

**AKTIVITAS EKSTRAK DAUN KACAPIRING (*Gardenia jasminoides* J. Ellis)
TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA TIKUS PUTIH JANTAN
GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN**



Oleh :

**Tri Ulfa Noviarini
20144206A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**AKTIVITAS EKSTRAK DAUN KACAPIRING (*Gardenia jasminoides* J. Ellis)
TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA TIKUS PUTIH JANTAN
GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

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

Oleh :

**Tri ulfa Noviarini
20144206A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

**AKTIVITAS EKSTRAK DAUN KACAPIRING (*Gardenia jasminoides* J. Ellis)
TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN GAMBARAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA TIKUS PUTIH JANTAN
GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh

**Tri Ulfa Noviarini
20144206A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 05 Juli 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R. A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt
Pembimbing Pendamping

Dwi Ningsih, M.Farm., Apt.

Penguji :

1. Dr. Ika Purwidyaningrum, M. Sc., Apt

1.

2. Reslely Harjanti, M. Sc., Apt

2.

3. Sunarti, M. Sc., Apt

3.

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

4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Pelajarilah olehmu akan ilmu, sebab mempelajari ilmu akan memberimu rasa takut kepada Allah SWT. Menuntutnya merupakan ibadah, mengulang-ulang merupakan tasbih, membahasnya merupakan jihad, mengajarkannya kepada orang-orang yang belum mengetahui merupakan sedekah, dan menyerahkan kepada ahli-Nya merupakan pendekatan diri kepada Allah SWT (H.R. Ibnu Abdul)”
“Visi tanpa tindakan adalah lamunan. Tindakan tanpa visi adalah mimpi buruk.”

(Mudin)

Kupersembahkan karya ini kepada :

- *Allah SWT yang atas ridho dan kuasanya bisa menyelesaikan tanggung jawab ini dengan penuh tuntunan Nya.*
- *Ibundaku Partini tercinta dan terimakasih atas perhatian, motivasi, kasih sayang, dan do’a yang telah diberikan. Kakak-kakakku Candra Puspa Widyanti dan Andri Kukilowati serta keponakan ku Alya Putri Citra Violani terimakasih atas perhatian, motivasi dan do’a yang telah diberikan.*
- *Teman 1 tim penelitian Skripsi ku Bety Kurnia Kumala Sari, sahabat ku teman-teman seangkatan 2014 terimakasih untuk kebersamaan, dukungan, bantuan dan do’anya.*
- *Agama, Bangsa, Negara dan almamaterku Universitas Setia Budi.*

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juni 2018

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Tri Ulfa Noviarini', written over a horizontal line.

Tri Ulfa Noviarini

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT karena berkat Rahmat dan Karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Shalawat serta salam tidak lupa penulis panjatkan kepada junjungan kita Nabi besar Nabi Muhammad SAW, yang akan kita tunggu syafaatnya diakhir zaman nanti. Yang memberikan Ridho-Nya dalam setiap proses penelitian sehingga penulis dapat dengan baik menyelesaikan skripsi yang berjudul **“AKTIVITAS EKSTRAK DAUN KACAPIRING (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN”**, sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

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

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA. Selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt, selaku Ketua Program Studi Jurusan S1 Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Dr. Titik Sunarni, S.Si., M.Si., Apt selaku pembimbing utama dan Dwi Ningsih, M.Farm., Apt selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan dorongan semangat selama penulisan proposal sampai skripsi selesai.
5. Ibuk Partini dan kakak-kakak ku Candra Puspa Widayanti dan Andri Kukilowati, serta seluruh keluarga besar yang selalu mendoakan dan memberi motivasi kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Tim Daun Kcapiring Bety Kurnia Kumala Sari yang sudah menemani praktikum selama berbulan-bulan.
7. Teman-temanku Teori 3 dan 5 Universitas Setia Budi angkatan 2014, FKK-2 angkatan 2014, serta KKN kelompok 4 angkatan 2014.
8. Bapak dan Ibu dosen serta seluruh staf karyawan Universitas Setia Budi yang memberikan informasi dan bantuan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini banyak kekurangan dan masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap semoga apa yang telah dikemukakan akan berguna baik bagi pembaca pada umumnya, dan secara khusus dapat bermanfaat bagi ilmu kefarmasian.

Surakarta, Juni 2018



Tri Ulfa Noviarini

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Kacapiring	4
1. Sistematika tanaman.....	4
2. Klasifikasi tanaman kacapiring	4
3. Morfologi tanaman	4
4. Kandungan kimia tanaman	6
5. Kegunaan Tanaman	6
B. Tinjauan Fitokimia	6
1. Flavonoid.....	6

2.	Tanin.....	7
3.	Saponin.....	7
4.	Terpenoid.....	7
5.	Steroid	8
C.	Simplisia	8
D.	Penyarian	9
1.	Definisi ekstrak.....	9
2.	Ekstraksi	9
3.	Refluks.....	10
3.1	Prinsip refluks	10
3.2	Metode refluks	10
4.	Cairan penyari	10
E.	Diabetes Melitus	11
1.	Pengertian diabetes melitus	11
2.	Epidemiologi	11
3.	Klasifikasi.....	12
3.1	Diabetes melitus tipe 1.....	12
3.2	Diabetes melitus tipe 2.....	12
3.3	Diabetes Melitus Gestasional (GDM).....	13
3.4	Diabetes melitus tipe spesifik lain	13
4.	Terapi farmakologi	13
4.1	Obat antihiperqlikemia suntik.....	13
4.2	Terapi dengan obat-obat hipoglikemik	14
F.	Glibenklamid	16
G.	Tinjauan Tentang Aloksan	16
H.	Metode Pemeriksaan Glukosa Darah	17
1.	Metode enzimatik	17
1.1.	Metode glukosa oksidase (GOD-PAP)	17
1.2.	Metode heksokinase.....	18
2.	Metode kimia.....	18
3.	Cara strip POCT (Point Of Care Testing)	18
I.	Hewan Percobaan	19
1.	Sistematika tikus putih	19
2.	Karakteristik tikus putih	19
3.	Jenis kelamin	19
4.	Teknik pemegangan dan penangannya.....	19
J.	Histopatologi Organ Pankreas	20
1.	Pengertian histopatologi	20
2.	Struktur dan anatomi pankreas	20
3.	Kerusakan pankreas.....	21
4.	Histopatologi pankreas	21
4.1	Jumlah pulau Langerhans	22
4.2	Nekrosis	22
5.	Metode pembuatan preparat histopatologi	22
K.	Landasan Teori	23
L.	Hipotesis	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, Bahan dan Hewan Uji.....	26
1.	Alat	26
2.	Bahan.....	27
2.1	Bahan sampel	27
2.2	Bahan kimia	27
3.	Hewan percobaan	27
D.	Jalannya Penelitian	27
1.	Pengambilan bahan atau sampel.....	27
2.	Determinasi tanaman kacapiring	27
3.	Pengumpulan dan pengeringan daun kacapiring	27
4.	Penetapan kadar air daun kacapiring	28
5.	Pembuatan ekstrak daun kacapiring	28
6.	Penetapan bobot jenis dengan piknometer	29
7.	Penetapan susut pengeringan.....	29
8.	Identifikasi kandungan senyawa	29
8.1	Uji flavonoid	29
8.2	Uji triterpenoid dan steroid	29
8.3	Uji saponin	30
8.4	Uji tanin	30
9.	Penentuan dosis	30
10.	Pembuatan sediaan uji	31
10.1	Larutan aloksan	31
10.2	Larutan suspensi CMC Na 1%	31
10.3	Glibenklamid.....	31
10.4	Sediaan uji ekstrak daun kaca piring	31
11.	Pengelompokan dan perlakuan hewan uji	31
12.	Penetapan kadar gula darah	32
E.	Histopatolgi Organ Pankreas	33
1.	Pembuatan preparat histopatologi	33
1.1	Fiksasi.	33
1.2	Dehidrasi.	33
1.3	Dealkoholisasi.....	33
1.4	Infiltrasi paraffin.	33
1.5	Penanaman jaringan.	33
1.6	Pewarnaan HE (Hematoxylin Eosin).	33
1.7	Rehidrasi.	34
1.8	Staining.	34

1.9	Rehidrasi ulang.....	34
1.10	Penjernihan.....	34
2.	Pemeriksaan histopatologi.....	34
F.	Analisis Data.....	35
G.	Rancangan Penelitian.....	36
H.	Alur pemeriksaan histopatologi.....	37
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	38
A.	Hasil Determinasi Tanaman Kacapiring.....	38
B.	Pembuatan Serbuk Daun Kacapiring.....	38
C.	Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak Daun Kacapiring.....	39
D.	Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk dan Ekstrak Daun Kacapiring.....	39
E.	Hasil Penetapan Bobot Jenis Ekstrak Daun Kacapiring.....	40
F.	Pembuatan Ekstrak Daun Kacapiring.....	40
G.	Identifikasi Kandungan Kimia Serbuk dan Ekstrak Duan Kacapiring.....	41
H.	Hasil pengukuran berat badan tikus.....	42
I.	Hasil Pengukuran Kadar Gula Darah Tikus.....	44
J.	Hasil Uji Histopatologi Pankreas pada Hewan Uji.....	50
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	55
A.	Kesimpulan.....	55
B.	Saran.....	55
	DAFTAR PUSTAKA.....	56
	LAMPIRAN.....	63

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman kacapiring (<i>Gardenia jasminoides</i> J. Ellis)	5
Gambar 2. Anatomi Pankreas (Sridianti 2017)	21
Gambar 3. Skema rancangan penelitian	36
Gambar 4. Skema Pembuatan Preparat Histopatologi Pankreas	37
Gambar 5. Grafik pengaruh pemberian ekstrak daun kacapiring terhadap kadar gula darah tikus yang diinduksi aloksan selama 14 hari	46
Gambar 6. Persentase penurunan kadar gula darah tikus T ₁ ke T ₂ (ΔT_1) dan T ₁ ke T ₃ (ΔT_2)	48
Gambar 7. Profil histopatologi pankreas tikus dengan pewarnaan HE (<i>Hematoxylin Eosin</i>) dengan perbesaran 1000x. a) sel normal b) sel piknotik c) sel karioreksis d) sel kariolisis	52

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Persentase rendemen kering terhadap bobot basah daun kacapiring	38
Tabel 2. Persentase hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun kacapiring.....	39
Tabel 3. Persentase hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun kacapiring.....	40
Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak daun kacapiring	41
Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk daun kacapiring	41
Tabel 6. Data rata-rata hasil penimbangan berat badan tikus saat perlakuan	42
Tabel 7. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada berbagai kelompok perlakuan	46
Tabel 8. Persentase penurunan kadar gula darah tikus T ₁ ke T ₂ dan T ₁ ke T ₃	48
Tabel 9. Rata-rata persentase nekrosis pada masing-masing perlakuan	51

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Determinasi tanaman kacapiring.....	64
Lampiran 2. Surat <i>Ethical Clearence</i>	65
Lampiran 3. Surat keterangan telah melakukan penelitian di Laboratorium Gizi (Hewan Coba) di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada	66
Lampiran 4. Surat keterangan telah melakukan histopatologi organ pankreas di Laboratorium Histopatologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret	67
Lampiran 5. Foto tanaman kacapiring	68
Lampiran 6. Foto serbuk dan ekstrak daun kacapiring	69
Lampiran 7. Gambar Alat dan bahan	70
Lampiran 8. Foto perlakuan pada hewan uji.....	72
Lampiran 9. Hasil identifikasi senyawa kimia serbuk daun kacapiring	73
Lampiran 10. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak daun kacapiring.....	74
Lampiran 11. Hasil perhitungan persentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun kacapiring	75
Lampiran 12. Hasil perhitungan persentase rendemen serbuk terhadap ekstrak kental daun kacapiring.....	76
Lampiran 13. Hasil penetapan kadar air serbuk dan daun kacapiring	77
Lampiran 14. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kacapiring	78
Lampiran 15. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kacapiring	79
Lampiran 16. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun kacapiring	80
Lampiran 17. Hasil penetapan Berat Jenis ekstrak daun kacapiring.....	81
Lampiran 18. Perhitungan dosis.....	82

Lampiran 19. Data rata-rata hasil penimbangan berat badan tikus saat perlakuan	86
Lampiran 20. Perhitungan dosis glibenklamid	87
Lampiran 21. Perhitungan dosis pemberian ekstrak daun kacapiring 125 mg/kgBB tikus, 250 mg/kgBB tikus, 500 mg/kgBB tikus	88
Lampiran 22. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T ₀	89
Lampiran 23. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T ₁	90
Lampiran 24. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T ₂	91
Lampiran 25. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T ₃	92
Lampiran 26. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada berbagai kelompok perlakuan	93
Lampiran 27. Penurunan kadar gula darah tikus dan presentase penurunan kadar gula darah tikus	94
Lampiran 28. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T ₀	95
Lampiran 29. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T ₁	97
Lampiran 30. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T ₂	99
Lampiran 31. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T ₃	101
Lampiran 32. Hasil uji statistik presentase penurunan kadar gula darah tikus T ₁ terhadap T ₂	103
Lampiran 33. Hasil uji statistik presentase penurunan kadar gula darah tikus T ₁ terhadap T ₃	105
Lampiran 35. Hasil histopatologi organ pankreas	108
Lampiran 36. Hasil uji statistik total nekrosis sel endokrin pulau Langerhans ..	114

INTISARI

NOVIARINI, TU., 2018, AKTIVITAS EKSTRAK DAUN KACAPIRING (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA

Daun kacapiring (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) memiliki kandungan senyawa flavonoid yang berperan sebagai antioksidan diharapkan berpotensi menurunkan kadar gula darah dan menurunkan jumlah nekrosis sel pada pengamatan histopatologi pankreas tikus. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dosis efektif ekstrak daun kacapiring (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) yang dapat menurunkan kadar gula darah dan menurunkan jumlah nekrosis sel pankreas pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih jantan yang dibagi menjadi 6 kelompok. Kelompok I kontrol normal; II kontrol diabetes; III kontrol glibenklamid; IV, V dan VI kontrol uji ekstrak daun kacapiring dengan dosis 125mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB selama 14 hari. Hewan uji diinduksi dengan aloksan dosis 150 mg/kgBB secara intraperitoneal. Pengukuran kadar gula darah dengan metode GOD-PAP dan histopatologi organ pankreas tikus dilakukan pada hari ke-15

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun kacapiring dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB dapat menurunkan kadar gula darah dan menurunkan jumlah nekrosis sel. Dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar gula darah dan menurunkan jumlah nekrosis sel adalah dosis 500 mg/kgBB.

Kata kunci : Daun kacapiring, antihyperglikemi, histopatologi pankreas.

ABSTRACT

NOVIARINI, TU., 2018 ACTIVITY OF KACAPIRING (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) LEAF EXTRACT ON LOWERING BLOOD GLUCOSE AND HISTOPATHOLOGY OF PANCREATIC AT WHITE RATS MALE STRAIN OF WISTAR IN ALLOXAN INDUCED, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Leaf of Kacapiring (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) have the content of compounds flavonoid the role as antioxidant expected potentially decrease blood glucose levels and decrease the number of necrosis cells in the observation histopathology of pancreatic rat. The purpose of this research is to determine the effective dose of kacapiring (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) leaf extract can decrease blood glucose levels and number of necrosis cells in rats diabetes that induced alloxan.

This research uses 30 male rats were divided into 6 groups. Group I as a normal control; II as a diabetic control; III as a glibenclamide control; IV, V and VI as a test to extract of kacapiring leaf dose 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB and 500 mg/kgBB for 14 days. Animals test induced with alloxan dose 150 mg/kgBB intraperitoneally. Measure blood glucose levels using glucose oxidase (GOD-PAP) methode and histopathologi of pancreatic rat on the day to 15th.

The results showed that extract kacapiring leaf dose 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB and 500 mg/kgBB can decrease blod sugar levels and reduce number of necrosis cells. Dose of the most effective in decrease blood sugar levels and reduce number of necrosis cells is a dose 500 mg/kgBB.

Keyword : Kacapiring leaf, anthihiperqlikemi, histopathology of panceatic.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu jenis penyakit *degenerative* yang mengalami peningkatan setiap tahun di negara-negara seluruh dunia. Berdasarkan data IDF (2015) tingkat prevalensi global penderita DM pada tahun 2014 sebesar 8,3% dari keseluruhan penduduk di dunia dan mengalami peningkatan pada tahun 2015 menjadi 387 juta kasus . Penyebabnya ialah berkurangnya hormon insulin yang dihasilkan oleh sekelompok sel beta di kelenjar pankreas yang sangat berperan dalam metabolisme glukosa dalam sel tubuh. Kerusakan sel beta pankreas menyebabkan tubuh tidak bisa menghasilkan insulin sehingga menyebabkan kadar glukosa darah meningkat (terjadi keadaan hiperglikemia) (Suarsana *et al* 2010). Kondisi hiperglikemia menurut Robertson *et al* (2003) dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS=*reactive oxygen species*). ROS yang berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif dan dapat memperparah kerusakan sel beta pankreas.

Selama ini pengobatan DM yang telah dilakukan ialah injeksi insulin dan pemberian obat oral anti diabetes (OAD). Pemberian obat kimia tersebut memerlukan biaya yang besar dan beresiko menimbulkan efek samping yang berbahaya (Brunton *et al* 2008). Mahalnya biaya pengobatan DM memicu para ahli untuk mencari obat alternatif dari bahan alami yang dapat dijangkau oleh masyarakat serta memiliki efek samping minimal dibandingkan pengobatan kimia.

Secara tradisional banyak tanaman yang berkhasiat menurunkan kadar gula darah, tapi penggunaan tanaman obat tersebut kadang masih hanya berdasarkan pengalaman atau secara empiris, belum didukung oleh adanya penelitian untuk uji klinis dan farmakologisnya (Winarto 2003). Terdapat lebih dari 800 tanaman memiliki potensi antidiabetes dan lebih dari 1.200 spesies menunjukkan sebagai aktivitas antihiperglikemi.

Kacapiring sering disebut tanaman multi guna, karena setiap bagian tanaman memiliki fungsi. Akar kacapiring digunakan sebagai obat sakit gigi dan

demam. Bunga diolah menjadi minyak atau bahan kosmetika. Batangnya digunakan sebagai bahan baku dupa untuk aroma terapi. Buahnya untuk pewarna makanan, antitumor, antihiperlipid, antihepatik, diuretik, laksatif, koleratik (Zhou *et al* 2007), sedangkan daun kacapiring digunakan sebagai obat panas dalam, sariawan dan diabetes (Dalimartha 2005). Daun kacapiring mempunyai komponen yang dapat membentuk gel, berwarna hijau tua, mengandung klorofil yang merupakan pigmen alami tanaman tingkat tinggi, ditemukan kompleks multiseluler, dan pada jaringan eukariot. Klorofil yang diekstrak dari daun kaca piring berfungsi sebagai antiperadangan, antibakteri, antiparasit, dan antioksidan (Rahmayanti dkk 2006).

Untuk membuat hewan diabetes dapat di induksi dengan zat diabetogenik seperti aloksan. Aloksan merupakan analog glukosa toksik di sel beta pankreas yang menghasilkan radikal superoksida, H_2O_2 , dan radikal hidroksil. Peningkatan radikal superhidroksida menyebabkan meningkatnya hidrogen peroksida dan radikal hidroksil yang menyebabkan terjadinya kerusakan sel beta pankreas dan terhambatnya sintesis dan sekresi insulin sehingga terjadi hiperglikemia. Aloksan mempunyai efek yang selektif sitotoksik pada sel beta pankreas, sehingga menyebabkan matinya sel beta pankreas (Lenzen 2008).

Penelitian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Baroroh (2011) menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun kacapiring yang diekstraksi secara maserasi selama dua hari memberikan efek yang signifikan terhadap penurunan kadar gula darah hewan uji dengan metode uji toleransi glukosa oral dan pada dosis 250 mg/kgBB memberikan efek penurunan kadar gula darah yang efektif. Pengujian dengan metode induksi diabetes menggunakan zat diabetogenik aloksan belum pernah dilakukan. Berdasarkan uraian diatas maka akan dilakukan pengujian pengaruh dari ekstrak etanol daun kacapiring terhadap penurunan kadar gula dan gambaran histopatologi pada tikus yang diinduksi aloksan.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan penjelasan pada latar belakang diatas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak daun kacapiring memiliki aktivitas antihiperglikemi pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan?

Kedua, berapakah dosis efektif ekstrak daun kacapiring yang memiliki efektifitas dalam penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan?

Ketiga, apakah pemberian ekstrak daun kacapiring dapat menurunkan persentase nekrosis sel Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antihiperglikemi ekstrak daun kacapiring pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan

Kedua, untuk mengetahui dosis efektif ekstrak daun kacapiring yang memiliki efektifitas dalam penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan

Ketiga, untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun kacapiring dalam menurunkan persentase nekrosis sel Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini dapat menambah pengalaman, wawasan, pengetahuan serta memberikan kontribusi ilmiah terhadap penelitian-penelitian antihiperglikemi selanjutnya dan dapat memberikan informasi kepada masyarakat bahwa tanaman daun kacapiring dapat dijadikan obat alternatif untuk menurunkan kadar gula darah sehingga dapat meningkatkan budaya tanaman kacapiring.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Kacapiring

1. Sistematika tanaman

Menurut Dalimarta (2005) , tanaman kacapiring mempunyai taksonomi yaitu, Kingdom: Plantae; Divisio: Magnoliophyta; Class: Magnoliophyta; Ordo: *Rubiaceae*; Genus : *Gardenia*; Spesies : *Gardenia augusta, Merr*; Nama Spesifik : *Gardenia jasminoides Ellis*.

2. Klasifikasi tanaman kacapiring

Tanaman kacapiring (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) mempunyai sinonim yaitu : *Gardenia augusta* Merr; *Gardenia florida* L; *Gardenia grandiflora* Sleb; *Gardenia maruba* Sieb; *Gardenia radicans* Thumb. Selain itu, kacapiring juga mempunyai berbagai nama daerah antara lain : didaerah Sumatera dikenal dengan nama meulu bruek, raja patih (Aceh); didaerah Jawa dikenal dengan nama kacapiring (Sunda), peciring, cepiring, ceplok pring (Jawa); didaerah Maluku dikenal dengan nama kacapiring, sangklapa dan didaerah Bali dikenal dengan nama jempiring (Dalimartha 2005).

3. Morfologi tanaman

Gardenia jasminoides J. Ellis (Rubiaceae), atau secara umum di Indonesia disebut sebagai bunga Ceplok piring. Tanaman ini merupakan tanaman yang cukup terkenal sebagai tanaman hias di halaman rumah dan mempunyai bunga berwarna putih yang memiliki bau yang sangat wangi. *Gardenia jaminoides* diuraikan pertama kali oleh botanis berkewarganegaraan Inggris John Ellis pada tahun 1761, setelah dibawa ke Inggris pada tahun 1750. Nama belakang *jasminoides* diberikan karena minyak atsiri bunga ini memiliki kandungan senyawa utama benzil asetat, senyawa yang juga menjadi senyawa utama dalam bunga melati (Julianto 2016).



Gambar 1. Tanaman kacapiring (*Gardenia jasminoides* J. Ellis)

Gardenia jasminoides merupakan tanaman yang dapat tumbuh sepanjang tahun. Tanaman ini dapat tumbuh sampai ketinggian 2 meter bahkan dapat tumbuh sampai ketinggian 12 m, memiliki akar yang kuat dengan batang berdiameter hingga 10 cm serta biasanya memiliki cabang yang banyak (Julianto 2016).

Daunnya saling berhadapan, berbentuk elips. Bunganya lebar dan muncul setelah daun teratas, sangat berbau, terdiri dari sampai 8 kelopak, berwarna putih corolla sampai kekuningan. Buahnya berkulit berbentuk ovoid atau ellipsoid, memiliki panjang 1,5 cm sampai 4,5 cm, memiliki mahkota berwarna coklat dengan buah berwarna putih, kuning sampai merah pada saat telah matang. *Gardenia jasminoides* secara luas dapat ditanam diderah tropis maupun sub tropis dan terkadang tumbuh secara liar. Di Asia Tenggara, bunga ini biasa ditanam dikebun atau halaman rumah (Julianto 2016).

Gardenia jasminoides ditempat asalnya merupakan spesies yang tumbuh di iklim sedang. Di daerah tropis tanaman ini juga dapat tumbuh dengan baik dengan ketinggian dataran 400-1200 m dari permukaan laut. Di daerah dataran rendah tropis, tanaman ini juga dapat tumbuh namun bunga yang dihasilkan sedikit atau tidak berbunga sama sekali. Tanaman ini memerlukan cahaya matahari yang cukup. Kondisi tanah yang paling baik adalah tanah yang tidak terlalu kering dan tidak basah dengan pH 6-7. Tanaman ini akan berbunga setelah 1 tahun sejak penanaman (Julianto 2016).

Tanaman ini biasanya diperbanyak dengan cara memotong bagian batang atau dahannya. Waktu pemotongan terbaik adalah pada saat pertama kali selesai

berbunga dengan mengambil bagian dahan yang lebih muda. Pupuk kandang atau kompos harus diberikan secara teratur (Julianto 2016).

4. Kandungan kimia tanaman

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Fatmawati (2003) menunjukkan bahwa daun kacapiring mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, steroid atau terpenoid. Senyawa fitokimia ini merupakan kelompok senyawa polifenol yang berfungsi sebagai antioksidan alami, sehingga sangat berpotensi untuk dikembangkan.

5. Kegunaan Tanaman

Daun kacapiring secara tradisional biasa digunakan obat untuk penyembuhan panas dalam. Daun juga digunakan sebagai pengganti dengan daun cincau hijau untuk membuat bahan makanan sejenis gel yang dijual sebagai bahan pengisi minuman segar. Daun yang lebat mampu menyejukkan udara dan menyerap zat beracun dari udara, sehingga tepat dijadikan tanaman penghijauan bagi kota-kota yang kadar polusinya tinggi. Secara empiris daun kacapiring merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan untuk pengobatan diabetes mellitus (Wijayakusuma 2000).

Beberapa penelitian terkait aktivitas tanaman daun kacapiring telah dilakukan seperti penelitian yang dilakukan oleh Noffritasari (2006) menunjukkan bahwa pemberian infusa daun kacapiring pada dosis 1,25 g/kgBB dan 2,50 g/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus Wistar yang diberi beban glukosa. Penelitian dilakukan oleh Baroroh (2011) dengan metode toleransi glukosa ekstrak etanol daun kacapiring mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan dosis yang digunakan 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB.

B. Tinjauan Fitokimia

1. Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak dalam jaringan tanaman. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan. Antioksidan flavonoid dapat mengikat radikal bebas penyebab resistensi insulin, selain itu antioksidan flavonoid juga dapat menstabilkan radikal bebas dengan

menyumbangkan satu atom hidrogennya. Kemampuan lain berupa menghambat transporter glukosa (GLUT 2) mukosa usus sehingga menurunkan absorpsi gula dan juga dapat menghambat fosfodiesterase sehingga reseptensi adenosine monofosfat siklik (cAMP) dapat meningkat dalam pankreas (Ajie 2015).

2. Tanin

Tanin merupakan salah satu jenis senyawa metabolit sekunder yang berfungsi memberikan rasa pahit pada tanaman. Senyawa metabolit tanin terdiri dari senyawa polifenol yang larut dalam air. Secara umum senyawa tanin dibagi menjadi dua jenis, yaitu tanin yang dapat terhidrolisis dan tanin tidak terhidrolisis. Tanin terhidrolisis biasanya terbentuk dari proses esterifikasi gula dengan asam fenolat sederhana, seperti glukosa dan asam galat. Sedangkan tanin tidak terhidrolisis atau biasa disebut tanin terkondensasi, biasanya diperoleh dari polimerisasi tanin dan flavonoid (Mukhriani 2014).

3. Saponin

Saponin memiliki aktivitas menstimulasi pelepasan insulin dan memblokir pembentukan glukosa dalam aliran darah. Saponin adalah senyawa aktif yang permukaannya kuat yang menimbulkan busa apabila dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Dikenal dua jenis saponin, glikosida triterpenoid dengan mekanismenya yaitu untuk mencegah penyerapan glukosa dengan cara menghambat transport glukosa menuju *brush border intestinal* di usus halus yang merupakan tempat penyerapan glukosa dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal (Bhusnan *et al* 2010).

4. Terpenoid

Terpenoid atau isoterpen merupakan senyawa bahan alam yang mempunyai struktur dasar disusun oleh struktur isoprene yang saling bergabung dan mengalami modifikasi sehingga mengandung gugus fungsi dan terkadang juga terjadi siklisasi menghasilkan struktur siklik alifatik. Terpenoid merupakan kelompok terbesar senyawa bahan alam dengan jumlah senyawa lebih dari 30.000 senyawa (Raharjo 2013).

5. Steroid

Steroid adalah hasil modifikasi triterpenoid tetrasiklik. Struktur kolesterol dapat dianggap sebagai struktur dasar steroid, tetapi modifikasi lebih lanjut pada rantai samping menghasilkan struktur yang bervariasi. Steroid juga dikenal sebagai senyawa hormon. Salah satu golongan steroid adalah hormone seksual yang diproduksi dikelenjar kelamin (Raharjo 2013).

C. Simplisia

1. Definisi simplisia

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan dan kecuali dinyatakan lain. Simplisia merupakan bahan yang dikeringkan (Kemenkes 2009). Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berupa tanaman utuh, bagian tanaman, eksudat tanaman, atau gabungan dari ketiganya. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa bahan kimia murni. Simplisia pelican atau mineral adalah simplisia berupa bahan pelican atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana atau tidak berupa bahan kimia murni (Gunawan dan Mulyani 2004). Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia nabati.

2. Pengumpulan simplisia simplisia

Bagian simplisia yang diambil dari tanaman, misalnya daun, bunga, buah, akar atau rimpang karena zat berkhasiat tidak terdapat pada seluruh bagian dari tanaman. Kadang kala ada bagian dari tanaman justru beracun dan tidak dikehendaki. Bila yang dikumpulkan daun sebaiknya tidak tercampur dengan bagian lain dari tanaman seperti biji, bunga atau tangkai. Pengumpulan simplisia juga perlu memperhatikan kondisi khusus, misalnya pemanenan daun yang dilakukan sewaktu daun masih muda atau ketika masih tunas (Dalimartha 2008)

3. Pencucian dan pengeringan simplisia

Pencucian simplisia bertujuan untuk melepaskan kotoran (tanah, debu dan kotoran lainnya) yang melekat pada tanaman obat sehingga mikroba atau kotoran

yang dapat merusak dan mengubah komposisi zat pada tanaman dapat dihilangkan. Proses pencucian dilakukan dengan cara mengalirkan air bersih pada simplisia sehingga kotoran dapat terlarut dan terbuang. Kualitas air yang digunakan untuk membersihkan simplisia harus air bersih yang tidak mengandung mikroba atau logam, air yang digunakan disarankan dengan air tanah yang bersih (Dalimartha 2008).

D. Penyarian

1. Definisi ekstrak

Ekstrak dapat didefinisikan sebagai sediaan yang mengandung campuran komponen kimia suatu simplisia yang larut dalam pelarut yang digunakan. Ekstraksi adalah kegiatan dalam pembuatan ekstrak. Ekstrak mengandung senyawa bioaktif dengan kadar yang lebih tinggi dari simplisia asalnya. Ekstrak yang baik harus memenuhi persyaratan tertentu seperti yang telah ditetapkan dalam beberapa Farmakope seperti ekstrak yang dimurnikan yaitu ekstrak yang telah mengalami pemurnian sedemikian rupa sehingga ekstrak tersebut hanya mengandung suatu kelompok senyawa tertentu dalam kadar yang lebih tinggi. (Sidik 2007)

Cara pembuatan ekstrak diawali dengan proses penyarian. Penyarian simplisia dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi atau penyeduhan dengan air mendidih. Penyarian dengan campuran etanol dan air dapat dilakukan dengan cara maserasi atau perkolasi (FHI 2008).

2. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi biasa digunakan untuk memisahkan dua zat berdasarkan perbedaan kelarutan yang berbeda dari komponen-komponen tersebut. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman (Muhriani 2014).

Tujuan utama ekstraksi adalah mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan (*concentrata*) dari zat-zat yang

tidak berfaedah, agar lebih mudah dipergunakan dan disimpan dibandingkan simplisia asal dan tujuan pengobatan lebih terjamin (Syamsuni 2013).

3. Refluks

Metode refluks merupakan metode berkesinambungan dimana cairan penyari secara kontinyu menyari komponen kimia dalam simplisia, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap dan uap tersebut dikondensasikan oleh pendingin balik, sehingga mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan dan jatuh kembali ke labu alas bulat sambil menyari simplisia.

3.1 Prinsip refluks. Penarikan komponen kimia yang dilakukan dengan cara sampel dimasukkan ke dalam labu alas bulat bersama-sama dengan cairan penyari lalu dipanaskan, uap-uap cairan penyari terkondensasi pada kondensor bola menjadi molekul-molekul cairan penyari yang akan turun kembali menuju labu alas bulat, akan menyari kembali sampel yang berada pada labu alas bulat, demikian seterusnya berlangsung secara berkesinambungan sampai penyarian sempurna, penggantian pelarut dilakukan sebanyak 3 kali setiap 3-4 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan (Akhyar 2010).

3.2 Metode refluks. Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Depkes RI 2006).

4. Cairan penyari

Cairan penyari dalam proses pembuatan ekstrak adalah pelarut yang optimal untuk senyawa kandungan yang aktif sehingga senyawa tersebut dapat terpisah dari senyawa lain. Faktor utama sebagai pertimbangan pada pemilihan cairan penyari adalah: selektifitas, kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut, ekonomis, ramah lingkungan, dan keamanan. Berdasarkan peraturan yang berlaku, pelarut yang diperbolehkan adalah air dan etanol serta

campurannya. Jenis pelarut lain seperti metanol (alkohol turunannya), heksana (hidrokarbon alifatik), toluene (hidrokarbon aromatik), kloroform, aseton, umumnya digunakan sebagai pelarut untuk tahap separasi dan tahap pemurnian (fraksinasi) (Depkes 2000). Pelarut etanol merupakan pelarut yang paling sering digunakan dalam suatu penelitian. Pelarut ini mempunyai sifat semipolar yang berarti dapat menarik zat-zat yang bersifat polar maupun nonpolar. Keuntungan penggunaan etanol dalam penelitian lainnya adalah pelarut ini tidak beracun dan tidak berbahaya (Robinson 2005).

E. Diabetes Melitus

1. Pengertian diabetes melitus

Diabetes melitus adalah suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin maupun kedua-duannya. Gejala yang timbul disebabkan oleh adanya peningkatan kadar glukosa darah akibat penurunan ekresi insulin (Soegondo 2013).

Banyak faktor penyebab diabetes melitus, diantaranya faktor genetik, faktor infeksi, faktor toksisitas, faktor nutrisi, faktor stress, faktor obat dan hormon, faktor penyakit pankreas dan faktor kemalasan (Ranakusuma 1992). Sedangkan menurut Guyton (1997) faktor herediter sering juga menyebabkan timbulnya diabetes melalui peningkatan kerentanan sel-sel beta terhadap penghancuran oleh virus atau mempermudah perkembangan antibodi autoimun melalui sel-sel beta, sehingga mengarah pada penghancuran sel-sel beta. Selain itu obesitas juga merupakan salah satu penyebab terjadinya diabetes melitus karena obesitas dapat menurunkan jumlah reseptor insulin di dalam sel target insulin di seluruh tubuh, sehingga membuat jumlah insulin yang tersedia kurang efektif dalam meningkatkan efek metabolik insulin yang biasa.

2. Epidemiologi

DM tipe 1 adalah penyakit autoimun yang dapat berkembang pada masa anak-anak maupun tahap dewasa awal, walaupun beberapa dalam bentuk laten dapat terjadi. DM tipe 1 terjadi 5%-10% dari semua kasus DM yang terjadi dan

kemungkinan disebabkan secara genetik ataupun faktor lingkungan. Perkembangan dari autoimun sel β -pankreas terjadi kurang dari 10% populasi dengan kelainan genetik dan kurang dari 1% karena faktor lingkungan (Triplitt *et al* 2008).

Prevalensi dari DM tipe 2 sebesar 90% dari semua kasus DM yang terjadi. Beberapa faktor resiko yang dapat membawa seseorang pada DM tipe 2 yaitu riwayat keluarga, obesitas, aktivitas fisik, ras atau etnis. Secara keseluruhan prevalensi DM tipe 2 di Inggris \pm 9,6% pada 20 tahun keatas. Di Indonesia sendiri, prevalensi DM dari tahun ke tahun semakin meningkat, berdasar Badan Pusat Statistik Indonesia tahun 2003 terdapat \pm 133 juta jiwa penduduk diatas 20 tahun terjangkau DM, dengan prevalensi sebesar 14,7% pada daerah urban dan 7,2% pada daerah rural, maka diperkirakan terdapat 194 juta penduduk berusia 20 tahun keatas di tahun 2030 (Riskesdas 2013).

3. Klasifikasi

3.1 Diabetes melitus tipe 1. Biasa disebut juga *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM) adalah penyakit kelainan autoimun yang menyebabkan kerusakan pada sel β -pankreas, selain itu kerusakan sel β -pankreas disebabkan karena proses idiopatik, namun hal ini jarang terjadi. Proses autoimun diperantarai oleh makrofag dan sel limfosit T dengan autoantibodi yang bersirkulasi terhadap antigen sel β . Pengukuran autoantibodi yang lain adalah insulin autoantibodi, autoantibodi terhadap glutamic acid decarboxylase, insulin antibodi terhadap islet tyrosin phosphatedan lain sebagainya. Lebih dari 90% pasien yang terdiagnosis, mempunyai satu dari beberapa antibodi tersebut (Triplitt *et al* 2008).

3.2 Diabetes melitus tipe 2. DM tipe 2, yaitu *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM) ditandai oleh resistensi insulin dan berkurangnya sekresi insulin, yang akan semakin berkurang sekresinya dari waktu ke waktu. Sebagian besar pasien DM tipe 2 memperlihatkan obesitas abdomen, yang mana obesitas abdomen itu sendiri mengakibatkan resistensi insulin. Sebagai tambahan, hipertensi, dislipemia (*high triglyceride levels and low HDL-cholesterol levels*) dan peningkatan plasminogen activator inhibitor type 1 (PAI-1) sering

ditemukan. Sekumpulan abnormalitas ini menunjukkan sindrom resistensi insulin atau sindrom metabolisme. Dikarenakan abnormalitas ini, pasien dengan DM tipe 2 berada dalam risiko tinggi terkena komplikasi makrovaskular (Triplitt *et al* 2008).

3.3 Diabetes Melitus Gestasional (GDM). Diabetes Melitus Gestasional (GDM) digambarkan sebagai intoleransi glukosa yang dikenali selama masa kehamilan. Diabetes gestasional berada pada $\pm 7\%$ dari keseluruhan kehamilan. Deteksi klinik secara dini sangat penting, sebagai terapi akan mengurangi tingkat morbiditas dan mortalitas perinatal (Triplitt *et al* 2008).

3.4 Diabetes melitus tipe spesifik lain. DM tipe lain yang terjadi yaitu DM yang disebabkan penyakit lain, seperti kelainan endokrin atau pankreas akibat penggunaan obat lain (Suherman dkk 2011).

4. Terapi farmakologi

Terapi farmakologis diberikan bersama dengan pengaturan makan dan latihan jasmani (gaya hidup sehat). Terapi farmakologis terdiri dari obat oral dan bentuk suntikan (Perkeni 2015)

4.1 Obat antihiperqlikemia suntik. Beberapa terapi yang termasuk antihiperqlikemia suntik, yaitu insulin, agonis GLP-1 dan kombinasi insulin dan agonis GLP-1.

4.1.1 Insulin. Insulin diperlukan pada keadaan HbA1c $> 9\%$ dengan kondisi dekomposisi metabolik, penurunan berat badan yang cepat, hiperqlikemia berat yang disertai ketosis, krisis Hiperqlikemia, gagal dengan kombinasi OHO dosis optimal, stres berat (infeksi sistemik, operasi besar, infark miokard akut, stroke, kehamilan dengan DM/Diabetes melitus gestasional yang tidak terkendali dengan perencanaan makan, gangguan fungsi ginjal atau hati yang berat, kontraindikasi dan atau alergi terhadap OHO kondisi perioperatif sesuai dengan indikasi (Perkeni 2015).

4.1.2 Agonis GLP-1/Incretin Mimetic. Pengobatan dengan dasar peningkatan GLP-1 merupakan pendekatan baru untuk pengobatan DM. Agonis GLP-1 dapat bekerja pada sel-beta sehingga terjadi peningkatan pelepasan insulin, mempunyai efek menurunkan berat badan, menghambat pelepasan glukagon, dan

menghambat nafsu makan. Efek penurunan berat badan agonis GLP-1 juga digunakan untuk indikasi menurunkan berat badan pada pasien DM dengan obesitas. Pada percobaan binatang, obat ini terbukti memperbaiki cadangan sel beta pankreas. Efek samping yang timbul pada pemberian obat ini antara lain rasa sebah dan muntah. Obat yang termasuk golongan ini adalah: Liraglutide, Exenatide, Albiglutide, dan Lixisenatide (Perkeni 2015).

Salah satu obat golongan agonis GLP-1 (Liraglutide) telah beredar di Indonesia sejak April 2015, tiap pen berisi 18 mg dalam 3 ml. Dosis awal 0.6 mg perhari yang dapat dinaikkan ke 1,2 mg setelah satu minggu untuk mendapatkan efek glikemik yang diharapkan. Dosis bisa dinaikkan sampai dengan 1.8 mg. Dosis harian lebih dari 1,8 mg tidak direkomendasikan. Masa kerja Liraglutide selama 24 jam dan diberikan sekali sehari secara subkutan (Perkeni 2015).

4.2 Terapi dengan obat-obat hipoglikemik oral. Berdasarkan cara kerjanya, obat antihiperlikemia oral dibagi menjadi 5 golongan.

4.2.1 Pemacu Sekresi Insulin. Terdapat 2 golongan obat yang bekerja sebagai pemacu sekresi insulin yaitu sulfonilurea dan glinid. Obat golongan sulfonilurea ini mempunyai efek utama meningkatkan sekresi insulin oleh sel beta pankreas. Efek samping utama adalah hipoglikemia dan peningkatan berat badan. Hati-hati menggunakan sulfonilurea pada pasien dengan risiko tinggi hipoglikemia (orang tua, gangguan faal hati, dan ginjal). Sedangkan golongan Glinid merupakan obat yang cara kerjanya sama dengan sulfonilurea, dengan penekanan pada peningkatan sekresi insulin fase pertama. Golongan ini terdiri dari 2 macam obat yaitu Repaglinid (derivat asam benzoat) dan Nateglinid (derivat fenilalanin). Obat ini diabsorpsi dengan cepat setelah pemberian secara oral dan diekskresi secara cepat melalui hati. Obat ini dapat mengatasi hiperglikemia post prandial. Efek samping yang mungkin terjadi adalah hipoglikemia (Perkeni 2015).

4.2.2 Peningkat Sensitivitas terhadap Insulin. Terdapat 2 golongan yang bekerja peningkat sensitivitas terhadap insulin yaitu: Bigunida dan Tiasolidindion. Metformin mempunyai efek utama mengurangi produksi glukosa hati (glukoneogenesis), dan memperbaiki ambilan glukosa di jaringan perifer.

Metformin merupakan pilihan pertama pada sebagian besar kasus DM tipe 2. Dosis Metformin diturunkan pada pasien dengan gangguan fungsi ginjal (GFR 30-60 ml/menit/1,73 m²). Metformin tidak boleh diberikan pada beberapa keadaan seperti: GFR < 30 mL/menit/1,73 m², adanya gangguan hati berat, serta pasien-pasien dengan kecenderungan hipoksemia (misalnya penyakit serebrovaskular, sepsis, renjatan, PPOK, gagal jantung. Efek samping yang mungkin berupa gangguan saluran pencernaan seperti halnya gejala dyspepsia. Sedangkan tiazolidindion merupakan agonis dari *Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma* (PPAR-gamma), suatu reseptor inti yang terdapat antara lain di sel otot, lemak, dan hati. Golongan ini mempunyai efek menurunkan resistensi insulin dengan meningkatkan jumlah protein pengangkut glukosa, sehingga meningkatkan ambilan glukosa di jaringan perifer. Tiazolidindion meningkatkan retensi cairan tubuh sehingga dikontraindikasikan pada pasien dengan gagal jantung karena dapat memperberat edema/retensi cairan. Hati-hati pada gangguan faal hati, dan bila diberikan perlu pemantauan faal hati secara berkala. Obat yang masuk dalam golongan ini adalah Pioglitazon (Perkeni 2015).

4.2.3 Penghambat Absorpsi Glukosa di saluran pencernaan: Penghambat Alfa Glukosidase. Obat ini bekerja dengan memperlambat absorpsi glukosa dalam usus halus, sehingga mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah sesudah makan. Penghambat glukosidase alfa tidak digunakan pada keadaan: GFR ≤ 30 ml/min/1,73 m², gangguan faal hati yang berat. Efek samping yang mungkin terjadi berupa bloating (penumpukan gas dalam usus) sehingga sering menimbulkan flatus. Guna mengurangi efek samping pada awalnya, diberikan dengan dosis kecil. Contoh obat golongan ini adalah Acarbose (Perkeni 2015).

4.2.4 Penghambat DPP-IV (Dipeptidyl Peptidase-IV). Obat golongan penghambat DPP-IV menghambat kerja enzim DPP-IV sehingga GLP-1 (*Glucose Like Peptide-1*) tetap dalam konsentrasi yang tinggi dalam bentuk aktif. Aktivitas GLP-1 untuk meningkatkan sekresi insulin dan menekan sekresi glukagon bergantung kadar glukosa darah (*glucose dependent*). Contoh obat golongan ini adalah Sitagliptin dan Linagliptin (Perkeni 2015).

4.2.5 Penghambat SGLT-2 (Sodium Glucose Co-transporter 2). Obat golongan penghambat SGLT-2 merupakan obat antidiabetes oral jenis baru yang menghambat penyerapan kembalikan glukosa di tubuli distal ginjal dengan cara menghambat kinerja transporter glukosa SGLT-2. Obat yang termasuk golongan ini antara lain: Canagliflozin, Empagliflozin, Dapagliflozin, Ipragliflozin. Dapagliflozin baru saja mendapat *approvable letter* dari Badan POM RI pada bulan Mei 2015 (Perkeni 2015).

F. Glibenklamid

Glibenklamid merupakan golongan sulfonilurea oral yang poten sebagai agen hipoglikemi. Saat ini glibenklamid digunakan untuk mengobati hiperglikemia untuk *Non Insulin Dependent Diabetes Militus* (NIDDM atau disebut juga DM tipe 2). Mekanisme obat ini dengan menghambat ATP sensitif kanal K di dalam sel β pankreas. Penghambatan ini menyebabkan depolarisasi sel membran dan keadaan ini akan membuka kanal Ca. Dengan terbukanya kanal Ca maka ion Ca^{2+} akan masuk sel β pankreas, merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin (Sharma 2012).

Glibenklamid mempunyai efek hipoglikemi selama 24 jam, di absorpsi dalam saluran pencernaan, waktu paruh 2-4 jam, metabolisme di hati dan diubah menjadi metabolit aktif yang sangat lemah. Glibenklamid sebaiknya diberikan bersama makan. Efek samping dari glibenklamid adalah hipoglikemi, kolestasis jaundice, agranulositosis, anemia aplastik, anemia hemolitik, diskrasia darah, disfungsi hati dan reaksi alergi pada kulit. Sedangkan efek samping fatal yaitu hipoglikemik berkepanjangan terlihat pada pasien lanjut usia atau pasien dengan hati lemah atau penyakit ginjal (Sharma 2012).

G. Tinjauan Tentang Aloksan

Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin; 2,4,5,6 pirimidinetetron) merupakan senyawa turunan pirimidin teroksigenasi yang bersifat asam lemah, sangat hidrofilik dan tidak stabil (dapat terdekomposisi menjadi asam aloksanat) yang mempunyai bentuk struktur kimia seperti pada gambar 7. Mekanisme aloksan

melalui sel beta selektif, waktu paruhnya pada pH netral 7,4 dan suhu 37°C adalah 1,5 menit dan akan lebih lama pada temperatur yang lebih rendah. Aloksan stabil pada pH asam (Lenzen 2008).

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi binatang percobaan untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) secara cepat. Aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal atau subkutan pada binatang percobaan. Tikus hiperglikemik dapat dihasilkan dengan menyuntikkan aloksan dosis 120-150 mg/kgBB (Yuriska 2009).

Aloksan memiliki dua efek patologis yaitu selektif menghambat sekresi insulin yang diinduksi oleh glukosa melalui kemampuannya untuk menghambat sensor glukosa sel beta dan mengakibatkan kerusakan sel beta pankreas yang merupakan akibat radikal hidroksil hasil reaksi aloksan dengan tiol intraseluler (glutation) yang dapat mengakibatkan nekrosis sel beta pankreas sehingga terjadi insulin dependent aloksan diabetes (Lenzen 2008).

H. Metode Pemeriksaan Glukosa Darah

Beberapa metode yang dapat digunakan sebagai pemeriksaan glukosa darah yaitu metode enzimatik, metode kimia dan alat meter.

1. Metode enzimatik

Metode enzimatik biasanya digunakan pada pemeriksaan glukosa darah karena metode ini memberikan hasil spesifitas yang tinggi. Metode ini hanya mengukur kadar glukosa darah. Ada dua macam metode enzimatik yang digunakan yaitu metode glukosa oksidase dan metode heksokinase (Dods 2013).

1.1. Metode glukosa oksidase (GOD-PAP). Metode glukosa oksidase (GOD-PAP) adalah metode spesifik untuk melakukan pengukuran kadar glukosa dalam serum atau plasma melalui reaksi dengan glukosa oksidase. Prinsip metode ini adalah glukosa mengalami oksidasi secara enzimatik menggunakan enzim glukosa oksidase (GOD) membentuk asam glukonik dan H_2O_2 kemudian bereaksi dengan fenol dan 4-aminoantipirin dengan enzim peroksidase (POD) sebagai katalisator membentuk quinamine yaitu suatu zat yang berwarna merah violet.

Intensitas warna yang terbentuk sebanding dengan konsentrasi dalam serum spesimen dan diukur secara fotometris (Dods 2013).

1.2. Metode heksokinase. Metode ini digunakan untuk pengukuran glukosa. Metode ini dianjurkan oleh WHO dan IFFC. Prinsip pemeriksaan pada metode ini adalah heksokinase akan mengkatalisis reaksi fosforilasi glukosa dengan ATP, membentuk glukosa-6-fosfat, dan ADP. Enzim kedua yaitu glukosa-6-fosfat dengan *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADP).

Metode heksokinase jarang digunakan karena menggunakan alat-alat yang otomatis. Kelebihan metode ini yaitu lebih kecil kemungkinan untuk terjadi *human error*. Waktu inkubasi sedikit lebih cepat dan penggunaan reagen lebih irit bila dibandingkan dengan metode GOD-PAP. Pemeriksaan kadar glukosa sekarang sudah disyaratkan dengan metode enzimatik, tidak lagi dengan prinsip reduksi untuk menghindari ikut terukurnya zat-zat lain yang akan memberikan hasil tinggi/rendah palsu (Dods 2013).

2. Metode kimia

Metode kimia adalah metode yang memanfaatkan sifat mereduksi dari glukosa dengan bahan indikator yang akan berubah warna apabila tereduksi. Akan tetapi, metode ini tidak spesifik karena senyawa-senyawa lain yang ada didalam darah juga dapat tereduksi, contoh metode kimiawi yang masih digunakan untuk pemeriksaan glukosa adalah metode toluidine (Dods 2013).

3. Cara strip POCT (Point Of Care Testing)

POCT merupakan alat pemeriksaan laboratoriu sederhana yang dirancang hanya untuk penggunaan sampel darah kapiler. Bukan untuk sampel serum atau plasma. Prinsip pemeriksaan pada metode ini adalah strip test diletakkan pada alat. Ketika darah ditetaskan pada zona reaksi test strip, katalisator glukosa akan mereduksi glukosa dalam darah. Intensitas dari elektron yang terbentuk dalam strip setara dengan konsentrasi glukosa dalam darah.

Kelebihan dari cara strip ini adalah hasil pemeriksaan dapat segera diketahui. Pemeriksaan jenis ini hanya membutuhkan sampel yang sedikit, tidak membutuhkan reagen khusus, praktis dan mudah dibawa kemana-mana. Kekurangan dari cara strip ini adalah akurasinya belum diketahui serta memiliki

keterbatasan yang dipengaruhi oleh suhu, volume sampel yang kurang. Cara strip ini tidak untuk menegakkan diagnosis klinis (Dods 2013).

I. Hewan Percobaan

1. Sistematika tikus putih

Taksonomi tikus putih menurut Depkes (2009) Fillum: Chordata; Subfilum: Vertebrata; Class: Mamalia; Sub class: Theria; Ordo: Rodentia; Sub ordo : Myomorpha; Family: Muridae; Sub family : Murinae; Genus: Ratus; Spesies: *Rattus novergicus*.

2. Karakteristik tikus putih

Tikus putih merupakan hewan yang cerdas, relative resisten terhadap infeksi dan pada umumnya tenang sehingga mudah untuk ditangani. Tikus putih dapat ditinggal sendirian dalam kandang asal bisa mendengar dan melihat tikus lain. Tikus albino cenderung memiliki sifat untuk berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Aktifitas tikus albino tidak terganggu dengan adanya manusia. Tikus laboratorium memiliki sifat tenang, mudah ditangani, tidak begitu fotofobik seperti halnya mencit. Perlakuan kasar pada tikus menyebabkan tikus menjadi galak (Harmita dan Maksun 2005). Tikus sangat aktif pada malam hari, pada siang hari jika merasa terganggu tikus akan menggigit (Moore 2000).

3. Jenis kelamin

Tikus yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan. Tikus dengan jenis kelamin betina tidak digunakan karena kondisi hormonal yang sangat berfluktuasi pada saat mulai beranjak dewasa, sehingga dikhawatirkan akan memberikan respon yang berbeda dan dapat mempengaruhi hasil penelitian (Kasinja 2005).

4. Teknik pemegangan dan penangannya

Tikus ditempatkan dikandang dengan cara membuka kandang, mengangkat tikus dengan tangan kanan, dan meletakkan di atas permukaan kasar atau kawat. Tangan kiri diletakkan dipunggung tikus. Kepala tikus diselipkan diantara ibu jari dan jari tengah, jari manis dan kelingking disekitar perut tikus

sehingga kaki depan kiri dan kanan terselip diantara jari-jari. Tikus juga dapat dipegang dengan menjepit kulit pada tengkuknya (Harmita dan Maksum 2005).

J. Histopatologi Organ Pankreas

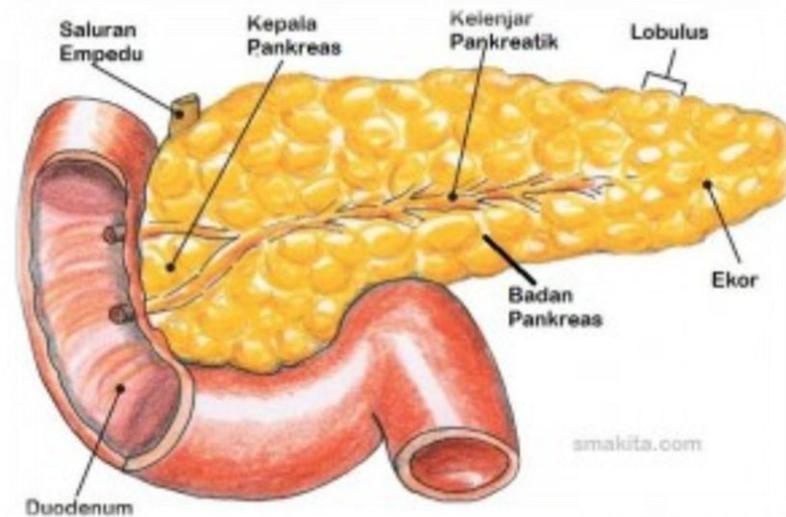
1. Pengertian histopatologi

Histopatologi merupakan studi tentang manifestasi struktur penyakit dibawah cahaya mikroskop. Pada histopatologi, dapat dibedakan histopatologi jaringan normal, variasi proses penyakit, dan perubahan-perubahan yang mungkin timbul sebagai hasil dari penelitian jaringan penyakit yang dilakukan (Chrisman dkk 2004). Pemeriksaan histopatologi bertujuan untuk mengetahui perubahan-perubahan yang terjadi pada pankreas tikus yang mengalami hiperglikemi akibat induksi aloksan (Rahayu dkk 2006).

2. Struktur dan anatomi pankreas

Pankreas adalah struktur 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 yang dapat dilihat pada gambar 2. Secara fisiologi fungsi pankreas dapat bertindak sebagai kelenjar eksokrin dan endokrin. Fungsi endokrin pankreas dilakukan sekelompok sel yang disebut pulau Langerhans yang memproduksi hormon insulin dan glukagon yang penting untuk metabolisme karbohidrat. Fungsi eksokrin oleh kelenjar tubuloacinar, pankreas menyekresi 200 ml getah pankreas setiap hari ke duodenum. Suatu enzim pencernaan yang terdiri dari amilase, tripsin dan lipase (Katzung 2012).

Pulau Langerhans pankreas merupakan gabungan sel dengan diameter 75-500 μ m, yang tersebar (dalam bentuk pulau) dalam jaringan pankreas dan dipasok dengan banyak pembuluh darah. Keseluruhannya sering disebut organ pulau, untuk menyatakan ketidaktergantungannya secara morfologik dan fungsional. Masa utama sel pulau (sekitar 80%) disusun oleh sel B (sel beta) yang diwarnai lemah, dan karena sel B terang (berwarna muda), yang memproduksi insulin.



Gambar 2. Anatomi Pankreas (Sridianti 2017)

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 (Suarsana *et al* 2010). Lesi di pankreas tidak konstan dan jarang bernilai diagnostik. Perubahan khas lebih sering berkaitan dengan diabetes tipe 1 dan diabetes tipe 2. Mungkin ditemukan satu atau lebih perubahan yaitu : 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 dibelakangan dan biasanya tidak lebih dari 20-50%, degradulasi sel β yang sudah rusak hal ini sering ditemukan pada pasien dengan diabetes yang baru di diagnosis, 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 repon terhadap hiperglikemia ibu (Kumar 2007).

4. Histopatologi pankreas

Kerusakan pankreas yang terjadi akibat diabetes mellitus dapat dilihat pada perubahan morfologi pulau Langerhansnya, baik diameter, jumlah pulau, jumlah sel endokrin dan persentase nekrosis sel yang terjadi.

4.1 Jumlah pulau Langerhans. Hewan percobaan DM akan mengalami penurunan jumlah pulau Langerhans, dibandingkan dengan hewan percobaan normal. Apabila jaringan pankreas normal diamati pada hewan percobaan 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 (Andayani 2003).

4.2 Nekrosis. Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang fatal ditandai dengan kerusakan struktur dan fungsi sel secara menyeluruh yang diikuti dengan lisisnya sel dan peradangan jaringan sehingga terdapat ruang-ruang kosong pada pulau Langerhans disebabkan karena nekrosis sel β (Nurdian 1998). Sel yang mengalami nekrosis dapat dilihat dari perubahan inti selnya yaitu adanya piknotik. Perubahan inti piknotik dengan 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 (Price and Wilson 1992).

5. Metode pembuatan preparat histopatologi

Metode pembuatan preparat histopatologi menggunakan pewarnaan hematoxylin (HE). Pewarnaan hematoxylin eosin adalah jenis pewarnaan rutin yang paling umum digunakan. Prosedur ini digunakan dalam proses pembuatan preparat histopatologi dari berbagai spesies hewan sakit atau mati, yang memerlukan pemeriksaan histopatologi untuk penegakkan diagnosis hewan yang bersangkutan (Muntiha 2001). Pada pewarnaan HE digunakan dua macam zat warna yaitu hematosilin yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik), serta eosin yang digunakan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dan memberikan warna merah muda dengan nuansa yang berbeda (Jusuf 2009).

Pengamatan jaringan pankreas dengan pewarnaan HE adalah morfologi umum jaringan pankreas meliputi keadaan sel-sel pada pulau Langerhans dan sel-sel asinar, adanya peradangan, serta menghitung jumlah pulau Langerhans per lapangan pandang (Uray 2009).

K. Landasan Teori

Diabetes mellitus (DM) adalah keadaan hiperglikemia kronik disertai berbagai kelainan metabolik akibat gangguan hormonal. Penyebabnya ialah berkurangnya hormon insulin yang dihasilkan oleh sekelompok sel beta di kelenjar pankreas yang sangat berperan dalam metabolisme glukosa dalam sel tubuh. Kerusakan sel beta pankreas menyebabkan tubuh tidak bisa menghasilkan insulin sehingga menyebabkan kadar glukosa darah meningkat (terjadi keadaan hiperglikemia) (Suarsana *et al* 2010). Seseorang dapat dikatakan DM bila didiagnosis dengan kriteria diagnostik DM dan gangguan toleransi glukosa yaitu kadar glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dl, kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl, kadar glukosa plasma ≥ 200 mg/dl pada 2 jam sesudah beban glukosa 75 gram pada Test Toleransi Glukosa Oral (TTGO) (Perkeni 2011).

Pada penderita diabetes mellitus terjadi perubahan histopatologi pulau Langerhans yang disebabkan oleh kondisi hiperglikemia pada penderita diabetes mellitus. Hal tersebut terjadi karena hiperglikemi memicu pembentukan *reactive oxygen specific* yang dapat menyebabkan stress oksidatif dan mempengaruhi pankreas. Kandungan antioksidan pada suatu tanaman diduga dapat menurunkan pembentukan *reactiveoxygen specific* yang menyebabkan perubahan histopatologi pada pulau Langerhans pankreas.

Untuk mengetahui perubahan histopatologi pulau Langerhans baik jumlah pulau maupun presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada jaringan pankreas menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Pengamatan jaringan pankreas dengan perwarnaan HE adalah morfologi umum jaringan pankreas meliputi keadaan sel-sel pada pulau Langerhans, adanya peradangan serta menghitung jumlah pulau Langerhans per lapangan pandang (Uray 2009).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antidiabetes adalah kacapiring. Daun kacapiring telah digunakan secara empiris sebagai bahan obat penyakit diabetes, obat panas dalam, sariawan. Daun kacapiring mengandung flavonoid yang mempunyai peran penting dalam pengobatan diabetes dan pencegahan diabetes. Adapun penelitian yang telah dilakukan yaitu Uji Efek Antihiperglikemik Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia Augusta* Merr.)

Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar dengan metode uji toleransi glukosa oral dengan pembebanan glukosa dosis 4,5 g/kgBB. Pengujian dengan metode induksi diabetes menggunakan zat diabetogenik aloksan belum pernah dilakukan.

Penggunaan ekstrak daun kacapiring ini diharapkan mempunyai efek menurunkan gula darah pada dosis tertentu dan mampu mempengaruhi persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada tikus diabetes akibat induksi dengan aloksan.

L. Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah dan tujuan penelitian dapat disusun hipotesis sebagai berikut :

Pertama, ekstrak daun kacapiring mempunyai efek menurunkan kadar gula darah pada hewan uji tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.

Kedua, ekstrak daun kacapiring yang memiliki efektifitas menurunkan kadar gula darah pada hewan uji tikus putih jantan galur Wistar pada dosis tertentu.

Ketiga, pemberian ekstrak daun kacapiring dapat menurunkan persentase nekrosis sel Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kacapiring (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) yang diperoleh dari daerah kota Madiun, Jawa Timur kemudian di ekstrak.

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun kacapiring (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) yang diperoleh dari daerah kota Madiun, Jawa Timur yang dalam keadaan masih segar, bersih dan berwarna hijau.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah aktivitas ekstrak daun kacapiring terhadap penurunan kadar gula darah, persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pankreas tikus yang diinduksi aloksan.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak daun kacapiring dalam berbagai variasi dosis.

Variabel tergantung adalah dimana titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan pada penelitian ini. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah parameter yang diamati dengan pemeriksaan kadar gula darah puasa dan kondisi organ pankreas setelah perlakuan dengan pemberian ekstrak daun kacapiring.

Variabel terkendali pada penelitian ini adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulangi lagi oleh peneliti lain secara tepat. Variabel kendali pada penelitian ini adalah kondisi fisik dari hewan uji meliputi berat badan, lingkungan kandang, jenis kelamin, umur, kondisi laboratorium, dan alat yang digunakan serta kondisi peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun kacapiring yang masih segar yang diambil secara acak dan diperoleh dari Madiun, Jawa timur.

Kedua, serbuk daun kacapiring yang sudah dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C lalu diblender menjadi serbuk halus dan dapat melalui pengayakan no. 40.

Ketiga, ekstrak daun kacapiring adalah hasil dari refluks daun kacapiring dengan menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C agar diperoleh ekstrak kental.

Keempat, hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan, galur wistar, usia 2-3 bulan, berat badan 150-200 gram yang diinduksi aloksan sehingga mengalami diabetes.

Kelima, kenaikan kadar glukosa darah tikus adalah selisih kadar glukosa darah setelah pemberian aloksan pada hari ke-6 terhadap kadar glukosa darah sebelum perlakuan (T_0).

Keenam, penurunan kadar glukosa darah tikus adalah selisih kadar glukosa darah pada T_1 vs T_2 dan T_1 vs T_3

Ketujuh, presentase nekrosis adalah persentase jumlah sel-sel endokrin pulau Langerhans pankreas yang mengalami nekrosis terhadap jumlah sel normal.

C. Alat, Bahan dan Hewan Uji

1. Alat

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini antara lain meliputi : Spektrofotometri, pisau, mesin penggiling, sonde lambung, spluit injeksi, cawan porselin, corong pisah, *vacum rotatory evaporator*, ayakan no.40, neraca analitik,

labu destilasi, seperangkat alat refluks, tabung reaksi, lampu pembakar, kain flannel, kandang tikus, Timbangan, jarum oral, pipa kapiler dan tabung reaksi, alat bedah (scapel, pinset, pisau, gunting, jarum, dan meja lilin), mikrotom putar, sentrifugator, *object glass* dan *deck glass*, Mikroskop cahaya Olimphus CH₂O.

2. Bahan

2.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kacapiring (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) yang diperoleh dari daerah kota Madiun, Jawa Timur.

2.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah aloksan, glibenklamid, CMC-Na, etanol 96%, NaCl 0.9% dan aquadest. Bahan untuk pengamatan histopatologi adalah formalin PA, larutan warna *Haematoxylin Eosin*, formaldehid, xylen dan alkohol, FeCl₃, serbuk Mg, H₂SO₄ pekat, HCl, CH₃COOH.

3. Hewan percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galus Wistar jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 150-220 gr sebanyak 30 ekor.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan bahan atau sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah herba daun kacapiring (*Gardenia jasminoides* J. Ellis) yang diperoleh dari daerah Madiun, Jawa Timur.

2. Determinasi tanaman kacapiring

Menetapkan kebenaran sampel yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman daun kacapiring terhadap pustaka yang dibuktikan dengan identifikasi yang dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi, Universitas Sebelas Maret.

3. Pengumpulan dan pengeringan daun kacapiring

Daun kacapiring yang akan dikeringkan dicuci bersih dengan air mengalir atau bak bertingkat dan ditiriskan, hal ini bertujuan untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada daun kacapiring. Setelah itu, dipotong-potong kemudian

dikeringkan dengan cara di oven pada suhu 55° C sampai kering dengan tujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh mikroorganisme yaitu bakteri.

Pembuatan serbuk daun kacapiring dilakukan dengan cara dihaluskan dengan mesin penggiling menjadi serbuk dan diayak dengan ayakan no.40, kemudian dilakukan penetapan kadar air dari serbuk daun kacapiring. Tujuan pembuatan serbuk ini agar luas permukaan partikel bahan yang kontak dengan larutan penyaring dapat diperluas sehingga penyarian lebih efektif.

4. Penetapan kadar air daun kacapiring

Penetapan kadar air daun kacapiring dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun kacapiring sebanyak 20 gr, dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xylen sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, dipanaskan dengan api kecil, setelah mendidih apinya dibesarkan. Pemanasan dihentikan bila pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes dan diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell* dengan melihat volume skala alat tersebut selanjutnya dihitung kadar air dalam satuan persen (Sudarmadji *et al.* 2010).

5. Pembuatan ekstrak daun kacapiring

Pembuatan ekstrak etanol daun kacapiring dilakukan dengan metode refluks. Ditimbang sebanyak 20 g serbuk simplisia yang akan diekstraksi secara refluks kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat ukuran 500 ml dan ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 200 ml, kemudian labu alas bulat dipasang kuat pada statif dan *waterbath* atau *heating mantel*, lalu kondesor dipasang pada labu alas bulat yang dikuatkan dengan klem dan statif. Aliran air dan pemanas (*water bath*) dijalankan sesuai dengan suhu pelarut yang digunakan. Setelah 4 jam dilakukan penyarian. Filtratnya ditampung pada wadah penampung dan ampasnya ditambahkan lagi pelarut dan dikerjakan seperti semula, ekstraksi dilakukan selama 3 jam. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu kurang dari 50 °C sampai diperoleh ekstrak kental, kemudian dilakukan pengujian selanjutnya (Ditjen POM 1986).

6. Penetapan bobot jenis dengan piknometer

Bobot jenis ekstrak ditentukan terhadap hasil pengenceran ekstrak 1% dalam pelarut etanol dengan alat piknometer. Digunakan piknometer bersih, kering dan telah dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer dan bobot air yang baru dididihkan pada suhu 25°C. Ekstrak cair dimasukkan ke dalam piknometer. Diatur suhu piknometer yang telah diisi hingga suhu 25°C, kelebihan ekstrak cair dibuang dan ditimbang. Kurangkan bobot piknometer kosong dari bobot piknometer yang telah diisi. Bobot jenis ekstrak cair adalah hasil yang diperoleh dengan membagi bobot ekstrak dengan bobot air dalam piknometer pada suhu 25°C.

$$\text{Bobot Jenis} = \frac{\text{Bobot pikno sampel} - \text{bobot pikno kosong}}{\text{bobot pikno air} - \text{bobot pikno kosong}}$$

7. Penetapan susut pengeringan

Digunakan alat *moisture balance* yaitu dimasukan 2 gr serbuk dan ekstrak dalam piring berlapis aluminium foil yang telah ditara terlebih dahulu kemudian diukur kadar susut pengeringannya pada suhu 105°C hingga alat sendirinya berbunyi dan muncul angka % MC pada *display*, maka akan didapat persen susut pengeringan (Agoes 2012) (Utami *et al.* 2016).

8. Identifikasi kandungan senyawa

8.1 Uji flavonoid. Sampel serbuk dan ekstrak daun kacapiring dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 0,1 gr kemudian ditambahkan 10 ml aquadest dipanaskan sampai mendidih selama 5 menit. Setelah itu, disaring dan filtratnya digunakan sebagai larutan uji. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan serbuk Mg, 1 ml HCl pekat dan 1 ml amilalkohol kemudian dikocok dengan kuat. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amilalkohol (Nugrahani 2016).

8.2 Uji triterpenoid dan steroid . Sebanyak 0,1 gr sampel serbuk dan ekstrak dilarutkan dengan metanol kemudian diuapkan diatas waterbath. Filtrat digerus kemudian dilarutkan dengan 2 ml kloroform dalam tabung reaksi, lalu ditambah dengan asam asetat anhidrat sebanyak 10 tetes, selanjutnya larutan ditetesi dengan H₂SO₄ pekat 3 tetes melalui dinding tabung reaksi. Jika hasil yang

diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelaut menunjukkan adanya triterpene, sedangkan munculnya warna hijau menunjukkan adanya steroid (Nugrahani 2016).

8.3 Uji saponin. Sebanyak 0,1 gr sampel serbuk dan ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml air panas dan dididihkan selama 5 menit. Setelah itu, disaring dan filtratnya digunakan sebagai larutan uji. Filtrat dimasukkan kedalam tabung reaksi tertutup kemudian dikocok selama 10 detik dan dibiarkan selama 10 menit, ditambahkan 1 ml HCl 2M. Adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil (Nugrahani 2016).

8.4 Uji tanin. Sebanyak 0,1 gr sampel serbuk dan ekstrak ditambah dengan 10 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring. Sebagian filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan larutan FeCl_3 1%. Hasil positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna hijau kehitaman (Nugrahani 2016).

9. Penentuan dosis

Dosis aloksan yang digunakan sebagai penginduksi hiperglikemi ditentukan berdasarkan berat badan tikus yaitu sebesar 150 mg/kgBB secara intraperitoneal. Dosis yang digunakan ini sesuai dengan jurnal penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa pemberian dosis 150 mg/kgBB memberikan hasil yang bagus digunakan untuk hewan coba dengan kenaikan glukosa darah yang optimal.

Dosis glibenklamid yang digunakan sebagai kontrol positif dihitung dari dosis lazim yaitu 5 mg untuk 70/kgBB manusia. Faktor konversi manusia dengan berat 70 kg ke tikus dengan berat 200 g adalah 0,018. Dosis terapi glibenklamid untuk tikus 200 g adalah 5 mg dikali 0,018 sehingga didapatkan hasil 0,09 mg/200 gBB tikus sama dengan 0,45 mg/kgBB tikus.

Dosis yang diberikan pada tikus mengacu pada dosis jurnal penelitian uji efek antihiperglikemik ekstrak daun kacapiring dengan metode uji toleransi glukosa, yaitu menggunakan variasi dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB. Dan dosis yang efektif pada penelitian ini adalah dosis 250 mg/kgBB. Variasi dosis yang digunakan pada penelitian ini setengah dosis efektif, dosis efektif dan dua kali dosis efektif yaitu didapat dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500

mg/kgBB. Banyaknya ekstrak kental daun kacapiring yang digunakan dihitung berdasarkan berat badan dari masing-masing tikus.

10. Pembuatan sediaan uji

10.1 Larutan aloksan. Larutan aloksan monohidrat dengan konsentrasi 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 g aloksan monohidrat dalam larutan garam fisiologis pada volume 100 ml.

10.2 Larutan suspensi CMC Na 1%. CMC Na 1% digunakan sebagai kontrol negatif. CMC Na 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 gram CMC Na 1% dengan aquadest hangat sedikit demi sedikit, kemudian dimasukkan ke dalam mortir dan digerus sampai halus. Setelah itu, dimasukkan kedalam labu alas bulat dan ditambahkan aquadest hingga 100 ml di homogenkan.

10.3 Glibenklamid. Suspensi glibenklamid dibuat dalam kadar 0.009%, cara pembuatannya mulai dengan menimbang serbuk glibenklamid sebanyak 9 mg, kemudian disuspensikan kedalam larutan CMC Na sampai 100 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 0,09 mg/ml.

10.4 Sediaan uji ekstrak daun kaca piring. Sediaan uji dibuat dengan cara timbang ekstrak 10 g dan CMC Na 0,5 g, kemudian menaburkan CMC Na diatas air panas tunggu hingga serbuk CMC Na mengembang. Setelah mengembang aduk sampai homogen kemudian tambahkan ekstrak yang sudah digerus, aduk sampai homogen. Kemudian ditambahkan sisa air hingga volume 100 ml.

11. Pengelompokan dan perlakuan hewan uji

Pengujian dilakukan dengan mengelompokkan 30 ekor tikus putih jantan galur Wistar menjadi 6 kelompok. Setelah itu dilakukan penimbangan berat badan dan dilakukan pengambilan darah untuk di ukur kadar glukosa darah awal (T_0) pada hari ke 0. Semua hewan uji diinduksi dengan aloksan kecuali pada tikus kelompok 1 sebagai kontrol normal pada penelitian ini. Induksi aloksan dengan dosis 150 mg/kgBB tikus kemudian dilihat kadar gula darahnya pada hari ke-5 (T_1). Jika kadar gula darah lebih dari 200 mg/dL maka tikus dikatakan sudah hiperglikemi. Pemberian sediaan uji secara peroral selama 14 hari setelah dinyatakan hiperglikemi, dengan kelompok perlakuan sebagai berikut :

Kelompok 1 : Kontrol normal (hanya makan dan minum biasa)

Kelompok 2 : Kontrol diabetes, diberikan pembawa CMC Na 0,5%

Kelompok 3 : Kontrol glibenklamid, diberikan glibenklamid dosis 0,45 mg/kgBB

Kelompok 4 : Diberi ekstrak daun kacapiring dengan dosis 125 mg/kgBB

Kelompok 5 : Diberi ekstrak daun kacapiring dengan dosis 250 mg/kgBB

Kelompok 6 : Diberi ekstrak daun kacapiring dengan dosis 500 mg/kgBB

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan kembali pada hari ke-7 (T_2) dan hari ke 14 (T_3). Pada hari ke-15 semua tikus dikorbankan dengan cara didislokasi lehernya, setelah itu diambil organ pankreas untuk dilakukan uji histopatologinya.

12. Penetapan kadar gula darah

Pengukuran kadar gula darah awal dilakukan pada hari ke 0 (T_0). Setelah diinduksi aloksan pada hari ke 4 kadar gula darah diukur kembali (T_1), kemudian hari ke-7 (T_2), dan hari ke-14 (T_3). Sebelum dilakukan pengukuran kadar glukosa darah tikus dipuasakan selama kurang lebih 16 jam. Setelah diproses sesuai dengan prosedur, darah yang diambil disentrifugasi untuk memperoleh serumnya dan diperiksa kadar gula darahnya yang ditentukan dengan menggunakan metode GOD-PAP. Glukosa ditentukan setelah terjadi oksidasi enzimatik dengan adanya enzim glukosa oksidase. Hydrogen peroksidase yang terbentuk akan bereaksi dengan phenol serta *4-aminoantipirine* dengan enzim peroksidase sebagai katalisator menjadi warna quinoneimine yang berwarna merah violet. Proses ini terjadi setelah serum dicampurkan dengan reagen *glucose liquiqolor* dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 20-25°C (Kurniasari 2012). Selanjutnya dilakukan perhitungan menggunakan nilai absorbansi standar (glukosa) dan nilai absorbansi sampel menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm. Persamaan perhitungan kadar glukosa darah dengan metode GOD-PAP sebagai berikut :

$$\text{Glucose (mg/dL)} = \text{Cons.std/Cal (mg/dL)} \times \frac{d \text{ Asp}}{d \text{ Astd}}$$

Keterangan:

Glucose = kadar glukosa (gula) darah mg/dl atau mmol/L

Cons. Standar = 100mg/dL (5,55 mmol/L)

d Asp = absorbansi sampel

d Astd = absorbansi standar

E. Histopatolgi Organ Pankreas

1. Pembuatan preparat histopatologi

Pembuatan preparat histopatologi pada organ pankreas dilakukan dengan tahapan yang meliputi : Fiksasi, dehidrasi, dealkoholisasi, infiltrasi paraffin, penanaman jaringan, pewarnaan HE, rehidrasi, staining, rehidrasi ulang, penjernihan.

1.1 Fiksasi. 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 kedalam tissue cassette dan dicuci dibawah air mengalir selama 30 menit.

1.2 Dehidrasi. Tahap dehidrasi yaitu proses penarikan cairan jaringan. Jaringan pankreas yang telah dimasukan ke dalam tissue cassette direndam dengan menggunakan etanol secara bertingkat berturut-turut etanol 70%, 80%, 90% masing-masing selama 1 jam dan etanol absolut III selama 1 jam.

1.3 Dealkoholisasi. Dilakukan proses penjernihan, dengan menggunakan larutan xylene, untuk menghilangkan alkohol (dealkoholisasi). Dimulai dengan memasukkan jaringan pankreas kedalam xylen I selama 20 menit, kemudian xylene II selama 20 menit dan selanjutnya xylen III selama 20 menit.

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

1.5 Penanaman jaringan. Dilakukan proses selanjutnya yakni tahap penanaman jaringan dalam paraffin, dengan memasukan jaringan ke dalam blok paraffin. Pemotongan dengan mikrotom menghasilkan lapisan dengan ketebalan 5 mikrometer, lapisan jaringan diletakkan di atas kaca objek untuk siap diwarnai.

1.6 Pewarnaan HE (Hematoxylin Eosin). Tahap ini diawali dengan deparafinisasi dengan xylen yang bertujuan untuk menghilangkan paraffin pada

jaringan. Dimulai dengan memasukkan jaringan ke xylen I selama 3menit, dan xylen II selama 3 menit.

1.7 Rehidrasi. Dilakukan proses rehidrasi yang bertujuan mengembalikan cairan kedalam jaringan dengan menggunakan larutan etanol. Tahap pertama yaitu dengan memasukkan jaringan kedalam etanol absolut I dan absolut II masing-masing selama 3 menit, selanjutnya jaringan dimasukkan kedalam etanol 80% dan 70% secara bergantian masing-masing selama 3 menit.

1.8 Staining. Dilakukan tahap staining dimana jaringan dimasukkan kedalam ,larutan pewarna. Jaringan dimasukkan ke dalam pewarna hematoxylin selama 10-20 menit, kemdian diamati apakah jaringannya sudah berwarna ungu. Selanjutnya, jarring an yang sudah diwarnai tadi dicuci dibawah air mengalir selama 10 menit. Setelah itu, pewarnaan dilanjutkan dengan memasukkan sediaan kedalam pewarna eosin selama 10 menit.

1.9 Rehidrasi ulang. Dilakukan rehidrasi kembali, tujuan yang kedua ini untuk menarik air dari jaringan agar awet dan tidak cepat rusak. Jaringan dicelupkan 4 kali secara berurutan ke dalam larutan etanol 70%, 80%, 90% masing-masing selama 30 detik.

1.10 Penjernihan. Dilakukan proses penjernihan dengan memasukkan jaringan kedalam larutan xylen I dan dilakukan mounting, yaitu penutupan sediaan dengan menggunakan gelatin sebagai perekat dan ditutup dengan *deck glass* (Lerebulan 2014).

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 sinar 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 persentase nekrosis dihitung jumlah inti sel dan jumlah sel yang mengalami piknosis. Setelah itu, dilakukan perbandingan antara jumlah

sel yang mengalami piknosis, karioreksis dan kariolisis dalam 100 lapang pandang dengan jumlah total sel pada jaringan pankreas, sehingga dapat ditentukan persentase kerusakan pada jaringan pankreasnya.

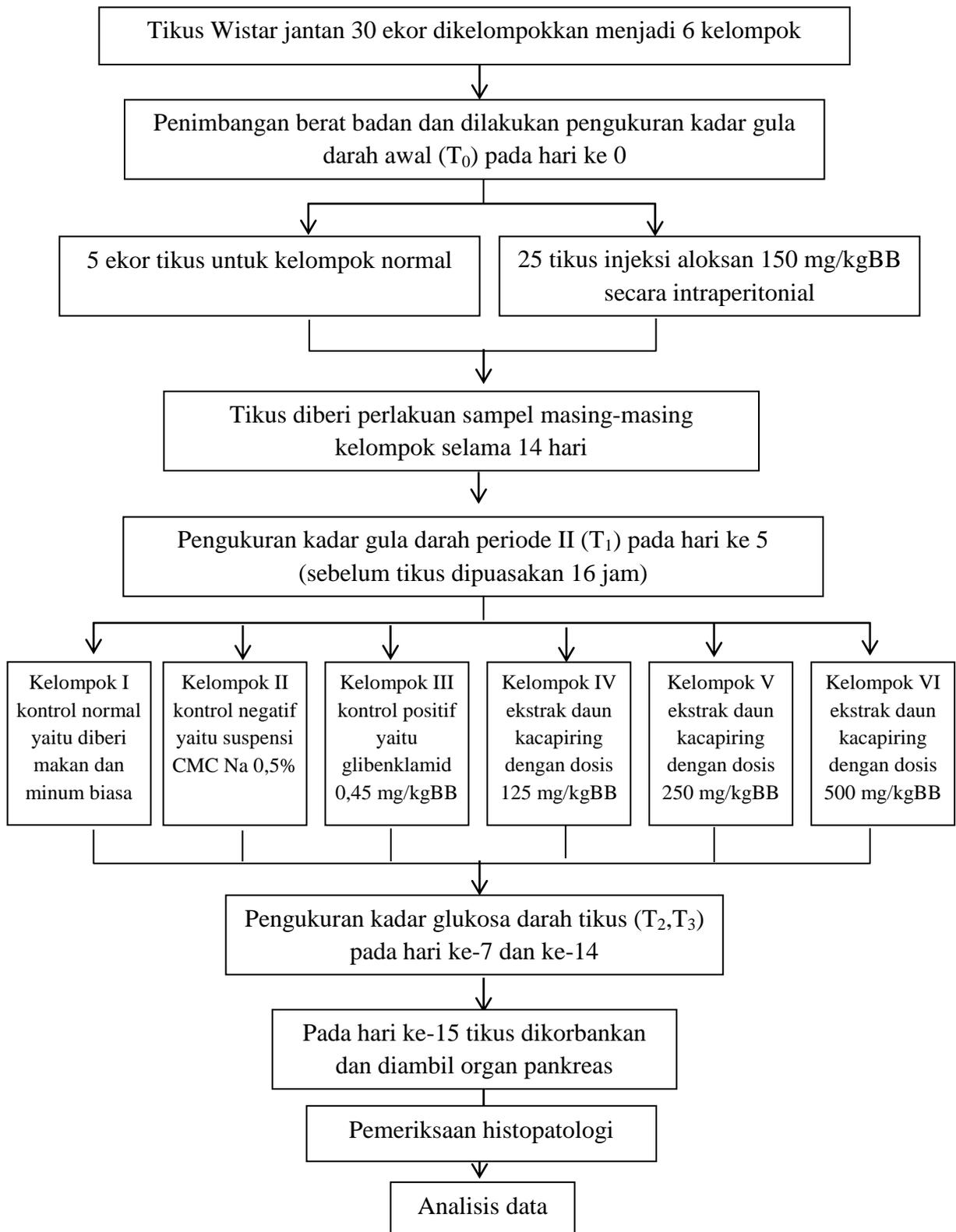
$$\text{Presentase nekrosis} = \frac{\text{total inti peknosis sel pankreas}}{\text{total inti sel pankreas}} \times 100\%$$

Jumlah pulau Langerhans (n) pada tiap preparat dihitung pada tiap lapang pandang. Hasil pengamatan didokumentasikan dengan melakukan pemotretan dengan menggunakan kamera digital.

F. Analisis Data

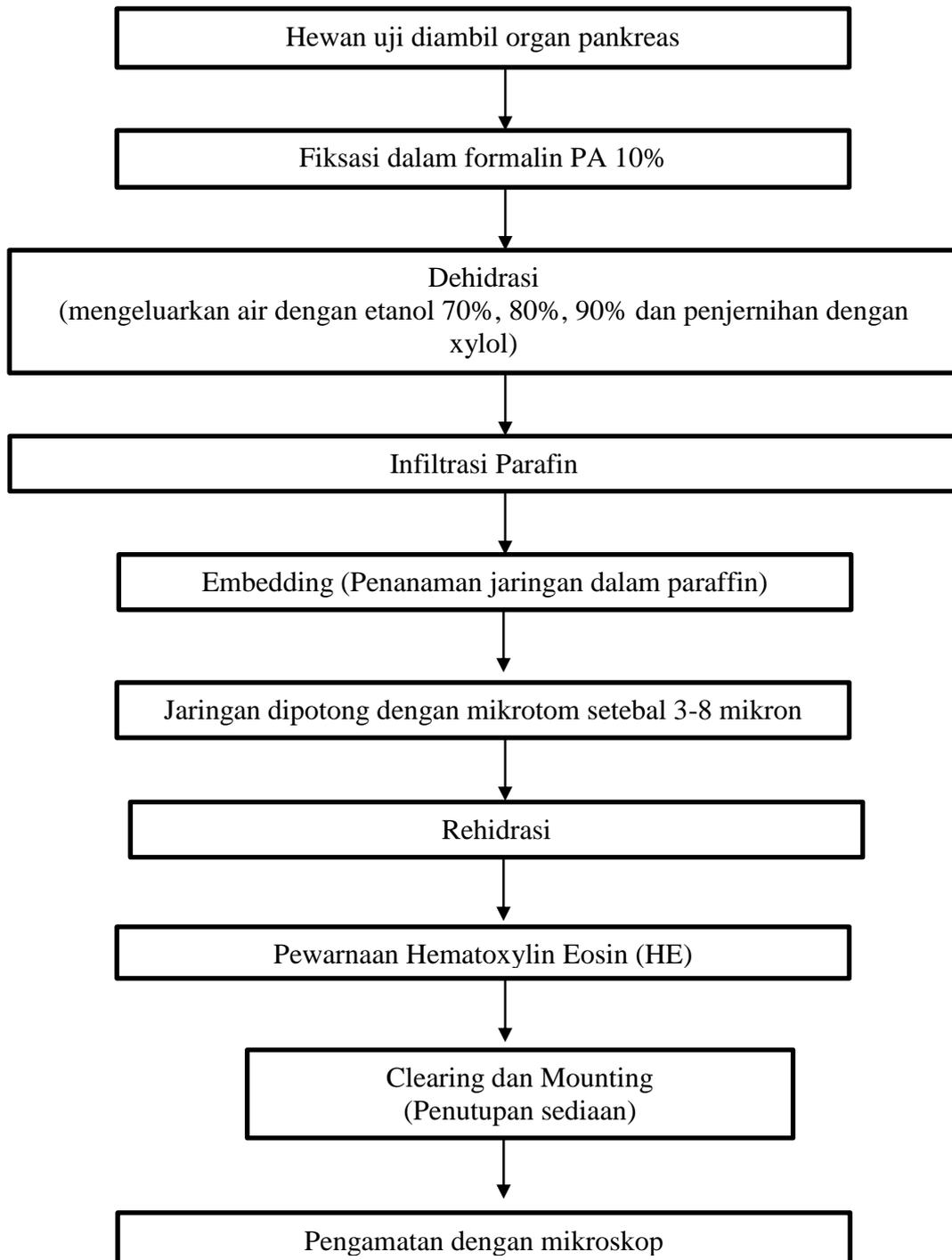
Dalam penelitian ini untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak maka digunakan analisis statistik yaitu dengan menggunakan uji distribusi normal (*One Sample Shapiro-Wilk*) yang bertujuan untuk mengetahui apakah data yang diperoleh terdistribusi normal atau tidak. Apabila data yang ada terdistribusi normal ($p > 0,05$) maka analisis data dapat dilanjutkan dengan menggunakan uji parametrik *One Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan yang nyata antara perlakuan yang diberikan.

G. Rancangan Penelitian



Gambar 3. Skema rancangan penelitian

H. Alur pemeriksaan histopatologi



Gambar 4. Skema Pembuatan Preparat Histopatologi Pankreas

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Tanaman Kacapiring

Determinasi tanaman kacapiring dilakukan di Laboratorium Biologi Program studi Biologi Universitas Sebelas Maret, Surakarta. Determinasi dilakukan dengan tujuan untuk mencocokkan ciri morfologis yang ada pada tanaman yang diteliti dan untuk mengetahui kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian. Berdasarkan hasil determinasi tanaman daun kacapiring yang dilakukan di Laboratorium Program Studi Biologi nomor 225/UN27.9.6.4/Lab/2017 Universitas Sebelas Maret menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar tanaman kacapiring (*Gardenia jasminoides* J. Ellis). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

B. Pembuatan Serbuk Daun Kacapiring

Daun kacapiring yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Madiun, Jawa Timur. Berat daun kacapiring yang diperoleh sebanyak 7,5 kg. Sebelum daun kacapiring dikeringkan menggunakan oven dan kemudian dihaluskan menjadi serbuk, terlebih dahulu semua sampel daun kacapiring segar dibersihkan menggunakan air mengalir agar bebas dari kotoran yang menempel di daun. Daun kacapring yang telah dibersihkan kemudian dioven pada suhu 50°C selama 6 hari, kemudian setelah kering simplisia digiling sampai halus dan diayak menggunakan ayakan nomor 40. Simplisia dibuat menjadi serbuk dengan tujuan untuk memperluas permukaan partikel simplisia yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung secara efektif. Hasil persentase rendemen serbuk daun kaca piring dapat lihat pada tabel 1 di bawah ini dan perhitungannya dapat dilihat pada lampiran 11.

Tabel 1. Persentase rendemen kering terhadap bobot basah daun kacapiring

Simplisia	Berat basah (kg)	Berat kering (kg)	Rendemen (%)
Daun Kacapring	7,5	3,125	41,67

C. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak Daun Kacapiring

Metode penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun kacapiring dilakukan dengan cara destilasi menggunakan alat *Streling Bidwell* dengan cairan pembawa yang digunakan adalah xylen karena xylen memiliki titik didih lebih tinggi daripada air dan tidak bercampur dengan air sehingga memudahkan dalam penetapan kadar air. Pada umumnya simplisia yang sudah kering memiliki kadar air <10 % (Anomin 2013), dimana dengan kadar air tersebut kerusakan simplisia dapat ditekan baik dalam pengolahan maupun waktu penyimpanan dan ekstrak memiliki kadar air tidak boleh lebih dari 30% (Voigt 1994). Hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun kacapiring dapat dilihat pada tabel 2 dibawah ini.

Tabel 2. Persentase hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun kacapiring

Bahan	Kadar air (%)
Serbuk daun kacapiring	4,93±0,23
Ekstrak daun kacapiring	7,17±0,29

Penetapan kadar air daun kacapiring dilakukan 3 kali replikasi. Berdasarkan hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun kacapiring diperoleh hasil kadar air serbuk ialah 4,5% dan hasil kadar air ekstrak ialah 8%, maka dapat dikatakan bahwa serbuk dan ekstrak daun kacapiring yang digunakan pada penelitian ini sudah sesuai dengan kadar air yang dipersyaratkan. Perhitungan penetapan kadar air dapat dilihat pada lampiran 13 dan 14.

D. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk dan Ekstrak Daun Kacapiring

Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun kacapiring menggunakan alat *Moisture Balance*. Prinsip kerja alat *Moisture Balance* yaitu dilakukan pemanasan terhadap serbuk dan ekstrak, sehingga terjadi penguapan hingga bobot konstan. Data hasil penentapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun kacapiring dapat dilihat pada tabel 3 dan 4 perhitungannya pada lampiran 15 dan 16.

Tabel 3. Persentase hasil penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun kacapiring

Bahan	Susut pengeringan (%)
Serbuk daun kacapiring	5,73±0,29
Ekstrak daun kacapiring	8,50±0,00

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kacapiring sebesar 5,7%. Persyaratan susut pengeringan tidak boleh lebih dari 10% (Anonim 1995) dengan tujuan untuk mengetahui ketahanan suatu bahan dalam penyimpanan sehingga bahan dapat terhindar dari pengaruh aktiitas mikroba.

Hasil susut pengeringan ekstrak daun kacapiring diperoleh 8,5%. Persyaratan susut pengeringan ekstrak etanol tidak boleh lebih dari 30% Voigt 1994). Penetapan susut pengeringan ini tidak hanya menggambarkan air yang hilang, tetapi juga senyawa menguap lainnya, seperti minyak essensial (minyak atisiri). Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun kacapiring kurang dari 30% sehingga hasil telah memenuhi syarat. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun kacapiring kurang dari 30% sehingga hasil telah memenuhi syarat.

E. Hasil Penetapan Bobot Jenis Ekstrak Daun Kacapiring

Penetapan berat jenis ditentukan dengan menggunakan piknometer. Piknometer yang akan digunakan dikalibrasi terlebih dahulu dengan aquadest pada suhu 25°C. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak yang telah diencerkan dengan etanol 96% sehingga konsentrasi 1%. Ekstrak dengan konsentrasi 1% memiliki berat jenis sebesar 0,921±0,002 g/ml. Penetapan berat jenis ini bertujuan untuk memberikan batasan tentang massa persatuan volume (Rivai 2013). Selain itu, penetapan berat jenis ini juga terkait bagaimana mengetahui kemurnian suatu zat yang ditentukan berat jenisnya (Depkes RI 2000). Hasil perhitungan berat jenis ekstrak daun kacapiring dapat dilihat pada lampiran 17.

F. Pembuatan Ekstrak Daun Kacapiring

Metode pembuatan ekstrak pada penelitian ini menggunakan cara refluks dengan pelarut etanol 96%. Prinsip dari metode ini adalah pelarut volatil yang digunakan akan menguap pada suhu tinggi, namun akan didinginkan dengan

kondesor sehingga pelarut yang tadinya dalam bentuk uap akan mengembun pada kondensor dan turun lagi kedalam wadah reaksi sehingga pelarut akan tetap ada selama reaksi berlangsung. Ekstrak daun kacapiring dibuat dengan cara serbuk daun kacapiring ditimbang sebanyak 20 g kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat ukuran 500 ml dan ditambahkan pelarut sebanyak 200 ml. Ekstrak dengan metode refluks dilakukan sebanyak 3 kali selama 3 jam. Pemanasan dilakukan sampai waktu refluks tercapai, cairan yang diperoleh disaring dengan menggunakan kain flannel. Filtrat yang diperoleh dikurangi dengan jumlah pelarutnya dengan cara diuapkan menggunakan *rotavapor* pada suhu 40-50°C. Hasil rendemen ekstrak daun kacapiring dapat dilihat pada tabel 4 dan perhitungannya dapat dilihat pada lampiran 12.

Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak daun kacapiring

No.	Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
1	500	129,25	25,85%

G. Identifikasi Kandungan Kimia Serbuk dan Ekstrak Duan Kacapiring

Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun kacapiring dilakukan dengan menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan kimia yang terdapat didalam daun kacapiring seperti flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun kacapiring dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 5. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk daun kacapiring

Kandungan kimia	Hasil penelitian	Interpretasi Hasil		Pustaka
		Serbuk	Ekstrak	
Flavonoid	Warna jingga pada lapisan amil alkohol	+	+	Warna jingga pada lapisan amil alkohol
Tanin	Warna hijau kehitaman	+	+	Warna hijau kehitaman
Saponin	Buih stabil	+	+	Buih stabil
Steroid dan triterpenoid	Warna hijau	+	+	Warna hijau

Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif terhadap serbuk dan ekstrak daun kacapiring pada tabel 4, dapat diketahui bahwa daun kacapiring positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, steroid dan triterpenoid. Hal ini

dapat diketahui dengan membandingkan hasil uji kualitatif yang dilakukan dengan pustaka. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun kacapiring secara kualitatif dapat dilihat pada lampiran 9 dan 10.

H. Hasil pengukuran berat badan tikus

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus 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 10 jam. Tujuan dipuasakan terlebih dahulu ialah untuk menghindari pengaruh makanan yang dapat mempengaruhi kadar gula 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 kali pengambilan darah yaitu hari ke-4 setelah induksi aloksan, hari ke-7 dan hari ke-14 setelah pemberian perlakuan untuk melihat perubahan yang terjadi pada berat badan tikus pada masing-masing perlakuan sebelum dan sesudah diberikan perlakuan (lampiran 19).

Tabel 6. Data rata-rata hasil penimbangan berat badan tikus saat perlakuan

Kelompok	Rata-rata berat badan tikus			
	Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-14
Normal	172±11,51	177,6±11,41	184,6±11,28	192,8±11,58
Kontrol diabetes	178,2±9,18	176±9,46	172,4±10,36	170,4±10,74
Glibenklamid 0,45 mg/kgBB	166,4±4,67	162,8±4,09	168,8±4,15	176,8±4,32
Kacapiring 125 mg/KgBB	174,4±10,55	173±10,05	175,4±10,33	178±10,42
Kacapiring 250 mg/KgBB	169,2±6,53	166,8±6,30	172±6,63	180,4±6,95
Kacapiring 500 mg/KgBB	165,4±6,50	163±6,48	167,8±6,69	174,6±6,47

Keterangan :

Kontrol diabetes : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

Berdasarkan rata-rata berat badan hewan uji pada tabel 6 yang digunakan sebagai indikator untuk memastikan tingkat penyerapan glukosa, menunjukkan bahwa pada kelompok normal terjadi peningkatan berat badan hewan uji. Penyebab

peningkatan berat badan hewan uji pada kelompok normal antara lain: hewan uji dalam keadaan sehat, tercukupinya asupan makanan dan glukosa serta nutrisi lainnya yang diserap normal. Beda pada kelompok kontrol diabetes setelah diinduksi aloksan secara intraperitoneal yang mengalami penurunan berat badan hewan uji. Terjadinya penurunan berat pada kelompok ini menunjukkan bahwa induksi aloksan dengan dosis 150 mg/kgBB tikus yang dilakukan telah bereaksi dan membuat hewan coba mengalami keadaan diabetes. Menurut (Pasaribu *et al.* 2015) keadaan diabetes akan mengakibatkan tikus normal menjadi tikus penderita diabetes dengan ditandai salah satu ciri diagnosa klinis dengan terjadinya penurunan berat badan yang disebabkan oleh defisiensi hormon insulin sehingga transport glukosa ke dalam sel jaringan perifer berkurang. Hal tersebut mengakibatkan sel akan melakukan metabolisme dengan menggunakan cadangan glikogen melalui proses glikolisis, meningkatkan katabolisme protein dimana asam amino yang dihasilkan digunakan sebagai substrat untuk glukoneogenesis dalam hati.

Pada kelompok pembanding terjadi penurunan berat badan setelah dilakukan induksi aloksan namun terjadi peningkatan berat badan setelah diberi perlakuan. Peningkatan berat badan ini dapat dikaitkan sebagai akibat dari pemberian glibenklamid yang menyebabkan jumlah insulin yang dilepaskan dari sel β pankreas meningkat. Peningkatan pelepasan insulin ini akan meningkatkan transport glukosa ke dalam sel sampai ke jaringan perifer dan mengarah pada pemanfaatan nutrisi penting lain, penyerapan asam amino dan komponen makromolekul lainnya (Kumar *et al.* 2013). Pengukuran berat badan hewan uji pada kelompok perlakuan ekstrak dengan tiga variasi dosis juga menunjukkan terjadinya peningkatan berat badan setelah tikus yang telah mengalami diabetes diberikan perlakuan dengan ekstrak daun kacapiring. Peningkatan berat badan ini dikaitkan dengan kandungan kimia daun kacapiring yang berperan sebagai antioksidan alami yang berfungsi untuk melindungi sel β pankreas dari radikal bebas.

I. Hasil Pengukuran Kadar Gula Darah Tikus

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Pada penelitian ini pengujian aktivitas antihiperglikemi dilakukan dengan membuat tikus hiperglikemik dengan zat diabetogenik aloksan. Aloksan diberikan secara intraperitoneal dengan volume pemberian sebanyak 3 ml/200 gram BB tikus dengan dosis aloksan yang digunakan sebesar 150 mg/kgBB tikus. Hewan uji dapat dikatakan diabetes apabila setelah 4 hari pemberian aloksan terjadi hiperglikemia (kadar gula darah sewaktu >200 mg/dl) (Putra *et al.* 2015). Hasil penelitian yang dilakukan setelah 4 hari tikus yang diinduksi aloksan mengalami kenaikan kadar gula darah sama seperti yang disebutkan dalam jurnal.

Aloksan merupakan senyawa diabetogenik yang bersifat toksik selektif terhadap sel β pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT 2 (Yuriska 2009). Mekanisme aloksan menginduksi diabetes terutama dimediasi oleh pembentukan oksigen reaktif yang diawali dengan proses reduksi aloksan dalam sel β Langerhans yang menghasilkan asam dialurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan yang membentuk radikal superoksida. Radikal superoksida dapat membebaskan ion ferri dari feritin dan mereduksinya menjadi ion ferro. Radikal superoksida mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida, berjalan spontan dan kemungkinan dikatalisis oleh superoksida dismutase. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas. Adanya ion ferro dan hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksi yang sangat reaktif melalui reaksi fenton. Aksi radikal bebas dengan rangsangan tinggi meningkatkan konsentrasi kalsium sitosol yang menyebabkan destruksi cepat sel β pankreas (Nugroho 2006).

Pengukuran kadar gula darah tikus dilakukan dengan menggunakan metode GOD-PAP. Sampel darah diambil dari masing-masing kelompok. Setelah diproses sesuai prosedur, kemudian diperoleh serum dan diperiksa kadar gula darahnya yang ditentukan dengan cara mengukur absorbansi standar dan sampel dengan alat spektrofotometri Uv-Vis. Glukosa ditentukan setelah terjadi oksidasi enzimatik dengan adanya glukosa oksidase (Pasaribu 2015).

Pengukuran kadar gula darah dilakukan sebelum dan setelah diberikan perlakuan (T_0 - T_3). Pada awal penelitian dilakukan pengukuran kadar gula darah tikus yaitu pada hari ke-0. Data T_0 digunakan sebagai pembanding untuk melihat berhasil atau tidaknya induksi aloksan pada kelompok tikus diabetes yaitu kelompok kontrol diabetes, glibenklamid, daun kacapiring dosis 125 mg/kgBB, daun kacapiring dosis 250 mg/kgBB dan daun kacapiring dosis 500 mg/kgBB. Setelah diinduksi aloksan, 4 hari kemudian dilakukan pengukuran kadar gula darah tikus kembali untuk memastikan tikus yang diinduksi telah mengalami diabetes (T_1) dan pengambilan darah selanjutnya dilakukan pada hari ke-7 (T_2) dan hari ke-14 (T_3) setelah perlakuan. Aktivitas antihiperglikemi ekstrak daun kacapiring dilihat dari penurunan kadar gula darah tikus sebelum dan setelah pemberian sediaan uji. Data pengukuran gula darah pada 6 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan galur Wistar dapat dilihat pada tabel 6.

Berdasarkan data rata-rata pengukuran kadar gula darah tikus pada tabel 7 menunjukkan hasil kelompok normal memiliki kadar gula darah yang normal di mana peningkatan kadar gula darah yang terjadi tidak mencapai lebih dari 200 mg/dl karena hewan uji tidak diberi perlakuan dan hanya diberikan makan minum biasa tanpa diinduksi aloksan. Sedangkan kelompok kontrol diabetes yang hanya diberi perlakuan dengan CMC Na 0,5% tikus mengalami peningkatan kadar gula darah selama proses penelitian berlangsung. Hal ini menunjukkan bahwa induksi aloksan yang diberikan pada tikus telah berhasil. Aloksan bereaksi dengan merusak substansi esensial di dalam sel beta pankreas sehingga menyebabkan berkurangnya granula-granula pembawa insulin di dalam sel beta pankreas (Suharmiati 2003; Watkins 2008) dan kadar gula darah tikus juga tetap tinggi setelah diinduksi dengan aloksan yaitu diatas 200 mg/dl pada waktu T_1 sampai T_3 yang mengindikasikan bahwa pemberian CMC Na 0,5% tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar gula darah tikus diabetes.

Pada kelompok pembanding yang diberikan glibenklamid menunjukkan terjadinya penurunan kadar gula darah tikus pada hari ke-7. Penurunan rata-rata kadar gula darah setelah pemberian perlakuan menjadi $176,83 \pm 3,39$ mg/dl dan

pada hari ke-14 $114,23 \pm 2,29$ mg/dl. Penurunan rata-rata kadar gula darah ini dikarenakan glibenklamid sudah bekerja menstimulasi sekresi insulin pada setiap pemasukan glukosa selama makan. Glibenklamid merupakan obat antihiperqlikemi golongan sulfonilurea (Sukandar *et al.* 2009). Obat golongan sulfonilurea bekerja memblok kanal K-ATP di sel beta pankreas dan menurunkan penyerapan kalium oleh sel beta pankreas. Inilah menyebabkan terjadinya depolarisasi pada sel, kalsium akan masuk ke dalam sel yang menyebabkan terjadinya sekresi insulin. Insulin yang dihasilkan akan menurunkan kadar gula darah dalam plasma (Khardori 2005).

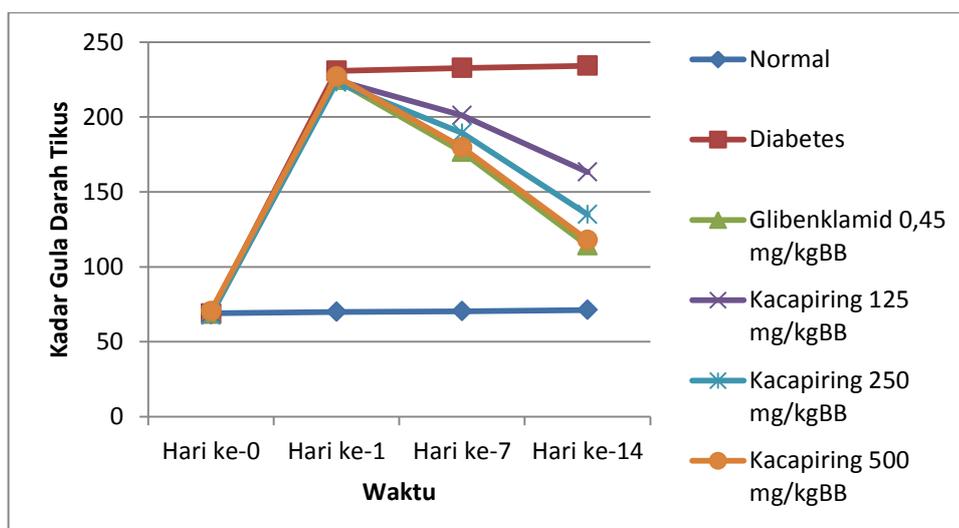
Tabel 7. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada berbagai kelompok perlakuan

Kelompok	Rata-rata kadar gula darah tikus			
	Hari ke-0	Hari ke-1	Hari ke-7	Hari ke-14
Normal	69,11 \pm 3,72	69,92 \pm 3,87 ^{bc}	70,41 \pm 3,96 ^{bc}	71,25 \pm 4,35 ^{bc}
Kontrol diabetes	68,77 \pm 2,16	230,79 \pm 2,94 ^{ac}	232,68 \pm 2,83 ^{ac}	234,16 \pm 2,78 ^{ac}
Glibenklamid 0,45 mg/kgBB	69,11 \pm 2,88	224,65 \pm 4,34 ^{ab}	176,83 \pm 3,39 ^{ab}	114,23 \pm 2,29 ^{ab}
Daun kacapiring 125mg/kgBB	69,11 \pm 2,59	224,49 \pm 3,57 ^a	201,06 \pm 3,26 ^{abc}	163,27 \pm 2,16 ^{abc}
Daun kacapiring 250mg/kgBB	67,74 \pm 2,88	223,15 \pm 3,78 ^a	189,35 \pm 4,13 ^{abc}	134,95 \pm 2,68 ^{abc}
Daun kacapiring 500mg/kgBB	70,48 \pm 2,34	227,09 \pm 1,90 ^a	179,76 \pm 2,81 ^{ab}	117,94 \pm 0,96 ^{ab}

Keterangan :

- a : P<0,05 terhadap kontrol normal (ada perbedaan sig. terhadap kontrol normal)
 b : P<0,05 terhadap kontrol diabetes (ada perbedaan sig. terhadap kontrol diabetes)
 c : P<0,05 terhadap kontrol glibenklamid (ada perbedaan sig. terhadap kontrol glibenklamid)

Kontrol Diabetes : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)



Gambar 5. Grafik pengaruh pemberian ekstrak daun kacapiring terhadap kadar gula darah tikus yang diinduksi aloksan selama 14 hari

Pada kelompok perlakuan ekstrak daun kacapiring dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB juga menunjukkan terjadinya penurunan kadar gula darah pada tikus. Penurunan kadar gula darah tikus pada semua kelompok perlakuan ekstrak menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar gula darah tikus.

Hasil analisa uji *post hos test* terhadap kadar gula darah menunjukkan hasil perlakuan pada hari ke-7, tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok pembanding dan kelompok ekstrak daun kacapiring dosis 125 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB, sedangkan antara kelompok pembanding dan kelompok ekstrak daun kacapiring dosis 500 mg/kgBB terdapat perbedaan yang signifikan di mana rata-rata penurunan kadar gula darah pada dosis ekstrak 500 mg/kgBB (179,76 mg/dl) selisih sedikit jika dibandingkan dengan kelompok pembanding (176,83 mg/dl). Pada hari ke-14 (T3) kelompok dosis ekstrak daun kacapiring dosis 500 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($P>0,05$) dengan kelompok kontrol pembanding yang diberi glibenklamid 0,09 mg/kgBB sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kacapiring dosis 500 mg/kgBB mempunyai efek menurunkan kadar gula darah lebih baik serta memiliki efektivitas sebagai antihiperglikemi yang sebanding dengan kelompok kontrol glibenklamid dibandingkan dengan kelompok dosis ekstrak daun kacapiring dosis 125 mg/kgBB dan dosis 250 mg/kgBB.

Hasil analisa statistik terhadap rata-rata penurunan kadar gula darah tikus diabetes menunjukkan terjadi perubahan nilai signifikan antara kelompok ekstrak daun kacapiring dosis 500 mg/kgBB dan kelompok pembanding. Dimana pada hari ke-7 dan ke-14 terdapat perbedaan yang tidak signifikan antara kelompok pembanding dengan kelompok ekstrak daun kacapiring dosis 500 mg/kgBB serta terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak daun kacapiring dosis 125 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB. Keadaan ini menunjukkan bahwa ekstrak daun kacapiring dosis 500 mg/kgBB mampu menurunkan kadar gula darah dan memiliki daya kerja sebanding dengan glibenklamid yang merupakan obat pembanding pada kelompok kontrol positif. Perbedaan cara kerja obat sintetik dan obat tradisional sendiri yaitu obat sintetik yang bekerja dengan cara meredam

rasa sakit dan gejalanya, sedangkan obat tradisional bekerja dengan berfokus pada sumber penyebabnya yaitu dengan membangun dan memperbaiki sel-sel jaringan dan organ-organ yang rusak. Oleh karena itu hal tersebut maka dibutuhkan waktu yang relatif lebih lama untuk merasakan efek obat tradisional dibandingkan jika menggunakan obat kimia (Karto 2008).

Tabel 8. Persentase penurunan kadar gula darah tikus T₁ ke T₂ dan T₁ ke T₃

Kelompok	Persentase penurunan ΔT_1 (%)	Persentase penurunan ΔT_2 (%)
Kontrol diabetes	$-0,82 \pm 0,33^b$	$-1,47 \pm 0,75^b$
Glibenklamid 0,45 mg/kgBB	$21,28 \pm 0,75^a$	$49,14 \pm 0,83^a$
Daun kacapiring 125mg/KgBB	$10,43 \pm 1,50^{ab}$	$27,25 \pm 1,56^{ab}$
Daun kacapiring 250mg/KgBB	$15,14 \pm 1,44^{ab}$	$39,52 \pm 0,90^{ab}$
Daun kacapiring 500mg/KgBB	$20,84 \pm 0,97^a$	$48,06 \pm 0,61^a$

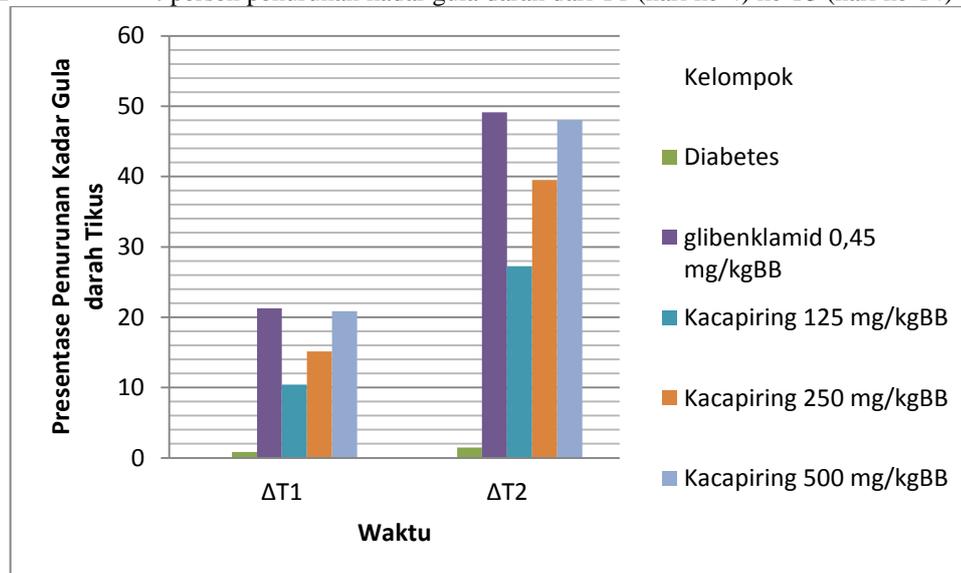
Keterangan :

- a : P<0,05 terhadap kontrol diabetes (ada perbedaan sig. terhadap kontrol diabetes)
 b : P<0,05 terhadap kontrol glibenklamid ada perbedaan sig. terhadap kontrol glibenklamid)

Kontrol Diabetes : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

ΔT_1 : persen penurunan kadar gula darah dari T₁ (hari ke-4) ke T₂ (hari ke-7)

ΔT_2 : persen penurunan kadar gula darah dari T₁ (hari ke-4) ke T₃ (hari ke-14)



Gambar 6. Persentase penurunan kadar gula darah tikus T₁ ke T₂ (ΔT_1) dan T₁ ke T₃ (ΔT_2)

Berdasarkan persentase penurunan kadar gula darah tikus pada ΔT_1 dan ΔT_2 (Tabel 7 dan Gambar 6) dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak daun kacapiring dengan tiga variasi dosis dan kelompok kontrol glibenklamid terbukti mampu menurunkan kadar gula darah tikus. Pada ΔT_1 kelompok uji ekstrak daun kacapiring dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 250 mg/kgBB secara berturut-turut mampu menurunkan kadar gula darah sebesar 10,43%, 15,14% dan

20,84%, sedangkan untuk kelompok pembanding sebesar 21,28%. Pada ΔT_2 persentase penurunan kadar gula darah kelompok uji ekstrak daun kacapiring 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB secara berturut-turut mampu menurunkan kadar gula darah sebesar 27,25%, 39,52% dan 48,06% sedangkan kelompok glibenklamid sebesar 49,14%. Hasil analisis statistik uji ANOVA (lampiran) pada ΔT_2 menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan ($P > 0,05$) pada semua kelompok perlakuan. Namun pada pengujian *post hoc test* yang dilakukan untuk melihat perbedaan yang signifikan antar setiap kelompok kecuali pada kelompok glibenklamid 0,45 mg/kgBB dan kelompok ekstrak daun kacapiring dosis 500 mg/kgBB dengan $\text{sig.} = 0,690$ ($P > 0,05$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa dosis ekstrak daun kacapiring 500 mg/kgBB memiliki aktivitas antidiabetes yang sebanding dengan glibenklamid sebagai obat antidiabetes sintetik oral.

Berdasarkan data yang diperoleh dari penelitian ini dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis ekstrak daun kacapiring yang diberikan maka semakin besar pula efek penurunan kadar gula darah yang dihasilkan. Hasil ini disebabkan karena semakin tinggi dosis yang diberikan maka akan semakin banyak jumlah zat aktif yang dapat menurunkan kadar gula darah tikus. Penelitian yang telah dilakukan oleh Fatmawati (2003) menunjukkan bahwa daun kacapiring diketahui mengandung antioksidan alami yaitu senyawa flavonoid serta senyawa aktif lain diantaranya ialah steroid, terpenoid, tanin dan saponin yang juga memiliki aktivitas antihiperqlikemi. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas salah satunya dengan cara mencegah terjadinya oksidasi pada sel β pankreas sehingga kerusakan yang terjadi dapat diminimalkan.

Flavonoid mampu meregenerasi sel beta pankreas dan membantu merangsang sekresi insulin (Dheer dan Bhatmachari 2011). Mekanisme lain dari flavonoid yang menunjukkan efek penurunan kadar gula darah yaitu mengurangi penyerapan glukosa dan mengatur aktivitas ekspresi enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat (Bhatmachari 2011). Ada beberapa mekanisme kerja obat antihiperqlikemi oral, yaitu meningkatkan sekresi insulin (golongan sulfonylurea), meningkatkan kepekaan insulin jaringan otot, jaringan lemak dan

hati serta menghambat penguraian polisakarida menjadi monosakarida (Tjay dan Rahadja 2003). Dan disini flavonoid mempunyai mekanisme sama dengan obat antihiperglikemi oral golongan sulfonilurea dalam menurunkan kadar gula darah dengan cara meningkatkan sekresi insulin pada organ pankreas. Tanin sendiri mempunyai fungsi sebagai pengkhalat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan akibatnya dapat menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Velayutham *et al.* 2012).

J. Hasil Uji Histopatologi Pankreas pada Hewan Uji

Salah satu organ yang akan mengalami kerusakan akibat ROS yang disebabkan kondisi hiperglikemi adalah pankreas. Metode pemeriksaan yang digunakan untuk melihat kondisi histopatologi pankreas 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 (Junquera 2007). Pengamatan terhadap gambaran histopatologi pankreas digunakan untuk mengetahui secara lebih jelas mengenai pengaruh perlakuan ekstrak daun kacapiring dan obat glibenklamid terhadap pemulihan fungsi pankreas akibat induksi aloksan.

Pada pewarnaan HE terlihat bahwa pulau Langerhans lebih pucat bila dibandingkan dengan kelenjar disekelilingnya sehingga pulau Langerhans mudah dibedakan. Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi pankreas tikus dapat diketahui bahwa pada tikus normal tidak terjadi nekrosis dan terlihat inti sel sangat padat serta tidak terdapat sel-sel yang mengalami edema pembengkakan sehingga mengindikasikan bahwa pulau Langerhans dalam keadaan normal (tidak terjadi kerusakan). Pada kelompok ini pulau Langerhans mudah ditemukan terlihat adanya keteraturan susunan sel endokrin yang menyebar di pulau Langerhans dengan bentuk sel yang seragam.

Hasil pewarnaan HE pada kontrol diabetes yang telah diinduksi aloksan terlihat perubahan yaitu kerusakan sel yang ditunjukkan dengan adanya susunan sel

yang tidak teratur dan penyusutan bentuk sel menjadi lebih kecil (atrofi) dibandingkan dengan sel normal. Selain itu, dapat dilihat juga bahwa pulau Langerhans pada kelompok kontrol diabetes mengalami nekrosis sel endokrin yang ditunjukkan dengan adanya penyusutan inti sel menjadi lebih kecil (piknosis), kerusakan inti menjadi bentuk fragmen (karioreksis) dan hilangnya inti sel (kariolisis) (Lestari 2011). Adanya nekrosis atau kematian sel ini menyebabkan sel-sel endokrin pulau Langerhans pada kelompok kontrol diabetes menjadi lebih sedikit jumlahnya dan menyebabkan kekosongan dalam pulau Langerhans.

Kerusakan pada jaringan pankreas tersebut disebabkan oleh efek toksik langsung terhadap sel beta pankreas oleh zat diabetogenik aloksan. Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel β pankreas yang memproduksi insulin, dengan cara terakumulasi aloksan melalui transporter glukosa yaitu GLUT2. GLUT2 yang ada didalam sel β pankreas akan mengenali aloksan sebagai glukosa dan aloksan akan dibawa menuju sitosol. Di dalam sitosol, aloksan akan mengalami reaksi redoks untuk membentuk radikal superoksida. Radikal ini akan mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida dan pada tahap akhir mengalami reaksi katalisasi besi membentuk radikal hidroksil. Radikal inilah yang menyebabkan kerusakan pada sel β pankreas (Esmawati 2015).

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

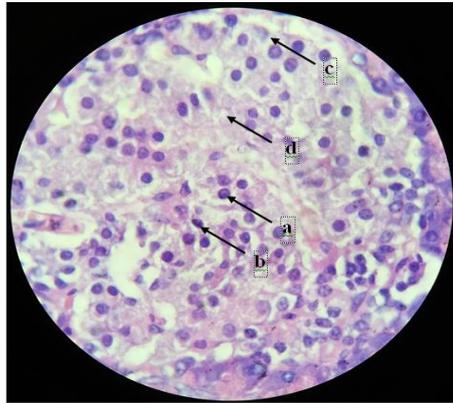
Kelompok	Rata-rata Persentase Sel Normal	Rata-rata Persentase Nekrosis sel
Kontrol normal	91,00 \pm 2,00	8,00 \pm 1,00 ^{bc}
Kontrol diabetes	58,33 \pm 1,53	41,67 \pm 1,53 ^c
Kontrol glibenklamid 0,45 mg/kgBB	86,33 \pm 1,53	13,00 \pm 1,00 ^b
Ekstrak daun kacapiring dosis 125 mg/kgBB	73,33 \pm 1,53	28,00 \pm 1,00 ^{bc}
Ekstrak daun kacapiring dosis 250 mg/kgBB	77,67 \pm 2,08	22,33 \pm 2,08 ^{bc}
Ekstrak daun kacapiring dosis 500 mg/kgBB	83,67 \pm 1,53	16,33 \pm 1,53 ^b

Keterangan :

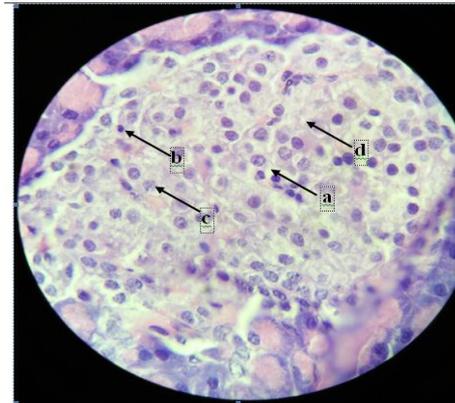
a : P<0,05 terhadap kontrol diabetes (ada perbedaan sig. terhadap kontrol diabetes)

b : P<0,05 terhadap kontrol glibenklamid (ada perbedaan sig. terhadap kontrol glibenklamid)

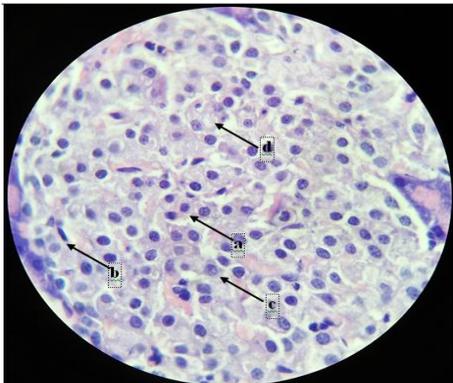
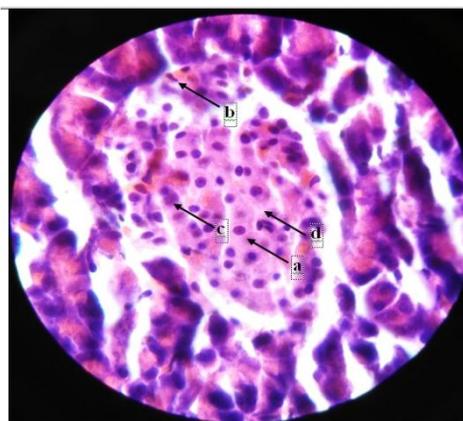
Kontrol Diabetes : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)



Kelompok normal



Kelompok Diabetes

Kelompok
Glibenklamid 0,45mg/kgBB)Kelompok ekstrak daun kacapiring
dosis 125mg/kgBBKelompok ekstrak daun kacapiring
Dosis 250mg/kgBBKelompok ekstrak daun kacapiring
dosis 500 mg/kgBB

Gambar 7. Profil histopatologi pankreas tikus dengan pewarnaan HE (*Hematoxylin Eosin*) dengan perbesaran 1000x. a) sel normal b) sel piknotik c) sel karioreksis d) sel kariolisis.

Pengamatan pada kelompok kontrol glibenklamid menunjukkan bahwa pemberian glibenklamid dosis 0,45 mg/kgBB memperlihatkan adanya perbaikan pada sel-sel pankreasnya. Perbaikan tersebut meliputi pulau Langerhans yang mulai melakukan regenerasi menuju bentuk normal, walaupun masih ditemukan beberapa sel yang mengalami vakuolisasi tetapi jumlahnya lebih sedikit bila dibandingkan dengan kelompok kontrol diabetes yang tidak diberi obat. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian obat glibenklamid dapat memperbaiki pankreas akibat induksi aloksan dosis 150 mg/kgBB dan mengurangi terjadinya vakuolisasi.

Pengamatan pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun kacapiring dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB, dan 500 mg/kgBB menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun kacapiring dapat memperbaiki kerusakan pada pankreas tikus. Hal tersebut dibuktikan dengan adanya vakuolisasi, namun jumlahnya lebih sedikit bila dibandingkan dengan tikus kelompok kontrol negatif. Perbaikan tersebut meliputi pulau Langerhans yang mulai melakukan regenerasi menuju bentuk normal walaupun khasiatnya tidak setinggi dengan khasiat dari pemberian glibenklamid dosis 0,45 mg/kgBB.

Flavonoid memperbaiki kerusakan sel β pankreas akibat induksi aloksan dengan meningkatkan antioksidan primer diikuti penurunan radikal bebas dan ROS, perbaikan pulau Langerhans pankreas dan peningkatan sekresi insulin. Jika jumlah radikal bebas menurun maka produksi insulin dalam tubuh akan meningkat karena terjadi peningkatan jumlah sel β pankreas (Ismi dan Zubaidah 2013).

Aktivitas antioksidan dalam flavonoid memungkinkan flavonoid untuk menangkap atau menetralkan radikal bebas terkait dengan gugus OH fenolik sehingga dapat memperbaiki morfologi pankreas tikus yang diakibatkan oleh alkilasi DNA akibat induksi aloksan. Flavonoid dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes yang mampu meregenerasi sel pada pulau Langerhans (Prameswari *et al.* 2014).

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa perbaikan histopatologi pankreas yang paling baik ditunjukkan oleh pemberian ekstrak daun kacapiring

dengan dosis 500 mg/kgBB. Berdasarkan persentase nekrosis dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun manggis dosis 500 mg/kgBB merupakan dosis yang paling efektif dalam memperbaiki histopatologi pulau Langerhans yang diinduksi aloksan dan setara dengan obat glibenklamid dosis 0,45 mg/kgBB.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, kacapiring ekstrak daun kacapiring dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB memiliki aktivitas antihiperqlikemi pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.

Kedua, dosis ekstrak daun kacapiring yang menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan adalah dosis 500 mg/kgBB.

Ketiga, pemberian ekstrak daun kacapiring dapat menurunkan persentase nekrosis sel Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.

B. Saran

Peneliti berikutnya dapat melakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan fraksi dari ekstrak daun kacapiring yang mempunyai aktivitas antihiperqlikemi dan antioksidan. Selain itu juga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode dan parameter yang lain yang terkait dengan efek antihiperqlikemi dan antioksidan pada ekstrak daun kacapiring serta dapat dilakukan penelitian tentang khasiat lain dari ekstrak daun kacapiring.

DAFTAR PUSTAKA

- [Anonim]. 1995. *Materia Medika Indonesia*. Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Anonim]. 2013. *Farmakope Herbal Indonesia* jilid I. Jakarta: Baan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Hlm 227.
- [Depkes RI]. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Edisi I. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Direktorat Pengawasan obat Tradisional. Bakti Husada. Jakarta. 9-18.
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid 1. Jakarta : Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia (Edisi I)*. Jakarta: Depkes RI.
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Pedoman Pengendalian Tikus Khusus di Rumah Sakit*. <http://www.depkes.go.id/downloads-pengendalian20tikus>. Bab 2 hewan percobaan.
- [Depkes RI]. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.. 2005. *Pharmaceutical Care Untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta : Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan alat Kesehatan. Halaman 37-46.
- [Ditjen POM]. 1986. Ditjen Pengawas Obat dan Makanan. *Sedian Galenik*. Departemen kesehatan RI: Jakarta.
- [Perkeni]. 2011. Konsesus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia: Jakarta.
- [Perkeni]. 2015. Konsesus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia 2011. Semarang: PB Perkeni.
- [Riskesdas]. Riset Kesehatan Dasar. 2013. Jakarta: Badan Litbangkes, Depkes RI, 2013. P 165-166.
- [Riskesdas]. Riset Kesehatan Dasar. 2013. Jakarta: Balitbang Kemenkes RI.
- Ajie, Rizki Bayu. 2015. "White Dragon Fruit (*Hylocoleus undalus*) Potential As Diabetes Mellitus Treatment" *Artikel Review Faculty Of Medicine:Lampung University*.

- Akhyar. 2010. *Uji Daya Hambat dan Analisis Klt Bioautografi Ekstrak Akar dan Buah Bakau (rhizophora stylosa griff.) terhadap vibrio harveyi*. Makassar: Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.
- Baroroh F, Aznam N, Susanti H. 2011. Uji Efek Antihiperqlikemik Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia Augusta, Merr*) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan.
- Brahmachari G. 2011. Bio-Flavonoids with Promising Antidiabetic Protentioals
- Brunton L, Parker K, Blumenthal D, Buxton L. 2008. *Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutic*. New York.
- Bushan M, Rao CH, Ojha SK, Wijayakusumar M, Verma A. 2010. *An analytical review of plants for anti diabetic activity with their phytoconstituent & mechanism of action*.
- Crissman JW. 2004. Best practices guideline” Toxicologic histopathology. *Society of Toxicologic Pathology Guideline*. 32(1) : 126-131.
- Dalimartha S, drian F. 2008. *Makanan dan Herbal Untuk Penderita Diabetes Mellitus*. Jakarta : Penebar Swadaty.
- Dalimartha S. 2005. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3, Temukan Rahasia Sehat dari Alam Sekitar. Puspawara.
- Dipiro J.T., Talbert R.L., Yee G.C., Matzke G.R., Wells B.G., and Posey L.M., 2015. *Pharmacotherapy: A Patophysiological Approach, 9th Edition*. Mc Graw Hill, New York.
- Dipiro J.T., Talbert R.L., Yee G.C., Matzke G.R., Wells B.G., and Posey L.M., 2015. *Pharmacotherapy: A Patophysiological Approach, 9th Edition*. Mc Graw Hill, New York
- Djauhariya, Endjo dan Hernani. 2004. *Gulma Berkhasiat Obat*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Dods RF. 2013. *Understanding Diabetes: A Biochemical Perspective*. New Jersey, Canada : Wiley.
- Esmawati E. 2015. Pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap kadar glukosa darah dan histologi pankreas tikus (*Ratus Norvegicus*) yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim
- Fatmawati. 2003. Telaah kandungan kimia daun kacapiring (*Gardenia Jasminoides Ellis*). [ringkasan]. Departemen Farmasi ITB.

- Fokumoto, L.R. 2000. *Assesing Antioxidant and Prooxidant Activities and Phenoli Compounds*. Pacific Agri-Food Research Centre Contribution 2061. American Chemical Societ.
- Gunawan SG. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 5. Jakarta : Departemen Farmakologi dan Terapetik FKUI.
- Guyton AC. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Diterjemahkan oleh Irawati Setiawan. Jakarta : EG.
- Handoko, T. dan Suharto B. 2005. "Insulin Glukagon dan Antidiabetik" dalam Farmakologi dan Terapi, Edisi Keempat, Editor: Sulistia G.ganiswara, Jakarta: Gaya Baru.
- Harmita, Maksum. 2005. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Edisi 2. Jakarta: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- IDF. 2015. Idf diabetes atlas sixth edition. Diakses pada tanggal 28 November 2017 dari https://www.idf.org/sites/default/files/Atlas-poster-2015_EN.pdf
- Ismini IF, Zubaidah e. 2013. Studi komplikasi pemberian cuka salak dan cuka anggur terhadap penurunan glukosa darah dan histopatologi sel pankreas pada tikus Wistar jantan diabetes melitus yang diinduksi treptozotocin. *Medika Eksakta* 1-19.
- Julianto S T. 2016. *Minyak Atsiri Bunga Indonesia*. Jakarta. Penerbit buku depublish.
- Junquiera C. 2007. *Persiapan jarimgan untuk pemeriksaan mikroskopik*. Histologi Dasar: teks dan atlas. Edisi 10. Jakarta
- Jusuf AA. 2009. *Histoteknik Dasar*. Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia: Depok.
- Kasinja R. 2005. *Pemanfaatan Tepung Buah Pare (Momordica chariantia) Untuk Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Diabetes Mellitus*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian: Institusi Pertanian Bogor.
- Katzung, B. G. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi II. Jakarta: Salemba Medika. Halaman 671, 677-678.
- Katzung, BG, Masters SB, Tervor AJ. 2012. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 12. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Khandori R. 2015. Type 2 Diabetes Mellitus. Medscape <http://emedicine.medscape.com/article/117853-overview> [03 Mei 2018].

- Kumar V, Ahmed F, Ali M, Mujeeb M. 2013. Enhanced glycemic control, pancreas protective, antioxidant and hepatoprotective effects by umbelliferon α -D-glucopyranosyl-(2) glucopyranoside in streptozotocin induced diabetic rats. *Springer Plus*,2:639.
- Kumar, Cotran RS, Robbins SL. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Ed ke-7. Volume ke-2. Bram Pendit, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: *Robbins Basic Pathology 7th ed.*
- Kurniasari D. 2012. Peredaan kadar glukosa darah pada tikus Wistar jantan (*Rattus norvegicus*) setelah terpapar stressor renjatan listrik [Skripsi]. Jember : fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.
- Lenzen, S. 2008. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Induced Diabetes. *Diabetologia* 51. P. 216-226.
- Lerebulan EF. 2014. Aktivitas kombinasi ekstrak etanolik batang brotowali (*Tinospora crispa* (L) Miers) dan fraksi ekstrak etanolik daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI) hook. F. & Th) terhadap nekrosis dan jumlah sel β pankreas tikus yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta: Falkultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Lestari A, Mulyono A. 2011. *Analisis Citra Ginjal untuk identifikasi Sel Piknosis dan Sel Nekrosis*. Jurnal Neutrino Vol.4, No.1
- Moore DM. 2000. Rats and mice care and management. *Laboratory animal medicine and science series II*. 9042:26.
- Muhriani. 2014. Ekstra, pemisahan senyawa dan identifikasi senyawa aktif. *Jurnal Kesehatan Volume VII No.2*.
- Mukhriani. 2014. *Analisis Farmakognosis*. Makassar: AlauddinPress.
- Muntiha M. 2001. Teknik pembuatan preparat histopatologi dari jaringan hewan dengan pewarnaan hematosilin dan eosin (H&E). *Temu Tekhnis Fungsional Non Peneliti*.
- Noffritasari B. 2006. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Kacapingring (*Gardenia Augusta, Merr.*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Yang Diberi Beban Glukosa [Artikel Ilmiah]. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Nugrahani R, Andayani Y, Hakim A. 2016. Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Buah Buncis (*Phaseolus vulgaris L*) Dalam Sediaan Serbuk. Program Studi Magister Pendidikan IPA, Program Pascasarjana Universitas Mataram. Mataram

- Nugroho AE. 2006. Hewan percobaan diabetes mellitus: patologi an mekanisme aksi diabetogenik. *Biodiversitas, Volume 7, Nomor 4*.
- Pasaribu R, Hutahaean S, Ilyas S. 2015. Uji antihiperqlikemia ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) ada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi diabetes dengan aloksan [Jurnal]. Vol 1 No.2.
- Permatasari N. 2012. *Intruksi Kerja Pengambilan Darah, Perlakuan, dan Injeksi Pada Hewan Coba*. Malang: Unbra.
- Prameswari, kky M, Widjanarko, Simon B. 2014. Uji efekekstrak air daun pandan wangi terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi tikus diabetes mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2(2):16-27
- Putra AL, Wowon PM, Wungouw HIS. 2015. Gambaran kadar gula darah sewaktu pada mahasiswa angkatan 2015 Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal e-Biomedik (eBm), Volume 3, Nomor 3, September-Desember*.
- Raharjo, Tri Joko. *Kimia Hasil Bahan Alam*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, 2013.
- Rahayu L, Damayanti R, Thamrin. 2006. Gambaran histopatologi pankreas tikus hoperglikemia setelah mengkonsumsi k-Karagenan dan i-Karagenan. *Ilmu Kefarmasian Indonesia* 4: 96-101.
- Rahmayanti E, dan Sitanggang M. 2006. *Taklukan Penyakit dengan Klorofil Alfalfa*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Ranakusuma A.B. 1992. *Metabolit Endokrinologi Rongga Mulut*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press)
- Rivai H, Kasypiah U, Zulharmita. 2013. Pembuatan dan karakterisasi ekstrak kering daun jambu biji (*Psidium guajava L.*)[Jurnal]. Padang. Fakultas Farmasi. Universitas Andalas.
- Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. 2003. *Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and theglutathione connection*. *Diabetes* 52:581-597.
- Sharma A. 2012. *Transdermal Approach of Antidiabetic Drug Glibenclamide: A Review*. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*, Vol. 3 (11),p.25-32.
- Sidik, Harfia Mudahar. 2007. *Ekstraksi Tumbuhan Obat, Motede dan Faktor-faktor yang Mempengaruhi produksi*. Dalam seminar PERHIBA pemanfaatan Bahan Obat Alam III, Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945, Jakarta.

- Soegondo S. 2013. *Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu*. Jakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.
- Soewondo P, and Pramono, A.L. 2011. *Prevalence, Characteristics, and Predictors of Prediabetes in Indonesia*. *Med j indones*; 20:283-94.
- Suarsana IN, Priosoeryanto BP, Bintang M, Wresdiyati T. 2010, Profil glukosa darah dan ultrastruktur sel beta pankreas tikus yang diinduksi senyawa aloksan. *JITV* 15: 188-123.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 2010. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Suharmiati. 2003. Pengujian boaktivitas anti DM tumbuhan obat. *Cermin Dunia Kedokteran*.
- Sukandar EY *et al.* 2008. *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI.
- Tray TH dan Rahardja K. 2007. *Obat-obat penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek sampingnya*. Edisi V. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia. Hlm 693-712.
- Triplitt C.L., Reasner C.A. and Isley W.C. 2008. Chapter 77: Diabetes Mellitus. In: (Dipiro JT, Talbert RL, Yee GC, Wells BG and Posey LM Eds). *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. 7th ed. New York: Mc Graw-Hill Companies, Inc., p. 1205-1223.
- Uray AD. 2009. Profil sel β pulau Langerhans jaringan pankreas tikus diabetes mellitus yang diberi *Virgin Coconut Oil* (VGO) [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian.
- Utami YP, Taebe B, Fatmawati. 2016. Standardisasi Parameter Spesifik Dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Murbei (*Morus alba*L.) Asal Kabupaten Soppeng Provinsi Sulawesi Selatan. Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makasar. Makasar
- Velayutham R, Sankaradoss N, Nazeer A. 2012. Protective effect of tannins from *ficus racemosa* in hypercholesterolemia and diabetes-induced vascular tissue damage in rats. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicin* 367-373.
- Voigt. R.(1994). Buku pelajaran Teknologi Farmasi. Penerjemah Dr. Soendani Noerono. Edisi Kelima. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. Halaman ; 165,179,222.
- Watkins D, Cooperstein S. J. Iazarow A. 2008. Effect of alloxan on permeability of pancreatic islet tissue in vitro. *American Journal of Physiology*. 207:436-440.

- Well BG, DiPiro JT, Schwinghammer TL, & DiPiro CV. 2009. *Pharmacotherapy Handbook*.(Ed. Ke-7). New York: McGraw-Hill.
- Wijayakusuma, H, 2000, *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia*, Jilid I, Hal : 71-75, Prestasi Gema Insani, Jakarta.
- Winarto W.P.2003. *Sambiloto: Budi Daya dan Pemanfaatan untuk obat*. 1St ed. Jakarta: penebar Swadaya. P. 1-12
- Yuriska AF. 2009. *Efek aloksan terhadap kadar glukosa darah tikus wistar [KTI]*. Semarang: Fakultas Kedokteran, Universitas Diponegoro.
- Zhou T, Zhao W, Fan G, Chai Y, Wu Y. 2007. Isolation and purification of irridoid glycosides from *Gardenia jasminoides* Ellis by isocratic reversed-phase two-dimensional preparative highperformanceliquid chromatography with column switch technology. Sanghay Key LaboratoryPharmaceutical Metabolite Research, Second Military Medical University. No 325 GuoheRoad,Shanghai 200433. China. *Jour. of Chromatography B*.296-301
- Zubaidah E dan Rosdiana I. 2016. Efektifitas cuka salak dan cuka apel terhadap kadar glukosa darah dan histopatologi pankreas tikus diabetes. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 4(1): 170-1

LAMPIRAN

Lampiran 1. Surat Determinasi tanaman kacapiring



KEMENTERIAN 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 : 255/UN27.9.6.4/Lab/2017
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan
Lampiran : -
Nama Pemesan : Tri Ulfa Noviarini
NIM : 20144206A
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Gardenia jasminoides* J. Ellis
Synonym : *Gardenia augusta* Merr.
Gardenia florida L.
Gardenia grandiflora Lour.

Familia : Rubiaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963; 1965) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415a-416b-417b-418a-419a **162. Rubiaceae**

1a-2b-4c-10b-13b-14b-15b-16b-17b-18b-19b-20b-21b-38b-51b-52b-53b-55a-56b-57b-58b-62a-63a

1a **31. *Gardenia***
***Gardenia jasminoides* J. Ellis**

Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : perdu, menahun, tumbuh tegak, tinggi 1-2 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan hingga coklat kekuningan. Batang : segiempat ketika muda tetapi berbentuk bulat ketika dewasa, berkayu, bercabang-cabang, permukaan gundul dan licin, ranting atau cabang mudanya tertutup lapisan hars yang mengkilat, coklat keabu-abuan. Daun : tunggal, bersilang-berhadapan, jarang dalam bentuk karangan 3 daun; helaian daun berbentuk ellips atau ellips-bulat telur terbalik atau memanjang-lanset, panjang 4.5-13 cm, lebar 2-5 cm, ujung daun tumpul atau runcing hingga meruncing pendek, tepi daun rata atau sedikit bergelombang, pangkal daun runcing, pertulangan daun menyirip, kedua permukaan daun gundul dan licin, permukaan atas daun berwarna hijau tua dan mengkilap, permukaan bawah daun hijau muda, daging daun seperti kertas; panjang tangkai daun 1-5 mm, permukaan gundul; daun penumpu bulat telur, panjang 0.75-1.5 cm, bertepi rata, hijau kekuningan, permukaan gundul, daun penumpu yang terletak di bawah karangan bunga selalu cukup tinggi dan tumbuh menjadi satu yang disebut ochrea. Bunga : bunga tunggal, di ujung batang atau cabang, panjang tangkai bunga 2-10 mm, berbau harum; tabung kelopak kecil dan pendek, berusuk, tepi berbagi hingga pangkal menjadi 6 taju yang panjang, bentuk garis lanset, panjang 2-3 cm, hijau; mahkota bunga berbentuk terompet, tabung mahkota bulat, panjang 2.5-4 cm, kehijauan, bagian kerongkongan tabung mahkota berambut, pinggiran taju mahkota berwarna putih cerah, keenam taju mahkota paling luar berbentuk bulat telur terbalik, panjang 6-9 cm, yang lainnya makin ke dalam makin pendek; benangsari tidak terlalu berkembang; tangkai putik tidak terlalu berkembang, kepala putik tebal, bakal buah steril. Buah : berkayu, pecah secara tidak teratur. Biji : berbiji banyak, pipih, merah.

Kepala Lab Program Studi Biologi

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

Surakarta, 20 Desember 2017
Penanggungjawab
Determinasi Tumbuhan

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

Mengenal
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS
Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.
NIP. 19660714 199903 2 001

Lampiran 2. Surat *Ethical Clearance*

3/9/2018

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 : 311 / III / 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

AKTIVITAS EKSTRAK DAUN KACAPIRING (*Gardenia jasminoides* Ellis) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI PADA TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Principal investigator
 Peneliti Utama : TRI ULFA NOVIARINI
 : 20144206A

Location of research
 Lokasi Tempat Penelitian : Gedung PAU Universitas Gadjah Mada

Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik



Issued on : 09 Mar 2018

Chairman
 Ketua

Dr. Hari Wujoso, dr., Sp.FMM
 NIR_19621022 199503 1 001

Lampiran 3. Surat keterangan telah melakukan penelitian di Laboratorium Gizi (Hewan Coba) di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada



UNIVERSITAS GADJAH MADA

Pusat Studi Pangan dan Gizi

Jln. Teknika Utara, Berek, YOGYAKARTA 55281

Telp. 0274 589242, 6492282 Web : www.cfns.ugm.ac.id

Email : cfns@ugm.ac.id

FORMULIR PEMAKAIAN FASILITAS LABORATORIUM GIZI (HEWAN COBA)

Nama Mahasiswa/Peneliti : TRI ULFA NOVIARINI
 No. Mahasiswa : _____
 Jurusan/Fakultas/Universitas : SI-FARMASI / FARMASI / UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA

Alamat Rumah dan No. Telp/HP : Bibis Luhur RT.05 RW.21 Nusukan, Banjarsari, Surakarta
085712829625

Topik Penelitian /Judul
AKTIVITAS EKSTRAK DAUN KACAPIRING (*Cardenia tominoides* Ellis) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI TIKUS PUTIH SAMPAI GAUR WILKAR YANG DIINDUKSI ALOKSIAM

Mulai bekerja pada tanggal : 11 APRIL 2018
 Rencana penyelesaian tanggal : 11 MEI 2018
 Diperpanjang sampai tanggal : _____

Bekerja di laboratorium : 1. Gizi

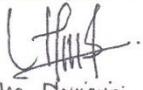
Yogyakarta, 28 Maret 2018

Mahasiswa /Peneliti

Pembimbing Tesis/Skripsi

Yang bersangkutan

Dekan Fakultas/Pimpinan Lembaga


Tri Ulfa Noviarini

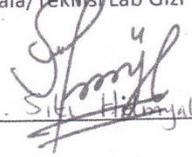
Terlampir

Mengetahui :

Sekretariat/Bagian Administrasi

Kepala/Teknis Lab Gizi


Wahyuni Hartati


Dr. Siti Hidayati, DCCN, M.Kes. F-1

Lampiran 4. Surat keterangan telah melakukan histopatologi organ pankreas di Laboratorium Histopatologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
FAKULTAS KEDOKTERAN
LABORATORIUM HISTOLOGI
Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta

SURAT KETERANGAN

11/ UN27.6.6.2.1/2018

Bagian Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta menerangkan bahwa mahasiswa tersebut di bawah ini :

Nama : Tri Ulfa Noviarini
Nim : 201442206A
Fakultas : Farmasi
Universitas : Universitas Setia Budi Surakarta
Judul Skripsi : Aktifitas antidiabetes ekstrak daun kacapiring (*gardenia jasminoides* J. Ellis) terhadap kadar gula darah dan gambaran histopatologi pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi aloksan .

Telah melaksanakan kegiatan pembuatan preparat di Bagian Laboratorium Histologi FK UNS.

Demikian surat keterangan ini dibuat agar dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Surakarta, 23 Mei 2018
Kepala Bagian Histologi FK UNS



Muthmainah, dr., M.Kes.
NIP. 19660702 199802 2 001

Lampiran 5. Foto tanaman kacapiring



Lampiran 6. Foto serbuk dan ekstrak daun kacapiring



Serbuk daun kacapiring



Ekstrak daun kacapiring

Lampiran 7. Gambar Alat dan bahan

Sterling-Bidwell



Alat Refluks



Evaporator



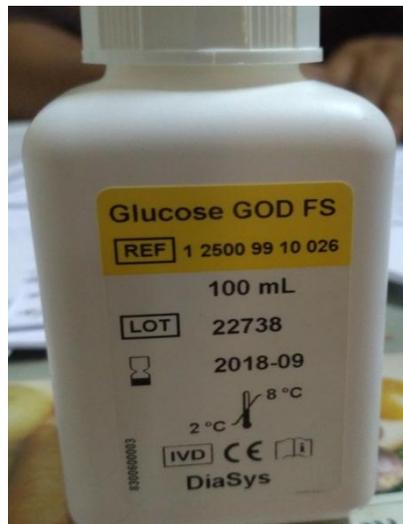
Sentrifugase



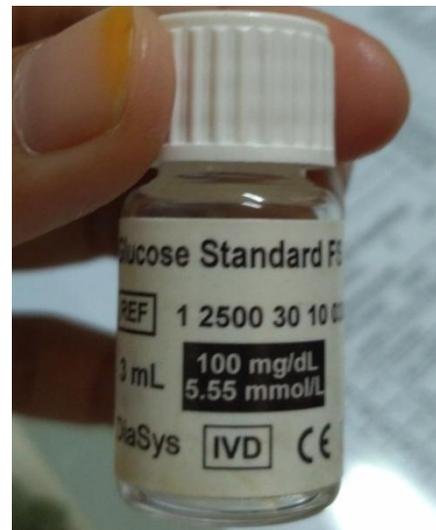
Spektrofotometer Uv-Vis



Moisture balance



Kit assay GOD-PAP



Glukosa standar



Na CMC



Aloksan

Lampiran 8. Foto perlakuan pada hewan uji



Pengelompokan hewan uji



Induksi Aloksan



Pemberian secara oral



Pengambilan darah sinus orbitalis mata



Pembedahan



Organ pankreas tikus

Lampiran 9. Hasil identifikasi senyawa kimia serbuk daun kacapiring

Nama senyawa	Gambar	Interprestasi hasil
Flavonoid		Serbuk 0,1 g + 10 ml aquadest panas, disaring + 0,1 g serbuk Mg + 1 ml HCl pekat + 1ml amilalkohol → Warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amilalkohol
Tanin		Serbuk 0,1 g + 10 ml aquadest panas, disaring + FeCl 1% → Warna hijau kehitaman
Saponin		Serbuk 0,1 g + 10 ml aquadest panas, disaring + 1 ml → HCl 2M Terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit
Steroid & Triterpenoid		Serbuk 0,1 g + metanol, diuapkan + 2 ml kloroform + 2 ml asam asetat anhidrat + 3 tetes H ₂ SO ₄ pekat → Cincin kecoklatan pada perbatasan dan larutan berwarna hijau (+)

Lampiran 10. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak daun kacapiring

Nama senyawa	Gambar	Interprestasi hasil
Flavonoid		<p>Ekstrak 0,1 g + 10 ml aquadest panas, disaring + 0,1 g serbuk Mg + 1 ml HCl pekat + 1ml amilalkohol → Warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amilalkohol</p>
Tanin		<p>ekstrak 0,1 g + 10 ml aquadest panas, disaring + FeCl 1% → Warna hijau kehitaman</p>
Saponin		<p>Ekstrak 0,1 g + 10 ml aquadest panas, disaring + 1 ml HCl 2M → terbentuknya buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit</p>
Steroid & Triterpenoid		<p>Ekstrak 0,1 g + metanol, diuapkan + 2 ml kloroform + 2 ml asetat anhidrat + 3 tetes H₂SO₄ pekat → cincin kecoklatan pada perbatasan dan terbentuk warna hijau (+)</p>

Lampiran 11. Hasil perhitungan persentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun kacapiring

Persentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun kacapiring

Simplisia	Berat kering (Kg)	Berat basah (Kg)	Rendemen (%)
Daun kacapiring	3,125	7,5	41,67%

Perhitungan Rendemen :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat kering utuh (Kg)}}{\text{Berat basah utuh (Kg)}} \times 100 \%$$

Rendemen daun kacapiring :

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{3125\text{g}}{7500\text{g}} \times 100 \% \\ &= 41,67\% \end{aligned}$$

Lampiran 12. Hasil perhitungan persentase rendemen serbuk terhadap ekstrak kental daun kacapiring

Hasil perhitungan persentase rendemen serbuk terhadap ekstrak kental daun kacapiring

No.	Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
1	500	129,25	25,85%

Perhitungan rendemen :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak (g)}}{\text{Berat serbuk (g)}} \times 100 \%$$

Rendemen ekstrak daun kacapiring :

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{129,25 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 25,85\% \end{aligned}$$

Lampiran 13. Hasil penetapan kadar air serbuk dan daun kacapiring

Hasil penetapan kadar air serbuk daun kacapiring

No.	Bobot serbuk (g)	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%)
1	25	1,2	4,8
2	25	1,3	5,2
3	25	1,2	4,8
Rata-rata±SD			4,93±0,23

Perhitungan kadar air serbuk :

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

- $$\begin{aligned} \text{Kadar air}_1 &= \frac{1,2 \text{ ml}}{25 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 4,8\% \end{aligned}$$
- $$\begin{aligned} \text{Kadar air}_2 &= \frac{1,3 \text{ ml}}{25 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 5,2\% \end{aligned}$$
- $$\begin{aligned} \text{Kadar air}_3 &= \frac{1,2 \text{ ml}}{25 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 4,8\% \end{aligned}$$
- $$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air serbuk daun kacapiring} &= \frac{\text{kadar air 1} + \text{kadar air 2} + \text{kadar air 3}}{3} \\ &= \frac{4,8\% + 5,2\% + 4,8\%}{3} \\ &= 4,93\% \end{aligned}$$

Lampiran 14. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kacapiring

Hasil penetapan kadar air ekstrak daun kacapiring

No.	Bobot ekstrak (g)	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,4	7
2	20	1,5	7,5
3	20	1,4	7
Rata-rata±SD			7,17±0,29

Perhitungan kadar air ekstrak :

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

- $$\begin{aligned} \text{Kadar air}_1 &= \frac{1,4 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 7\% \end{aligned}$$
- $$\begin{aligned} \text{Kadar air}_2 &= \frac{1,5 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 7,5\% \end{aligned}$$
- $$\begin{aligned} \text{Kadar air}_3 &= \frac{1,4 \text{ ml}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 7\% \end{aligned}$$
- $$\begin{aligned} \text{Rata-rata kadar air ekstrak daun kacapiring} &= \frac{\text{kadar air 1} + \text{kadar air 2} + \text{kadar air 3}}{3} \\ &= \frac{7 + 7,5 + 7}{3} \\ &= 7,17\% \end{aligned}$$

Lampiran 15. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kacapiring

Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun kacapiring

No.	Bobot serbuk (g)	Kadar susut pengeringan (%)
1	2	5,9
2	2	5,4
3	2	5,9
Rata-rata±SD		5,73±0,29

- Rata-rata susut pengeringan

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\text{susut pengeringan 1} + \text{susut pengeringan 2} + \text{susut pengeringan 3}}{3} \\
 &= \frac{5,9 + 5,4 + 5,9}{3} \\
 &= 5,7 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 16. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun kacapiring

Hasil penetapan susutpngeringan ekstrak daun kacapiring

No.	Bobot ekstrak (g)	Kadar susut pengeringan (%)
1	2	8,5
2	2	8,5
3	2	8,5
Rata-rata±SD		8,50±0,00

- Rata-rata susut pengeringan

$$= \frac{\text{susut pengeringan 1} + \text{susut pengeringan 2} + \text{susut pengeringan 3}}{3}$$

$$= \frac{8,5 + 8,5 + 8,5}{3}$$

$$= 8,5 \%$$

Lampiran 17. Hasil penetapan Berat Jenis ekstrak daun kacapiring

- Berat piknometer kosong = 27,621 g
- Berat piknometer + air = 52,389 g
- Berat air = (berat piknometer + air) – (berat piknometer kosong)
- = (52,389 - 27,621) g
- = 24,768 g

No	Berat pikno + ekstrak (g)	Berat ekstrak (g)	BJ
1	50,454	22,833	0,922
2	50,435	22,814	0,921
3	50,371	22,750	0,919
Rata-rata ± SD			0,921±0,002

- Berat ekstrak = (berat piknometer + ekstrak) – berat piknometer
- = 53,286 – 27,621
- = 25,665 g
- BJ ekstrak = $\frac{\text{massa ekstrak}}{\text{massa air}}$
- = $\frac{22,833 \text{ g}}{24,768 \text{ g}}$
- = 0,922 g/ml

Lampiran 18. Perhitungan dosis

1. CMC Na 0,5 %

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi CMC Na 0,5\%} &= 0,5 \text{ gram} / 100 \text{ ml aquadest} \\ &= 500 \text{ mg}/100 \text{ ml aquadest} \\ &= 5 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

Dibuat larutan stok 100 ml, maka:

$$\begin{aligned} \text{Stok CMC Na 0,5\%} &= \frac{100 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} \times 500 \text{ mg} \\ &= 500 \text{ mg}/100 \text{ ml aquadest} \\ &= 0,5 \text{ g}/100 \text{ ml aquadest} \end{aligned}$$

Serbuk CMC Na 0,5 g ditimbang kemudian disuspensikan dengan aquadest panas ad 100 ml hingga homogeny. Suspensi ini digunakan sebagai kontrol diabetes dan *suspending agent*. Volume pemberian CMC Na 0,5% untuk tikus yang memiliki berat 200 gram adalah 1 ml

2. Glibeklamid

Dosis terapi glibenklamid untuk manusia 70 kg adalah 5 mg. Faktor konversi dari manusia 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,018.

$$\begin{aligned} \text{Dosis glibenklamid untuk tikus 200 g} &= 5 \text{ mg} \times 0,018 \\ &= 0,09 \text{ mg}/200 \text{ g BB tikus} \\ &= 0,45 \text{ mg} / \text{kgBB tikus} \end{aligned}$$

Tablet glibenklamid ditimbang diperoleh hasil 0,203 g = 203 mg. Maka dosis glibenklamid tablet untuk tikus dengan berat badan 200 g adalah :

$$\begin{aligned} \text{Dosis glibenklamid tablet} &= \frac{0,09 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 203 \text{ mg} \\ &= 3,65 \text{ mg}/ 200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

Suspensi glibenklamid dibuat dalam konsentrasi 0,18 % dengan menimbang 180 mg tablet glibenklamid kemudian disuspensikan dengan CMC Na 0,5 % hingga volume 100 ml sampai homogen.

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi glibenklamid} &= 0,18 \text{ g/ } 100 \text{ ml} \\ &= 180 \text{ mg/}100 \text{ ml} \\ &= 1,8 \text{ mg/ml}\end{aligned}$$

Maka, volume pemberian untuk tikus dengan berat badan 200 g adalah :

$$\begin{aligned}\text{Volume pemberian} &= \frac{3,65 \text{ mg}}{1,8 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 2,027 \text{ ml untuk } 200 \text{ g BB tikus} \\ &= 2 \text{ ml untuk } 200 \text{ g BB tikus}\end{aligned}$$

3. Aloksan 1%

$$\begin{aligned}\text{Aloksan } 1\% &= 1 \text{ gram/}100\text{ml} \\ &= 1000 \text{ mg/}100 \text{ ml} \\ &= 10 \text{ mg/ml}\end{aligned}$$

Larutan aloksan 1% dibuat sebagai penginduksi diabetes dibuat dengan cara melarutkan 1 gram aloksan monohidrat ke dalam 100 ml larutan NaCl 0,9%. Dosis aloksan monohidrat untuk tikus adalah sebesar 150 mg/kg BB tikus yang diberikan secara intraperitoneal.

- Dosis aloksan 150 mg/kg BB tikus

$$\begin{aligned}150 \text{ mg/Kg Bb tikus} &= \frac{200 \text{ gram}}{1000 \text{ gram}} \times 150 \text{ mg} \\ &= 30 \text{ mg/}200 \text{ gram BB tikus}\end{aligned}$$

- Volume pemberian aloksan :

$$\begin{aligned}\text{Volume (ml)} &= \frac{30 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} \\ &= 3 \text{ ml untuk } 200 \text{ gram BB tikus}\end{aligned}$$

4. Dosis ekstrak daun kacapiring

Dosis yang digunakan berdasarkan dosis empiris daun kacapiring pada manusia dewasa 70 kg sebanyak 12 lembar daun kacapiring segar yang memiliki berat basah yaitu 12,87 g. Dosis ekstrak diperoleh setelah dilakukan

proses ekstraksi dengan metode refluks, besarnya rendemen pengeringan yang diperoleh dikonversikan dengan dosis empiris manusia, kemudian dosis ekstrak dikonversikan ke tikus 200 g dengan faktor konversi 0,018.

- Berat daun kacapiring basah = 7500 gram
- Berat daun kacapiring setelah dioven = 3125 gram
- Rendemen bobot kering = 41,67%
- Pembuatan ekstrak : serbuk ditimbang sebanyak 20 g dimasukkan kedalam labu alas bulat 500 mL ditambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:10 dan dilakukan proses pemanasan (refluks) selama 3 jam dan proses tersebut diulang sebanyak 3x untuk setiap kali sampel. Untuk 500 gr serbuk yang direfluks didapat ekstrak kental sebanyak 129,25 g. Rendemen ekstrak = 25,85 %
- Dosis empiris pada manusia 70 kg = 12,87 gram (berat basah)
- Berat kering dosis empiris = 5,33 gram (berat kering)
- Dosis ekstrak pada manusia = Rendemen ekstrak \times berat kering dosis empiris

$$= \frac{25,85}{100} \times 5,33 \text{ g}$$

$$= 1,3778 \text{ g}$$

$$= 1,378 \text{ g}/70\text{kgBB}$$
- Dosis pada manusia dikonversikan ke tikus 200 g dengan faktor konversi 0,018

$$\text{Dosis} = 1,378 \text{ g} \times 0,018$$

$$= 0,0248 \text{ g}/200 \text{ gram BB tikus}$$

$$= 0,124 \text{ g}/\text{kgBB tikus}$$

$$= 124 \text{ mg}/\text{kgBB tikus} \sim 125 \text{ mg}/\text{kgBB tikus}$$

Setelah dilakukan orientasi dosis terhadap dosis empiris dan dua kali dosis empiris yaitu dosis 125 mg/kgBB tikus dan 250 mg/kgBB tikus. Kedua dosis tersebut dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus, namun dosis efektif yang

didapat yaitu dosis 250 mg/kgBB tikus. Maka, dosis yang dapat diberikan pada tikus adalah sebagai berikut :

- a. Dosis pertama (1/2 x DE) = $\frac{1}{2} \times 250$ mg/kgBB tikus
= 125 mg/kgBB tikus
- b. Dosis kedua (1 x DE) = 1×250 mg/kgBB tikus
= 250 mg/kgBB tikus
- c. Dosis ketiga (2 x DE) = 2×250 mg/kgBB tikus
= 500 mg/kgBB tikus

Lampiran 19. Data rata-rata hasil penimbangan berat badan tikus saat perlakuan

Kelompok	Rata-rata berat badan tikus			
	Hari ke-0	Hari ke-4	Hari ke-7	Hari ke-14
Normal	172±11,51	177,6±11,41	184,6±11,28	192,8±11,58
Kontrol diabetes	178,2±9,18	176±9,46	172,4±10,36	170,4±10,74
Glibenklamid 0,45 mg/kgBB	166,4±4,67	162,8±4,09	168,8±4,15	176,8±4,32
Kacapiring 125 mg/KgBB	174,4±10,55	173±10,05	175,4±10,33	178±10,42
Kacapiring 250 mg/KgBB	169,2±6,53	166,8±6,30	172±6,63	180,4±6,95
Kacapiring 500 mg/KgBB	165,4±6,50	163±6,48	167,8±6,69	174,6±6,47

Keterangan :

Kontrol diabetes : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

Lampiran 20. Perhitungan dosis glibenklamid

Berat badan hewan uji	Dosis (g)	Volume pemberian (ml)
166	0,075	1,7
161	0,073	1,6
167	0,075	1,7
158	0,071	1,6
167	0,075	1,7

Contoh perhitungan :

$$\begin{aligned}
 \text{Rumus perhitungan dosis} &= \frac{\text{BB}}{1000} \times \text{dosis konversi} \\
 &= \frac{166}{1000} \times 0,45 \\
 &= 0,075 \text{ g}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Volume pemberian (mL)} &= \frac{\text{BB}}{200} \times \text{volume maksimum} \\
 &= \frac{166}{200} \times 2 \text{ ml} \\
 &= 1,66 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

Lampiran 21. Perhitungan dosis pemberian ekstrak daun kacapiring 125 mg/kgBB tikus, 250 mg/kgBB tikus, 500 mg/kgBB tikus

Dosis ekstrak	Berat badan hewan uji (g)	Dosis pemberian (/200gr BB tikus)
125 mg/kgBB tikus	178	22,25
	188	23,50
	165	20,63
	170	21,25
	164	20,50
250 mg/kgBB tikus	158	39,50
	165	41,25
	175	43,75
	170	42,50
	166	41,50
500 mg/kgBB tikus	158	79,00
	173	86,50
	158	79,00
	160	80,00
	166	83,00

Rumus perhitungan dosis ekstrak etanol :

$$\text{Dosis pemberian} = \frac{\text{BB}}{1000} \times \text{Dosis ekstrak}$$

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus tersebut maka diperoleh dosis pemberian pada tikus berdasarkan berat badan seperti terlihat pada tabel diatas.

Lampiran 22. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T₀

Kelompok	Kode hewan	Standar	Absorbansi	Kadar glukosa	Kadar rata-rata * SD
I Normal	1.1	0,292	0,193	66,10	69,11±3,72
	1.2		0,190	65,07	
	1.3		0,201	68,84	
	1.4		0,209	71,58	
	1.5		0,216	73,97	
II Kontrol Diabetes	2.1	0,292	0,199	68,15	68,77±2,16
	2.2		0,194	66,44	
	2.3		0,197	67,47	
	2.4		0,204	69,86	
	2.5		0,210	71,92	
III Pembanding (Glibenklamid 0,45 mg/kgBB)	3.1	0,292	0,190	65,07	69,11±2,88
	3.2		0,205	70,21	
	3.3		0,202	69,18	
	3.4		0,199	68,15	
	3.5		0,213	72,95	
IV Daun kacapiring dosis 125mg/kgBB	4.1	0,292	0,196	67,12	69,11±2,59
	4.2		0,192	65,75	
	4.3		0,210	71,92	
	4.4		0,204	69,86	
	4.5		0,207	70,89	
V Daun kacapiring dosis 250mg/kgBB	5.1	0,292	0,203	69,52	67,74±2,34
	5.2		0,197	67,47	
	5.3		0,188	64,38	
	5.4		0,192	65,75	
	5.5		0,209	71,58	
VI Daun kacapiring dosis 500mg/kgBB	6.1	0,292	0,212	72,60	70,48±2,34
	6.2		0,204	69,86	
	6.3		0,207	70,89	
	6.4		0,211	72,26	
	6.5		0,195	66,78	

Lampiran 23. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T₁

Kelompok	Kode hewan	Standar	Absorbansi	Kadar glukosa	Kadar rata-rata * SD
I Normal	1.1	0,254	0,170	66,93	69,92±3,87
	1.2		0,166	65,35	
	1.3		0,178	70,08	
	1.4		0,184	72,44	
	1.5		0,190	74,80	
II Kontrol Diabetes	2.1	0,254	0,590	232,28	230,79±2,94
	2.2		0,587	231,10	
	2.3		0,581	228,74	
	2.4		0,577	227,17	
	2.5		0,596	234,65	
III Pemanding (Glibenklamid 0,45 mg/kgBB)	3.1	0,254	0,556	218,90	224,65±4,34
	3.2		0,581	228,74	
	3.3		0,569	224,02	
	3.4		0,565	222,44	
	3.5		0,582	229,13	
IV Daun kacapiring dosis 125mg/kgBB	4.1	0,254	0,566	222,83	224,49±3,57
	4.2		0,558	219,69	
	4.3		0,582	229,13	
	4.4		0,570	224,41	
	4.5		0,575	226,38	
V Daun kacapiring dosis 250mg/kgBB	5.1	0,254	0,569	224,02	223,15±3,78
	5.2		0,573	225,59	
	5.3		0,555	218,50	
	5.4		0,559	220,08	
	5.5		0,578	227,56	
VI Daun kacapiring dosis 500mg/kgBB	6.1	0,254	0,582	229,13	227,09±1,90
	6.2		0,570	224,41	
	6.3		0,574	225,98	
	6.4		0,578	227,56	
	6.5		0,580	228,35	

Lampiran 24. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T₂

Kelompok	Kode hewan	Standar	Absorbansi	Kadar glukosa	Kadar rata-rata * SD
I Normal	1.1	0,246	0,165	67,07	70,41±3,96
	1.2		0,162	65,85	
	1.3		0,174	70,73	
	1.4		0,180	73,17	
	1.5		0,185	75,20	
II Kontrol Diabetes	2.1	0,246	0,577	234,55	232,68±2,83
	2.2		0,570	231,71	
	2.3		0,568	230,89	
	2.4		0,565	229,67	
	2.5		0,582	236,59	
III Pembanding (Glibenklamid 0,45mg/kgBB)	3.1	0,246	0,425	172,76	176,83±3,39
	3.2		0,438	178,05	
	3.3		0,430	174,80	
	3.4		0,435	176,83	
	3.5		0,447	181,71	
IV Daun kacapiring dosis 125mg/kgBB	4.1	0,246	0,490	199,19	201,06±3,26
	4.2		0,487	197,97	
	4.3		0,491	199,59	
	4.4		0,498	202,44	
	4.5		0,507	206,10	
V Daun kacapiring dosis 250mg/kgBB	5.1	0,246	0,476	193,50	189,35±4,13
	5.2		0,460	186,99	
	5.3		0,452	183,74	
	5.4		0,466	189,43	
	5.5		0,475	193,09	
VI Daun kacapiring dosis500 mg/kgBB	6.1	0,246	0,449	182,52	179,76±2,81
	6.2		0,435	176,83	
	6.3		0,440	178,86	
	6.4		0,450	182,93	
	6.5		0,437	177,64	

Lampiran 25. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T₃

Kelompok	Kode hewan	Standar	Absorbansi	Kadar glukosa	Kadar rata-rata * SD
I Normal	1.1	0,281	0,189	67,26	71,25±4,35
	1.2		0,187	66,55	
	1.3		0,201	71,53	
	1.4		0,209	74,38	
	1.5		0,215	76,51	
II Kontrol Diabetes	2.1	0,281	0,663	235,94	234,16±2,78
	2.2		0,653	232,38	
	2.3		0,650	231,32	
	2.4		0,655	233,10	
	2.5		0,669	238,08	
III Pembanding (Glibenklamid 0,45 mg/kgBB)	3.1	0,281	0,310	110,32	114,23±2,29
	3.2		0,320	114,23	
	3.3		0,315	116,01	
	3.4		0,323	114,95	
	3.5		0,325	115,66	
IV Daun kacapiring dosis 125mg/kgBB	4.1	0,281	0,455	161,92	163,27±2.16
	4.2		0,459	163,35	
	4.3		0,452	160,85	
	4.4		0,460	163,70	
	4.5		0,468	166,55	
V Daun kacapiring dosis 250mg/kgBB	5.1	0,281	0,390	138,79	134,95±2,68
	5.2		0,378	134,52	
	5.3		0,371	132,03	
	5.4		0,374	133,10	
	5.5		0,383	136,30	
VI Daun kacapiring dosis 500mg/kgBB	6.1	0,281	0,346	116,73	117,94±0,96
	6.2		0,331	117,79	
	6.3		0,340	117,44	
	6.4		0,347	119,22	
	6.5		0,333	118,51	

Lampiran 26. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada berbagai kelompok perlakuan

Kelompok	Rata-rata kadar gula darah tikus			
	Hari ke-0	Hari ke-4	Hari ke-7	Hari ke-14
Normal	69,11±3,72	69,92±3,87	70,41±3,96	71,25±4,35
Kontrol diabetes	68,77±2,16	230,79±2,94	232,68±2,83	234,16±2,78
Glibenklamid 0,45mg/kgBB	69,11±2,88	224,65±4,34	176,83±3,39	114,23±2,29
Daun kacapiring 125mg/kgBB	69,11±2,59	224,49±3,57	201,06±3,26	163,27±2,16
Daun kacapiring 250mg/kgBB	67,74±2,88	223,15±3,78	189,35±4,13	134,95±2,68
Daun kacapiring 500mg/kgBB	70,48±2,34	227,09±1,90	179,76±2,81	117,94±0,96

Lampiran 27. Penurunan kadar gula darah tikus dan presentase penurunan kadar gula darah tikus

Kelompok	$\Delta T_1 = T_1 - T_2$	$\Delta T_2 = T_1 - T_3$
Normal	-0,49±0,23	-1,32±0,62
Kontrol diabetes	-1,90±0,75	-3,38±1,71
Glibenklamid 0,45mg/kgBB	47,82±2,13	110,41±3,31
Daun kacapiring 125mg/kgBB	23,43±3,62	61,21±4,36
Daun kacapiring 250mg/kgBB	33,80±3,36	88,20±2,78
Daun kacapiring 500mg/kgBB	47,33±2,20	109,15±2,15

Kelompok	Persentase penurunan ΔT_1 (%)	Persentase penurunan ΔT_2 (%)
Normal	-0,69±0,32	-1,87±0,83
Kontrol diabetes	-0,82±0,33	-1,47±0,75
Glibenklamid 0,45mg/kgBB	21,28±0,75	49,14±0,83
Daun kacapiring 125mg/kgBB	10,43±1,50	27,25±1,56
Daun kacapiring 250mg/kgBB	15,14±1,44	39,52±0,90
Daun kacapiring 500mg/kgBB	20,84±0,97	48,06±0,61

Lampiran 28. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T₀

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompoknormal	.191	5	.200 [*]	.949	5	.733
kelompokdiabetes	.213	5	.200 [*]	.956	5	.782
kelompokglibenklamid	.169	5	.200 [*]	.990	5	.981
kelompokdosis125mg	.214	5	.200 [*]	.934	5	.625
kelompokdosis250mg	.155	5	.200 [*]	.976	5	.912
kelompokdosis500mg	.196	5	.200 [*]	.903	5	.427

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*.

Test of Homogeneity of Variances

kadarguladarahT₀

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.504	5	24	.770

Nilai probabilitas dari output diatas adalah sig. = 0,770 $>$ 0,05 maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

kadarguladarahT₀

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	19.229	5	3.846	.488	.782
Within Groups	189.011	24	7.875		
Total	208.240	29			

Dari output ANOVA diatas diketahui nilai sig. = 0,782 $<$ 0,05 (H_0 diterima) maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

kadarguladarahT0Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
kelompok dosis 250 mg/KgBB	5	67.7400
kelompok diabetes	5	68.7680
kelompok dosis 125mg/KgBB	5	69.1080
kelompok normal	5	69.1120
kelompok pembanding	5	69.1120
kelompok dosis 500mg/KgBB	5	70.4780
Sig.		.642

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan padasemua kelompok yaitu kelompok normal, kelompok diabetes, kelompok glibenklamid dan kelompok ekstrak daun kacapiring dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB dengan nilai sig. = 0,642 > 0,05.

Lampiran 29. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T₁

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompoknormal	.180	5	.200 [*]	.965	5	.843
kelompokdiabetes	.157	5	.200 [*]	.983	5	.951
kelompokglibenklamid	.228	5	.200 [*]	.921	5	.538
kelompokdosis125mg	.121	5	.200 [*]	.999	5	1.000
kelompokdosis250mg	.192	5	.200 [*]	.945	5	.700
kelompokdosis500mg	.199	5	.200 [*]	.956	5	.783

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*.

Test of Homogeneity of Variances

kadarguladarahT1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.834	5	24	.539

Nilai probabilitas dari output diatas adalah sig. = 0,539 $> 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

kadarguladarahT1

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	101726.838	5	20345.368	1671.225	.000
Within Groups	292.174	24	12.174		
Total	102019.013	29			

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

kadarguladarahT1Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok normal	5	69.92		
kelompok dosis 250mg/kgBB	5		223.15	
kelompok dosis 125mg/kgBB	5		224.49	224.49
kelompok glibenklamid	5		224.65	224.65
kelompok dosis 500mg/kgBB	5		227.09	227.09
kelompok diabetes	5			230.79
Sig.		1.000	.494	.082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok ekstrak daun kacapiring dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB dengan nilai sig. = 0,494 > 0,05.

Lampiran 30. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T₂

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompoknormal	.200	5	.200	.944	5	.692
kelompokdiabetes	.234	5	.200	.940	5	.664
kelompokglibenklamid	.159	5	.200	.986	5	.963
kelompokdosis125mg	.274	5	.200	.901	5	.414
kelompokdosis250mg	.217	5	.200	.928	5	.583
kelompokdosis500mg	.237	5	.200	.868	5	.257

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*.

Test of Homogeneity of Variances

kadarguladarahT₂

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.291	5	24	.913

Nilai probabilitas dari output diatas adalah sig. = 0,913 $> 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

kadarguladarahT₂

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75892.228	5	15178.446	1287.593	.000
Within Groups	282.918	24	11.788		
Total	76175.145	29			

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

kadarguladarahT2Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
kelompok normal	5	70.4040				
kelompok glibenklamid	5		176.8300			
kelompok dosis 500mg/kgBB	5		179.7560			
kelompok dosis 250mg/kgBB	5			189.3500		
kelompok dosis 125mg/kgBB	5				201.0580	
kelompok diabetes	5					232.6820
Sig.		1.000	.756	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Dari data output diatas dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara setiap kelompok kecuali pada kelompok dosis 500 mg/KgBB dan kelompok glibenklamid dengan nilai sig. = 0,756 ($P > 0,05$).

Lampiran 31. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus pada T₃

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompoknormal	.220	5	.200 [*]	.920	5	.532
kelompokdiabetes	.249	5	.200 [*]	.927	5	.578
kelompokglibenklamid	.299	5	.163	.810	5	.098
kelompokdosis125mg	.222	5	.200 [*]	.955	5	.774
kelompokdosis250mg	.163	5	.200 [*]	.966	5	.848
kelompokdosis500mg	.161	5	.200 [*]	.989	5	.977

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*.

Test of Homogeneity of Variances

kadarguladarahT₃

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.300	5	24	.077

Nilai probabilitas dari output diatas adalah sig. = 0,077 $>$ 0,05 maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

kadarguladarahT₃

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	76544.287	5	15308.857	2058.389	.000
Within Groups	178.495	24	7.437		
Total	76722.782	29			

Dari output ANOVA diatas diketahui nilai sig. = 0,782 $>$ 0,05 (H_0 diterima) maka disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

kadarguladarahT3Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
kelompok normal	5	71.2460				
kelompok glibenklamid	5		114.2340			
kelompok dosis 500mg/kgBB	5		117.9380			
kelompok dosis 250mg/kgBB	5			134.9480		
kelompok dosis 125mg/kgBB	5				163.2740	
kelompok diabetes	5					234.1640
Sig.		1.000	.298	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Dari data output diatas dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara setiap kelompok kecuali pada kelompok dosis 500 mg/KgBB dan kelompok glibenklamid dengan nilai sig. = 0,293 ($P > 0,05$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa kelompok dosis ekstrak daun kacapiring 500mg/KgBB memiliki aktivitas antihiperglikemi yang hampir sama dengan kelompok glibenklamid.

Lampiran 32. Hasil uji statistik presentase penurunan kadar gula darah tikus T₁ terhadap T₂

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompoknormal	.186	5	.200*	.939	5	.660
kelompokdiabetes	.310	5	.132	.818	5	.113
kelompokglibenklamid	.221	5	.200*	.887	5	.342
kelompokdosis125mg	.252	5	.200*	.883	5	.321
kelompokdosis250mg	.201	5	.200*	.949	5	.729
kelompokdosis500mg	.155	5	.200*	.994	5	.992

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output tampak nilai probabilitas (sig.) = 0,992 > 0,05 (H₀ diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut mengikuti distribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

persentase kadar gula darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.716	4	20	.186

Nilai probabilitas dari output diatas adalah 0,081 > 0,05 maka H₀ diterima atau kelimakelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

persentase kadar gula darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1658.237	4	414.559	351.494	.000
Within Groups	23.588	20	1.179		
Total	1681.826	24			

Dari output ANOVA diatas diketahui bahwa nilai sig=0,000 < 0,05 (H₀ ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

persentase kadarguladarah

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kelompok diabetes	5	-.8220			
kelompok dosis 125 mg/kgBB	5		10.4280		
kelompok dosis 250 mg/kgBB	5			15.1440	
kelompok dosis 500 mg/kgBB	5				20.8400
kelompok glibenklamid	5				21.2840
Sig.		1.000	1.000	1.000	.965

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Dari data output diatas dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara setiap kelompok kecuali pada kelompok dosis 500 mg/KgBB dan kelompok glibenklamid dengan nilai sig. = 0,965 ($P > 0,05$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa kelompok dosis ekstrak daun kacapiring 500mg/KgBB memiliki persentase penurunan kadar gula darah yang hampir sama dengan kelompok glibenklamid.

Lampiran 33. Hasil uji statistik presentase penurunan kadar gula darah tikus T₁ terhadap T₃

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompoknormal	.281	5	.200	.881	5	.313
kelompokdiabetes	.240	5	.200	.960	5	.811
kelompokglibenklamid	.367	5	.076	.684	5	.096
kelompokdosis125mg	.278	5	.200	.906	5	.447
kelompokdosis250mg	.299	5	.164	.877	5	.294
kelompokdosis500mg	.275	5	.200	.875	5	.287

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output tampak nilai probabilitas (sig.) = 0,287 > 0,05 (H₀ diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut mengikuti distribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

persentase kadar gula darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.067	4	20	.399

Nilai probabilitas dari output diatas adalah 0,478 > 0,05 maka H₀ diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

persentase kadar gula darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8757.915	4	2189.479	2025.701	.000
Within Groups	21.617	20	1.081		
Total	8779.532	24			

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

persentase kadarguladarah

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kelompok diabetes	5	-1.4660			
kelompok dosis 125 mg/kgBB	5		27.2540		
kelompok dosis 250 mg/kgBB	5			39.5220	
kelompok dosis 500 mg/kgBB	5				48.0620
kelompok glibenklamid	5				49.2000
Sig.		1.000	1.000	1.000	.439

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Dari output ANOVA diatas dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara setiap kelompok kecuali pada kelompok dosis 500 mg/KgBB dan kelompok glibenklamid dengan nilai $\text{sig.}=0,493$ ($P > 0,05$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa kelompok dosis ekstrak daun kacapirig 500 mg/KgBB memiliki kemampuan menurunkan kadar gula darah tikus hampir sama dengan kelompok glibenklamid.

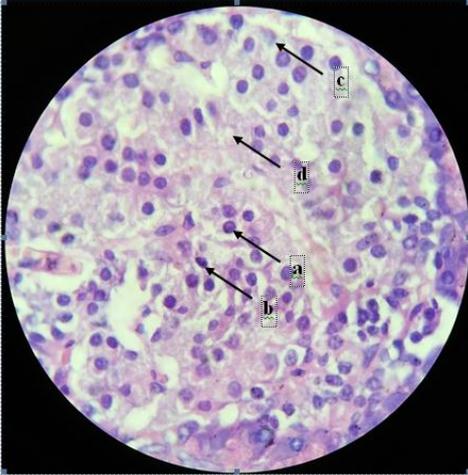
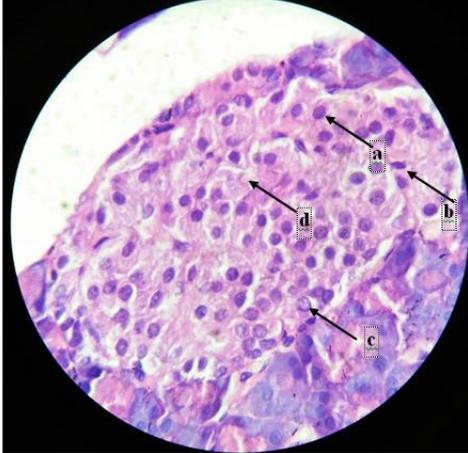
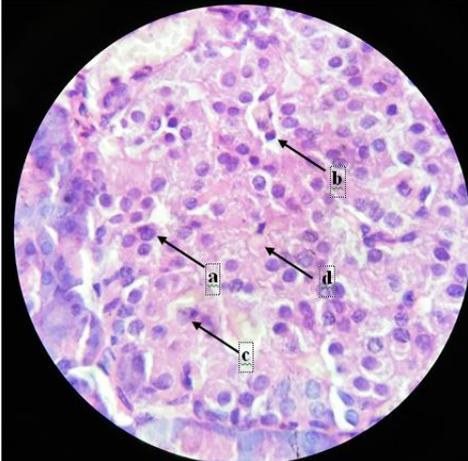
Lampiran 34. Hasil perhitungan nekrosis sel endokrin pulau Langerhans

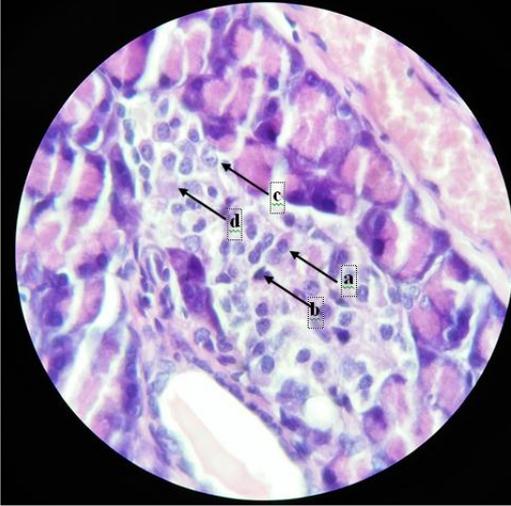
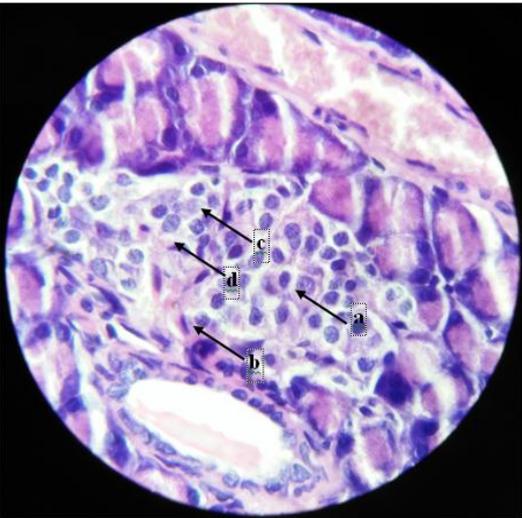
Kel	Jumlah sel normal	Jumlah kerusakan			Total kerusakan	Persentase sel normal	Persentase nekrosis sel
		Piknosis	Karioreksis	kariolisis			
1	93	2	3	2	7	93	7
1	91	3	2	4	9	91	9
1	89	4	1	3	8	89	8
Rata-rata						91,00±2,00	8,00±1,00
2	57	13	20	10	43	57	43
2	60	15	16	9	40	60	40
2	57	15	17	10	42	58	42
Rata-rata						58,33±1,53	41,67±1,53
3	85	5	6	4	13	85	15
3	88	5	3	4	12	88	12
3	86	4	5	5	14	86	14
Rata-rata						86,33±1,53	13,00±1,00
4	71	11	9	5	25	75	25
4	73	10	9	8	27	73	27
4	72	10	10	8	28	72	28
Rata-rata						73,33±1,53	28,00±1,00
5	78	7	8	5	20	80	20
5	77	10	7	6	23	77	23
5	76	10	9	5	24	76	24
Rata-rata						77,67±2,08	22,33±2,08
6	85	5	6	4	15	85	15
6	83	7	5	6	18	83	18
6	84	6	6	4	16	84	16
Rata-rata						83,67±1,53	16,33±1,53

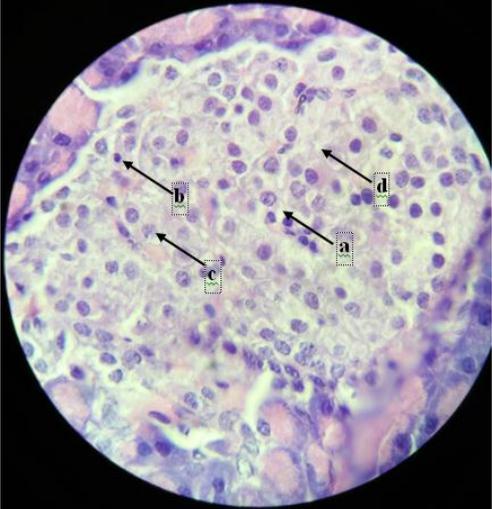
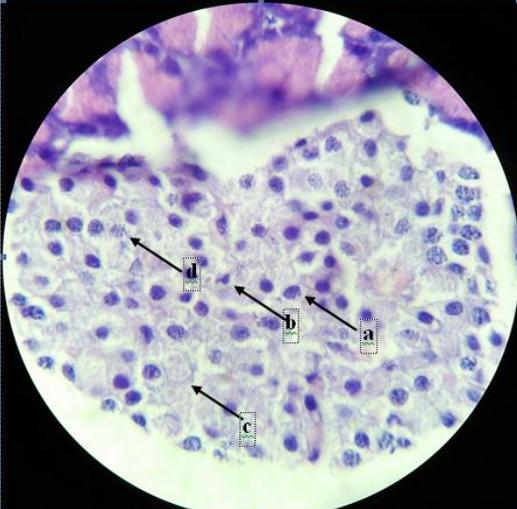
Keterangan :

- Kelompok 1 : kontrol normal
 Kelompok 2 : kontrol diabetes
 Kelompok 3 : kontrol glibenklamid 0,45 mg/kgBB
 Kelompok 4 : ekstrak kacapiring dosis 125 mg/kgBB
 Kelompok 5 : ekstrak kacapiring dosis 250 mg/kgBB
 Kelompok 6 : ekstrak kacapiring dosis 500 mg/kgBB

Lampiran 34. Hasil histopatologi organ pankreas

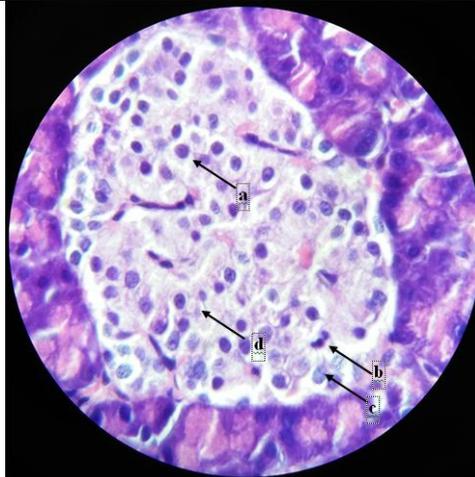
Kelompok Normal (Perbesaran 1000x)	Keterangan
	<ul style="list-style-type: none"> a. Sel normal b. Sel piknotik c. Sel karioreksis d. Sel kariolisis
	
	

Kelompok Diabetes (Perbesaran 1000x)	Keterangan
	<ul style="list-style-type: none">a. Sel normalb. Sel piknotikc. Sel karioreksisd. Sel kariolisis
	
	

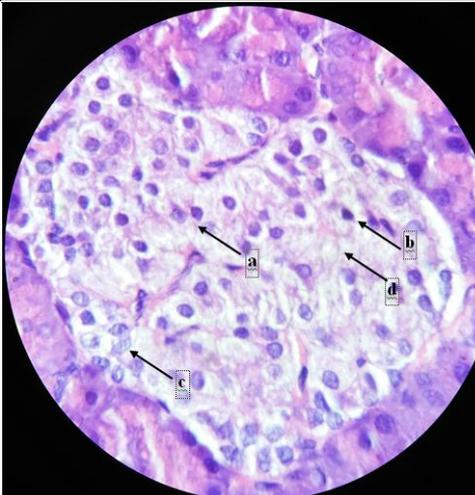
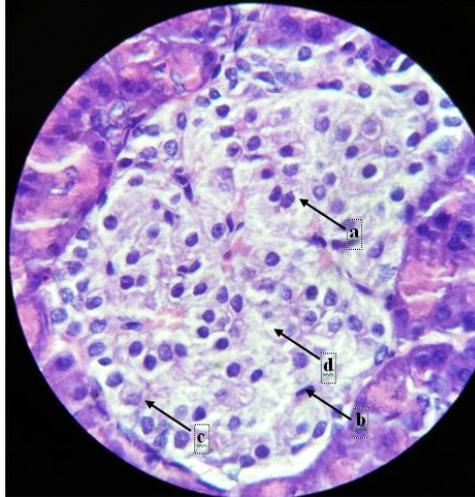
Kelompok Pemandang (Perbesaran 1000x)	Keterangan
	<p>a. Sel normal</p> <p>b. Sel piknotik</p> <p>c. Sel karioreksis</p> <p>d. Sel kariolisis</p>
	
	

Kelompok ekstrak kacapiring dosis 125 mg/kg BB
(Perbesaran 1000x)

Keterangan

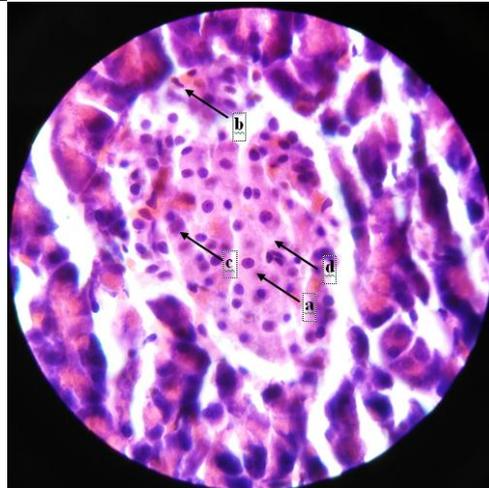


- a. Sel normal
- b. Sel piknotik
- c. Sel karioreksis
- d. Sel kariolisis

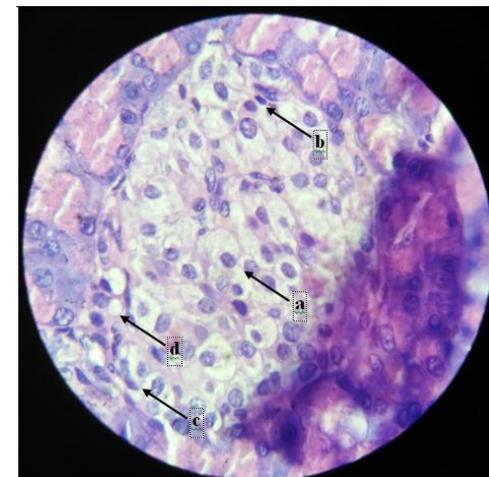
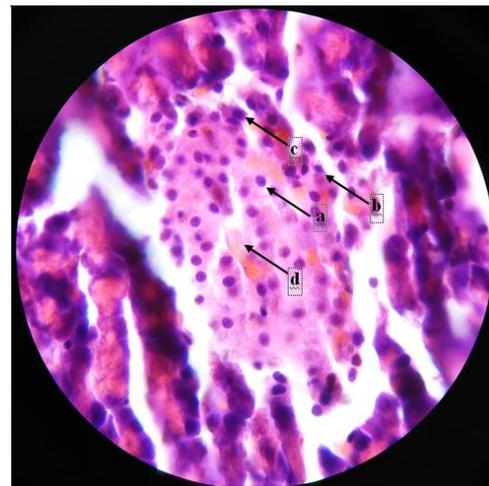


Kelompok ekstrak kacapiring dosis 250 mg/kg BB
(Perbesaran 1000x)

Keterangan



- a. Sel normal
- b. Sel piknotik
- c. Sel kariorekisis
- d. Sel kariolisis

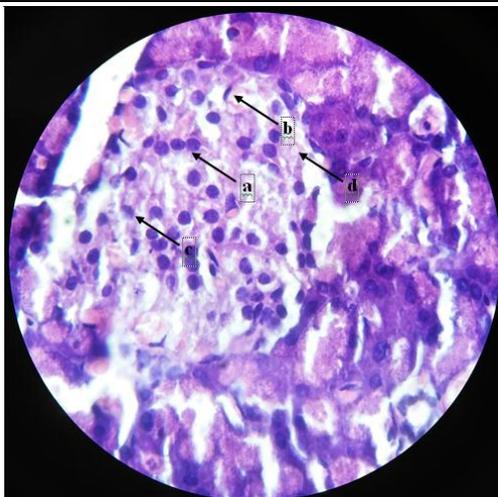
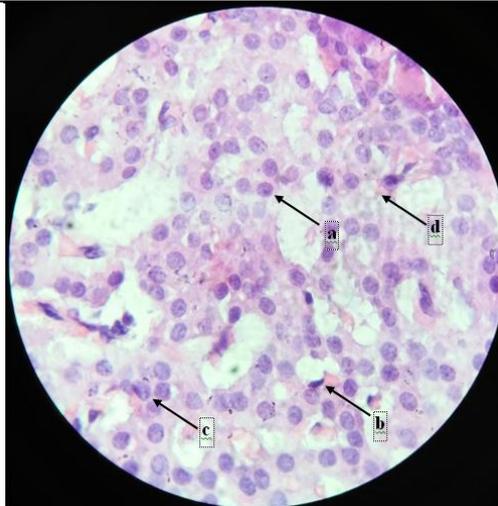


Kelompok ekstrak kacapiring dosis 500 mg/kg BB
(Perbesaran 1000x)

Keterangan



- a. Sel normal
- b. Sel piknotik
- c. Sel karioreksis
- d. Sel kariolisis



Lampiran 35. Hasil uji statistik total nekrosis sel endokrin pulau Langerhans

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompoknormal	.175	3	.	1.000	3	1.000
kelompokdiabetes	.253	3	.	.964	3	.637
kelompokpemanding	.253	3	.	.964	3	.637
kelompokdosis125mg	.253	3	.	.964	3	.637
kelompokdosis250mg	.292	3	.	.923	3	.463
kelompokdosis500mg	.253	3	.	.964	3	.637

a. Lilliefors Significance Correction

Dari data output tampak nilai probabilitas (sig.) = 1,000 > 0,05 (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut mengikuti distribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian ANOVA.

Test of Homogeneity of Variances

totalkerusakansel

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.480	5	12	.785

Nilai probabilitas dari output diatas adalah 0,087 > 0,05 maka H_0 diterima atau kelimaketompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

totalkerusakansel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2113.111	5	422.622	172.891	.000
Within Groups	29.333	12	2.444		
Total	2142.444	17			

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.

totalkerusakansel

Tukey HSD^a

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
kelompok normal	3	8.0000				
kelompok glibenklamid	3		13.6667			
kelompok dosis 500 mg/kgBB	3		16.3333			
kelompok dosis 250 mg/kgBB	3			22.3333		
kelompok dosis 125 mg/kgBB	3				26.6667	
kelompok diabetes	3					41.6667
Sig.		1.000	.353	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Dari output ANOVA diatas dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara setiap kelompok kecuali pada kelompok dosis 500 mg/KgBB dan kelompok glibenklamid dengan nilai sig.=0,353 ($P>0,05$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa kelompok dosis ekstrak daun kacapirig 500 mg/KgBB memiliki kemampuan menurunkan kerusakan sel organ pankreas tikus hampir sama dengan kelompok glibenklamid.