

**EFEK ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK  
(*Annona muricata* L.) PADA MENCIT JANTAN DENGAN BEBAN  
AMILUM DAN GLUKOSA**



Oleh :

**Atin Wulan Septyaningsih  
17113211 A**

**FALKUTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

berjudul :

**EFEK ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK  
(*Annona muricata* L.) PADA MENCIT JANTAN DENGAN BEBAN  
AMILUM DAN GLUKOSA**

Oleh :

**Atin Wulan Septiyaningsih  
17113211 A**

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



Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi

Dekan,

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

Pembimbing,

Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt

Pembimbing Pendamping,

Dra. Kusrini, M.Sc, Apt

Penguji :

1. Dr. Gunawan Pamuji W., M.Si., Apt.

1.....

2. Fransiska Leviana, S. Farm, M.Sc., Apt.

2.....

3. Reslely Harjanti, S.Farm, M.Sc., Apt.

3.....

4. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt.

4.....

## HALAMAN PERSEMBAHAN

“Sesungguhnya Allah tidak akan merubah keadaan suatu kaum sehingga mereka merubah keadaan yang ada pada diri mereka sendiri “

(QS. Ar Ra'd : 11).

“Dan bahwasanya seorang manusia tiada memperoleh selain apa yang telah diusahakannya” (An Najm : 39).

*Kamu tidak bisa kembali dan mengubah masa lalu,  
maka dari itu tataplah masa depan dan jangan buat  
kesalahan yang sama dua kali.*

*-penulis-*

*Syukur Alhamdulillah Ya Allah,*

*Engkau telah memberikan hamba kekuatan lahir dan batin serta kesabaran,  
sehingga skripsi ini dapat terselesaikan meskipun harus melewati berbagai ujian dari-Mu.*

*Dengan segenap cinta dan doa, untaian kata dalam karya ini, kupersembahkan untuk:*

*Terima kasih yang tiada henti-hentinya atas doa, kasih sayang, motivasi, pengorbanan, serta  
perjuangan yang sudah Bapak dan Ibu berikan sangat berarti bagi ananda.*

*Semoga setiap tetes keringat yang mengalir demi memperjuangkan putrimu mendapat ridho dari  
Allah SWT. Aamiin*

*Terima kasih untuk teman hidup dunia dan akhirat “Rikya Candra” yang sangat luar biasa kasih  
semangat dan motivasi.*

*Teman –teman dan Almamaterku, USB.*

*Semua pihak yang membantuku yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.*

*Semua ini merupakan anugrah dan pengalaman terindah yang tak dapat terlupakan.*

## **PERNYATAAN**

Dengan ini 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 disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta, Agustus 2018



Atin Wulan Septiyaningsih

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas kemurahan dan cinta kasih-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan menyusun skripsi yang berjudul **“EFEK ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) PADA MENCIT JANTAN DENGAN BEBAN AMILUM DAN GLUKOSA”**. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Farmasi (S. Farm) dalam ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, maka dengan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dwi Ningsih, S.Si., M.Farm., Apt., selaku pembimbing utama yang telah memberikan nasehat, dorongan, bimbingan, petunjuk dan masukan kepada penulis demi kesempurnaan skripsi ini.
4. Dra. Kistrini, M.Si., Apt., selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan dorongan, semangat dan masukan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Tim penguji yang terdiri dari Dr. Gunawan PW, M.Si. Apt., Fransiska Leviana, S. Farm, M.Sc., Apt., dan Reslely Harjanti, S.Farm, M.Sc., Apt., yang telah bersedia menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
6. Segenap Dosen, Asisten Dosen, Seluruh Staf Perpustakaan dan Staf Laboratorium Universitas Setia Budi. Khususnya : pak Ari, pak Tikno, bu Yeni, bu Cinta, pak Sigit. Terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya.

7. Bapak, Ibu, adik dan keluarga besar ku terima kasih untuk kasih sayang, dukungan, doa dan semangat yang kalian berikan.
8. Teman satu tim skripsi ku (EJB a.k.a emo) terima kasih atas bantuan dan kerjasamanya.
9. Sahabat – sahabat ku kos Abu-abu (anggi, ifa dan dika) terima kasih untuk semangat dan doa yang kalian beri.
10. Teman – teman ku USB.
11. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu telah membantu penulisan ini dapat terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Akhir kata penulis berharap semoga Allah SWT melimpahkan rahmat serta hidayah-Nya atas segala bantuan yang telah diberikan, dan mudah-mudahan skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu farmasi dan almamater tercinta.

Surakarta, Agustus 2018



Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Perumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian .....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman .....	5
1. Definisi Tanaman.....	5
2. Nama Lain.....	5
3. Morfologi tanaman .....	5
4. Manfaat tanaman.....	6
5. Kandungan kimia .....	6

5.1. Flavonoid.....	6
5.2. Saponin .....	6
5.3. Tanin .....	6
5.4. Alkaloid .....	7
B. Simplisia .....	7
C. Penyarian .....	7
1. Pengertian penyarian.....	7
2. Cara penyarian .....	8
3. Pelarut .....	9
D. Diabetes Mellitus .....	10
1. Klasifikasi DM .....	10
1.1. DM tipe 1 .....	10
1.2. DM tipe 2 .....	10
1.3. DM tipe lain.....	10
1.4. DM gestasional .....	10
2. Gejala DM .....	11
3. Diagnosis DM.....	11
4. Komplikasi DM .....	11
5. Antidiabetik oral.....	12
5.1. Golongan Sulfonilurea .....	12
5.2. Golongan Meglitinida .....	13
5.3. Golongan Biguanid .....	13
5.4. Golongan Thiazolidindion .....	13
5.5. Golongan Penghambat $\alpha$ -Glukosidase.....	13
E. Insulin .....	13
F. Metode Uji Antihiperglikemik.....	14
1. Metode uji toleransi glukosa .....	14
2. Metode uji amilum.....	14
3. Metode uji aloksan .....	15
4. Metode uji resistensi insulin.....	15
G. Enzim.....	15
1. Karakter Enzim.....	15
2. Penghambatan Aktivitas Enzim.....	16
3. Enzim $\alpha$ -Glukosidase.....	16
4. Amilum.....	17
H. Glukometer.....	18
I. Hewan uji.....	18

1. Sistemika hewan .....	19
2. Karakteristik mencit .....	19
3. Pengambilan darah hewan percobaan .....	19
J. Landasan teori .....	19
K. Hipotesis .....	21
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>22</b>
A. Populasi dan Sampel .....	22
B. Variabel Penelitian .....	22
1. Identifikasi variabel utama .....	22
2. Klasifikasi variabel utama .....	22
3. Definisi operasional variabel utama .....	23
C. Bahan dan Alat .....	23
1. Bahan .....	23
1.1. Bahan sampel .....	23
1.2. Bahan kimia .....	24
1.3. Hewan percobaan .....	24
2. Alat .....	24
D. Jalannya Penelitian .....	24
1. Determinasi tanaman .....	24
2. Pembuatan serbuk daun sirsak .....	24
3. Penetapan kelembaban daun sirsak .....	25
4. Identifikasi kandungan daun sirsak .....	25
4.1. Pemeriksaan Flavonoid.....	25
4.2. Pemeriksaan Saponin.....	25
4.3. Pemeriksaan Tanin.....	26
4.4. Pemeriksaan Alkaloid .....	26
5. Pembuatan ekstrak simplisia daun sirsak .....	26
6. Pembuatan larutan uji .....	26
6.1. Larutan CMC 0,5% .....	26
6.2. Larutan glukosa.....	26
6.3. Larutan amilum kentang .....	26
7. Penentuan dosis .....	26
7.1. Dosis acarbose .....	26
7.2. Dosis glibenklamid .....	27
7.3. Dosis glukosa .....	27
7.4. Dosis amilum kentang .....	27

7.5. Dosis untuk ekstrak daun sirsak.....	27
8. Prosedur uji diabetes metode beban amilum .....	27
9. Prosedur uji diabetes metode beban glukosa.....	28
10. Penetapan kadar glukosa darah.....	29
11. Analisa statistik.....	29

#### BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi dan Identifikasi Mikroskopi .....	32
1. Determinasi tanaman .....	32
2. Identifikasi mikroskopi serbuk daun sirsak.....	32
B. Pengambilan Bahan dan Pembuatan Serbuk.....	33
C. Penetapan Kelembaban Serbuk Daun Sirsak .....	34
D. Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak .....	34
E. Identifikasi Kualitatif Kandungan Kimia Daun Sirsak .....	35
F. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes .....	36

#### BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan .....	45
B. Saran .....	45

DAFTAR PUSTAKA .....	46
----------------------	----

LAMPIRAN.....	51
---------------	----

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Skema prosedur pengujian antidiabetes dengan induksi beban amilum .....	30
2. Skema prosedur pengujian antidiabetes dengan induksi Beban glukosa .....	31
3. Grafik hubungan rata-rata kadar glukosa darah (mg/dL) dengan waktu pemeriksaan kadar glukosa darah (menit) dengan beban amilum .....	37
4. Grafik hubungan rata-rata kadar glukosa darah (mg/dL) dengan waktu pemeriksaan kadar glukosa darah (menit) dengan beban glukosa .....	38

## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil identifikasi mikroskopik serbuk daun sirsak .....	33
2. Hasil persentase berat kering terhadap berat basah daun sirsak.....	33
3. Hasil persentase rendemen serbuk daun sirsak .....	34
4. Hasil penetapan kelembaban serbuk daun sirsak .....	34
5. Presentase rendemen ekstrak daun sirsak .....	35
6. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak.....	35
7. Rata – rata kadar glukosa (mg/dL) ekstrak etanol daun sirsak pada mencit jantan yang diinduksi beban amilum .....	37
8. Rata – rata kadar glukosa (mg/dL) ekstrak etanol daun sirsak pada mencit jantan yang diinduksi beban glukosa .....	38
9. Rata – rata penurunan kadar glukosa darah ekstrak daun sirsak pada mencit jantan yang diinduksi beban amilum .....	42
10. Rata – rata penurunan kadar glukosa darah ekstrak daun sirsak pada mencit jantan yang diinduksi beban glukosa .....	41

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan determinasi.....	52
Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji.....	53
Lampiran 3. Foto bahan-bahan yang digunakan .....	54
Lampiran 4. Foto hewan uji .....	55
Lampiran 5. Hasil identifikasi kandungan kimia daun sirsak .....	56
Lampiran 6. Data perhitungan rendemen daun sirsak.....	57
Lampiran 7. Data perhitungan rendemen serbuk daun sirsak .....	58
Lampiran 8. Penetapan kelembaban serbuk daun sirsak.....	59
Lampiran 9. Data perhitungan rendemen ekstrak kental daun sirsak.....	60
Lampiran 10. Perhitungan pembuatan larutan stock.....	61
Lampiran 11. Perlakuan hewan uji.....	63
Lampiran 12. Foto alat –alat yang digunakan dalam penelitian .....	64
Lampiran 13. Data kadar glukosa darah .....	66
Lampiran 14. Data penurunan kadar glukosa darah.....	68
Lampiran 15. Hasil analisa SPSS ANOVA 1 JALAN untuk data beban amilum 180 ( $\Delta T_1-T_4$ ).....	70
Lampiran 16. Hasil analisa SPSS ANOVA 1 JALAN untuk data beban glukosa 120 ( $\Delta T_1-T_4$ ).....	72

## INTISARI

SEPTIYANINGSIH, A.W., 2018, EFEK ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) PADA MENCIT JANTAN DENGAN BEBAN AMILUM DAN GLUKOSA, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang bermanfaat sebagai antidiabetes. Daun sirsak mengandung flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin yang dapat menghambat aktivitas transporter glukosa dari usus sehingga dapat menurunkan absorpsi glukosa. Tujuan untuk mengetahui efek dan dosis ekstrak etanol daun sirsak yang efektif menurunkan kadar glukosa darah pada mencit jantan yang diberikan beban amilum dan glukosa.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah beban amilum dan beban glukosa. Hewan uji dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor. Beban amilum terdiri dari I kontrol negatif CMC 0,5%, II kontrol positif acarbose, III ekstrak etanol daun sirsak 140 mg/20 kg BB mencit, IV 210 mg/ 20 kg BB mencit, V 280 mg/ 20 kg BB mencit. Pemberian larutan uji dilakukan selama 3 jam diinduksi beban amilum dan pengukuran dilakukan pada menit ke-30 dan ke-180. Untuk beban glukosa, kontrol positif menggunakan glibenklamid pemberian larutan uji dilakukan selama 2 jam di induksi beban glukosa dan pengukuran dilakukan pada menit ke-30, ke-120. Data yang diperoleh dianalisis dengan *Kolmogorov-Smirnov* dilanjutkan dengan anova satu arah dan uji *post hoc*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak dosis 140 mg/20 kg BB mencit, 210 mg/ 20 kg BB mencit dan 280 mg/ 20 kg BB mencit dapat menurunkan kadar glukosa pada mencit yang diberikan beban amilum dan glukosa tidak berbeda jauh terhadap kontrol pembanding obat. Dosis efektif pada kadar glukosa metode amilum dan glukosa adalah 140 mg/20 kg BB.

Kata kunci : beban amilum dan glukosa, daun sirsak, antihiperqlikemik, acarbose, glibenklamid.

## ABSTRACT

SEPTIYANINGSIH, A.W, 2018, EFFECT ANTIHYPERGLYCEMIC EFFECT OF *Annona muricata* L. LEAF ETHANOL ON MALE MICE LOAD OF AMILUM AND GLUCOSE, SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

*Annona muricata* L. is one of the medicinal plants that are useful as antidiabetes. Soursop leaf contains flavonoid, alkaloid, saponin and tannin that can inhibit the activity of glucose transporter from the intestine so as to decrease glucose. This study aim to determine the effect and dose of saursop leaf ethanol extract which is effective in reducing blood glucose levels in male mice with the load of amilum and glucose.

The method used in this study is load of amilum and glucose load. The animals were divided into 5 groups, each group consisted of 3 tails. Amilum load consisting of group I control negative CMC 0.5%, II positive control of acarbose, III ethanol extract of soursop leaf 140 mg / 20 kg BB mice, IV ethanol extract of soursop leaf 210 mg/20 kg BB mice, V ethanol extract of soursop leaves 280 mg / 20 kg BB mice. The test solution was administered for 3 hours after the induction of the starch load and the measurement was done in the 30<sup>th</sup> minute and the 180<sup>th</sup> minute. For glucose load, positive control using glibenclamide given a test solution was carried out for 2 hours in the induction of glucose load and measurement were taken in the 30<sup>th</sup>, the 120<sup>th</sup> minute. The data obtained were analyzed by *Kolmogorov-Smirnov* followed by one-way ANOVA and post *hoc test*.

The results showed that soursop leaf ethanol extracts at a dose of 140 mg/20 kg BB mice, 210 mg/20 kg BB mice and 280 mg /20 kg BB mice, weight of mice the control of drug comparison. The effective dose at starch and glucose method is 140 mg/20 kg BB mice.

Key words : Amilum and glucose, *Annona muricata* L., antihyperglycemic, acarbose, glibenclamide.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Menurut WHO jumlah penderita diabetes mellitus (DM) di Indonesia jumlahnya sangat luar biasa. Pada tahun 2000 jumlah penderita 8.400.000 jiwa, pada tahun 2003 jumlah penderita 13.797.470 jiwa dan diperkirakan tahun 2030 jumlah penderita bisa mencapai 21.300.000 jiwa. Data jumlah penderita DM di Indonesia pada tahun 2005 sekitar 24 juta orang. Jumlah ini diperkirakan akan terus meningkat pada tahun yang akan datang (Soegondo 2009).

DM adalah suatu keadaan yang disebabkan oleh kurangnya atau tidak efektifnya hormon insulin sehingga tidak dapat bekerja secara normal mengatur kadar glukosa di dalam darah yang pada orang normal sekitar 60-120 mg/dl waktu puasa, dan < 140 mg/dl pada dua jam sesudah makan. Oleh karena itu, penemuan insulin pada tahun 1921 dinilai ikut berperan mengurangi angka kematian dan keguguran ibu-ibu hamil yang menderita diabetes (Atun 2010).

Penatalaksanaan DM yang masih cukup mahal dengan beberapa efek samping obat hiperglikemik oral, membuat tanaman herbal mulai menarik perhatian. Salah satu tanaman yang telah digunakan secara empiris sebagai antidiabetes adalah sirsak (*Annona muricata* L.) terutama bagian daun sirsak. Hal ini berkaitan dengan kandungan metabolit sekunder pada sirsak seperti alkaloid, tanin, saponin dan flavonoid (Asmonie 2013).

Beberapa waktu yang lalu seiring dengan banyaknya obat kimia, tanaman obat kurang diminati. Namun, sekarang ini pengobatan tradisional kembali diminati oleh masyarakat sebagai pengobatan alternatif. Hal ini disebabkan pengobatan tradisional tidak membutuhkan biaya yang besar, sementara pengobatan modern dengan menggunakan obat kimia, biasanya membutuhkan biaya yang lebih mahal. Selain itu, obat tradisional dapat diperoleh tanpa resep dokter, dapat diramu sendiri, bahan bakunya tidak perlu diimpor, dan tanaman

obat dapat ditanam sendiri oleh pemakainya, serta resiko efek sampingnya lebih sedikit dibandingkan dengan obat-obatan kimia (Djauhariya 2004).

Salah satu tanaman yang sering digunakan di masyarakat dalam pengobatan tradisional yang dapat menurunkan kandungan glukosa adalah daun sirsak. Daun sirsak (*Annona muricata* L.) banyak manfaatnya dan beberapa jenis penyakit bisa disembuhkan dengan mengonsumsi ekstrak daun sirsak. Daun sirsak dipercaya dapat menurunkan kadar gula darah seseorang yang terkena penyakit DM (Rafiul 2014). Di Indonesia, sirsak dipercaya masyarakat untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan, seperti mencegah terjadinya serangan jantung, DM, hingga kanker (Muyassaro 2014). Menurut penelitian Stephen & Ezekiel (2006) daun sirsak menunjukkan aktivitas antioksidan dan mampu mengurangi atau mencegah oksidatif pankreas akibat diinduksi Streptozotisin.

Daun sirsak tidak kalah dengan pengobatan modern, manfaatnya untuk kesehatan semakin dirasakan ketika olahan daun sirsak dikonsumsi secara teratur karena kandungan alami yang ada pada daun sirsak berupa kalium yang berperan mengatur tekanan darah (Nuraini 2014). Sirsak juga sangat ampuh dalam mengobati DM, darah tinggi, penyakit jantung, kolesterol, radang usus buntu, obesitas dan masih banyak penyakit lainnya (Muyassaro 2014).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan penelitian pada daun sirsak memberikan hasil bahwa ekstrak daun sirsak dosis 100 mg/kg BB berpengaruh dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar dengan induksi Streptozotisin (Stephen & Ezekiel 2006). Selain itu menurut Sovia *et al.* (2017), ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki efek hipoglikemik dan hipolipidemia. Namun, tidak ada perbaikan pada pulau Langerhans yang mengalami kerusakan. Berdasarkan hal tersebut, penulis merasa perlu untuk mengetahui efek daun sirsak dalam menurunkan gula darah dengan menggunakan metode yang berbeda dalam penelitian yaitu efek antihiperlikemik ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada mencit jantan dengan beban amilum dan beban glukosa.

Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat di simplisia terdapat dalam bentuk yang mempunyai kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan zat berkhasiat dapat diatur dosisnya. Dalam sediaan ekstrak dapat distandarisasikan kadar zat berkhasiat sedangkan kadar zat berkhasiat dalam simplisia sukar didapat yang sama (Anief 1997).

Metode beban amilum dan beban glukosa, kedua beban ini memiliki mekanisme kerja yang sama yaitu hewan uji dipuasakan selama lebih kurang 20-24 jam yang diberi larutan uji secara oral setengah jam sesudah pemberian sediaan obat yang diuji. Sebelum pemberian obat, dilakukan pengambilan cuplikan darah masing-masing hewan uji untuk menghitung kadar glukosa darah awal. Kemudian glukosa darah dihitung kembali pada waktu-waktu tertentu.

### **B. Perumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak etanol daun sirsak memiliki efek antihiperglikemik pada mencit jantan yang diberi beban amilum dan glukosa ?
2. Berapakah dosis efektif ekstrak etanol daun sirsak yang memiliki efek antihiperglikemik pada mencit jantan yang diberi beban amilum dan glukosa ?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui efek antihiperglikemik ekstrak etanol daun sirsak pada mencit jantan yang diberi beban amilum dan glukosa.
2. Untuk menentukan dosis antihiperglikemik efektif ekstrak etanol daun sirsak pada mencit jantan yang diberi beban amilum dan glukosa.

### **D. Manfaat Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan sumber bagi pengembangan obat tradisional, yang berguna bagi masyarakat dan ilmu pengetahuan, memberikan informasi yang bermanfaat bagi masyarakat untuk pengembangan daun sirsak sebagai antihiperglikemik.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman**

##### **1. Definisi tanaman**

Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.) mempunyai klasifikasi sebagai berikut (Depkes, 2001) :

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Super Divisi	: Angiospermae
Divisi	: Spermatophyta
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Magnoliales
Famili	: Annonaceae
Genus	: Annona
Spesies	: <i>Annona muricata</i> L.

##### **2. Nama lain**

Tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) dikenal dengan berbagai daerah dengan nama yang berbeda, seperti: Sirsak, nangka sabrang, nangka londo (Jawa), nangka walanda (Sunda), nangka buris (Madura), durian betawi (Minangkabau), deureujan (Aceh), tarutung olanda (Batak), jambu landa (Lampung), srikaya belanda (Sulawesi Selatan), naka (Flores), naka walanda (Ternate), wakano (Nusa laut), srikaya jawa (Bali) (Anonim 2012).

##### **3. Morfologi tanaman**

Fisiologi tanaman ini secara umum adalah pohon atau perdu, tinggi mencapai 8 m dengan batang yang berkayu bulat bercabang dan berwarna coklat kotor, daunnya berbentuk tunggal, bulat telur atau lansat, ujung runcing, tepi pangkal meruncing, panjangnya 6-8 cm, lebar 2-6 cm, petualangan menyirip

berwarna hijau kekuningan atau hijau. Bunga berbentuk tunggal pada batang dan ranting, daun kelopak kecil berwarna kuning keputih-putihan, benang sari banyak mahkota berdaging dan berbentuk bulat telur. Buahnya majemuk berbentuk bulat telur dengan panjang 15-35 cm berdiameter 5-10 cm dan berwarna hijau. Biji berbentuk bulat telur, kertas dan berwarna hitam. Akar berbentuk tunggang, bulat dan berwarna coklat muda (Anonim 2001).

#### **4. Manfaat tanaman**

Buah sirsak memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, karena di dalamnya mengandung zat-zat yang mampu dapat menangkal beragam penyakit, seperti menangkal asam urat, hipertensi, osteoporosis, dan bisa membuat awet muda. Manfaat lainnya, meningkatkan daya tahan tubuh, menyembuhkan wasir, dan memperlancar pencernaan makanan. Daun sirsak bermanfaat untuk menjaga kesehatan seperti mengobati penyakit kanker, tumor, DM (Taylor, 2002).

#### **5. Kandungan kimia**

Daun sirsak mengandung beberapa senyawa kimia seperti flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid (Depkes 2001).

**5.1. Flavonoid.** Flavonoid yang manapun mungkin saja terdapat dalam satu tumbuhan dalam beberapa bentuk glikosida. Flavonoid merupakan senyawa produksi yang baik, dengan menghambat reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun nonenzim, sebagai antioksidan. Flavonoid diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tumbuhan menggunakan pelarut organik yang tidak larut dalam air tetapi agak polar etanol, metanol, dan aseton (Harborne 1987).

**5.2. Saponin.** Saponin adalah glikosida triterpen dan sterol dan telah terdeteksi dalam lebih dari 90 suku tumbuhan. Saponin merupakan senyawa aktif lebih gugus ester galoil. Pada jenis keduanya, inti molekul berupa senyawa dimer asam galat yaitu asam heksahidroksifenat, yang berikatan dengan glukosa. Bila dihidrolisis, elgitanin ini menghasilkan asam elagat (Harborne 1987).

**5.3. Tanin.** Tanin merupakan suatu zat kompleks yang terdapat campuran polifenol yang sukar dipisahkan, mempunyai rasa cepet dan mempunyai

kemampuan menyamak kulit, sehingga dapat digunakan sebagai pertahanan bagi tumbuhan, dapat mengusir hewan pemangsa tumbuhan, mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor dan menghambat enzim serta dapat mendenaturasi protein. Kelarutan tanin adalah larut dalam air, tetapi tidak larut dalam pelarut organik nonpolar (Robinson 1995).

**5.4. Alkaloid.** Alkaloid mempunyai senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan, sebagai bagian dari sistem siklik. Kegunaan alkaloid dalam tumbuhan masih sangat kabur, meskipun masing-masing telah dinyatakan terlibat sebagai pengatur tumbuh, penghalau atau penarik serangga (Robinson 1995). Alkaloid tidak berwarna, dan sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal, tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotin) pada suhu kamar (Harborne 1987).

## **B. Simplisia**

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan alam yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan atas simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia mineral (Depkes 1985).

Simplisia tumbuhan obat merupakan bahan baku pembuatan ekstrak, baik sebagai bahan obat atau sebagai produk. Ekstrak tumbuhan obat dapat berfungsi sebagai bahan baku obat tradisional atau sebagai produk yang dibuat dari simplisia (Depkes 1985).

## **C. Penyarian**

### **1. Pengertian penyarian**

Penyarian adalah penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah obat dengan menggunakan pelarut yang dipilih dimana zat yang diinginkan larut.

Sistem penyarian yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya bagi unsur yang tidak diinginkan. Cara penyarian dapat dibedakan menjadi infudasi, maserasi, perkolasi dan penyarian berkesinambungan (Depkes 1985).

Pemilihan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria-kriteria: murah, stabil, netral dan tidak mudah terbakar, selektif dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat, diperbolehkan oleh peraturan (Depkes 1986).

## **2. Cara penyarian**

Soxhletasi adalah penyarian dengan menggunakan alat pengestraksi dari gelas yang bekerja secara kontinyu dan bahan yang diekstraksi berada dalam kantong (kertas saring). Wadah gelas yang berisi kantong diletakkan antara pendingin balik dan labu yang dihubungkan melalui pipa pipet. Labu yang berisi bahan pelarut menguap dan mencapai pendingin aliran balik melalui pipa pipet, terkondensasi di dalam dan menetes di atas bahan yang diekstraksi sambil membawa keluar kandungan bahan yang diekstraksi. Pelarut yang terkumpul di dalam wadah gelas setelah mencapai tinggi maksimum akan ditarik ke dalam labu, dengan demikian zat terekstraksi terkumpul melalui penguapan kontinyu dari pelarut pengestraksi. Pada cara ini diperlukan bahan pelarut dalam jumlah kecil dan simplisia selalu baru artinya suplai bahan pelarut bebas bahan aktif berlangsung secara terus-menerus (Voigt 1994).

Keuntungan metode soxhletasi adalah membutuhkan pelarut yang sedikit, karena penyarian terjadi berulang-ulang maka zat yang tersari di dalam pelarut lebih banyak dan untuk penguapan pelarut digunakan pemanasan. Kelemahan dari metode soxhlet yaitu dibutuhkan energi tinggi dan tidak cocok senyawa yang tidak tahan panas (Voigt 1994).

Infudasi adalah proses penyarian yang umumnya digunakan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Cara ini sangat sederhana dan sering digunakan oleh perusahaan obat tradisional. Infus

adalah sediaan cair yang dibuat dengan menyari simplisia dengan air pada suhu  $90^{\circ}$  selama 15 menit. Pembuatan infus dilakukan dengan mencampur simplisia dengan derajat halus yang cocok dalam panci dengan air secukupnya, dipanaskan di atas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai  $90^{\circ}$  sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diserkai selagi panas melalui kain flanel, ditambahkan air panas secukupnya melalui ampas sehingga diperoleh volume yang dikehendaki (Depkes 1986).

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Prinsip perkolasi adalah serbuk simplisia ditempatkan dalam wadah berbentuk silinder atau kerucut yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas ke bawah melalui serbuk tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh (Depkes 1986).

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare*, yang artinya merendam. Maserasi adalah proses penyarian dengan cara serbuk direndam sampai meresap atau melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut (Ansel 1989). Maserasi dapat juga dilakukan dengan mencampur 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana kemudian dituang dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk, sari atau maserat diserkai, ampas diperas lalu ampas dicuci dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian (Depkes 1986).

### **3. Pelarut**

Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi diperoleh berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan minimum unsur yang tidak diinginkan. Pelarut yang digunakan harus mempertimbangkan banyak faktor antara lain stabil secara fisik dan kimia, netral, tidak mudah terbakar, selektif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1993).

Cairan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, karena etanol dengan konsentrasi tersebut dapat lebih mudah berpenetrasi ke dalam sel serta mempunyai kemampuan ekstraksi yang lebih baik dibandingkan dengan etanol konsentrasi rendah. Etanol dipilih karena bersifat universal yang mampu menarik semua jenis zat aktif, baik bersifat polar, semi polar dan non polar serta absorpsinya baik dan kadar toksisitasnya relatif rendah terhadap makhluk hidup. Etanol 96% mempunyai keuntungan lebih selektif, kapang dan kuman tidak bisa tumbuh, tidak beracun, netral, dan absorpsinya baik. Etanol juga dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Kerugian dalam penggunaan etanol sebagai cairan penyari adalah harganya mahal (Depkes 1986).

#### **D. Diabetes Melitus**

Diabetes Melitus merupakan gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemik dan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang menyebabkan penurunan sekresi insulin, penurunan sensitivitas insulin atau keduanya (Dipiro *et al.* 2005).

##### **1. Klasifikasi DM**

**1.1. DM tipe 1.** Diabetes tipe 1 ditandai oleh destruksi sel  $\beta$  secara selektif dan defisiensi insulin absolut atau berat. Pemberian insulin sangat penting pada pasien diabetes tipe 1. Diabetes tipe 1 selanjutnya di bagi beberapa penyebab imun dan idiopatik. Bentuk imun merupakan bentuk tersering diabetes tipe 1. Meskipun sebagian besar pasien lebih muda dari 30 tahun pada saat diagnosa dibuat, onset penyakit dapat terjadi pada semua usia (Dipiro *et al.* 2005).

**1.2. DM tipe 2.** Diabetes tipe 2 ditandai oleh resistensi jaringan terhadap kerja insulin disertai defisiensi relatif pada sekresi insulin. Individu yang terkena dapat lebih resisten atau mengalami defisiensi sel  $\beta$  yang lebih parah, dan kelainannya dapat ringan atau parah. Meskipun insulin diproduksi oleh sel  $\beta$  pada

pasien ini, namun hal tersebut tidak cukup untuk mengatasi resistensi, dan glukosa darah meningkat (Dipiro *et al.* 2005).

**1.3. DM tipe lain.** Selain dari 3 tipe DM yang jarang terjadi dan umumnya disebabkan oleh adanya infeksi, efek samping obat, endokrinopati, kerusakan pankreas serta kelainan genetik (Dipiro *et al.* 2005).

**1.4. DM gestasional.** DM gestasional (GDM) adalah kondisi intoleran terhadap glukosa pada wanita hamil yang sebelumnya tidak mengidap diabetes. Komplikasi yang terjadi 7% dari total kehamilan dan sekitar 50% wanita pengidap kelainan ini akan kembali ke nondiabetes setelah kehamilan berakhir. Penyebab GDM adalah karena meningkatkan kebutuhan energi dan kadar estrogen hormon pertumbuhan tinggi selama kehamilan. Pada hormon pertumbuhan dan estrogen menstimulasi pelepasan insulin yang berlebihan dapat menyebabkan penurunan responsivitas seluler (Dipiro *et al.* 2005).

## **2. Gejala DM**

Penyakit DM ditandai dengan gejala 3P, yaitu *poliuria* (banyak berkemih), *polidipsia* (banyak minum) dan *polifagia* (banyak makan), yang dapat dijelaskan sebagai berikut: disamping naiknya kadar gula darah, gejala kencing manis bercirikan adanya gula dalam kemih (*glycosuria*) dan banyak berkemih karena glukosa yang diekskresikan mengikat banyak air. Akibatnya timbul rasa haus, kehilangan energi dan turunnya berat badan serta rasa letih. Tubuh mulai membakar lemak untuk memenuhi kebutuhan energi, yang disertai pembentukan zat-zat perombakan, antara lain aseton, asam hidroksibutirat dan diasetal, yang membuat darah menjadi asam (Tan dan Raharja 2002).

## **3. Diagnosis DM**

Diagnosis DM awalnya dipikirkan dengan adanya gejala khas berupa *polifagia*, *poliuria*, *polidipsia*, lemas, dan berat badan turun. Gejala lain yang mungkin dikeluhkan pasien adalah kesemutan, gatal, mata kabur, dan impotensi pada pria, serta pruritus vulva pada wanita (Depkes 2005).

Keluhan dan gejala yang khas ditambah hasil pemeriksaan glukosa darah > 200 mg/dl sudah cukup untuk mendiagnosa DM. Bila hasil pemeriksaan glukosa darah meragukan, pemeriksaan TTGO (Tes Toleransi Glukosa Oral) diperlukan untuk memastikan diagnosis DM. Untuk diagnosis DM dan gangguan toleransi glukosa lainnya diperiksa glukosa darah 2 jam setelah beban glukosa. Sekurang-kurangnya diperlukan kadar glukosa darah 2 kali abnormal untuk konfirmasi diagnosis DM pada hari yang lain atau TTGO yang abnormal. Konfirmasi tidak diperlukan pada keadaan khas hiperglikemik dengan dekompensasi metabolik akut, seperti ketoasidosis, berat badan yang menurun cepat, dll (Depkes 2005).

#### **4. Komplikasi DM**

Komplikasi DM secara bermakna mengakibatkan peningkatan morbiditas dan mortalitas, demikian juga dihubungkan dengan kerusakan ataupun kegagalan fungsi beberapa organ vital tubuh seperti pada mata maupun ginjal serta sistem saraf. Penderita DM juga berisiko tinggi mengalami percepatan timbulnya aterosklerosis, yang selanjutnya akan menderita penyakit jantung koroner, penyakit vaskuler perifer dan stroke, serta kemungkinan besar menderita hipertensi ataupun dislipidemia maupun obesitas. Banyak faktor resiko yang berperan dalam mekanisme terjadinya komplikasi kardiovaskuler ini, diantaranya hiperglikemik, hipertensi, dislipidemia dan hiperinsulinemia. Hiperglikemik merupakan salah satu faktor terpenting dalam patogenesis komplikasi kronik, khususnya vaskuler diabetik, karena glukosa dan metabolitnya banyak digunakan dalam sejumlah jalur metabolisme (Hardiman 2006).

#### **5. Antidiabetik oral**

Antidiabetik oral diindikasikan untuk penderita DM tipe 2 yang kadar glukosa darahnya tidak dapat dikendalikan hanya dengan diet dan olahraga saja. Selain itu, pasien dengan gangguan fungsi hati, ginjal, atau sedang dalam masa kehamilan, tidak diperolehkan menggunakan jenis obat ini. Obat antidiabetik oral terbagi menjadi lima golongan sebagai berikut (Depkes 2005).

**5.1. Golongan Sulfonilurea.** Obat sulfonilurea dikembangkan setelah penggunaan sulfonilurea pada terapi demam tifoid menyebabkan penurunan glukosa darah. Obat sulfonilurea mempunyai aksi terutama pada sel Langerhans pankreas (aksi pankreatik). Obat ini beraksi secara pankreatik dengan menstimulasi sel  $\beta$  Langerhans pankreas untuk mensekresi insulin. Sulfonilurea juga mempunyai aksi di luar pankreas (aksi ekstra pankreatik) yaitu menurunkan kadar glukagon serum dan meningkatkan aksi insulin pada jaringan. Sulfonilurea beraksi dengan menghambat *ATP-sensitive  $K^+$  channels*, menyebabkan depolarisasi, meningkatkan kenaikan ion intraseluler sehingga meningkatkan sekresi insulin (Nugroho 2012).

Obat sulfonilurea dibagi dalam beberapa generasi, dibedakan berdasarkan penemu dan potensinya. Generasi paling baru biasanya mempunyai potensi lebih tinggi dan durasi aksinya relatif lebih lama. Semua obat sulfonilurea mempunyai efek samping hipoglikemia. Pada generasi pertama contohnya tolbutamid, klorpropamid, tolazamid, asetoheksamid; generasi kedua contohnya glibenklamid, gliburid, glipizid; generasi ketiga contohnya glimepirid.

**5.2. Golongan Meglitinid.** Obat ini mempunyai aksi mirip dengan sulfonilurea dengan mengblok *ATP-sensitive  $K^+$  channels* pada sel  $\beta$  pankreas untuk merangsang sekresi insulin. Obat ini kurang poten dibandingkan obat sulfonilurea, namun aksinya cepat. Contoh obat golongan ini adalah repaglinid dan nateglinid (Nugroho 2012).

**5.3. Golongan Biguanid.** Obat ini mempunyai efek penurunan kadar glukosa darah melalui penurunan produksi glukosa di hati (glukoneogenesis), meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan adiposa dan otot, menurunkan absorpsi glukosa di usus serta meningkatkan sintesis glikogen. Di samping itu, biguanid dapat menurunkan kadar kolesterol jahat yaitu LDL dan VLDL dalam serum. Penggunaan obat ini bisa menyebabkan gangguan pencernaan misalnya anoreksia, diarea, mual, muntah. Penggunaan jangka panjang juga akan mempengaruhi absorpsi vitamin B12 karena aksinya tidak pada pankreas maka

obat ini tidak menyebabkan hipoglikemik, dan sering dikombinasikan dengan obat yang beraksi pankreatik yaitu sulfonilurea, atau insulin. Contoh obat ini adalah metformin, fenformin, butformin (Depkes 2005).

**5.4. Golongan Tiazolidindion (TZD).** Tiazolidindion bekerja dengan meningkatkan sensitivitas insulin dan dapat menurunkan produksi glukosa oleh hati. Obat ini juga dapat meningkatkan transport glukosa ke otot dan jaringan adiposa dengan meningkatkan sintesis dan bentuk spesifik transporter glukosa. Obat golongan ini adalah rosiglitazon dan pioglitazon (Depkes 2005).

**5.5. Golongan Penghambat  $\alpha$ -Glukosidase.** Obat hipoglikemik yang beraksi dengan menghambat enzim  $\alpha$  glukosidase, suatu enzim pencernaan untuk membantu absorpsi glukosa atau karbohidrat, sehingga menurunkan kadar glukosa darah. Efek sampingnya adalah flatulensi, diarea, nyeri abdominal, kembung. Contoh obat golongan ini adalah acarbose dan miglitol (Nugroho 2012).

## **E. Insulin**

Insulin diproduksi oleh sel  $\beta$  Langerhans pankreas, dan proses pelepasannya dalam sel tersebut sudah dijelaskan sebelumnya. Insulin merupakan hormon utama yang berperan dalam metabolisme energi, dan efeknya adalah penurunan konsentrasi glukosa darah. Dalam hati, insulin berperan menghambat glikogenolisis dan glukoneogenesis, serta meningkatkan sintesis glikogen (glikogenesis) dan penggunaan glukosa (glikolisis). Dalam otot, insulin meningkatkan transport glukosa melalui aktivitas GLUT-4, dan merangsang sintesis glikogen (glikogenesis) dan glikolisis. Pada jaringan adipose, insulin memacu lipogenesis. Insulin memacu proses metabolisme glukosa pada jaringan adipose, dan menghasilkan gliserol yang kemudian diesterifikasi menjadi asam lemak untuk membentuk trigliserida (Nugroho 2012).

Untuk terapi pengganti hormon, insulin diperoleh dari sumber hewani misalnya babi dan sapi karena urutan asam amino insulin mirip dengan insulin

manusia. Namun sekarang digunakan preparat insulin manusia yang dibuat dengan menggunakan teknologi rekombinan DNA.

Preparat insulin dibagi menjadi tiga yaitu : insulin terlarut beraksi cepat (*soluble insulin*), aksi dan durasi sedang (isophane insulin, campuran *isophane* dengan *soluble insulin*), dan aksi dan durasi lama (suspensi zinc-insulin, protamine zine insulin) (Nugroho 2012).

## **F. Metode Uji Antihiperglikemik**

### **1. Metode uji toleransi glukosa**

Prinsip metode ini yaitu hewan yang telah dipuasakan kurang lebih 20-24 jam, kemudian diberikan larutan glukosa peroral dosis 70 mg/kg bobot badan setengah jam sesudah pemberian sediaan obat yang diuji. Pada awal percobaan sebelum pemberian obat, dilakukan pengambilan cuplikan darah vena marginalis telinga dari masing-masing hewan uji sebanyak 0,5 ml untuk dihitung kadar glukosa darah awal. Kemudian glukosa darah dihitung kembali pada waktu-waktu tertentu (Depkes 1993).

### **2. Metode uji amilum**

Prinsip metode ini yaitu hewan yang telah dipuasakan kurang lebih 20-24 jam diberikan larutan amilum peroral setengah jam sesudah pemberian sediaan obat yang diuji. Pada awal percobaan sebelum pemberian obat, dilakukan pengambilan cuplikan darah masing-masing hewan uji untuk dihitung kadar glukosa darah awal. Kemudian glukosa darah dihitung kembali pada waktu-waktu tertentu (Depkes 1993).

### **3. Metode uji aloksan**

Prinsip dari metode ini yaitu induksi diabetes dilakukan pada tikus yang diberi suntikan aloksan monohidrat dengan dosis 75 mg/kg BB. Penyuntikkan dilakukan secara intervena pada ekor mencit. Perkembangan hiperglikemik

diperiksa tiap hari. Pemberian obat antidiabetik secara oral dapat menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan terhadap mencit positif (Depkes 1993).

#### **4. Metode resistensi insulin**

Prinsip dari metode uji resistensi insulin yaitu induksi diabetes dilakukan pada mencit yang diinduksi obesitas dengan pemberian pakan kaya lemak dan karbohidrat serat asupan glukosa tinggi dilakukan sampai terjadi peningkatan kadar glukosa darah, yang dapat terjadi dalam waktu 4 minggu setelah pemberian pakan tersebut. Pada kondisi demikian diasumsikan mencit sudah mengalami resistensi insulin. Pemeriksaan untuk melihat sensitivitas insulin dilakukan dengan cara mencit dipuaskan selama 5 jam kemudian larutan insulin diinjeksi secara intraperitonium dengan dosis 0,75 U/kg berat badan. Kadar gula darah diukur dengan mengambil darah dari vena ekor mencit pada mencit ke 0, 15, 30, 60, 90, dan 120 setelah dilakukannya injeksi dengan menggunakan glukometer (Lian *et al.* 2007).

### **G. Enzim**

#### **1. Karakter Enzim**

Enzim adalah suatu polimer biologis yang mengkatalis atau mempercepat reaksi tanpa mengalami perubahan didalam reaksi yang berlangsung. Enzim memiliki celah khusus yaitu sisi aktif. Sisi aktif terdapat suatu rantai samping asam amino yang membentuk permukaan 3 dimensi dan sesuai dengan substrat. Bila sisi aktif enzim berikatan dengan substrat akan terbentuk kompleks enzim substrat dibuat menjadi enzim produk, kemudian terpecah menjadi enzim produk (Fitriandiny 2012).

Enzim berperan mengkatalisis perubahan satu atau lebih senyawa (substrat) menjadi satu atau lebih senyawa (produk) sehingga laju reaksi meningkat lebih cepat dari reaksi yang tidak dikatalisis. Laju reaksi yang dikatalisis oleh enzim dipengaruhi beberapa faktor, diantaranya adalah suhu, pH, dan konsentrasi substrat (Fitriandiny 2012).

## **2. Penghambatan Aktivitas Enzim**

Senyawa yang dapat menghambat reaksi yang dikatalis oleh enzim dinamakan inhibitor. Penghambatan aktivitas enzim dapat dilakukan oleh inhibitor berupa penghambatan reversibel atau penghambatan irrevesibel. Pada penghambatan enzim irrevesibel membentuk suatu ikatan konvalen antara enzim dengan inhibitor sedangkan penghambatan enzim reversibel dibagi menjadi dua jenis penghambat enzim yaitu penghambatan kompetitif dan penghambatan nonkompetitif. Penghambatan kompetitif terjadi ketika inhibitor berikatan dengan sisi aktif yang sama dengan substrat. hal ini terjadi karena inhibitor memiliki struktur yang menyerupai substrat sehingga enzim mengenal dan mengikat inhibitor sebagai substrat. Sedangkan penghambatan nonkompetitif terjadi ketika inhibitor berikatan dengan bagian enzim diluar sisi aktif. Penggabungan antara inhibitor dengan enzim dapat terjadi pada enzim bebas maupun pada enzim yang telah mengikat substrat atau kompleks enzim substrat (Poedjiadi 1994).

## **3. Enzim $\alpha$ -Glukosidase**

Enzim  $\alpha$ -Glukosidase dan  $\alpha$ -amilase merupakan enzim pankreatik yang mencukupi pemecahan karbohidrat kompleks, oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida sehingga dapat diabsorpsi dari lumen usus menuju pembuluh darah (Fitriandiny 2012).

Glukosidase tidak hanya penting sebagai pencernaan karbohidrat tetapi penting dalam pencernaan glikoprotein dan glikolipid. Glukosidase juga terkait pada berbagai gangguan metabolik dan penyakit lainnya antara lain diabetes, infeksi virus, penghambat glukosidase menjadi penelitian yang penting untuk mengetahui terapeutic yang prospektif serta mekanismenya dalam mengobati penyakit-penyakit tersebut (Fitriandiny 2012).

## **4. Amilum**

Amilum merupakan polisakarida yang terdapat banyak di alam, yaitu sebagaian terdapat pada tumbuhan. Amilum atau pati terdapat pada umbi, daun, batang dan biji-bijian. Amilum atau pati adalah karbohidrat kompleks yang tidak

larut dalam air, berwujud bubuk putih, tawar dan tidak berbau. Pati merupakan bahan utama yang dihasilkan oleh tumbuhan untuk menyimpan kelebihan glukosa (sebagai fotosintesis) dalam jangka panjang. Hewan dan manusia juga menjadikan pati sebagai sumber energi yang penting.

Amilum terdiri atas dua macam polisakarida yang kedua-duanya adalah polimer dari glukosa, yaitu amilosa 10-20% dan amilopektin 80-90%. Amilosa tersusun dari molekul-molekul  $\alpha$ -glukosa dengan ikatan glikosida  $\alpha$ -(1-4) membentuk rantai linier. Sedangkan amilopektin terdiri dari rantai-rantai amilosa (ikatan  $\alpha$ -(1-4)) yang saling terikat membentuk cabang dengan ikatan glikosida  $\alpha$ -(1-6) (Poedjiadi 1994).

Pati tersusun dari dua macam karbohidrat, amilosa dan amilopektin, dalam komposisi yang berbeda-beda. Amilosa memberikan sifat keras (*pera*) sedangkan amilopektin menyebabkan sifat lengket. Amilosa memberikan warna ungu pekat pada tes iodi sedangkan amilopektin tidak beraksi.

Amilum dapat dihidrolisis dengan sempurna menggunakan asam sehingga menghasilkan glukosa. Hidrolisis juga dapat dilakukan dengan enzim amilase. Dalam ludah dan dalam cairan yang dikeluarkan oleh pankreas terdapat amilase yang bekerja terhadap amilum yang terdapat dalam makanan kita. Oleh enzim amilase amilum diubah menjadi maltosa dalam bentuk  $\beta$  maltosa.

Pati kentang mengandung amilosa dan amilopektin dengan perbandingan 1:3. Dari tepung dan pati kentang, selanjutnya dihasilkan berbagai produk pangan olahan dengan beragam citarasa yang enak dan menarik. Pada kandungan karbohidrat kentang mencapai sekitar 18%, protein 2,4% dan lemak 0,1%. Total energi yang diperoleh dari 100 g kentang adalah sekitar 80 kkal. Dibandingkan beras, kandungan karbohidrat, protein, lemak, dan energi kentang lebih rendah. Jika dibandingkan dengan umbi-umbian lain seperti singkong, ubi jalar, dan talas, komposisi gizi kentang masih relatif lebih baik. Kentang merupakan satu-satunya jenis umbi yang kaya vitamin C, kadarnya mencapai 31 mg/100 g bagian kentang yang dimakan (Poedjiadi 1994).

## H. Glukometer

Glukometer adalah alat untuk melakukan pengukuran kadar glukosa darah kapiler. Alat ini pertama kali diperkenalkan pada tahun 1980 di Amerika Utara, dimana saat itu ada 2 jenis glukometer (Bayer) dan Accu-check meter (Roche). Alat ini menggunakan prinsip kerja *ultrasound*, menggunakan kapasitas panas dan menghantar panas sebagai sensor pengukur gula. Hasil pengukuran cukup cepat dalam hitungan detik. Kemudian seiring perkembangan teknologi, ditemukan berbagai alat yang semakin kecil, pembacaan nilai kadar glukosa secara digital dan harga yang semakin murah untuk strip yang digunakan.

Glukometer (Glucose Meter) dirancang untuk mengukur secara kuantitatif kadar glukosa darah, tujuannya adalah agar pasien diabetes dapat sewaktu-waktu mengontrol dan memonitor kadar gula darahnya sendiri. Code Chip dan Strip untuk memastikan akurasi kerja alat, maka setiap kali menggunakan strip test dari tabung kemasan yang baru code chip harus diganti karena setiap kemasan code chip bisa berbeda nomor serinya, diaplikasikan pada ujung akhir strip uji secara otomatis darah diserap kedalam sel reaksi yang ada pada strip uji. Sebuah arus listrik transien terbentuk selama reaksi dan konsentrasi glukosa darah dihitung berbasis di arus listrik yang terdeteksi oleh meter, hasil terlihat pada layar meter (Anonim 2007).

## I. Hewan Uji

### 1. Sistemika hewan

Kedudukan mencit dalam sistematika menurut Sugiyanto (1995) adalah :

Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Sub Kelas	: Placentalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae

Marga : Mus

Jenis : *Mus musculus*

## **2. Karakteristik mencit**

Pemilihan mencit menjadi subjek eksperimental bentuk relevansinya pada manusia. Walaupun mencit mempunyai struktur fisik dan anatomi yang berbeda jelas dengan manusia, tetapi mencit adalah hewan mamalia yang mempunyai beberapa ciri fisiologi dan biokimia yang hampir sama manusia terutama pada aspek metabolisme glukosa melalui perantaraan hormon insulin, mempunyai jarak gestasi yang pendek untuk berkembang biak (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

## **3. Pengambilan darah hewan percobaan**

Pengambilan darah dengan volume yang sedikit dapat dilakukan dengan memotong ujung ekor, namun cara ini tidak baik untuk pengambilan berulang. Cara lain adalah dengan mengambilnya vena lateralis ekor dengan menggunakan jarum intradermal yang sangat kecil. Pengambilan darah dengan volume yang cukup banyak dilakukan melalui sinus orbitalis darah dengan volume yang cukup banyak dilakukan melalui sinus orbitalis darah diambil dari medial canthus sinus orbitalis (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

## **J. Landasan Teori**

Diabetes Melitus (DM) adalah suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemi yang terjadi karena disebabkan oleh kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya (Soegondo *et al.* 2009). Gejala tipikal yang sering dirasakan penderita DM antara lain *poliuria*, *polidipsia* dan *polifagia* (Anonim 2005).

Terapi bagi penderita DM sering disebut dengan obat diabetes oral. Salah satu obat diabetes oral yang sering dipakai adalah golongan sulfonilurea yaitu glibenklamid. Mekanisme dari glibenklamid yaitu menstimulasi sel-sel  $\beta$  dari pulau Langerhans, sehingga sekresi insulin ditingkatkan dan memperbaiki kepekaan organ tujuan terhadap insulin (Tan & Rahardja 2002)

Penderita DM biasanya mengkonsumsi obat jangka waktu yang lama untuk tetap bisa mengendalikan kadar glukosa dalam darah, sehingga perlu diperhatikan efek samping yang memungkinkan timbul dari obat yang dikonsumsi. Salah satu dengan mengendalikan efek samping yang ditimbulkan maka dapat menggunakan obat herbal. WHO merekomendasikan obat herbal yang digunakan pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, yang utama penyakit kronis, penyakit degeneratif, DM dan kanker.

Tanaman obat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.). Daun sirsak yang mengandung senyawa kimia yang bermanfaat seperti flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid yang berkhasiat sebagai antidiabetes. Menurut penelitian sebelumnya oleh Stephen & Ezekiel (2006) pada dosis 20 mg/ 200 mg BB berpengaruh dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar dengan induksi Sterptozotosin.. Sedangkan pada ekstrak etanol kulit batang sirsak mempunyai efek anti DM (Ahalya *et al*, 2014).

Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat di simplisia terdapat dalam bentuk yang mempunyai kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan zat berkhasiat dapat diatur dosisnya. Dalam, sediaan ekstrak dapat distandarisasikan kadar zat berkhasiat sedangkan kadar zat berkhasiat dapat simplisia sukar didapat yang sama. (Anief 1997).

Proses penyarian pada penelitian ini menggunakan metode soxhletasi. Keuntungan metode soxhletasi adalah membutuhkan pelarut yang sedikit, karena penyaringan terjadi berulang-ulang maka zat yang tersari di dalam pelarut lebih banyak dan untuk penguapan pelarut digunakan pemanasan. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%. Etanol 96% memiliki keuntungan lebih selektif, kapang dan kuman tidak bisa tumbuh, tidak beracun, netral, dan absorpsinya baik.

Prinsip metode pada penelitian ini yaitu hewan yang telah dipuaskan kurang lebih 20-24 jam diberikan larutan amilum kentang dan larutan glukosa oral setengah jam sesudah pemberian sediaan obat yang diuji. Pada awal percobaan

sebelum pemberian obat, dilakukan pengambilan cuplikan darah masing-masing hewan uji untuk dihitung kadar glukosa darah awal. Kemudian glukosa darah dihitung kembali pada waktu-waktu tertentu.

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan Balb/C, berumur 2-3 bulan, berat 15-30 g yang dibuat dalam keadaan DM dengan diberi beban amilum dan beban glukosa. Pengambilan darah mencit diambil dari vena lateral ekor mencit dengan cara menusuk ekor dengan menggunakan jarum dan penetapan kadar glukosa darah dengan menggunakan glukometer. Jenis kelamin jantan dipilih karena mempunyai sistem hormonal yang lebih stabil dibandingkan dengan jenis kelamin betina.

### **K. Hipotesis**

Pertama, ekstrak etanol daun sirsak memiliki efek antihiperglikemik pada mencit jantan yang diberi beban amilum dan glukosa.

Kedua, dosis ekstrak daun sirsak berdasarkan penelitian terdahulu (Stephen dan Ezekiel 2006) yaitu 20 mg/ 200 mg BB tikus, penelitian ini menggunakan mencit dengan faktor konversi tikus ke mencit 0,14. Jadi dosis ekstrak etanol daun sirsak  $2,8 \text{ mg/ } 20 \text{ kg BB} \times 50 = 140 \text{ mg/ } 20 \text{ kg BB}$  mencit paling efektif sebagai antihiperglikemik pada mencit jantan yang diberi beban amilum dan glukosa.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

Populasi dalam penelitian ini adalah daun sirsak yang berasal dari dusun Kauman, Jatingarang, Weru, Sukoharjo, Jawa Tengah, Pada tanggal 11 Febuari 2018.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak yang berasal dari dusun Kauman, Jatingarang, Weru, Sukoharjo, Jawa Tengah. Daun yang digunakan daun yang berwarna hijau tua, tidak busuk dan harus dalam keadaan baik.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama yang pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sirsak dalam berbagi variasi dosis.

Variabel utama yang kedua dalam penelitian ini adalah kadar glukosa darah pada plasma darah mencit yang diketahui dengan menggunakan alat Glukometer.

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan.

Variabel utama keempat dalam penelitian ini adalah penelitian, kondisi laboratorium, kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan, usia, jenis kelamin, dan galur.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel umum yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasi ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel kendali.

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

Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar gula darah pada hewan uji setelah perlakuan.

Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh penelitian lain secara tepat. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kondisi fisik hewan uji yang meliputi berat badan, usia, jenis kelamin, galur, makanan dan minuman, kondisi laboratorium, dan praktikan.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, daun sirsak adalah daun dari tanaman sirsak yang diperoleh dari salah dusun Kauman, Jatingarang, Weru, Sukoharjo, Jawa Tengah.

Kedua, ekstrak daun sirsak adalah hasil yang diperoleh dengan cara soxhletasi menggunakan pelarut etanol 96%.

Ketiga, kadar glukosa darah adalah kadar glukosa darah yang diambil melalui vena lateralis ekor mencit putih jantan yang ditetapkan kadarnya dengan alat Glukometer dengan merk *Easy Touch GCU*.

Keempat, efek antihiperglikemik ekstrak etanol daun sirsak adalah adanya penurunan kadar glukosa darah pada mencit jantan setelah diberikan perlakuan.

Kelima, Dosis ekstrak etanol sirsak 140 mg/kg BB mencit paling efektif adalah sebagai antihiperglikemik pada mencit jantan setelah diberikan perlakuan.

## **C. Bahan dan Alat**

### **1. Bahan**

**1.1. Bahan sampel.** Bahan sampel yang digunakan daun sirsak yang diambil dari salah satu kebun rumah di wilayah Sukoharjo, Jawa tengah.

**1.2. Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan adalah air, air suling, larutan CMC-Na 0,5%, glukosa,  $\text{FeCl}_3$  1%, serbuk Mg, alkohol : asam klorida (1:1), amil alkohol, asam klorida 2N, reagent Dragendrof, Mayer, enzim, amilum kentang, larutan dapar. Bahan untuk penetapan kadar air menggunakan xylen. Bahan uji farmakologi yang digunakan yaitu acarbose dan glibenklamid.

**1.3. Hewan percobaan.** Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan usia 2-3 bulan, berat 15-30 gram dengan diberi pakan kaya lemak selama 4 minggu, diperoleh dari sebuah perternakan di Surakarta, Jawa tengah.

## **2. Alat**

Alat untuk membuat simplisia seperti pisau, oven, ayakan, penggiling, *Moisture Balance*, gelas ukur, corong kaca, beaker glass, pengaduk, dan kain flanel. Alat penyari yang digunakan adalah seperangkat alat soxhletasi. Alat yang digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah mencit adalah glukometer. Timbangan tikus, jarum suntik 1 ml, neraca analitik, dan alat-alat gelas, jarum suntik bentuk bola atau kanula.

## **D. Jalannya penelitian**

### **1. Determinasi tanaman**

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah mendeterminasi daun sirsak yang bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel daun sirsak. Hal ini dilakukan dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologi pada daun sirsak di Universitas Setia Budi Surakarta.

### **2. Pembuatan serbuk daun sirsak**

Bahan baku dalam penelitian ini adalah daun sirsak yang sudah tua, tidak busuk dan harus dalam keadaan baik, dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel, dikeringkan dengan alat pengering oven pada suhu  $45^\circ \text{C}$ , setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan no. 40 (Depkes 1985).

### **3. Penetapan kelembaban serbuk daun sirsak**

Penetapan kelembaban serbuk daun sirsak dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Parameter suhu dan waktu diatur pada alat. Selanjutnya menimbang serbuk daun sirsak sebanyak 2,0 gram dimasukkan ke dalam wadah. Kemudian alat diaktifkan dan ditunggu sampai layar menunjukkan angka penurunan sampel. Penurunan berhenti dengan munculnya bunyi tertentu kemudian dicatat persen untuk mengetahui persentase kandungan lembab sampel yang diukur.

### **4. Pembuatan ekstrak simplisia daun sirsak**

Serbuk daun sirsak 50 g dimasukkan ke dalam kantong dari kertas saring yang berbentuk silinder dan ujung-ujungnya diikat dengan tali. Selanjutnya dimasukkan ke dalam alat Soxhlet dan ditambah dengan etanol 96% kurang lebih 375 ml dilakukan sebanyak dua kali sirkulasi. Proses ekstraksi dilakukan sampai filtrat yang tersirkulasi jernih. Dilakukan perhitungan terhadap jumlah banyaknya sirkulasi, kemudian dilakukan pemekatan (Voigt 1994).

### **5. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun sirsak**

Identifikasi kandungan senyawa kimia pada tanaman sirsak meliputi senyawa flavonoid, saponin, tanin dan alkaloid.

**5.1. Pemeriksaan flavonoid.** Pemeriksaan flavonoid sebanyak 2 mg ekstrak daun sirsak dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml air panas, tambahkan 0,1 g serbuk Mg, 2 ml larutan alkohol: asam klorida (1:1) dan pelarut amil alkohol, kemudian dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan perubahan warna merah/ kuning/ jingga pada amil alkohol (Depkes 1980).

**5.2. Pemeriksaan saponin.** Pemeriksaan saponin serbuk dan ekstrak daun sirsak ditimbang sebanyak 0,5 g dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambah air panas 10 ml, dinginkan lalu kocok kuat-kuat selama 10 menit. Reaksi positif bila terbentuk buih setinggi 1 sampai 10 cm, pada penambahan setetes asam klorida 2N buih tidak hilang (Depkes 1980).

**5.3. Pemeriksaan tanin.** Pemeriksaan tanin dilakukan dengan cara mengambil 5 ml ekstrak daun sirsak, kemudian ditambah 10 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Perubahan warna hijau, merah, ungu, biru, atau hitam pekat menunjukkan adanya tanin (Robinson 1995).

**5.4. Pemeriksaan alkaloid.** Pemeriksaan alkaloid ekstrak daun sirsak ditimbang 500 mg dilarutkan dalam 100 ml air panas lalu dipanaskan selama 15 menit, didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan A. Dimasukkan larutan A sebanyak 5 ml dalam tabung reaksi, kemudian ditambah 1,5 ml asam klorida 2 %, larutan dibagi 3 sama sebanyak dalam tabung reaksi yang lain. Tabung reaksi yang pertama untuk pembanding dan tabung reaksi kedua ditambah 2 tetes reagent Dragendrof, reaksi positif ditunjukkan adanya kekeruhan atau endapan coklat. Tabung ketiga ditambah 2-4 tetes Mayer, reaksi positif ditunjukkan adanya putih kekuningan (Robinson 1995).

## **6. Pembuatan larutan uji**

**6.1. Larutan CMC-Na 0,5% b/v.** Larutan CMC-Na konsentrasi 0,5% b/v dibuat dengan cara melarutkan 0,5 g CMC-Na sedikit demi sedikit dalam air suling panas sambil diaduk pada volume 100 ml air suling.

**6.2. Larutan glukosa.** Larutan glukosa dengan konsentrasi 50% dibuat dengan cara 25 g glukosa dilarutkan dengan air suling hingga volume 50 ml.

**6.3. Larutan amilum kentang.** Larutan amilum kentang dengan cara menimbang sebanyak 1500 g amilum kemudian dilarutkan dalam 50 ml larutan dapar.

## **7. Penentuan dosis**

Volume maksimal larutan uji yang dapat diberikan pada mencit dengan berat badan 20 g secara oral sebesar 1,0 ml.

**7.1. Dosis acarbose.** Dosis acarbose dihitung dari dosis lazim yang dikonversikan ke dalam dosis eksternal. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,0026. Dosis terapi acarbose untuk manusia 70 kg adalah 50 mg. Dosis untuk mencit  $50 \text{ mg} \times 0,0026$

= 0,13 mg. Volume pemberian pada mencit adalah sebesar 2,6 ml/20 g BB mencit dari larutan stok 0,05%.

**7.2. Dosis glibenklamid.** Dosis glibenklamid dihitung dari dosis lazim. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,0026. Dosis terapi glibenklamid untuk manusia 70 kg adalah 5 mg. Dosis glibenklamid untuk mencit sebesar 0,013 mg/20 g BB. Volume pemberian pada mencit adalah sebesar 0,26 ml/20 g BB mencit dari larutan stok 0,005 %.

**7.3. Dosis glukosa.** Dosis glukosa untuk manusia dengan berat badan 70 kg adalah 75 g. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,0026. Dosis glukosa untuk mencit sebesar 200 mg x 0,0026 = 0,52 mg/20 g BB mencit. Volume pemberian untuk mencit 0,41 ml/20 g BB dari larutan stok 0,08%.

**7.4. Dosis amilum kentang.** Dosis amilum dari penelitian terdahulu (Tunny 2014) adalah 3 g/kg BB tikus. Dalam penelitian ini menggunakan mencit, konversi tikus ke mencit adalah 0,14. Jadi dosis amilum untuk mencit sebesar 600 mg x 0,14 = 84 mg/ 20 g BB mencit. Volume pemberian pada mencit adalah sebesar 0,2 ml/20 g BB mencit dari larutan stok 4,2%.

**7.5. Dosis untuk ekstrak daun sirsak.** Dosis ekstrak daun sirsak dari penelitian terdahulu (Stephen & Ezekiel 2006) pada dosis 20 mg/200 mg BB tikus. Penelitian ini menggunakan mencit dengan faktor konversi tikus ke mencit sebesar 0,14. Jadi dosis efektif untuk mencit 2,8 mg/20 g BB x 140 mg/ 20 kg BB mencit. Volume pemberian pada mencit adalah sebesar 0,2 ml/20 g BB mencit dari larutan stok 1,4 %.

## **8. Prosedur uji diabetes metode beban amilum**

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan *Balb/c* yang berumur 3-4 bulan dengan berat 15-30 gram. Jenis kelamin yang dipilih adalah jantan, sebab kadar gula darah dipengaruhi oleh hormon, dimana hormon ini pada betina umumnya tidak stabil. Mencit yang telah dipuaskan selama kurang lebih 16 jam, ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenal, lalu ditempatkan ke dalam

kotak penahan hewan. Mencit yang digunakan sebanyak 15 ekor secara acak dibagi menjadi 5 kelompok dan masing-masing terdiri dari 3 ekor mencit. Pengambilan darah awal dilakukan sebelum mencit diberi perlakuan yang diambil melalui vena lateralis ekor mencit ( $T_0$ ). Pada penelitian menurut beban amilum dengan dosis. Sebelum semua mencit diberikan larutan amilum kentang oral, masing-masing kelompok mendapat perlakuan yang berbeda yaitu :

Kelompok 1 : diberikan kontrol negatif (CMC 0,5%)

Kelompok 2 : diberikan kontrol positif acarbose 0,13 mg/20 g bb mencit

Kelompok 3 : diberikan ekstrak etanol 96% daun sirsak 140 mg/20 kg bb mencit

Kelompok 4 : diberikan ekstrak etanol 96% daun sirsak 210 mg/20 kg bb mencit

Kelompok 5 : diberikan ekstrak etanol 96% daun sirsak 280 mg/20 kg bb mencit

Sepuluh menit setelah pemberian sediaan uji, diberikan larutan amilum kentang 0,2 ml/20 g BB mencit secara oral. Pengambilan sampel darah dilakukan pada menit ke-30 ( $T_1$ ), dan 180 ( $T_4$ ) setelah pemberian larutan amilum kentang untuk selanjutnya diukur masing-masing kadar glukosa.

### **9. Prosedur uji diabetes metode beban glukosa**

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan *Balb/c* yang berumur 3-4 bulan dengan berat 15-30 gram. Jenis kelamin yang dipilih adalah jantan, sebab kadar gula darah dipengaruhi oleh hormon, dimana hormon ini pada betina umumnya tidak stabil. Mencit yang telah dipuasakan selama sekitar 16 jam, ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenal, lalu ditempatkan ke dalam kotak penahan hewan. Mencit yang digunakan sebanyak 15 ekor secara acak dibagi menjadi 5 kelompok dan masing-masing terdiri dari 3 ekor mencit. Pengambilan darah awal dilakukan sebelum mencit diberi perlakuan yang diambil melalui vena lateralis ekor mencit ( $T_0$ ). Sebelum semua mencit diberikan larutan glukosa oral, masing-masing kelompok mendapat perlakuan yang berbeda yaitu :

Kelompok 1 : diberikan kontrol negatif (CMC 0,5%)

Kelompok 2 : diberikan kontrol positif glibenklamid 0,013 mg/20 g bb mencit

Kelompok 3 : diberikan ekstrak etanol 96% daun sirsak 140 mg/20 kg bb mencit

Kelompok 4 : diberikan ekstrak etanol 96% daun sirsak 210 mg/20 kg bb mencit  
Kelompok 5 : diberikan ekstrak etanol 96% daun sirsak 280 mg/20 kg bb mencit  
Sepuluh menit setelah pemberian sediaan uji, diberikan larutan glukosa 0,4 ml/20 g BB mencit secara oral. Pengambilan sampel darah dilakukan pada menit ke-30 (T1), dan 120 (T4) setelah pemberian larutan glukosa untuk selanjutnya diukur masing-masing kadar glukosa.

#### **10. Penetapan kadar glukosa darah**

Alat yang digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah adalah glukometer. Sebelum digunakan alat glukometer yang baik harus memiliki kemampuan untuk membaca barcode untuk kalibrasi agar hasil pengukuran tetap akurat. Prinsip kerja alat ini sampel darah akan masuk ke dalam test strip melalui aksi pipa kapiler. Glukometer secara otomatis akan hidup ketika strip dimasukkan dan akan mati ketika strip dicabut, dengan menyentuhkan darah ke strip, reaksi dari wadah strip akan otomatis menyerap darah ke dalam strip melalui aksi kapiler. Ketika wadah terisi penuh oleh darah, alat akan mulai mengukur kadar glukosa darah, hasil pengukuran diperoleh setelah 8 detik.

#### **11. Analisis statistik**

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji distribusi normal (Kolmogorov-Smirnov) digunakan untuk menguji apakah data distribusi normal atau tidak. Jika terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji parametik (ANOVA) dan uji *Post Hoc* untuk melihat apakah terdapat perbedaan di antara masing-masing kelompok perlakuan.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Determinasi dan Identifikasi Mikroskopis**

##### **1. Determinasi tanaman**

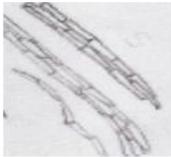
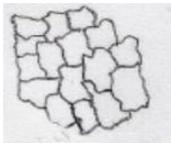
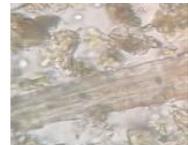
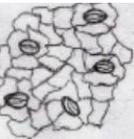
Berdasarkan hasil identifikasi surat no : UGM/FA/1995/M/03/02 dapat dipastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.) (Lampiran 1).

##### **2. Identifikasi mikroskopik tanaman sirsak**

Ciri – ciri mikropskopi tanaman sirsak antara lain pada daun pada penampang melindungi melalui tulang daun tampak sel epidermis atas bentuk 4 persegi panjang dengan dinding bergelombang, kutikula tebal. Sel epidermis bawah lebih kecil daripada epidermis atas, bentuk tidak beraturan dengan dinding bergelombang, terdapat stomata. Rambut penutup bentuk lurus, terdiri atas 2 sel sampai 3 sel, ujung tumpul. Mesofil meliputi jaringan palisade terdiri dari lapisan sel. Pada tulang daun terdapat berkas pembuluh kolateral yang dikelilingi serabut, dan terdapat parenkim bernoktah.

Serbuk berwarna kehijauan, fragmen pangenal adalah epidermis atas bentuknya tidak beraturan, dinding bergelombang. Epidermis bawah bentuknya tidak beraturan, dinding bergelombang dengan stomata tipe anomositik. Rambut penutup panjang, terdiri dari 2 -3 sel, dinding tebal, lumen lebar. Fragmen pembuluh kayu dengan penebalan tangga. Sel batu bundar, lumen kecil, bernoktah. fragmen mesofil dengan palisede. Mesofil dengan sel sekresi bentuk bundar dinding tebal. Fragmen parenkim bernoktah.

Tabel 1. Hasil identifikasi mikroskopik serbuk daun sirsak

Hasil pengamatan	Pustaka (Anonim 1989)	Keterangan
		Serabut
		Rambut penutup
		Epidermis atas
		Pembulu kayu
		Jaringan palisade
		Stomata tipe anomostik

### B. Pengambilan Bahan dan Pembuatan Serbuk

Hasil persentase berat kering terhadap berat basah daun sirsak dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil persentase berat kering terhadap berat basah daun sirsak

Berat basah (g)	Berat kering (g)	Rendemen (%)
2.000	700	35

Tabel 2 menunjukkan bahwa daun sirsak dengan berat basah 2.000 g dikeringkan dan diperoleh berat kering sebesar 700 g yang berarti persentase berat kering terhadap berat basah adalah sebesar 35 % b/b. Perhitungan rendemen daun sirsak dapat dilihat pada Lampiran 6.

Hasil persentase rendemen serbuk daun sirsak dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3. Hasil persentase rendemen serbuk daun sirsak**

Berat sebelum diserbuk (g)	Berat setelah diserbuk (g)	Rendemen (%)
700	400	1,75

Tabel 3 menunjukkan bahwa serbuk daun sirsak dengan berat sebelum dilakukan penyebukan sebanyak 700 g kemudian setelah dilakukan penyebukan diperoleh berat serbuk sebanyak 400 g yang berarti persentase rendemen serbuk daun sirsak adalah 1,75 % b/b. Perhitungan rendemen serbuk daun sirsak dapat dilihat pada Lampiran 7.

### C. Penetapan Kelembaban Serbuk Daun Sirsak

Hasil penetapan kelembaban serbuk daun sirsak diperoleh sebagai berikut

**Tabel 4. Hasil penetapan kelembaban serbuk daun sirsak**

No	Berat awal (gram)	Berat hasil (gram)	Kelembaban (%)
1	2	1,84	8
2	2	1,86	7
3	2	1,84	8
Rata – rata			7,67±0,577

Rata-rata kadar kelembaban pada serbuk daun sirsak 7,67 %. Kelembaban simplisia memenuhi persyaratan suatu simplisia yaitu kurang dari 10 %. Perhitungan kelembaban serbuk daun sirsak dapat dilihat pada Lampiran 8.

### D. Pembuatan Ekstrak Daun Sirsak

Hasil perhitungan ekstrak etanol daun sirsak dapat dilihat pada tabel di bawah ini. Perhitungan rendemen ekstrak dapat dilihat pada Lampiran 9.

**Tabel 5. Persentase rendemen ekstrak daun sirsak**

Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
350	127,19	36,34

Tabel 5 menunjukkan bahwa bobot serbuk ekstrak daun sirsak sebanyak 350 g kemudian setelah dilakukan bobot ekstrak daun sirsak sebanyak 127,19 g yang berarti persentase rendemen ekstrak daun sirsak adalah 36,34 % b/b. Perhitungan rendemen ekstrak daun sirsak dapat dilihat pada Lampiran 9.

### E. Identifikasi Kualitatif Kandungan Kimia Daun Sirsak

Hasil identifikasi kualitatif kandungan kimia pada serbuk dan ekstrak etanol daun sirsak dapat dilihat pada Tabel 6 hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 5.

**Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun sirsak**

Kandungan kimia	Pustaka	Hasil serbuk daun sirsak	Hasil ekstrak etanol daun sirsak
Flavonoid	Warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Anonim 1980)	(+)	(+)
Saponin	Terbentuk buih yang mantap tinggi 1-10 cm + HCl 2N buih tidak hilang (Anonim 1980)	(+)	(+)
Alkaloid	Ditambahkan larutan Mayer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih/kuning dan dengan Dragendrof terbentuk endapan warna coklat sampai hitam (Anonim 1980)	(+)	(+)
Tanin	Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna violet (Robinson, 1995)	(+)	(+)

Hasil identifikasi terhadap serbuk dan ekstrak etanol daun sirsak menunjukkan adanya kandungan senyawa kimia berupa flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin. Hal ini dapat diketahui dengan membandingkan hasil uji kualitatif yang dilakukan dengan pustaka.

Pada suatu penelitian ditunjukkan bahwa ekstrak (*Annona muricata* L.) mengandung beberapa kandungan senyawa seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin yang telah diteliti dalam pelarut ekstrak yang berbeda-beda (Vijayameena *et al.* 2013).

#### **F. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes**

Pada penelitian ini menggunakan lima kelompok kontrol yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan tiga kelompok perlakuan. Kontrol negatif yang digunakan adalah larutan CMC dengan konsentrasi 0,5% yang sekaligus sebagai *suspending agent*. Pada hewan uji yang diberi perlakuan dengan CMC 0,5% menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah, artinya keberhasilan induksi beban amilum dan beban glukosa dalam membuat keadaan hiperglikemi sudah tercapai.

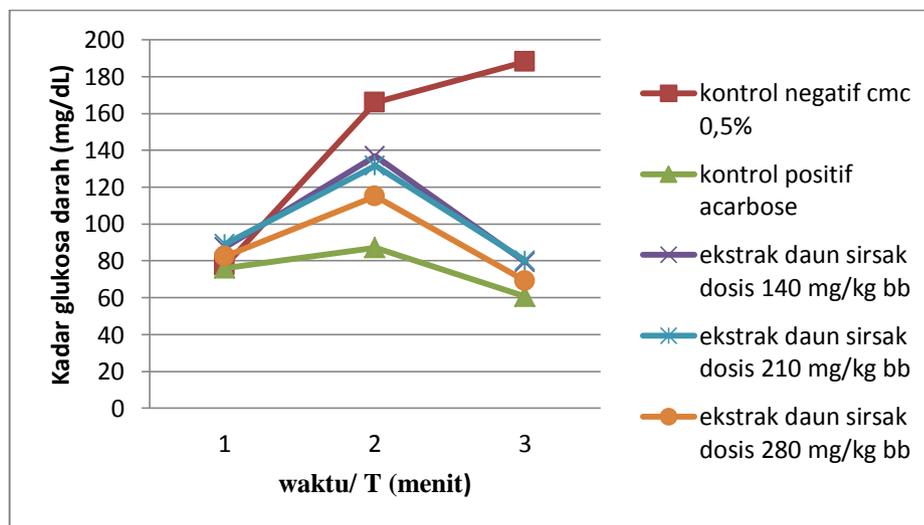
Kontrol positif yang digunakan adalah glibenklamid dan acarbose. Glibenklamid adalah obat pilihan pertama pada pasien DM. Mekanisme kerja glibenklamid yaitu dengan merangsang sekresi hormon insulin dari granula sel-sel  $\beta$  Langerhans pankreas. Interaksinya dengan *ATP-sensitive K channel* pada membrane sel-sel  $\beta$  menimbulkan depolarisasi membran dan keadaan ini akan membuka kanal Ca dengan terbukanya kanal Ca, maka ion  $Ca^{2+}$  akan masuk ke dalam sel  $\beta$  kemudian merangsang granula yang berisi insulin sehingga terjadi sekresi insulin. Pada penggunaan jangka panjang atau dosis yang besar glibenklamid pada menyebabkan hipoglikemi (Suherman 2007). Acarbose mempunyai mekanisme menghambat kerja enzim alfa glukosidase dan menghambat alfa-amilase pankreas.

**Tabel 7. Rata – rata kadar glukosa (mg/dl) ekstrak etanol daun sirsak pada mencit jantan yang diinduksi beban amilum**

Kelompok	Kadar glukosa (mg/dL)		
	T0	T1 (30)	T4 (180)
Kontrol negatif CMC 0,5%	77,6	166,0	188,0
Kontrol positif Acarbose	76,0	87,0	60,6
Ekstrak daun sirsak dosis 140 mg/kg bb	87,3	137,0	79,3
Ekstrak daun sirsak dosis 210 mg/kg bb	89,3	131,6	80,0
Ekstrak daun sirsak dosis 280 mg/kg bb	82,6	115,0	69,0

**Keterangan:**

- T0 : rata – rata kadar glukosa darah awal (mg/dL)  
 T1 : rata – rata kadar glukosa setelah diinduksi beban glukosa (mg/dL)  
 T4 : rata – rata kadar glukosa darah setelah perlakuan pada menit ke-180 (mg/dL)



**Gambar 3. Grafik hubungan rata – rata kadar glukosa darah (mg/dL) dengan waktu pemeriksaan kadar glukosa darah (menit) dengan beban amilum.**

Dari penelitian ini dapat dilihat gambar 2 pada menit ke 0 (T0) kadar glukosa darah hewan uji dalam keadaan awal dikarenakan belum ada perlakuan yang diberikan pada setiap kelompok. Sedangkan pada menit ke 30 (T1) semua perlakuan menunjukkan adanya kenaikan kadar glukosa ini disebabkan beban amilum untuk mengetahui kerja dalam menghambat enzim  $\alpha$  glukosidase.

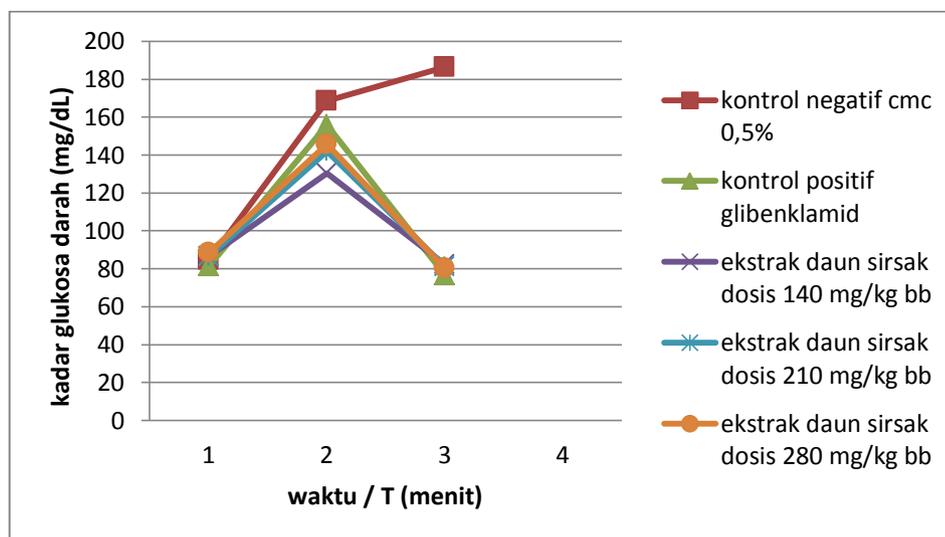
Pada menit ke 180 (T4) untuk perlakuan kelompok kontrol positif (Acarbose) mengalami penurunan kadar glukosa darah karena Acarbose menghambat pemecahan karbohidrat menjadi glukosa, sehingga membantu menurunkan kadar gula darah, (Lampiran 13).

**Tabel 8. Rata – rata kadar glukosa (mg/dl) ekstrak etanol daun sirsak pada mencit jantan yang diinduksi beban glukosa**

Kelompok	Kadar glukosa (mg/dL)		
	T0	T1 (30)	T4 (120)
Kontrol negatif CMC 0,5%	84,6	168,6	186,3
Kontrol positif glibenklamid	81,6	156,0	76,6
Ekstrak daun sirsak dosis 140 mg/kg bb	86,6	130,3	82,3
Ekstrak daun sirsak dosis 210 mg/kg bb	86,6	142,0	81,3
Ekstrak daun sirsak dosis 280 mg/kg bb	88,6	145,6	80,3

**Keterangan:**

- T0 : rata – rata kadar glukosa darah awal (mg/dL)  
 T1 : rata – rata kadar glukosa setelah diinduksi beban glukosa (mg/dL)  
 T4 : rata – rata kadar glukosa darah setelah perlakuan pada menit ke-120 (mg/dL)



**Gambar 3. Grafik hubungan rata – rata kadar glukosa darah (mg/dL) dengan waktu pemeriksaan kadar glukosa darah (menit) dengan beban glukosa.**

Dari peitian ini dapat dilihat gambar 3 pada menit ke 0 (T0) kadar glukosa darah hewan uji dalam keadaan awal dikarenakan belum ada perlakuan yang

diberikan pada setiap kelompok. Sedangkan pada menit ke 30 (T1) semua perlakuan menunjukkan adanya kenaikan glukosa darah setelah diberikan beban glukosa. Peningkatan kadar glukosa ini disebabkan glukosa yang diberikan telah diabsorpsi oleh saluran pencernaan dan diedarkan dalam darah.

Pada menit ke 120 (T4) semua perlakuan menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa, hal ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan mampu menurunkan kadar glukosa darah. Selain itu penurunan kadar glukosa darah ini dapat disebabkan karena adanya absorpsi kedalam sel dan adanya kerja antihiperqlikemik yang terdapat dari tanaman. Pada kelompok glibenklamid juga menunjukkan penurunan kadar glukosa darah. Glibenklamid merupakan obat hipoglikemik oral yang biasa digunakan untuk menurunkan glukosa dalam darah yang bekerja dengan cara menstimulasi sel-sel  $\beta$  dari pulau Langerhans, sehingga sekresi insulin di tingkatkan, (Lampiran 13).

Efek antihiperqlikemi dari ekstrak etanol daun sirsak kemungkinan disebabkan karena daun sirsak mengandung beberapa senyawa kimia seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Mekanisme flavonoid dalam menurunkan kadar glukosa darah secara umum adalah dengan meningkatkan toleransi glukosa dan menghambat aktivitas transporter glukosa dari usus sehingga dapat menurunkan glukosa darah dengan mekanisme kerja yaitu merangsang sel  $\beta$  pankreas untuk melepaskan lebih banyak insulin, karena penggunaan glukosa perifer dapat ditingkatkan melalui otot rangka dan melalui rangsangan sel  $\beta$  (Ramulu dan Goverdhan 2012).

Penelitian yang dilakukan oleh (Goutam 2011). menunjukkan bahwa flavonoid memiliki aktivitas dalam menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase yang dapat mempengaruhi mekanisme pleiotropic dan mengatur kegiatan enzim yang terlibat dalam jalur metabolisme karbohidrat sehingga dapat menurunkan terjadinya komplikasi DM. Hasil uji aktivitas antioksidan secara *in vitro* dari 3 spesies daun

sirsak menunjukkan bahwa ekstrak (*Annona muricata* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih berpotensi sebagai pemanfaatan radikal bebas yang efektif dibandingkan dengan spesies *Annona* lainnya secara *in vitro* (Kedari *et al.* 2014).

Hasil identifikasi golongan flavonoid menunjukkan bahwa daun sirsak mengandung flavonoid golongan flavon, dihidroflavonol, flavonol, dan flavanon (Wakhidatul 2013). Efek antidiabetik flavonoid golongan flavon juga telah dibuktikan melalui penelitian pada tikus, disimpulkan bahwa flavon dapat memodulasi metabolisme lipid, glukosa abnormal, memperbaiki resistensi insulin perifer dan mengurangi komplikasi diabetes yang disebabkan oleh abnormalitas profil lipid dan resistensi insulin (Zhao *et al.* 2007). Aksi flavonoid yang bermanfaat pada diabetes mellitus adalah melalui kemampuannya untuk menghindari absorpsi glukosa atau memperbaiki toleransi glukosa. Flavonoid menstimulasi pengambilan glukosa pada jaringan perifer, mengatur aktivitas dan ekspresi enzim yang terlibat dalam jalur metabolisme karbohidrat dan bertindak menyerupai insulin, dengan mempengaruhi mekanisme *insulin signaling* (Cazarolli *et al.* 2008).

Saponin memiliki efek antidiabetes karena mekanisme kerja menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase yaitu enzim yang bertanggung jawab pada pengubahan karbohidrat menjadi glukosa (Makalalg *et al.* 2013). Salah satu cara mengendalikan kadar gula dalam darah penderita DM adalah menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase (Suarsana *et al.* 2008). Enzim  $\alpha$ -glukosidase berperan dalam metabolisme pati dan glikogen pada jaringan tumbuhan dan hewan yang dicirikan oleh berbagai substrat yang mengenalinya yaitu maltosa, glukosamilosa, sukrosa, dan lain-lain (Chen *et al.* 2004).

Daun sirsak mengandung senyawa asetogen, tanin, fitosterol, kalsium oksalat, alkaloid murisin, flavonoid, dan steroida (Suranto 2011). Daun sirsak memiliki banyak kandungan senyawa antara lain tanin, fitosterol, kalsium oksalat, alkaloid murisin (Arif 2006). Alkaloid memiliki kemampuan meregenerasi sel  $\beta$

pankreas yang rusak. Alkaloid berperan dalam proses penyerapan glukosa yang relatif tinggi di  $\beta$ -TC6 dan C2C12. Pada dosis rendah, alkaloid ini menunjukkan potensi antioksidan yang baik dengan mengurangi kerusakan oksidatif karena induksi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> pada sel  $\beta$ -TC6. Alkaloid juga dapat berfungsi sebagai “sensitizer insulin” dalam pengolaan diabetes tipe 2 (Soon *et al.* 2013).

Tanin mempunyai aktivitas penurunan kadar glukosa darah yaitu dengan meningkatkan glikogenesis. Selain itu, tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis dan berfungsi pengkhelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan sebagai akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Meidiana & Widjanarko 2014).

Soxhletasi adalah suatu metode / proses pemisahan suatu komponen yang terdapat dalam zat padat dengan cara penyaringan berulang-ulang dengan menggunakan pelarut tertentu, sehingga semua komponen yang diinginkan akan terisolasi. Keuntungan dari metode soxhletasi sampel terekstraksi dengan sempurna, proses ekstraksi lebih cepat, pelarut yang digunakan harus sampel yang tahan panas atau tidak dapat digunakan pada sampel yang tidak tahan panas. Karena sampel yang tidak tahan panas akan teroksidasi atau tereduksi ketika proses soxhletasi berlangsung. Cara kerja soxhletasi adalah serbuk kering yang diekstraksi berada di dalam kantong sampel yang diletakkan pada alat ekstraksi (tabung soklet). Tabung soklet yang berisi kantong sampel diletakkan diantara labu destilasi dan pendingin, disebelah bawah dipasang pemanas.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Velayutham 2012) tanin dapat mencegah kerusakan oksidatif dengan cara melindungi jaringan dari efek radikal bebas dan hidrogen peroksida. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa tanin memiliki efek antioksidan dan aktivitas antidiabetes. Pada penelitian yang dilakukan oleh Stephen (2006) senyawa tanin golongan catechin terdapat dalam tanaman sirsak. Catechin dapat meregenerasi sel  $\beta$  pankreas sehingga merangsang sekresi insulin (Nilufer *et al.* 2006).

Menurut Arthur (2011) dalam penelitiannya yang diamati pada dosis 100 mg/kg bb tikus, 1000 mg/kg bb tikus, 2500 mg/kg bb tikus dan 5000 mg/kg bb tikus, hasil menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak memiliki efek antihiperqlikemi dan antihiperlipidemi pada dosis rendah, namun pada dosis yang tinggi dapat menyebabkan kerusakan ginjal dan memberikan efek negatif pada fungsi rahim. Jadi untuk penggunaan jangka panjang, fungsi ginjal harus dipantau sambil menghindari penggunaan selama kehamilan. Pada penelitian ini dosis yang digunakan masih dalam kategori dosis rendah yaitu 140 mg/20 kg BB mencit, 210 mg/ 20 kg BB mencit dan 280 mg/ 20 kg BB mencit, artinya ekstrak etanol daun sirsak dapat memberikan efek antihiperqlikemi pada mencit jantan yang diinduksi beban amilum dan beban glukosa. Kelemahan dalam penelitian ini adalah dalam pengelompokkan hewan uji, sehingga data T1 rata-rata kadar glukosa darah yang dihasilkan tidak optimal. Pada penelitian selanjutnya disarankan agar pengelompokkan hewan uji dilakukan setelah induksi beban amilum dan beban glukosa, dikelompokkan rupa sehingga data T1 rata-rata kadar glukosa darah pada masing-masing kelompok sama.

**Tabel 9. Rata-rata penurunan kadar glukosa darah ekstrak daun sirsak pada mencit jantan yang diinduksi beban amilum**

Kelompok	Kadar glukosa (mg/dL)
	$\Delta T1=T1-T4$
Kel. I kontrol negatif CMC 0,5%	-32
Kel.II kontrol positif Acarbose	26,3*
Kel. III Ekstrak daun sirsak dosis 140 mg/kg bb	57,6*
Kel. IV Ekstrak daun sirsak dosis 210 mg/kg bb	51,6*
Kel. V Ekstrak daun sirsak dosis 280 mg/kg bb	46,0*

\*berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

**Tabel 10. Rata-rata penurunan kadar glukosa darah ekstrak daun sirsak pada mencit jantan yang diinduksi beban glukosa**

Kelompok	Kadar glukosa (mg/dL)
	$\Delta T1 = T1 - T4$
Kel. I kontrol negatif CMC 0,5%	-53,6
Kel. II kontrol positif glibenklamid	79,3*
Kel. III Ekstrak daun sirsak dosis 140 mg/kg bb	46,7*
Kel. IV Ekstrak daun sirsak dosis 210 mg/kg bb	60,6*
Kel. V Ekstrak daun sirsak dosis 280 mg/kg bb	65,3*

\*berbeda signifikan terhadap kontrol negatif

Berdasarkan tabel 9 dan 10 hasil analisis statistik menggunakan uji *One-Sample Kolmogorov Smirnov*, penurunan kadar glukosa darah pada  $\Delta T1$  beban amilum dengan  $\Delta T1$  dan  $\Delta T2$  beban glukosa memiliki distribusi normal ( $p > 0,05$ ). Varian data sama ( $p > 0,05$ ) dilanjutkan dengan uji *One-way ANOVA* yang memiliki perbedaan bermakna ( $p < 0,05$ ) yaitu sig. 0,000 maka dilakukan uji non parametik menggunakan *Tukey HSD post hoc test*. Beda nyata dimiliki oleh kelompok I kontrol negatif CMC 0,5% dengan semua kelompok perlakuan yaitu kelompok II kontrol positif, kelompok III ekstrak etanol daun sirsak 140 mg/20 kg BB mencit, kelompok IV ekstrak etanol daun sirsak 210 mg/20 kg BB mencit, dan kelompok V ekstrak daun sirsak 280 mg/ 20 kg BB mencit dimana semua kelompok II kontrol positif, kelompok III ekstrak etanol daun sirsak 140 mg/20 kg BB mencit, kelompok IV ekstrak etanol daun sirsak 210 mg/20 kg BB mencit, dan kelompok V ekstrak daun sirsak 280 mg/ 20 kg BB mencit memiliki efek antihiperqlikemi. Kelompok II tidak memiliki beda nyata ( $p > 0,000$ ) dengan kelompok III ekstrak etanol daun sirsak 140 mg/20 kg BB mencit, kelompok IV ekstrak etanol daun sirsak 210 mg/20 kg BB mencit, dan kelompok V ekstrak daun sirsak 280 mg/ 20 kg BB mencit, sehingga efek antidiabetesnya setara dengan kelompok II kontrol positif. Kelompok V ekstrak daun sirsak 280 mg/ 20 kg BB mencit memiliki beda nyata ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok I kontrol negatif CMC 0,5 %, kelompok III ekstrak etanol daun sirsak 140 mg/ 20 kg BB mencit, dan kelompok IV ekstrak etanol daun sirsak 210 mg/ 20 kg BB mencit.

Berdasarkan hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa dosis ekstrak etanol daun sirsak (140 mg/20 kg BB mencit, 210 mg/20 kg BB mencit dan 280 mg/ 20 kg BB mencit) yang paling kecil sudah bisa menurunkan efek antidiabetesnya pada mencit jantan yang diinduksi beban amilum dan glukosa. Terlihat pada tabel 9 pada beban amilum ekstrak etanol daun sirsak pada dosis 140 mg/ 20 kg BB mencit memiliki efek penurunan yang lebih besar jika dibandingkan dengan dosis yang lainnya sedangkan pada tabel 10 pada beban glukosa ekstrak etanol daun sirsak pada dosis 280 mg/20 kg BB mencit memiliki efek penurunan yang lebih besar jika dibandingkan dengan dosis yang lainnya. Efek penurunan kadar gula darah yang berbeda pada tiap dosis kemungkinan dipengaruhi ekstrak masih mengandung banyak zat aktif yang mungkin bekerja sebagai mengatagonis, salah satunya mengatagonis efek antidiabetes. Nilai perubahan ini masih lebih tinggi dibanding kontrol positifnya. Glibenklamid merupakan obat antihiperqlikemi golongan sulfonilurea yang sudah melalui uji praklinis dan klinis dan sudah terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah. Acarbose merupakan obat yang digunakan untuk mengontrol kadar gula darah dan bekerja dengan cara menghambat enzim pankreas alfa-amilase dan alfa-glukosida yang bekerja di usus halus, sedangkan daun sirsak masih tergolong obat herbal yang mengandung senyawa kimia berupa flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin yang diduga mampu menurunkan kadar glukosa.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol daun sirsak pada dosis 140 mg/20 kg BB mencit, 210 mg/20 kg BB mencit dan 280 mg/20 kg BB mencit memiliki efek dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit jantan yang diinduksi beban amilum dan beban glukosa.

Kedua, ekstrak etanol daun sirsak pada dosis 140 mg/20 kg BB mencit merupakan dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit jantan yang diinduksi beban amilum dan beban glukosa karena memiliki efek penurunan yang tidak berbeda secara signifikan dengan glibenklamid dan arcabose.

#### **B. Saran**

Penelitian ini masih banyak kekurangan, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai :

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang isolasi senyawa aktif dari ekstrak etanol daun sirsak yang berkhasiat sebagai antidiabetes.

Kedua, pengelompokan hewan uji sebaiknya dilakukan setelah induksi beban amilum dan beban glukosa sehingga kadar gula darah tetap pada awal penelitian homogen.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahalya, K. Ravi Shankar, G. V. N. Kiranmayi. 2014. Exploration of Anti-Hyperglycemic and Hypolipidemic Activities of Ethanolic Extract of (*Annona muricata* L.) Bark in Alloxan Induced Diabetic Rats. *J. Rev. Res*; 25(2); Article No. 05. Pages: 21-27.
- [Anonim]. 1980. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 166-171.
- [Anonim]. 2001. *Inventaris Tanaman obat Indonesia*. Edisi 1 Jilid 2. Jakarta: Departemen Kesehatan dan Kesejahteraan Sosial Republik Indonesia Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- [Anonim]. 2007 Glucosemeter. Available from <http://ww.en.wikipedia.org/wiki/Glucosa,meter>
- [Anonim]. 2012. *Herbal Indonesia Berkhasiat Bukti Ilmiah & Cara Racik*. Vol 10. Jakarta: Trubus.
- [Anonim]. 2005. *Pharmaceutical Care Untuk Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anief M. 1997. *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 169.
- Ansel H.C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Ibrahim F, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan: *Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*. Hlm 312, 605.
- Arief H. 2006. *Tumbuhan Obat Dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya. Hlm 73-74.
- Arthur FKN, Woode E, Terlabi EO, Larbie C. 2011. Evaluation of acute and subchronic toxicity of (*Annona muricata* Linn.) aqueous extract in animals. *European Journal of Experimental Biology* 1:115-124.
- Asmonie C. 2013. Efek infusa daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar yang dibebani glukosa [Skripsi]. Pontianak: Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura.

- Atun M .2010. *Diabetes Melitus Memahami, Mecegah, dan Merawat Penderita Penyakit Gula*. Bantul: Kreasi Wacana.
- Cazarolli LH *et al.* 2008. Flavonoid: Cellular and Molecular Mechanism of Action in Glucose Homeostasis. *Mini Rev Med Chem* 8:1032.
- Chen *et al.* 2004. A new methode for screening a glucosidase inhobitors and 14 applications to marine microorganisms. *Pharmaceutical Biology* 42: 416-421.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1980. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 1993. *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 2001. *Inventasi Tanaman Obat Indonesia*. Jilid II Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes] Departemen Kesehatan. 2005. *Pharmaceutical Care Untuk Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dipiro, J.T., Robert, L., Yess, G. R., Wells, B. G., & Posey, L.M. 2005. *Pharmacoterapy A Pathologic Approach*. New York: McGraw-Hill Companies, Inc. hlm 1205-1226.
- Djauhariya, Endjo dan Hernani. 2004. *Gulma Berkhasiat Obat*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Fitriandiny NI. 2012. Uji Efek Penghambatan Aktivitas  $\alpha$ -Glukosidase Fraksi dari Ekstrak Etil Asetat Daun Jambu Mete (*Anacardium Occidentale* Linn.) dan Penapisan Fitokimia dari Fraksi Teraktif [Skripsi]. Depok: Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia.
- Florence NT. 2014. Antidiabetic and antioxidant effects of (*Annona muricata* L.) (*Annonaceae*), aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats.

- Floris *et al.* 2005.  $\alpha$ -glucosidase inhibitors for patient with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 28:154-163.
- Goutam B. 2011. 6. Bio-flavonoids with promising antidiabetic potentials: A critical survey. *Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry* 187-212.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah: Kosasih P, Iwang S. ITB. Bandung. Terjemahandari: *Phytochemical Methods*. hlm 70-87, 103, 234-236.
- Hardiman, D. 2006. Meeting to day's standards for glycaemic control: fixed dosecombination approach. Dalam: *Kumpulan Makalah Lengkap "The Indonesian Challenge In Endocrinology Year 2006: Treating To MultipleTargets"*. Solo: UNS Press.
- Lian *et al.* 2007. *The use of High-Fat/Carbohydrate Diet-Fed and Streptozotocin-Treated Mice as a Suitable Animal Model of type 2 Diabetes Mellitus*. *Scand. J. Lab. Anim. Sci* Vol.34 No.1: 21-29.
- Makalalag IW, Wullur A, Wiyono WE. 2013. Uji ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steen.) terhadap kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar (*Ratus novergicus*) yang diinduksi sukrosa. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 1:28-34.
- Meidiana O, Widjanarko SB. 2014. Uji efek ekstrak air daun pandan wangi terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi tikus diabetes mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2:16-27.
- Muyassar P. 2014. *Khasiat Ajaib Buah Sirsak Tumpas Berbagai Penyakit*. Jakarta: Padi.
- Nilufer S, Mustafa A. 2006. Antidiabetic and antioxidant effects of *Vitis vinifera* L. leaves in streptozotocin-diabetic rats. *Turkish J. Pharm* 3:7-18.
- Nugroho EA. 2012. *Farmakologi Obat-Obat Penting dalam Pembelajaran Ilmu Farmasi dan Dunia Kesehatan*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Nuraini ND. 2014. *Aneka Daun Berkhasiat untuk Obat*. Jakarta: Gava Media.
- Poedijadi A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: Universitas Indonesia,-Press.

- Rafiul A. 2014. *Perangi Diabetes Mellitus Dengan Menu Sehat Setiap Hari*. Malang: Husada Kepanjeng.
- Raja LL. 2008. Uji efek ekstrak etanol biji mahoni (*Swietenia mahagoni*) terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih [Skripsi]. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Ramulu J, Goverdhan P. 2012. Hypoglycemic and antidiabetic activity of flavonoids: boswellic acid, ellagic acid, quercetin, rutin on streptozotocin-nicotinamideinduced type 2 diabetic rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 4:251-256.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Jilid IV. Bandung: ITB. hlm 71-72, 157, 283.
- Smith JB, Mangkoewidjaja, 1998. *Pemeliharaan, Pembiakandan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press, 10-36.
- Soegondo S *et al.* 2009. *Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Soon *et al.* 2013. Antidiabetic and antioxidant properties of alkaloids from *Catharanthus roseus* (L.) g. don. *Molecules* 18:9770-9784.
- Sovia E, W. Ratwita, D. Wijayant, D.R. Novianty, 2017. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of (*Annona Muricata* L.) Leaf ethanol extract. Vol 9, Issue 3.
- Stephen OA, Ezekiel ACM. 2006. Morphological changes and hypoglycemic effects of (*Annona muricata* Lin.) (*Annonaceae*) leaf aqueous extract on pancreatic  $\beta$ -cells of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal of Biomedical Research* 9:173-187
- Stephen O, Adewole, John A.O, Ojewole. 2008. *Protective effects of (Annona muricata* Linn). (*Annonaceae*) leaf aqueous extract on serum lipid profiles an oxrdative stress in hepatocytes of streptozotocin treated diabetic rats. *Afr J Trad* 6:30-41.
- Suarsana *et al.* 2008. Aktivitas daya hambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dan efek hipoglikemik ekstrak tempe pada tikus diabetes. *Jurnal Veteriner* 9:122-127.

- Suherman, Suharti K. *Insulin dan Antidiabetik Oral*. Dalam: Gunawan SG, Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Pratikum Farmakologi*. Edisi ke-6. Surakarta.
- Suranto A. 2011. *Dahsyatnya Sirsak Tumpas Penyakit*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Tan dan Raharja K. 2002. *Obat-Obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi V. Jakarta: PT Alex Media Komputindo. hlm 693-707.
- Tunny R. 2014. *Uji Penghambatan Aktivitas  $\alpha$ -Glukosidase Ekstrak Etanol Biji Patai Cina Secara In Vitro dan In Vivo Serta Induksi Aloksan Pada Tikus*: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi.
- Velayutham R, Sankaradoss N, Ahamed KFH N. 2012. Protective effect of tannins from *Ficus racemosa* in hypercholesterolemia and diabetes induced vascular tissue damage in rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 367-373.
- Vijayameena C, Subhashini G, Loganayagi M, Ramesh B. 2013. Phytochemical screening and assessment of antibacterial activity for the bioactive compounds in (*Annona muricata* L.) *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 2:1-8.
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi IV. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm 566-567, 570-572. Diterjemahkan oleh Soendaninoerono.
- Wakhidatul L. 2013. Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) gugur [Skripsi]. Yogyakarta: Fakultas MIPA, Universitas Gadjah Mada.
- Zhao R *et al.* 2007. Anti DM tipe 2 activity of flavone from *Ipomoea batatas* leaf in non insulin dependent DM tipe 2 rats. *Int J Food Sci Tech* 42: 80-5.

**L  
A  
M  
P  
I  
R  
A  
N**

## Lampiran 1. Surat keterangan determinasi


**UNIVERSITAS GADJAH MADA**  
**FAKULTAS FARMASI**

 Sekip Utara, Yogyakarta 55281 Telp./Fax. +62 274 543120  
 http://farmasi.ugm.ac.id, E-mail: farmasi@ugm.ac.id

**SURAT KETERANGAN**

No.: UGM/FA/1995/M/03/02

 Kepada Yth. :  
**Sdri/Sdr. Atin Wulan Septiya**  
 NIM. 17113211A  
 Fakultas Farmasi USB  
 Di Surakarta

Dengan hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi sampel daun yang Saudara kirimkan ke Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, adalah :

No.Pendaftaran	Jenis	Suku
38	<i>Annona muricata</i> L.	Annonaceae

Demikian, semoga dapat digunakan sebagaimana mestinya.

 Mengetahui  
 Dekan


Prof. Dr. Agung Endro Nugroho, M.Si., Apt

 Yogyakarta, 20 April 2018  
 Ketua Departemen Biologi Farmasi

Dr. Indah Purwantini, M.Si., Apt.

## Lampiran 2. Surat keterangan hewan uji

### "ABIMANYU FARM"

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

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

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sigit Pramono

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

Nama : Atin Wulan Septiyaningsih

Nim : 17113211 A

Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:

Jenis hewan : Mencit Swis

Umur : 2-3 bulan

Jumlah : 70 ekor

Jenis kelamin : Jantan

Keterangan : Sehat

Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

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

Surakarta, 24 Mei 2018

Hormat kami



Sigit Pramono  
"ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Foto bahan – bahan yang digunakan



Daun sirsak



Daun sirsak kering



Serbuk Daun sirsak



Ekstrak Daun sirsak



Larutan Stock

Lampiran 4. Foto hewan uji



Lampiran 5. Hasil identifikasi kandungan kimia daun sirsak

Golongan senyawa	Keterangan	Serbuk	Ekstrak	Hasil serbuk daun sirsak	Hasil ekstrak etanol daun sirsak
Flavonoid	Warna merah, kuning atau jingga pada amil alkohol			(+)	(+)
Alkaloid	Ditambahkan larutan Meyer terbentuk endapan menggumpal berwarna putih/kuning dan dengan Dragendrof terbentuk endapan warna coklat sampai hitam			(+)	(+)
Saponin	Terbentuk buih yang mantap tinggi 1-10 cm + HCl 2N buih tidak hilang			(+)	(+)
Tanin	Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna violet			(+)	(+)

## Lampiran 6. Data perhitungan rendemen daun sirsak

Berat basah (g)	Berat kering (g)	% Pengereng
2000	700	35

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat kering}}{\text{berat basah}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{700}{2000} \times 100\% = 35\%$$

Berdasarkan data yang diperoleh berat kering daun sirsak terhadap berat basah, maka persentase rendemennya sebesar 35 % b/b.

## Lampiran 7. Data perhitungan rendemen serbuk daun sirsak

Berat sebelum di serbuk	Berat setelah di serbuk	Rendemen %
400	700	0,57

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat sebelum diserbuk}}{\text{berat setelah diserbuk}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{400}{700} \times 100\% = 0,57\%$$

Berdasarkan data yang diperoleh, persentase rendemen pada serbuk daun sirsak adalah sebesar 0,57 % b/b.

Lampiran 8. Penetapan kelembaban serbuk daun sirsak (*Moisture balance*)

No	Berat awal (gram)	Berat hasil (gram)	Kelembaban (%)
1	2	1,84	8
2	2	1,86	7
3	2	1,84	8
Rata – rata			7,67±0,577

Rata – rata kadar air dalam serbuk daun sirsak yang diperoleh 7,67%. Kadar air pada serbuk daun sirsak sudah memenuhi persyaratan kadar air suatu serbuk simplisia yaitu kurang dari 10%.

## Lampiran 9. Data perhitungan rendemen ekstrak kental daun sirsak

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
350	127,19	36,34

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak kental}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{127,19}{350} \times 100\% = 36,34\%$$

## Lampiran 10. Perhitungan pembuatan larutan stock

## 1. Penentuan dosis amilum

Dosis amilum untuk membuat hiperglikemik pada tikus menurut (Tunny 2014) adalah 3 g/kg BB tikus sehingga dibutuhkan  $600 \times 0,14 = 84$  mg/ 20 g BB mencit

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok amilum 4,2\%} &= 4,2 \text{ g/100 ml} \\ &= 4200 \text{ mg/100 ml} \\ &= 42 \text{ mg/ 100 ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian} &= \frac{84}{42} \times 1 \text{ ml} \\ &= 2 \text{ ml} \end{aligned}$$

## 2. Penentuan dosis glukosa

Dosis glukosa untuk membuat hiperglikemik pada adalah 200 mg/20 g bb mencit sehingga  $200 \times 0,0026 = 0,52$  mg/20 g bb mencit

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok glukosa 50\%} &= 50 \text{ g/100 ml} \\ &= 50000 \text{ mg/100 ml} \\ &= 50 \text{ mg/100 ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian} &= \frac{0,52}{50} \times 1 \text{ ml} \\ &= 0,104 \text{ ml} \end{aligned}$$

Menimbang glukosa 25 g kemudian dilarutkan dengan air suling hingga volume 50 ml homogen

$$\begin{aligned} \text{Dosis glukosa} &= 75 \text{ g/70 kg bb mencit} \\ &= 200 \text{ mg/ 20g bb mencit} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian mencit 20 g} &= \frac{200}{500} \times 1 \text{ ml} \\ &= 0,4 \text{ ml} \end{aligned}$$

### 3. Penentuan dosis ekstrak daun sirsak

Dosis ekstrak daun sirsak berdasarkan penelitian terdahulu (Stephen dan Ezekiel 2006) yaitu 20 mg/200 g BB tikus, penelitian ini menggunakan mencit dengan faktor konversi tikus ke mencit adalah 0,14. Jadi dosis pada mencit adalah  $2,8 \text{ mg}/20 \text{ g BB} \times 50 = 140 \text{ mg}/20 \text{ kg BB}$  mencit dan diberikan perlakuan terhadap hewan uji dengan 3 variasi dosis yaitu 140 mg, 210 mg dan 280 mg.

$$\begin{aligned} \text{Larutan stock ekstrak } 1,26\% &= 1,26 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 1260 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 12,6 \text{ mg}/\text{ml} \end{aligned}$$

Volume pemberian :

$$(140 \text{ mg}/20 \text{ kg BB mencit}) = \frac{140}{12,6} \times 1 \text{ ml} = 11,1 \text{ ml}$$

$$(210 \text{ mg}/20 \text{ kg BB mencit}) = \frac{210}{12,6} \times 1 \text{ ml} = 16,1 \text{ ml}$$

$$(280 \text{ mg}/20 \text{ kg BB mencit}) = \frac{280}{12,6} \times 1 \text{ ml} = 22,2 \text{ ml}$$

### 4. Penentuan dosis glibenklamid

Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,0026. Dosis terapi glibenklamid untuk manusia dengan berat badan 70 kg adalah 5 mg. Dosis glibenklamid untuk satu kali pemberian pada mencit sebesar  $5 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,013 \text{ mg}/20 \text{ g BB}$  mencit.

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok glibenklamid } 0,005\% &= 0,005 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 5 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 0,05 \text{ mg}/100 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,013}{0,05} \times 1 \text{ ml} = 0,26 \text{ ml}$$

### 5. Penentuan dosis acarbose

Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,0026. Dosis terapi acarbose untuk manusia dengan berat badan 70 kg adalah 50 mg. Dosis acarbose untuk

satu kali pemberian pada mencit sebesar  $50 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,13 \text{ mg/ 20 g}$  BB mencit.

$$\begin{aligned} \text{Larutan stok acarbose } 0,05\% &= 0,05 \text{ g/100 ml} \\ &= 50 \text{ mg/100 ml} \\ &= 0,5 \text{ mg/100 ml} \end{aligned}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{0,13}{0,5} \times 1 \text{ ml} = 0,26 \text{ ml}$$

#### Lampiran 11. Perlakuan hewan uji



Foto pemberian larutan glukosa dan larutan amilum secara oral



Foto pemberian larutan pada hewan uji



Foto pengambilan darah hewan uji

Lampiran 12. Foto alat –alat yang digunakan dalam penelitian



Oven untuk pengeringan



Alat penggilingan serbuk



Serangkaian alat soxhlet



*Moisture balance* untuk pengukuran kelembaban



Alat glukometer *esty touch* GCU



Alat mikroskop

## Lampiran 13. Data kadar glukosa darah

Tabel 7. Beban Amilum

Kelompok	Kadar glukosa awal (mg/dL)	Kadar glukosa setelah diinduksi beban amilum (mg/dL)	Kadar glukosa darah setelah perlakuan pada menit 180 (mg/dL)
	T0	T1	T4
I Kelompok negatif CMC 0,5%	66	153	185
	84	173	184
	83	172	195
Rata-rata	77,67	166	188
II Kelompok acarbose	63	90	52
	83	86	60
	82	85	70
Rata-rata	76	87	60,67
III Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 140 mg/20 kg bb mencit	90	122	85
	89	165	83
	83	124	70
Rata-rata	87,33	137	79,33
IV Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 210 mg/20 kg bb mencit	95	127	88
	85	138	72
	88	130	80
Rata-rata	89,33	131,67	80
V Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 280 mg/20 kg bb mencit	90	120	60
	78	110	70
	80	115	77
Rata-rata	82,67	115	69

Tabel 8. Beban Glukosa

Kelompok	Kadar glukosa awal (mg/dL)	Kadar glukosa setelah diinduksi beban glukosa (mg/dL)	Kadar glukosa darah setelah perlakuan pada menit 120 (mg/dL)
	T0	T1	T4
I Kelompok negatif CMC 0,5%	83	180	189
	95	138	175
	76	188	195
	Rata-rata	84,67	168,67
II Kelompok glibenklamid	80	150	75
	85	162	82
	80	156	73
	Rata-rata	81,67	156
III Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 140 mg/20 kg bb mencit	87	128	79
	85	138	83
	88	125	85
	Rata-rata	86,67	130,33
IV Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 210 mg/20 kg bb mencit	85	140	82
	87	141	80
	88	145	82
	Rata-rata	86,67	142
V Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 280 mg/20 kg bb mencit	85	130	80
	95	152	87
	80	155	74
	Rata-rata	88,67	145,67

## Lampiran 14. Data penurunan kadar glukosa darah

Tabel 9. Beban Amilum

Kelompok	$\Delta T1-T4$
I	-32
Kelompok negatif CMC 0,5 %	-11
	-23
Rata-rata	-22
II	38
Kelompok positif Arcabose	26
	15
Rata-rata	26,33
III	37
Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 140 mg/20 kg bb mencit	82
	54
Rata-rata	57,67
IV	39
Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 210 mg/20 kg bb mencit	66
	50
Rata-rata	51,67
V	60
Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 280 mg/20 kg bb mencit	40
	38
Rata-rata	46

Tabel 10. Beban Glukosa

Kelompok	$\Delta T1-T4$
I	-9
Kelompok negatif CMC 0,5 %	-37
	-115
Rata-rata	-53,67
II	75
Kelompok positif Glibenklamid	80
	83
Rata-rata	79,33
III	45
Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 140 mg/20 kg bb mencit	55
	40
Rata-rata	46,67
IV	58
Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 210 mg/20 kg bb mencit	61
	63
Rata-rata	60,67
V	50
Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun sirsak 280 mg/20 kg bb mencit	65
	81
Rata-rata	65,33

Lampiran 15. Data statistik penurunan kadar glukosa darah beban amilum menit 180 ( $\Delta T1-T4$ ) dengan anova satu jalan

## NPar Tests

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kadar.glukosa.amilum	15	31.93	32.462	-32	82

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kadar.glukosa.amilum
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	31.93
	Std. Deviation	32.462
Most Extreme Differences	Absolute	.229
	Positive	.107
	Negative	-.229
Kolmogorov-Smirnov Z		.886
Asymp. Sig. (2-tailed)		.413

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## Oneway

### Test of Homogeneity of Variances

kadar.glukosa.amilum

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.746	4	10	.582

### ANOVA

kadar.glukosa.amilum

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
--	----------------	----	-------------	---	------

Between Groups	12568.933	4	3142.233	14.388	.000
Within Groups	2184.000	10	218.400		
Total	14752.933	14			

## Post Hoc Tests

### Descriptives

kadar.glukosa.amilum

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kelompok negatif CMC 0,5%	3	-22.00	10.536	6.083	-48.17	4.17	-32	-11
kelompok positif arcabose	3	26.33	11.504	6.642	-2.24	54.91	15	38
kelompok 140 mg/20 kg bb mencit	3	57.67	22.723	13.119	1.22	114.11	37	82
Kelompok 210 mg/20 kg bb mencit	3	51.67	13.577	7.839	17.94	85.39	39	66
kelompok 280 mg/20 kg bb mencit	3	46.00	12.166	7.024	15.78	76.22	38	60
Total	15	31.93	32.462	8.382	13.96	49.91	-32	82

## Homogeneous Subsets

kadar.glukosa.amilum

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kelompok negatif CMC 0,5%	3	-22.00	
kelompok positif arcabose	3		26.33
kelompok 280 mg/20 kg bb mencit	3		46.00

kelompok 210 mg/20 kg bb menci	3	51.67
kelompok 140 mg/20 kg bb menci	3	57.67

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 16. Data statistik penurunan kadar glukosa darah beban glukosa menit 120 ( $\Delta T1-T4$ ) dengan anova satu jalan

### NPar Tests

#### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
kelompok.kadar.glukosa	15	39.67	54.101	-115	83

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		kelompok.kadar. glukosa
N		15
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	39.67
	Std. Deviation	54.101
Most Extreme Differences	Absolute	.302
	Positive	.212
	Negative	-.302
Kolmogorov-Smirnov Z		1.171
Asymp. Sig. (2-tailed)		.129

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## Oneway

### Test of Homogeneity of Variances

kelompok.kadar.glukosa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.620	4	10	.007

### ANOVA

kelompok.kadar.glukosa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34300.000	4	8575.000	12.842	.001
Within Groups	6677.333	10	667.733		
Total	40977.333	14			

### Post Hoc Tests

### Descriptives

kelompok.kadar.glukosa

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kelompok negatif CMC 0,5 %	3	-53.67	54.930	31.714	-190.12	82.79	-115	-9
kelompok positif glibenklamid	3	79.33	4.041	2.333	69.29	89.37	75	83
kelompok 140 mg/20 kg bb mencit	3	46.67	7.638	4.410	27.69	65.64	40	55
kelompok 210 mg/20 kg bb mencit	3	60.67	2.517	1.453	54.42	66.92	58	63
kelompok 280 mg/20 kg bb mencit	3	65.33	15.503	8.950	26.82	103.84	50	81
Total	15	39.67	54.101	13.969	9.71	69.63	-115	83

## Homogeneous Subsets

### kelompok.kadar.glukosa

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kelompok negatif CMC 0,5 %	3	-53.67	
kelompok 140 mg/20 kg bb mencit	3		46.67
kelompok 210 mg/20 kg bb mencit	3		60.67
kelompok 280 mg/20 kg bb mencit	3		65.33
kelompok positif glibenklamid	3		79.33

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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