

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*) TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**



Oleh:

**Siti Imro'atul Muharomah
20144304A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*) TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Skripsi

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat Sarjana Farmasi (S. Farm.)
Program Studi S1-Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

**Siti Imro'atul Muharomah
20144304A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH
(*Piper crocatum*) TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh:

**Siti Imro'atul Muharomah
20144304A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 3 Juni 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama

Dr. Jason Merari P, S.Si., MM., M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Ghani Nurfiana Fadma Sari, M.Farm., Apt

Penguji:

1. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

1.....

2. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt

2.....

3. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt

3.....

4. Dr. Jason Merari P, S.Si., MM., M.Si., Apt

4.....

HALAMAN PERSEMBAHAN

Man jadda wa jadda

Siapa yang bersungguh-sungguh akan berhasil.

Sesungguhnya sesudah kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), maka kerjakan urusan yang lain dengan sungguh-sungguh (Q.S. Al-Insyirah: 6-7)

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

Allah SWT dan Rasulullah Muhammad SAW yang memberikan nikmat yang tak terhingga sehingga kita tidak bisa menghitung banyaknya nikmat, kesehatan dan kelancaran dalam kehidupan

Bapak (Tukimin), Ibu (Nariyem) dan Adek (Nur Janah) saya yang tak henti memberikan doa, membimbingku, memotivasiku dan seluruh dukungan dalam mengerjakan skripsi ini

Bapak dan ibu pembimbing skripsi yang selalu membantu dan memotivasi dalam mengerjakan skripsi

Semua teman-teman ku terimakasih atas segalanya

PERNYATAAN

Saya menyatakan skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di perguruan tinggi lain dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain. Kecuali yang secara diacu didalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiblakan dari penelitian atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis ataupun hukum.

Surakarta, 3 Juli 2018

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Siti Imro'atul Muharomah' with a stylized flourish at the end.

Siti Imro'atul Muharomah

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan hidayah serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN”**. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S.Farm) di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan skripsi ini tidak lepas dari bantuan semua pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., Selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Ibu Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M. Sc., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Bapak Dr. Jason Merari P, S.Si., MM.,M.Si.,Apt., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, dorongan semangat dan saran selama penyusunan skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Ghani Nurfiana Fadma Sari, M.Farm.,Apt., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, dorongan semangat dan saran selama penyusunan skripsi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Dwi Ningsih, M.Farm.,Apt selaku dosen pembimbing akademik.
6. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt., Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt dan Dwi Ningsih, M.Farm.,Apt selaku tim penguji yang telah memberikan masukan demi sempurnanya skripsi ini.
7. Keluarga peneliti (Bapak Tukimin, Ibu Nariyem, Adek Nur Janah) saya yang tak henti memberikan doa, membimbingku, memotivasiku dan seluruh dukungan dalam mengerjakan skripsi ini.
8. Segenap dosen, staff, laboran dan asisten laboratorium Universitas Setia Budi yang sudah membantu penulis pada pelaksanaan praktikum.

9. Staff perpustakaan Universitas Setia Budi yang memberikan fasilitas perpustakaan.
10. Bapak, ibu seluruh keluarga besar serta teman-teman S1 Farmasi angkatan 2014 dan semua pihak yang membantu dalam penyelesaian skripsi ini.
11. Kawan seperjuangan (Rine, Okta, Mamardika, Citra, Risna, Mentari, Dian) yang sudah menemani dalam senang dan sulitnya perjuangan untuk mendapatkan gelar S.Farm ini, teman kost Agung Rejeki (Bela, Noviana), soulmate (Sun Esillia, Wahyu Dwi) yang selalu membantu dan mendukung.
12. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kesalahan dan kekurangan dalam penulisan skripsi ini, tetapi penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat serta menambah pengetahuan di bidang Farmasi.

Surakarta, 3 Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN	xii
INTISARI	xii
ABSTRACT	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Sirih Merah	6
1. Sistematika Tanaman	6
2. Nama Lain	6
3. Morfologi tanaman	7
4. Kandungan kimia	7
5. Kegunaan tanaman	7
B. Simplisia	7
C. Ekstraksi	8
1. Pengertian ekstraksi	8
1.1 Maserasi	8
1.2 Perkolasi	9
1.3 Digesti	9
1.4 Infus	9

1.5	Sokhletasi.....	9
1.6	Refluks.....	9
1.7	Dekok	10
2.	Pelarut	10
D.	Diabetes Melitus	10
1.	Definisi.....	11
2.	Patofisiologi	11
2.1	Diabetes Melitus tipe 1.....	11
2.2	Diabetes Melitus tipe 2.....	11
3.	Klasifikasi	11
3.1	DM tipe 1.....	11
3.2.	DM tipe II.....	12
3.3.	DM Gestasional.....	12
3.4	Pra-diabetes.....	12
3.5	DM tipe lain.....	12
4.	Tanda dan Gejala.....	12
5.	Diagnosis DM	12
6.	Komplikasi DM.....	13
6.1	Komplikasi Akut Diabetes Melitus.....	13
6.2	Komplikasi Kronis Diabetes Melitus	13
7.	Obat antidiabetik oral	14
E.	Glibenklamid	15
F.	Metode Uji Efek Antidiabetes.....	16
1.	Uji efek Diabetes Melitus	16
1.1	Metode uji beban glukosa.....	16
1.2	Metode uji diabetes aloksan.....	17
1.3	Metode uji diabetes streptozotocin.....	17
2.	Metode analisa kadar glukosa darah.....	17
G.	Aloksan	18
H.	Hewan Percobaan	19
1.	Sistematika tikus.....	19
2.	Karakteristik tikus	19
3.	Biologi tikus	19
4.	Pemberian secara oral	20
5.	Teknik pengambilan dan pemegangan tikus.....	20
I.	Histopatologi Organ Pankreas.....	20
J.	Landasan Teori	22
K.	Hipotesis.....	23
L.	Kerangka pikir	24
BAB III METODE PENELITIAN		25
A.	Populasi dan Sampel.....	25
1.	Populasi.....	25
2.	Sampel	25
B.	Variabel Penelitian.....	25
1.	Identifikasi variabel utama.....	25

2.	Klasifikasi variabel utama.....	25
3.	Definisi operasional variabel utama	26
C.	Alat dan Bahan	27
1.	Alat	27
2.	Bahan	27
D.	Jalannya Penelitian	27
1.	Determinasi tanaman	27
2.	Pengumpulan bahan.....	28
3.	Pencucian	28
4.	Pengeringan.....	28
5.	Pembuatan ekstrak daun sirih merah	28
6.	Penetapan kadar air serbuk ekstrak daun sirih merah.....	28
7.	Tes bebas alkohol	29
8.	Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirih merah dengan Metode KLT.....	29
9.	Pembuatan larutan	29
11.	Pengelompokan dan perlakuan hewan uji	30
12.	Prosedur pengujian	31
E.	Histopatologi Organ Pankreas.....	32
1.	Pembuatan preparat histopatologi	32
2.	Pemeriksaan histopatologi	33
F.	Alur penelitian	34
G.	Alur Pemeriksaan Histopatologi.....	36
H.	Analisis Data	36
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	38
A.	Hasil Determinasi Tanaman	38
B.	Pengambilan Sampel.....	38
C.	Hasil Penetapan Kadar Air Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah	38
D.	Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah.....	39
E.	Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak	40
F.	Identifikasi Senyawa Daun Sirih Merah Dengan Metode KLT	40
G.	Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus	42
H.	Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes.....	42
I.	Hasil Pemeriksaan Histopatologi Pankreas.....	53
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	56
A.	Kesimpulan.....	56
B.	Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN	63

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman Sirih Merah	6
Gambar 2. Struktur glibenklamid	15
Gambar 3. Struktur Aloksan	18
Gambar 4. Kerangka pikir penelitian	24
Gambar 5. Pembuatan ekstrak Daun Sirih Merah	34
Gambar 6. Skema uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun sirih merah dalam variasi dosis	35
Gambar 7. Skema Pembuatan preparat histopatologi	36
Gambar 8. Grafik hubungan berat badan tikus (gram) dengan waktu pengukuran (hari)	47
Gambar 9. Grafik hubungan rata-rata kadar glukosa darah (mg/dl) dengan waktu pengukuran (hari)	47
Gambar 10. Grafik rata-rata AUC total	50
Gambar 11. Hasil foto preparat organ pankreas dengan perbesaran 1000x; tanda panah tersebut menunjukkan sel-sel pada pulau Langerhans (a) sel normal; (b) piknosis dan (c) karyoreksis.	52
Gambar 12. Grafik rata-rata presentase nekrosis	53

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun sirih merah	39
Tabel 2. Hasil rendemen ekstrak etanol daun sirih merah	39
Tabel 3. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun sirih merah	40
Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirih merah.....	41
Tabel 5. Rata-rata berat badan tikus	41
Tabel 6. Perubahan berat badan tikus	41
Tabel 7. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran penurunan glukosa darah pada berbagai kelompok penelitian.	46
Tabel 8. Rata-rata perhitungan kadar glukosa darah (mg/dl)	46
Tabel 9. Rata-rata persentase nekrosis pada masing-masing kelompok perlakuan	53

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat determinasi tanaman.....	64
Lampiran 2. Surat <i>Ethical clearance</i>	65
Lampiran 3. Surat keterangan hewan.....	66
Lampiran 4. Foto tanaman daun sirih merah.....	67
Lampiran 5. Foto alat-alat praktikum	68
Lampiran 6. Foto bahan-bahan untuk praktikum diabetes dan hewan uji	69
Lampiran 7. Kegiatan penelitian.....	70
Lampiran 8. Perhitungan rendemen simplisia daun sirih merah	71
Lampiran 9. Perhitungan rendemen serbuk daun sirih merah.....	72
Lampiran 10. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun sirih merah.....	73
Lampiran 11. Penetapan kadar air	74
Lampiran 12. Foto hasil identifikasi senyawa kimia dengan KLT.....	75
Lampiran 13. Perhitungan dosis	77
Lampiran 14. Hasil pengukuran kadar glukosa darah	82
Lampiran 15. Perhitungan AUC total	83
Lampiran 16. Hasil pengukuran berat badan tikus	82
Lampiran 17. Hasil perubahan berat badan tikus	82
Lampiran 18. Laporan Data Kuantitatif Histopatologi Pankreas	82
Lampiran 19. Histopatologi pankreas tikus.....	83
Lampiran 20. Hasil uji statistik <i>Repeated ANOVA</i> ekstrak etanol daun sirih merah dosis 100mg/kg bb.....	88
Lampiran 21. Hasil uji statistik <i>Repeated ANOVA</i> ekstrak etanol daun sirih merah dosis 200mg/kg bb.....	90
Lampiran 22. Hasil uji statistik <i>Repeated ANOVA</i> ekstrak etanol daun sirih merah dosis 400mg/kg bb.....	92
Lampiran 23. Hasil uji statistik kadar glukosa darah tikus T ₀	94

Lampiran 24. Hasil uji statistik kadar glukosa darah tikus T ₁	96
Lampiran 25. Hasil uji statistik kadar glukosa darah tikus T ₂	98
Lampiran 26. Hasil uji statistik kadar glukosa darah tikus T ₃	100
Lampiran 27. Hasil uji statistik kadar glukosa darah tikus T ₄	102
Lampiran 28. Hasil uji statistik One Way ANOVA rata-rata kadar AUC.....	104
Lampiran 29. Hasil uji statistik histopatologi pankreas.....	106

DAFTAR SINGKATAN

ANOVA	Analysis of variances
ATP	Adenosin Trifosfat
AUC	Area Under the Curve
CMC	Carbonil Methyl Cellulose
DM	Diabetes Mellitus
EDTA	Ethylen Diamine Tetra Acetic Acid
GLUT ₂	Glucose Transporter 2
H ₂ O ₂	Hidrogen peroksida
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
ROS	Reactive Oxygen Species
UV-Vis	Ultra Violet Visible

INTISARI

MUHAROMAH, SI., 2018, UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Tanaman daun sirih merah memiliki kandungan flavonoid sebagai penurunan glukosa darah dan mencegah kerusakan jaringan akibat stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki aktivitas antidiabetes terhadap penurunan kadar glukosa darah dan dalam memperbaiki histopatologi pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan.

Penelitian ini menggunakan 6 kelompok tikus wistar jantan. Kelompok I (kontrol normal); kelompok II (kontrol negatif); kelompok III (kontrol positif); kelompok IV (ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg bb); kelompok V (ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kg bb) dan kelompok VI (ekstrak daun sirih merah dosis 400 mg/kg bb). Setelah 21 hari perlakuan penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi pankreas pada sel β pulau Langerhans tikus, data di analisis dengan metode *one way anova* ($p < 0,05$) dilanjutkan uji *tukey*.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki aktivitas menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki histopatologi organ pankreas tikus. Dosis paling efektif yaitu pada ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg bb dimana terjadi penurunan kadar glukosa darah sebanding dengan glibenklamid sebagai kontrol positif.

Kata kunci: Daun sirih merah (*Piper crocatum*), glukosa darah, aloksan, histopatologi pankreas.

ABSTRACT

MUHAROMAH, SI., 2018, TEST ACTIVITY ANTIDIABETES EXTRACT ETHANOL LEAF LEAVES (*Piper crocatum*) ON WHOLE WHITE WISTAR WHITE RATS INDUCED ALOXAN. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Red betel leaf plants contain flavonoids as a decrease in blood glucose and prevent tissue damage due to oxidative stress. The aim of this research is to know the extract of red betel leaf ethanol (*Piper crocatum*) to have antidiabetic activity to decrease blood glucose level and to improve pancreatic histopathology in alloxan-induced rats.

This study used 6 groups of male wistar rats. Group I (normal control); group II (negative control); group III (positive control); group IV (red betel leaf extract dose 100 mg / kg bb); group V (red betel leaf extract dose 200 mg / kg bb) and group VI (red betel leaf extract dose 400 mg / kg bb). After 21 days of treatment of decreased blood glucose level and pancreatic histopathology on β -cell Langerhans island mice data were analyzed by one way anova method ($p < 0,05$) followed by tukey test.

The results of this study indicate that red betel leaf extract has activity to lower blood glucose levels and improve histopathology of pancreatic organ of mice. The most effective dose of red betel leaf extract dose 100 mg / kg bb where there is a decrease in blood glucose levels proportional to glibenclamide as a positive control.

Keywords: Red betel leaf (*Piper crocatum*), Blood glucose, alloxan, histopathology of pancreas.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Diabetes melitus merupakan sekelompok sindrom yang ditandai dengan hiperglikemia perubahan metabolisme lipid, karbohidrat, protein dan peningkatan resiko komplikasi penyakit pembuluh darah. Diabetes melitus di tandai dengan peningkatan kadar glukosa yang melebihi nilai normal (hiperglikemia) akibat peningkatan glukoneogenesis dan glikogenolisis (Goodman & Gilman 2007). Penyakit diabetes melitus tanda-tanda lainnya yaitu meningkatnya kadar glukosa darah diatas nilai normal karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (Perkeni 2011). Kekurangan hormon insulin menyebabkan gangguan proses biokimia di dalam tubuh, yaitu penurunan ambilan glukosa ke dalam sel dan terjadi peningkatan glukosa dari hati ke sirkulasi (Dewi 2014). Insulin membantu proses penghancuran dan penyerapan glukosa, asam lemak dan asam amino. Insulin tidak diproduksi oleh pankreas atau terjadi resistensi insulin maka kadar glukosa dalam darah meningkat sehingga ginjal tidak dapat memproses glukosa tersebut dan dikeluarkan melalui urin (Dewi 2014).

Menurut IDF (*Internasional Diabetes Federation* dalam Kemenkes 2014), penderita DM didunia pada tahun 2013 mencapai 382 juta dan diperkirakan akan meningkat menjadi 529 juta orang pada tahun 2035. Menurut WHO (*World Health Organization*) tahun 2012, 347 juta orang di seluruh dunia mengidap DM. Diabetes melitus merupakan penyebab langsung dari 1,5 juta kematian di tahun 2012, lebih dari 80% kematian karena DM terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah. WHO memproyeksikan bahwa DM akan menjadi 7 penyebab kematian utama pada tahun 2030. Kecepatan penyakit DM di Indonesia berkisar antara 1,4-1,6%, prevalensi DM diperkirakan mencapai 21,3 juta orang pada tahun 2030 (WHO 2014).

Pada penderita DM terjadi perubahan histopatologi pada organ pankreas. Perubahan ini dapat berupa kerusakan dan sering ditemukan sebagai salah satu gambaran patologis yang khas pada pasien dan hewan model DM. Perubahan pulau

Langerhans yang terutama terjadi pada populasi sel β ini, mengakibatkan kadar insulin dalam tubuh rendah, dan berdampak pada peningkatan kadar glukosa darah. Kerusakan pulau Langerhans yang terjadi dapat terlihat pada perubahan morfologi pulau Langerhansnya, baik secara kuantitatif seperti pengurangan jumlah pulau Langerhans, maupun secara kualitatif seperti nekrosis dan degenerasi sel endokrin pulau Langerhans (Sairlay 2017).

Penanganan diabetes melitus sementara ini dilakukan dengan obat-obat antidiabetikum. Pengobatan antidiabetikum oral dalam waktu jangka panjang cenderung mengakibatkan tidak berhasilnya pengobatan atau terjadi resistensi seperti timbulnya hipoglikemia, mual, rasa tidak enak diperut, dan anoreksia (Dewi *et al.* 2014). Penggunaan obat kimia secara berkelanjutan dapat memicu kerusakan organ yaitu pada efek samping obat disamping itu memiliki harga yang relatif mahal sehingga perlu dilakukan cara pengobatan alternatif dengan terapi herbal yang telah terbukti memiliki efektivitas yang cukup baik. Masyarakat mulai memahami bahwa penggunaan tumbuhan herbal berkhasiat obat sebenarnya bisa sejajar dan saling mengisi dengan pengobatan modern. Penggunaan tumbuhan berkhasiat obat dengan berbagai alasan herbal dijadikan sebagai pilihan utama untuk pengobatan. Pengobatan herbal masih digunakan sebagai pengobatan utama di negara berkembang, yaitu sekitar 75-80% dari total jumlah penduduk, hal ini karena obat herbal lebih diterima dalam hal kebudayaan, lebih terjangkau, lebih sesuai didalam tubuh dan memiliki efek samping yang ringan. Beberapa tahun terakhir, pengobatan herbal di negara maju mulai meningkat (Musa *et al.* 2009).

Salah satu yang telah diketahui pengobatan tradisional dengan menggunakan tanaman herbal yaitu dengan daun sirih merah. Daun sirih merah dapat dimanfaatkan sebagai obat dengan cara mengkonsumsi daunnya, atau dengan cara diekstrak terlebih dahulu untuk mengambil bahan aktif yang ada dalam daun sirih merah. Kandungan senyawa fitokimia daun sirih merah yakni minyak atsiri, alkaloid, saponin, dan flavonoid (Kusuma 2016). Flavonoid adalah salah satu senyawa yang mengandung antioksidan yang dapat bertindak sebagai penangkap radikal hidroksil. Senyawa antioksidan yang terdapat didalam ekstrak daun sirih merah mampu menetralkan senyawa radikal bebas berlebih di dalam sel

β pankreas dengan cara menyumbangkan elektronnya atau memutus reaksi berantai dan menyebabkan radikal bebas menjadi stabil sehingga dapat menghentikan atau menghambat kerusakan oksidatif pada sel β pankreas karena pemberian aloksan (Dewi *et al.* 2014). Daun sirih merah secara empiris dapat menyembuhkan berbagai penyakit seperti DM, hepatitis, batu ginjal, menurunkan kolesterol, mencegah stroke, asam urat, hipertensi, radang liver, radang prostat, radang mata, keputihan, maag, kelelahan, nyeri sendi dan memperhalus kulit (Kusuma 2016). Penelitian secara *in vivo*, aktivitas farmakologi sirih merah untuk antihiperqlikemia (Kusuma 2016), dan penyembuhan luka DM.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena tidak memakai pemanasan serta merupakan ekstraksi sederhana. Senyawa aktif tidak akan rusak bila tanpa pemanasan (Depkes 1986). Pengujian aktivitas antidiabetes ini menggunakan metode hewan uji yang dibuat diabetes dengan diabetogen aloksan karena obat ini cepat menimbulkan hiperglikemi dalam waktu dua sampai tiga hari (Depkes 1993). Aloksan secara cepat mencapai pankreas, aksinya diawali oleh pengambilan yang cepat oleh sel β langerhans. Pembentukan oksigen reaktif adalah faktor utama pada kerusakan sel yang diawali dengan proses reduksi aloksan dalam sel β langerhans (Szkudelski 2001). Kerusakan sel β langerhans mengakibatkan berkurangnya granula-granula pembawa insulin di dalam sel β pankreas. Sehingga mengakibatkan glukosa darah meningkat. Aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal, dan subkutan pada hewan uji (Szkudelski 2001).

Hasil penelitian (Dewi *et al.* 2014) menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah 2% pada dosis 50 mg/kg bb dan dosis 100 mg/kg bb tikus mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan (*Ratus novergicus*). Ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg bb tikus menunjukkan penurunan kadar glukosa darah sebanding dengan pemberian glibenklamid. Penelitian tersebut membuktikan bahwa adanya khasiat daun sirih merah sebagai antidiabetes.

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan berbagai variasi dosis yang optimal pada daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap penurunan kadar glukosa darah.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka permasalahan penelitian dapat dirumuskan sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper cocatum*) memiliki aktivitas antidiabetes terhadap penurunan kadar glukosa darah?

Kedua, apakah ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper cocatum*) dapat memperbaiki histopatologi pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan?

Ketiga, berapakah ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) dosis 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg bb yang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah?

Keempat, berapakah ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) dosis 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg bb yang efektif dalam memperbaiki histopatologi pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah :

Pertama, untuk mengetahui ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) memiliki aktivitas antidiabetes terhadap penurunan kadar glukosa darah pada tikus.

Kedua, untuk mengetahui ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) dalam memperbaiki histopatologi pankreas yang diinduksi aloksan.

Ketiga, untuk mengetahui ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) dosis 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg bb yang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus

Keempat, untuk mengetahui ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* dosis 100 mg/kg, 200 mg/kg, dan 400 mg/kg bb yang efektif) dalam memperbaiki histopatologi pankreas yang diinduksi aloksan.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini diharapkan untuk peneliti dapat memberikan bukti ilmiah tentang manfaat dari ekstrak etanol daun sirih merah sebagai antidiabetes terhadap tikus jantan. Bagi pendidikan diharapkan dapat memberikan bahan pertimbangan untuk melakukan penelitian dan pengembangan informasi lebih lanjut tentang obat-obat fitofarmaka. Penelitian diharapkan untuk masyarakat dapat menambah informasi dibidang farmasi tentang obat tradisional yaitu ekstrak daun sirih merah sebagai obat diabetes.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirih Merah

1. Sistematika Tanaman

Taksonomi (Tjitrosoepomo 2005)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Piperales
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper cf. fragile</i> , Benth
Sinonim	: <i>Piper crocatum</i> , Ruiz & Pav.



Gambar 1. Tanaman Sirih Merah (Prasetyo 2016)

2. Nama Lain

Nama daerah untuk sirih merah yaitu sirih talan (Maluku), jahe sunti (Jawa), sereh, sireh, canbei, seureuh, sedah, ganjang, bolu, ani-ani, amu atau reman (Sudewo 2010). Sirih merah juga disebut sebagai guan shang hu jiao (Cina) dan ornamental pepper (Inggris) (Mardiana 2004).

3. Morfologi tanaman

Tanaman sirih merah merupakan tumbuhan menjalar. Batangnya berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Selain itu, batangnya bersulur dan beruas dengan jarak buku 5-10 cm serta setiap ruas ditumbuhi bakal akar. Daunnya bertangkai dengan bagian atas meruncing, bertepi rata, permukaannya mengkilap dan tidak berbulu. Panjang daunnya dapat mencapai 15-20 cm. Daun bagian atas berwarna hijau bercorak putih keabuan. Daun bagian bawah berwarna merah hati cerah. Daunnya berlendir, berasa sangat pahit, dari beraroma khas sirih (Sudewo 2010).

4. Kandungan kimia

Hasil pemeriksaan penapisan fitokimia dengan menggunakan kromatografi lapis tipis sampel daun sirih merah mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat, tannin, dan minyak atsiri (Sudewo 2010). Minyak atsiri yang terkandung dalam sirih merah yaitu kavikol, kavibetol, estragol, sineol, karvakrol, eugenol, sineol, metileugenol, kariofilen, dan arecolin (Nisa *et al.* 2014).

5. Kegunaan tanaman

Daun sirih merah secara empiris digunakan untuk mengatasi diabetes melitus, jantung koroner, radang prostat, tuberculosis, hiperurisemia, kanker payudara dan kanker rahim, ambeien, penyakit ginjal, hepatitis (Sudewo 2010). Berdasarkan penelitian secara *in vitro* diketahui bahwa sirih merah mempunyai aktivitas sebagai antibakteri (Agustina 2011), antiproliferatif (Wicaksono 2013), antioksidan (Agustina 2011) sedangkan dalam penelitian *in vivo*, aktivitas farmakologis sirih merah yaitu antihiperglikemia (Safithri 2008), antiinflamasi (Agustina 2011) dan penyembuhan luka diabetes (Agustina 2011).

B. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami proses apapun kecuali dinyatakan lain, umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelikan atau mineral (Gunawan & Mulyani 2004).

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia harus memenuhi persyaratan tertentu dalam menjamin keseragaman senyawa aktif, keamanan dan kegunaannya. Faktor-faktor penting yang mempengaruhi simplisia antara lain bahan baku simplisia, proses pengolahan dan pengepakan (Gunawan & Mulyani 2004).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah segala proses penarikan zat utama yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih berdasarkan zat yang ingin dilarutkan. Bahan-bahan tanaman terdiri dari campuran zat yang berbeda-beda, beberapa bahan ada mempunyai efek farmakologi dan oleh karena itu dianggap sebagai zat yang dibutuhkan dan yang lainnya yang tidak aktif secara farmakologis dianggap sebagai zat *inert* (Ansel 2011).

1.1 Maserasi. Maserasi berasal dari kata “macerare” artinya melunakkan. Maserata adalah hasil penarikan simplisia dengan cara maserasi, sedangkan maserasi adalah cara penarikan simplisia dengan merendam simplisia tersebut dalam cairan penyari pada suhu biasa ataupun memakai pemanasan (Pramesti 2017). Keuntungan dari maserasi adalah lebih praktis, pelarut yang digunakan lebih sedikit dibandingkan perkolasi dan tidak memerlukan pemanasan, sedangkan kekurangannya adalah waktu dibutuhkan lebih lama. Filtrat yang diperoleh dari proses tersebut diuapkan dengan alat penguap putar vakum (*vacuum rotary evaporator*) hingga menghasilkan ekstrak pekat (Pramesti 2017).

1.2 Perkolasi. Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperature ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap meserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (Depkes RI 2000). Kelebihan dari metode perkolasi adalah tidak terjadi kejenuhan. Kekurangan dari metode perkolasi adalah cairan penyari lebih banyak dan resiko cemaran mikroba untuk penyari air karena dilakukan secara terbuka (Sulaiman 2011).

1.3 Digesti. Digesti adalah meserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50% (Depkes RI 2000).

1.4 Infus. Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infuse tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI 2000). Keuntungan metode infus adalah unit alat yang dipakai sederhana dan biaya operasionalnya relatif rendah. Kerugian metode infus adalah zat-zat yang tertarik kemungkinan sebagian akan mengendap kembali, apabila kelarutannya mendingin dan hilangnya zat-zat atsiri (Depkes RI 2000).

1.5 Sokhletasi. Sokhletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Depkes RI 2000). Keuntungan dari proses ini yaitu pelarut yang digunakan lebih sedikit, dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung dan lebih efektif dalam mengikat senyawa yang akan diisolasi (Jalung 2016). Kekurangan metode sokhletasi adalah dalam skala besar, mungkin tidak cocok untuk menggunakan pelarut dengan titik didih yang terlalu tinggi (Jalung 2016).

1.6 Refluks. Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada

residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI 2000). Keuntungan refluks yakni digunakan untuk mengekstraksi sampel-sampel yang mempunyai tekstur kasar, dan tahan pemanasan langsung. Kelemahan proses ini adalah memungkinkan terjadinya degradasi pada senyawa yang tidak tahan panas (Depkes RI 2000).

1.7 Dekok. Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ($\geq 30^{\circ}\text{C}$) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI 2000).

2. Pelarut

Pelarut yang dipakai dalam proses ekstraksi ditentukan dari kemampuannya untuk melarutkan zat aktif dalam jumlah besar dan melarutkan selain zat aktif dalam jumlah sangat kecil. Pelarut yang sering digunakan dalam penelitian adalah air, etanol, atau campuran etanol dengan air (Ansel 1989).

Pelarut yang dipakai dalam penelitian ini adalah etanol karena etanol memiliki banyak kelebihan dari pelarut lainnya yaitu merupakan pelarut yang sifatnya tidak toksik dibandingkan dengan pelarut lainnya, dapat memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut serta dapat melarutkan senyawa penting pada simplisia antara lain alkaloid basa, minyak atsiri, glikosida, antrakuinon, flavanoid, saponin, tidak menyebabkan pembengkakan pada membran sel, dapat mengendapkan albumin dan memblok kerja enzim (Depkes RI 2000).

Pemakaian etanol 70% sebagai pelarut karena etanol 70% dapat melarutkan senyawa organik dalam tumbuhan baik dalam yang berifat polar maupun nonpolar, tidak beracun, tidak mudah ditumbuhi kapang dan kuman, dan pemanasan yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Pramesti 2017).

D. Diabetes Melitus

1. Definisi

Diabetes melitus (DM) adalah suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, gangguan kerja insulin, atau keduanya, yang menimbulkan berbagai komplikasi kronik pada mata, ginjal saraf, dan pembuluh darah (Perkeni 2011).

2. Patofisiologi

2.1 Diabetes Melitus tipe 1. Gangguan produksi insulin yang mengakibatkan defisiensi insulin absolut pada DM tipe 1 umumnya terjadi karena kerusakan sel- β pankreas (Dipiro 2009). Kerusakan sel- β pankreas terjadi melalui proses imunologik yang dimediasi oleh limfosit T dan makrofag (Otoimunologik) maupun proses yang idiopatik (Muchid *et al.* 2005). Diabetes Melitus tipe 1 merupakan diabetes yang jarang atau sedikit populasinya dari keseluruhan populasi penderita diabetes dan umumnya terjadi pada anak-anak atau usia menjelang dewasa (Dipiro 2009).

2.2 Diabetes Melitus tipe 2. Diabetes Melitus tipe 2 merupakan tipe diabetes yang lebih banyak terjadi (mencapai 90%) dibandingkan Diabetes Melitus tipe 1. Diabetes melitus kasus tersebut ditandai dengan adanya resistensi insulin dan defisiensi insulin relatif (Dipiro 2009). Negara-negara maju seperti Amerika, Resistensi insulin banyak terjadi akibat dari obesitas, gaya hidup kurang gerak dan penuaan (Muchid *et al.* 2005). Resistensi insulin ditandai oleh meningkatnya lipolisis dan produksi asam lemak bebas, meningkatnya produksi glukosa hepatic, dan menurunnya *uptake* glukosa oleh otot rangka (Dipiro 2009). Selain resistensi insulin, pada penderita Diabetes melitus tipe 2 dapat juga mengalami gangguan sekresi insulin. Berbeda dengan Diabetes melitus tipe 1, Diabetes melitus tipe 2 tidak terjadi destruksi sel- β pankreas secara otoimunologik. Defisiensi fungsi insulin pada penderita Diabetes melitus tipe 2 hanya bersifat relatif, tidak absolute (Muchid *et al.* 2005).

3. Klasifikasi

3.1 DM tipe 1. DM tipe 1 ditandai oleh destruksi sel β secara selektif dan defisiensi insulin absolut atau berat. Pemberian insulin sangat penting pada pasien dengan DM tipe 1. DM tipe 1 selanjutnya dibagi menjadi yang dimiliki penyebab imun dan idiopatik. Bentuk imun merupakan bentuk tersering pada DM tipe 1. Meskipun sebagian besar diagnosis terjadi pada pasien lebih muda dari 30 tahun, onset penyakit tersebut dapat terjadi pada semua usia. Faktor genetik multifaktorial menimbulkan kerentanan menderita penyakit ini namun hanya 10-15% pasien memiliki riwayat diabetes dalam keluarganya (Katzung 2010).

3.2. DM tipe II. DM tipe II ditandai oleh resistensi jaringan terhadap kerja insulin disertai defisiensi sel β yang lebih parah, kelainannya dapat ringan atau parah. Meskipun insulin diproduksi sel β pada pasien ini, namun hal tersebut tidak cukup untuk mengatasi resistensi dan kadar glukosa darah meningkat. Gangguan kerja insulin juga mempengaruhi metabolisme lemak sehingga kadar asam lemak bebas dan trigliserida serta menurunkan kadar HDL (Katzung 2010).

3.3. DM Gestasional. DM Gestasional diartikan sebagai intoleransi glukosa yang pertama disadari selama kehamilan. DM gestasional ini menyulitkan kira-kira 7% dari semua kehamilan. Penemuan klinik sangat penting sebagai terapi yang akan mengurai jumlah kesakitan dan jumlah kematian bayi baru lahir (Dipiro 2008).

3.4 Pra-diabetes. IFG (*Impaired Fasting Glucose*) = GPT (Glukosa Puasa Terganggu) dan IGT (*Impaired Glucose Tolerance*) = TGT (Toleransi Glukosa Terganggu) ialah kondisi dimana kadar gula kadar pasien lebih tinggi daripada normal. Kondisi pra-diabetes merupakan faktor resiko untuk diabetes, serangan jantung dan stroke (Muchid *et al.* 2005).

3.5 DM tipe lain. DM tipe lain berkaitan dengan dengan penyakit seperti, seperti eksokrin pankreas, defek genetik fungsi sel beta, defek genetik fungsi insulin, endrokrinopati, infeksi, imunologi, dan sindrom genetik (*American Diabetes Association* 2015).

4. Tanda dan Gejala

Gejala klinis yang timbul dari penyakit DM diantaranya poliuria, polidipsia, polifagia, penurunan berat badan, inkoordinasi gerak, daya penglihatan makin buruk, fatigue, iritabilitas, pruritus, dan sering juga disertai hipertensi (*American Diabetes Association* 2012).

5. Diagnosis DM

Diagnosis pada penyakit DM dapat diketahui dengan kadar glukosa lebih dari 200 mg/dl, dan gejala klasik seperti poliuria, polidipsia, turunnya berat badan meskipun nafsu makan normal ataupun cenderung meningkat, penglihatan kabur, gejala tersebut terjadi dalam waktu kurang lebih 4-12 minggu (Meirinawati 2006).

Pemeriksaan laboratorium untuk skrining yang direkomendasikan adalah kadar glukosa darah puasa pada orang dewasa yang tidak hamil. Kadar glukosa darah puasa normal kurang dari 100 mg/dl dan pada diabetes melitus ≥ 126 mg/dl (Dipiro 2005). Apabila ada keluhan khas, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu >200 mg/dl sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Untuk kelompok tanpa keluhan khas, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah abnormal tinggi (hiperglikemia) hanya satu kali tidak cukup kuat untuk menegakkan diagnosis DM. Diperlukan konfirmasi atau pemastian lebih yang abnormal tinggi (>200 mg/dL) pada hari lain, kadar glukosa darah puasa yang abnormal tinggi (>126 mg/dL), atau dari hasil uji toleransi glukosa oral didapatkan kadar glukosa darah post prandial >200 mg/dL (Depkes 2005).

6. Komplikasi DM

Komplikasi diabetes melitus dibagi menjadi 2; komplikasi akut dan kronis (Depkes 2005).

6.1 Komplikasi Akut Diabetes Melitus. Komplikasi akut yaitu hipoglikemia dan ketoasidosis merupakan keadaan gawat darurat yang dapat terjadi pada pasien DM dalam perjalanan penyakitnya. Ketoasidosis diabetik suatu keadaan gawat darurat DM dimana kadar glukosa darah meningkat tinggi disertai dengan peningkatan keasaman darah akibat timbunan benda keton dan kekurangan cairan. Keadaan ini disebabkan defisiensi insulin berat dan akut. Tanda khasnya adalah kesadaran menurun disertai dehidrasi berat. Komplikasi akut ini memerlukan penanganan yang cepat dan tepat karena angka kematiannya tinggi (Depkes 2005).

6.2 Komplikasi Kronis Diabetes Melitus. Komplikasi kronis DM terjadi jika kadar glukosa darah tetap tinggi dalam jangka waktu tertentu. Komplikasi kronis dibagi menjadi dua yaitu makrovaskuler dan mikrovaskuler (Depkes 2005).

Komplikasi mikrovaskuler terutama terjadi pada penderita diabetes melitus tipe 1. Komplikasi-komplikasi mikrovaskuler, antara lain retinopati, nefropati, dan neuropati. Kondisi ini disebabkan hiperglikemia yang persisten dan pembentukan protein yang terglykasi (termasuk HbA1c) menyebabkan dinding pembuluh darah

menjadi makin lemah dan rapuh dan terjadi penyumbatan pada pembuluh-pembuluh darah kecil (Depkes 2005).

Komplikasi makroangiopati yang terjadi yaitu penyakit jantung koroner, penyakit pembuluh darah otak dan penyakit pembuluh darah perifer. Komplikasi ini lebih sering terjadi pada penderita DM tipe 2. Komplikasi makrovaskuler merupakan faktor yang memperburuk prognosis pasien DM dan penyebab kematian tersering (Depkes 2005).

7. Obat antidiabetik oral

Ada 5 golongan antidiabetik oral yang dapat digunakan untuk DM (Gunawan 2007) yaitu:

7.1 Golongan sulfonilurea. Mekanisme kerja utama sulfonilurea adalah meningkatkan rilis insulin dari pankreas. Diduga terdapat dua mekanisme kerja tambahan suatu penurunan kadar *glucagon* serum dan suatu efek ekstrapankreatik dengan mengadakan efek potensiasi terhadap kerja insulin pada jaringan sasaran tetapi kemaknaan klinisnya masih dipertanyakan (Katzung 2002). Golongan sulfonilurea menurunkan kadar glukosa darah dengan merangsang pelepasan insulin dari sel β pulau langerans pankreas. Sulfonilurea dibedakan menjadi sulfonilurea generasi pertama dan generasi kedua. Sulfonilurea generasi pertama meliputi tolbutamid, tolazamid, asetohexamid, dan klorpropamid. Sulfonilurea generasi kedua antara lain glibenklamid, glipizid, dan glimepirid. Obat-obat generasi kedua ini 10-100 kali lebih efektif pada konsentrasi rendah (Gunawan 2007).

7.2 Golongan biguanid. Mekanisme kerja biguanid penjelasan lengkapnya masih belum jelas. Kerjanya untuk menurunkan glukosa darah tidak tergantung pada adanya fungsi pankreatik sel-sel β . Glukosa tidak menurun pada subjek normal setelah puasa satu malam, tetapi kadar glukosa darah pasca-prandial mereka menurun selama pemberian biguanid. Pasien dengan diabetes tipe 2 memiliki hiperglikemia yang lebih rendah yang nyata dan hiperglikemia pasca-prandial yang lebih rendah setelah pemberian biguanid tetapi hipoglikemia selama terap biguanid benar-benar tidak diketahui (Katzung 2002). Yang termasuk biguanid adalah metformin bekerja dengan menghambat absorpsinya glukosa di

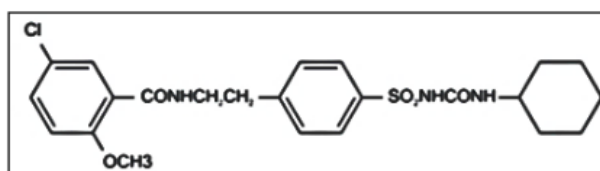
usus dan meningkatkan uptake glukosa oleh otot dan jaringan adipose (Gunawan 2007).

7.3 Golongan meglitinid. Golongan meglitinid yaitu repaglinid dan nateglinid. Mekanisme kerjanya sama dengan sulfonilurea tetapi struktur kimianya berbeda. Pada pemberian oral absorpsinya cepat, waktu paruhnya 1 jam (Gunawan 2007).

7.4 Golongan thiazolidindion. Merupakan antihiperqlikemik yang menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan sensitivitas insulin. Obat yang termasuk golongan ini adalah rosiglitazone dan pioglitazon. Mekanisme kerja yang tepat dari agen tersebut masih belum diketahui, tetapi agen tersebut diduga memiliki aktivitas menyerupai (mimetik) insulin pasca-reseptor yang akut (Katzung 2002).

7.5 Inhibitor α -glukosidase. Akarbose dan miglitol menghambat α -glukosidase yaitu enzim yang mendegradasi karbohidrat kompleks dalam saluran cerna. Dengan mencegah pembentukan monosakarida yang lebih mudah diabsorpsi daripada karbohidrat kompleks, obat golongan ini mencegah peningkatan konsentrasi glukosa setelah makan. Penurunan glukosa darah dari α -glukosidase inhibitor relatif kecil dan biasanya penggunaannya dikombinasi dengan obat antihiperqlikemik lain yaitu atau obat hiperqlikemik oral (Gunawan 2007).

E. Glibenklamid



Gambar 2. Struktur glibenklamid (Depkes RI 1995)

1. Kelarutan

Glibenklamid mempunyai sifat kelarutan yang praktis tidak larut di dalam air dan eter, sukar larut dalam etanol dan methanol, larut sebagian dalam kloroform (Depkes 1993).

2. Indikasi dan kontraindikasi

Glibenklamid diindikasikan pada pengobatan DM pada orang dewasa, tanpa komplikasi yang tidak responsif dengan diet saja. Glibenklamid sedapat mungkin tidak digunakan pada gangguan fungsi hati, gagal ginjal dan pada ibu menyusui (BPOM 2008).

3. Dosis dan aturan pakai

Dosis awal 5 mg 1 kali sehari, segera setelah makan pagi, dosis lanjut usia 2,5 mg (BPOM 2008).

4. Mekanisme kerja

Mekanisme kerja glibenklamid yaitu merangsang sekresi hormon insulin pada sel beta pankreas. Interaksi dengan ATP-sensitive K channel pada sel beta menyebabkan depolarisasi membran sehingga kanal Ca akan terbuka. Terbukanya kanal Ca menyebabkan ion Ca^{2+} masuk ke dalam sel beta yang kemudian merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin (Suherman 2007).

5. Efek samping

Efek samping dari glibenklamid antara lain gejala saluran cerna berupa mual, diare, sakit perut, hipersekresi asam lambung dan efek samping di daerah jantung, gejala di susunan saraf pusat berupa vertigo, bingung, ataksia, gejala hematologi berupa leucopenia dan agranulositosis, gejala hipertiroidisme dan gejala ikhterus obstruktif. Hipoglikemia dapat terjadi bila dosis tidak tepat, tidak cukup makan dan terjadi gangguan hati atau ginjal (Sukandar *et al.* 2008).

F. Metode Uji Efek Antidiabetes

1. Uji efek Diabetes Melitus

Keadaan diabetes melitus dapat diinduksi dengan cara pankreatomi dan juga secara kimia. Zat-zat kimia dapat digunakan indikator (diabetogen) adalah aloksan, streptozotolin, diaksosida, adrenalin, glikagon, EDTA, yang umumnya diberikan secara parenteral (Depkes 1993).

Macam-macam metode uji efek antidiabetes yaitu:

1.1 Metode uji beban glukosa. Prinsip metode ini adalah hewan uji yang telah dipuasakan kurang lebih 20 sampai 24 jam diberikan larutan glukosa

peroral setengah jam setelah pemberian sediaan uji. Pada awal percobaan sebelum pemberian sediaan uji dilakukan cuplikan darah vena telinga dari masing-masing kelinci sejumlah 0,5 ml sebagai kadar glukosa awal. Pengambilan cuplikan darah diulangi setelah perlakuan pada waktu tertentu (Depkes 1993).

1.2 Metode uji diabetes aloksan. Prinsip metode ini adalah dengan suntikan aloksan monohidrat dengan dosis 70 mg/kg BB yang dilakukan secara intravena pada ekor mencit dan perkembangan hiperglikemia diperiksa setiap hari. Pemberiaan obat antidiabetik secara oral dapat menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan terhadap mencit positif (Depkes 1993).

1.3 Metode uji diabetes streptozotocin. Merupakan senyawa hasil *Streptomyces achromogenes* dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 dan tipe 2 pada hewan coba. Dosis yang digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 untuk intravena adalah 40-60 mg/kg sedangkan dosis intraperitoneal adalah lebih dari 40 mg/kg BB. STZ juga mampu membangkitkan oksigen reaktif yang mempunyai peran tinggi dalam kerusakan sel beta pankreas (Sahid 2016).

2. Metode analisa kadar glukosa darah

2.1 Glukometer. Sampel darah akan masuk kedalam tes strip melalui aksi kapiler. Glukosa yang ada dalam darah akan bereaksi dengan glukosa oksidase dan kalium ferisianida yang ada didalam strip dan akan menghasilkan kalium ferosianida. Kalium ferosianida yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi glukosa yang ada dalam sampel darah. Oksidasi kalium ferosianida akan menghasilkan muatan listrik yang akan diubah oleh glukometer untuk ditampilkan sebagai konsentrasi glukosa pada layar. β -D Glukosa + Kalium ferosianida menjadi asam glukonat + kalium ferosianida. Kalium ferosianida kalium ferisianida + e^- (Raja 2008).

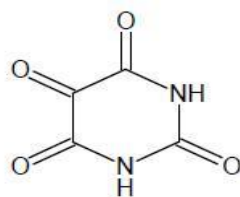
2.2 Metode GLUC-DH (Glucose Dehidrogenase). GLUC-DH adalah sebuah metode rutin enzimatik yang dibedakan dari yang lain oleh spesifiknya yang tinggi, kepraktisan, dan keluwesannya. Pengukuran dilakukan pada daerah UV. Prinsip metode ini adalah glukosa dehidrogenase mengkatalisasi oksidasi dari glukosa menurut persamaan berikut β -D-Glukosa+NAD $\xrightarrow{\text{GLUC-DH}}$ D-

glukonolakton+NADH+ H^+ . Penambahan mutarotase akan mempercepat reaksi. Jumlah NADH yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi glukosa. Penentuan glukosa dengan Gluc-DH dapat digunakan pada bahan sampel yang dideproteinisasi atau yang tidak dideproteinisasi, serta hemolisa (Merck 1987).

2.3 Metode GOD-PAP. Yaitu reaksi kolorimetrik-enzimatik untuk pengukuran pada daerah cahaya yang terlihat oleh mata. Prinsip metode ini adalah glukosa oksidase (GOD) mengkatalisa oksidasi dari glukosa menurut persamaan berikut: $\text{Glukosa} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{GOD}} \text{Asam glukonat} + \text{H}_2\text{O}_2$. Hidrogen peroksida yang terbentuk bereaksi dengan 4-amino-antipirin dan 2,4-diklorofenol dengan adanya peroxidase (POD) dan menghasilkan antipirilquinomine yakni suatu zat merah. Jumlah zat warna merah yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi glukosa. Penentuan glukosa dengan GOD-PAP terdapat digunakan untuk bahan sampel dengan atau tanpa deproteinisasi (Merck 1987).

2.4 Metode O-toluidine. Prinsip metode ini adalah glukosa bereaksi dengan o-toluidine dalam asam asetat panas dan menghasilkan senyawa berwarna hijau yang dapat ditentukan secara fotometris. Penelitian glukosa dengan o-toluidine dapat digunakan untuk bahan sampel yang dideproteinisasi maupun yang tidak diproteinisasi (Merck 1987).

G. Aloksan



Gambar 3. Struktur Aloksan

Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana. Aloksan diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer. Nama aloksan diperoleh dari penggabungan kata allantoin dan oksalurea (asam oksalurik). Rumus kimia aloksan adalah $\text{C}_4\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_4$. Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat. Aloksan adalah senyawa kimia

tidak stabil dan senyawa hidrofilik. Waktu paruh aloksan pada pH 7,4 dan suhu 37°C adalah 1,5 menit (Yuriska 2009).

Aloksan mempunyai dua patologi yaitu menghambat sekresi insulin yang diinduksi glukosa secara selektif melalui inhibisi glukokinase (sensor glukosa dari sel β), dan menyebabkan kondisi diabetes yang bergantung insulin akibat induksi pembentukan spesies oksigen reaktif yang dapat merusak sel β . Kedua efek ini dapat terjadi akibat uptake seluler dan akumulasi aloksan dalam sel β . Akumulasi terjadi melalui transporter glukosa GLUT2 karena aloksan merupakan analog glukosa (Lenzen 2008).

H. Hewan Percobaan

1. Sistematika tikus

Sistematika tikus putih jantan galur wistar menurut Sugiyanto (1995) adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Placent
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae
Marga	: Ratus
Jenis	: <i>Rattus norvegicus</i>

2. Karakteristik tikus

Tikus putih relatif resisten terhadap infeksi dan pada umumnya tenang dan mudah ditangani. Tikus putih tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya mencit dan kecenderungan untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Aktifnya tidak terganggu oleh adanya manusia di sekitarnya, suhu tubuh normal 37,5°C, laju respirasi 210 menit. Tikus putih bila diperlakukan kasar akan menjadi galak dan sering menyerang si pemegang (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

3. Biologi tikus

Hidup tikus berkisar 2-3 tahun, maksimal hidup sampai umur 4 tahun. Tikus dikatakan dewasa pada umur 35-40 hari. Berat badan tikus laboratorium

rata-rata 150-200 gram (Smith & Mangkoewidjojo 1998). Tikus aktif dalam beraktivitas pada malam hari. Tikus dapat dikawinkan pada umur antara 8-9 minggu atau lebih baik sebelum umur 10-12 minggu (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

4. Pemberian secara oral

Pemberian obat secara oral pada tikus dilakukan dengan menggunakan jarum suntik berujung tumpul untuk tikus yang dimasukkan ke dalam mulut kemudian secara perlahan diluncurkan melalui tepi langit-langit ke belakang sampai esophagus (Sugiyanto 1995).

5. Teknik pengambilan dan pemegangan tikus

Tikus mempunyai kebiasaan untuk menggigit saat dalam ancaman. Cara penangkapan tikus yang baik dan aman yang pertama memegang ekor pada bagian pangkal ekornya, kedua meletakkan diatas ram kawat, ketiga pegang tengkuk dengan cepat menggunakan ibu jari dan jari telunjuk dengan menggunakan satu tangan, keempat kaki tikus dipegang bersama dengan ekor menggunakan jari manis dan jari kelingking, terakhir pegang ekor tikus agar tikus tidak terbalik (Harmita 2005).

I. Histopatologi Organ Pankreas

1. Pengertian Histopatologi

Histopatologi adalah cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Histopatologi merupakan salah satu pertimbangan dalam penentuan diagnosis, melalui pengamatan terhadap organ tertentu (Sairlay 2017).

2. Struktur dan Anatomi Pankreas

Pankreas adalah suatu kelenjar eksokrin sekaligus juga kelenjar endokrin, mempunyai konsistensi yang lunak karena banyak mengandung jaringan kelenjar dan dibagi menjadi beberapa bagian yaitu kaput, korpus, dan kauda dimana memiliki berat rata-rata 80 gram.

Secara fisiologis fungsi pankreas dapat bertindak sebagai kelenjar eksokrin dan endokrin. Fungsi endokrin pankreas dilakukan sekelompok sel yang disebut

pulau Langerhans yang memproduksi hormone insulin dan glucagon yang penting untuk metabolisme karbohidrat. Fungsi eksokrin oleh kelenjar tubuloacinar, pankreas mensekresi 500–1,200 ml getah pankreas setiap hari ke duodenum suatu enzim pencernaan yang terdiri atas amilase, tripsin, dan lipase (Katzung 2012).

3. Kerusakan Pankreas

Pada hewan percobaan yang diinduksi aloksan, akan terjadi pembentukan radikal bebas dan radikal aloksan melalui metabolisme oksidasi reduksi. Radikal ini mengakibatkan kerusakan pada sel β pankreas (Sairlay 2017). Lesi di pankreas tidak konstan dan jarang bernilai diagnostik. Perubahan khas lebih sering berkaitan dengan diabetes tipe 1 dari pada tipe 2. Mungkin ditemukan satu atau lebih perubahan berikut: Berkurangnya jumlah dan ukuran islet paling sering ditemukan pada diabetes tipe 1, terutama pada penyakit yang berkembang cepat. Sebagian besar islet tampak kecil, tidak menonjol dan sulit ditemukan. Pada diabetes tipe 2, kerusakan sel β terjadi belakangan dan biasanya tidak lebih dari 20-50%. Degranulasi sel β yang sudah rusak. Hal ini lebih sering ditemukan pada pasien dengan diabetes tipe 1A yang baru didiagnosis, saat masih terdapat beberapa sel β . Peningkatan jumlah dan ukuran islet merupakan gambaran khas pada neonates nondiabetes yang lahir dari ibu diabetes. Diperkirakan sel islet janin mengalami hiperplasia sebagai respons terhadap hiperglikemia ibu (Sairlay 2017).

4. Histopatologi Pankreas

Kerusakan pankreas yang terjadi akibat diabetes melitus dapat dilihat pada perubahan morfologi pulau Langerhansya, baik diameter, jumlah pulau, jumlah sel endokrin dan presentase nekrosis sel yang terjadi. Hewan percobaan DM akan mengalami penurunan jumlah pulau Langerhans, dibandingkan dengan hewan percobaan normal. Apabila jaringan pankreas normal diamati pada hewan percobaan, maka per lapang pandang pankreas ditemukan lebih dari dua buah pulau Langerhans. Sedangkan pada hewan percobaan DM tipe 2, kadang-kadang tidak satupun pulau Langerhans ditemukan (Sairlay 2017).

Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang fatal ditandai oleh kerusakan struktur dan fungsi sel secara menyeluruh yang diikuti dengan lisisnya sel dan peadangan jaringan sehingga terdapat ruang-ruang kosong pada pulau Langerhans disebabkan karena nekrosis sel β (Sairlay 2017). Sel yang mengalami nekrosis dapat dilihat dari perubahan inti selnya yaitu adanya piknotik. Perubahan inti piknotik dengan ciri-ciri yang dapat diamati adalah inti sel yang mati menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap. Proses ini dinamakan piknotis, sedangkan intinya disebut inti piknotik (Sairlay 2017).

J. Landasan Teori

Diabetes melitus (DM) yaitu penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang disebabkan kelainan sekresi insulin. Gejala DM yaitu polidipsia, poliurea, dan polifagia, penyakit ini dapat diterapi dengan obat-obat antidiabetik oral. Terapi untuk mengatur kadar glukosa darah diperlukan agar tidak terjadi komplikasi-komplikasi yang dapat membahayakan jaringan tubuh. Salah satu obat antidiabetes oral yang bekerja dengan cara menstimulasi sel-sel beta pulau Langerhans sehingga sekresi insulin ditingkatkan (Goodman & Gilman 2010).

Pada penderita diabetes melitus terjadi perubahan histopatologi pulau Langerhans yang disebabkan oleh kondisi hiperglikemia pada penderita diabetes melitus. Untuk mengetahui perubahan histopatologi pulau Langerhans baik jumlah pulau maupun presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada jaringan pankreas menggunakan pewarnaan *hemotoxylin* (HE). Pengamatan jaringan pankreas dengan pewarnaan HE adalah morfologi umum jaringan pankreas meliputi keadaan sel-sel pada pulau Langerhans, adanya peradangan serta menghitung jumlah pulau Langerhans per lapangan pandang (Santika 2017).

Salah satu pengobatan tradisional dengan menggunakan tanaman herbal yaitu dengan daun sirih merah (Duryatmo 2005). Dalam daun sirih merah terkandung senyawa fitokimia yakni minyak atsiri, alkaloid, saponin, tannin, dan flavonoid (Nisa *et al.* 2014). Secara empiris daun sirih merah dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit seperti hepatitis, batu ginjal, menurunkan kolesterol, mencegah stroke, asam urat, kanker, hipertensi, radang liver, radang

prostat, radang mata, keputihan, maag, kelelahan, nyeri sendi dan diabetes melitus (Sudewo 2005). Kandungan daun sirih merah adalah senyawa flavonoid yang bersifat antioksidan. Antioksidan dapat mengikat radikal bebas yang merusak sel β pulau langerhans pankreas sehingga produksi insulin akan menjadi maksimal. Flavonoid dalam mekanisme penyembuhan penyakit antidiabetes berperan secara signifikan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan mampu meregenerasi sel-sel β pankreas yang rusak sehingga defisiensi insulin dapat diatasi (Lestari 2017). Saponin dapat menurunkan kadar glukosa darah karena mempunyai mekanisme kerja menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase yaitu enzim yang bertanggung jawab pada pengubahan karbohidrat menjadi glukosa (Lestari 2017). Alkaloid memiliki sifat antidiabetes dengan mengurangi hiperglikemia pada post prandial (Lestari 2017).

Hasil penelitian (Dewi *et al.* 2014) menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah 2% pada dosis 50 mg/kg bb dan dosis 100 mg/kg bb tikus mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan. Ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg bb tikus menunjukkan penurunan kadar glukosa darah sebanding dengan pemberian glibenklamid. Penelitian tersebut membuktikan bahwa adanya khasiat daun sirih merah sebagai antidiabetes. Penggunaan ekstrak etanol daun sirih merah ini diharapkan mampu menurunkan kadar gula darah dan mempengaruhi kondisi histopatologi pankreas dengan meningkatkan jumlah pulau, dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans yang mengalami penurunan pada tikus diabetes akibat induksi dari aloksan sera meminimalkan dosis yang diberikan (Dewi *et al.* 2014).

K. Hipotesis

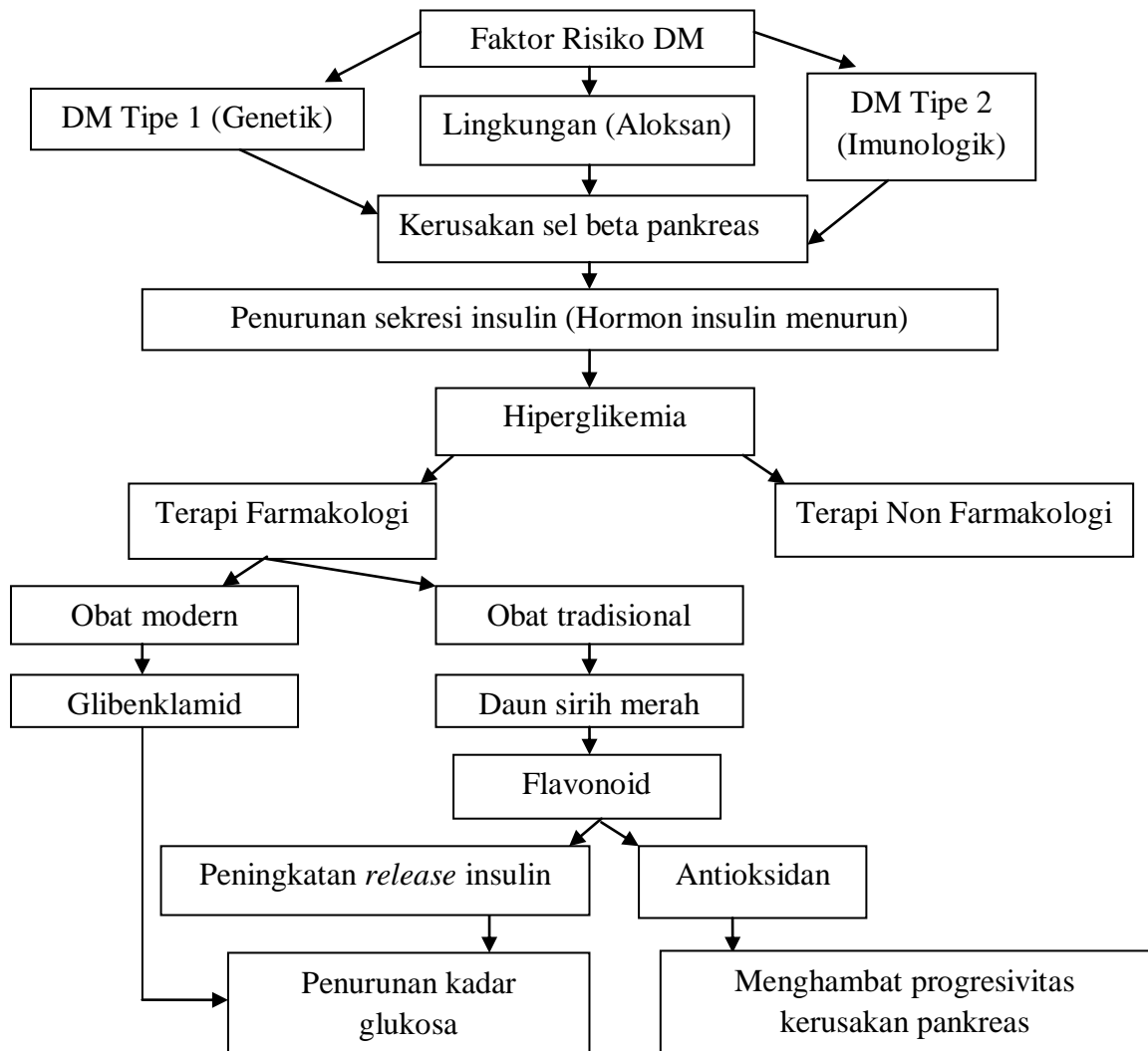
Pertama, ekstrak etanol daun sirih merah memiliki aktivitas antidiabetes dapat menurunkan kadar gula darah.

Kedua, ekstrak etanol daun sirih merah memiliki aktivitas dalam memperbaiki histopatologi pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan.

Ketiga, ekstrak etanol daun sirih merah 100 mg/kg bb tikus adalah dosis efektif dapat menurunkan kadar gula darah.

Keempat, ekstrak etanol daun sirih merah memiliki dosis efektif dalam memperbaiki histopatologi pankreas pada tikus putih yang diinduksi aloksan.

L. Kerangka pikir



Gambar 4. Kerangka pikir penelitian

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun dari tanaman sirih merah segar yang diambil dari Tawamanggu, Solo Jawa tengah bulan Desember.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah yang masih segar, dari tanaman daun sirih merah semua bagian kecuali akar dan batang yang sudah keras, tidak busuk, dan bebas jamur.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pada penelitian ini adalah aktivitas ekstrak daun sirih merah terhadap penurunan gula darah pada tikus yang diinduksi aloksan dan histopalogi pankreas tikus.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah ditetapkan dapat diklasifikasikan ke macam-macam variabel yaitu:

2.1 Variabel bebas. Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk mempelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirih merah pada tikus berbagai dosis.

2.2 Variabel tergantung. Variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah perubahan kadar glukosa darah tikus putih jantan pada masing-masing perlakuan.

2.3 Variabel terkendali. Variabel terkendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan

kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh penelitian lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah umur tikus, berat tikus, jenis kelamin, galur hewan uji, pakan yang diberikan, kondisi fisik, kondisi lingkungan serta kondisi laboratorium dan kondisi penelitian.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun sirih merah adalah daun yang diambil dalam keadaan segar, berwarna merah, dari tanaman daun sirih merah semua bagian tanaman kecuali akar dan batang yang sudah keras, tidak busuk dan bebas dari hama yang yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, daun sirih merah adalah tanaman yang sudah dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C lalu diblender menjadi serbuk halus dapat melalui pengayak no. 40.

Ketiga, ekstrak daun sirih merah adalah hasil meserasi daun sirih merah dengan menggunakan pelarut 70% dengan perbandingan 1 : 10 yang kemudian dipisahkan dengan *vacuum evaporatory* pada suhu 50°C agar diperoleh ekstrak kental.

Keempat, glibenklamid adalah obat antidiabetes oral dengan dosis sediaan 5 mg.

Kelima, aloksan adalah larutan aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB tikus diberikan secara intraperitoneal untuk merusak sel beta pankreas pulau Langerhans yang fungsinya menghasilkan insulin sehingga terjadi hiperglikemik.

Keenam, kadar glukosa darah adalah kadar glukosa darah yang diambil dengan cara mengambil darah melalui pembuluh darah vena dibagian ekor yang telah digunting. Darah yang keluar disentuh pada *test strip* yang terpasang pada alat glukometer dan dibiarkan alat mengukur kadar glukosa darah secara otomatis. Angka yang tampil pada layar dicatat sebagai kadar glukosa darah (mg/dL).

Ketujuh, diabetes adalah kadar glukosa darah sewaktu >200 mg/ dL pada tikus diinduksi aloksan yang ditetapkan dengan alat *glukometer*.

Kedelapan, histopatologi pankreas adalah perubahan yang terjadi pada pankreas tikus yang mengalami hiperglikemia yang ditandai dengan nekrosis dan degenerasi sel akibat induksi aloksan.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat untuk maserasi terdiri dari timbangan bahan, blender, oven, ayakan mesh no.40, bejana meserasi, kertas saring, nampan, ember, pisau, kain flannel, *vacuum rotary evaporator*, *waterbath*, corong glass, botol berwarna gelap, gelas kaca, gelas ukur, blender, beaker glass, Erlenmeyer, labu takar, batang pengaduk dan kantong plastik.

Alat yang digunakan untuk mengukur kadar air adalah *Sterling-Bidwell*. Alat yang digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah adalah neraca analitik, spuit oral, kandang tikus, tempat pakan tikus, glukometer.

2. Bahan

2.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun sirih yang segar diambil dari Tawangmangu, Solo Jawa tengah.

2.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah aloksan (Merck), glibenklamid (Indofarma), CMC-Na (Brataco), etanol 96%, Nacl 0,9% dan aquadest.

2.3 Hewan uji. Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur wistar jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan antar 170-200 gram.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran simplisia yang akan diteliti dengan cara memperhentikan makroskopi dan mikroskopi menggunakan data pustaka acuan. Determinasi tanaman ini dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

2. Pengumpulan bahan

Pengumpulan bahan dilakukan dengan pengambilan daun sirih merah sebanyak ± 10 kg. Daun sirih merah di peroleh dari Tawamanggu, Solo Jawa Tengah dalam kondisi segar.

3. Pencucian

Pencucian dilakukan dengan cara menghilangkan kotoran yang masih tertinggal menggunakan air mengalir kemudian ditiriskan.

4. Pengeringan

Pengeringan dilakukan dengan cara daun sirih merah diiris kecil-kecil yang kemudian di kering menggunakan oven pada suhu 40°C . Proses selanjutnya penghalusan dengan menggunakan blender, hingga diperoleh serbuk daun sirih merah kemudian diayak dengan menggunakan ayakan no.40 dan ditimbang serta disimpan di wadah bersih tertutup rapat (Depkes 1986).

5. Pembuatan ekstrak daun sirih merah

Pembuatan ekstrak daun sirih merah dilakukan dengan metode maserasi dengan cara berikut, sebanyak 1 kg simplisia diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan bahan dan pelarut 1:10 bagian. Serbuk dimasukkan ke dalam botol berwarna gelap dan ditambahkan etanol 70% sebanyak 10 L. Setelah itu botol didiamkan selama 5 hari sambil sering diaduk dan pengocokan berulang. Setelah lima hari, filtrat disaring dengan kain flannel, sedangkan ampasnya yang telah disaring dimasukkan kembali ke dalam botol berwarna gelap dan dibilas lagi dengan etanol 70%. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* 50°C sampai diperoleh ekstrak kental (Depkes 1986).

$$\% \text{ Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang didapat}}{\text{Bobot serbuk simplisia yang diekstrak}} \times 100\%$$

6. Penetapan kadar air serbuk ekstrak daun sirih merah

Penetapan kadar air daun sirih merah dilakukan dengan alat *Sterling-Bidwell*. Caranya dengan menimbang serbuk daun sirih merah sebanyak 20 gram kemudian dimasukkan kedalam labu alas bulat pada alat *Sterling-Bidwell*, ditambahkan xylene sebanyak 100 ml dan dipanaskan samapi tidak ada tetesan air

lagi. Selanjutnya diukur kadar airnya dengan melihat volume skala alat tersebut dan dihitung % air dari berat sampel (Sudarmadji *et al.* 2003).

$$\text{Kadar Air} = \frac{\text{Volume terbaca}}{\text{Berat bahan}} \times 100\%$$

7. Tes bebas alkohol

Tes bebas alkohol ekstrak etanol daun sirih merah dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol, dimana ekstrak daun sirih merah ditambah asam asetat encer dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Bila tidak ada bau ester (etil asetat) berarti sudah tidak ada etanol (Depkes 1986).

8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirih merah dengan Metode KLT

8.1 Identifikasi flavonoid. Fase diam yang digunakan Silika gel F₂₅₄ dengan menggunakan fase gerak yang digunakan adalah heksan : etil asetat : asam formiat dengan perbandingan 6: 4:0,2. Pereaksi yang digunakan untuk identifikasi adalah sitrobrat. Flavonoid akan berfluorosensi pada sinar UV 366 nm. Akan terbentuk fluorosensi hijau kuning dengan UV 366 setelah penyemprotan jika positif mengandung flavonoid (Wagner & Bladt 1996).

8.2 Identifikasi alkaloid. Fase diam yang digunakan Silika gel 60 F₂₅₄ dengan menggunakan fase gerak Toluene : etil asetat : dietil amin dengan perbandingan 7:2:1. Penampak noda dapat dilihat di UV 254 nm, 366 nm dan deteksi sinar tampak menggunakan reagen Dragendorff untuk mendeteksi bercak coklat jingga (orange) yang menunjukkan adanya alkaloid (Wagner & Bladt 1996).

8.3 Identifikasi tanin. Fase diam yang digunakan Silika gel 60 F₂₅₄ dengan menggunakan fase gerak etil asetat : asam formiat : toluene : air dengan perbandingan 6:1,5:3:0,5. Dideteksi dibawa sirih UV 254 nm berwarna hijau tua kehitaman dan, 366 nm biru hitam. Pereaksi semprot yang digunakan FeCl₂ (Wagner & Bladt 1996).

8.4 Identifikasi saponin. Fase diam yang digunakan Silika gel 60 F₂₅₄ dengan menggunakan fase gerak kloroform : methanol : air dengan perbandingan

64:50:5. Penampakan noda dapat dilihat di UV 254 nm, 366 nm dan deteksi sinar tampak menggunakan reagen Liberman Bouchard (Kusuma 2016).

9. Pembuatan larutan

9.1 Larutan NaCl fisiologis. Larutan fisiologis 0,9% dibuat dengan cara melarutkan 0,9 gram NaCl dalam aquadest pada volume 100 ml.

9.2 Larutan suspensi CMC Na 0,5%. Larutan CMC dengan konsentrasi 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 0,5 gram CMC sedikit demi sedikit dalam aquadest panas sambil diaduk pada volume 100 mL aquadest.

10. Penetapan dosis

10.1 Dosis glibenklamid. Dosis terapi glibenklamid untuk manusia dengan berat badan 70 kg adalah 5 mg. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018, maka dosis untuk tikus 200 gram adalah $0,018 \times 5 \text{ mg} = 0,09 \text{ mg}$.

10.2 Dosis aloksan monohidrat. Larutan aloksan monohidrat dengan konsentrasi 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 gram aloksan monohidrat dalam larutan NaCl fisiologi pada volume 100 mL

10.3 Sediaan uji ekstrak daun sirih merah. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah pada dosis 50 mg/kg bb, dan dosis 100 mg/kg bb dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan, maka diperoleh dosis awal sebagai dosis orientasi yang selanjutnya akan digunakan untuk penetapan dosis ekstrak daun sirih merah dalam tiga peringkat variasi konsentrasi yang berbeda, yaitu 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 400 mg/kg BB ekstrak etanol daun sirih merah ditimbang 800 mg kemudian dilarutkan dengan CMC-Na 10 ml yang telah dibuat sebelumnya dan diaduk sampai homogen, sediaan uji dibuat berdasarkan, volume ideal yang boleh dimasukkan ke dalam tubuh hewan percobaan secara oral.

11. Pengelompokan dan perlakuan hewan uji

Sebanyak tiga puluh ekor tikus dibagi menjadi 6 kelompok secara acak pada tiap metode dan dipuasakan selama 16 jam dengan tetap diberi minum. Hewan uji diadaptasikan pada alat uji selama 2-3 menit, sebelum diberikan larutan

uji hewan uji dihitung terlebih dahulu. Kelompok uji tersebut adalah sebagai berikut:

- Kelompok 1 : Kelompok normal tanpa perlakuan
- Kelompok 2 : Kontrol negatif, tikus diberikan pembawa CMC Na 0,5%
- Kelompok 3 : Kontrol positif, tikus diberikan glibenklamid dosis 5 mg
- Kelompok 4 : Tikus diberikan ekstrak etanol daun sirih merah dengan dosis 1 yaitu 100 mg/kg BB tikus
- Kelompok 5 : Tikus diberikan ekstrak etanol daun sirih merah dengan dosis 2 yaitu 200 mg/kg BB tikus
- Kelompok 6 : Tikus diberikan ekstrak etanol daun sirih merah dengan dosis 3 yaitu 400 mg/kg BB tikus

12. Prosedur pengujian

Tikus diberi tanda pengenalan, tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor tikus putih jantan. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur wistar yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan antar 170-200 gram. Hewan uji dibagi dalam 6 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus. Sebelumnya tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam. Pada hari pertama dilakukan pengukuran kadar glukosa awal (T_0). Aloksan diinjeksi sekali sebanyak 150 mg/kg BB secara intra peritoneal. Setelah ketiga hari, kadar glukosa darah tikus kembali diukur (T_1), untuk memastikan kadar aloksan masih berfungsi sebagai diabetik eksperimental.

Kemudian masing-masing kelompok diberi CMC 0,5% (kelompok kontrol negatif), serbuk glibenklamid (kelompok kontrol positif), tanpa perlakuan (kontrol normal), ekstrak daun sirih merah 100 mg/kg BB tikus, 200 mg/kg BB tikus, 400 mg/kg BB tikus, secara oral setiap hari pada hari ke 7, 14, dan 21 setelah pemberian sediaan uji. Kadar glukosa darah ditetapkan dan dibaca dengan alat glukometer. Pada hari ke-22 semua tikus dikorbankan dengan cara dianestesi, organ pankreas tikus diambil, kemudian dijadikan preparat untuk diamati keadaan histopatologinya.

E. Histopatologi Organ Pankreas

1. Pembuatan preparat histopatologi

Pertama, organ pankreas tikus yang telah didekapitasi diambil dan dimasukkan dalam pot plastik. Organ langsung difiksasi dengan menggunakan formalin 10% PA agar preparat tidak cepat rusak, dan diberi label kode tikus sesuai kelompok perlakuan. Setelah itu, dilakukan pemotongan pada organ pankreas yang telah difiksasi tadi dan dimasukkan ke dalam tissue cassette dan dicuci di bawah air mengalir selama 30 menit.

Kedua, tahap dehidrasi yaitu proses penarikan cairan jaringan. Jaringan pankreas yang telah dimasukkan ke dalam tissue cassette direndam dengan menggunakan etanol secara bertingkat berturut-turut etanol 70%, 80% dan 90% masing-masing selama 1 jam, kemudian etanol absolut I selama 1 jam, etanol absolut II selama 1 jam dan etanol absolut III selama 1 jam.

Ketiga, dilakukan proses penjernihan (*clearing*), dengan menggunakan larutan xylene, untuk menghilangkan alkohol (dealkoholisasi). Dimulai dengan memasukkan jaringan pankreas ke dalam xylene I selama 20 menit, kemudian xylene II selama 20 menit dan selanjutnya xylene III selama 20 menit.

Keempat, dilakukan proses infiltrasi paraffin. Organ dimasukkan ke dalam paraffin panas, untuk membuat jaringan menjadi lebih keras dan lebih mudah dipotong dengan mikrotom. Proses pertama yang dilakukan adalah dengan memasukkan jaringan ke dalam parafin I, parafin II dan parafin III masing-masing selama 1 jam pada suhu 60°C.

Kelima, dilakukan proses selanjutnya yakni tahap embedding atau penanaman jaringan dalam paraffin, dengan memasukkan jaringan ke dalam blok paraffin. Pemotongan dengan mikrotom menghasilkan lapisan dengan ketebalan 5 mikrometer, lapisan jaringan diletakkan di atas kaca objek untuk siap diwarnai.

Keenam, tahap pewarnaan hematoxylin eosin. Tahap ini diawali dengan deparafinisasi dengan xylem yang bertujuan untuk menghilangkan paraffin pada jaringan. Dimulai dengan memasukkan jaringan ke xylene I selama 3 menit, dan xylene selama 3 menit.

Ketujuh, dilakukan proses rehidrasi yang bertujuan mengembalikan cairan ke dalam jaringan dengan menggunakan larutan etanol. Tahap pertama yaitu dengan memasukkan jaringan ke dalam etanol absolute I dan absolute II masing-masing selama 3 menit, selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam etanol 80% dan 70% secara bergantian masing-masing selama 3 menit.

Kedelapan, dilakukan tahap staining, dimana jaringan dimasukkan ke dalam larutan pewarna. Jaringan dimasukkan ke dalam pewarna hematoxylin selama 10 sampai 20 menit, kemudian diamati apakah jaringannya sudah berwarna ungu. Selanjutnya, jaringan yang sudah diwarnai tadi dicuci di bawah air mengalir selama 10 menit. Setelah itu, pewarnaan dilanjutkan dengan memasukkan sediaan ke dalam pewarnaan selama 10 menit.

Kesembilan, dilakukan rehidrasi, tujuannya untuk menarik air dari jaringan agar awet dan tidak cepat rusak. Jaringan dicelupkan 4 kali secara berurutan ke dalam larutan etanol 70%, 80% dan 90% masing-masing selama 30 detik. Selanjutnya direndam dengan etanol absolut dicelupkan sebanyak 4 kali, masing-masing selama 1 menit.

Kesepuluh, dilakukan proses penjernihan atau *clearing*, dengan memasukkan jaringan ke dalam larutan xylem I dan dilakukan *mounting*, yaitu penutupan sediaan dengan menggunakan gelatin sebagai perekat dan di tutup dengan desk glass (Sairlay 2017).

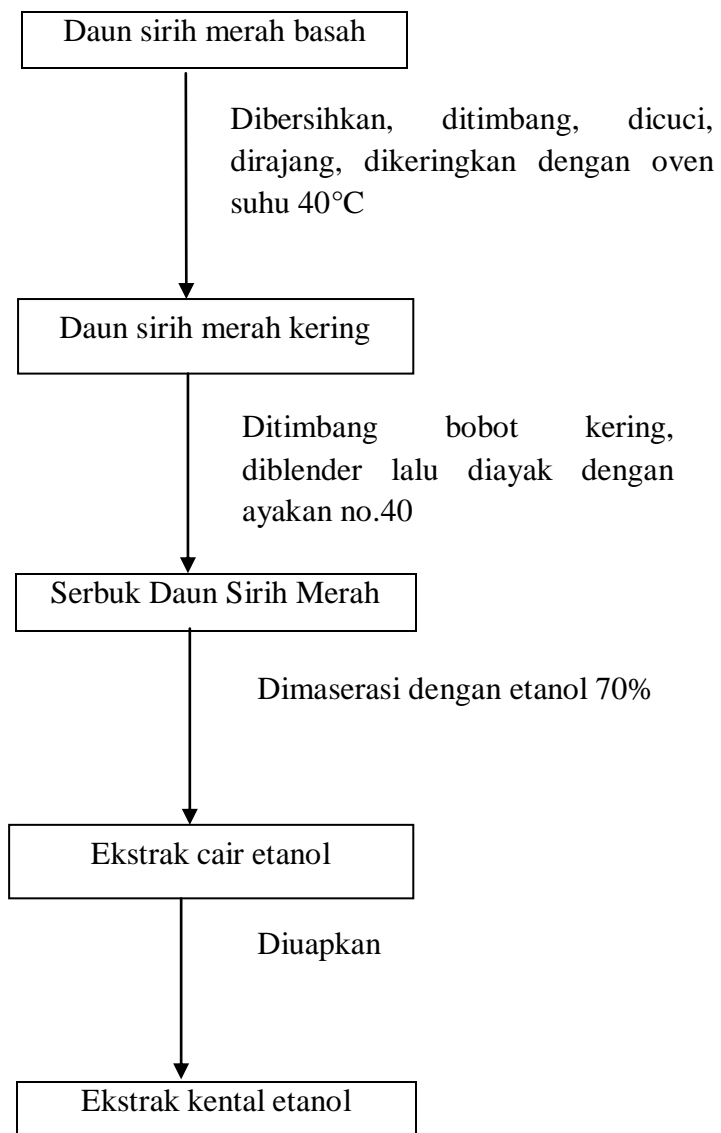
2. Pemeriksaan histopatologi

Untuk dapat mengamati seluruh lapangan pandang pada daerah-daerah yang ditentukan, maka preparat jaringan pankreas diamati pada perbesaran 40-1000x. Daerah yang diamati adalah daerah asinar yang merupakan tempat terdistribusinya sel-sel endokrin yang membentuk kumpulan tersendiri yang disebut pulau Langerhans dan sel dalam pulau Langerhansnya. Pada penelitian ini, preparat diamati dengan mikroskop cahaya Olymplus CH20, sehingga sel yang diamati tampak jelas. Untuk mengetahui presentase nekrosis dihitung jumlah inti sel dan jumlah sel yang mengalami piknosis. Setelah itu, dilakukan perbandingan antara jumlah sel yang mengalami piknosis dengan jumlah total sel pada jaringan pankreas, sehingga dapat ditentukan persentase kerusakan pada jaringan

pankreasnya. Hasil pengamatan didokumentasikan dengan melakukan pemotretan dengan menggunakan kamera digital.

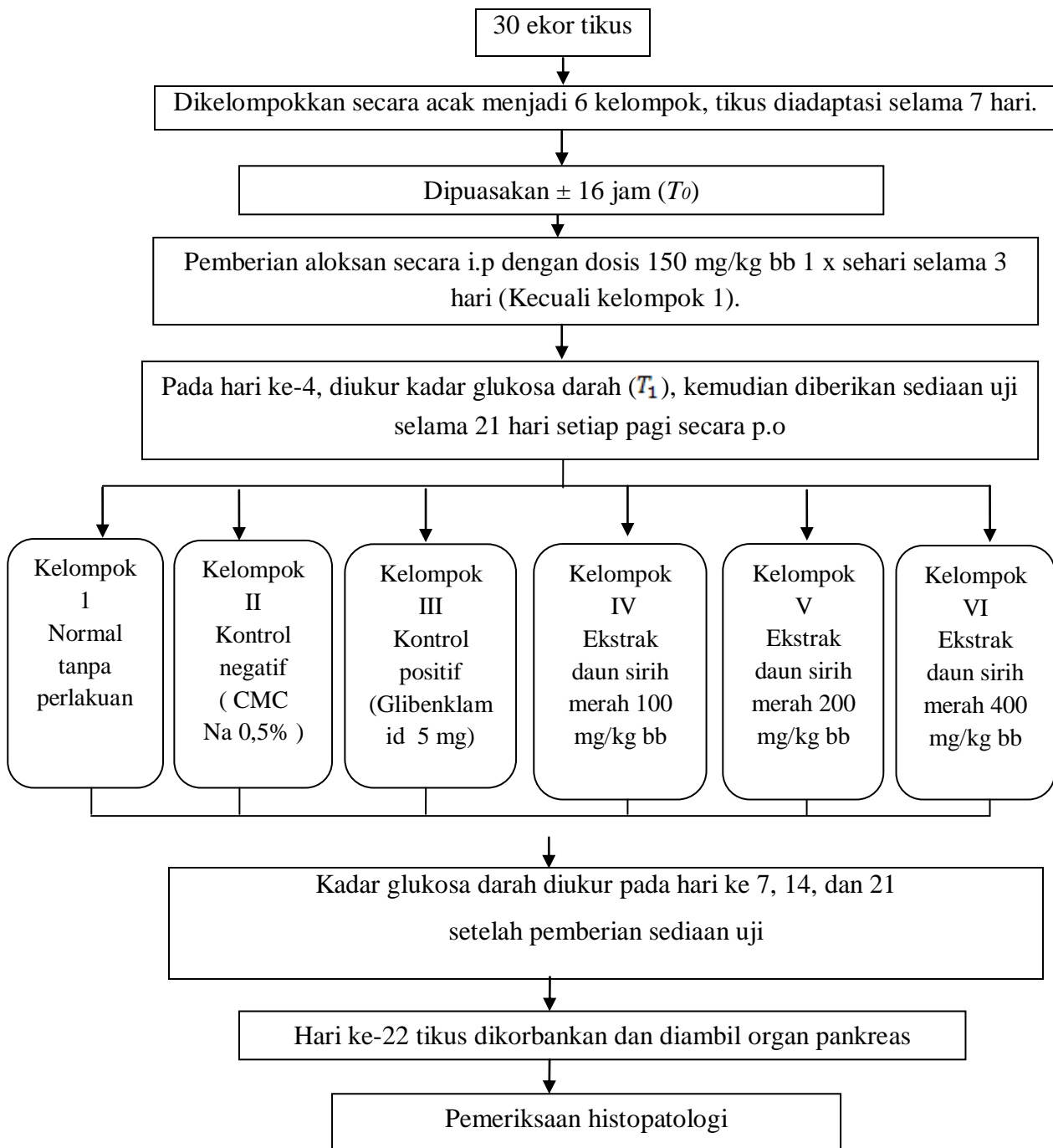
F. Alur penelitian

Cara pembuatan ekstrak etanol daun sirih merah dapat dilihat pada skema dibawah ini:



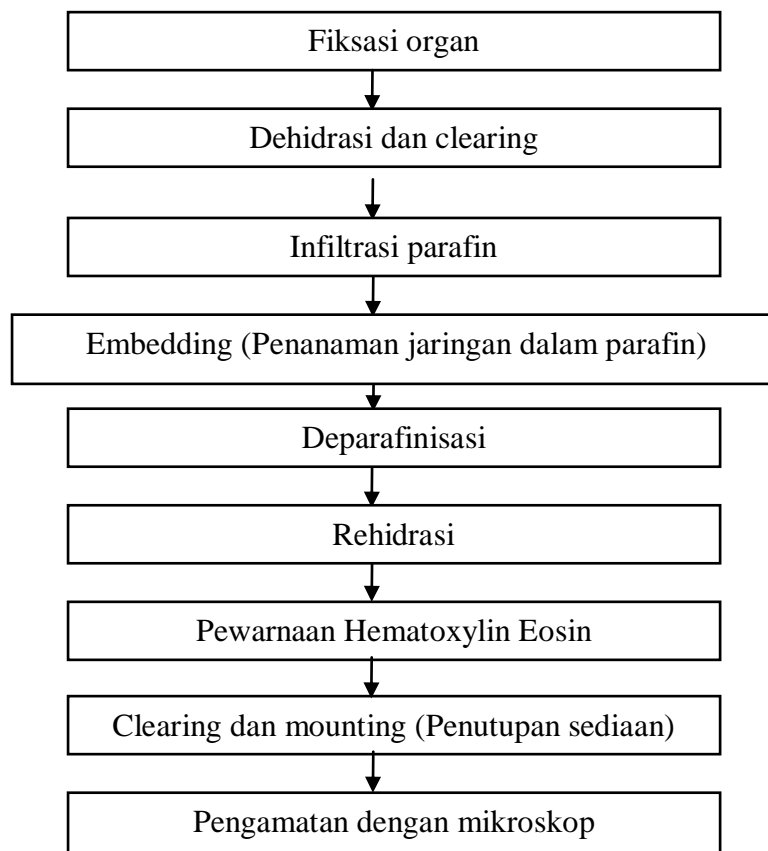
Gambar 5. Pembuatan ekstrak Daun Sirih Merah

Skema Prosedur Pengujian:



Gambar 6. Skema uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun sirih merah dalam variasi dosis

Alur Pemeriksaan Histopatologi:



Gambar 7. Skema Pembuatan preparat histopatopatologi

G. Analisis Data

Tahap pertama dalam analisis data statistik yaitu uji *Repeated ANOVA* uji beda lebih dari 2 kali pengukuran. Data memiliki nilai signifikansi $p < 0,05$ ada perubahan dan $p > 0,05$ maka tidak perubahan yang bermakna yang terjadi pada tiap pengulangan. Varian data *Multivariate Test* nilai signifikansi $0,000 < 0,05$ terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap perlakuan minimal ada 2 perlakuan yang berbeda. Varian data *Pairwise Comparisons* nilai signifikansi $< 0,05$ berartibahwa perbedaan ada pada setiap perlakuan pengukuran.

Tahap kedua dalam analisis data statistik yaitu uji distribusi normal menggunakan informasi dari uji *Shapiro wilk*. Data memiliki distribusi normal jika $p > 0,05$ dan memiliki distribusi tidak normal jika $p < 0,05$. Jika data yang dihasilkan terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan uji homogenitas varian

untuk mengetahui ada tidaknya kesamaan varian. Varian data sama jika $p > 0,05$ sedangkan tidak sama jika $p < 0,05$. Tahap berikutnya dilakukan dengan analisis data kadar glukosa darah yang diperoleh dianalisis dengan *One Way Anova* untuk mendapatkan informasi ada tidaknya perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan, bila $p < 0,05$ memiliki arti bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok, sedangkan kelompok apapun. Apabila terdapat perbedaan bermakna maka dilakukan uji *Tukey post hoc test* untuk mengetahui sebenarnya kelompok-kelompok mana yang memiliki perbedaan itu.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Tanaman

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah yang telah diidentifikasi di unit Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran nama spesies dari daun sirih merah yang akan digunakan dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Berdasarkan surat No: 234/UN27.9.6.4/Lab/2017 dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini benar adalah daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan hasil determinasi sebagai berikut. Hasil determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr (1963) dan Mangion, C.P. (2011):

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-
799b-800b-801b-802a-803b-804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-812b-
815b-816b-818b-820b-821b-822a-
823b _____ **23.Piperaceae**
1b-2b-3b _____ **3.Piper**
1 _____ ***Piper crocatum* Ruiz & Pav.**

Hasil determinasi daun sirih merah dapat dilihat pada lampiran 1.

B. Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun sirih merah diperoleh dari daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan Desember 2017. Daun sirih merah yang diambil adalah daun yang masih segar, dari tanaman daun sirih merah semua bagian kecuali akar dan batang yang sudah keras, tidak busuk, dan bebas jamur.

C. Hasil Penetapan Kadar Air Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah

Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun sirih merah dapat dilihat pada tabel 1. Serbuk daun sirih merah yang diperoleh dilakukan penetapan kadar

air dengan cara destilasi menggunakan alat *Stering-Bidwell*. Tujuannya yaitu untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air didalam bahan. Cairan pembawa yang digunakan adalah xylen karena xylen memiliki berat jenis dan titik didih yang lebih besar dari pada air dan tidak bercampur dengan air. Kandungan air yang tinggi dapat menjadi media pertumbuhan jamur, kapang dan mikroorganisme lain yang dapat merusak simplisia. Persyaratan kadar air serbuk simplisia yaitu kurang dari 10% (Depkes 1986).

Tabel 1. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun sirih merah

No.	Berat serbuk (g)	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%)
1	20,11	1,6	7,95
2	20,15	1,6	7,94
3	20,13	1,8	8,94
Rata-rata			8,27±0,57

Hasil perhitungan kadar air serbuk daun sirih merah menggunakan *stering-Bidwell* didapat kadar air rata-rata 8,27%. Jadi, serbuk daun sirih merah pada penelitian ini sudah sesuai dengan kadar air yang dipersyaratkan. Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk daun sirih merah dapat dilihat pada lampiran 11.

D. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah

Maserasi merupakan salah satu teknik dalam penyarian yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Pembuatan serbuk dan pengayakan bertujuan untuk mempermudah proses ekstraksi karena semakin kecil ukuran serbuk maka akan semakin besar luas permukaannya sehingga proses penyarian akan semakin efektif. Hasil perhitungan ekstrak etanol dan rendemen daun sirih merah dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 2. Hasil rendemen ekstrak etanol daun sirih merah

No.	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
1	1000	188,472	18,847

Dapat dilihat pada tabel 2, ekstrak kental yang didapat dari 1 kg serbuk kering daun sirih merah sebesar 188,472 gram dan diperoleh rendemen 18,847 %.

Rendemen dalam penelitian ini maksudnya dalam 1 kg serbuk kering senyawa metabolit sekunder yang tertarik dalam daun sirih merah sebesar 18.87%. Besar kecilnya nilai rendemen menunjukkan keefektifan ekstraksi pada berbagai metode. Efektifitas proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan sebagai penyari, ukuran partikel simplisia, metode dan lamanya ekstraksi (Istiqomah 2013). Hasil rendemen pembuatan ekstrak etanol daun sirih merah dapat dilihat pada lampiran 10.

E. Hasil Uji Bebas Etanol Ekstrak

Uji bebas etanol dilakukan pada ekstrak daun sirih merah untuk mengetahui bahwa ekstrak daun sirih merah benar-benar bebas adanya etanol. Ekstrak ditambahkan larutan asam asetat dan larutan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan hingga tidak tercium bau ester. Berdasarkan hasil uji bebas alkohol, ekstrak etanol daun sirih merah tidak mengandung alkohol. Uji bebas alkohol dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi (Sairlay 2017).

Tabel 3. Hasil uji bebas alkohol ekstrak etanol daun sirih merah

Identifikasi	Prosedur	Hasil	Keterangan
Uji bebas etanol (Uji esterifikasi)	Ekstrak + H ₃ COOH + H ₂ SO ₄ Pekat dipanaskan	Tidak tercium bau ester	(-)

Uji bebas etanol bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak yang akan digunakan masih mengandung etanol atau tidak. Ekstrak yang digunakan sebaiknya tidak mengandung etanol karena untuk menghindari pengaruh dari etanol sehingga tidak mempengaruhi perlakuan yang akan diuji coba ke hewan percobaan (Santika 2017).

F. Identifikasi Senyawa Daun Sirih Merah Dengan Metode KLT

Ekstrak daun sirih merah sebelum penelitian diidentifikasi kandungan kimianya untuk memastikan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Pemilihan fase gerak pada KLT sangat penting karena akan menentukan keberhasilan pemisahan senyawa yang diinginkan. Pendekatan polaritas adalah

yang paling sesuai untuk pemilihan pelarut. Senyawa polar akan lebih mudah terelusi oleh fase gerak yang bersifat polar dari pada fase gerak yang non polar. Sebaliknya senyawa non polar lebih mudah terelusi oleh fase gerak non polar dari pada fase gerak yang polar. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirih merah dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak daun sirih merah

Senyawa	Fase gerak	Pereaksi semprot	Hasil uji	Pembanding	Rf pembanding	Rf Ekstrak
Flavonoid	heksan : etil asetat : asam formiat (6:4:0,2).	Sitoborat	Positif (kuning)	Quersetin	0,28	0,28
Alkaloid	Toluen : etil asetat : dietil amin (7 : 2 : 1)	Dragendorf	Positif (jingga)	Piperin	0,56	0,67
Tanin	etil asetat : asam formiat : toluene : air (6 : 1,5 : 3 : 0,5)	FeCl ₃	Positif (hitam)	Asam galat	0,85	0,83
Saponin	kloroform : metanol : air (64 : 50 : 5)	Lieberman Bouchard	Positif (coklat)	Saponin	0,27	0,25

Flavonoid pengamatan dilakukan dibawah sinar UV 254 nm, sinar UV 366 nm, dan secara visibel. Pada pengamatan secara vesibel, bercak sampel maupun pembanding berwarna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa sampel mengandung flavonoid (Kusuma 2016). Hasil penelitian ini bersesuaian dengan teori yaitu menghasilkan bercak kuning yang berfluorens apabila dideteksi menggunakan sinar UV 254 dan Rf yang didapatkan adalah 0,28 pada larutan quersetin dan 0,28 pada larutan ekstrak. Kadar flavonoid didalam tanaman berbeda-beda di antara setiap bagian, jaringan, dan umur tanaman, serta dipengaruhi faktor-faktor lingkungan. Faktor-faktor ini adalah temperatur, sinar ultraviolet dan tampak, nutrisi, ketersediaan air, dan kadar CO₂ pada atmosfer (Kusuma 2016).

Alkaloid Uji KLT senyawa golongan alkaloid dilakukan dengan menggunakan fase diam silica gel 60 GF 254 karena baik untuk memisahkan

senyawa alkaloid. Pembanding yang digunakan adalah senyawa piperin karena senyawa ini merupakan senyawa golongan alkaloid. Pengamatan dilakukan di bawah sinar UV 254 nm, sinar UV 366 nm, dan secara visibel. Sampel dikatakan positif mengandung alkaloid jika bercak berwarna jingga sampai merah coklat pada pengamatan visual, pada pengamatan UV 254 nm terjadi peredaman, dan pada UV 366 nm menghasilkan bercak berwarna biru. (Kusuma 2017).

Tanin sampel positif jika bercak berwarna hijau kelabu. Warna ini timbul akibat adanya reaksi antara larutan $FeCl_3$ dengan tannin. Hasil pengamatan di bawah sinar UV 254 nm, 366 nm, dan visibel menunjukkan bahwa bercak sampel terdeteksi, sedangkan bercak pembanding terlihat berwarna kelabu. Kandungan tannin mempunyai kemampuan astrigen, antioksidan, antimalaria, antihiperqlikemia, aktibakteria dan penyembuhan luka (Kusuma 2017).

G. Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar yang diperoleh dari Laboratorium Gizi, Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Langkah awal sebelum dilakukan perlakuan ialah hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari kemudian dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam. Tujuan dipuasakan terlebih dahulu untuk menghindari pengaruh makanan yang dapat mempengaruhi kadar glukosa darah tikus. Setelah dipuasakan dilakukan penimbangan berat badan dan pengambilan darah untuk mengetahui kadar gula darah awal (T_0).

Penimbangan berat badan hewan uji dilakukan mulai hari ke-0 sebelum darah hewan uji diambil sebagai T_0 untuk memastikan kondisi hewan uji antara kelompok perlakuan sama. Selanjutnya pengukuran berat badan hewan uji dilakukan setiap pengambilan setiap kali pengambilan darah yaitu pada hari ke-4 setelah induksi aloksan, hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21 setelah pemberian untuk melihat perubahan yang terjadi pada berat badan tikus masing-masing perlakuan sebelum dan sesudah diberikan perlakuan (Lampiran 16).

Tabel 5. Rata-rata berat badan tikus

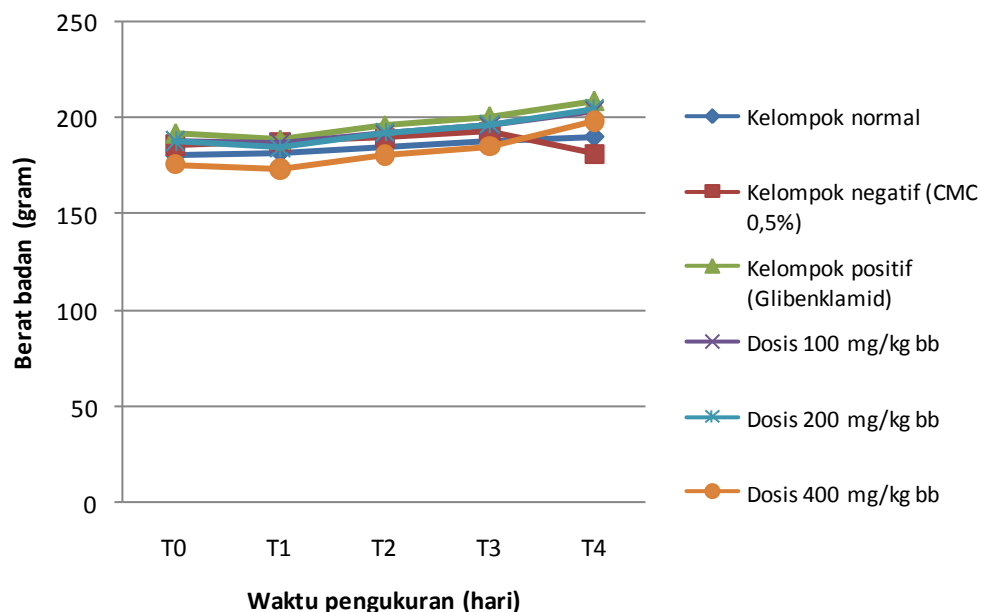
Kelompok	Rata-rata berat badan tikus (gram)				
	Hari ke-1 (T0)	Hari ke-4 (T1)	Hari ke-7 (T2)	Hari ke-14 (T3)	Hari ke-21 (T4)
I	180,20 ± 0,45	181,73 ± 0,82	184,53 ± 0,80	187,99 ± 1,30	189,91 ± 1,07
II	186,00 ± 13,14	187,46 ± 12,70	189,93 ± 21,15	192,71 ± 21,15	181,59 ± 9,15
III	192,00 ± 10,95	188,78 ± 11,13	196,06 ± 10,61	200,71 ± 10,47	208,68 ± 5,80
IV	188,00 ± 10,95	186,85 ± 10,46	191,60 ± 10,99	195,83 ± 10,80	203,51 ± 11,13
V	188,00 ± 10,95	184,65 ± 9,60	192,46 ± 10,56	196,68 ± 10,44	204,8 ± 10,27
VI	176,00 ± 8,94	173,45 ± 9,09	180,53 ± 9,27	185,20 ± 9,44	198,31 ± 10,47

Keterangan:

- I : Kelompok normal
- II : Kelompok negatif (CMC 0,5%)
- III : Kelompok positif (Glibenklamid)
- IV : Ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg bb
- V : Ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kg bb
- VI : Ekstrak daun sirih merah dosis 400 mg/kg bb

Berdasarkan tabel 5, penimbangan berat badan hewan uji dilakukan mulai hari ke-1 sebelum darah hewan uji diambil sebagai T₀ untuk memastikan kondisi hewan uji antara kelompok perlakuan sama. Selanjutnya pengukuran berat badan hewan uji dilakukan setiap kali pengambilan darah yaitu pada hari ke-4 setelah induksi aloksan, hari ke-7, hari ke-14 dan hari ke-21 menunjukkan perubahan berat badan tikus. Kelompok kontrol negatif yang diberikan suspensi CMC 0,5% mengalami kehilangan bobot berat badan yang paling besar dengan bobot awal 186,00 gram menurun menjadi 181,00 gram pada hari terakhir penelitian. Pemberian ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB mengalami kenaikan berat badan. Kelompok kontrol positif (Glibenklamid) mengalami kenaikan badan tertinggi sebesar 208,68 gram.

Dari hasil uji analisis statistik dengan menggunakan *Repeated ANOVA* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih merah dosis 100 mg/kg bb, 200 mg/kg bb dan 400 mg/kg bb di lihat dari tabel *Multivariate Test* di peroleh nilai signifikan $0,009 < 0,05$ dan $0,002 < 0,05$ pada dosis 400 mg/kg bb berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap perlakuan minimal ada 2 perlakuan yang berbeda sedangkan tabel *Pairwise Comparisons*, merupakan hasil yang menunjukkan hubungan antara yang pertama dengan kedua, pertama dengan ketiga dan seterusnya. Hasil menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ hal ini berarti bahwa perbedaan ada pada setiap perlakuan pengukuran.



Gambar 8. Grafik hubungan rata-rata berat badan tikus (gram) dengan waktu pengukuran (hari)

Keterangan:

T0 : Kadar glukosa darah awal pada hari ke-1

T1 : Kadar glukosa darah setelah induksi aloksan pada hari ke-3

T2 : Kadar glukosa darah setelah pemberian larutan uji pada hari ke-7

T3 : Kadar glukosa darah setelah pemberian larutan uji pada hari ke-14

T4 : Kadar glukosa darah setelah pemberian larutan uji pada hari ke-21

Tabel 6. Perubahan berat badan tikus

Kelompok	Kenaikan berat badan(gram)	(%) kenaikan berat badan
Kelompok normal	9,71	5,38
Kelompok negatif	-4,41	-2,37
Kelompok positifif	16,68	8,68
Dosis 100 mg/kg	15,51	8,25
Dosis 200 mg/kg	16,80	8,94
Dosis 400 mg/kg	22,31	12,67

Berdasarkan tabel 6, perubahan berat badan terjadi signifikan pada kelompok negatif yaitu -2,37% yang hanya diberikan suspensi CMC 0,5%. Kenaikan berat badan dipengaruhi oleh komposisi jumlah konsumsi pakan per hari. Semakin tinggi konsumsi pakan per hari semakin tinggi kenaikan berat badan. Faktor lainnya yang mempengaruhi pertumbuhan berat badan yaitu ketersediaan insulin yang cukup bahkan lemak dan meningkatkan sintesis lemak. Insulin akan langsung menambah pemasukan asam lemak yang secara langsung

meningkatkan cadangan lemak disamping mengurangi penggunaan lemak untuk energi (Dyahnugra & Widjanarko 2015). Salah satu simptom penderita DM adalah kehilangan berat badan secara drastis dan dalam waktu relatif singkat. Penyandang DM akan mengalami defisiensi insulin, sehingga terganggunya metabolisme protein dan lemak yang menyebabkan penurunan berat badan. Penurunan berat badan ini akan mengakibatkan berkurangnya jumlah simpanan kalori (Dyahnugra & Widjanarko 2015). Pada penelitian ini ekstrak daun sirih merah memiliki potensi untuk mengatasi simptom kehilangan berat badan (Siregar 2015). Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun sirih merah dapat meningkatkan berat badan yaitu 8,25%, 8,94% dan 12,67%. Peningkatan berat badan pada tikus diabetes yang diberi ekstrak daun sirih merah disebabkan nafsu makan meningkat berdasarkan pengamatan kualitatif peneliti.

H. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes

Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun sirih merah ini menggunakan metode induksi dengan aloksan. Aloksan dipilih sebagai diabetogen dalam penelitian ini dikarenakan aloksan didalam tubuh mengalami metabolisme oksidasi reduksi menghasilkan radikal bebas dan radikal aloksan. Radikal ini mengakibatkan kerusakan sel beta pankreas (Santika 2017). Dosis aloksan yang diberikan pada penelitian ini adalah 150 mg/kg BB. Dosis tersebut dipilih, karena diharapkan sel-sel beta Langerhans masih dapat berproduksi. Hewan uji dapat dinyatakan diabetes apabila terjadi hiperglikemi yaitu kadar glukosa darah >200 mg/dl, setelah diinduksi aloksan. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur wistar berjenis kelamin jantan berusia 2-3 bulan dengan berat badan 150-220 g, dalam kondisi sehat. Hewan uji yang digunakan sebanyak 30 ekor yang dikelompokkan menjadi 6 kelompok.

Dalam penelitian ini, hewan uji pada semua kelompok diinduksi dengan aloksan secara intraperitoneal, kecuali kelompok normal. Sebelum dilakukan penginduksi pankreas dengan aloksan, tikus uji sebelumnya dipuasakan selama 16 jam. Hal ini disebabkan karena aloksan dan glukosa berkompetisi untuk masuk kedalam sel β pankreas. Adanya glukosa dapat menghambat aloksan untuk masuk

ke dalam sel β pankreas sehingga harus dipuaskan untuk meminimalkan jumlah glukosa darah tikus uji (Santika 2017). Masa penginduksi dengan aloksan pada hewan uji dilakukan selama 3 hari. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan *Glukometer* data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran penurunan glukosa darah pada 6 kelompok dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran glukosa darah pada berbagai kelompok penelitian.

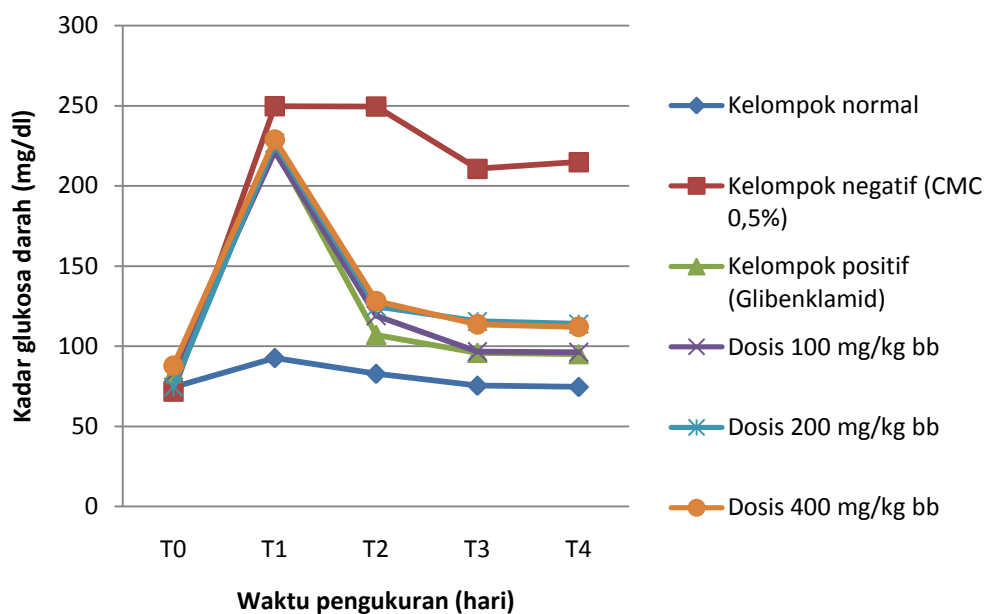
Kelompok	Rata-rata kadar glukosa darah tikus				
	Hari ke-1 (T0)	Hari ke-4 (T1)	Hari ke-7 (T2)	Hari ke-14 (T3)	Hari ke-21 (T4)
I	74,40±18,17	92,60 ± 5,81	82,80 ± 11,45	75,40 ± 6,98	74,60 ± 2,70
II	71,80±18,67	249,60± 9,79	249,40± 9,71	210,60± 12,60	214,80±8,93
III	83,20±14,53	223,60±14,43	107,00± 1,87	95,80 ± 7,79	95,00 ± 4,44
IV	83,00± 8,25	221,40±13,57	119,00±3,81 ^{a,b}	96,60 ± 1,82 ^{a,b}	96,20 ±2,68 ^{a,b}
V	74,60±15,24	226,40±16,93	124,60±7,23 ^{a,b,c}	115,40±10,87 ^{a,b,c}	113,80±8,17 ^{a,b,c}
VI	87,80± 8,04	228,80 ± 9,95	12,008±8,77 ^{a,b,c}	113,60±9,53 ^{a,b,c}	112,00±8,67 ^{a,b,c}

Keterangan:

- I : Kelompok normal
- II : Kelompok negatif (CMC 0,5%)
- III : Kelompok positif (Glibenklamid)
- IV : Ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg bb
- V : Ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kg bb
- VI : Ekstrak daun sirih merah dosis 400 mg/kg bb
- T0 : Kadar glukosa darah awal
- T1 : Kadar glukosa darah setelah induksi aloksan
- T2 : Kadar glukosa darah setelah pemberian larutan uji pada hari ke-7
- T3 : Kadar glukosa darah setelah pemberian larutan uji pada hari ke-14
- T4 : Kadar glukosa darah setelah pemberian larutan uji pada hari ke-21
- a : Beda signifikan terhadap kelompok normal
- b : Beda signifikan terhadap kelompok negatif
- c : Beda signifikan terhadap kelompok positif

Berdasarkan tabel 7 diatas menunjukkan bahwa rata-rata kadar glukosa awal rata-rata kadar glukosa darah sebelum perlakuan pada semua kelompok (T0) adalah 71,00-87,00 mg/dl kadar glukosa ini termasuk kadar glukosa normal karena seluruh kelompok belum diberikan perlakuan apapun. Setelah diinduksi aloksan (T1) semua kelompok perlakuan mengalami kenaikan glukosa darah sekitar 221,40-228,80 mg/dl. Hal tersebut disebabkan karena mekanisme aloksan secara spesifik merusak sel β pankreas yang mensekresi hormon insulin, menunjukkan bahwa induksi aloksan bertujuan untuk mengkondisikan tikus dalam keadaan eksperimental diabetes dengan metode kerusakan struktur pankreas. Kondisi eksperimental diabetes akan mengakibatkan tikus normal

menjadi tikus penderita DM dengan ditandai salah satu ciri diagnosa klinis penurunan berat badan (Santika 2017).



Gambar 9. Grafik hubungan rata-rata kadar glukosa darah (mg/dl) dengan waktu pengukuran (hari)

Berdasarkan gambar 9, kelompok negatif yang digunakan CMC dengan menggunakan konsentrasi 0,5%. Pada hewan uji yang diberi perlakuan dengan CMC 0,5% menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah dari hari pertama perlakuan sampai hari terakhir perlakuan karena tidak diberikan ekstrak etanol daun sirih merah sehingga tidak mengobati kerusakan pada sel β pankreas yang disebabkan oleh induksi aloksan. Kelompok positif dalam penelitian ini adalah Glibenklamid. Glibenklamid dipilih sebagai terapi pembanding ekstrak etanol daun sirih merah karena dapat merangsang sekresi insulin di kelenjar pankreas. Dosis glibenklamid yang digunakan adalah 0,09 mg/200 g BB. Dosis tersebut digunakan berdasarkan dosis efektif oral pada manusia, yaitu 5 mg/hari yang kemudian dikonversikan ke dosis tikus. Penurunan kadar glukosa darah dengan pemberian ekstrak etanol daun sirih merah dapat disebabkan oleh adanya senyawa biokatif yang terkandung dalam daun sirih merah yang dapat mencegah terjadinya oksidasi pada sel β pankreas sehingga kerusakan dapat diminimalkan.

Senyawa bioaktif yang terdapat dalam daun sirih merah di antaranya flavonoid, tanin, alkaloid dan saponin.

Setelah diinduksi aloksan, kadar glukosa darah (*T1*) semua kelompok mengalami peningkatan kecuali kelompok normal. Kelompok normal berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok perlakuan. Hal ini membedakan bahwa induksi aloksan berhasil meningkatkan kadar glukosa darah (hiperglikemi) pada kelompok perlakuan dan kelompok positif (glibenklamid) dan kelompok negatif (CMC 0,5%). Setelah pemberian larutan uji (*T2*), semua kelompok perlakuan berbeda signifikan dengan kelompok negatif (CMC 0,5%). Hal ini menunjukkan bahwa ada perbaikan kadar glukosa darah namun belum mencapai keadaan normal.

Pada waktu ke (*T3* dan *T4*), semua kelompok perlakuan mengalami penurunan kadar glukosa darah. Kelompok positif (glibenklamid), ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB, ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kg BB dan ekstrak daun sirih merah dosis 400 mg/kg BB berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok negatif, artinya terjadi perbaikan kadar glukosa darah secara bertahap. Kelompok ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB sebanding dengan kontrol positif (glibenklamid). Kelompok ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kg BB sebanding dengan ekstrak daun sirih merah dosis 400 mg/kg BB. Semua kelompok perlakuan berbeda signifikan ($p < 0,05$) dengan kelompok normal.

Berdasarkan data di atas, dapat dinyatakan bahwa kelompok ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB, ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kg BB dan ekstrak daun sirih merah dosis 400 mg/kg BB memberikan efek penurunan kadar glukosa darah, ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB sebanding dengan kontrol positif (glibenklamid). Hal ini disebabkan karena glibenklamid merupakan golongan sulfonilurea yang memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah yang ditimbulkan dengan cara menstimulasi pelepasan insulin dari sel β pankreas serta dapat meningkatkan kadar insulin dengan cara mengurangi bersihan hormon dihati. Glibenklamid dimetabolisme oleh hati dan metabolitnya diekskresikan di dalam urin (Katzung 2002). Pada hari ke-21 (*T4*) hasil penurunan

glukosa darah sangat signifikan sehingga perlu diperhatikan untuk pemberian glibenklamid dalam penggunaan jangka panjang karena mungkin dapat menyebabkan keadaan hipoglikemia.

Berdasarkan tabel 7, persentase penurunan kadar gula darah tikus hasil analisis statistik menggunakan uji *Shapiro-wilk* dari data output dapat diketahui bahwa nilai signifikansi dari masing-masing kelompok $>0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*. Nilai probabilitas dan output diatas adalah signifikansi $0,071 > 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*. Dari output ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

Tabel 8. Rata-rata perhitungan kadar glukosa darah (mg/dl)

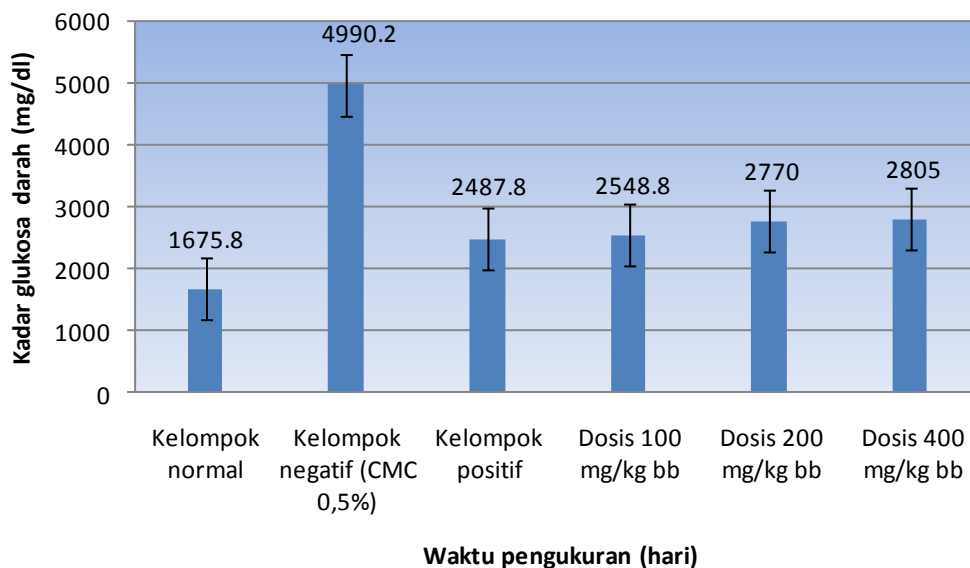
Kelompok	AUC	(%) Antidiabetes
	Rata-rata \pm SD	
Kelompok normal	1675,80 \pm 62,03	-
Kelompok negatif	4490,20 \pm 57,27	0
Kelompok positif	2487,80 \pm 111,48	44,59
Dosis 100 mg/Kg	2548,80 \pm 46,15 ^{a,b}	43,24
Dosis 200 mg/Kg	2770,00 \pm 145,90 ^{a,b,c}	38,31
Dosis 400 mg/Kg	2805,00 \pm 117,31 ^{a,b,c}	37,53

Keterangan:

- a : Beda signifikan terhadap kelompok normal
- b : Beda signifikan terhadap kelompok negatif
- c : Beda signifikan terhadap kelompok positif

Berdasarkan tabel 8, pada kelompok negatif yang hanya diberikan CMC Na 0,5% memiliki nilai AUC paling besar maka efek antidiabetes semakin kecil. Dilihat dari hasil analisa statistik uji *post hoc test* kelompok dengan ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg bb dan kontrol pembanding (glibenklamid) dengan nilai signifikansi 0,916 ($P > 0,05$). Hasil ini dapat disimpulkan bahwa kelompok dosis 100 mg/kg bb memiliki aktivitas antidiabetes yang hampir sama dengan glibenklamid. Parameter nilai AUC dosis 100 mg/kg bb menggambarkan jumlah total glukosa yang mencapai sirkulasi sistemik, sehingga nilai AUC terbesar menunjukkan bahwa glukosa lebih banyak masuk ke sirkulasi sistemik sedangkan

semakin kecil nilai dari AUC maka kemampuan menghambat diabetes semakin baik, sehingga persen daya antidiabetes semakin besar.



Gambar 10. Grafik rata-rata AUC total

Dilihat dari hasil analisa statistik *uji post hoc test* kelompok dosis ekstrak etanol daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) dengan kelompok positif yang diberikan glibenklamid 0,09 mg/kg sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirih merah dengan dosis 100 mg/kg BB mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah sebanding dengan kelompok positif (glibenklamid) dibandingkan dengan dosis ekstrak etanol daun sirih merah dosis 200 mg/kg dan dosis 400 mg/kg.

Efek diabetagonik aloksan ini dapat diatasi senyawa penangkap radikal hidroksil. Dalam daun sirih merah terkandung senyawa fitokimia yaitu alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid. Penurunan kadar glukosa darah tikus terjadi karena daun sirih merah mengandung flavonoid. Berdasarkan penelitian, flavonoid merupakan senyawa yang mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan mekanisme meningkatkan sensitivitas reseptor insulin pada tikus yang resistensi insulin, dan pengurangan massa lemak pada tikus yang obesitas (Septiany 2016).

Flavonoid adalah salah satu senyawa yang mengandung antioksidan yang dapat bertindak sebagai penangkap radikal hidroksil.

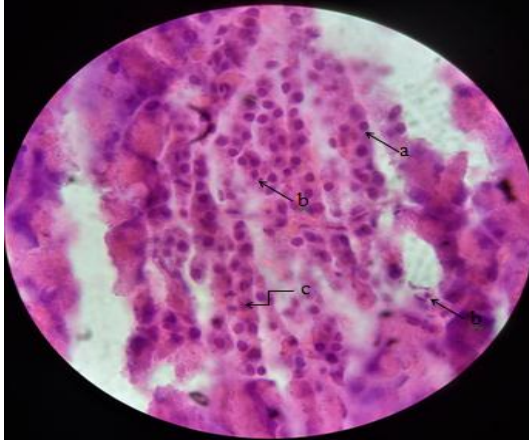
Alkaloid merupakan metabolit sekunder yang paling banyak ditanaman. Alkaloid adalah bahan organik yang mengandung nitrogen sebagai bagian dari sistem heterosiklik (Dewi *et al.* 2014). Menurut literatur, senyawa saponin yang terkandung dalam tanaman herbal dapat bertindak dengan merangsang insulin di pankreas dan meningkatkan aktivitas insulin. Penurunan kadar glukosa dikarenakan adanya sel beta yang menjaga keseimbangan homeostasis sehingga memperlancar kembali pelepasan insulin. Pada zat aktif tanin, juga dapat meningkatkan penyerapan glukosa dan menghambat adipogenesis. Mekanisme tanin juga berfungsi sebagai pengkhelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan sebagai akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Septiany 2016).

I. Hasil Pemeriksaan Histopatologi Pankreas

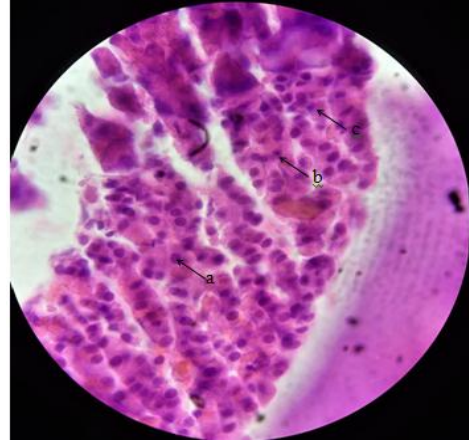
Pada penelitian histopatologi ini dilakukan di Laboratorium Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Metode pemeriksaan yang digunakan untuk melihat kondisi histopatologi pankreas tikus hewan uji adalah metode pewarnaan *Hematoxilyn Eosin* (HE). Metode ini menggunakan pewarnaan ganda (*double staining*), sehingga hematoxilyn akan memulas inti dan struktur asam lainnya dari sel menjadi biru, sedangkan eosin akan memberikan warna merah pada sitoplasma dan kolagen (Santika 2017). Pada pulau langerhans merupakan kumpulan kelenjar endokrin yang tersebar di seluruh organ pankreas, terbentuk seperti pulau dan banyak dilalui oleh kapiler-kapiler darah. Sel yang terdapat pada pulau langerhans terdapat empat jenis sel yaitu (sel alfa, beta, delta dan F) dengan menggunakan pewarnaan HE sel-sel tersebut tidak dapat dibedakan sehingga pada penelitian ini hanya fokus terhadap sel pankreas secara umum (Rosalina 2017)

Pada penelitian ini diamati histopatologi pankreas tikus yang diambil setelah perlakuan dengan pemberian ekstrak daun sirih merah selama 21 hari.

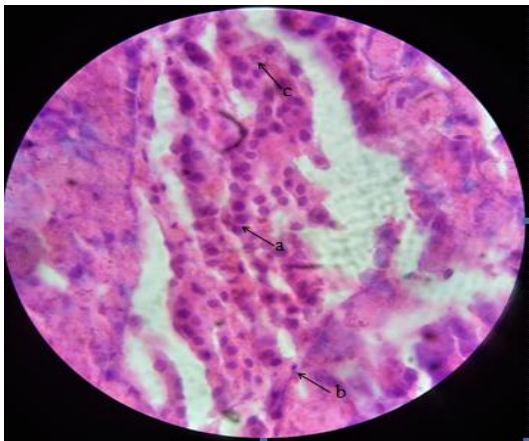
Preparat histologi dibuat dengan pewarnaan HE. Berikut ini merupakan gambar histopatologi pankreas perbesaran 1000x pada tiap kelompok perlakuan:



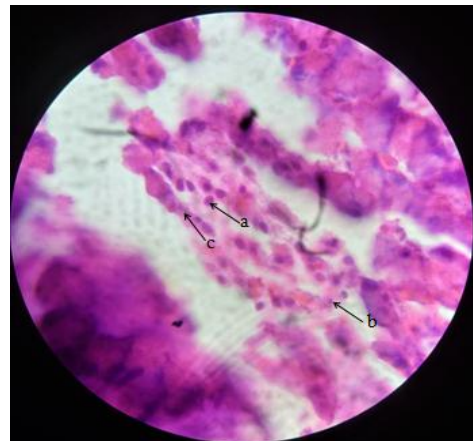
Kontrol normal



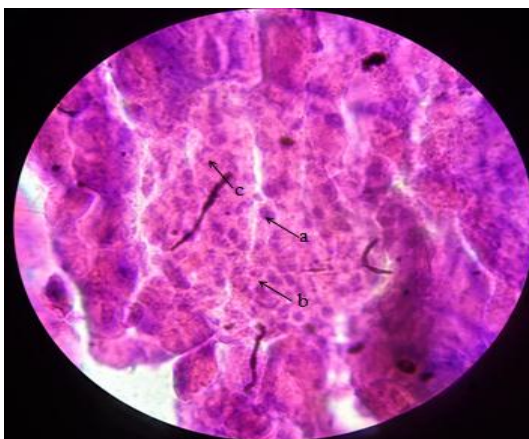
Kontrol negatif CMC 0,5%



Kontrol positif Glibenklamid



Ekstrak daun sirih merah 100mg/kg BB



Ekstrak daun sirih merah 200mg/kg BB



Ekstrak daun sirih merah 400mg/kg BB

Gambar 11. Hasil foto preparat organ pankreas dengan perbesaran 1000x; tanda panah tersebut menunjukkan sel-sel pada pulau Langerhans (a) sel normal; (b) piknosis dan (c) karyoreksis.

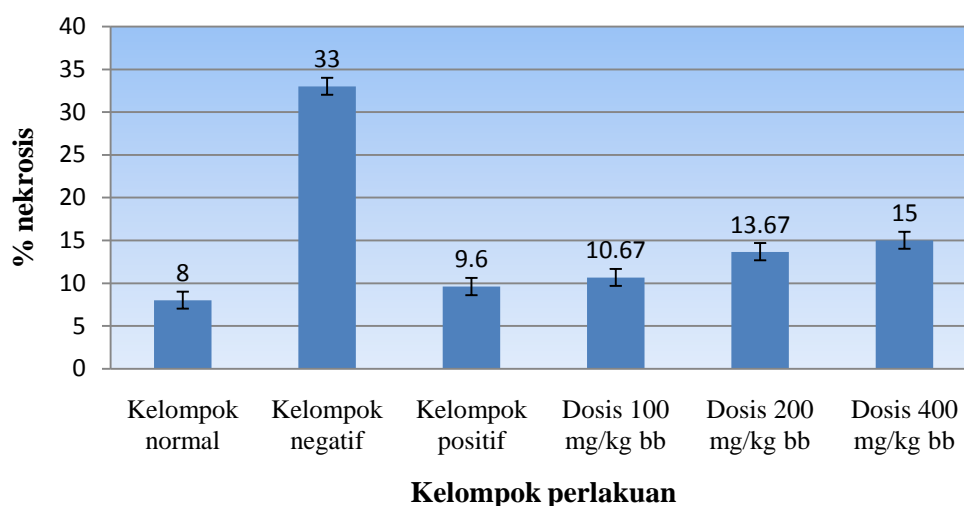
Tabel 9. Rata-rata persentase nekrosis pada masing-masing kelompok perlakuan

Kelompok	Rata-rata persentase nekrosis (% ± SD)
Kelompok normal	8,00 ± 1,00
Kelompok negatif (CMC 0,5%)	33,00 ± 2,00
Kelompok positif (Glibenklamid)	9,6 ± 1,53
Ekstrak daun sirih merah 100 mg/kg BB	10,67 ± 1,53 ^b
Ekstrak daun sirih merah 200 mg/kg BB	13,67 ± 2,52 ^{ab}
Ekstrak daun sirih merah 400 mg/kg BB	15,00 ± 1,00 ^{abc}

Keterangan:

- a : Beda signifikan terhadap kelompok normal
b : Beda signifikan terhadap kelompok negatif
c : Beda signifikan terhadap kelompok positif

Persentase nekrosis sel endokrin tersebut diperoleh dengan menghitung total inti sel dan data total inti sel yang mengalami nekrosis, yakni piknosis, karioreksis dan kariolisis. Data hasil menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap rata-rata persentase nekrosis sel endokrin yang dibuktikan dengan adanya perbedaan rata-rata persentase nekrosis. Berdasarkan tabel 9, kelompok uji memberikan rata-rata persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans dari terkecil sampai terbesar berturut-turut adalah sebagai berikut: kelompok normal, kelompok positif (Glibenklamid), ekstrak daun sirih merah 100 mg/kg BB, ekstrak daun sirih merah 200 mg/kg BB, ekstrak daun sirih merah 400 mg/kg BB dan kelompok negatif (CMC 0,5%).



Gambar 12. Grafik rata-rata presentase nekrosis

Hasil pengamatan terhadap preparat histopatologi pankreas pada gambar 12, dapat diketahui bahwa kelompok normal tanpa diberi perlakuan menunjukkan presentase sebesar 8% kondisi sel pankreas yang normal, susunan sel yang teratur menyebar di pulau Langerhans dan memiliki bentuk sel yang seragam. Pada kelompok kontrol negatif yang diinduksi aloksan menunjukkan presentase sebesar 33% terjadi perubahan sel, dengan susunan sel yang tidak teratur menyebar di pulau Langerhans. Kerusakan pada jaringan pankreas yaitu berupa vakuolisasi ditandai dengan terlihatnya ruang-ruang kosong akibat nekrosis sel beta. Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang fatal ditandai dengan kerusakan struktur dan fungsi sel secara menyeluruh yang diikuti lisisnya sel dan peradangan jaringan. Bentuk sel tidak seragam bahkan sel nekrosis yang ditandai dengan pengerutan inti (piknosis), hilangnya inti (kariolisis) dan inti pecah (karioreksis) sehingga hanya terlihat serat kolagennya saja sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun sirih merah menunjukkan keadaan yang lebih baik yaitu sel mulai terlihat normal yang ditunjukkan dengan bentuk sel bulat (Sairlay 2017). Hasil yang didapatkan juga menunjukkan bahwa dosis ekstrak etanol daun sirih merah yang paling efektif dalam menurunkan presentase nekrosis yaitu dosis 100 mg/kg BB. Hal ini sesuai dengan uji penurunan kadar gula darah dimana pemberian ekstrak etanol daun sirih merah dengan tiga variasi dosis yaitu dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB terbukti dosis efektif adalah dosis 100 mg/kg BB secara berturut-turut presentase kerusakan nekrosisnya 10,67%, 13,67% dan 15%. Pada kelompok kelompok glibenklamid juga menunjukkan penurunan presentase nekrosis pada sel endokrin pulau Langerhans dibandingkan dengan kelompok negatif.

Induksi aloksan pada peritoneum hewan percobaan dapat menyebabkan kerusakan yang selektif pada sel β pankreas. Secara *in vitro* aloksan menyebabkan nekrosis sel β pankreas dengan menstimulasi H_2O_2 intrasel. Aloksan juga mengganggu homeostasis pada sel, hal ini merupakan awal kematian sel karena terganggunya proses oksidasi sel. Peningkatan konsentrasi ion kalsium, mempercepat kerusakan sel β pankreas. Saat sel β dirusak aloksan terjadi gangguan sekresi insulin mengakibatkan jumlah insulin berkurang. Penurunan

sekresi insulin mengakibatkan tubuh tidak dapat menggunakan glukosa sebagai sumber energi (Dewi *et al.* 2014).

Dalam daun sirih merah terkandung senyawa fitokimia yaitu alkaloid, saponin, tanin dan flavonoid. Flavonoid diketahui mampu berperan menangkap radikal bebas atau berfungsi sebagai antioksidan alami. Aktivitas antioksidan tersebut memungkinkan flavonoid untuk menetralkan radikal bebas seperti *reactive oxygen species (ROS)* atau *reactive nitrogen species (RNS)* terkait dengan gugus OH fenolik sehingga dapat memperbaiki keadaan jaringan yang rusak. Flavonoid dapat berperan dalam kerusakan jaringan pankreas yang diakibatkan oleh alkilasi DNA akibat induksi aloksan sebagai akibat dapat memperbaiki morfologi pankreas tikus (Afsari *et al.* 2016). Flavonoid berfungsi sebagai penangkap (*scavenger*) anion superoksida dan radikal hidroksi. Flavonoid juga mendonorkan atom hydrogen ke radikal peroksida membentuk radikal flavonoid yang mudah bereaksi dengan radikal bebas sehingga reaksi radikal rantai berhenti (Fransiska *et al.* 2013). Flavonoid disebut sebagai senyawa yang memiliki aktivitas antihiperlikemia karena dapat bertindak sebagai antioksidan dan inhibitor aldosa reduktase. Sebagai antioksidan, flavonoid menghambat pembentukan radikal bebas yang dapat merusak sel β pankreas dengan mendonorkan atom hidrogen dari gugus fenoliknya untuk berikatan dengan substituen radikal bebas sehingga membentuk radikal flavonoid (Sairlay 2017).

Berdasarkan tabel 10, persentase nekrosis hasil analisis statistik menggunakan uji *Shapiro-wilk* dari data output dapat diketahui bahwa nilai signifikansi dari masing-masing kelompok $>0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*. Nilai probabilitas dan output diatas adalah signifikansi $0,632 > 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*. Dari output ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat diambil kesimpulan :

Pertama, pemberian ekstrak etanol daun sirih merah memiliki aktivitas antidiabetes dapat menurunkan kadar gula darah.

Kedua, pemberian ekstrak etanol daun sirih merah dapat memperbaiki histopatologi pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan.

Ketiga, ekstrak etanol daun sirih merah 100 mg/kg bb adalah dosis efektif dapat menurunkan kadar gula darah.

Keempat, ekstrak etanol daun sirih merah 100 mg/kg bb adalah dosis efektif dapat memperbaiki histopatologi pankreas pada tikus putih yang diinduksi aloksan.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji antidiabetes ekstrak etanol daun sirih merah dengan metode penelitian yang berbeda.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai metode ekstraksi penelitian yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- [ADA] American Diabetes Association. 2015. *Diagnosis and Classification Of Diabetes Mellitus*. Vol 37. Pp 81-90.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. *Informatorium Obat Nasional Indonesia*. Jakarta: Sagung Seto. Hal 490-492.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid 1. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Hal 124 & 195.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitokimia: Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia, dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Yayasan Perkembangan Obat Bahan Alam. Hal 15-17.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 10-16.
- [DepKes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Hal 1030-1031.
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. *Diabetes Melitus Penyebab Kematian Nomor 6 di Dunia: Kemenkes Tawarkan Solusi Cerdik Melalui Posbindu*. <http://www.depkes.go.id/index.php/berita/rilisberit> [6 Desember 2017]
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Waspada diabetes situasi dan analisis diabetes: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI*. <file:///C:/Users/hp/Documents/PROPOSAL/Literatur%20proposal%20!!/Kemenkes%202014.pdf> [6 Desember 2017]
- Afsari R, Kusmiyati, Merta IW. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap penurunan kadar gula darah mencit (*Mus musculus*). *Jurnal biologi tropis*. Volume 16 (1): 49-55. ISSN: 1411-9587
- Agustina DR. 2011. Pengaruh pemberian secara topical kombinasi rebusan daun sirih merah (*Piper Cf. fragile*, Benth.) dan rebusan herba pegagan (*Centella asiatica* (L.)Urban) terhadap penyembuhan luka tikus putih jantan yang dibuat diabetes [Skripsi]. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Program Sarjana Farmasi, Universitas Indonesia.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia. Hal 605-607.

- Ansel HC. 2011. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*. Hal 7-13.
- Darmayudha AAGO, Anthara MS, Wiranata IMA, Sudimartini LM. 2014. Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Peningkatan Berat Badan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Jantan Diabetes Yang Di Induksi Aloksan. *Buletin veteriner udayana* 6:2.
- Dyahnugra AA, Widjanarko SB. 2015. Pemberian Ekstrak Bubuk Simplisia Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* L.) menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Jantan kondisi Hiperglikemik. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Volume 3 No 1 halaman 113-123.
- Dewi LI. 2014. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun salam (*eugenia polyantha*) terhadap tikus galur wistar yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Dewi YF, Anthara SM, Darmayudha AGO. 2014. Efektivitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Yang Di Induksi Aloksan. *Buletin veteriner udayana* 6:1.
- Dipiro JT, Talbert RI, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. 2005. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, Sixth Edition. McGraw-Hill, New York.
- Dipiro JT, Talbert RI, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. 2008. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, Seventh Edition. McGraw-Hill, New York. Hal 643-666.
- Dyahnugra AD, Widjanarko SM. 2015. Pemberian ekstrak bubuk simplisia kulit manggis (*Garcinia mangostana* L) menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan kondisi hiperglikemik [Skripsi]. Malang: Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang.
- Goodman, Gilman. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. Edisi 10. Siswah C. Elviana E. Syarief WR. Hanif A. Manurung J. Penerjemah. Penerbit: Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm 1648. Terjemah dari: *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basic of Therapeutic*. 10th Ed. Hlm 1655-1675.
- Fransiska PA, Winarso D, Muwarni S. 2013. Pengaruh pemberian ekstrak (*Curcuma longa* L) terhadap titer interleukin-6 (IL-6) dan gambaran histology pankreas pada tikus (*Rattus norvegicus*) model diabetes mellitus tipe 1 [Skripsi]. Malang: Program kedokteran, Universitas Brawijaya.

- Gunawan D, Mulyani S. 2004. Ilmu Obat Alam. Jilid I. Jakarta: penerbit Penebar Swadaya. Hal 106-108.
- Gunawan SG, Rianto S, Nafrialdi, Elysabeth. 2007. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi ke-5. Jakarta: Balai Penerbit FKUI. Hal 485, 489.
- Istiqomah. 2013. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar piperin buah cabe jawa (*Piperis retrofracti fructus*. [Skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Jalung F. 2016. Uji aktivitas antidiabetes fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun stevia (*Stevia rebaudiana*) pada tikus putih jantan yang di induksi aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Perkeni. 2011. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus tipe 2 di Indonesia 2011*, PB Perkeni, Jakarta.
- Pramesti HAD. 2017. Uji aktivitas analgetik ekstrak etanol daun semanggi (*Marsilea crenapesl.*) pada mencit putih jantan (*Mus musculus*) dengan metode tail flick dan metode Sigmund [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Katzung BG. 2002. Farmakologi Dasar & Klinik. Edisi 8. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Surabaya: EGC. Terjemahan dari: Basic and Clinical Pharmacology, eighth ed. Hal 694-709.
- Katzung BG. 2010. Farmakolog Dasar dan Klinik. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal 704-705.
- Kusuma EW. 2016. Aktivitas Antihiperqlikemi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & Pav.*) dan Efeknya Terhadap Ekspresi GLUT-2 pada Tikus yang diinduksi Streptozotosin-Nikotinamida [TESIS]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Lenzen S. 1998. *Alloxan: History and Mechanism of Action*. Diabetologia 31:337-342.
- Lenzen S. 2008. *The Mechanisms of Alloxan-and Streptozotocin-Induced Diabetes* (Review). Diabetologia 51:216-226.
- Lestari AY. 2017. Uji Aktivitas Ekstrak Daun Kapuk Randu (*Ceiba pentandra Gaertn*) sebagai Antidiabetes pada Tikus yang diinduksi Aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Mardiana L. 2004. Kanker pada wanita: Pencegahan dan Pengobatan dengan Tanaman Obat. Jakarta: Penebar Swadaya, p:61
- Meirinawati A. 2006. Evaluasi penatalaksanaan terapi pasien diabetes mellitus komplikasi hipertensi rawat inap periode 2005 rumah sakit panti rapih

Yogyakarta. [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.

Merck. 1987. *Buku Pedoman Kerja Kimia Klinik*. Jakarta: Hal 62-78

Musa AM, Aliyu AB, Yaro AH, Magaji MG, Hassan HS, Abdullahi MI. 2009. Preliminary Phytochemical, Analgesic and Anti-Inflammatory Studies of the Methanol Extract of *Anisopus mannit* (N.E.Br) (Asclepiadaceae) in Rodents. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 3:374-378.

Muchid A, Umar F, Ginting NM, Basri C, Wahyuni R, Helmi R, Istiqomah SN, Lestari SB, Syamsudin F, Pamela DS, Astuti, Fitria B, Retnohidayati D, Masrul. 2005. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Melitus*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Nisa GK, Nugroho WA, Hendrawan Y. 2014. Ekstraksi daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan metode microwave assisted extraction (mae). *Jurnal Bioproses Komoditas Tropis*. 2:1.

Prasetyo E. 2016. Cukup 2-3 lembar daun sirih merah direbus, penyakit mematikan ini bisa hilang. *Tribun jambi*. <http://jambi.tribunnews.com/2016/03/13/cukup-3-5-lembar-sirih-merah-direbus-penyakit-mematikan-ini-bisa-hilang> [31 Desember 2017].

Raja LL. 2008. Uji Efek Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia Mahagoni Jacq*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus. [Skripsi] Medan: Universitas Sumatera Utara.

Rosalina V. 2017. Aktivitas Antihiperlipidemik, penghambatan stress oksidatif dan regenerasi pankreas, kombinasi ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale*) dan daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp) pada tikus yang diinduksi streptozotocin nikotinamid [TESIS]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

Safithri M, Fadma F. 2005. Potency of piper crocatum decoction as an Antihyperglycemia in Rat Strain Sprague Dawley. *Hayati Journal of Biosciences* March 2008, pp: 45-8

Sahid APN. 2016. Pengaruh bubuk daun kenikir (*Cosmos caudatus*) terhadap kadar glukosa darah tikus wistar diabetes diinduksi *Streptozotocin*. [Skripsi] Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.

Sairlay LI. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Batang Faloak (*Sterculia quadrifida R.Br*) Terhadap Histopatologi Pankreas Tikus Yang Diinduksi Aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.

- Santika LN. 2017. Uji Antihiperqlikemia Ekstrak Etanol Buah Pepino (*Solanum muricatum Aiton*) Pada Tikus Jantan Galur Wistar Yang Diinduksi Dengan Aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Septiany E. 2016. Pengaruh ekstrak etanol semut jepang (*Tenebrio molitor L*) terhadap kadar glukosa darah pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Siregar AA. Ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum*) menurunkan kadar gula darah mencit diabetes. Jurnal ilmiah manutung, 1 (1), 42-46, 2015. Sumatera utara: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Smith JB, Mangkoewidjojo S. 1998. Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis. Jakarta: UI Press.
- Sudarmadji, Haryono B, Suhardi. 2003. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta.
- Sudewo B. 2010. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Jakarta: PT Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Sudjono NWS. 2017. Efek hipoglikemik kombinasi daun kersen (*muntingia calabura l*) dan daun pletekan (*ruellia tuberosa l*) pada mencit dengan metode diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktikum Farmakologi*. Edisi IV. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi UGM.
- Suherman, Suharti K. 2007. *Insulin dan antidiabetik oral*. Diacu dalam: Gunawan SG. Setiabudy R. Nafrialdi. Elysabeth. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Departemen Farmakologi.
- Sukandar EY. 2008. ISO Farmakoterapi Buku 1. Jakarta:PT. ISFI Penerbitan. Hlm 26.
- Sulaiman TNS. 2007. Teknologi dan Formulasi Sediaan Tablet, Cetakan Pertama. Yogyakarta: Mitra Communications Indonesia.
- Sunarsih SE, Djatmika & Utomo RS. 2007. Pengaruh pemberian infusa umbi gedung (*Dioscorea hispida dennst*) terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan diabetes yang diinduksi aloksan. Majalah Farmasi Indonesia. 18 (1), Hlm: 3
- Szkudelski T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B-Cell of The Rat Pancreas. *Physiol. Res.* 50:n536-546.

- Tjitrosoepomo G. 2005. *Taksonomi Tumbuhan Obat-Obatan*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi V*. Noerono S, penerjemah; Yogyakarta: UGM. Terjemahan dari: *Pharmaceutical Technology*.
- WHO. 2014. Diabetes Mellitus. <http://www.who.int/diabetes/en/>. Diakses pada tanggal 26 November 2017.
- Wegner H, Bladt S. 1996. *Plat Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2nd edition. New York. Springer.
- Wicaksono. 2013. Piperatha: Inovasi Terapi Kombinasi Ekstrak Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Dan Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap peningkatan aktivitas FAS/FAS-L pada regenerasi pertumbuhan kanker serviks secara in vitro. Malang: Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.
- Yuriska AF. 2009. efek aloksan terhadap kadar glukosa darah tikus wistar [KTI]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.

L

A

M

P

J

R

A

N

Lampiran 1. Surat determinasi tanaman



MENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail biologi@mipa.uns.ac.id

Nomor : 234/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -

Nama Pemesan : Siti Imro'atul Muharomah
NIM : 20144304A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Piper crocatum* Ruiz & Pav.
Familia : Piperaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963) dan Mangion, C.P. (2011):

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27b-799b-800b-801b-802a-803b-804b-805c-806b-807a-808c-809b-810b-811a-812b-815b-816b-818b-820b-821b-822a-823b **23. Piperaceae**
1b-2b-3b **3. Piper**
1 ***Piper crocatum* Ruiz & Pav.**

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna semusim, memanjat atau menjalar, panjang tanaman dapat mencapai sekitar 5-10 m. Akar : akar serabut, tipe akar pelekat, melekat erat pada penunjang, keluar dari ruas-ruas batang, berwarna putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : batang bulat, hijau merah keunguan, beruas-beruas dengan panjang ruas 3-8 cm, pada setiap buku tumbuh satu daun, permukaan licin. Daun : daun tunggal, berseling atau tersebar, bentuk daun jantung-bulat telur hingga bulat telur-lonjong, panjang daun 6.1-14.6 cm, lebar daun 4-9.4 cm, permukaan atas daun agak cembung dan mengkilat, permukaan bawah daun mencekung dengan pertulangan daun yang menonjol, pertulangan daun menyirip, permukaan atas daun licin mengkilat, permukaan bawah daun kusam, warna dasar daun hijau pada kedua permukaannya, bagian atas hijau dengan garis-garis merah jambu kemerahan, permukaan bagian bawah hijau merah tua keunguan, bila diremas menghasilkan lendir serta aromanya wangi; tangkai daun hijau merah keunguan, panjang 2.1-6.2 cm, pangkal tangkai daun pada helaian daun agak ke tengah sekitar 0.7-1 cm dari tepi daun bagian bawah. Bunga : bunga majemuk tipe bulir, di ketiak daun, bunga berkelamin satu, berumah satu, bersifat aktinomorf; pelindung bunga (braktea) berbentuk lingkaran, bulat telur atau bulat telur terbalik, panjang 1 mm; bulir bunga jantan panjangnya sekitar 1.5 - 3 cm, terdapat 2 benang sari yang pendek; bulir bunga betina panjangnya sekitar 1.5-6 cm, terdapat kepala putik 3-5 buah, berwarna putih hingga hijau kekuningan. Buah : buah buni bentuk bulat. Biji : berjumlah 1 tiap buah, bentuk bulat.

Surakarta, 12 Desember 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

Dr. Tetri Widiyani, M.Si.
NIP. 19711224 200003 2 001

Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.
NIP. 19800705 200212 1 002

Mengetahui
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Surat *Ethical clearance*

4/2/2018

Form A2



HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
Dr. Moewardi General Hospital
RSUD Dr. Moewardi



School of Medicine Sebelas Maret University
Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret

ETHICAL CLEARANCE
KELAIKAN ETIK

Nomor : 413 / IV / HREC / 2018

The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

That the research proposal with topic :
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (Piper crocatum) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Yang Dinduksi Aloksan

Principal investigator : Siti Imroatul Muharomah
 Peneliti Utama : 20144304A

Location of research : Universitas Setia Budi
 Lokasi Tempat Penelitian

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik



Issued on : 02 Apr 2018

Chairman
 Ketua

Dr. Hari Wujoso, dr., Sp.F,MM
 NIP. 19621022 199503 1 001

Lampiran 3. Surat keterangan hewan

"ABIMANYU FARM"

√ Mencit putih jantan √ Tikus Wistar √ Swis Webster √ Cacing
 √ Mencit Balb/C √ Kelinci New Zealand

Ngampon RT 04 / RW 04. Mojosongo Kec. Jebres Surakarta. Phone 085 629 994 33 / Lab USB Ska

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

Selaku pengelola Abimanyu Farm, menerangkan bahwa hewan uji yang digunakan untuk penelitian, oleh:

Nama : Siti Imro'atul Muharomah
 Nim : 20144304A
 Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Tikus Wistar
 Umur : 2-3 bulan
 Jenis kelamin : Jantan
 Jumlah : 30 ekor
 Keterangan : Sehat
 Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

Yang pengembangan dan pengelolaannya disesuaikan standar baku penelitian. Demikian surat keterangan ini dibuat untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 4 April 2018

Hormat kami



Sigit Pramono
 "ABIMANYU FARM"

Lampiran 4. Foto tanaman daun sirih merah



Daun sirih merah segar



Daun sirih merah

Lampiran 5. Foto alat-alat praktikum

Oven



Gilingan



Ayakan Mesh 40



Serbuk kering



Timbangan digital



Botol Maserasi

*Steriling-Bidwell**Vacum**Evaporator*

Lampiran 6. Foto bahan-bahan untuk praktikum diabetes dan hewan uji

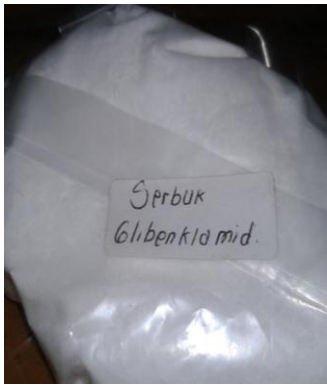
Serbuk daun sirih merah



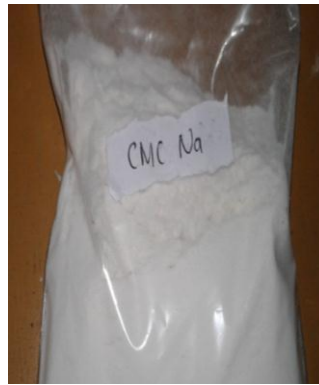
Ekstrak sirih merah



Aloksan



Serbuk glibenklamid



CMC Na



Tikus galur wistar

Lampiran 7. Kegiatan penelitian



Larutan uji



Uji bebas alkohol



Uji senyawa dengan KLT



Uji kadar air



Induksi aloksan



Penimbangan hewan uji



Pemberian uji larutan oral



Pengukuran KGD



Pembedahan organ

Lampiran 8. Perhitungan rendemen simplisia daun sirih merah

Simplisia daun sirih merah diperoleh dari daun sirih merah dengan bobot basah 10 kg, setelah dikeringkan diperoleh bobot 2,2 kg, sehingga rendemen yang didapatkan sebesar :

Prosentase rendemen simplisia daun sirih merah.

$$\text{Prosentase rendemen} = \frac{\text{bobot kering (gram)}}{\text{bobot basah (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Prosentase rendemen} = \frac{2200}{10000} \times 100\%$$

$$\text{Prosentase rendemen} = 22\%.$$

Lampiran 9. Perhitungan rendemen serbuk daun sirih merah

Serbuk daun sirih merah diperoleh dari daun sirih merah dengan bobot 2,2 kg kemudian dihaluskan menjadi serbuk daun sirih merah seberat 2,02 kg, sehingga diperoleh rendemen sebesar:

$$\text{Prosentase rendemen} = \frac{\text{bobot serbuk (gram)}}{\text{bobot kering (gram)}} \times 100\%$$

$$\text{Prosentase rendemen} = \frac{2020}{2200} \times 100\%$$

$$\text{Prosentase rendemen} = 91,81\%.$$

Lampiran 10. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun sirih merah

Sampel	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%) b/b
Serbuk daun sirih merah	1000	188,472	18,847

Perhitungan rendemen ekstrak:

$$\frac{\text{bobot ekstrak (gram)}}{\text{bobot serbuk (gram)}} \times 100\% = \frac{188,472 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 100\% = 18,847\%$$

Lampiran 11. Penetapan kadar air

Tanaman	Berat serbuk (gram)	Volume terukur (ml)	% kadar air
Daun sirih merah	20,11	1,6	7,95
	20,15	1,6	7,94
	20,13	1,8	8,94
Rata-rata			8,27±0,57

Perhitungan Kadar air:

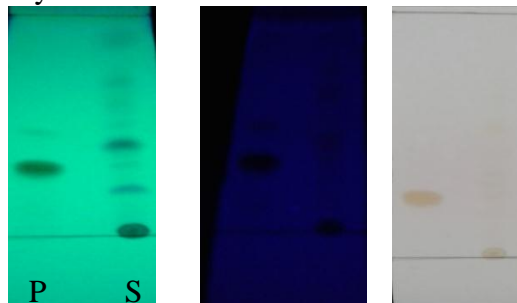
Rumus	% kadar sirih merah
$\% \text{ Kadar air} = \frac{\text{Volume terukur (ml)}}{\text{Berat serbuk (gram)}} \times 100$	<ul style="list-style-type: none"> • $\frac{1,6 \text{ (ml)}}{20,11 \text{ (gram)}} \times 100 = 7,95\%$ • $\frac{1,6 \text{ (ml)}}{20,15 \text{ (gram)}} \times 100 = 7,94\%$ • $\frac{1,8 \text{ (ml)}}{20,13 \text{ (gram)}} \times 100 = 8,94\%$

Perhitungan rata-rata kadar air:

Rumus	Daun siri merah
$\text{Rata-rata \% kadar} = \frac{\text{Total kadar air}}{3}$	$\% \text{ kadar} = \frac{(7,95+7,94+8,94)}{3} = 8,27\%$

Lampiran 12. Foto hasil identifikasi senyawa kimia dengan KLT

A. Identifikasi KLT senyawa Flavonoid



UV 254

UV 366

Sinar tampak

Fase gerak : Heksan : etil asetat : asam formiat (6:4:0,2). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi semprot : Sitoborat. Baku pembanding : Quersetin.

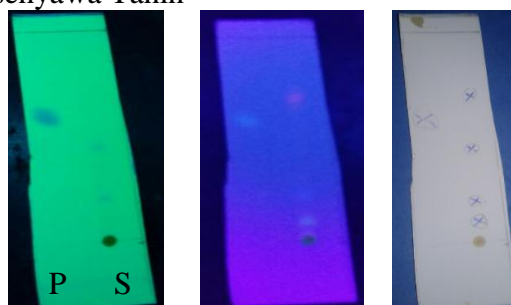
Sampel	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi Sitoborat	Pustaka (Depkes RI 1987)	Ket
P	0,28	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+
S	0,28	Gelap	Hitam	Kuning	Kuning	+

Keterangan:

P : Pembanding

S : Sampel Ekstrak

B. Identifikasi KLT senyawa Tanin



UV 254

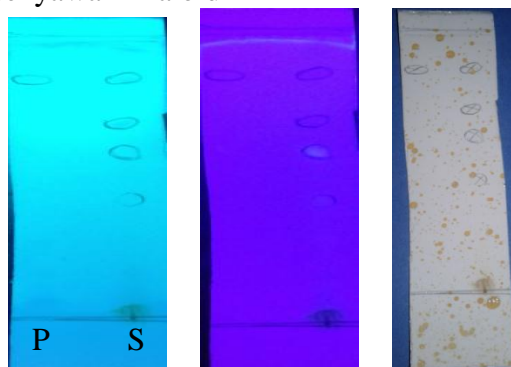
UV 366

Sinar tampak

Fase gerak : Etil asetat : asam formiat : toluene : air (6 : 1,5 : 3 : 0,5). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi semprot : FeCl₃. Baku pembanding : Asam galat.

Sampel	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi FeCl ₃	Pustaka (Wagner&Bladt 1996)	Ket
P	0,85	Gelap	Biru	Hitam tidak berwarna	Hijau tua kehitaman	+
S	0,83	Gelap	Biru	Hitam tidak berwarna	Hijau tua kehitaman	+

C. Identifikasi KLT senyawa Alkaloid



UV 254

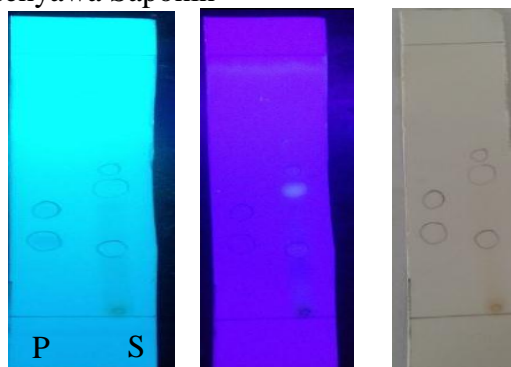
UV 366

Sinar tampak

Fase gerak : Toluena : etil asetat : dietil amin (7 : 2 : 1). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi semprot : Dragendorff. Baku pembandingan : Poperin.

Sampel	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi Dragendorff	Pustaka (Wagner&Bladt 1996)	Ket
P	0,57	Gelap	Hitam	Coklat	Coklat jingga	+
S	0,67	Gelap	Hitam	Coklat	Coklat jingga	+

D. Identifikasi KLT senyawa Saponin



UV 254

UV 366

Sinar tampak

Fase gerak : kloroform: metanol: air (64 : 50 : 5). Fase diam : silika gel GF₂₅₄. Pereaksi semprot : Liberman Bouchard. Baku pembandingan : Saponin

Sampel	Rf	UV 254	UV 366	Pereaksi Liberman Bouchard.	Pustaka (Kusuma 2016)	Ket
P	0,27	Coklat kehitaman	Violet	Coklat	Coklat	+
S	0,25	Coklat kehitaman	Violet	Coklat	Coklat	+

Lampiran 13. Perhitungan dosis

1. Perhitungan dosis aloksan

Dosis aloksan yang digunakan untuk membuat tikus diabetes sebesar 50 mg/kg BB. Sehingga untuk satu ekor tikus dengan berat badan 200 g diberi larutan aloksan sebesar 30 mg/200 g BB tikus.

$$\begin{aligned} \text{Dosis aloksan} &= 150 \text{ mg/kg BB} \\ &= 150 \text{ mg/ 1000 g BB} \\ &= 30 \text{ mg/ 200 g BB tikus} \\ \text{Larutan stock dibuat 1\%} &= 1 \text{ g/ 100 ml} \\ &= 1000 \text{ mg/ 100 ml} \\ &= 10 \text{ mg/ 1 ml} \end{aligned}$$

$$\text{Volume pemberian untuk 200 g BB tikus} = \frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 3 \text{ ml}$$

2. Perhitungan dosis CMC 0,5%

Larutan stok dibuat konsentrasi 0,5% b/v = 0,5 g/100 ml = 500 mg/ 100 ml yang berarti 1 ml larutan tersebut mengandung 5 mg CMC. Perhitungan volume pemberian CMC sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \text{Dosis untuk tikus} &= 5 \text{ mg/200 g BB} \\ \text{Berat badan tikus} &= 200 \text{ g} \\ &= \frac{200 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 5 \text{ mg} = 5 \text{ mg} \\ \text{Volume pemberian} &= \frac{5 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

No	Berat badan tikus (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume
1	220	1	$D = \frac{220 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 5,5 \text{ mg}$ $V = \frac{5,5 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,1 \text{ ml} \sim 1 \text{ ml}$
2	220	1	$D = \frac{220 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 5,5 \text{ mg}$ $V = \frac{5,5 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,1 \text{ ml} \sim 1 \text{ ml}$
3	200	1	$D = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 5 \text{ mg}$ $V = \frac{5 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1 \text{ ml}$
4	180	1	$D = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 5 \text{ mg} = 4,5 \text{ mg}$ $V = \frac{4,5 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,9 \sim 1 \text{ ml}$

5	190	1	$D = \frac{190g}{200g} \times 5 \text{ mg} = 4,85 \text{ mg}$ $V = \frac{4,85mg}{5 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,9 \text{ ml} \sim 1 \text{ ml}$
---	-----	---	--

3. Glibenklamid

Dosis terapi glibenklamid sekali pemakaian untuk manusia 70 Kg adalah 5 mg. Faktor konversi dari manusia 70 Kg ke tikus 200 gram adalah 0,018 sehingga dosis glibenklamid untuk tikus 200 gram adalah 5 mg x 0,018 = 0,09 mg / 200 gram BB tikus (0,45 mg/Kg BB tikus).

Larutan stok glibenklamid 0,01% b/v = 0,01 gram/100 ml

$$= 10 \text{ mg}/100 \text{ ml}$$

$$= 0,1 \text{ mg/ml}$$

Menimbang 0,01 gram serbuk glibenklamid lalu dicampurkan ke dalam suspensi CMC dan air panas hingga volume 100 ml. Volume cairan maksimal yang diberikan per oral kepada tikus sebanyak 5 ml.

Dosis untuk tikus : 0,09 mg/ 200 g BB

Berat badan tikus : 200 g

$$: \frac{200g}{200g} \times 0,09 \text{ mg} = 0,09 \text{ mg}$$

Volume pemberian : $\frac{0,09 \text{ mg}}{0,1 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,9 \text{ ml} \sim 1 \text{ ml}$

No	Berat badan tikus (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume
1	220	1	$D = \frac{220g}{200g} \times 0,09 \text{ mg} = 0,099 \text{ mg}$ $V = \frac{0,099 \text{ mg}}{0,1 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,99 \text{ ml} \sim 1 \text{ ml}$
2	200	1	$D = \frac{200g}{200g} \times 0,09 \text{ mg} = 0,09 \text{ mg}$ $V = \frac{0,09 \text{ mg}}{0,1 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,9 \text{ ml} \sim 1 \text{ ml}$
3	200	1	$D = \frac{200g}{200g} \times 0,09 \text{ mg} = 0,09 \text{ mg}$ $V = \frac{0,09 \text{ mg}}{0,1 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,9 \text{ ml} \sim 1 \text{ ml}$
4	180	1	$D = \frac{180g}{200g} \times 0,09 \text{ mg} = 0,081 \text{ mg}$ $V = \frac{0,081 \text{ mg}}{0,1 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,81 \text{ ml} \sim 1 \text{ ml}$
5	170	1	$D = \frac{170g}{200g} \times 0,09 \text{ mg} = 0,0765 \text{ mg}$ $V = \frac{0,0765 \text{ mg}}{0,1 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,765 \text{ ml} \sim 1 \text{ ml}$

4. Perhitungan dosis ekstrak 100 mg/kgBB

$$\begin{aligned} \text{Larutan stock ekstrak daun sirih merah dibuat konsentrasi 1\%} &= 1 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 1000 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 10 \text{ mg} / 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

yang berarti dalam 1 ml larutan tersebut mengandung 10 mg ekstrak daun sirih merah. Perhitungan volume pemberian untuk ekstrak daun sirih merah sebagai berikut :

Dosis untuk tikus: 20 mg/200g BB

Berat badan tikus: 200 g

$$: \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 10 \text{ mg} = 10 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} : \frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

No	Berat badan tikus (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume
1	180	2	$D = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 18 \text{ mg}$ $V = \frac{18 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml} \sim 2 \text{ ml}$
2	200	2	$D = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 20 \text{ mg}$ $V = \frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$
3	180	2	$D = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 18 \text{ mg}$ $V = \frac{18 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml} \sim 2 \text{ ml}$
4	180	2	$D = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 18 \text{ mg}$ $V = \frac{18 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml} \sim 2 \text{ ml}$
5	200	2	$D = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 20 \text{ mg} = 20 \text{ mg}$ $V = \frac{20 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$

5. Perhitungan dosis ekstrak 200 mg/kgBB

$$\begin{aligned} \text{Larutan stock ekstrak daun sirih merah dibuat konsentrasi 2\%} &= 2 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 2000 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 20 \text{ mg} / 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

yang berarti dalam 1 ml larutan tersebut mengandung 40 mg ekstrak daun sirih merah. Perhitungan volume pemberian untuk ekstrak daun sirih merah sebagai berikut :

Dosis untuk tikus : 40 mg/200g BB

Berat badan tikus: 200 g

$$: \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 40 \text{ mg} = 40 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} : \frac{40 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

No	Berat badan tikus (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume
1	180	2	$D = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 40 \text{ mg} = 36 \text{ mg}$ $V = \frac{36 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml} \sim 2 \text{ ml}$
2	200	2	$D = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 40 \text{ mg} = 40 \text{ mg}$ $V = \frac{40 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$
3	180	2	$D = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 40 \text{ mg} = 36 \text{ mg}$ $V = \frac{36 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml} \sim 2 \text{ ml}$
4	180	2	$D = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 40 \text{ mg} = 36 \text{ mg}$ $V = \frac{36 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml} \sim 2 \text{ ml}$
5	200	2	$D = \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 40 \text{ mg} = 40 \text{ mg}$ $V = \frac{40 \text{ mg}}{20 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$

6. Perhitungan dosis ekstrak 200 mg/kgBB

$$\begin{aligned} \text{Larutan stock ekstrak daun sirih merah dibuat konsentrasi 4\%} &= 4 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 4000 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 40 \text{ mg} / 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

yang berarti dalam 1 ml larutan tersebut mengandung 40 mg ekstrak daun sirih merah. Perhitungan volume pemberian untuk ekstrak daun sirih merah sebagai berikut :

Dosis untuk tikus: 80 mg/200g BB

Berat badan tikus: 200 g

$$: \frac{200 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 80 \text{ mg} = 80 \text{ mg}$$

$$\text{Volume pemberian} : \frac{80 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$$

No	Berat badan tikus (g)	Volume pemberian (ml)	Perhitungan volume
1	180	2	$D = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 80 \text{ mg} = 72 \text{ mg}$ $V = \frac{72 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml} \sim 2 \text{ ml}$
2	160	2	$D = \frac{160 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 80 \text{ mg} = 40 \text{ mg}$ $V = \frac{40 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 2 \text{ ml}$
3	180	2	$D = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 80 \text{ mg} = 72 \text{ mg}$ $V = \frac{72 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml} \sim 2 \text{ ml}$
4	180	2	$D = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 80 \text{ mg} = 72 \text{ mg}$ $V = \frac{72 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml} \sim 2 \text{ ml}$
5	180	2	$D = \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 80 \text{ mg} = 72 \text{ mg}$ $V = \frac{72 \text{ mg}}{40 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 1,8 \text{ ml} \sim 2 \text{ ml}$

Lampiran 14. Hasil pengukuran kadar glukosa darah

Kelompok	Tikus	Gula darah tikus (mg/dl)				
		T0	T1	T2	T3	T4
I Kontrol normal	1	97	92	64	83	75
	2	54	84	83	80	76
	3	78	98	93	78	73
	4	58	98	83	68	71
	5	85	91	91	68	78
Rata-rata		74,4	92,6	82,8	75,4	74,6
SD		18,17	5,81	11,45	6,98	2,70
II Kontrol negatif (CMC 0,5%)	1	65	247	248	202	225
	2	45	249	248	214	218
	3	70	253	255	206	202
	4	89	236	235	231	219
	5	90	263	261	200	210
Rata-rata		71,8	249,6	249,4	210,6	214,8
SD		18,67	9,78	9,71	12,60	8,93
III Kontrol positif (Glibenklamid)	1	98	231	104	103	98
	2	89	237	108	102	99
	3	91	208	107	86	94
	4	77	217	109	99	97
	5	61	225	107	89	88
Rata-rata		83,2	223,6	107	95,8	95,2
SD		14,53	11,44	1,87	7,79	4,43
IV Dosis 100mg/kg BB	1	90	212	121	95	94
	2	86	235	119	99	98
	3	70	232	114	98	100
	4	89	203	124	96	95
	5	80	225	117	95	94
Rata-rata		83	221,4	119	96,6	96,2
SD		8,25	13,57	3,81	1,82	2,68
V Dosis 200mg/kg BB	1	95	243	128	122	120
	2	78	201	135	129	123
	3	61	231	124	117	115
	4	58	238	117	106	107
	5	81	218	119	103	104
Rata-rata		74,6	226,2	124,6	115,4	113,8
SD		15,24	16,93	7,23	10,87	8,16
IV Dosis 400mg/kg BB	1	86	227	137	101	100
	2	78	237	127	113	113
	3	95	214	120	119	115
	4	83	239	137	126	124
	5	97	227	119	109	110
Rata-rata		87,8	228,8	128	113,6	112,4
SD		8,04	9,96	8,77	9,53	8,68

Lampiran 15. Perhitungan AUC kadar glukosa darah

Kelompok	Kode hewan	Hari ke 0-4	Hari ke 4-7	Hari ke 7-14	Hari ke 14-21	AUC Total	AUC (mg/dL/jam) Rata-rata \pm SD
I Normal	1.1	378.00	234.00	514.50	553.00	1679.50	1675.80 \pm 62.03
	1.2	276.00	250.50	570.50	546.00	1643.00	
	1.3	352.00	286.50	598.50	528.50	1765.50	
	1.4	312.00	271.50	528.50	486.50	1598.50	
	1.5	352.00	273.00	556.50	511.00	1692.50	
II Negatif	II.1	624.00	742.50	1575.00	1494.50	4436.00	4490.20 \pm 57.27
	II.2	588.00	745.50	1617.00	1512.00	4462.50	
	II.3	646.00	762.00	1613.50	1428.00	4449.50	
	II.4	650.00	706.50	1631.00	1575.00	4562.50	
	II.5	706.00	786.00	1613.50	1435.00	4540.50	
III Positif	III.1	658.00	502.50	724.50	703.50	2588.50	2487.80 \pm 111.48
	III.2	652.00	517.50	735.00	703.50	2608.00	
	III.3	598.00	472.50	675.50	630.00	2376.00	
	III.4	588.00	489.00	728.00	686.00	2491.00	
	III.5	572.00	498.00	686.00	619.50	2375.50	
IV Sirih merah 100 mg/kg	IV.1	604.00	499.50	756.00	661.50	2521.00	2548.80 \pm 46.15
	IV.2	642.00	531.00	763.00	689.50	2625.50	
	IV.3	604.00	519.00	742.00	693.00	2558.00	
	IV.4	584.00	490.50	770.00	668.50	2513.00	
	IV.5	610.00	513.00	742.00	661.50	2526.50	
V Sirih merah 200 mg/kg	V.1	676.00	556.50	875.00	847.00	2954.50	2770.00 \pm 145.90
	V.2	558.00	504.00	924.00	882.00	2868.00	
	V.3	584.00	532.50	843.50	812.00	2772.00	
	V.4	592.00	532.50	780.50	745.50	2650.50	
	V.5	598.00	505.50	777.00	724.50	2605.00	
V Sirih merah 400 mg/kg	VI.1	626.00	546.00	833.00	703.50	2708.50	2805.00 \pm 117.31
	VI.2	630.00	546.00	840.00	791.00	2807.00	
	VI.3	618.00	501.00	836.50	819.00	2774.50	
	VI.4	644.00	564.00	920.50	875.00	3003.50	
	VI.5	648.00	519.00	798.00	766.50	2731.50	

Lampiran 16. Berat badan tikus (gram)

Kelompok	Berat badan tikus (gram)					
	No	T0	T1	T2	T3	T4
Normal	1	180	182,30	184.33	187.86	188.28
	2	181	182,33	185	188.43	190.86
	3	180	182,00	184	187.57	190.71
	4	180	180,33	183.67	186.28	190.28
	5	180	181,67	185.67	189.85	189.43
Rata-rata		180.20	181.73	184.53	187.99	189.91
SD		0.45	0.82	0.80	1.30	1.07
Negatif CMC	1	200	200.33	202.33	199.86	185.28
	2	200	201	202.67	206.43	194.57
	3	180	182	184.67	187.57	181.43
	4	170	172	175	180	170.43
	5	180	182	185	189.71	176.28
Rata-rata		186	187.46	189.93	192.71	181.59
SD		13.14	12.72	21.15	10.44	9.15
Positif (Glibenklamid)	1	200	198.3	205	209	209.57
	2	200	197	202.33	207	213.43
	3	200	195.3	204	209	215
	4	180	177	184	188.71	203
	5	180	176.3	185	189.86	202.43
Rata-rata		192	188.78	196.06	200.71	208.68
SD		10.95	11.13	10.61	10.47	5.80
Ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg bb	1	180	179.3	185	189	200.86
	2	200	198.3	203	206.86	215
	3	180	179.67	185	189.86	197.43
	4	180	178.67	181	185.28	189.57
	5	200	198.3	204	208.14	214.71
Rata-rata		188	186.85	191.6	195.83	203.51
SD		10.95	10.46	10.99	10.80	11.13
Ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kg bb	1	180	178	185	189	194.86
	2	200	191.3	203	206.71	214.43
	3	180	177	185	189.57	198
	4	180	178.67	184.33	188.71	199.43
	5	200	198.3	205	209.43	217.28
Rata-rata		188	184.65	192.46	196.68	204.8
SD		10.95	9.60	10.56	10.44	10.27
Ekstrak daun sirih merah dosis 400 mg/kg bb	1	180	177	185.67	191	204.71
	2	160	157.3	164	168.43	179.71
	3	180	178.3	185	189.57	203.57
	4	180	178.67	184	188	201.43
	5	180	176	184	189	202.14
Rata-rata		176	173.45	180.53	185.2	198.31
SD		8.94	9.09	9.27	9.44	10.47

Lampiran 17. Hasil perubahan berat badan tikus

Kelompok	Rata-rata Berat Badan Tikus (gram)			
	T0	T4	Kenaikan berat badan tikus (gram)	(%) kenaikan berat badan tikus
Normal	180.2 ± 0.45	189.91 ± 1.07	9.71	5.38
Negatif	186 ± 13.14	181.59 ± 9.15	-4.41	-2.37
Positif	192 ± 10.95	208.68 ± 5.80	16.68	8.68
Dosis 100 mg/kg bb	188 ± 10.95	203.51 ± 11.13	15.51	8.25
Dosis 200 mg/kg bb	188 ± 10.95	204.8 ± 10.27	16.8	8.94
Dosis 400 mg/kg bb	176 ± 8.94	198.31 ± 10.47	22.31	12.67

Rumus perhiugan berat badan tikus adalah sebagai berikut:

Perubahan BB tikus = BB akhir – BB awal sebelum perlakuan

Kelompok normal = 189.91 – 180.2 = 9.71

Kelompok negatif = 181.59 - 186 = -4.41

Kelompok positif = 208.68 – 192 = 16.68

Dosis 100 mg/kg bb = 203.51 – 188 = 15.51

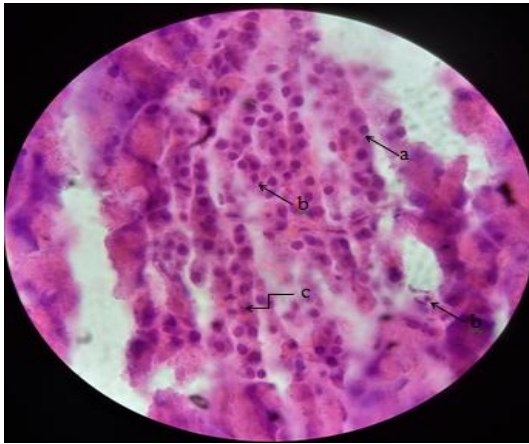
Dosis 200 mg/kg bb = 204.8 – 188 = 16.8

Dosis 400 mg/kg bb = 198.31 – 176 = 22.31

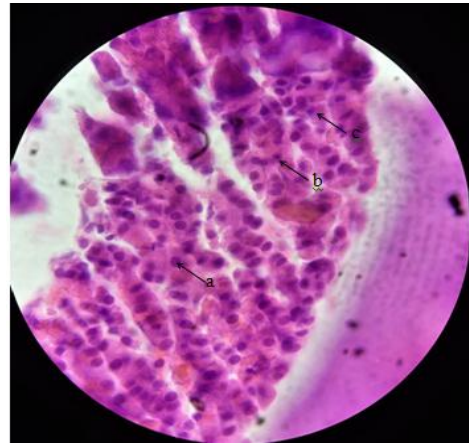
Lampiran 17. Laporan Data Kuantitatif Histopatologi Pankreas

Kelompok Pengecatan	Jumlah Sel			Total Kerusakan	Jumlah Sel Normal	Presentase kerusakan
	Karioreksis	Pinoktik	Kariolisis			
Kelompok normal 1	3	4	0	7	93	7
Kelompok normal 2	2	5	0	8	92	8
Kelompok normal 3	3	6	0	9	91	9
	Rata-rata					8,00 ± 1
Kelompok negatif 1	7	26	0	33	67	33
Kelompok negatif 2	7	28	0	35	65	35
Kelompok negatif 3	5	26	0	31	69	31
	Rata-rata					33,00 ± 2
Kelompok positif 1	4	7	0	11	89	11
Kelompok positif 2	4	6	0	10	90	10
Kelompok positif 3	4	4	0	8	92	8
	Rata-rata					9,67 ± 1,53
Dosis 100 mg/kg 1	6	6	0	9	91	9
Dosis 100 mg/kg 2	2	8	0	11	89	11
Dosis 100 mg/kg 3	2	9	0	12	88	12
	Rata-rata					10,67±1,53
Dosis 200 mg/kg 1	4	7	0	11	89	11
Dosis 200 mg/kg 2	4	10	0	14	86	14
Dosis 200 mg/kg 3	5	11	0	16	84	16
	Rata-rata					13,67±2,52
Dosis 400 mg/kg 1	5	10	0	15	85	15
Dosis 400 mg/kg 2	3	11	0	14	86	14
Dosis 400 mg/kg 3	4	12	0	16	84	16
	Rata-rata					15,00 ± 1

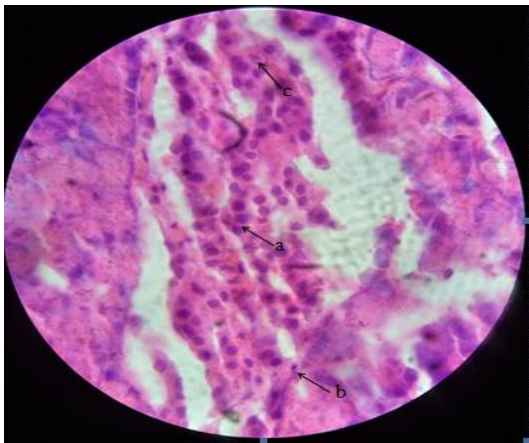
Lampiran 19. Histopatologi pankreas tikus



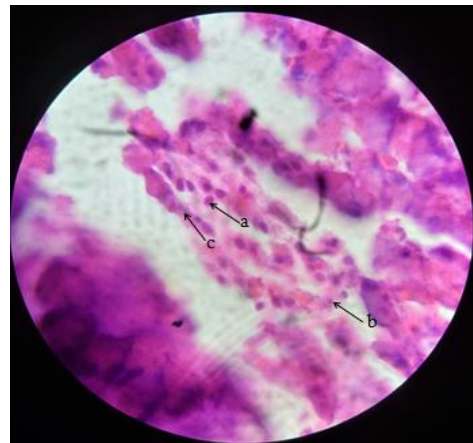
Kontrol normal



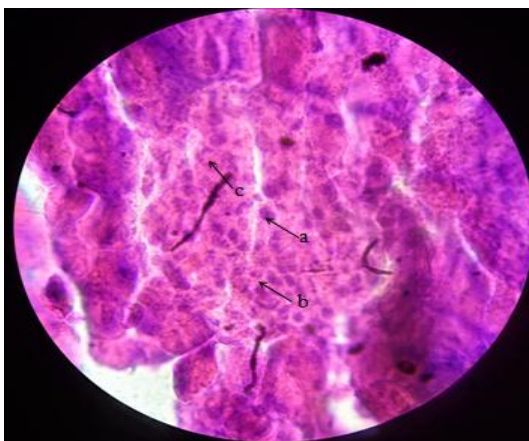
Kontrol negatif CMC 0,5%



Kontrol positif Glibenklamid



Ekstrak daun sirih merah 100mg/kg BB



Ekstrak daun sirih merah 200mg/kg BB



Ekstrak daun sirih merah 400mg/kg BB

Hasil foto preparat organ pankreas dengan perbesaran 1000x; tanda panah tersebut menunjukkan sel-sel pada pulau Langerhans (a) sel normal; (b) piknosis dan (c) karyoreksis.

Lampiran 20. Hasil uji statistik *Repeated ANOVA* ekstrak etanol daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB

Multivariate Tests^c

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Waktu Pillai's Trace	1.000	7698.028 ^a	4.000	1.000	.009	1.000	30792.113	1.000
Wilks' Lambda	.000	7698.028 ^a	4.000	1.000	.009	1.000	30792.113	1.000
Hotelling's Trace	30792.113	7698.028 ^a	4.000	1.000	.009	1.000	30792.113	1.000
Roy's Largest Root	30792.113	7698.028 ^a	4.000	1.000	.009	1.000	30792.113	1.000

a. Exact statistic

b. Computed using alpha = .05

c. Design: Intercept

Within Subjects Design: Waktu

Tabel *Multivariate Test* di peroleh nilai sig. $0,009 < 0,05$ berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap perlakuan minimal ada 2 perlakuan yang berbeda .

Pairwise Comparisons

Measure: MEASURE_1

(I) Waktu	(J) Waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	1.152	.275	.138	-.387	2.691
	3	-3.600	.748	.086	-7.789	.589
	4	-7.828	.807	.006	-12.346	-3.310
	5	-15.514	1.851	.011	-25.873	-5.155
2	1	-1.152	.275	.138	-2.691	.387
	3	-4.752	.632	.017	-8.292	-1.212
	4	-8.980	.653	.002	-12.632	-5.328
	5	-16.666	1.710	.006	-26.236	-7.096
3	1	3.600	.748	.086	-.589	7.789
	2	4.752	.632	.017	1.212	8.292
	4	-4.228	.173	.000	-5.195	-3.261
	5	-11.914	1.193	.006	-18.593	-5.235
4	1	7.828	.807	.006	3.310	12.346

	2	8.980	.653	.002	5.328	12.632
	3	4.228	.173	.000	3.261	5.195
	5	-7.686	1.233	.034	-14.589	-.783
5	1	15.514	1.851	.011	5.155	25.873
	2	16.666	1.710	.006	7.096	26.236
	3	11.914	1.193	.006	5.235	18.593
	4	7.686	1.233	.034	.783	14.589

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Bonferroni.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel *Pairwise Comparisons*, merupakan hasil yang menunjukkan hubungan antara yang pertama dengan kedua, pertama dengan ketiga dan seterusnya. Hasil sig. menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ hal ini berarti bahwa perbedaan ada pada setiap perlakuan pengukuran.

Lampiran 21. Hasil uji statistik *Repeated ANOVA* ekstrak etanol daun sirih merah dosis 200 mg/kg BB

Multivariate Tests^c

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Waktu Pillai's Trace	.999	226.345 ^a	4.000	1.000	.050	.999	905.380	.685
Wilks' Lambda	.001	226.345 ^a	4.000	1.000	.050	.999	905.380	.685
Hotelling's Trace	905.380	226.345 ^a	4.000	1.000	.050	.999	905.380	.685
Roy's Largest Root	905.380	226.345 ^a	4.000	1.000	.050	.999	905.380	.685

a. Exact statistic

b. Computed using alpha = .05

c. Design: Intercept
Within Subjects Design: Waktu

Tabel *Multivariate Test* di peroleh nilai sig. 0,05 = 0,05 berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap perlakuan minimal ada 2 perlakuan yang berbeda .

Pairwise Comparisons

Measure:Dosis200mg

(I) Waktu	(J) Waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	3.346	1.367	.706	-4.306	10.998
	3	-4.466	.389	.003	-6.642	-2.290
	4	-8.684	.517	.001	-11.576	-5.792
	5	-16.800	.948	.001	-22.106	-11.494
2	1	-3.346	1.367	.706	-10.998	4.306
	3	-7.812	1.041	.017	-13.640	-1.984
	4	-12.030	.937	.002	-17.273	-6.787
	5	-20.146	1.053	.000	-26.039	-14.253
3	1	4.466	.389	.003	2.290	6.642
	2	7.812	1.041	.017	1.984	13.640
	4	-4.218	.158	.000	-5.104	-3.332
	5	-12.334	.867	.001	-17.187	-7.481
4	1	8.684	.517	.001	5.792	11.576
	2	12.030	.937	.002	6.787	17.273
	3	4.218	.158	.000	3.332	5.104

	5	-8.116	.781	.005	-12.487	-3.745
5	1	16.800	.948	.001	11.494	22.106
	2	20.146	1.053	.000	14.253	26.039
	3	12.334	.867	.001	7.481	17.187
	4	8.116	.781	.005	3.745	12.487

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Bonferroni.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel *Pairwise Comparisons*, merupakan hasil yang menunjukkan hubungan antara yang pertama dengan kedua, pertama dengan ketiga dan seterusnya. Hasil sig. menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ hal ini berarti bahwa perbedaan ada pada setiap perlakuan pengukuran.

Lampiran 22. Hasil uji statistik *Repeated ANOVA* ekstrak etanol daun sirih merah dosis 400 mg/kg BB

Multivariate Tests^c

Effect	Value	F	Hypothesis df	Error df	Sig.	Partial Eta Squared	Noncent. Parameter	Observed Power ^b
Waktu Pillai's Trace	1.000	218849.466 ^a	4.000	1.000	.002	1.000	875397.864	1.000
Waktu Wilks' Lambda	.000	218849.466 ^a	4.000	1.000	.002	1.000	875397.864	1.000
Waktu Hotelling's Trace	875397.864	218849.466 ^a	4.000	1.000	.002	1.000	875397.864	1.000
Waktu Roy's Largest Root	875397.864	218849.466 ^a	4.000	1.000	.002	1.000	875397.864	1.000

a. Exact statistic

b. Computed using alpha = .05

c. Design: Intercept
Within Subjects Design: Waktu

Tabel *Multivariate Test* di peroleh nilai sig. $0,009 < 0,05$ berarti terdapat perbedaan yang bermakna pada tiap perlakuan minimal ada 2 perlakuan yang berbeda .

Pairwise Comparisons

Measure:Dosis400mg

(I) Waktu	(J) Waktu	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig. ^a	95% Confidence Interval for Difference ^a	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	2.546	.476	.059	-.120	5.212
	3	-4.534	.344	.002	-6.458	-2.610
	4	-9.200	.522	.001	-12.122	-6.278
	5	-22.312	.863	.000	-27.145	-17.479
2	1	-2.546	.476	.059	-5.212	.120
	3	-7.080	.580	.003	-10.326	-3.834
	4	-11.746	.809	.001	-16.276	-7.216
	5	-24.858	1.009	.000	-30.503	-19.213
3	1	4.534	.344	.002	2.610	6.458
	2	7.080	.580	.003	3.834	10.326
	4	-4.666	.230	.000	-5.955	-3.377
	5	-17.778	.581	.000	-21.030	-14.526
4	1	9.200	.522	.001	6.278	12.122
	2	11.746	.809	.001	7.216	16.276

	3	4.666*	.230	.000	3.377	5.955
	5	-13.112*	.480	.000	-15.798	-10.426
5	1	22.312*	.863	.000	17.479	27.145
	2	24.858*	1.009	.000	19.213	30.503
	3	17.778*	.581	.000	14.526	21.030
	4	13.112*	.480	.000	10.426	15.798

Based on estimated marginal means

a. Adjustment for multiple comparisons: Bonferroni.

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Tabel *Pairwise Comparisons*, merupakan hasil yang menunjukkan hubungan antara yang pertama dengan kedua, pertama dengan ketiga dan seterusnya. Hasil sig. menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$ hal ini berarti bahwa perbedaan ada pada setiap perlakuan pengukuran.

Lampiran 23. Hasil uji statistik kadar glukosa darah tikus T0

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
T0	Kelompok normal	.217	5	.200*	.932	5	.612
	Kelompok negatif (CMC 0,5%)	.221	5	.200*	.914	5	.491
	Kelompok positif (Glibenklamid)	.255	5	.200*	.926	5	.570
	Dosis 100 mg/kg BB	.242	5	.200*	.879	5	.306
	Dosis 200 mg/kg BB	.214	5	.200*	.931	5	.606
	Dosis 400 mg/kg BB	.215	5	.200*	.931	5	.605

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

T0

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.387	5	24	.264

Nilai probilitas dan output diatas adalah sig. = 0,264 $> 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

T0

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1016.667	5	203.333	.972	.455
Within Groups	5020.800	24	209.200		
Total	6037.467	29			

Dari output ANOVA diatas diketahui nilai sig. = 0,455 > 0,05 (H_0 diterima) maka disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Homogenous Subsets

T0

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Kelompok negatif (CMC 0,5%)	5	71.80
Kelompok normal	5	74.40
Dosis 200 mg/kg BB	5	74.60
Dosis 100 mg/kg BB	5	83.00
Kelompok positif (Glibenklamid)	5	83.20
Dosis 400 mg/kg BB	5	87.80
Sig.		.515

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak dapat perbedaan yang signifikan pada setiap kelompok dengan nilai sig. = 0,515 > 0,05

Lampiran 24. Hasil uji statistik kadar glukosa darah tikus T₁

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
T1	Kelompok normal	.224	5	.200	.894	5	.378
	Kelompok negatif (CMC 0,5%)	.195	5	.200	.981	5	.942
	Kelompok positif (Glibenklamid)	.149	5	.200	.981	5	.939
	Dosis 100 mg/kg BB	.205	5	.200	.924	5	.554
	Dosis 200 mg/kg BB	.212	5	.200	.935	5	.630
	Dosis 400 mg/kg BB	.228	5	.200	.913	5	.483

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

T1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.522	5	24	.220

Nilai probabilitas dan output diatas adalah sig. = 0,220 $>$ 0,05 maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

T1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	81144.567	5	16228.913	117.233	.000
Within Groups	3322.400	24	138.433		
Total	84466.967	29			

Dari output ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Homogenous Subsets

T1

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Kelompok normal	5	92.60		
Dosis 100 mg/kg BB	5		221.40	
Kelompok positif (Glibenklamid)	5		223.60	
Dosis 200 mg/kg BB	5		226.20	
Dosis 400 mg/kg BB	5		228.80	228.80
Kelompok negatif (CMC 0,5%)	5			249.60
Sig.		1.000	.915	.093

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak dapat perbedaan yang signifikan pada setiap kelompok dengan nilai sig. = $0,093 > 0,05$

Lampiran 25. Hasil uji statistik kadar glukosa darah tikus T2

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
T2	Kelompok normal	.307	5	.139	.857	5	.217
	Kelompok negatif (CMC 0,5%)	.243	5	.200	.954	5	.766
	Kelompok positif (Glibenklamid)	.300	5	.161	.908	5	.453
	Dosis 100 mg/kg BB	.105	5	.200	.999	5	1.000
	Dosis 200 mg/kg BB	.181	5	.200	.955	5	.774
	Dosis 400 mg/kg BB	.247	5	.200	.838	5	.160

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

T2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.591	5	24	.201

Nilai probilitas dan output diatas adalah sig. = 0,201 $> 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

T2

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	85046.267	5	17009.253	273.754	.000
Within Groups	1491.200	24	62.133		
Total	86537.467	29			

Dari output ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

Post Hoc Tests Homogenous Subsets

T2

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kelompok normal	5	82.80			
Kelompok positif (Glibenklamid)	5		107.00		
Dosis 100 mg/kg BB	5		119.00	119.00	
Dosis 200 mg/kg BB	5			124.60	
Dosis 400 mg/kg BB	5			128.00	
Kelompok negatif(CMC 0,5%)	5				249.40
Sig.		1.000	.193	.481	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Dari data output dapat diketahui bahwa tidak ada perbedaan kadar gula darah yang signifikan antara kelompok kontrol positif dan kelompok dosis 100 mg/kg BB, serta kelompok dosis 100 mg/kg BB, kelompok dosis 200 mg/kg BB dan kelompok dosis 400 mg/kg BB. Hal ini disimpulkan bahwa kelompok dosis ekstrak etanol daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB. Memiliki aktivitas sebanding dengan kontrol positif (glibenklamid).

Lampiran 26. Hasil uji statistik kadar glukosa darah tikus T₃

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
T3	Kelompok normal	.255	5	.200	.848	5	.188
	Kelompok negatif(CMC 0,5%)	.242	5	.200	.869	5	.264
	Kelompok positif (Glibenklamid)	.259	5	.200	.858	5	.222
	Dosis 100 mg/kg BB	.229	5	.200	.867	5	.254
	Dosis 200 mg/kg BB	.206	5	.200	.945	5	.699
	Dosis 400 mg/kg BB	.125	5	.200	.997	5	.998

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

T3

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.214	5	24	.086

Nilai probilitas dan output diatas adalah sig. = 0,086 $> 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

T3

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	56831.900	5	11366.380	141.873	.000
Within Groups	1922.800	24	80.117		
Total	58754.700	29			

Dari output ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Homogenous Subsets

T3

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kelompok normal	5	75.40				
Kelompok positif (Glibenklamid)	5		95.80			
Dosis 100 mg/kg BB	5		96.60	96.60		
Dosis 400 mg/kg BB	5			113.60	113.60	
Dosis 200 mg/kg BB	5				115.40	
Kelompok negatifCMC 0,5%)	5					210.60
Sig.		1.000	1.000	.060	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Dari data output dapat diketahui bahwa tidak ada perbedaan kadar gula darah yang signifikan antara kelompok kontrol positif dan kelompok dosis 100 mg/kg BB, antara kelompok dosis 100 mg/kg BB dan kelompok dosis 400 mg/kg BB, serta kelompok dosis 400 mg/kg BB dan kelompok dosis 200 mg/kg BB. Hal ini disimpulkan bahwa kelompok dosis ekstrak etanol daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB. Memiliki aktivitas sebanding dengan kontrol positif (glibenklamid).

Lampiran 27. Hasil uji statistik kadar glukosa darah tikus T4

Tests of Normality							
Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
T4	Kelompok normal	.159	5	.200	.990	5	.980
	Kelompok negatif(CMC 0,5%)	.240	5	.200	.956	5	.781
	Kelompok positif (Glibenklamid)	.257	5	.200	.869	5	.264
	Dosis 100 mg/kg BB	.273	5	.200	.852	5	.201
	Dosis 200 mg/kg BB	.197	5	.200	.932	5	.608
	Dosis 400 mg/kg BB	.191	5	.200	.977	5	.920

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

T4

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.192	5	24	.089

Nilai probilitas dan output diatas adalah sig. = 0,89 $> 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

T4

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	61488.567	5	12297.713	288.340	.000
Within Groups	1023.600	24	42.650		
Total	62512.167	29			

Dari output ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Homogenous Subsets

T4

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kelompok normal	5	74.60			
Kelompok positif (Glibenklamid)	5		95.20		
Dosis 100 mg/kg BB	5		96.20		
Dosis 400 mg/kg BB	5			112.40	
Dosis 200 mg/kg BB	5			113.80	
Kelompok negatif (CMC 0,5%)	5				214.80
Sig.		1.000	1.000	.999	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Dari data output dapat diketahui bahwa tidak ada perbedaan kadar gula darah yang signifikan antara kelompok kontrol positif dan kelompok dosis 100 mg/kg BB, serta kelompok dosis 400 mg/kg BB dan kelompok dosis 200 mg/kg BB. Hal ini disimpulkan bahwa kelompok dosis ekstrak etanol daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB. Memiliki aktivitas sebanding dengan kontrol positif (glibenklamid).

Lampiran 18. Hasil uji statistik *One way ANOVA* rata-rata kadar AUC

Tests of Normality

Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Rata-rata kadar AUC	Kontrol normal	.194	5	.200	.982	5	.946
	Kontrol diabetes	.286	5	.200	.857	5	.218
	Kontrol pembandingan	.242	5	.200	.852	5	.201
	Dosis 100 mg/kg bb	.286	5	.200	.822	5	.122
	Dosis 200 mg/kg bb	.194	5	.200	.952	5	.755
	Dosis 400 mg/kg bb	.293	5	.185	.834	5	.149

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Rata-rata kadar AUC

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.843	5	24	.142

Dari data di atas terlihat bahwa nilai signifikansi probabilitas 0.142, maka data diatas mempunyai varians yang sama ($0.142 > 0.05$). dengan demikian telah memenuhi syarat uji ANOVA bisa dilanjutkan analisis.

ANOVA

Rata-rata kadar AUC

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.141E7	5	4282013.333	452.840	.000
Within Groups	226941.700	24	9455.904		
Total	2.164E7	29			

Dari output ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok

Post Hoc Tests

Homogenous Subsets

Rata-rata kadar AUC

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kontrol normal	5	1675.8000			
Kontrol pembanding	5		2487.8000		
Dosis 100 mg/kg bb	5		2548.8000		
Dosis 200 mg/kg bb	5			2770.0000	
Dosis 400 mg/kg bb	5			2805.0000	
Kontrol diabetes	5				4490.2000
Sig.		1.000	.916	.992	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Dari data output dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar setiap kelompok kecuali pada kelompok dosis 100 mg/kg bb dan kontrol pembanding (glibenklamid) dengan nilai sig = 0,916 ($P > 0,05$). Hasil ini dapat disimpulkan bahwa kelompok dosis 100 mg/kg bb memiliki aktivitas antidiabetes yang hampir sama dengan glibenklamid.

Lampiran 29. Hasil uji statistik histopatologi pankreas.

		Tests of Normality					
		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
Kelompok		Statisti c	df	Sig.	Statisti c	df	Sig.
Presentase_kerusakan	Kelompok normal	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Kelompok negatif (CMC 0,5%)	.175	3	.	1.000	3	1.000
	Kelompok positif (Glibenklamid)	.253	3	.	.964	3	.637
	Dosis 100 mg/kg BB	.253	3	.	.964	3	.637
	Dosis 200 mg/kg BB	.219	3	.	.987	3	.780
	Dosis 400 mg/kg BB	.175	3	.	1.000	3	1.000

a. Lilliefors Significance Correction

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Presentase_kerusakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.702	5	12	.632

Dari data di atas terlihat bahwa nilai signifikansi probabilitas 0.632, maka data diatas mempunyai varians yang sama ($0.632 > 0.05$). dengan demikian telah memenuhi syarat uji ANOVA bisa dilanjutkan analisis.

ANOVA

Presentase_kerusakan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1266.000	5	253.200	89.365	.000
Within Groups	34.000	12	2.833		
Total	1300.000	17			

Apabila probabilitas > 0.05 maka H_0 diterima.

Apabila probabilitas < 0.05 maka H_0 ditolak.

Dari output ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig. $0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Homogenous Subsets

Presentase_kerusakan

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
Kelompok normal	3	8.00			
Kelompok positif (Glibenklamid)	3	9.67	9.67		
Dosis 100 mg/kg BB	3	10.67	10.67	10.67	
Dosis 200 mg/kg BB	3		13.67	13.67	
Dosis 400 mg/kg BB	3			15.00	
Kelompok negatif (CMC 0,5%)	3				33.00
Sig.		.425	.105	.070	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Pada tabel diatas, kolom subset 1 terdapat 3 nilai dari variabel kelompok normal, kelompok positif dan dosis 100 mg/kg BB. Hal ini berarti kelompok normal, kelompok positif dan dosis 100 mg/kg BB tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Kolom subset 2 terdapat 3 nilai dari variabel kelompok positif, dosis 100 mg/kg BB dan dosis 200 mg/kg BB. Hal ini berarti tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Kolom subset 3 terdapat 3 nilai dari variabel dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB. Hal ini tidak memiliki perbedaan yang signifikan.