus yang tiada henti, kasih sayang yang tak terhingga yang tak mampu kubalas hanya dengan selebar kertas yang berisi kata cinta dan persembahan. Semoga ini menjadi langkah awal untuk membuat Ibu dan Bapak bahagia karena aku sadar selama ini belum bisa berbuat yang lebih untuk Ibu dan Bapak. Terimakasih Ibu, Terimakasih Bapak,

Teruntuk Ibu Diana Candra Dewi, Ibu Hafidatul Hasanah dan Ibu Akyunul Jannah, sebagai dosen pembimbing. Terimakasih atas dukungan, arahan, nasihat, motivasi dan masukannya untuk penyelesaian skripsi ini. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan kesehatan. Terimakasih atas semua dosen dan laboran atas semua jasa, bantuan dan kesabarannya tak akan pernah aku lupakan.

Untuk Kakak ku, serta adik-adikku, tiada hal yang paling mengharukan selain kebersamaan dengan kalian. Terimakasih telah memberikan warna dalam kehidupanku, doa tulus yang kalian berikan serta kasih sayang yang tak terhingga hanya tulisan sederhana ini yang bisa kupersembahkan.

Kupersembahkan kepada mas Sofyan Nahrowi tercinta, Terimakasih atas perhatian, dukungan, semangat dan motivasi yang kau berikan dalam penyelesaian Tugas Akhir ini, semoga engkau menjadi pilihan yang terbaik buatku dan masa depanku

Terimakasih kepada tim DM (Marsha dan Ulyah) yang telah menemani dan berjuang bersama, haru dan pilu. Teman-teman Kimia A yang luar biasa serta Kimia Angkatan 2014. Keluarga BTQ tercinta yang menemanijuanganku selama 3,5 tahun

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

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 **“Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol 96% Bekatul (*Rice bran*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan MDA (*Malondialdehyde*) Pada Hati Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus”**. Shalawat dan salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, keluarganya, sahabat-sahabatnya beserta umat pengikutnya.

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 proposal ini, dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak dan Ibu serta saudara-saudara tercintayang telah banyak memberikan perhatian, nasehat, do'a, motivasi dan dukungan baik moral maupun materil yang tak mungkin terbalaskan.
2. Bapak Prof. Abdul Haris, M.Agselaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik 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 utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
7. Ibu Akyunul Jannah, S.Si, M.P selaku dosen konsultan yang telah memberikan waktu, bimbingan, nasehat serta saran kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku dosen penguji yang telah memberikan bimbingan dan masukan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. 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 penulis.
10. Teman-teman angkatan 2014 khususnya kelas A jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan waktu kebersamaan, motivasi, saran, informasi dan masukan kepada penulis.
11. Kelompok DM (Ulyah dan Marsha) yang telah memberikan canda tawa, air mata, motivasi dan semangat kepada penulis. Serta semua pihak yang tidak

bisa penulis sebutkan yang telah membantu penulisan skripsi ini secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari banyak kekurangan dalam penulisan skripsi 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



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
LEMBAR ORISINALITAS	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR SINGKATAN	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT	xvii
المُلخَص	xviii
 BAB I PENDAHULUAN	
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	
2.1. Pemanfaatan Bekatul Perspektif Islam	9
2.2. Bekatul.....	10
2.3. Ekstraksi Etanol Bekatul dengan Metode Maserasi.	12
2.4. Diabetes Mellitus.....	14
2.4.1 Definisi	14
2.4.2 Klasifikasi.....	15
2.4.3 Patofisiologi.....	16
2.5. MDA (<i>Malondialdehyde</i>).	17
2.6. Hewan Uji Mencit (<i>Mus musculus</i>)	21
2.7. Alokasan.....	23
2.7.1 Definisi dan Sifat Kimia	23
2.7.2 Efek Alokasan terhadap Sel β Pankreas.....	25
2.8. Hati	27
2.9. Radikal Bebas	28
2.10. Antioksidan.....	29
2.11. Glukometer-test	30
2.12. Spektrofotometer UV-Vis.....	31

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	33
3.2. Alat dan Bahan	33
3.2.1. Alat.....	33
3.2.2. Bahan	33
3.3. Rancangan Penelitian	34
3.4. Tahapan Penelitian	36
3.5. Pelaksanaan Penelitian	36
3.5.1. Preparasi Sampel.....	36
3.5.2. Analisis Kadar Air Metode Oven.....	37
3.5.3. Ekstraksi Bekatul	37
3.5.4. Persiapan Hewan Coba	38
3.5.5. Perlakuan Hewan Coba.....	38
3.5.6. Pembuatan Larutan Aloksan	39
3.5.7. Pembuatan Mencit Diabetes.....	39
3.5.8. Uji <i>in vivo</i> dengan Terapi Ekstrak Etanol Bekatul.....	39
3.5.9. Pengukuran Kadar Glukosa Darah.....	40
3.5.10. Pembuatan Larutan CMC-Na 0,5%.....	40
3.5.11. Uji Kadar MDA (<i>Malondialdehyde</i>) Pada Hati Mencit	41
3.5.11.1. Pengambilan Organ Hati.....	41
3.5.11.2. Pembuatan Kurva Standar MDA	41
3.5.12. Analisis Kadar MDA Menggunakan Uji <i>Thiobarbituric Acid</i> (TBA)	42
3.5.13. Analisis Data	42

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel.....	44
4.2 Analisis Kadar Air	45
4.3 Ekstraksi Bekatul	46
4.4 Kadar Glukosa Darah Mencit Diabetes Mellitus.....	48
4.5 Kadar MDA Hati Mencit Diabetes Mellitus yang Diterapi Ekstrak Etanol 96% Bekatul.....	54
4.6 Hubungan Antara Kadar Glukosa Darah dengan Kadar MDA	60

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	64
5.2 Saran	64

DAFTAR PUSTAKA	65
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	73
----------------------	-----------

DAFTAR SINGKATAN

SINGKATAN	Nama	Pemakaian Pertama kali Pada Halaman
MDA	<i>Malondialdehyde</i>	1
PUFA	<i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>	1
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>	1
IC ₅₀	<i>Inhibitory Concentration of 50%</i>	7
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>	11
DM	<i>Diabetes Mellitus</i>	15
DNA	<i>Deoxiribose Nucleic Acid</i>	18
TBARS	<i>Triobarbituric Acid-Reactive Substance</i>	20
TBA	<i>Tiobarbiturat</i>	20
TCA	<i>Trichloroacetic Acid</i>	20
GSH	<i>Glutation tereduksi</i>	25
SH	<i>Sulphidryl</i>	25
ADP	<i>Adenosine Diphosphate</i>	25
GLTU	<i>Glucose transporter</i>	29
SOD	<i>Superoksida Dismutase</i>	29
CMC-Na	<i>Carboxymethyl Cellulose</i>	39

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Bekatul	11
Tabel 2.2 Diagnosis Diabetes Mellitus	15
Tabel 2.3 Klasifikasi Diabetes Mellitus	16
Tabel 2.4 Kadar MDA Pada Serum Darah Mencit Diabetes Mellitus	18
Tabel 2.6 Data Biologi Mencit	23
Tabel 3.1 Rancangan Variasi Dosis Pada Perlakuan Eksperimen	35
Tabel 4.1 Data Rata-rata Kadar Glukosa Darah Mencit	50
Tabel 4.2 Ringkasan <i>Duncan</i> Tentang Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol 96% Bekatul Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Diabetes Mellitus	53
Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Kadar MDA Hati Mencit Tiap Perlakuan	56



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Bagian-bagian Biji Padi	10
Gambar 2.2	Mekanisme Pembentukan MDA	20
Gambar 2.3	Mencit Jantan Putih <i>Mus musculus</i>	23
Gambar 2.4	Struktur Kimia Aloksan	24
Gambar 2.5	Mekanisme Induksi Aloksan dalam Sel β Pankreas Tikus	25
Gambar 2.6	Anatomi dan Fisiologi Hati	28
Gambar 4.1	Ekstrak Etanol 96% Pekat Dari Bekatul	48
Gambar 4.2	Reaksi Pembentukan Gugus Enol Pada TBA	55
Gambar 4.3	Reaksi Antara TBA dan MDA Membentuk Kompleks Merah Muda.....	56
Gambar 4.4	Reaksi Penghambatan Antioksidan Terhadap Radikal Lipida.....	58
Gambar 4.5	Reaksi Antioksidan Bertindak Sebagai Prooksidan Pada Konsentrasi Tinggi	58
Gambar 4.7	Hubungan Terapi Ekstrak Etanol Bekatul dengan Kadar Glukosa darah dan MDA	61

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	73
Lampiran 2 Diagram Alir	74
Lampiran 3 Perhitungan Dosis	79
Lampiran 4 Pembuatan Larutan	82
Lampiran 5 Perhitungan Kadar Air dan Rendemen Ekstrak	84
Lampiran 6 Data Kadar Glukosa Darah Mencit	87
Lampiran 7 Perhitungan Kadar Malondialdehid	93
Lampiran 8 Perhitungan Koefisien Keragaman	98
Lampiran 9 Dokumentasi	99



ABSTRAK

Fuadah, N. 2019. **“Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol 96% Bekatul (*Rice bran*) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan MDA (*Malondialdehyde*) Pada Hati Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus”**. Pembimbing I: DianaCandra Dewi M,Si; Pembimbing II: Ahmad Ghanaim Fasya, M.Si; Konsultan: Akyunul Jannah, S.Si, M.P.

Kata kunci: Bekatul, maserasi, kadar glukosa darah, MDA,aloksan

Bekatul merupakan hasil samping tanaman padi yang mengandung antioksidan. Antioksidan tersebut mampu menetralkan radikal bebas dengan cara melindungi sel beta pankreas terhadap peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada kondisi hiperglikemia. *Reactive Oxygen Species* (ROS) dapat menyebabkan stress oksidatif yang ditunjukkan dengan meningkatnya kadar MDA (*Malondialdehyde*) di dalam tubuh. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol 96% bekatul dalam menurunkan kadar glukosa darah dan MDA pada hati mencit yang diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/Kg BB. Penelitian ini dilakukan secara *invivo*. Ekstrak etanol bekatul menggunakan metode maserasi. Selanjutnya ekstrak etanol 96% bekatul akan diterapkan pada mencit selama 14 hari. Variasi dosis yang digunakan yaitu 350 mg/Kg BB, 400 mg/Kg BB dan 500 mg/Kg BB. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan metode enzimatis menggunakan *glucometer DR* pada hari ke-1, ke-4, ke-8 dan ke-15. Pengukuran kadar MDA menggunakan metode TBARS (*Test thiobarbituric acid-reactive substance*). Berdasarkan hasil penelitian dosis terbaik ekstrak etanol 96% bekatul yang mampu menurunkan kadar glukosa darah dan kadar MDA adalah dosis 400 mg/Kg BB.

ABSTRACT

Fuadah, N. 2018. **“The Effect of Ethanol Extract Therapy is 96% Bran (*Rice bran*) of Blood Glucose Levels and MDA (*Malondialdehyde*) On The Liver of Mice (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus”**. Supervisor I: Diana Candra Dewi M, Si; Supervisor II: Ahmad Ghanaïm Fasya, M. Si; Consultant : Akyunul Jannah, S. Si, M. P.

Keyword: Bran, maseration, blood glucose levels, MDA, aloksan.

Bran is a product of rice plants containing antioxidants. These antioxidants are able to neutralize free radicals by means of pancreatic beta cells to protect against an increase in *Reactive Oxygen Species* (ROS) in the condition of hyperglycemia. *Reactive Oxygen Species* (ROS) can cause oxidative stress, indicated by increasing the levels of MDA (*Malondialdehyde*) in the body. The purpose of this research is to know the influence of ethanol 96% bran extract in lowering blood glucose levels and MDA on the hearts of mice induced with a dose of aloksan 5, 04mg/20 g BB. The research was done on invivo. Ethanol extracts of bran using the method of maceration. Next 96% ethanol extracts of bran would be therapy on mice for 14 days. Variations in the doses used 9.8 mg/20 g BB, 11.2 mg/20 g BB and 14 mg/20. Measurement of blood glucose levels is done by using the enzymatic method of the glucometer DR on 1st, 4th, 8th and 15th day. Measurement of the levels of MDA using method of TBARS (*thiobarbituric acid-reactive Test substance*). Based on the results of the research of the best dose of ethanol 96% bran extract that is capable of lowering blood glucose levels and the levels of MDA is a dose of 400 mg/Kg.

الملخص

الفؤادة، نفيسة. ٢٠١٩، "التأثير من علاج المقتطف الإيثانول ٩٦٪ النخالة الارز على قدر الجلوكوز من الدمومالونديلددهيد في كبد الفئران داء السكري" المشرفة الاولى : ديانا جاندرادوي الماجيستر، المشرفة الثاني : أحمد غنائم فشا الماجيستر، المششارة : أعين الجنة الماجيستر

كلمات البحث : النخالة، النقع، قدر الجلوكوز في الدم، مالونديلددهيد، ألوكسان

نخالة الأرز هي المنتج الثانوي من الأرز الذي يحتوي على مضادات الأكسدة. تلك المضادة الأكسدة قادرة على تحييد الجذور الحرة عن طريق الحماية على خلايا بيتا البنكرياس على زيادة أنواع الأكسجين التفاعلية في ظروف ارتفاع السكر في الدم. يمكن أنواع الأكسجين التفاعلية أن تسبب إجهاد تأكسدي مبينا في قدرمالونديلددهيد المتزايدة في الجسم. الغرض من هذا البحث لمعرفة التأثير المقتطف الإيثانول ٩٦٪ النخالة الارز في انخفاض قدر الجلوكوز من الدم ومالونديلددهيد في كبد الفئران عن ألوكسان بجرعة ٢٠٠ ملغم / كغ من وزن الجسم. إجراء هذا البحث في الجسم الحي. استخراج الإيثانول النخالة باستخدام أسلوب النقع. ثمستطبق استخراج الإيثانول ٩٦٪ في النخالة على الفئران لمدة ١٤ يومًا. أنواع الجرعة المستخدمة ٣٥٠ ملغم / كغ من وزن الجسم، ٤٠٠ ملغم / كغ من وزن الجسم، و ٥٠٠ ملغم / كغ من وزن الجسم. أجري القياس لقدر الجلوكوز في الدم باستخدام الطريقة الأنزيمية باستخدام مقياس الجلوكوز في اليوم الأول، الرابع، الثامن، و الخامسة عشر. قياس قدر مالونديلددهيد باستخدام طريقة مادة الاختبار لتفاعل الحمض ثيوباريتوريك. بناءً على نتائج التحليل أحد الاتجاه بمستوى الثقة ٩٥٪ أشار استخراج الإيثانول ٩٦٪ من النخالة يؤثر مبينا على انخفاض قدر الجلوكوز في الدم في الفئران المصابة بداء السكري، ولا يؤثر مبينا على انخفاض قدر مالونديلددهيد في كبد الفئران المصابة بداء السكري. الجرعة التي يمكن أن تخفضقدر الجلوكوز في الدم وقدر مالونديلددهيد هي جرعة ٤٠٠ ملغم / كغ من وزن الجسم.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit degeneratif yang bersifat kronis. Penyakit diabetes mellitus ditandai dengan adanya gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang dihubungkan dengan defisiensi fungsi atau sekresi insulin, serta adanya peningkatan kadar glukosa darah di dalam tubuh (hiperglikemia) (Christian, 2013). Peningkatan kadar glukosa dalam darah mampu menginduksi terbentuknya radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Lenywati, 2001), sehingga menyebabkan kerusakan jaringan pada sel terutama pada sel β pankreas. Kerusakan sel β pankreas akan menurunkan produksi insulin sehingga akan mengalami hiperglikemia kronis. Kondisi hiperglikemia kronis akan menyebabkan stress oksidatif (Adji, 2008).

Stress oksidatif merupakan salah satu komponen kerusakan jaringan pada manusia atau peristiwa radikal bebas yang muncul melalui reaksi biokimia dan akan merusak membran sel sehingga menyebabkan gangguan fungsi dalam tubuh, khususnya saraf dan pembuluh darah. Hal tersebut ditunjukkan dengan meningkatnya kadar MDA (*Malondialdehyde*) pada jaringan. *Malondialdehyde* (MDA) merupakan metabolit hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas (Asni dkk, 2009). MDA terbentuk dari *lipid peroxidation* pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas dengan *poly unsaturated fatty acid* (PUFA). Peningkatan MDA menunjukkan meningkatnya radikal bebas dalam tubuh yang tidak sebanding dengan jumlah antioksidan yang terdapat dalam tubuh sehingga akan berpotensi terjadinya komplikasi baik mikrovaskuler maupun makrovaskuler (Marjani,

2010). Penelitian Fajarini (2015) menunjukkan bahwa adanya peningkatan kadar MDA pada plasma darah mencit kelompok normal sebesar 28,37 μM dan mencit kelompok positif yang diinduksi aloksan 81,42 μM . Selain itu menurut (Rahayu, 2015) stress oksidatif mampu meningkatkan kadar MDA pada organ hati tikus normal sebesar 6,359 $\mu\text{g/mL}$ dan pada tikus diabetes mellitus 10,641 $\mu\text{g/mL}$.

Diabetes mellitus menyebabkan rusaknya pembuluh darah, saraf dan struktur internal serta peningkatan kadar MDA di dalam tubuh (Badawi, 2009). Oleh karena itu, perlu adanya obat untuk menanganinya. Selama ini obat yang digunakan adalah obat oral seperti akarbose dan meglitol yang secara kompetitif dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa darah (Dipiro, *et al.*, 2005). Namun, penggunaan obat tersebut dipandang kurang efektif dan memiliki efek samping serta membutuhkan biaya yang cukup mahal. Adanya faktor tersebut, memicu para ilmuwan untuk mengembangkan penemuan sumber obat alternatif baru yang lebih aman, efektif, efisien dan dapat dijangkau oleh masyarakat serta tidak membutuhkan biaya yang mahal, diantaranya tanaman herbal seperti pare, buah merah, daun sirsak, bekatul beras padi dan lain-lain. Seperti halnya firman Allah SWT dalam Al Qur'an surat As Syu'ara ayat 80 :

وَإِذَا مَرَضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

“dan apabila aku sakit, Dialah Yang menyembuhkan aku”

Berdasarkan tafsir Ibnu Katsir, ayat diatas menerangkan bahwas segala penyakit merupakan pemberian Allah SWT dan tidak ada yang mampu menyembuhkan selainNya. Oleh karena itu, manusia hanya bisa berusaha dengan

berbagai macam sarana pengobatan apapun yang menjadi sebab kesembuhan untuk penyakitnya. Usaha pengobatan tersebut salah satunya dengan memanfaatkan sumber daya alam ciptaanNya. Karena jika Allah SWT telah berkehendak tidak ada sesuatu yang mustahil.

Segala sesuatu yang terdapat di bumi ini tentunya terdapat berbagai macam bahan yang mengandung senyawa aktif sebagai antidiabetes yang belum ditemukan dan dikaji oleh para ilmuwan. Semua yang diciptakan Allah SWT tidak ada yang sia-sia. Sehingga manusia diciptakan untuk selalu merenungi dan berfikir bagaimana cara memanfaatkan ciptaan Allah SWT di langit dan di bumi. Seperti Firman Allah SWT dalam QS. Shaad ayat 27:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا
فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ ﴿٢٧﴾

“Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, Maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka”.

Ayat tersebut menjelaskan bahwa semua yang diciptakan Allah SWT di alam semesta baik yang kecil ataupun besar semuanya bermanfaat dan tidak ada yang sia-sia. Namun dengan ayat tersebut manusia tidak dibenarkan untuk hanya menikmatinya. Oleh sebab itu, manusia diperintah untuk berfikir dan merenungi segala yang diciptakanNya untuk menambah rasa syukur dan kecintaan padaNya serta menambah dan mengembangkan ilmu pengetahuan yang dimiliki sehingga dapat bermanfaat dan diterapkan dalam kehidupan sehari-hari sebagai salah satu solusi untuk menyelesaikan permasalahan (Shihab, 2002).

Bekatul merupakan salah satu contoh dari ayat tersebut, bekatul merupakan bahan sisa dari proses penggilingan padi yang selama ini hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Bekatul mengandung komponen kimia yang terdiri dari protein 12,0-15,6%, lemak 15,0-19,7%, karbohidrat 34,1-52,3%, abu 6,6-9,9% dan serat kasar 7,0-11,4% (Luh, 1991). Selain itu, bekatul mengandung komponen bioaktif atau senyawa fitokimia yang tinggi seperti tokoferol, tokotrienol, orizanol (Chen dan Bergman, 2005), antioksidan fenolik serta β -karotein (Chanphrom, 2007), dan antosianin (bekatul beras hitam dan ketan hitam) (Yawadioet *al*, 2007). Vitamin E dan γ -orizanol pada bekatul diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi (Slavin, 2004).

Bekatul mengandung antioksidan fenolik dengan total fenolik 5,45 mg/100 g bekatul dan aktivitas antioksidan 743,51 mg/100 g bekatul serta mampu meningkatkan kadar protein. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Suhery (2016) bekatul mampu menghasilkan antioksidan dengan nilai % inhibisi sebesar 95,09% (FI). Bekatul mampu menurunkan kadar glukosa darah karena mengandung antioksidan yang dapat menetralisir radikal bebas (Kosasihet *al*, 2014). Penggunaan antioksidan akan dapat mengurangi stress oksidatif dan membantu menurunkan kadar MDA pada penderita diabetes mellitus, sehingga antioksidan mampu mencegah peningkatan glukosa darah (Rahayu *et al.*, 2010). Kandungan antioksidan yang terdapat dalam tubuh akan bereaksi dengan peroksidasi aktif, sehingga dapat mencegah bereaksinya peroksidasi aktif dengan ikatan rangkap lemak. Hal ini akan menghambat pembentukan radikal bebas dan terjadinya peroksidasi lipid, sehingga kadar MDA mengalami penurunan (Winarsi, 2010).

Dwinani (2010) telah membuktikan bahwa penelitian ekstrak etanol 96% bekatul beras hitam dengan dosis 200 mg/Kg BB mampu menurunkan kadar glukosa darah rata-rata sebesar $130,50 \pm 31,86$ mg/dL. Hal ini kemungkinan di dalam ekstrak etanol 96% bekatul memiliki kandungan antioksidan. Senyawa antioksidan mampu untuk meningkatkan sekresi insulin (Jayaprakarsam *et al.*, 2005) dan melindungi sel β pankreas terhadap peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) (Modaket *et al.*, 2007) pada kondisi hiperglikemia (Hong *et al.*, 2009) serta mengurangi stress oksidatif pada penderita diabetes.

Metode yang digunakan adalah metode maserasi dengan proses perendaman tanpa adanya pemanasan sehingga dapat mencegah terdegradasinya antioksidan dan senyawa aktif lainnya dalam bekatul. Maserasi menggunakan prinsip *like dissolve like*, zat yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar dan zat yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut non polar. Perendaman sampel dalam pelarut akan menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut (Khopkar, 2008).

Ekstraksi bekatul menggunakan pelarut etanol, bekatul yang diekstraksi dengan etanol mampu menghasilkan kandungan antioksidan yang tinggi. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, etanol mampu mengekstrak senyawa antioksidan yang lebih besar dibandingkan metanol, selain itu penggunaan etanol dapat menghindari adanya toksisitas metanol (Vanini, *et al.*, 2009). Berdasarkan penelitian Syafitri (2016), ekstrak bekatul menggunakan fraksi etanol memiliki nilai aktivitas tertinggi dibandingkan dengan fraksi pelarut lainnya. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam IC sebesar 29,27 μ g/mL.

Etanol yang digunakan dalam proses maserasi pada penelitian ini menggunakan konsentrasi 96%. Hal ini dikarenakan etanol 96% memiliki sifat yang mampu melarutkan semua senyawa aktif yang terkandung di dalam sampel, baik yang bersifat polar, non polar maupun semi polar (Arifin *et al.*, 2006). Selain itu, berdasarkan penelitian yang telah dilakukan Widarta (2013) ekstrak etanol 96% bekatul mampu menghasilkan aktivitas antioksidan 88,75%. Hal tersebut disebabkan polaritas komponen bioaktif yang terdapat di dalam bekatul yang menghasilkan aktivitas antioksidan memiliki polaritas yang mirip dengan polaritas etanol 96%.

Penelitian *in vivo*, dilakukan dengan hewan uji mencit. Hal ini dikarenakan mencit mempunyai kemampuan metabolik yang relatif cepat, sehingga lebih sensitif bila digunakan dalam penelitian yang berhubungan dengan metabolik tubuh seperti diabetes mellitus (Kramdkk, 2001). Agen diabetes mellitus yang digunakan adalah aloksan yang merupakan substrat secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana (Nugroho, 2004). Induksi aloksan akan menyebabkan peningkatan radikal bebas sehingga menyebabkan kerusakan sel, terutama sel β pankreas. Aloksan mampu menghambat produksi insulin, sehingga akan menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemia (Dewi, 2013).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka pada penelitian ini akan diuji kemampuan ekstrak etanol 96% bekatul terhadap penurunan kadar glukosa darah dan kadar MDA pada hati mencit diabetes mellitus. Sebagai agen diabetes mellitus, digunakan mencit yang mengalami hiperglikemia akibat adanya induksi aloksan.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh terapi ekstrak etanol 96% bekatul terhadap kadar glukosa darah mencitdiabetes mellitus?
2. Bagaimana pengaruh terapi ekstrak etanol 96% bekatul terhadap kadar MDA (*Malondialdehyde*) pada organ pankres mencit diabetes mellitus?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah diatas, tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh terapi ekstrak etanol 96% bekatul terhadap kadar glukosa darah mencitdiabetes mellitus.
2. Mengetahui pengaruh terapi ekstrak etanol 96% bekatul terhadap kadar MDA (*Malondialdehyde*) pada organ hati mencitdiabetes mellitus.

1.4 Batasan masalah

1. Bekatul yang digunakan merupakan bekatul dari proses penggilingan dari beras putih yang berasal dari Kabupaten Gresik.
2. Mencit yang digunakan adalah mencit jenis *Mus musculus* jantan putih.
3. Variasi dosis terapi ekstrak etanol bekatul adalah 350mg/Kg BB, 400 mg/Kg BB dan 500 mg/Kg BB.
4. Pengukuran kadar glukosa darah menggunakan metode enzimatis menggunakan alat *glucometer GllucoDrTM*.

5. Agen diabetes yang digunakan adalah aloksan dengan dosis 200 mg/Kg BB mencit.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi tentang potensi ekstrak etanol 96% bekatul memiliki kemampuan dalam pengolahan penyakit diabetes mellitus.
2. Memberi informasi bahwa dosis optimum pemberian ekstrak etanol 96% bekatul mampu menurunkan kadar glukosa darah dan kadar MDA pada hati mencit diabetes mellitus.

1.6 Hipotesis

1. H_0 : Terapi ekstrak etanol bekatul 96% tidak berpengaruh terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes mellitus.
 H_1 : Terapi ekstrak etanol 96% bekatul berpengaruh terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes mellitus.
2. H_0 : Terapi ekstrak etanol 96% bekatul tidak berpengaruh terhadap kadar MDA (*Malondialdehyde*) pada organ hati mencit yang diinduksi aloksan.
 H_1 : Terapi ekstrak etanol 96% bekatul berpengaruh terhadap kadar terhadap kadar MDA (*Malondialdehyde*) pada organ hati mencit yang diinduksi aloksan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pemanfaatan Bekatul Perspektif Islam

Indonesia sangat kaya dengan berbagai spesies flora, dari 40 ribu jenis flora yang tumbuh di dunia, 30 ribu diantaranya tumbuh di Indonesia. Kekayaan tersebut merupakan suatu anugerah besar yang diberikan Allah SWT kepada manusia. Islam mengajarkan kita untuk senantiasa memanfaatkan ciptaan Allah SWT dengan cara yang benar. Tumbuhan-tumbuhan maupun hewan yang beraneka ragam dapat dimanfaatkan dalam banyak hal. Sebagaimana dalam Al Qur'an surat Ar Rahman ayat 12:

وَالْحَبُّ ذُو الْعَصْفِ وَالرَّيْحَانُ ﴿١٢﴾

“Dan biji-bijian yang berkulit dan bunga-bunga yang harum baunya”

Ayat di atas menerangkan bahwasanya Allah SWT menciptakan tumbuhan yang merekah dan muncullah biji-bijian yang mempunyai bulir dan daun-daunan yang melilit pada batangnya. Biji-bijian tersebut seperti halnya padi, yang akan menghasilkan bekatul sebagai hasil samping dari proses penggilingannya. Semua diciptakan Allah SWT atas kuasaNya dan tanpa sia-sia. Hanyaah orang-orang yang berpikir yang mampu mencari cara pemanfaatan semua ciptaan Allah SWT tersebut.

Ayat tersebut secara tersirat menjelaskan tentang tumbuhan dan biji-bijian yang harus dimanfaatkan sebaik-baiknya. Setiap hal yang diciptakan Allah SWT untuk kemaslahatan umat manusia, diantaranya dapat dimanfaatkan sebagai

sumber bahan pangan manusia dan dapat dipetik hasilnya untuk kebutuhan manusia. Salah satu manfaat bijian-bijian tersebut adalah bekatul sebagai antioksidan. Begitulah tanda-tanda kekuasaan Allah SWT, untuk mengingatkan kepada makhlukNya agar selalu bersyukur dan mendekatkan diri kepadaNya.

2.2 Bekatul

Bekatul merupakan hasil samping dari pengolahan padi yang pada umumnya digunakan sebagai pakan ternak. Penggilingan padi menghasilkan rendemen berupa 20% sekam, 8% bekatul, 2% lembaga dan beras sosoh 70%. Pada umumnya bekatul digunakan sebagai pakan ternak dan sangat jarang digunakan sebagai bahan pokok produk makanan (BB Pascapanen, 2007).



Gambar 2.1 Bagian-bagian Biji Padi (Pascapanen, 2007)

Biji padi dipisahkan menjadi dua bagian yaitu beras dan sekam, proses pemisahan menggunakan penyosohan. Proses penyosohan menggunakan dua tahap, pertama menghasilkan dedak yang memiliki tekstur kasar karena masih mengandung sekam. Kedua menghasilkan bekatul yang bertekstur lebih halus dan tidak mengandung sekam (Auliana, 2011).

Bekatul memiliki kandungan nutrisi diantaranya lemak, protein, serat, mineral, vitamin dan komponen bioaktif. Bekatul juga memiliki banyak manfaat dalam bidang kesehatan, yaitu sebagai antioksidan, dapat menurunkan kolesterol dalam darah, penurunan LDL (*low density lipoprotein*), serta pencegahan penyakit kanker, kardiovaskuler dan dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah (Rana *et al*, 2004; Kuriyan *et al*, 2005; Tazakori *et al*, 2007). Komponen kimia bekatul secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Komposisi kimia bekatul

Komponen	Jumlah
Protein (%)	12,0-15,6
Lemak (%)	15,0-19,7
Serat kasar (%)	7,0-11,4
Karbohidrat (%)	34,1-52,3
Abu (%)	6,6-9,9
Kalsium (mg/g)	0,3-1,2
Magnesium (mg/g)	5,0-13,0
Fosfor (mg/g)	11,0-25,0
Silika (mg/g)	5,0-11,0
Seng (µg/g)	43,0-258,0
Thiamin/B1 (µg/g)	12,0-24,0
Riboflavin/B2 (µg/g)	1,8-4,0

Sumber : Luh (1991)

Bekatul mengandung vitamin B dari golongan tiamin, riboflavin, niasin dan pirodoxin. Selain itu bekatul mengandung komponen bioaktif α , β , γ , δ - tokoferol dan tokotrienol, fraksi γ - oryzanol dan senyawa fenolik. Tokoferol (vitamin E) berperan sebagai antioksidan dengan mencegah kerusakan dinding sel sehingga mampu mencegah hemolisis (kerapuhan) sel darah merah. Oryzanol merupakan fraksi tidak tersabunkan dari minyak bekatul yang dapat membantu sirkulasi darah dan memicu sekresi hormon insulin (Kahlon *et al.*, 1994). Menurut

penelitian yang dilakukan Adom K dan Liu R (2002), antioksidan bekatul berupa oryzanol, tokoferol dan asam ferulat mampu menghambat kencing manis, penyakit *Alzheimer*, mencegah penyakit jantung serta kanker. Bekatul juga mengandung vitamin E yang secara umum disebut dengan tokoferol. Vitamin E merupakan salah satu antioksidan yang kuat menangkal radikal bebas (Nursalim dan Razzali, 2007).

Kandungan utama ekstrak etanol bekatul adalah senyawa bioaktif antioksidan, fenolik, alkaloid, tanin, saponin, steroid dan flavonoid (Syafitri, 2016). Antioksidan merupakan zat yang digunakan untuk menetralkan radikal bebas (Hadipernata, 2007) dengan cara melindungi sel beta pankreas terhadap peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada kondisi hiperglikemia. Ekstrak etanol bekatul mampu menghasilkan aktivitas antioksidan yang tinggi sehingga memiliki kemampuan untuk mengurangi stress oksidatif pada penderita diabetes.

2.3 Ekstraksi Etanol Bekatul dengan Metode Maserasi

Ekstraksi merupakan metode pemisahan komponen berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan yang tidak saling larut. Prinsip dari ekstraksi yaitu “*like dissolve like*” yaitu senyawa polar larut dalam pelarut polar sedangkan senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar. Faktor-faktor yang berpengaruh dalam ekstraksi yaitu suhu, jenis pelarut, lama ekstraksi, titik didih, sifat toksik serta sifat korosif terhadap peralatan ekstraksi (Khopkar, 2008).

Metode maserasi merupakan metode penyarian simplisia secara sederhana dengan menggunakan suatu pelarut pada suhu kamar dalam beberapa waktu (Agoes, 2009). Penekanan pada maserasi yaitu adanya waktu kontak yang cukup

antara sampel dengan pelarut (Guenther, 2006). Metode ekstraksi ini sangat cocok digunakan, karena prosesnya mudah, menggunakan alat yang sederhana dan menggunakan suhu kamar sehingga tidak merusak senyawa-senyawa aktif yang terdapat di dalam sampel (Soebagio, 2003). Pemilihan pelarut dalam proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dengan pelarut yang akan digunakan (Khopkar, 2008).

Pelarut yang digunakan adalah etanol, karena ekstrak etanol mampu menghasilkan antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut yang lain seperti metanol dan n-heksana. Hal ini dibuktikan dengan penelitian Purwanto (2014), ekstrak etanol bekatul yang diperoleh memiliki rendemen sebesar 17,431%. Etanol yang digunakan merupakan etanol 96%, berdasarkan penelitian Kholifah (2014), etanol 96% mampu memisahkan senyawa-senyawa fitokimia seperti flavonoid, saponin, polifenol dan tannin. Selain itu, polaritas komponen bioaktif pada ekstrak bekatul beras putih yang memberikan aktivitas sebagai antioksidan mirip dengan polaritas etanol 96%. Menurut Franco *et al.*, (2008), polaritas pelarut berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan dari ekstrak yang dihasilkan. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa ekstrak yang diperoleh dari pelarut etanol menghasilkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak dari pelarut air dan metanol, dimana polaritas pelarut etanol lebih rendah dari metanol dan air.

Etanol merupakan pelarut polar yang dapat melarutkan bahan alam yang bersifat polar dan dikenal sebagai pelarut universal. Menurut Sudarmadji (2003) etanol dapat mengekstrak senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan jenis

pelarut organik lainnya. Sedangkan menurut Hardiningtyas (2009), meskipun air memiliki kepolaran yang lebih tinggi dan lebih aman digunakan, namun jarang digunakan sebagai pelarut pengekstrak. Hal tersebut dikarenakan air memiliki kelemahan yaitu menyebabkan reaksi fermentatif atau mengakibatkan kerusakan bahan aktif lebih cepat, pembekakan sel dan larutannya mudah terkontaminasi. Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan Dwinani (2010) ekstrak etanol 96% bekatul beras hitam menghasilkan rendemen 7,35%. Selain itu, berdasarkan penelitian Widarta (2013) ekstrak etanol 96% bekatul beras lokal menghasilkan rendemen 4,61%.

2.4 Diabetes Mellitus

2.4.1 Definisi

Diabetes mellitus (DM) merupakan salah satu penyakit degeneratif akibat gangguan metabolisme serta menurunnya fungsi atau struktur dari jaringan dan organ tubuh. Pada diabetes mellitus terjadi gangguan keseimbangan antara glukosa ke dalam sel, glukosa yang disimpan di hati, dan glukosa yang dikeluarkan dari hati. Keadaan ini yang menyebabkan kadar glukosa darah meningkat atau hiperglikemia. Menurut Depkes (2007), diabetes mellitus adalah penyakit dengan kadar gula darah yang melebihi normal dan menunjukkan gejala cepat lapar, cepat haus, serta sering buang air kecil terutama di malam hari.

Menurut WHO (1999) seperti dikutip dari Laporan Riskesdas 2007 (Balitbangkes, 2008), nilai rujukan untuk diabetes mellitus yaitu:

- Normal < 140 mg/dL
- Toleransi Glukosa Terganggu (TGT) 140 - <200 mg/dL

- Diabetes Mellitus > 200 mg/dL

Nilai rujukan untuk diabetes mellitus lebih rinci dapat dilihat pada Tabel 2.2 berikut:

Tabel 2.2 Diagnosis Diabetes Mellitus

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

Sumber: DiPiro dkk (2005) Keterangan: Postprandial adalah pemeriksaan yang dilakukan 2 jam setelah makan

2.4.2 Klasifikasi

Berdasarkan etiologinya, diabetes mellitus dapat dibedakan menjadi 4 diantaranya yaitu, diabetes mellitus tipe 1 diabetes mellitus tipe 2, diabetes mellitus tipe lain dan diabetes mellitus gestasional. Klasifikasi masing-masing tipe diabetes mellitus dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 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)

2.4.3 Patofisiologi

Diabetes mellitus tipe-1 disebabkan adanya destruksi sel β pulau Langerhans, yang diakibatkan oleh proses autoimun. Secara patologi terlihat adanya peradangan pankreas atau insulitis. Penyebab adanya autoimun kemungkinan adalah terdapat agen lingkungan yang secara antigenis mengubah sel-sel pankreas sehingga menstimulasi pembentukan antibodi yang akan mengganggu produksi insulin. Insulitis bisa disebabkan karena adanya virus seperti virus cocksakie, rubella, herpes dan lainnya (Corwin, 2008).

Pada diabetes mellitus tipe-2, tingginya kadar glukosa disebabkan oleh insensitivitas seluler terhadap insulin dan lebih bersifat genetik. Selain itu, juga disebabkan oleh sekresi insulin dan resistensi terhadap kerja insulin karena kurangnya reseptor insulin pada organ target sehingga terjadi defek relatif pankreas untuk mensekresi insulin. Pada penderita yang obesitas, kelainan primernya adalah resistensi insulin di jaringan perifer seperti otot dan lemak sehingga terjadi peningkatan kebutuhan insulin. Sedangkan pada penderita yang

non obesitas, kelainan perifernya berupa kerusakan sel beta dan kelainan sekundernya di jaringan perifer (Garnita, 2002).

2.5 MDA (*Malondialdehyde*)

Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit kronis akibat adanya gangguan produksi insulin. Insulin merupakan hormon yang mengatur glukosa dalam darah. Gangguan produksi insulin ini disertai timbulnya berbagai gangguan dan kerusakan jaringan pada organ tubuh terutama pankreas yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia). Kondisi hiperglikemia menyebabkan adanya produksi radikal bebas yang berlebihan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yang akan memicu adanya stress oksidatif (Adji, 2008). Stress oksidatif merupakan keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara proses oksidasi oleh radikal bebas dan proses penetralan oleh antioksidan dalam tubuh. Stress oksidatif akan menyebabkan kerusakan sel β pankreas yang diperantarai mekanisme *cellular mediated autoimmune* yang disertai dengan peningkatan hasil peroksidasi lipid (Purnomo, 2002).

Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu senyawa hasil dari reaksi peroksidasi lipid yang digunakan sebagai marker atau pertanda terjadinya stress oksidatif. Pada keadaan stress oksidatif tinggi terjadi peningkatan kadar MDA secara signifikan, apabila keadaan stress oksidatif teratasi maka kadar MDA akan menurun. Sehingga pada keadaan hiperglikemia kadar MDA di dalam tubuh akan meningkat (Papas, 1999). Hal ini dibuktikan dengan adanya peningkatan kadar MDA pada mencit diabetes mellitus dari kadar MDA normal pada penelitian Kadri (2010), seperti pada Tabel 2.3 berikut.

Tabel 2.4 Kadar MDA pada serum darah mencit diabetes mellitus

No	Kelompok	Kadar MDA Serum (nmol/ml)
1.	KN (K-1)	0,99
2.	KN (K-2)	0,93
3.	KN (K-3)	0,80
4.	KP (K+1)	1,25
5.	KP (K+2)	1,16
6.	KP (K+3)	1,36
7.	KP (P1)	0,98
8.	KP (P2)	0,93
9.	KP (P3)	-

Keterangan:

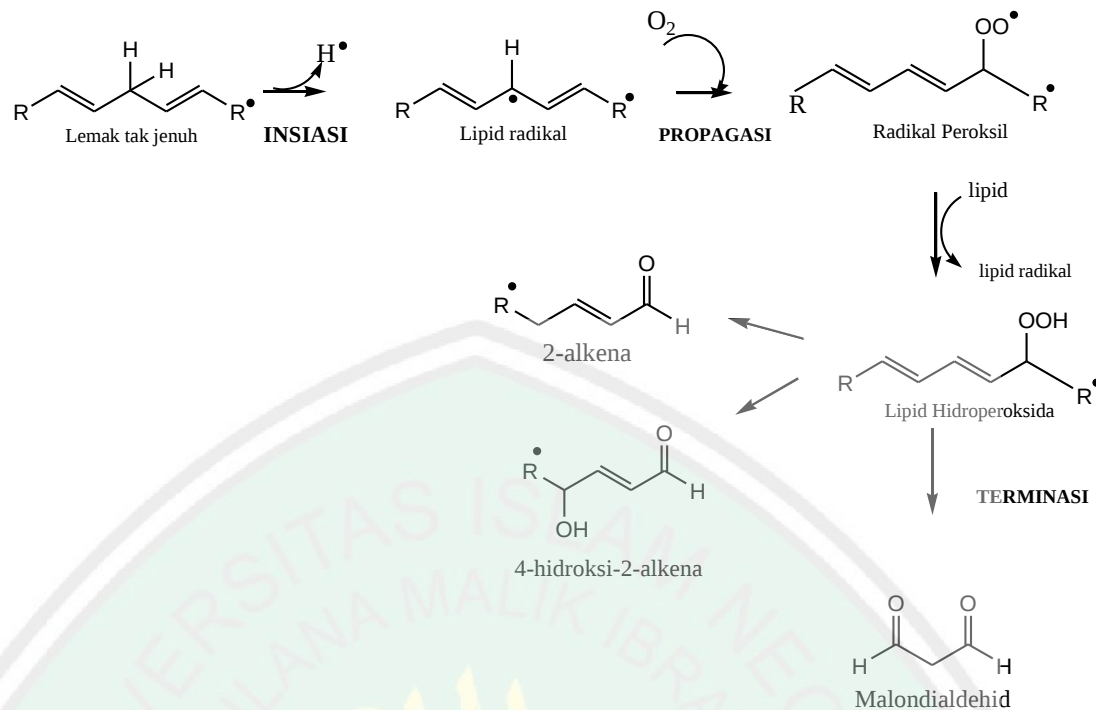
(K-) : Kelompok kontrol normal, mencit tidak diinduksi aloksan dan tidak diberi buah merah, hanya diberi makan dan minum.

(K+) : Kontrol positif, mencit diinduksi aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 150 mg/kg BB dan tidak diberi buah merah.

(KP) : Kontrol perlakuan, mencit diinduksi aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 150 mg/kg BB dan diberi minyak buah merah secara oral dengan dosis 0,6 ml/kgBB.

Berdasarkan Tabel 2.4 diatas, mencit dengan kontrol positif akibat adanya induksi aloksan memiliki kadar MDA yang lebih tinggi dibandingkan dengan mencit dalam keadaan normal. Tingginya kadar MDA pada kelompok kontrol positif tersebut, disebabkan karena adanya hiperglikemia pada diabetes melitus menyebabkan pembentukan radikal bebas. Hiperglikemia meningkatkan produksi radikal bebas, sehingga terjadi pembentukan senyawa oksigen reaktif yang dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan. Hal tersebut akan mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas sehingga terjadi stres oksidatif. Dampak negatif pada membran sel akan terjadi peroksidasi lipid. Akibat akhir dari rantai reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang toksik terhadap sel yaitu MDA (Malondialdehid).

MDA terbentuk dari *lipid peroxidation* pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas dengan *poly unsaturated fatty acid* (PUFA). Peningkatan MDA menunjukkan meningkatnya radikal bebas dalam tubuh yang berpotensi besar terjadinya komplikasi baik mikrovaskuler maupun makrovaskuler. Malondialdehida (MDA) merupakan produk hasil peroksidasi lipid dalam tubuh dan terdapat dalam bentuk bebas atau terkompleks dengan jaringan di dalam tubuh. Reaksi ionisasi senyawa senyawa radikal bebas juga dapat membentuk MDA dan MDA juga merupakan produk samping biosintesis prostaglandin (Bird dan Drapper, 1984). Senyawa senyawa aldehida dan keton seperti hidroksialkenal dan tentunya MDA terbentuk dari adanya reaksi molekul lemak dengan asam lemak tak jenuh yang karbon metilennya telah teroksidasi, senyawa-senyawa ini bersifat toksik terhadap sel. Konsentrasi MDA dalam material biologi telah digunakan secara luas sebagai indikator dan kerusakan oksidatif pada lemak tak jenuh sekaligus merupakan indikator keberadaan radikal bebas. Rantai asam lemak tak jenuh jamak pada lapisan fosfolipid membran diserang oleh radikal hidroksil menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid (Zakaria, 1996).



Gambar 2.2 Mekanisme pembentukan MDA (Burcham, 1998 dalam Rahayu, 2015)

Proses peroksidasi dimulai dengan terbentuknya *carbon centered radical* pada lapisan fosfolipid dan selanjutnya bereaksi dengan oksigen membentuk radikal bebas baru yaitu radikal bebas peroksil. Radikal peroksil cukup reaktif untuk menyerang asam lemak di sekitarnya sehingga dapat terbentuk lipid hidroperoksida dan *carbon centered* radikal yang baru. Cukup dengan satu radikal hidroksil untuk merusak ratusan asam lemak tak jenuh jamak. Penimbunan hidroperoksida lipid pada membran akan menyebabkan gangguan pada fungsi sel dan sel menjadi runtuh. Hidroperoksida lipid kemudian dapat berubah menjadi senyawa toksik yaitu aldehid, MDA, dan hidroksi nonenal seperti pada Gambar 2.2 (Winarsi, 2010).

Kadar MDA dapat diukur pada organ, jaringan maupun urin (Zainuri dan Wanandi, 2012). Pengukuran kadar MDA dapat dilakukan melalui tes

thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS). Metode ini didasarkan pada reaksi yang terjadi antara *thiobarbiturat* dan MDA yang akan membentuk kompleks TBA-MDA yang berwarna merah mudapada kondisi asam. Pada metode ini juga terdapat penambahan reagen TCA yang berfungsi sebagai agen presipitasi yakni ion negatif dari TCA akan bergabung dengan protein sebagai kation (pH larutan dalam kondisi asam hingga pH isoelektrik protein) hingga membentuk garam protein. Beberapa garam yang dihasilkan tersebut tidak larut, dengan demikian protein akan terpisah dari larutan. Presipitasi protein dilakukan karena kandungan protein akan mengganggu penetapan kadar peroksida lipid. Pembentukan kompleks MDA-TBA yang berwarna merah muda akan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 532 nm. Jumlah MDA yang terdeteksi menggambarkan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi (Jovanovic *et al.*, 2012).

TBARS merupakan parameter yang digunakan untuk pengukuran besarnya kadar kerusakan lipid akibat adanya reaksi oksidasi. Metode ini merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk mengukur keberadaan radikal bebas dan peroksidasi lipid. Metode ini memiliki kepekaan yang cukup tinggi, mudah diaplikasikan untuk berbagai sampel pada berbagai tahap oksidasi lipid (Nawar, 1985).

2.6 Hewan Uji Mencit (*Mus musculus*)

Hewan uji yang digunakan didasarkan pada efek penyakit diabetes mellitus pada manusia. Hewan uji yang biasa digunakan yaitu mencit, tikus dan kelinci. Mencit jantan putih (*Mus musculus*) biasa digunakan sebagai hewan laboratorium

karena merupakan hewan yang jinak, lemah, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, sifat anatomis dan fisiologisnya terkarakteristik dengan baik, serta memiliki keselarasan pertumbuhan dengan kondisi manusia seperti pada Gambar 2.4. Selain itu, mencit sangat mudah menyesuaikan dengan perubahan yang dibuat manusia (Ningrum dan Abdulghani, 2014). Adapun klasifikasinya adalah sebagai berikut (Akbar, 2010):

Phylum	: Chordata
Sub phylum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Mus
Species	: <i>Mus musculus</i>

Menurut Priyambodo (2003) secara biologis memiliki ciri umum, yaitu berupa rambut berwarna putih atau keabu-abuan dengan warna perut sedikit lebih pucat. Mencit memiliki ketajaman dalam penglihatan. Selain itu hewan ini juga memiliki kebiasaan mengerat (ordo *rodentia*), dan merupakan famili *muridae*, dengan nama genus *Mus* serta memiliki nama spesies *Mus musculus*. Diantara spesies-spesies hewan lainnya, mencit merupakan hewan yang paling banyak digunakan untuk tujuan penelitian medis (60-80%) karena lebih murah dan mudah berkembang biak (Kusumawati, 2004). Berikut merupakan data biologi mencit pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5 Data biologi mencit

Kriteria	Jumlah
Berat badan (jantan)	20-40 gram
Lama hidup	1-3 tahun
Temperatur tubuh	36.5°C
Kebutuhan air	Ad libtum
Kebutuhan makan	4-5 gr/hari
Pubertas	28-49 hari
Glukosa	62,8-176 mg/dL
Kolesterol	26,0-82,4 mg/dL
SGOT	23,2-48,4 IU/I
SGPT	2,10-23,8 IU/I

Sumber: Kusumawati, 2004

Mencit dipilih sebagai subyek eksperimental sebagai bentuk relevansi pada manusia. Walaupun mencit mempunyai struktur fisik yang sangat berbeda dengan manusia, tetapi mencit adalah hewan mamalia yang mempunyai beberapa ciri fisiologi dan biokimia yang hampir menyerupai manusia terutama aspek dalam metabolisme glukosa melalui perantaraan hormon insulin. Selain itu, mencit memiliki jarak gestasi yang pendek untuk berkembang biak.



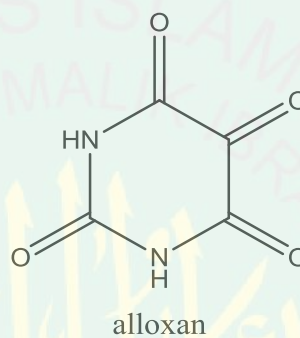
Gambar 2.3 Mencit Jantan Putih *Mus musculus*(Medero, 2008)

2.7Aloksan

2.7.1 Definisi dan Sifat Kimia

Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana. Nama aloksan diperoleh dari penggabungan kata *allantoin* dan

oksalurea (asam oksalurik). Nama lain dari aloksan adalah 2,4,5,6-tetraoxypyrimidin; 2,4,5,6-primidinetetron; 1,3-Diazinan-2,4,5,6-tetron (IUPAC) dan asam *Mesoxalylurea* 5-oxobarbiturat. Rumus kimia aloksan adalah $C_4H_2N_2O_4$. Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat. Aloksan adalah senyawa kimia tidak stabil dan merupakan senyawa hidrofilik. Waktu paruh aloksan pada pH 7,4 dan suhu $37^{\circ}C$ adalah 1,5 menit (Anindhita, 2009).

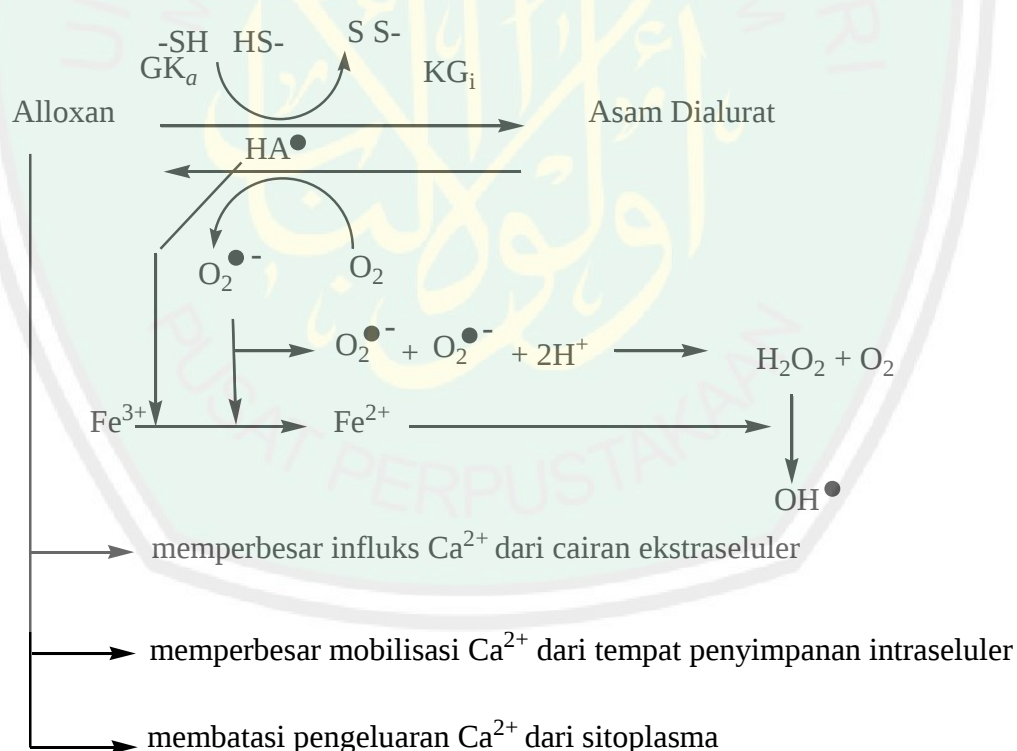


Gambar 2.4 Struktur Kimia Aloksan (Anindhita, 2009)

Aloksan merupakan senyawa yang biasa digunakan sebagai agen diabetes pada hewan percobaan. Pemberian aloksan merupakan cara untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada hewan percobaan. Pemberian aloksan adalah suatu cara yang cepat, aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal, intramuskular dan subkutan. Aloksan bereaksi dengan merusak substansi esensial di dalam sel beta pankreas sehingga menyebabkan berkurangnya granula-granula pembawa insulin di dalam sel beta pankreas. Hal ini mengakibatkan terganggunya metabolisme glukosa sehingga kadar glukosa darah akan meningkat (Nugroho, 2006).

2.7.2 Efek Aloksan terhadap Sel β Pankreas

Aloksan secara cepat dapat mencapai pankreas yang diawali oleh pengambilan yang cepat oleh sel β Langerhans. Pembentukan oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut (Gambar 2.5). Pembentukan oksigen reaktif diawali dengan proses reduksi aloksan dalam sel β Langerhans. Aloksan mempunyai aktivitas tinggi terhadap senyawa seluler yang mengandung gugus SH, *glutation* tereduksi (GSH), sistein dan senyawa sulfhidril terikat protein (misalnya SH-containing enzyme). Hasil dari proses reduksi aloksan adalah asam dialurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan, menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida (Szkudelski, 2001).



Gambar 2.5 Mekanisme Induksi Aloksan dalam Sel β Pankreas Tikus (Szkudelski, 2001)

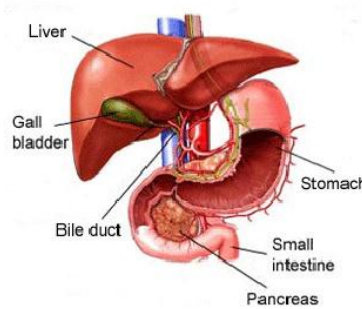
Reaksi antara aloksan dengan asam dialurat merupakan proses yang diperantarai oleh radikal aloksan intermediet ($HA \bullet$) dan pembentukan. Radikal superoksida dapat membebaskan ion ferri dari ferinitin serta mereduksi menjadi ion ferro. Selain itu, ion ferri juga dapat direduksi oleh radikal aloksan. Radikal superoksida mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida, berjalan spontan dan kemungkinan dikatalisis oleh *superoksida dismutase*. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas. Kerusakan DNA tersebut menstimulasi *poly ADP-ribosylation*. Adanya ion ferro dan hidrogen peroksida membentuk radikalhidroksi yang sangat reaktif melalui reaksi fenton (Szkudelski, 2001).

Faktor lain selain pembentukan oksigen reaktif adalah gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler. Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel β Langerhans pankreas. Efek tersebut diikuti oleh beberapa kejadian influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, dan eliminasinya yang terbatas dari sitoplasma. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain kedua faktor tersebut di atas, aloksan juga diduga berperan dalam penghambatan glukokinase dalam proses metabolisme energi (Suharmiati, 2003 dalam Akrom, 2014). Kerusakan sel β pankreas akan menyebabkan insulin tidak terbentuk, sehingga kadar glukosa darah akan meningkat (Yuriska, 2009).

2.8 Hati

Hati adalah kelenjar terbesar yang ada di dalam tubuh manusia, yang terletak di bagian atas dalam rongga abdomen sebelah kanan di bagian diafragma. Hati dilindungi oleh kerangka iga. Hati terbagi menjadi dua belahan utama, yaitu bagian kanan dan kiri (Pearce, 2016). Pada kondisi hidup, hati berwarna tua, karena merupakan tempat persediaan darah terbesar dan kaya akan nutrisi dari vena portal dan vena hepatika (Syaifuddin, 2009). Hati normal memiliki struktur kenyal dan permukaan licin (Candrasoma, 2005). Hati memiliki berat 1000-1500 gram, kurang lebih 25% dari berat badan orang dewasa serta merupakan pusat metabolisme tubuh yang memiliki fungsi sangat kompleks. Hati dibagi menjadi empat lobus. Setiap lobus terbungkus oleh lapisan tipis jaringan ikat yang membentang ke dalam lobus itu sendiri dan membagi menjadi unit-unit yang lebih kecil yang disebut lobulus. Lobus hati terbentuk dari sel parenkimal dan non-parenkimal (Wahyuningsih dan Kusmiyati, 2017).

Fungsi hati bersangkutan dengan metabolisme tubuh, yaitu metabolisme karbohidrat, lemak, protein, vitamin serta produksi energi. Hati juga merupakan tempat pengaturan glukosa dalam darah, pembentukan asam lemak dan lipid serta fosfolipid. Metabolisme protein serta pembentukan albumin dan globulin juga terjadi di hati (Syaifuddin, 2009).



Gambar 2.6 Anatomi dan Fisiologi Hati (Wahyuningsih dan Kusmiyati, 2017)

2.9 Radikal Bebas

Radikal bebas atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) merupakan senyawa kimia baik berupa atom ataupun molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya. Senyawa ini memiliki satu atau lebih elektron bebas. Elektron yang tidak memiliki pasangan akan cenderung menarik elektron lain, sehingga elektron tersebut akan dimiliki bersama oleh dua atom senyawa dan terbentuk senyawa radikal bebas yang baru dan lebih reaktif. Elektron dalam jumlah banyak tersebut mampu menyebabkan adanya stress oksidatif (Latifa, 2015). Stress oksidatif terjadi akibat adanya ketidakseimbangan antara antioksidan dan radikal bebas yang ada di dalam tubuh, sehingga akan menyebabkan kerusakan pada organ, jaringan ataupun pembuluh darah. Radikal menyebabkan gangguan metabolit dan gangguan sel berupa gangguan fungsi DNA dan protein, sehingga menyebabkan mutasi atau sitotoksik dan perubahan laju aktivitas enzim (Kinanti, 2011).

Radikal bebas tersebut memiliki 2 sifat, yaitu :

1. Sangat reaktif karena akan cenderung menarik elektron dari senyawa yang lain.

2. Memiliki kemampuan untuk merubah suatu senyawa kimia baik atom ataupun molekul menjadi senyawa radikal bebas yang baru (Morello, Shahidi, Ho, 2002).

Target utama radikal bebas yaitu protein, asam lemak tak jenuh, karbohidrat dan lipoprotein serta unsur-unsur dalam DNA. Molekul target yang paling rentan terhadap serangan radikal bebas adalah asam lemak tak jenuh. Sehingga radikal bebas akan mampu merusak asam lemak tak jenuh pada membran sel yang menyebabkan terjadinya reaksi antar radikal bebas dengan *poly unsaturated fatty acid* (PUFA) yang akan terbentuk terbentuk dari *lipid peroxidation*. *Lipid peroxidation* akan membentuk metabolit hasil peroksidasi lipid oleh radikal bebas yang biasa disebut MDA (*Malondialdehyde*) (Sadeli, 2016).

2.10 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan. Senyawa antioksidan mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan berfungsi mencegah tumbuhnya radikal bebas di dalam tubuh, dengan cara menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas sehingga radikal bebas yang semula sangat reaktif menjadi stabil (Hamid *et al.*, 2010). Berdasarkan bentuknya antioksidan dibagi menjadi dua, yaitu antioksidan sintesis dan antioksidan alami. Antioksidan sintesis terbentuk dari reaksi kimia dan diproduksi untuk tujuan komersil seperti BHA (*butylated hydroxy anisole*) dan BHT (*butylated hydroxy toluene*) (Juncan dan Hodisan, 2011). Antioksidan alami banyak terdapat pada tanaman yang terkandung pada daun, batang, akar, biji, dan buah. Senyawa yang sering

ditemukan adalah fenol, karotenoid, tokoferol, flavonoid dan asam askorbat (Cahyadi, 2006).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi antioksidan endogen, yaitu enzim-enzim yang bersifat antioksidan, seperti: *Superoksida Dismutase* (SOD), katalase (Cat), dan *glutathione peroksidase* (Gpx), serta antioksidan eksogen, yaitu antioksidan yang didapat dari luar tubuh atau makanan. Berbagai bahan alam banyak mengandung antioksidan dengan senyawa aktifnya, antara lain vitamin C, vitamin E, pro vitamin A, organosulfur, *α -tocopherol*, flavonoid, *thymoquinone*, *statin*, *niasin*, *phycocyanin*, dan lain-lain. Berbagai bahan alam, baik yang sudah lama digunakan sebagai makanan sehari-hari atau baru dikembangkan sebagai suplemen makanan, mengandung berbagai antioksidan tersebut. Antioksidan diperlukan untuk mencegah stres oksidatif. Antioksidan bersifat sangat mudah dioksidasi, sehingga radikal bebas akan mengoksidasi antioksidan dan melindungi molekul lain dalam sel dari kerusakan akibat oksidasi oleh radikal bebas atau oksigen reaktif (Dimitros, 2006).

2.11 Glukometer-test

Pengukuran kadar glukosa darah menggunakan alat glukometer dengan metode enzimatik. Metode ini menggunakan enzim-enzim yang bekerja secara spesifik pada glukosa, dimana strip uji mengandung enzim glukosa oksidase yang akan bereaksi dengan glukosa dalam darah. Glukosa akan dioksidasi dengan adanya enzim glukosa oksidase membentuk suatu asam glukonat dan peroksida. Peroksida yang terbentuk bereaksi dengan *ferricyanide* dalam

darah untuk membentuk *ferrocyanide*. Kemudian *ferrocyanide* yang terbentuk selanjutnya dioksidasi oleh elektroda pada glukometer dan menghasilkan arus yang berbanding lurus dengan kadar glukosa dalam darah. Semakin banyak glukosa dalam darah yang teroksidasi maka semakin banyak elektron yang dihasilkan maka nilai yang terbaca di alat akan semakin tinggi atau besar (Aji, 2014).

2.12 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur energi secara relatif jika energi tersebut ditransmisikan, direfleksikan atau diemisikan sebagai fungsi dari panjang gelombang tertentu. Sinar ultraviolet (UV) mempunyai panjang gelombang antara 200-400 nm, dan sinar tampak (visible) mempunyai panjang gelombang 400-750 nm (Day, 1986).

Prinsip kerja alat ini yaitu cahaya yang berasal dari lampu deuterium maupun wolfram yang bersifat polikromatis di teruskan melalui lensa menuju ke monokromator pada spektrofotometer dan filter cahaya pada fotometer. Monokromator kemudian akan mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis (tunggal). Berkas-berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian akan dilewatkan pada sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu. Oleh karena itu, terdapat cahaya yang diserap (diabsorpsi) dan ada pula yang dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan ini kemudian di terima oleh detektor. Detektor kemudian akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. Cahaya yang diserap sebanding

dengankonsentrasi zat yang terkandung dalam sampel sehingga akan diketahui konsentrasi zat dalam sampel secara kuantitatif (Dachriyanus, 2004).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2018 – Agustus 2018 di Laboratorium Bioteknologi, Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, Laboratorium Fisiologi Hewan dan Laboratorium Kandang Hewan Coba Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam ekstraksi etanol 96% bekatul adalah Erlenmeyer 250 mL, *shaker incubator*, *vaccum rotary evaporator*, *vaccum Buchner*, alat-alat gelas (Pyrex), timbangan analitik dan cawan porselen. Alat yang digunakan untuk uji *in vivo* antara lain, jarum suntik (*syringe*), jarum sonde (*force feeding needle*), kandang mencit, jarum, pinset, gunting dan sarung tangan. Alat untuk uji glukosa darah yaitu gunting, *Glucometer GllucoDrTM* dan glukosa strip. Alat yang digunakan dalam uji penentuan kadar MDA antara lain sentrifuge, vortex, inkubator, micro alu, *eppendoft* 1500 μ L, micro pipet, cuvet dan spektrofotometer UV-Vis.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan sebagai sampel yaitu bekatul beras putih. Bahan untuk ekstraksi yaitu etanol 96% dan untuk uji *in vivo* adalah mencit *Mus*

musculus jantan putih umur 2-3 bulan dengan berat $\pm$ 20 g yang diperoleh dari peternak mencit di Laboratorium Biologi UIN Malang, pakan dan air minum mencit, aloksan (*alloxan monohydrate*), NaCl 0.9%, alkohol dan *gluko strip DR*. Bahan untuk penentuan kadar MDA yaitu standar MDA dengan konsentrasi 16,125; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ng/mL, akuabides, TCA 5%, TBA 1% dan HCl 1N.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari satu faktor, yaitu hubungan antara ekstrak etanol bekatul yang diterapkan pada mencit putih (*Mus musculus*) jantan terhadap kadar glukosa darah dan kadar MDA. Pembuatan ekstrak etanol 96% bekatul menggunakan metode maserasi (Puspitasari, 2010). Parameter yang digunakan yaitu kadar glukosa darah sewaktu dan kadar MDA pada organ hati mencit.

Penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental dengan metode *pre and post test control group design* menggunakan 4 ulangan dengan skala percobaan $4 \times 5 = 20$. Pemilihan variasi dosis dikembangkan dari penelitian sebelumnya (Dwinani, 2014) dengan melakukan peningkatan dosis sesuai Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Rancangan Variasi Dosis pada Perlakuan Eksperimen

Kode	Jumlah mencit	Perlakuan	Dosis Ekstrak Etanol Bekatul
KN	4 ekor	Kelompok kontrol negatif tanpa perlakuan yakni hanya diberi makan dan minum	-
KP	4 ekor	Kelompok kontrol positif yaitu yang diinduksi aloksan dengan pelarut NaCl 0,9 % (0,2 mL/20 g BB) tanpa diterapi	-
KT ₁	4 ekor	Kelompok mencit diabetes mellitus yang diterapi ekstrak etanol 96% bekatul	350 mg/Kg BB
KT ₂	4ekor	Kelompok mencit diabetes mellitus yang diterapi ekstrak etanol 96% bekatul	400 mg/Kg BB
KT ₃	4 ekor	Kelompok mencit diabetes mellitus yang diterapi ekstrak etanol 96% bekatul	500 mg/Kg BB

Uji kadar glukosa darah diambil melalui vena ekor, pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke-0, ke-1, ke-4, ke-8 dan ke-15. Pengukuran hari ke-0 dilakukan sebelum mencit diinduksi agen diabetes. Mencit positif diabetes (ditandai dengan kadar glukosa darah >200 mg/dL). Sebelum dilakukan terapi dengan ekstrak etanol 96% bekatul, diukur kadar glukosa darah sebagai kadar glukosa darah hari ke-1. Selanjutnya pada hari ke-15 dilakukan pembedahan organ hati untuk pengukuran kadar MDA. Selanjutnya data yang diperoleh diolah menggunakan uji *One Way ANOVA* untuk mengetahui pengaruh perlakuan perbedaan rata-rata kadar glukosa darah dan kadar MDA antar kelompok dengan $\alpha=0.05$.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut :

1. Preparasi Sampel
2. Analisis Kadar Air
3. Ekstraksi Bekatul
4. Uji Aktivitas Antioksidan
5. Perlakuan Hewan Coba
6. Pembuatan Mencit Diabetes
7. Uji *in vivo* dengan Ekstrak Etanol Bekatul
8. Pengukuran Kadar Glukosa Darah
9. Pembuatan Larutan CMC-Na 0,5%
10. Uji Kadar MDA (*Malondialdehyde*) Pada Hati Mencit
 - 10.1 Pengambilan Organ Hati
 - 10.2 Pembuatan Kurva Standar MDA
11. Analisis Kadar MDA Menggunakan Uji *Thiobarbituric Acid* (TBA)
12. Analisis Data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel bekatul dikeringkan pada suhu 102 °C. Selanjutnya diayak dengan ukuran sekitar 40 mesh. Bekatul hasil ayakan yang berukuran sekitar 40 mesh merupakan sampel yang digunakan untuk penelitian.

3.5.2 Analisis Kadar Air Metode Oven (AOAC, 1995)

Kadar air diukur menggunakan metode pengovenan karena kandungan bahan volatil pada sampel cukup rendah dan sampel tidak terdegradasi pada suhu 100°C. Cawan kosong dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C selama 15 menit kemudian didinginkan dalam desikator selama 5 menit atau sampai tidak panas lagi. Cawan ditimbang dan dicatat beratnya. Lalu ditimbang sampel sebanyak 5 gram di dalam cawan tersebut. Dikeringkan sampel dalam oven sampai beratnya konstan (perubahan berat tidak lebih dari 0.003 gram). Setelah itu didinginkan cawan yang berisi sampel kering di dalam desikator. Ditimbang berat akhirnya. Dihitung kadar air dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Kadar air} = \frac{(x-y)}{(x-a)} \times 100 \% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan: x = berat cawan dan sampel sebelum dikeringkan (g)

y = berat cawan dan sampel setelah dikeringkan (g)

a = berat cawan kosong (g)

3.5.3 Ekstraksi Bekatul (Puspitasari, 2010)

Proses pada ekstraksi bekatul yaitu ditimbang 40 gram bekatul, kemudian direndam dalam 240 mL etanol 96% selama 24 jam dan ditutup rapat. Pada saat proses perendaman dilakukan dengan pengocokan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm. Hasil rendaman yang diperoleh disaring menggunakan *vaccum Buchner*. Filtrat yang terbentuk disimpan dan ampasnya dimaserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 2 kali. Semua filtrat yang terkumpul diuapkan menggunakan *vaccum rotary evaporator* pada suhu 60 °C sehingga akan diperoleh ekstrak kental etanol bekatul.

3.5.4 Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit jantan putih umur 2-3 bulan dengan berat ± 20 gram. Kondisi mencit dalam keadaan sehat ditandai dengan gerakan yang aktif. Sebelum perlakuan, mencit diaklimatisasi terlebih dahulu di laboratorium selama satu minggu di dalam kandang yang diberi alas serbuk kayu dan kawat besi sebagai penutupnya. Serbuk kayu diganti setiap 2 hari sekali dan pemberian makan serta minum dilakukan setiap hari.

3.5.5 Perlakuan Hewan Coba (Felicia, 2009)

Penelitian ini dilakukan dengan 5 kelompok perlakuan. Jumlah sampel yang diperlukan adalah 4 sediaan mencit untuk setiap kelompok perlakuan dihitung dengan rumus Federer:

Rumus Federer: $(n-1)(t-1) \geq 15$,

dengan $t = \text{Jumlah kelompok} = 5$

$n = \text{Jumlah pengulangan tiap sampel}$

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

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

$$4n - 4 \geq 15 \text{ maka, } n \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan diatas, jumlah sampel minimal yang dibutuhkan adalah 4 sediaan mencit. Sehingga jumlah seluruh sampel yang digunakan adalah 20 ekor mencit. Semua mencit dipelihara dalam *animal house* Laboratorium Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.5.6 Pembuatan Larutan Aloksan (Ratimanjari, 2011)

Aloksan sebanyak 112 mg dilarutkan pada NaCl 0,9% sampai volumenya 5 mL, selanjutnya divortex hingga homogen. Volume yang diambil disesuaikan dengan berat badan mencit (0,2 mL/20 gram BB) dengan dosis 200 mg/Kg BB mencit. Pengujian kadar glukosa darah dilakukan dengan rentang waktu 3 hari setelah injeksi aloksan.

3.5.7 Pembuatan Mencit Diabetes (Ratimanjari, 2011)

Kadar glukosa awal diukur menggunakan glukometer, disemprotkan alkohol 70% pada bagian abdomen mencit. Kadar normal glukosa darah antara 50-135 mg/dL (Johnson Delaney, 1996). Selanjutnya dicubit hingga terasa bagian ototnya, kemudian diinjeksikan aloksan dengan dosis 200 mg/Kg BB. Diinkubasi selama 3 hari. Kemudian mencit diabetes mellitus dipantau kadar glukosanya selama 5 hari menggunakan *glucometer*.

3.5.8 Uji *in vivo* dengan Terapi Ekstrak Etanol Bekatul

Mencit jantan sebanyak 20 ekor dibagi menjadi 5 kelompok. Pertama mencit normal atau kontrol negatif tanpa adanya induksi aloksan, mencit yang kedua sebagai positif diabetes tanpa adanya terapi atau kontrol positif. Selanjutnya terapi mencit positif diabetes mellitus dengan ekstrak etanol 96% bekatul dengan dosis 350 mg/Kg BB, 400 mg/Kg BB dan 500 mg/Kg, dengan cara ditimbang ekstrak etanol 96% bekatul sesuai dosis, kemudian dilarutkan dalam larutan CMC-Na 0,5%. Setelah itu, diambil 0,5 mL dan dimasukkan ke dalam mencit

secara oral (sonde). Kemudian dilakukan terapi setiap hari selama 14 hari berturut-turut.

3.5.9 Pengukuran Kadar Glukosa Darah (Nahari, 2015)

Pengukuran kadar glukosa darah menggunakan *glucometer* dilakukan sebelum injeksi aloksan sebagai kadar glukosa awal (H_0) dan pada hari keempat setelah injeksi aloksan sebagai data glukosa darah (H_1) untuk memastikan bahwa mencit telah mengalami diabetes mellitus. Cara pengukuran kadar glukosa darah mencit yaitu mencit diletakkan pada sungkup sehingga tidak dapat bergerak. Bagian dari ujung ekor mencit dipegang dan dibersihkan dengan kapas beralkohol 70%. Kemudian ujung ekor diurut dan dipotong menggunakan gunting. Darah diambil dan diteteskan pada *strip glukotest*. Hasil pengukuran kadar glukosa darah yang terbaca pada *glucometer* dan dicatat sebagai data.

3.5.10 Pembuatan Larutan CMC-Na 0,5%

Serbuk CMC-Na ditimbang sebanyak 0,5 g dengan neraca analitik, dimasukkan dalam beaker glass 50 mL dan dilarutkan dengan akuades hangat ± 25 mL (dilakukan pengadukan dengan spatula sampai larut sempurna). Setelah larut seluruhnya, dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL dan ditanda bataskan sampai volume 50 mL dengan akuades. Sehingga didapatkan larutan CMC-Na 0,5% sebanyak 50 mL.

3.5.11 Uji Kadar MDA (*Malondialdehyde*) Pada Hati Mencit

3.5.11.1 Pengambilan Organ Hati (Risdiana, 2016)

Mencit dikorbankan terlebih dahulu dengan cara dislokasi leher, yaitu dengan menggunakan benda tumpul yang ditekankan tepat dibelakang tulang tengkorak mencit, selanjutnya badan mencit diangkat ke atas hingga memutus saluran pernafasannya sehingga mati. Setelah mati, mencit diletakkan pada papan fiksasi dan ditata pada posisi ventral diatas. Hati diambil dan dicuci dengan air kemudian disimpan dalam wadah tertutup pada suhu dibawah -70°C (diletakkan dalam *freezer* untuk analisis selanjutnya).

3.5.11.2 Pembuatan Kurva Standar MDA (Risdiana, 2016)

Larutan standar MDA dengan konsentrasi 16,125; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ng/mL diambil masing-masing 100 μL , dimasukkan dalam tabung mikrotube yang berbeda. Kemudian ditambahkan 550 μL akuades, 100 μL TCA 5%, 250 μL HCl 1 N dan 100 μL TBA 1 % pada masing-masing mikrotube. Larutan campuran tersebut dihomogenkan dengan vortex. Mikrotube diinkubasi dalam penangas air pada posisi mengapung dengan suhu 95°C selama 15 menit. Masing-masing mikrotube disentrifuge dengan kecepatan 800 rpm selama 10 menit. Larutan standar didinginkan pada suhu ruang. Selanjutnya MDA dengan konsentrasi 125 ng/mL diukur absorbansinya pada range panjang gelombang 500-570 nm untuk menentukan panjang gelombang optimum MDA. Hasil panjang gelombang tersebut, dapat dibuat kurva standar MDA dan didapatkan nilai absorbansi. Selanjutnya dibuat persamaan regresi linear.

3.5.12 Analisis Kadar MDA Menggunakan Uji *Thiobarbituric Acid* (TBA)

(Zainuri dan Wanandi, 2012)

Hati ditimbang sebanyak 100 mg kemudian digerus dalam *eppendoft* 1500 μL menggunakan micro alu. Selanjutnya ditambahkan akuades sebanyak 500 μL dan divortex hingga homogen. Homogenat disentrifuge selama 10 menit hingga terbentuk lapisan endapan. Selanjutnya lapisan cairan pada bagian atas diambil sebanyak 100 μL dan dimasukkan kedalam *eppendoft* 2000 μL . Kemudian ditambahkan 550 $\mu\text{g/mL}$ akuades, 100 μL TCA 5%, 250 μL HCl 1 N dan 100 μL TBA 1 %. Campuran tersebut selanjutnya dihomogenkan dengan vortex dan diinkubasi dengan suhu 95 °C selama 15 menit hingga terbentuk warna. Masing-masing mirotube disentrifugasi dengan kecepatan 800 rpm selama 10 menit hingga terpisah antara endapan dan supernatannya, selanjutnya didinginkan dalam suhu ruang. Kemudian sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (532 nm) menggunakan spektrofotometri UV-Visible dan diplotkan pada kurva standar yang telah dibuat untuk menghitung konsentrasi sampel.

3.5.13 Analisis Data

Data hasil pengamatan berupa kadar glukosa darah mencit dan kadar MDA dianalisis menggunakan uji statistik *Analysis of Variance* (ANOVA) untuk mengetahui pengaruh terapi ekstrak etanol bekatul terhadap kadar glukosa darah dan kadar MDA hati mencit. Progam yang digunakan yaitu SPSS for *Windows Release* 16.0 dengan tingkat signifikansi $\alpha < 0,05$. Apabila hasil ANOVA terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan uji lanjut dengan $\alpha = 0,05$. Jenis uji lanjut yang digunakan bergantung pada nilai koefisien keragaman (KK). Hanafiah

(2010) menjelaskan bahwa apabila nilai KK besar (10% untuk data homogen dan 20% data heterogen), menggunakan uji lanjut. Apabila nilai KK sedang (5-10% untuk data homogen dan 10-20% untuk data heterogen), maka menggunakan uji lanjut Beda Nyata Terkecil (BNT). Nilai KK kecil (maksimal 5% untuk data homogen dan maksimal 10% untuk data heterogen), maka dilakukan uji lanjut menggunakan Beda Nyata Jujur (BNJ).



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dengan judul “Pengaruh Terapi Ekstrak Etanol 96% Bekatul (*Rice bran*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Dan MDA (*Malondialdehyde*) Pada Hati Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Mellitus” ini dilakukan pada bulan Maret - Agustus 2018 di Laboratorium Bioteknologi, Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia dan Laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Tahapan pada penelitian ini meliputi preparasi sampel bekatul kemudian dilanjutkan perhitungan kadar air, ekstraksi bekatul menggunakan pelarut etanol 96%, selanjutnya dilakukan uji antidiabetes yang meliputi penyiapan dan pengkondisian hewan coba, perlakuan hewan coba, pembuatan mencit diabetes dengan aloksan, dilanjutkan uji *in vivo* dengan ekstrak etanol 96% bekatul serta pengukuran kadar glukosa darah mencit. Selanjutnya dilakukan pembedahan dan pengambilan organ hati mencit. Setelah itu, dilakukan pengukuran kadar malondialdehid dan analisis data.

4.1 Preparasi Sampel

Sampel bekatul beras putih (*Rice bran*) lokal diperoleh dari Kabupaten Gresik. Sampel bekatul masih segar karena merupakan hasil gilingan padi yang baru dipanen. Preparasi sampel dimulai dengan sampel bekatul dikeringkan pada suhu 102 °C. Proses pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kandungan air di dalam bekatul. Selain itu, dengan adanya pengeringan dapat mengurangi aktivitas mikroba yang ada di dalam bekatul serta meminimalkan adanya perubahan fisik

dan kimia (Lamhot, 2012). Selanjutnya diayak dengan ukuran sekitar ≥ 40 mesh. Menurut Wuryani (2005), ukuran pori jenis bekatul untuk proses ekstraksi maserasi adalah 40 mesh. Hal ini berfungsi untuk memperluas luas permukaan sehingga dapat memaksimalkan interaksi antara sampel dengan pelarut serta dapat meningkatkan kelarutan senyawa-senyawa aktif yang terdapat dalam sampel.

4.2 Analisis Kadar Air

Kadar air merupakan presentasi atau jumlah kandungan air yang terdapat dalam suatu bahan dan dapat dinyatakan berdasarkan berat basah atau berdasarkan berat kering. Penentuan kadar air berfungsi untuk mengetahui ketahanan suatu bahan dalam penyimpanannya serta merupakan cara penanganan yang terbaik bagi suatu bahan untuk menghindari pengaruh aktivitas mikroba serta perubahan sifat fisik maupun sifat kimia bahan (Mokoginta, 2013). Prinsip pengukuran kadar air yaitu dengan penguapan air yang terkandung dalam sampel dengan pemanasan menggunakan oven pada suhu 100-105 °C yang dilakukan secara berulang sampai diperoleh berat konstan. Pemanasan dipilih pada rentang suhu 100-105 °C, hal ini bertujuan agar air dapat menguap dan kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam suatu bahan tidak mengalami kerusakan.

Pada penelitian ini, berdasarkan hasil perhitungan pada (Lampiran 4) diperoleh kadar air bekatul kering sebesar 1,211%. Hal ini telah memenuhi standar Farmakope Herbal Indonesia (Depkes, 2008), bahwa kadar air yang baik untuk bahan pangan tidak lebih dari 10%. Kadar air merupakan salah satu parameter yang dapat menentukan daya tahan produk dan aktivitas mikroorganisme selama penyimpanan. Sehingga suatu bahan yang memiliki kadar

air terlalu tinggi akan lebih mudah rusak karena sampel dapat menjadi media yang kondusif bagi pertumbuhan mikroorganisme, sedangkan bahan dengan kadar air yang relatif rendah akan lebih stabil dalam penyimpanan (Pardede, *et al.*, 2013).

4.3 Ekstraksi Bekatul

Ekstraksi merupakan pemisahan zat ataupun senyawa aktif dari suatu bahan tertentu dengan menggunakan pelarut yang selektif. Pada penelitian ini, memisahkan senyawa aktif yang terkandung di dalam bekatul menggunakan pelarut etanol 96%. Metode yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah metode maserasi. Maserasi merupakan suatu teknik pemisahan dengan adanya perendaman suatu sampel menggunakan pelarut organik pada suhu kamar dengan beberapa kali pengocokan. Metode maserasi merupakan metode yang sangat mudah, aman untuk sampel bahan alam serta dengan biaya yang murah. Pada saat proses perendaman, sampel bekatul akan mengalami pemecahan dinding sel atau membran sel. Hal ini dikarenakan karena adanya perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel. Sehingga senyawa aktif yang terdapat di dalam bekatul akan terlarut ke dalam pelarut organik (Lenny, 2006 dalam Veronita, 2017).

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol 96%. Etanol merupakan pelarut organik yang mampu melarutkan semua senyawa aktif yang terkandung di dalam bekatul, baik yang bersifat polar, non polar maupun semi polar (Arifin *et al.*, 2006). Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan Kholifah (2014), etanol 96% mampu memisahkan senyawa-senyawa fitokimia seperti flavonoid, saponin, polifenol dan tanin yang terdapat di dalam bekatul beras putih. Penggunaan konsentrasi pelarut etanol 96% dikarenakan mampu

memberikan hasil rendemen yang lebih besar. Hasil penelitian Widarta (2013), membuktikan bahwa ekstraksi senyawa aktif pada bekatul beras merah menggunakan etanol 96% mampu menghasilkan aktivitas antioksidan dan senyawa fenolik yang tinggi.

Proses maserasi dilakukan dengan pengocokan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm untuk memaksimalkan proses kelarutan. Menurut Cannel (1998), pengadukan pada proses maserasi ditujukan untuk meningkatkan efisiensi supaya kejenuhan pelarut terjadi lebih cepat dan ekstrak yang diperoleh lebih homogen. Hasil maserasi selanjutnya dipisahkan menggunakan *vaccum Buchner* dan residu yang diperoleh dimaserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 2 kali. Hal ini dilakukan untuk memaksimalkan proses ekstraksi senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalam bekatul dan belum terlarut ke dalam pelarut etanol. Selanjutnya, filtrat diuapkan menggunakan *vaccum rotary evaporator* pada suhu 60 °C yaitu dibawah titik didih etanol. Hal ini dikarenakan apabila suhu terlalu tinggi akan menguapkan senyawa-senyawa aktif yang ada di dalam bekatul. Penguapan dilakukan sampai tidak ada lagi pelarut yang menetes ke *receiving part*, yang menandakan bahwa sudah tidak ada pelarut dalam ekstrak pekat bekatul (Wulandari, 2016). Sehingga didapatkan ekstrak pekat bekatul dengan rendemen sebesar 14,654%.



Gambar 4.1 Ekstrak Etanol 96% Pekat dari Bekatul

4.4 Kadar Glukosa Darah Mencit Diabetes Mellitus

Penelitian ini menggunakan uji *in vivo*, menggunakan hewan uji mencit jantan putih *Mus musculus* yang berumur 2-3 bulan dengan berat ± 20 gram. Hewan uji ini digunakan berdasarkan efek penyakit *Diabetes mellitus* pada manusia (Pramono, 1998). Sebelum perlakuan, mencit diaklimatisasi terlebih dahulu selama satu minggu. Hal ini bertujuan agar mencit bisa beradaptasi dengan lingkungan barunya. Hewan coba mencit yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 20, dengan 5 kelompok. Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok normal, kelompok positif diabetes dan kelompok terapi ekstrak etanol 96% bekatul dengan dosis 350; 400; dan 500 mg/Kg BB.

Pengkondisian mencit diabetes mellitus dilakukan dengan induksi agen diabetogenik aloksan yang bersifat toksik, dan apabila diberikan pada hewan coba seperti mencit maka dapat menyebabkan hewan tersebut menjadi diabetes mellitus. Dosis aloksan yang digunakan adalah 200 mg/kg BB, mengacu pada penelitian Arifin, dkk (2007) bahwa dengan dosis aloksan tersebut mampu membuat mencit mengalami diabetes mellitus tanpa menyebabkan kematian. Sebelum diinduksi aloksan, mencit dipuasakan terlebih dahulu. Hal ini

dikarenakan dalam keadaan puasa lebih rentan mengalami diabetes dibandingkan dengan keadaan tidak puasa (Soltesova, 2011).

Pengukuran kadar glukosa darah (pada hari ke- 0) untuk memastikan bahwa mencit dalam keadaan normal dilakukan sebelum induksi aloksan. Induksi aloksan dilakukan dengan cara intraperitoneal, yang mana menginjeksikan aloksan pada abdomen (perut) hewan coba. Sebelum dilakukan injeksi, abdomen hewan coba diolesi dengan alkohol 70% terlebih dahulu. Hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya infeksi.

Proses induksi dilakukan sebanyak tiga kali, karena masih terdapat mencit yang kadar glukosa darahnya <200 mg/dL. Kadar glukosa darah tiap mencit berbeda-beda, hal ini dikarenakan setiap mencit memiliki daya tahan tubuh yang berbeda. Sehingga terdapat mencit yang belum mengalami diabetes hanya dengan sekali induksi. Setelah diinduksi aloksan, mencit diinkubasi selama 3 hari karena dikhawatirkan kadar glukosa darah masih belum stabil. Mencit kemudian diukur kadar glukosa darah untuk memastikan bahwa mencit telah mengalami diabetes mellitus (kadar glukosa darah >200 mg/dL). Pengukuran kadar glukosa darah setelah induksi aloksan yang mengindikasikan bahwa mencit dalam keadaan hiperglikemia sebagai H-1. Setelah mencit mengalami diabetes, dilakukan terapi dengan ekstrak etanol 96% bekatul selama 14 hari. Selama terapi 14 hari dilakukan pengukuran kadar glukosa darah pada H-4 atau setelah diterapi selama 3 hari, setelah diterapi selama 7 hari atau H-8 dan H-15 setelah 14 hari terapi sebagai kontrol untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol 96% bekatul terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes mellitus.

Terapi ekstrak etanol 96% bekatul dilakukan secara oral dengan metode sonde, yaitu ekstrak dimasukkan ke dalam jarum suntik yang dilengkapi jarum yang berujung tumpul dan berbentuk bola. Kadar glukosa darah setiap kelompok perlakuan ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Data Rata-rata Kadar Glukosa Darah Mencit (mg/dL)

Kelompok	Ulangan	H ₀	H ₁	H ₄	H ₈	H ₁₅	H ₁₋₁₅	Persentase Penurunan (%)
KN	1	105	103	98	101	100	3	-
	2	117	120	114	110	108	12	-
	3	83	79	82	79	74	5	-
	4	64	64	70	62	56	8	-
KP	1	72	600	409	593	470	130	-
	2	40	409	136	123	111	298	-
	3	56	600	600	600	261	339	-
	4	68	570	222	257	272	298	-
KT ₁	1	52	581	600	600	476	105	20,43
	2	67	247	452	512	424	-177	-98,36
	3	87	264	173	136	221	43	21,83
	4	96	597	401	502	320	277	52,27
KT ₂	1	82	210	162	138	141	69	48,27
	2	101	600	600	600	192	408	76,56
	3	125	600	600	600	217	383	71,86
	4	74	394	370	193	161	233	71,26
KT ₃	1	70	317	581	600	120	197	78,83
	2	115	528	455	402	418	110	23,86
	3	66	395	600	129	377	18	5,48
	4	67	284	235	104	152	132	60,85

Keterangan:

KN : Kelompok kontrol normal tanpa perlakuan (hanya diberi makan dan minum)

KP : Kelompok kontrol positif diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB tanpa diterapi)

- KT₁ : Kelompok diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB) + terapi ekstrak etanol 96% bekatul dosis 350 mg/20 Kg BB
 KT₂ : Kelompok diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB) + terapi ekstrak etanol 96% bekatul dosis 400 mg/Kg BB
 KT₃ : Kelompok diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB) + terapi ekstrak etanol 96% bekatul dosis 500 mg/Kg BB
 H₀ : KGD sewaktu awal sebelum diinduksi aloksan 200 mg/kg BB
 H₁ : KGD sewaktu setelah diinduksi aloksan 200 mg/kg BB (hewan coba telah positif diabetes mellitus dengan KGD > 200 mg/dL)
 H₄ : KGD sewaktu setelah diterapi dengan ekstrak etanol 96% bekatul selama 3 hari
 H₈ : KGD sewaktu setelah diterapi dengan ekstrak etanol 96% bekatul selama 7 hari
 H₁₅ : KGD sewaktu setelah diterapi dengan ekstrak etanol 96% bekatul selama 14 hari

Berdasarkan pada Tabel 4.1 menunjukkan hasil pengukuran kadar glukosa darah rata-rata sebelum induksi aloksan (H₀) di bawah 200 mg/dL, yang berarti bahwa mencit dalam keadaan normal. Pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke-1 (H₁) menunjukkan bahwa terdapat peningkatan kadar glukosa darah >200 mg/dL yang berarti bahwa mencit dalam keadaan hiperglikemia. Hal ini disebabkan karena adanya pengaruh aloksan yang mampu bereaksi dengan merusak substansi esensial pada sel β pankreas. Kerusakan sel β pankreas akan menyebabkan produksi insulin yang ada di dalam tubuh terganggu, sehingga akan menurunkan sekresi insulin. Berkurangnya sekresi insulin yang ada dalam tubuh, menyebabkan glukosa darah tidak dapat masuk ke dalam sel untuk proses metabolisme. Sehingga kadar glukosa darah di dalam tubuh akan naik. Berdasarkan pengamatan, kondisi hiperglikemia ditunjukkan dengan adanya perubahan perilaku mencit, diantaranya lemas, lebih banyak minum dan mengeluarkan urin lebih banyak serta berat badan menurun (Arisandi, 2015).

Kadar glukosa darah kelompok normal (KN) pada hari ke-0, hari ke-1, hari ke-4, hari ke-8 dan hari ke-15 tampak tidak stabil. Namun, variasi data masih berada dalam taraf normal. Hal ini dibuktikan dengan adanya uji normalitas pada H₀, H₁, H₄, H₈ dan H₁₅ yang menunjukkan nilai signifikansi diatas 0,05 sehingga data terdistribusi secara normal.

Kadar glukosa darah kelompok positif diabetes (KP) pada hari ke-0 masih berada dalam kondisi normal. Pada hari ke-1 kadar glukosa darah mengalami peningkatan. Namun, pada hari ke-4, hari ke-8 dan hari ke-15 kadar glukosa darah semakin menurun. Hal ini kemungkinan aloksan yang diinduksi merupakan zat diabetogenik yang mampu mengakibatkan mencit dalam keadaan hiperglikemia. Namun, aloksan merupakan zat kimia yang tidak stabil. Sehingga mengakibatkan kadar glukosa darah akibat induksi aloksan juga tidak stabil.

Mencit yang mengalami diabetes mellitus, kemudian dilakukan terapi dengan menggunakan ekstrak etanol 96% bekatul selama 14 hari dengan menggunakan variasi dosis KT_1 (350 mg/Kg BB), KT_2 (400 mg/Kg BB) dan KT_3 (500 mg/Kg BB). Selanjutnya dilakukan pengukuran selisih kadar glukosa darah awal (H-1) dengan kadar glukosa darah setelah diterapi selama 14 hari (H-15), untuk mengetahui adanya persentase penurunan kadar glukosa darah. Hasil pengukuran berdasarkan Tabel 4.1 menunjukkan bahwa persentase penurunan kadar glukosa darah terbesar pada perlakuan KT_2 dan terendah pada perlakuan KT_1 . Selanjutnya dilakukan uji statistik menggunakan SPSS *for Windows Release* 16.0. Hasil uji normalitas *Saphiro-wilk* dan homogenitas *Lavene* menunjukkan bahwa data penurunan kadar glukosa darah (H_{1-15}) terdistribusi normal dan homogen karena memiliki nilai signifikansi $p > 0,05$ (Lampiran 6). Selanjutnya dilakukan analisis *One Way ANOVA* dengan taraf signifikansi $\alpha = 0,05$ untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan antara kadar glukosa darah dengan pemberian terapi ekstrak etanol 96% bekatul.

Hasil analisis *One Way ANOVA* menunjukkan nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($3,93 > 3,06$). Sehingga terdapat pengaruh terapi ekstrak etanol 96% terhadap kadar

glukosa darah mencit diabetes mellitus. Selanjutnya dilakukan uji lanjut untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan. Uji lanjut menggunakan *Duncan* hal ini dikarenakan koefisien keragaman (KK) sebesar 84% yang berarti KK termasuk besar dan tingkat ketelitian pada penelitian rendah (Lampiran 8). Menurut Hanafiah (1991), nilai KK minimal 10% pada kondisi homogen dapat dilakukan uji lanjut menggunakan *Duncan*. Berdasarkan hasil uji *Duncan* diperoleh hasil notasi seperti pada Tabel 4.2 sebagai berikut:

Tabel 4.2 Ringkasan Duncan tentang Pengaruh Ekstrak Etanol 96% Bekatul terhadap Kadar Glukosa Darah mencit Diabetes mellitus

Perlakuan	N	Rata-rata $\pm$ SD (mg/dL)	Notasi
KN	4	$7 \pm 3,91$	a
KT ₁	4	$62 \pm 187,57$	a
KP	4	$266,25 \pm 92,86$	b
KT ₂	4	$273,25 \pm 156,56$	b
KT ₃	4	$114,25 \pm 74,03$	ab

Berdasarkan Tabel 4.2 dapat diketahui bahwa kontrol normal memiliki nilai rerata terkecil $7 \pm 3,91$ dan tidak berbeda nyata dengan perlakuan KT₁ (350 mg/Kg BB) dan KT₃ (500 mg/Kg BB), hal ini dapat dilihat dari notasi yang memiliki huruf yang sama. Perlakuan KT₁ memiliki rerata terendah $62 \pm 187,57$ dan tidak berbeda nyata dengan kontrol normal dan KT₃. Sedangkan perlakuan KT₂ (400 mg/Kg BB) memiliki rerata tertinggi $273,25 \pm 156,56$ dan tidak berbeda nyata dengan kontrol positif dan KT₃.

Perlakuan KT₁ berbeda nyata dengan KP (positif) sedangkan perlakuan KT₂ dan KT₃ tidak berbeda nyata dengan KP (positif). Sehingga dapat dimungkinkan bahwa terapi ekstrak etanol 96% bekatul dapat menurunkan kadar glukosa darah namun kurang efektif. Hal ini tidak sesuai dengan hasil penelitian

sebelumnya yang dilakukan oleh Wahyuni (2015) bahwa pemberian ekstrak etanol bekatul beras hitam selama 14 hari dengan dosis 50, 100 dan 200 mg/Kg BB, secara signifikan dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes mellitus dengan kadar glukosa darah di bawah tikus diabetes tanpa perlakuan. Hal ini dimungkinkan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol bekatul beras hitam lebih efektif dalam penurunan kadar glukosa darah, dibandingkan dengan senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak etanol bekatul beras putih. Oleh karena itu, diperlukan variasi dosis yang lebih besar dan jangka waktu pemberian terapi diperpanjang agar senyawa aktif yang terdapat di dalam ekstrak etanol bekatul dapat lebih efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah.

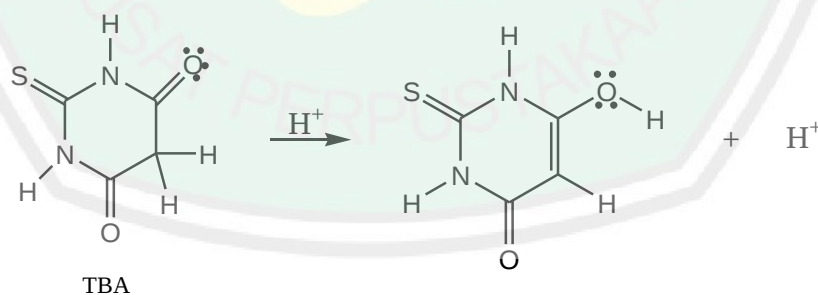
4.5 Kadar MDA Hati Mencit Diabetes Mellitus yang Diterapi Ekstrak Etanol 96% Bekatul

Pengukuran kadar MDA bertujuan untuk mengetahui terjadinya stres oksidatif pada penderita diabetes mellitus. Hal ini dikarenakan MDA merupakan indikator adanya senyawa radikal bebas dan kerusakan oksidatif. Tingginya kadar MDA menunjukkan tingginya kadar radikal bebas yang ada di dalam tubuh (Ayala, 2014 dalam Anggraeni, 2017). Diabetes mellitus merupakan penyakit degeneratif yang ditandai dengan keadaan hiperglikemia yang akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Yaitu adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan yang ada di dalam tubuh (Setiawan, 2005).

Pengukuran MDA dilakukan pada organ hati, karena sel hati merupakan jaringan utama yang menjadi sasaran peningkatan kadar radikal bebas. Hiperglikemia akan menyebabkan terjadinya sintesis asam lemak dalam hati

sehingga terjadi akumulasi asam lemak dalam hati yang dapat memicu terjadinya senyawa radikal bebas (Nurlaili, 2010). Radikal bebas yang berlebih di dalam tubuh, akan menyebabkan kerusakan sel, asam nukleat, protein dan jaringan lemak.

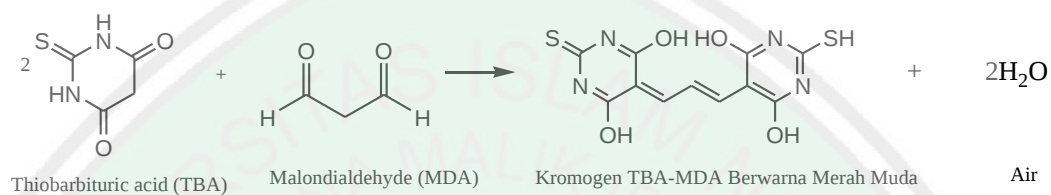
Pengukuran kadar MDA menggunakan metode *thiobarbituric acid-reactive substance* (TBARS). Prinsip analisis metode TBARS yaitu pemanasan akan menghidrolisis peroksidasi lipid, sehingga MDA yang terikat akan dibebaskan dan bereaksi dengan TBA dalam suasana asam yang akan membentuk kromogen TBA-MDA yang berwarna merah muda. Penambahan reagen TCA 5% berfungsi memberikan suasana asam dan juga sebagai katalis yang mempercepat pembentukan kromogen MDA-TBA. Adanya atom H^+ akan mengakibatkan perubahan salah satu gugus keton pada TBA menjadi gugus enol (Gambar 4.2). Gugus enol akan mengakibatkan TBA menjadi lebih reaktif sehingga akan mudah bereaksi dengan MDA membentuk kromogen MDA-TBA yang berwarna merah muda (Kuntari, 2007).



Gambar 4.2 Reaksi Pembentukan Gugus Enol Pada TBA (Kuntari, 2007)

Selanjutnya kromogen MDA-TBA yang berwarna merah muda diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan waktu kestabilan 0-60

menit pada panjang gelombang 532 nm (Kuntari, 2007). Hasil pengukuran kadar MDA berdasarkan kurva standart MDA pada (Lampiran 7.2) diperoleh persamaan $y = 0,0004x - 0,0126$. Persamaan tersebut digunakan sebagai patokan untuk mengkonversi hasil pengukuran absorbansi menjadi kadar MDA hati mencit (Lampiran 7). Reaksi antara MDA dan TBA ditunjukkan pada Gambar 4.3 berikut:



Gambar 4.3 Reaksi anatara TBA dan MDA Membentuk Kromogen Merah Muda (Kuntari, 2007)

Tabel 4.3 Hasil Pengukuran Kadar Kadar MDA Hati Mencit Tiap Perlakuan

Kelompok	Ulangan	Kadar MDA (ng/mL)	Rata-rata (ng/mL) ± standart deviasi
KN	1	604,00	561,50 ± 30,99
	2	536,50	
	3	541,50	
	4	564,00	
KP	1	694,00	609,62 ± 63,25
	2	569,00	
	3	554,00	
	4	621,50	
KT ₁	1	621,50	637,12 ± 54,63
	2	619,00	
	3	591,50	
	4	716,50	
KT ₂	1	601,50	608,37 ± 43,27
	2	566,50	
	3	596,50	
	4	669,00	
KT ₃	1	664,00	619,00 ± 50,53
	2	576,50	
	3	574,00	
	4	661,50	

Keterangan:

KN : Kelompok kontrol normal tanpa perlakuan (hanya diberi makan dan minum)

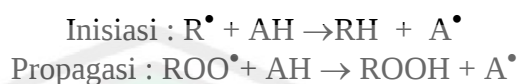
- KP : Kelompok kontrol positif diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB tanpa terapi)
- KT₁ : Kelompok diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB) + terapi ekstrak etanol 96% bekatul dosis 350 mg/Kg BB
- KT₂ : Kelompok diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB) + terapi ekstrak etanol 96% bekatul dosis 400 mg/Kg BB
- KT₃ : Kelompok diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB) + terapi ekstrak etanol 96% bekatul dosis 500 mg/Kg BB

Tabel 4.3 diatas menunjukkan hasil rata-rata kadar MDA setiap perlakuan.

Berdasarkan tabel tersebut, kelompok positif diabetes yang diinduksi aloksan memiliki kadar MDA yang lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok normal tanpa perlakuan apapun. Kadar MDA 561,5 ng/mL meningkat menjadi 609,625 ng/mL. Sehingga dapat diketahui bahwa adanya induksi aloksan dengan dosis 200 mg/Kg BB mengakibatkan mencit mengalami stress oksidatif dengan adanya kerusakan seluler akibat adanya radikal bebas (Latifa, 2015).

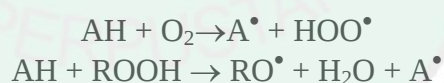
Berdasarkan hasil rata-rata kadar MDA pada hati mencit, dapat diketahui bahwa terapi ekstrak etanol bekatul 96% dapat menurunkan kadar MDA hati mencit pada kelompok kontrol terapi dengan dosis 400 mg/Kg BB (KT₂). Hal ini dapat diketahui bahwa kadar MDA pada kelompok (KT₂) lebih rendah dibandingkan dengan kadar MDA kelompok positif diabetes sebagai kontrol bahwa diabetes mellitus mampu meningkatkan kadar MDA. Meski penurunan kadar MDA kurang optimal. Penurunan kadar MDA dikarenakan ekstrak etanol bekatul mengandung senyawa antioksidan yang mampu menginaktivasi reaksi rantai dari peroksidasi lipid dengan mencegah terbentuknya radikal peroksidasi lipid (Sutari dkk, 2013). Antioksidan dapat memberikan atom hidrogen ke radikal lipid ($R^\bullet$, $ROO^\bullet$) atau mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil. Penambahan antioksidan dengan konsentrasi rendah pada lipid dapat mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi

oksidasi pada tahap inisiasi ataupun propagasi. Turunan radikal antioksidan ($A^\bullet$) memiliki keadaan yang lebih stabil dibandingkan dengan radikal lipida, sehingga kestabilan tersebut mengakibatkan terhentinya reaksi peroksidasi lipid (Dewi, 2010).



Gambar 4.4 Reaksi Penghambatan Antioksidan Terhadap Radikal Lipida (Gordon, 1990)

Namun pada penelitian ini, kelompok mencit yang diberi ekstrak etanol bekatul dengan dosis 500 mg/Kg BB (KT_3) memiliki kadar MDA lebih tinggi dibandingkan dengan dosis 400 mg/Kg BB (KT_2). Hal ini kemungkinan aktivitas senyawa antioksidan menurun atau bahkan bertindak sebagai prooksidan. Karena tingginya konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat mempengaruhi laju oksidasi. Pengaruh tersebut bergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji. Senyawa prooksidan akan mendorong oksidasi pada komponen sel dan mengakibatkan terjadinya reaksi rantai yang dapat menyebabkan penyakit degeneratif (Yomes, 2006).



Gambar 4.5 Reaksi Antioksidan Bertindak Sebagai Prooksidan Pada Konsentrasi Tinggi (Gordon, 1990)

Radikal bebas di dalam tubuh terus menerus terbentuk baik melalui proses metabolisme normal, peradangan, kekurangan gizi ataupun akibat respon terhadap pengaruh dari luar tubuh seperti polusi lingkungan dan sebagainya. Selain itu

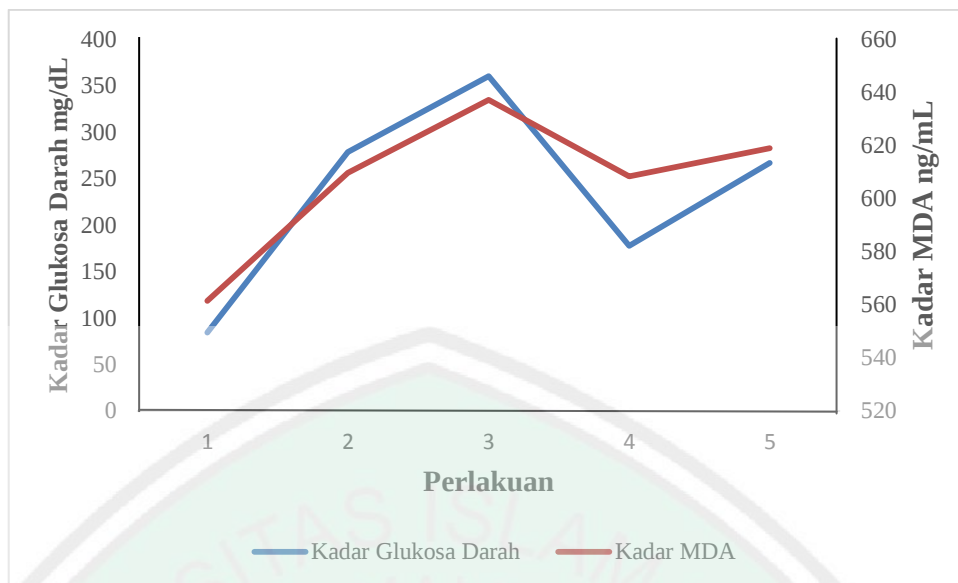
bertambahnya glikolisis juga akan mengakibatkan peningkatan oksidasi glukosa dalam siklus asam sitrat sehingga radikal bebas yang terbentuk semakin banyak (Winarsi, 2010). Sehingga antioksidan eksogen yang terkandung dalam ekstrak etanol bekatul tidak seimbang dengan radikal bebas yang ada di dalam tubuh mencit yang menyebabkan tidak terjadi penurunan pada kadar MDA.

Berdasarkan hasil analisis normalitas *Saphiro wilk* kadar MDA pada hati mencit diabetes mellitus menunjukkan bahwa data terdistribusi secara normal, terkecuali data kelompok perlakuan dengan dosis terapi 500 mg/Kg BB (KT₃). Hal tersebut dikarenakan nilai signifikansinya $<0,05$. Hasil pengujian *One Way Anova* didapatkan nilai signifikansi $>0,05$ dan nilai $F_{hitung} < F_{tabel}$ ($1,266 < 3,056$). Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan, artinya terapi ekstrak etanol 96% bekatul tidak berpengaruh terhadap kadar MDA pada hati mencit diabetes mellitus. Hal ini kemungkinan senyawa aktif yang ada di dalam ekstrak etanol 96% bekatul mampu menurunkan kadar glukosa darah pada mencit diabetes mellitus, namun belum mampu menaikkan aktivasi jalur *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK). Mekanisme ini merupakan mekanisme perbaikan kondisi stres oksidatif. Aktivasi jalur AMPK akan menghambat jalur glukoneogenesis di hati, sehingga akan menaikkan sintesis Glut 4. Glut 4 merupakan protein yang berperan sebagai transporter di otot, yang memainkan peran penting dalam mengontrol kondisi hiperglikemia. Perbaikan kondisi hiperglikemia inilah yang selanjutnya akan memperbaiki kondisi stres oksidatif dan akan menyebabkan penurunan kadar MDA (Erchid, 2004 dalam Diana, 2016).

4.6 Hubungan Antara Kadar Glukosa Darah dengan Kadar MDA

Kandungan antioksidan dalam bekatul mampu memberikan pengaruh terhadap kadar glukosa darah dan MDA pada hati mencit *Diabetes mellitus*. Berdasarkan pada Gambar 4.6 setelah dilakukan terapi selama 14 hari mampu menurunkan kadar glukosa darah serta kadar MDA pada hati mencit diabetes mellitus, yang ditunjukkan pada grafik perlakuan KT_2 (dosis 400 mg/Kg BB). Hal ini kemungkinan terjadi akibat adanya senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak etanol bekatul. Berdasarkan uji fitokimia ekstrak kasar bekatul yang telah dilakukan Ulfa (2016), bekatul mengandung senyawa fitokimia yang terdiri dari steroid dan triterpenoid memiliki potensi sebagai antioksidan. Antioksidan tersebut akan mampu memperbaiki sel β pankreas yang rusak akibat induksi aloksan. Selain itu, antioksidan akan melindungi sel β pankreas dengan menekan radikal O_2 yang reaktif sehingga akan menghambat reaksi rantai oksidasi.

Sel β pankreas yang mengalami nekrosis secara perlahan akan melakukan regenerasi sel baru, sehingga proses produksi insulin akan terkontrol kembali dan kadar glukosa akan menurun (Ningrum dan Abdulghani, 2014). Begitu juga dengan kadar MDA, karena terhambatnya reaksi rantai oksidasi akan menghambat terbentuknya radikal bebas. Hal tersebut akan menyebabkan radikal yang ada di dalam tubuh berkurang dan kadar MDA menurun.



Keterangan:

- 1 : Kelompok kontrol normal tanpa perlakuan (hanya diberi makan dan minum)
- 2 : Kelompok kontrol positif diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB tanpa terapi)
- 3 : Kelompok diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB) + terapi ekstrak etanol 96% bekatul dosis 350 mg/Kg BB
- 4 : Kelompok diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB) + terapi ekstrak etanol 96% bekatul dosis 400 mg/Kg BB
- 5 : Kelompok diabetes mellitus (diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB) + terapi ekstrak etanol 96% bekatul dosis 500 mg/Kg BB

Gambar 4.6 Hubungan Terapi Ekstrak Etanol Bekatul dengan Kadar Glukosa Darah dan MDA

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% bekatul mampu menurunkan kadar glukosa darah dan MDA pada hati mencit. Hal ini menunjukkan bekatul memiliki manfaat dalam mencegah penyakit *Diabetes mellitus*. Allah SWT telah menciptakan alam dan semua unsur makhluk hidup yang ada di dalamnya. Manusia merupakan makhluk hidup yang paling sempurna, dengan adanya kelebihan akal dan fikiran. Akal dan fikiran dalam manusia diciptakan tiada lain adalah untuk berfikir, merenungi betapa besar nikmat dan kekuasaan yang telah diberikan oleh Allah SWT serta cara memanfaatkannya.

Sebagaimana firman Allah SWT dalam Al Qur'an Surat Al An'am ayat 99:

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا
 مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ
 وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۚ انْظُرُوا إِلَىٰ
 ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۚ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. Al An’am: 99).

Ayat diatas menerangkan bahwa Allah SWT menurunkan air dari langit dan menumbuhkan berbagai macam tumbuhan, sehingga dari tumbuhan tersebut akan menghasilkan segala macam buah-buahan. Pada ayat ini Allah SWT menjelaskan kejadian dan hal-hal yang menjadi kebutuhan manusia sehari-hari, agar manusia mudah memahami kebijaksanaan, kekuasaan dan pengetahuan Allah SWT. Kemudian pada ayat ini disebutkan pula rincian tumbuhan yang beraneka ragam, diantaranya rerumputan yang tumbuh berumpun-rumpun sehingga kelihatan hijau. Tumbuhan tersebut mampu mengeluarkan buah yang berbentuk butiran-butiran kecil seperti gandum, padi dan lainnya. Allah SWT menegaskan bahwa dalam proses pembuahan terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah SWT yang akan menjadi bukti bagi orang-orang yang beriman. Hal tersebut dibuktikan dengan adanya kandungan senyawa aktif dalam suatu tumbuhan yang mampu

menjadi pencegahan atau pengobatan penyakit diabetes mellitus. Sebagaimana diterangkan dalam hadist riwayat Imam Bukhari sebagai berikut:

عَنْ أَبِي هُرَيْرَةَ رَضِيَ اللَّهُ عَنْهُ عَنِ النَّبِيِّ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ قَالَ مَا أُنْزِلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أُنْزِلَ لَهُ شِفَاءٌ

“Abu Hurairah r.a. berkata bahwa Rosulullah bersabda, Tidaklah Allah turunkan penyakit kecuali Allah turunkan pula obatnya”

Hadist diatas menerangkan bahwa segala penyakit dari Allah SWT yang diturunkan kepada hambaNya, tiada yang bisa menyembuhkan penyakit tersebut kecuali Dia. Sesungguhnya Allah SWT tidak akan menurunkan segala penyakit kecuali Allah SWT juga menurunkan obatnya, baik pengobatan secara medis maupun herbal. Hadist ini sebagai pedoman bagi kita semua untuk selalu kuat, sabar dan tabah menghadapi ujian berupa penyakit yang diberikanNya. Sebagai manusia kita tidak boleh pesimis terhadap apa yang telah diberikan Allah SWT kepada kita. Ujian yang diberikan Allah SWT tidak lebih dari batas kemampuan manusia. Selagi kita yakin bahwa semua atas kehendak Allah SWT dan bertaqwa kepadaNya, Allah SWT senantiasa akan memberikan jalan keluar dan kemudahan bagi kita. Sebagaimana firman Allah SWT dalam QS. Ath Thalaq ayat 2:

مَخْرَجًا لَهُ وَتَجْعَلُ اللَّهُ يَتَّقِي مَنْ

“Barangsiapa bertakwa kepada Allah niscaya Dia akan mengadakan baginya jalan keluar”

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Ekstrak etanol 96% bekatul berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit *Diabetes mellitus* dengan persentase penurunan kadar glukosa darah tertinggi sebesar 66,99% pada dosis 400 mg/Kg BB.
2. Ekstrak etanol 96% bekatul tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA (malondialdehid) pada hati mencit *Diabetes mellitus*.

5.2 Saran

1. Perlu ditambah jumlah mencit setiap kelompok perlakuan. Hal ini untuk meningkatkan kepercayaan dan validitas data yang diperoleh.
2. Perlu dilakukan waktu terapi yang lebih lama, untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol 96% bekatul terhadap kadar MDA pada hati mencit diabetes mellitus.

DAFTAR PUSTAKA

- Adji, D. 2008. Hubungan Konsentrasi *Malondialdehyde* Glukosa Dan Total Kolesterol Pada Tikus Putih yang Diinjeksi Dengan *Streptozotocin*. *Tesis Diterbitkan*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.
- Adom, K. dan Liu, R. 2002. Antioxidant Activity of Grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50. (21): 6182-6187
- Agoes, G. 2009. *Teknologi Bahan Alam*. Bandung: ITB.
- Aji, R.Y. 2014. *Makalah Instrumentasi Biomedis Alat Glukometer*. Malang: Universitas Brawijaya.
- Akbar, B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifertilitas*. Jakarta: Adabia Press.
- Akrom, Harjati, P.D. dan Armansyah, T. 2014. Efek Hipoglikemik Ekstrak Etanol Umbi Ketela Rambat (*IpamoeabatatasP*) (EEUKR) Pada Mencit Swiss Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Pharmachiana*. 4. (1). 65-77.
- Andaloussi, Ali, B., L. Martincau, T. Vuong, B. Meddah, Padma Madiraju, A. Settaf dan P.S. Haddad. 2011. The In Vivo Antidiabetic Activity of *nigella saiva* is Mediated through Activation of The AMPK Pathway and Increased Muscle Glut4 Content. *Hindawi Journal*.
- Anggraeni, S., T. Setyaningrum dan M.Y.Listiawan. 2017. Perbedaan Kadar Malondialdehid (MDA) sebagai Petanda Stress Oksidatif pada Berbagai Derajat Akne Vulgaris. *Journal of Periodical of Dermatology and Venereology*. 29(1). 36-43.
- Anindhita, Y.F. 2009. Efek Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Arifin, H., N. Anggraini, D.Handayani., dan R.Rasyid. 2006. Standarisasi Ekstrak Etanol Daun *Eugenia Cumini* Merr. *Jurnal Sains Tek. Far.* 11(2). 88-93.
- Arifin, H. 2007. Pengaruh Pemberian Vitamin C Terhadap Fetus Pada Mencit Diabetes. *Jurnal Jurusan Farmasi Universitas Andalas Padang*. 1. 1-15.
- Arisandi, D., M.A Triyanti, N.F.Muhajir, dan S.Fatimah. 2015. Gambaran Faktor Risiko Kejadian Hiperglikemia Pada Pralansia Di Dusun Rejosari, Kemadang, Gunung Kidul, Yogyakarta. *The 2nd University Research Coloquium*. ISSN 2407-9189.
- Asni. 2009, Pengaruh Hipoksia Berkelanjutan Terada Kadar Malondialdehd Glutation Tereuksi, dan Aktivitas Katalase Gijal Tikus. *Maj Kedokteran Indo*. 59 (12): 595-600.

- Auliana, R. 2011. *Manfaat Bekatul*. Kegiatan Dharma Wanita. FT UNY.
- Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian. 2007. Mengolah Dedak menjadi Minyak. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*. Vol. 29 (4).
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Riset Kesehatan Dasar*. Jakarta: Laporan Nasional 2007.
- Badawi, H. 2009. *Melawan dan Mencegah Diabetes Pandangan Hidup Sehat Tanpa Diabetes*. Yogyakarta: Araska.
- Bird, R. P. dan Draper, H.H. 1984. *Comparative Studies on Different Methods of Malondialdehyde Determination di dalam Methods in Enzymology*. 105: 299-340.
- Cahyadi, S. 2006. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Cetakan Pertama . PT. Bumi Aksara. Jakarta .
- Cahyanine, M., Estiasih, T. dan Nisa, F.C. 2008. Fraksi Kaya Tokoferol Dari Bekatul Beras (*Oryza Sativa*) Dengan Teknik Kristalisasi Pelarut Suhu Rendah. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Vol.9(3): 165 – 172.
- Candrasoma, P., Taylor, C. R. 2005. *Kelainan Vaskuler Degeneratif*. Dalam Ringkasan anatomi Anatomi. Jakarta EGC. Hal: 209.
- Chanphrom, P. 2007. Antioxidant and Antioxidat Activitis of pigmented rice varieties and rice bran. *Thesis*. Thailand: Faculty of graduated studies, Mahidol niversity.
- Chen, M. H. dan Bregman, C. J. 2005. A Rapid Procedure for Analysing Rice Bran Tocopherol, Tocotrienol and γ -Oryzanol Contens. *Journal Food Compos Analysis*. Vol. 18 : 139 – 151.
- Christian, 2013. Khasiat Antioksidan Ekstrak Pare: Kajian *invivo* Pada Tikus Hiperglikemia. *Skripsi*. Bogor: IPB.
- Cannel, R.J.P. 1998. *Methods in Biotechnology natural Products Isolation*. 54-66. Humana Press. Totowa New Jersey.
- Corwin, E.J. 2007. *Patofisiologi*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Day, R.A, dan Underwood A.L. 1986. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Kelima*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Dachriyanus, Dr. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Padang: Andalas University Press.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan RI. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Depkes RI.
- Dewi, A., dan Roosdiana. 2013. Studi Pemberian Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargasumprismaticum*) Terhadap Kadar MDA Dan Histologi Jaringan

- Pankreas Pada Tikus *Rattus norvegicus* Diabetes Mellitus Tipe I Hasil Induksi MLD-STZ (Multiple Low Dose – Streptozotocin). *Kimia Student Jurnal*. Malang: Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. 2. (1). 351-357.
- Dewi, A.K, Lestari, U., dan Lestari, S.R. 2010. Efek Ekstrak Kulit Buah Rambutan (*Nephelium lappaceum L*) Terhadap Peroksidasi Lipid Hepar Tikus Obesitas. *Jurnal Biologi*. Universitas Negeri Malang.
- Diana, R.A. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 80% Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa L.*) Indonesia Terhadap Kadar SOD dan MDA Tikus (*Ratus norvegicus*) Model DM Tipe 2. *Skripsi*. Malang: Fakultas Saintek Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Dimitrios, B. 2006. Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*. [Online] 17 (9), 505–512. Available from: doi:10.1016/j.tifs.2006.04.004 [Accessed: 21 November 2012]
- Dipiro, J. T., Talbert, I. R., Yees, C. G., Matzke, R. G., Wells, G. B. dan Posey, M.L. 2005. *Pharmacotherapy: A Patophysiologic Approach* (6th Ed). New York: Mc Graw Hill, 1334-1337.
- Dwinani, N.S. 2010. Kemampuan Ekstrak Etanol Bekatul Beras Hitam Dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Neufropati Diabetes. *Artikel*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Fajarini, S. Dan Susanti. 2015. Pengaruh Infusa Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*) Terhadap Kadar Malondialdehid Mencit Model Diabetik. *Prosiding Pendidikan Dokter. Bandung*: Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung.
- Felicia. 2009. Neoroterapi Ekstrak Air Akar Kucing (*Acalypha Indica Linn*) Dosis 20 mg dan 25 mg secara eks Vivo pada Saraf Otot gastroknemiu Katak. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Jakarta; jurusan Kedokteran Hewan Universitas Indonesia.
- Gordon, M.H. 1990. The Mechanism Of Antioxidant Action In Vitro. B.J.F. Hudson (ed.1) *Food Antioxidant Elsevier Science Publisher*. 1-18. University of Reading , Whiteknight, Reading RG6 2AP, UK.
- Guenther, E. 2006. *Minyak Atsiri Jilid I*, Penj. Ketaren. S. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Hamid, A.A., Aiyelaagbe, O.O., Usman, L.A., Ameen, O.M. dan Lawal, A., 2010, Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications. 4 (August), 142–151.
- Hanafiah, H.A. 1991. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi Cetakan Ke 5*. Jakarta Utara: PT. Raja Grafindo Persada.
- Hardiningtyas, S. D. 2009. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Karang Lunak *Sarcophyton sp.* Yang Difragmentasi dan Tidak Difragmentasi Di Perairan Pulau Pramuka, Kepulauan Seribu. *Skripsi*. FMIPA IPB.

- Jayaprakasam, B., Vareed, SK., Olson, LK., dan Nair M.G. 2005. Insulin Secretion by Bioactive Anthocyanins and Anthocyanidins Present In Fruits. *J Agric Food Chem.* Jan 12: 53(1): 28-31.
- Johnson D.C. 1996. Exotic animal Companion Medicine handbook fo Veterinarians. *Zoological Education Network.*
- Jovanovic, M.C. 1977. Nutritive Value Of Rumen Content for Oogatric. *AnimFreedsci and Tech.* Vol.2. Hal 351-360.
- Kadri, H. 2010. Pengaruh Pemberian Minyak Buah Merah Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Malondialdehid Serum Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Artikel Penelitian.* (1). 79-86.
- Kahlon. 1994. Cholesterol-Lowering by Rice Bran and Rice BranOilUnsaponifiable Matter in Hamster. *Cereal Chem.* 73:69–74. [Online]. Tersedia http://www.aaccnet.org/cerealchemistry/backissues/1992/69_485.pdf.
- Kholifah. 2014. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Buah Pare (Momordica charantia L) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri Edwardsiella Tarda Penyebab Penyakit Edwarsiellosis Pada Ikan .* UIN Malang.
- Khopkar, S.M. 2010. *Konsep Dasar Kimia Analitik* Penj. A. Saptorahardjo. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Kinanti, A. S. 2011. Pengaruh Suplementasi Vitamin E dan DL- methionine dalam Ransum Terhadap Performa Ayam Broiler Pada Kondisi Cekaman Panas. *Skripsi.* Departemen Ilmu dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan. IPB Bogor.
- Kosasih, E.N., Setiabudhi, T., dan Heryanto, H. 2004. *Peranan Antioksidan Pada Lanjut Usia.* Jakarta: Pusat Kajian Nasional Masalah Lanjut Usia.
- Kram. D. J. dan Keller, K. A. 2001. *Use of laboratory animals in toxicology studies.* In: *Toxicology testing handbook.* New York, USA: Macel Dekker. 2001: 1-7.
- Kuntari, C. 2007. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Hidroksil Oleh Ekstrak Etanol The Hijau dan The Hitam Dengan Metode Deoksiribosa. *Skripsi.* Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma.
- Kuriyan R, N.Gopinath, M Vas.A.V. dan Kurpad. 2005. Use of rice bran oil patients with hyperlipidaemia. *The National Medical Journal of India* 2005. Vol. 18 (6).
- Kusumawati, D. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba.* Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

- Lamhot, P., Manalu, Armansyah, H., Tambunan dan Leopold, O. N. 2012. Penentuan Kondisi Proses Pengeringan Temu Lawak Untuk Menghasilkan Simplisia Standar. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri*. 23. (2). 99-106.
- Latifa, I. 2015. Profil Kadar MDA (*Malondialdehyde*) Pada Tikus Yang Diberikan Ekstrak Herba THYMI (*Thymus vulgaris* [L.]). *Naskah Publikasi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Lenny, S. 2006. Isolasi dan Uji Bioaktivitas Kandungan Kimia Utama Puding erah dengan Metode Uji BSLT. F-MIPA. Universitas Sumatera Utara: Medan.
- Lenywati, E. 2001. *Diabetes Mellitus Penyakit Kencing Manis*. Yogyakarta: Kanisius.
- Luh. 1991. Properties of The Rice Carryopsis. In *The Rice Production*. 2nd ed. Vol.1.A VI. Publishing Co., Wespaort, CT.pp 389-314.
- Marjani, A. 2010. Lipid Peroxidation Alterations In Type 2 Diabetic Patients. *Pak Journal Biology Science*. 13 (15): 723-730.
- Medero, A. J. D. L. 2008. Duing The Mouse Lecture and Wet Lab. www.uprh.edu/rise/activities/mouse/mouse.htm. Online pada 15 November 2018 pukul 10.00 WIB.
- Modak, M., Dixit, P., Londhe, J., Ghaskadbi, S., dan Devasagayam. 2007. Indian Herbs and Herbal Drugs Used for The Treatment of Diabetes. *J. Clin. Biochem. Nutr*, 40: 163–173.
- Mokoginta, E.P. 2013. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Ekstrak Methanol Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca Vestiaria Giseke*). *Skripsi*. Manado: Sam Ratulangi.
- Nahari, D.S. 2015. Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dan Penentuan Kandungan Fenolik Total dari Ekstrak Etanol Umbi Binahong (*Anrederacordifolia* (Tenore) Steen) Serta Efek Terapinya Terhadap Aktivitas Superoksida Dismutate hati Tikus Diabetes. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Nawar, W. 1985. Lipids. di dalam Sugiman. 2000. Pengaruh Sari Jahe dalam Menghambat Oksidasi LDL Plasma Darah pada Manusia. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Nugroho, B. A. 2004. Pengaruh Diet Ekstrak Rumput laut (*Eucheuma sp*) Terhadap penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Ningrum dan Abdulghani. 2014. Pengaruh Pemberian Ekstrak Ikan Gabus pada Struktur Histologi Hati Mencit (*Mus musculus*) Hiperglikemik. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. Vol. 2. (1). 2337-3520.

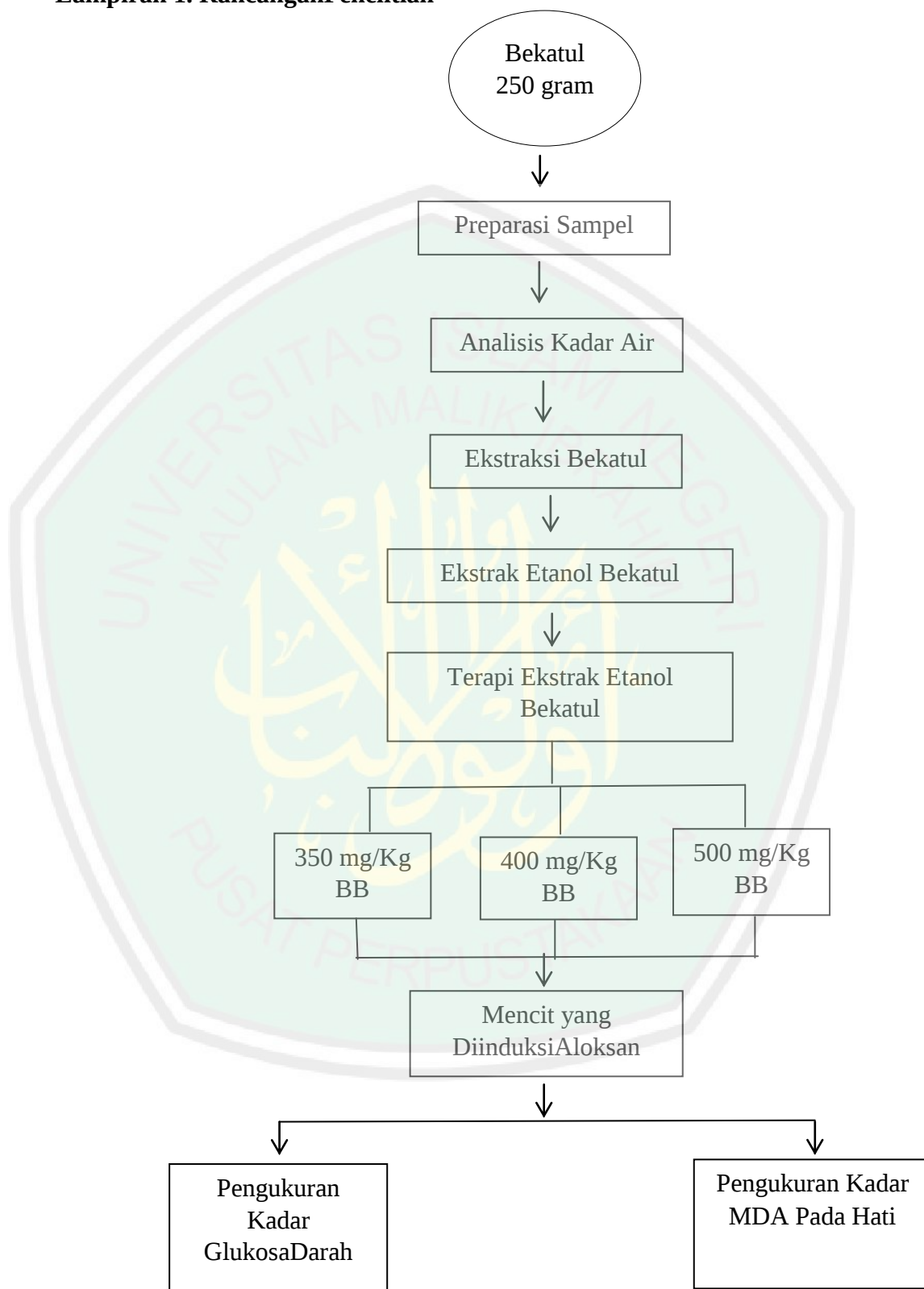
- Nurlaili, E. 2010. Pengaruh Ekstrak Biji Klebet (*Trigonella foenum-graecum linn.*) terhadap Kadar Transaminase (GPT dan GOT) dan gambaran Histologi pada Hepar mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Streptozotocin. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi fakultas Sains dan teknologi UIN Maliki Malang.
- Nursalim, Yusuf dan Razalli, Z.Y. 2007. *Bekatul Makanan Yang Menyehatkan*. Jakarta: AgroMedia.
- Pearce, E.C. 2016. *Anatomi dan Fisiologi untuk Paramedis*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Pramono. 1998. *Penggunaan hewan-hewan percobaan di laboratorium*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Institut Pertanian Bogor.
- Priyambodo, S. 2003. *Pengendalian Hama Tikus Terpadu Seri Agrikat*. Penebar Swadaya. Jakarta. (6).
- Purnomo, E. 2002. *Sistem Analisis*. Yogyakarta: Andi Offset.
- Puspitasari, A., dan Prayogo, Lean. 2010. Perbandingan Metode Ekstraksi dan Sokletasi Terhadap kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Kersen. *Jurnal Farmasi*. (1). 16-23.
- Rahayu, D.S. Kusriani, D. dan Fachriyah, E. 2010. *Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (Terminalia catappa L) dengan Metode 1.1 difenil 2 Pikrihidrazil (DPPH)*. Semarang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Diponegoro.
- Rahayu, P. 2015. Efek Terapi Ekstrak Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Hati Tikus Putih (*Ratus norvegicus*) Hasil Induksi Aloksan. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Ranakusuma A.B. 1992. *Metabolit Endokrinologi Rongga Mulut*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).
- Rana P. S. Vadhera, and G. Soni. 2004. *In vivo antioxidant potential of rice bran oil (RBO) in albino rats*. Indian J. Physiol Pharmacol (48) (4).
- Ratimanjari, D.A. 2011. Pengaruh Pemberian Infusa Herbal Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) Terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa darah Tikus Putih jantan yang Dibuat Diabetes. *Skripsi*. Depok: Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Program Studi Farmasi.
- Risdiana, N. I. 2016. Terapi nfusa Pekat Buah Pare (*Momordica Charantia L*) Tehadap Kadar Glukosa Darah dan MDA (*Malondialdehyde*) Pada Ginjal Tikus Putih (*Ratus norvegicus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. UIN Malang.

- Sadeli, A. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) Ekstrak Bromelan Buah Nanas. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Setiawan, B. dan Suhartono. 2005. *Stress Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Mellitus*. Fakultas Kedokteran Universitas Lambung. 55(2). 86-91.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al Misbah: Pesan, kesañdankeserasian Al Quran*. Jakarta: Lentera Hati.
- Soebagio. 2003. *Kimia Analitik II*. Malang: UM Press.
- Soltesova, D. 2011. *On The Mecanisms Of Diabetogenic Effects Of Alloxan And Streptozotocin*. Departmen of animal Physiologi and Ethology. Comenius University Bratislava.
- Sudarmadji, S. Haryono, B. dan Suhardi. 2003. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty: Yogyakarta.
- Suhery, W., Fernando, Armon dan H. N. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Bekatul Padi Ketan Merah dan Hitam (*Oryza sativa*) dan Formulasinya dalam Sediaan Krim. *Journal of Pharmacy*. (13).(01). 1693-3591.
- Sutari, V.T., Sugito, D. Aliza dan Asmarida. 2013. Kadar Malondialdehid (MDA) Pada Jaringan Hati Ikan Nila (*Oreoshromis niloticus*) yang Diberi Cekaman Panas dan Pakan Suplementasi Tepung Daun Jaloh (*Salix tetrasperma Roxb*). *Jurnal Medika Veterinaria*. 7(1). 35-38.
- Syafitri, S. 2016. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Fraksi Bekatul dengan Metode 1,1-difenil-2-pikrilhirazil. *Skripsi*. Bogor: Fakultas MIPA IPB.
- Syaifuddin. 2009. *Anatomi Tubuh Manusia untuk Mahasiswa Keperawatan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Szkudelski T. 2001. *The mecanism of alloxan and streptozotocin action in betha cell oft ratp*. Physiology. 50 : 536-546.
- Tazakori, Z. Dehghan M.H. Iranpavar M. Zare M. Foladi, N, Mochmmadi R. 2007. Effect of rice brans powder on blood glucose levels and serum lipid parameters in diabetes patient II. *Res Journal Biology*. (2). 252-255.
- Ulfa, S.M. 2016. Identifikasi dan Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan Dalam Bekatul Dengan Menggunakan Variasi Pelarut. *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi UIN Malang.
- Vanini L.S., Hirata,T. A., Kwiatkowski, A., dan Clemente, E. 2009. Extraction and Stability of Anthocyanins from The Benitaka Grape Cultivar (*Vitis Vinifera* L.). *Braz. Jornal of Food Technology*. 12(3): 213-219. DOI:10.4260.

- Veronita, F. 2017. Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Daun Binahong serta Aplikasinya sebagai *Hand Sanitizer*. *Indonesian Journal Of Chemical Science*. 6(2): 138-144.
- Wahyuni, A., dan R. Munawaroh. 2015. Potensi Ekstrak Etanol Beras Hitam Sebagai Penurun Gula Darah Pada Tikus Nefropati Diabetes. *University Research Coloquium*. 2407-9189.
- Wahyuningsih, H.P. dan Kusmiyati, Y. 2017. *Anatomi Fisiologi*. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Widarta, I.W.R., Nocianitri, K.A., dan Sari, L.P.I.P. 2013. Ekstraksi Komponen Bioaktif Bekatul Beras Lokal dengan Beberapa Jenis Pelarut. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. (2).(2). 75.
- Wulandari, D. 2016. Pengaruh Rasio Biji terhadap Pelarut dan Waktu Ekstraksi terhadap *Yield* dan Kualitas Minyak Biji Alpukat. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*. 11(1). 32-38.
- Wuryani, S. 2005. Pengujian Kandungan Skualen dalam Minyak Bekatul Padi var. IR-64. *Laporan Penelitian*. Yogyakarta: Fakultas Pertanian Universitas Pembangunan Nasional.
- Winarsi, H. 2010. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.
- Yawaadio, R., Tanimori, S., dan Morita, N. 2007. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Journal of Food Chem.*, 101: 1616-1625.
- Yomes, A.T. 2006. Sifat Prooksidan dan Antioksidan Vitamin C dan The Hijau Pada Sel Khamir *Candida* sp. Berdasarkan Peroksidasi Lipid. *Skripsi*. Progam Studi Biokimia IPB Bogor.
- Yuriska, A. 2009. Efek Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar. *Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Zainuri, M. dan Wanandi, S.I. 2012. Aktivitas Spesifik Manganase Superoxide Dismutase (MnSOD) dan Katalase pada Hati Tikus yang Diinduksi Hipoksia Sistemik: Hubungannya dengan Kerusakan Oksidatif. *Jurnal Media Litbang Kesehatan*, 22(2): 87-92.
- Zakaria, F.R. 1996. Sintesis Senyawa Radikal dan Elektrofil Dalam dan Oleh Komponen Pangan. Editor : Zakaria, F.R., Dewanti, R dan Yasni, S. *Prosiding Seminar Senyawa Radikal dan Sistem Pangan*. Pusat Studi Pangan dan Gizi. Jakarta: IPB dan Kedutaan Besar Perancis Jakarta.

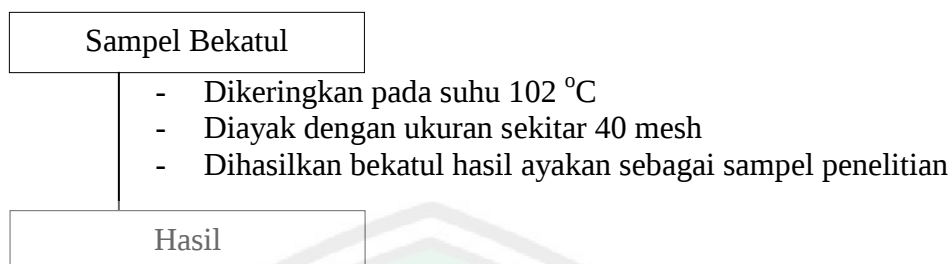
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

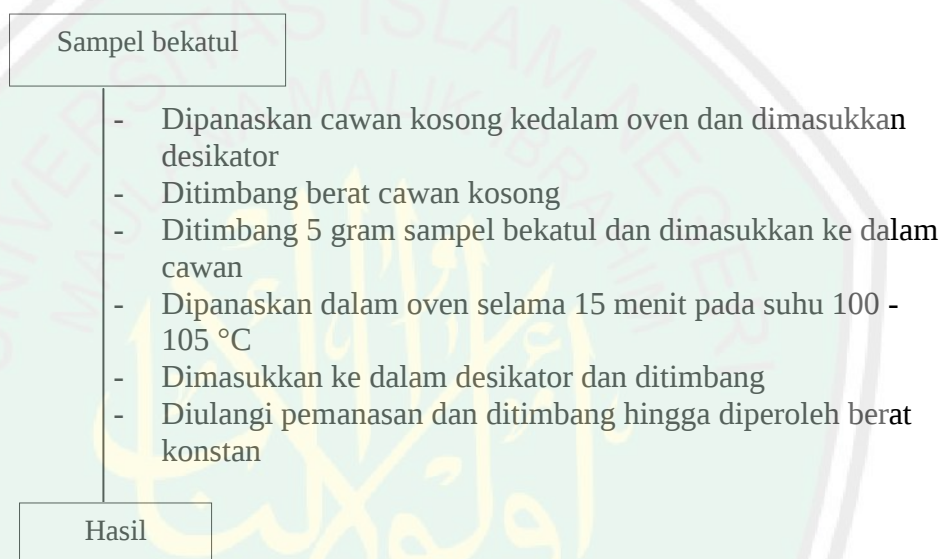


Lampiran 2. Diagram Alir

1.1 Preparasi Sampel



1.2 Analisis Kadar Air Metode Oven



1.3 Ekstraksi Bekatul

Bekatul	- Ditimbang 250 gram - Direndam dalam 1,8 L etanol 96% selama 2 hari serta ditutup rapat, sambil dilakukan pengocokan menggunakan shaker dengan kecepatan 120 rpm - Disaring hasil rendaman dengan <i>vaccum Buchner</i> - Disimpan filtrat dan ampas dimaserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 2 kali - Diuapkan filtrat menggunakan <i>vaccum rotary evaporator</i> pada suhu 60 °C - Diperoleh ekstrak kental etanol bekatul
Ekstrak kental etanol bekatul	

1.4 Perlakuan Hewan Coba

20 ekor mencit	- Dipelihara dalam <i>animal house</i> Laboratorium Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang - Dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, setiap kelompok terdiri dari 4 Ekor mencit
Hasil	

1.5 Pembuatan Mencit Diabetes

Mencit	- Dibaca kalimat basmalah, takbir dan sholawat setiap perlakuan - Diukur kadar glukosa awal menggunakan glucometer - Disemprotkan alkohol 70% pada bagian abdomen mencit - Dicubit hingga terasa bagian ototnya - Diinjeksi dengan aloksan (200 mg/Kg BB) di bagian abdomennya - Diinkubasi selama 3 hari - Dipantau kadar glukosa selama 5 hari menggunakan <i>glucometer</i> - Mencit sudah menjadi DM apabila kadar glukosa darahnya lebih dari 200 mg/dL
Hasil	

1.6 Uji in vivo dengan Terapi Ekstrak Etanol Bekatul

Mencit Diabetes Mellitus	- Dibagi mencit DM menjadi 5 kelompok - Diterapi secara oral dengan ekstrak etanol bekatul dengan variasi dosis 350 mg/Kg BB, 400 mg/Kg BB dan 500 mg/Kg BB. - Dilakukan terapi setiap hari selama 14 hari berturut-turut
Hasil	

1.7 Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Mencit	- Dibaca kalimat basmalah, takbir dan sholawat setiap perlakuan - Diletakkan pada sungkup, ekor mencit dipegang dan diurut - Dibersihkan dengan alkohol - Dipotong ujung ekor - Diambil darah dan diteteskan pada strip glukotest
Hasil	

1.8 Uji Kadar MDA Pada Hati Mencit

1.8.1 Pengambilan Organ Hati

Mencit	- Didislokasi dengan cara dislokasi leher, sambil dibacakan basmalah, takbir dan sholawat - Diletakkan pada papan fiksasi dan ditata pada posisi ventral diatas - Diambil organ hati dan dicuci dengan air kemudian disimpan dalam wadah tertutup pada suhu di bawah -70 °C
Hasil	

1.8.2 Pembuatan Kurva Standar MDA

Kit MDA	- Dibuat dengan konsentrasi 16,125; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000 ng/mL - Diambil masing-masing konsentrasi tersebut sebanyak 100 µL - Dimasukkan dalam tabung reaksi yang berbeda - Ditambahkan 550 µL akuades - Ditambahkan 100 µL TCA 5%, 250 µL HCl 1 N dan 100 µL TBA 1% - Pada setiap penambahan reagen, larutan dihomogenkan dengan vortex - Diinkubasi dalam penangas air dengan suhu 95 °C selama 15 menit - Diukur absorbansinya pada λ maksimum 532 nm menggunakan spektrofotometer Visible
Hasil	

1.8.3 Analisis Kadar MDA Menggunakan Uji *Thiobarbituric Acid* (TBA)

Hati Mencit

- Ditimbang sebanyak 100 mg dan digerus
- Ditambahkan 550 μL akuades dan divortex
- Homogenat disentrifuge selama 10 menit
- Diambil supernatan yang terbentuk sebanyak 100 μL
- Ditambahkan 100 μL TCA 5%, 250 μL HCl 1 N dan 100 TBA 1%
- Pada setiap penambahan reagen, larutan dihomogenkan dengan vortex
- Diinkubasi dengan suhu 95 $^{\circ}\text{C}$ selama 15 menit
- Disentrifuge dengan kecepatan 800 rpm selama 10 menit
- Diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 532 nm menggunakan spektrofotometer Visibel

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan Dosis

a. Variasi Dosis Ekstrak Etanol 96%

Konversi perhitungan dosis untuk hewan dan manusia berdasarkan konversi

Laurence & Bacharach:

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	1,74	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	10

(Sumber: Rahmawati, 2004)

Dosis yang digunakan dalam ekstrak etanol 96% bekatul mengacu pada penelitian Dwinani (2010) dengan dosis tertinggi 200 mg/kg BB tikus. Maka, berdasarkan konversi *Laurence & Bacharach* dosis untuk mencit yaitu:

Dosis 350 mg/kg BB

$$\begin{aligned}
 \text{Pada tikus 200 g} &: 350 \text{ mg/kg BB} \times \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \\
 &= 350 \text{ mg/kg BB} \times \frac{1}{5} \\
 &= 70 \text{ mg/200 g tikus}
 \end{aligned}$$

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

Pada mencit 20 g = 70 mg × 0,14

$$= 9,8 \text{ mg}/20 \text{ g mencit}$$

Dosis 400 mg/kg BB

Dosis ekstrak etanol 96% bekatul 200 mg/kg BB

$$\text{Pada tikus } 200 \text{ g} : 400 \text{ mg/kg BB} \times \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}}$$

$$= 400 \text{ mg/kg BB} \times \frac{1}{5}$$

$$= 80 \text{ mg}/200 \text{ g tikus}$$

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

$$\text{Pada mencit } 20 \text{ g} = 80 \text{ mg} \times 0,14$$

$$= 11,2 \text{ mg}/20 \text{ g mencit}$$

Dosis 500 mg/kg BB

$$\text{Pada tikus } 200 \text{ g} : 500 \text{ mg/kg BB} \times \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}}$$

$$= 500 \text{ mg/kg BB} \times \frac{1}{5}$$

$$= 100 \text{ mg}/200 \text{ g tikus}$$

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

$$\text{Pada mencit } 20 \text{ g} = 100 \text{ mg} \times 0,14$$

$$= 14 \text{ mg}/20 \text{ g mencit}$$

b. Perhitungan Dosis Aloksan

Dosis aloksan yang digunakan mengacu pada penelitian Arifin, dkk (2007) yang menggunakan dosis 200 mg/kg BB tikus. Prosedur perhitungan yang dilakukan yaitu dengan menghitung dosis untuk. Sehingga berdasarkan konversi Laurence & Bacharach dosis aloksan yang digunakan pada mencit yaitu:

Dosis tikus 200 mg/Kg BB

$$\text{Pada tikus } 200 \text{ g} : 200 \text{ mg/kg BB} \times \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}}$$

$$= 200 \text{ mg/kg BB} \times \frac{1}{5}$$

$$= 40 \text{ mg}/200 \text{ g tikus}$$

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

$$\begin{aligned}\text{Pada mencit } 20 \text{ g} &= 40 \text{ mg} \times 0,14 \\ &= 5,6 \text{ mg}/20 \text{ g mencit}\end{aligned}$$



Lampiran 4. Pembuatan Larutan

4.1 Larutan NaCl 0,9%

Kristal NaCl diambil dan ditimbang sebanyak 0,9 g menggunakan neraca analitik dalam gelas arloji, kemudian dimasukkan dalam beaker glass 50 ml dan dilarutkan dengan ± 5 ml akuades. Dilakukan pengadukan dengan gelas pengaduk sampai larut sempurna. Setelah itu, dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml menggunakan corong gelas dan ditandabatkan. Kemudian dikocok hingga homogen.

4.2 Larutan Aloksan

Aloksanmonohidratditimbangsebanyak 100,8 mg, kemudiandilarutkandalam NaCl 0,9% b/v sebanyak5 ml.

4.3 Larutan CMC-Na 0,5%

Serbuk CMC-Na ditimbang sebanayak 0,5 g denmenggunakan 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.

4.4 HCl 1 N

Perhitungan yang digunakan sebagai berikut :

$$\text{BJ HCl pekat} = 1.19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\% \text{ Volume} = 37\% (0,37)$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ gr/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^+\text{)}$$

Molaritas HCl (M) :

$$\text{Massa HCl} = \text{BJ HCl pekat} \times \%$$

$$= 1190 \text{ g/L} \times 0,37$$

$$= 440,3 \text{ gr}$$

$$\text{Mol HCl} = \frac{\text{Massa HCl}}{\text{BM HCl}} = \frac{440,3 \text{ gr}}{36,42 \text{ gr/mol}} = 12,09 \text{ mol}$$

$$\text{Konsentrasi HCl (M)} = \frac{\text{Mol HCl}}{\text{Volume HCl}} = \frac{12,09 \text{ mol}}{1 \text{ L}} = 12,09 \text{ M}$$

$$\text{Normalitas HCl} = n \times \text{Molaritas HCl}$$

$$= 1 \times 12,09 \text{ M}$$

$$= 12,09 \text{ N}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8,27 \text{ mL} = 8,3 \text{ mL}$$

Cara pembuatan adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 8,3 mL dengan pipet ukur 10 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang berisi ± 15 mL akuades. Selanjutnya ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

4.5 Larutan Asam Trikloroasetat (TCA) 5%

Asam trikloroasetat ditimbang sebanyak 5 gram dan dilarutkan dalam akuades hingga mencapai volume 100 mL.

4.6 Larutan Asam Tiobarbiturat (TBA) 1%

Asam tiobarbiturat ditimbang sebanyak 1 gram dan dilarutkan dalam akuades hingga mencapai volume 100 mL.

Lampiran 5 Perhitungan Kadar Air dan Rendemen Ekstrak

5.1 Perhitungan Kadar Air

Data Pengukuran Kadar Air Sampel Bekatul

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

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

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

Berikut

rumus perhitungan kadar air, yaitu:

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

Keterangan:

a = berat konstanta cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dioven

c = berat konstanta cawan + sampel setelah dikeringkan

1. Perhitungan kadar air sampel kering

a. Ulanganke 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. Ulanganke 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. Ulanganke 3

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

Sehinggahasil rata-rata kadar air dariulanganke 1 sampaiulanganke 3 adalahsebagaiberikut:

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

5.2 Perhitungan Rendemen Ekstrak

Diketahui: berat sampel = 250 gram

berat ekstrak = 36,634 gram

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

$$\begin{aligned} \text{Sehingga \% rendemen} &= \frac{36,634 \text{ gram}}{250 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 14,654\% \end{aligned}$$



Lampiran 6. Data Kadar Glukosa Darah Mencit (mg/dL)

	Ulangan	H ₀	H ₁	H ₄	H ₈	H ₁₅	H ₁₋₁₅
KN (Kontrol Normal)	1	105	103	98	101	100	3
	2	117	120	114	110	108	12
	3	83	79	82	79	74	5
	4	64	64	70	62	56	8
KP (Kontrol Positif)	1	72	600	409	593	470	130
	2	40	409	136	123	111	298
	3	56	600	600	600	261	339
	4	68	570	222	257	272	298
KT ₁ (350 mg/ Kg BB)	1	52	581	600	600	476	105
	2	67	247	452	512	424	-177
	3	87	264	173	136	221	43
	4	96	597	401	502	320	277
KT ₂ (400 mg/ Kg BB)	1	82	210	162	138	141	69
	2	101	600	600	600	192	408
	3	125	600	600	600	217	383
	4	74	394	370	193	161	233
KT ₃ (500 mg/ Kg BB)	1	70	317	581	600	120	197
	2	115	528	455	402	418	110
	3	66	395	600	129	377	18
	4	67	284	235	104	152	132

L.6.1 Hasil Uji Normalitas (Saphiro-wilk) Kadar Glukosa Darah Mencit Normal Sebelum Diabetes Mellitus (H_0) 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

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima apabila nilai signifikansi $< 0,05$

H_0 ditolak apabila nilai signifikansi $> 0,05$

Tests of Normality						
Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_Glukosa 1	.206	4	.	.969	4	.833

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: H_0 ditolak, sehingga data terdistribusi secara normal. Mencit yang digunakan dalam penelitian ini merupakan mencit sehat, normal dan terpilih secara acak.

L.6.2 Hasil Uji Normalitas (Saphiro-wilk) Kadar Glukosa Darah Mencit Normal Pada Saat Menderita Diabetes Mellitus (H_1) 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

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima apabila nilai signifikansi $< 0,05$

H_0 ditolak apabila nilai signifikansi $> 0,05$

Tests of Normality

Perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_Glukoa	2	.359	4	.	.738	4	.029
	3	.295	4	.	.771	4	.060
	4	.286	4	.	.864	4	.276
	5	.222	4	.	.924	4	.562

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: Perlakuan 2 nilai signifikansi $< 0,05$ sehingga H_0 diterima. Data tidak terdistribusi secara normal. Namun, pada perlakuan yang lainnya nilai signifikansi $> 0,05$ sehingga data terdistribusi secara normal. Aloksan yang telah diinjeksikan menyebabkan diabetes mellitus, tetapi tingkat diabetesnya tidak terdistribusi secara normal.

L.6.3 Hasil Uji Normalitas (Saphiro-wilk) Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit (H_{15-1}) Setelah Diterapi Ekstrak Etanol 96% Bekatul 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

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima apabila nilai signifikansi $< 0,05$

H_0 ditolak apabila nilai signifikansi $> 0,05$

Tests of Normality

Perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_Glukosa	1	.195	4	.	.971	4	.850
	2	.384	4	.	.797	4	.098
	3	.210	4	.	.984	4	.927
	4	.258	4	.	.905	4	.455
	5	.227	4	.	.976	4	.877

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: H_0 ditolak karena nilai signifikansi $> 0,05$, sehingga data terdistribusi secara normal.

L.6.4 Hasil Uji Homogenitas (Levene) Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit (H_{15-1}) Setelah Diterapi Ekstrak Etanol 96% Bekatul Dengan Menggunakan SPSS 16.00

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data mempunyai varian yang sama

Hipotesis : H_0 : Data tidak homogen

H_1 : Data homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima apabila nilai signifikansi $< 0,05$

H_0 ditolak apabila nilai signifikansi $> 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

Kadar Glukosa			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.482	4	15	.088

Kesimpulan: H_0 ditolak karena nilai signifikansi $> 0,05$, sehingga data homogen dan memiliki varian yang sama.

L.6.5 Hasil Uji Analisis Variasi (One Way ANOVA) Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit (H_{15-1}) Setelah Diterapi Ekstrak Etanol 96% Bekatul Dengan Menggunakan SPSS 16.00

Tujuan : Untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh terapi ekstrak etanol 96% bekatul terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit diabetes mellitus

Hipotesis : H_0 : Terapi ekstrak etanol bekatul 96% tidak berpengaruh terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes mellitus

H_1 : Terapi ekstrak etanol 96% bekatul berpengaruh terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes mellitus

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima apabila nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak apabila nilai signifikansi $< 0,05$

ANOVA

Kadar glukosa					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	232108.700	4	58027.175	3.930	.022
Within Groups	221460.250	15	14764.017		
Total	453568.950	19			

Kesimpulan: H0 ditolak karena nilai signifikansi < 0,05, sehingga terdapat pengaruh terapi ekstrak etanol 96% bekatul terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit diabetes mellitus.

Kemudian diuji lanjut untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar perlakuan menggunakan Duncan, hal ini dikarenakan koefisien keragaman >10%. Berdasarkan uji lanjut Duncan diperoleh:

Kadar glukosa			
Duncan			
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
"KN"	4	7.00	
"KT1"	4	62.00	
"KT3"	4	114.25	114.25
"KP"	4		266.25
"KT2"	4		273.25
Sig.		.255	.099

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

L.6.6 Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah Berdasarkan Kondisi Diabetes Mellitus Awal

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar glukosa darah normal} &= \frac{\sum \text{kadar glukosa darah normal}}{n} \\ &= \frac{105+117+83+64+103+120+79+64+100+108+74+56}{16} = 67,063 \end{aligned}$$

- Penurunan kadar glukosa darah terhadap keadaan normal

$$= \frac{H1-H15}{H1-67,063} \times 100 \%$$

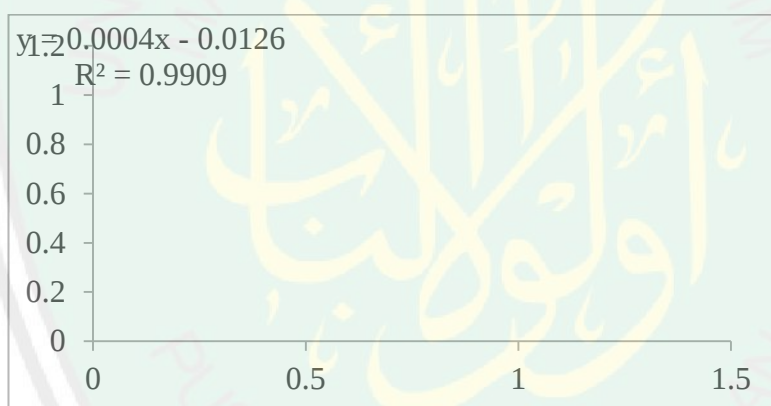
Tabel 6.6 Presentase Penurunan Kadar Glukosa Darah

Kelompok	Pengulangan	H ₁	H ₁₅	Persentase %
KT ₁ (350 mg/KgBB)	1	581	476	20,43
	2	247	424	-98,36
	3	264	221	21,834
	4	597	320	52,27
KT ₂ (400 mg/KgBB)	1	210	141	48,273
	2	600	192	76,557
	3	600	217	71,866
	4	394	161	71,268
KT ₃ (500 mg/KgBB)	1	317	120	78,829
	2	528	418	23,864
	3	395	377	5,488
	4	284	152	60,847

Lampiran 7. Perhitungan Kadar Malondialdehid (MDA)

Data dan Grafik Kurva Standart MDA

No	Kadar MDA (ng/mL)	Absorbansi
1	16,125	0,003
2	31,25	0,008
3	62,5	0,019
4	125	0,032
5	250	0,074
6	500	0,174
7	1000	0,482
8	2000	0,834



L.7.1 Data Hasil Pengukuran Kadar MDA pada Masing-masing Kelompok

Kelompok	Sampel	Absorbansi	Kadar MDA (ng/mL)
Kontrol Normal (KN)	1	0,229	604,00
	2	0,202	536,50
	3	0,204	541,50
	4	0,213	564,00
	Rata-rata		561,50
Kontrol Positif (KP)	1	0,265	694,00
	2	0,215	569,00
	3	0,209	554,00
	4	0,236	621,50
	Rata-rata		609,63
Kontrol Terapi 1 (350 mg/KgBB) (KT1)	1	0,236	621,50
	2	0,235	619,00
	3	0,224	591,50
	4	0,274	716,50
	Rata-rata		637,13
Kontrol Terapi 2 (400 mg/KgBB) (KT2)	1	0,228	601,50
	2	0,214	566,50
	3	0,226	596,50
	4	0,255	669,00
	Rata-rata		608,38
Kontrol Terapi 3 (500 mg/KgBB) (KT3)	1	0,253	664,00
	2	0,218	576,50
	3	0,217	574,00
	4	0,252	661,50
	Rata-rata		619,00

L.7.2 Data dan Diagram Batang rata-rata Kadar MDA Hati setiap Kelompok Perlakuan

No	Kode	Kadar MDA (ng/mL)
1	KN	561.500
2	KP	609.625
3	KT1	637.125
4	KT2	608.375
5	KT3	619.000



L.7.3 Hasil Uji Normalitas (Saphiro-wilk) Kadar MDA Hati Mencit tiap Perlakuan

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data terdistribusi normal

Hipotesis : H_0 : Data tidak terdistribusi normal

H_1 : Data terdistribusi normal

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima apabila nilai signifikansi $< 0,05$

H_0 ditolak apabila nilai signifikansi $> 0,05$

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar_MDA	.139	20	.200 [*]	.941	20	.246

a. Lilliefors Significance Correction

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

Kesimpulan: H_0 ditolak karena nilai signifikansi $> 0,05$, sehingga data terdistribusi secara normal.

L.7.4 Hasil Uji Homogenitas (Lavene) Kadar MDA Hati Mencit tiap Perlakuan

Tujuan : Untuk mengetahui apakah data memiliki variasi yang sama

Hipotesis : H_0 : Data tidak homogen

H_1 : Data homogen

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima apabila nilai signifikansi $< 0,05$

H_0 ditolak apabila nilai signifikansi $> 0,05$

Test of Homogeneity of Variances

Kadar MDA			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.794	4	15	.547

Kesimpulan: H_0 ditolak karena nilai signifikansi $> 0,05$, sehingga data homogen atau memiliki variasi yang sama.

L.7.5 Hasil Uji Analisis Variasi (One Way ANOVA) Kadar MDA Hati Mencit Diabetes Mellitus yang Telah Diterapi Ekstrak Etanol 96% Bekatul Menggunakan SPSS 16.00

Tujuan : Untuk mengetahui apakah terdapat pengaruh terapi ekstrak etanol 96% bekatul terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit diabetes mellitus

Hipotesis : H_0 : Terapi ekstrak etanol bekatul 96% tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA pada hati mencit diabetes mellitus

H_1 : Terapi ekstrak etanol 96% bekatul berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA pada hati mencit diabetes mellitus

α : 0,05

Pengambilan kesimpulan: H_0 diterima apabila nilai signifikansi $> 0,05$

H_0 ditolak apabila nilai signifikansi $< 0,05$

ANOVA

Kadar MDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	12521.875	4	3130.469	1.266	.326
Within Groups	37076.562	15	2471.771		
Total	49598.438	19			

Kesimpulan: H_0 ditolak karena nilai signifikansi $> 0,05$, sehingga terapi ekstrak etanol 96% bekatul tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA pada hati mencit diabetes mellitus.



Lampiran 8. Perhitungan Koefisien Keragaman

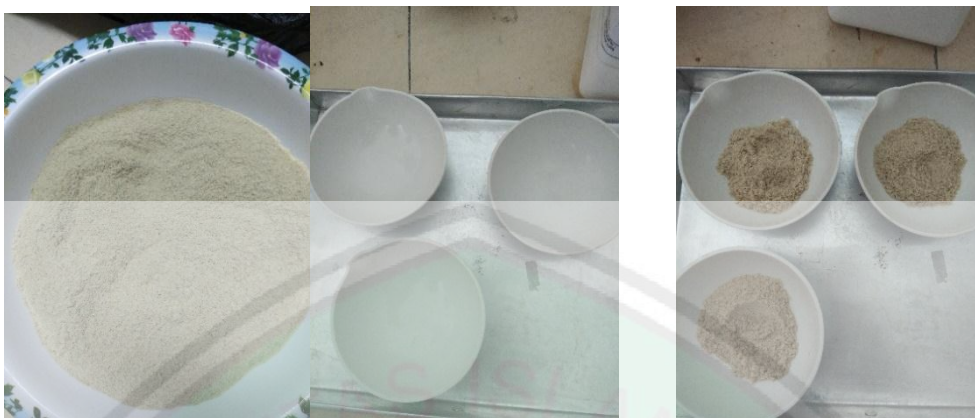
Perlakuan	U1	U2	U3	U4	Rata2
KN	3	12	5	8	7
KP	130	298	339	298	266,25
KT1	105	-177	43	277	62
KT2	69	408	383	233	273,25
KT3	197	110	18	132	114,55
Rata-rata (y)					144,55

SK	db	JK	KT	Fhitung	Ftabel 5%
Perlakuan	4	2322109	58027,175	3,930	3,06
Galat	15	221460	14764,017		
Total	19	453569			

$$\text{Koefisien Keragaman} = \frac{\sqrt{KTG}}{y} \times 100\% = \frac{\sqrt{14764,017}}{144,55} \times 100\% = 84,05\%.$$

Lampiran 9. Dokumentasi

L.9.1 Preparasi Sampel



L.9.2 Ekstraksi Etanol 96% Bekatul



L.9.3 Pembuatan Mencit Diabetes Mellitus



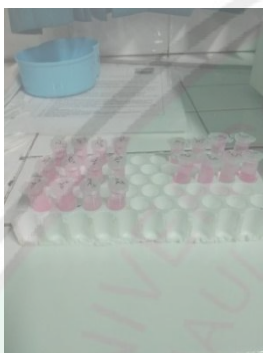
L.9.4 Pengukuran Kadar Glukosa Darah



L.9.5 Terapi Ekstrak Etanol 96% bekatul



L.9.6 Mencit Pengukuran Kadar MDA Pada Hati Mencit Diabetes Mellitus





**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. 201612011515

dr. Avin Anur 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).

