

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Sirih Merah

#### 1. Sistematika tanaman



**Gambar 1. Daun sirih merah**  
(Tjitrosoepomo 2005)

#### Taksonomi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Piperales
Genus	: Piper
Species	: <i>Piper crocatum</i> , Ruiz & Pav.

#### 2. Nama lain

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

#### 3. Morfologi tanaman

Tanaman sirih merah tumbuhan menjalar. Bagian batang berwarna hijau keunguan dan tidak berbunga. Selain itu, batangnya memiliki sulur dan beruas dengan jarak buku 5-10 cm serta setiap ruang ditumbuhi bakal akar. Daunnya

bertangkai dengan bagian atas berbentuk runcing, bertepi rata, permukaannya mengkilap dan tidak memiliki bulu. Panjang daunnya dapat mencapai 15-20 cm. Daun bagian atas berwarna hijau bercorak putih keabuan. Bagian bawah daun berwarna merah hati cerah. Daunnya berlendir, rasanya pahit, dari beraroma khas sirih (Sudewo 2010).

#### **4. Kandungan kimia**

Hasil pemeriksaan penapisan fitokimia dengan menggunakan kromatografi lapis tipis sampel saun sirih merah banyak mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, senyawa polifenolat, dan minyak atsiri (Sudewo 2010). Dalam jurnal *Bioproses Komoditas Tropis* Vol. 2 No. 1, Juli 2014 memaparkan kandungan kimia lain nya dari daun sirih merah yaitu hidroksikavikol, kavikol, kavibrtol, karvakol, eugenol, p-simen, sineol, kadimen estragol, kariofilen, terpena, dan fenil propanoid (Sulistiyani *et al.* 2007).

#### **5. Kegunaan tanaman**

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

### **B. Simplisia**

Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan dari selnya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan (mineral) adalah simplisia berupa bahan pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia harus memenuhi persyaratan tertentu dalam menjamin keseragaman senyawa aktif,

keamanan dan kegunaannya. Faktor-faktor penting yang mempengaruhi simplisia antara lain bahan baku simplisia, proses pengolahan dan pengepakan (Gunawan & Mulyani 2004).

Dalam buku “Materia Media Indonesia” simplisia didefinisikan yaitu bahan alam yang digunakan sebagai obat yang belum diolah apapun kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang sudah dikeringkan (Depkes RI 2000).

## C. Ekstraksi

### 1. Pengertian ekstraksi

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

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

**1.2 Perkolasi.** Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya penetasan atau penampungan ekstrak (Depkes RI 2000). Kelebihan dari metode ini adalah tidak terjadi kejenuhan, kekurangan dari metode ini adalah cairan penyari lebih banyak dan berisiko cemaran mikroba untuk penyari air karena dilakukan secara terbuka (Sulaiman 2011).

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

**1.4 Infus.** Merupakan ekstraksi dengan menggunakan pelarut air dengan temperatur penangas air (bejana infuse tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C). Selama 15-20 menit (Depkes RI 2000). Keuntungan menggunakan metode ini adalah alat yang dipakai lebih sederhana dan biaya operasionalnya rendah. Kerugiannya adalah zat yang tertarik kemungkinan hanya sebagian dan akan mengendap kembali, jika larutannya mendingin akan menghilangnya zat-zat atrisi (Depkes RI 2000).

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

**1.6 Refluks.** Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut yang memilih temperatur titik didihnya, dalam waktu tertentu dan dengan jumlah pelarut terbatas yang telatif konstan dengan adanya pendinginan balik. Prosesnya dilakukan dengan pengulangan pada proses residu 3-5 kali sehingga termasuk proses ekstraksi sempurna (Depkes RI 2000). Keuntungan menggunakan refluks yaitu dapat mengekstraksi sampel-sampel yang memiliki tekstur kasar, dan tahan terhadap pemanasan langsung. Kelemahannya adalah memungkinkan terjadinya degradasi pada senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan (Depkes RI 2000).

**1.7 Dekok.** Dekok adalah infus yang berlangsung dalam waktu yang lebih lama (30°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Depkes RI 2000).

## **2. Pelarut**

Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ditentukan dari kemampuannya untuk dapat melarutkan zat aktif dalam jumlah besar dan dapat

melarutkan selain zat aktif dalam jumlah sangat kecil. Pelarut yang sering digunakan adalah air, etanol, atau campuran etanol dengan air (Ansel 1989).

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

Pemakaian etanol 70% dipilih sebagai pelarut karena etanol 70% dapat melarutkan senyawa organik dalam tumbuhan, baik yang memiliki sifat polar, non polar, tidak beracun, tidak mudah ditumbuhi kuman dan kapang, dan pemanasan yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Pramessti 2017).

## **D. Diabetes Melitus**

### **1. Definisi**

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

### **2. Patofisiologi**

**2.1 Diabetes melitus tipe 1.** Gangguan produksi insulin yang mengakibatkan defisiensi insulin absolut pada DM tipe 1, umumnya dapat terjadi karena kerusakan sel  $\beta$  pankreas terjadi melalui proses imunologik yang dimediasi oleh limfosit T dan makrofag (Otoimunologik) maupun proses yang idiopatik (Munchid *et al.* 2005). DM tipe 1 merupakan DM yang memiliki populasi sedikit dari keseluruhan penderita diabetes dan umumnya terjadi pada anak-anak atau usia menjelang dewasa (Dipiro 2009).

**2.2 Diabetes melitus tipe 2.** DM tipe 2 merupakan tipe diabetes yang lebih banyak terjadi (hingga mencapai 90%) dibandingkan DM tipe 1. Kasus DM ditandai dengan adanya resistensi insulin dan defisiensi insulin relatif (Dipiro

2009). Resistensi insulin banyak terjadi pada negara seperti Amerika, hal ini terjadi akibat dari obesitas, gaya hidup kurang baik dan penuaan (Muchid *et al.* 2005). Resistensi insulin dapat ditandai oleh meningkatnya liposlipid, dan produksi asam lemak bebas, serta meningkatnya produksi glukosa hepatic, dan menurunkannya uptake glukosa oleh otot rangka (Dipiro 2009). Selain resistensi insulin, penderita DM tipe 2 dapat mengalami gangguan sekresi insulin. Berbeda dengan DM tipe 1, pada Diabetes melitus tipe 2 tidak terjadi destruksi sel  $\beta$  pankreas secara otoimunologik. Defisiensi fungsi insulin bagi penderita DM tipe 2 hanya bersifat relatif, tidak absolute (Muchid *et al.* 2005).

### **3. Klasifikasi**

**3.1 DM tipe 1.** DM tipe 1 ditandai dengan adanya destruksi sel  $\beta$  secara selektif dan defisiensi insulin absolut atau berat. Untuk penderita DM tipe 1 pemberian insulin sangat penting. DM tipe 1 selanjutnya dibagi berdasarkan penyebab imun dan idiopatik. Imun merupakan bentuk yang paling sering pada DM tipe 1. Meskipun sebagian besar diagnosis terjadi pada pasien lebih muda 30 tahun, onset penyakit tersebut dapat terjadi pada berbagai usia. Faktor genetik multifaktorial dapat menimbulkan kerentanan menderita penyakit ini, namun hanya 10-15 pasien yang memiliki riwayat diabetes dalam keluarganya (Katzung 2010).

**3.2 DM tipe II.** DM tipe II ditandai dengan adanya resistensi jaringan terhadap kerja insulin yang disertai defisiensi sel  $\beta$  yang lebih parah, kelainannya dapat ringan atau parah. Meskipun insulin diproduksi sel  $\beta$  pada pasien ini, namun tidak cukup untuk dapat mengatasi resistensi dan kadar glukosa darah meningkat. Gangguan kerja insulin juga dapat mempengaruhi metabolisme lemak sehingga kadar asam lemak basa dan trigliserida dapat menurunkan kadar HDL (Katzung 2010).

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

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

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

#### **4. Tanda dan gejala**

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

#### **5. Diagnosis DM**

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

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

## **6. Komplikasi akut diabetes melitus.**

Komplikasi DM dibagi menjadi 2 yaitu komplikasi akut dan kronis (Depkes 2005).

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

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

Komplikasi makrovaskuler dapat terjadi pada penderita DM tipe 1. Komplikasi-komplikasi mikrovaskuler meliputi retinopati, nefropati, dan neuropati. Kondisi ini dapat disebabkan hiperglikemia yang persisten dan pembentukan protein yang terglukasi (termasuk HbA1c) menyebabkan dinding pembuluh darah menjadi semakin lemah, rapuh dan terjadi penyumbatan pada pembuluh-pembuluh darah (Depkes 2005).

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

## **7. Obat antidiabetik oral**

Terdapat 5 golongan antidiabetik oral yang dapat digunakan untuk DM (Gunawan 2007), berikut yaitu :

**7.1 Golongan sulfonilurea.** Mekanisme kerja utama sulfonilurea adalah meningkatkan sekresi insulin pada pankreas. Diduga terdapat dua mekanisme

kerja tambahan suatu penurunan kadar glucagon serum dan suatu efek ekstrapankreatik dengan mengadakan efek potensiasi terhadap kerja insulin pada jaringan sasaran terapi kemaknaan klinisnya masih dipertanyakan (Katzung 2002). Golongan sulfonilurea menurunkan kadar glukosa darah dengan merangsang pelepasan insulin dari sel  $\beta$  pulau langerans pankreas. Sulfonilurea dapat dibedakan menjadi sulfonilurea generasi pertama dan generasi kedua antara lain glibenklamid, glipirid, dan glimepirid. Golongan obat generasi kedua ini 10-100 kali lebih efektif pada konsentrasi rendah (Gunawan 2007).

**7.2 Golongan biguanid.** Mekanisme kerjanya adalah dengan menurunkan glukosa darah tidak tergantung pada adanya fungsi pankreatik sel-sel  $\beta$ . Glukosa tidak menurun pada subjek normal setelah puasa satu malam, tetapi kadar glukosa darah pasca-pradial mereka dapat menurun selama pemberian biguanid. Pasien yang mengalami diabetes tipe 2 memiliki hiperglikemia yang lebih rendah yang nyata dan hiperglikemia pasca-pradial yang lebih rendah setelah pemberian biguanid selama terapi biguanid benar-benar tidak dapat diketahui (Katzung 2002). Yang termasuk biguanid adalah metformin yang berkerja dengan menghambat absorpsinya glukosa di usus dan meningkatkan *uptake* glukosa oleh otot dan jaringan adipose (Gunawan 2007). Diindikasikan untuk pengobatan DM dewasa dan tidak menggantikan fungsi insulin (Suharto 2004). Metformin sedapat mungkin tidak digunakan pada pasien yang mengalami penyakit hati, ginjal dengan uremia dan penyakit jantung kongestif (Suharto 2004).

Metformin HCL dapat menurunkan "*hepatic glukose output*" dan menurunkan kadar glukosa puasa. Efek samping umum yaitu sakit kepala, muntah, mual, kembung, nafsu makan kurang, gangguan pencernaan dan diare. Metformin merupakan obat antihiperglikemik yang tidak menyebabkan rangsangan sekresi insulin dan tidak menyebabkan hipoglikemia. Metformin dapat menurunkan jumlah produksi glukosa dihati dan meningkatkan sensitivitas jaringan otot dan adipose pada insulin, efek ini terjadi akibat adanya aktivasi kinase di sel (AMP activated protein kinase). Metformin tidak merangsang atau menghambat perubahan glukosa menjadi lemak, pada pasien DM yang akibat gemuk, obat ini dapat menurunkan berat badan (Sweetman 2009). Dosis penggunaan yaitu 500 mg

2-3 x sehari. Absorpsi metformin secara selektif disepanjang saluran cerna bagian atas (Salve 2011). Kelarutannya yaitu larut dalam air atau alkohol, praktis tidak larut dalam eter dan kloroform (Ditjen POM 1995).

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

**7.4 Glukosa thiazolidindion.** Merupakan antihiperqlikemik yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan sensitivitas insulin. Obat yang termasuk golongan ini adalah rosiglitazone dan pioglitazone. Mekanisme kerja yang tetap dari agen tersebut belum diketahui, tetapi agen tersebut diduga mempunyai aktivitas menyerupai (mimetik) insulin pasca-reseptor yang akut (Katzung 2002).

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

## **E. Metode Uji Efek Antidiabetes**

### **1. Uji efek diabetes melitus**

Keadaan DM dapat diinduksi dengan cara pankreatomi dan secara kimia. Zat-zat kimia dapat digunakan indikator (diabetogen) yaitu aloksan, streptozotzin, diaksosida, adrenalin, glikagon, EDTA, yang diberikan secara parenteral (Depkes 1993).

Macam-macam metode uji efek antidiabetes yaitu :

**1.1 Metode uji bebas glukosa.** Prinsip metode ini adalah hewan uji yang telah dipuaskan selama kurang lebih 20 sampai 24 jam diberikan larutan glukosa peroral setengah jam setelah pemberian sediaan uji. Sebelum pemberian sediaan

uji dilakukan cuplikan darah vena telinga dari masing-masing kelinci sejumlah 0,5 mL sebagai kadar glukosa awal. Pengambilan cuplikan darah diulangi setelah perlakuan pada waktu tertentu (Depkes 1993).

**1.2 Metode diabetogen.** Dalam uji tersebut dapat menggunakan 2 metode yaitu Metode uji diabetes aloksan dan Metode uji diabetes streptozotocin. Di mana metode aloksan memiliki prinsip dengan menyuntikan aloksan monohidrat dengan dosis 70 mg/kg BB yang dilakukan secara intravena pada bagian ekor mencit dan dilakukan pengecekan perkembangan hiperglikemia setiap harinya. Pemberian obat antidiabetik secara oral dapat menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan terhadap mencit positif (Depkes 1993).

Metode uji diabetes streptozotocin. Streptozotocin Merupakan hasil senyawa streptomuces achromogenes yang dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 dan DM tipe 2 pada hewan coba. Untuk menginduksi DM tipe 1 digunakan dosis sebanyak 40-60 mg/kg secara intravena, untuk penggunaan dosis intraperitoneal adalah lebih dari 40 mg/kg BB. STZ juga dapat membangkitkan oksigen reaktif yang memiliki peran tinggi dalam kerusakan sel  $\beta$  pankreas (Sahid 2012).

**1.3 Metode resistensi insulin.** Resistensi insulin merupakan keadaan DM tipe 2 dengan di induksi menggunakan insulin eksogen yang memiliki keunggulan lain dibandingkan dengan metode lainnya, karena waktu yang dibutuhkan untuk membuat tikus menderita DM tipe 2 relatif lebih cepat, bahan mudah di dapatkan dan biaya lebih murah dibanding lainnya (Fitriana 2012). Keadaan resistensi insulin dapat diketahui dari kecepatan insulin dalam menurunkan kadar glukosa darah. Semakin cepat insulin menurunkan kadar glukosa darah, menyimpulkan bahwa tingginya sensitivitas jaringan terhadap insulin (*American Diabetes Association* 2015).

## **2. Metode analisa kadar glukosa darah.**

**2.1 Glukometer.** Dengan mekanisme sampel darah akan masuk kedalam tes strip melalui kapiler. Glukosa yang berada didalam darah akan bereaksi dengan glukosa oksidase dan kalium ferisiadida yang terdapat didalam srip dan akan menghasilkan kalium ferosianida. Kalium ferosianida yang didapatkan

dengan konsentrasi glukosa yang terdapat didalam sampel darah. Oksidasi kalium ferrosianida akan menghasilkan muatan listrik yang dapat diubah oleh glukometer untuk digunakan sebagai konsentrasi glukosa pada layar. B-D Glukosa + Kalium ferrosianida menjadi asam glukonat + kalium ferrosianida, Kalium ferrosianida kalium ferrosianida +  $e^-$  (Raja 2008).

**2.2 Metode GLUC-DH (Glucose Dehidrogenase).** GLUC-DH merupakan metode rutin enzimatik yang dapat dibedakan berdasarkan tinggi, kepraktisan, dan keluwesannya. Pengukuran dapat dilakukan dengan menggunakan UV. Prinsip metode ini adalah glukosa dehidrogenase mengkatalisis oksidasi dari glukosa dehidrogenase yang mengkatalisis oksidasi dari glukosa, seperti persamaan berikut :

GLUC-DH



Penambahan mutarotase akan mempercepat reaksi. Jumlah NADH yang terbentuk akan sebanding dengan konsentrasi glukosa. Penentuan glukosa dengan Gluc-D dapat diberikan pada bahan sampel yang dideproteinisasi atau yang tidak dideproteinisasi, serta hemolisa (Merck 1987).

**2.3 Metode GOD-PAP.** Merupakan reaksi kolorimetrik-enzimatik untuk pengukuran pada daerah cahaya yang terlihat mata. Metode ini menggunakan prinsip glukosa oksidase (GOD) mengkatalisa dari glukosa menurut persamaan berikut :

GOD



Hidrogen peroksida yang terbentuk akan bereaksi dengan 4-amino-antipirin dan 2,4-diklorofenol dengan adanya peroxidase (POD) dan menghasilkan antipirilquinomine yaitu suatu zat merah. Jumlah zat merah yang terbentuk akan sebanding dengan konsentrasi glukosa. Metode GOD-PAP pada penentuan glukosa dapat digunakan untuk bahan sampel dengan atau tanpa deproteinisasi (Merck 1987).

**2.4 Metode O-tuluide.** Prinsip metode yaitu glukosa bereaksi dengan o-toluide dengan asam asetat panas maka akan menghasilkan senyawa berwarna hijau yang dapat ditentukan secara fotometris. Penelitian glukosa dengan

O-toluidine dapat menggunakan sampel yang dideproteinisasi ataupun yang tidak diproteinisasi (Merck 1987)

### **F. Insulin**

Insulin merupakan suatu protein kecil dengan berat molekul 5808 yang terdiri atas dua rantai asam amino yang dihubungkan oleh ikatan disulfide disintesis sebagai protein perkursor yang mengalami pemisahan proteolitik sehingga membentuk insulin dan peptide c, kemudian disekresikan oleh sel  $\beta$  pankreas (Mycek 2001).

Insulin memiliki pengaruh luas didalam tubuh dan dapat bereaksi langsung dan tak langsung dengan proses biokimiawi. Pengaruh menyeluruh hormon dapat memudahkan pemakaian glukosa oleh sel serta mencegah pemecahan secara berlebihan glikoen yang disimpan dihati dan otot (Turner 2000).

Faktor yang berperan dalam sekresi insulin yaitu nutrien, hormon pankreas, hormon saluran cerna, dan neurotransmitter otonom, asam amino, glukosa, asam lemak, dan benda keton merangsang sekresi insulin. Stimulasi reseptor  $\alpha_2$  adrenergik akan menghambat sekresi insulin, sedangkan  $\beta_2$  adrenergik agonis dan stimulasi saraf vegal akan merangsang sekresi insulin (Goodman dan Gilman 2007).

Umumnya terdapat hubungan timbal balik antara laju sekresi insulin dan glukagon dari pulau pankreas, sehingga mencerminkan pengaruh insulin pada sel  $\alpha$  dan kadar glukosa darah serta substrak lainnya. Glukagon dapat menstimulasi pelepasan somatostatin dan mensupresi pengeluaran insulin, tetapi hal ini tidak berpengaruh pada fisiologinya, karena suplai darah didalam pulau langherhans akan mengalir dari inti sel  $\beta$  ke sel  $\alpha$  dan sel  $\delta$ , insulin dapat bertindak sebagai hormon parakrin yaitu penghambat pelepasan-glukagin, tapi somatostatin harus melewati sirkulasi untuk dapat menuju sel  $\alpha$  dan sel  $\beta$  (Katzung 1998).

Resistensi insulin dapat didefinisikan sebagai respon atau gejala klinis akibat meningkatnya kadar insulin. Hal ini akibat terganggunya sensitivitas jaringan terhadap

insulin, diperantai oleh glukosa (Wilcox 2005). Manifestasi klinis dari resistensi insulin, hiperinsulinemia, intoleransi glukosa adalah konsekuensi dari ketidakmampuan insulin dalam merangsang penyerapan glukosa pada jaringan target insulin, seperti lemak dan otot (Garvey *et al.* 2004). Secara fisiologis kerja insulin didalam tubuh dipengaruhi oleh peran hormone lain. Insulin bersama growth-hormone (GH) dan IGF-1 memicu terjadinya metabolic pada saat makan. GH disekresi meningkatkan respon insulin sehingga tidak terjadi hipoglikemia akibat insulin. Hormone kontraregulator insulin seperti glucagon, katekolamin, dan glukokortikoid yang mendorong proses metabolik pada saat puasa. Glukagon menyebabkan proses glikogenolisis, glukoneogenesis, dan ketogenesis. Rasio insulin-glukagon memperlihatkan derajat fosforilasi dan defosforilasi dari enzim-enzim yang berperan dalam sekresi atau aktivitas insulin. Katekolamin menyebabkan lipolisis dan glikogenolisis. Sementara glukokortikoid dapat mengakibatkan katabolisme otot, glukoneogenesis, dan lipolisis. Sekresi yang berlebihan dari hormone-hormone kontra-insulin akan mengakibatkan resistensi insulin di beberapa tempat. Resistensi insulin di berbagai tempat dipercaya sebagai manifestasi tingkat seluler dari efek sinyal insulin post-reseptor. Mekanisme yang menyebabkan resistensi antara lain mekanisme down-regulasi, defisiensi atau polimorfisme genetic dari fosforilasi tyrosine reseptor insulin, PIP-3 atau protein IRS, atau abnormalitas fungsi GLUT 4 yang diakibatkan oleh banyak hal (Wilcox 2005).

Pada resistensi insulin terjadi kerusakan pensinyalan pada Insulin reseptor substrat (IRS) dan Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) yang mengakibatkan gagalnya translokasi suatu molekul transmembran GLUT-4 ke membran sel sehingga glukosa tidak dapat masuk kedalam sel dan digunakan sebagai sumber energi. GLUT 4 adalah pengangkut glukosa utama yang responsive pada insulin dan terletak pada sel otot dan adiposit. Sehingga glukosa yang tidak dapat masuk kedalam sel ini menjadi tidak terpakai dan menyebabkan kadar glukosa darah meningkat dan secara klinis akan menyebabkan hiperglikemia (Immanuel 2013).

## **G. Hewan Percobaan**

### **1. Sistematika tikus**

Sistematika tikus putih jantan galur wistar menurut Sugiyanto (2010) adalah sebagai berikut :

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

### **2. Karakteristik tikus**

Tikus putih relatif resistensi terhadap infeksi yang pada umumnya mudah ditangani dan lebih tenang. Tikus putih tidak begitu bersifat fotofobik seperti pada mencit yang tidak memiliki kecenderungan untuk berkumpul dengan sesamanya. Aktifitasnya pada tikus tidak terganggu oleh adanya manusia disekitarnya, suhu tubuh normal yaitu 37,5°C, laju respirasi 210 menit. Bila tikus putih diberi perlakuan kasar maka akan menjadi galak dan sering menyerang si pemegang (Smith & Mangkoewidjojo 1998).

### **3. Biologi tikus**

Hidup tikus berkisar 2-3 tahun, maksimal dapat hidup hingga umur 4 tahun. Tikus dikatakn dewasa pada umur 35-40 hari. Berat normal tikus jantan rata-rata 150-200 gram (Smith & Mangkoewidjojo 1998). Tikus merupakan hewan yang beraktivitas pada malam hari. Tikus dapat dikawinkan pada umur 8-9 minggu atau sebelum umur 10-12 minggu (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

### **4. Pemberian secara oral**

Pemberian obat secara oral pada tikus dapat menggunakan jarum suntik yang berujung tumpul, dimasukan kedalam mulut, kemudian secara perlahan cairan yang dimasukan akan melalui tepi langit-langit kebelakang sampai esophagus (Sugiyanto 1995).

## 5. Teknik pengambilan dan pemegangan tikus

Tikus memiliki kebiasaan untuk mengigit saat merasa terancam. Cara penangkapan tikus yang aman dan baik yaitu dengan memegang ekor pada bagian pangkal ekornya, setelah itu meletakkan diatas ram kawat, dan pehang tekuk dengan cepat menggunakan ibu jari dan jari telunjuk dengan menggunakan satu tangan, kemudian kaki tikus dipegang bersama dengan ekor menggunakan jari manis dan jari kelingking, dan terakhir pegang ekor tikus agar tikus tidak terbalik (Harmita 2005).

## H. Landasan Teori

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang memiliki karakteristik hiperglikemia yang dapat menyebabkan kelainan sekresi insulin. Gejala DM yaitu poliurea, polidipsia, dan polifagia, penyakit ini dapat diterapi menggunakan obat-obatan antidiabetik oral. Untuk mengatur kadar glukosa darah maka diperlukan terapi agar tidak terjadi komplikasi-komplikasi yang membahayakan jaringan tubuh (Goodman & Gilman 2010).

DM tipe 2 adalah suatu kondisi hiperglikemia akibat resistensi insulin. Insulin diproduksi oleh pankreas tubuh tidak dapat dipergunakan dengan efektif, hal tersebut mencegah masuknya glukosa kedalam sel otot, sehingga menyebabkan glukosa darah meningkat dan mencapai tingkat yang abnormal (*American Council on Exercise* 2001).

DM tipe 2 juga disebut DMTTI (DM Tidak Tergantung Insulin) kadar insulin normal dan mungkin mengalami suatu peningkatan. Jumlah reseptor insulin pada permukaan sel kurang, sehingga gula dalam darah tidak bisa sampai ke dalam sel. DM ini bervariasi mulai dari predomnan resistensi insulin disertai insulin relatif hingga yang predomnan gangguan sekresi insulin bersama resistensi insulin. Soegono (2007) mengatakan jika obesitas menyebabkan respon sel beta pankreas terhadap peningkatan glukosa darah berkurang, dan reseptor insulin pada sel semua bagian tubuh termasuk otot berkurang keaktifannya dan jumlahnya.

Kelainan yang terjadi pada DM tipe 2 yaitu resistensi insulin yang terdapat pada jaringan lemak, otot, dan hati yang menyebabkan respon reseptor terhadap insulin berkurang dalam hal penyimpanan, pengambilan, serta penggunaan glukosa pada jaringan tersebut mengalami penurunan. Kenaikan produksi glukosa oleh hati juga mengakibatkan hiperglikemia. Kekurangan sekresi insulin pada pankreas akan menyebabkan menurunnya kecepatan transport glukosa ke jaringan otot, lemak, dan hati (Guyton & Hall 1996; Waspadji dalam Soegondo 2007).

Salah satu pengobatan tradisional yaitu dengan menggunakan tanaman herbal daun sirih merah (Duryantmo 2005). Dalam daun sirih merah mengandung senyawa fitokimia yaitu minyak atsiri, alkaloid, saponin, tannin, dan flavonoid (Nisa *et al.* 2014). Serta kandungan lain seperti hidroksikavikol, kavikol, kavibetol, karvakrol, eugenol, p-simen, sineol, kariofilen, kadimen estragol, terpenena, dan fenil propanoid (Sulistiyani dkk., 2007).

Secara empiris daun sirih merah dapat menyembuhkan berbagai penyakit seperti hepatitis, batu ginjal, menurunkan kolestrol, mencegah stroke, asam urat, kanker, hipertensi, radang liver, radang prostat, radang mata, keputihan, maag, kelelahan, nyeri sendi dan DM (Sadewo 2005).

Alkaloid yang terdapat dalam daun sirih merah memiliki sifat antidiabetes dengan cara mengurangi hiperglikemia pada post prandial (Lestari 2017). Alkaloid dapat menurunkan glukosa darah dengan mekanisme menghambat absorpsi glukosa di usus dan meningkatkan transportasi glukosa didalam darah, merangsang sintesis glikogen, menghambat sintesis glukosa dengan menggunakan enzim glukosa 6-fosfatase, fruktosa 1,8-bifosfatase dan meningkatkan oksidasi glukosa melalui glukosa 6-fosfatase yang merupakan enzim yang membantu dalam glukoneogenesis. Pada kedua enzim ini akan menghambat pembentukan sehingga menurunkan glukosa dari substrat selain karbohidrat. Saponin bekerja dengan cara menurunkan absorpsi glukosa didalam usus, meningkatkan pemanfaatan glukosa di jaringan perifer, menghambat transporter glukosa GLUT 1, dan penyimpanan glikogen terhadap peningkatan sensitifitas reseptor insulin pada jaringan (McWhorter *et al.* 2001).

Hasil penelitian Dewi (2014) menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah 2% pada dosis 50 mg/kg bb dan dosis 100 mg/kg bb tikus dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan. Didapatkan hasil penurunan kadar glukosa darah dengan ekstrak daun sirih merah dengan dosis 100 mg/kg bb pada tikus, sebanding dengan kontrol positif glibenklamid. Sedangkan hasil penelitian Muharomah (2018) menunjuk kan bahwa ekstrak daun sirih merah dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 400 mg/kg BB didapatkan hasil terbaik pada dosis 100 mg/kg BB dimana terjadi penurunan kadar glukosa darah sebanding dengan kontrol positif yaitu glibenklamid.

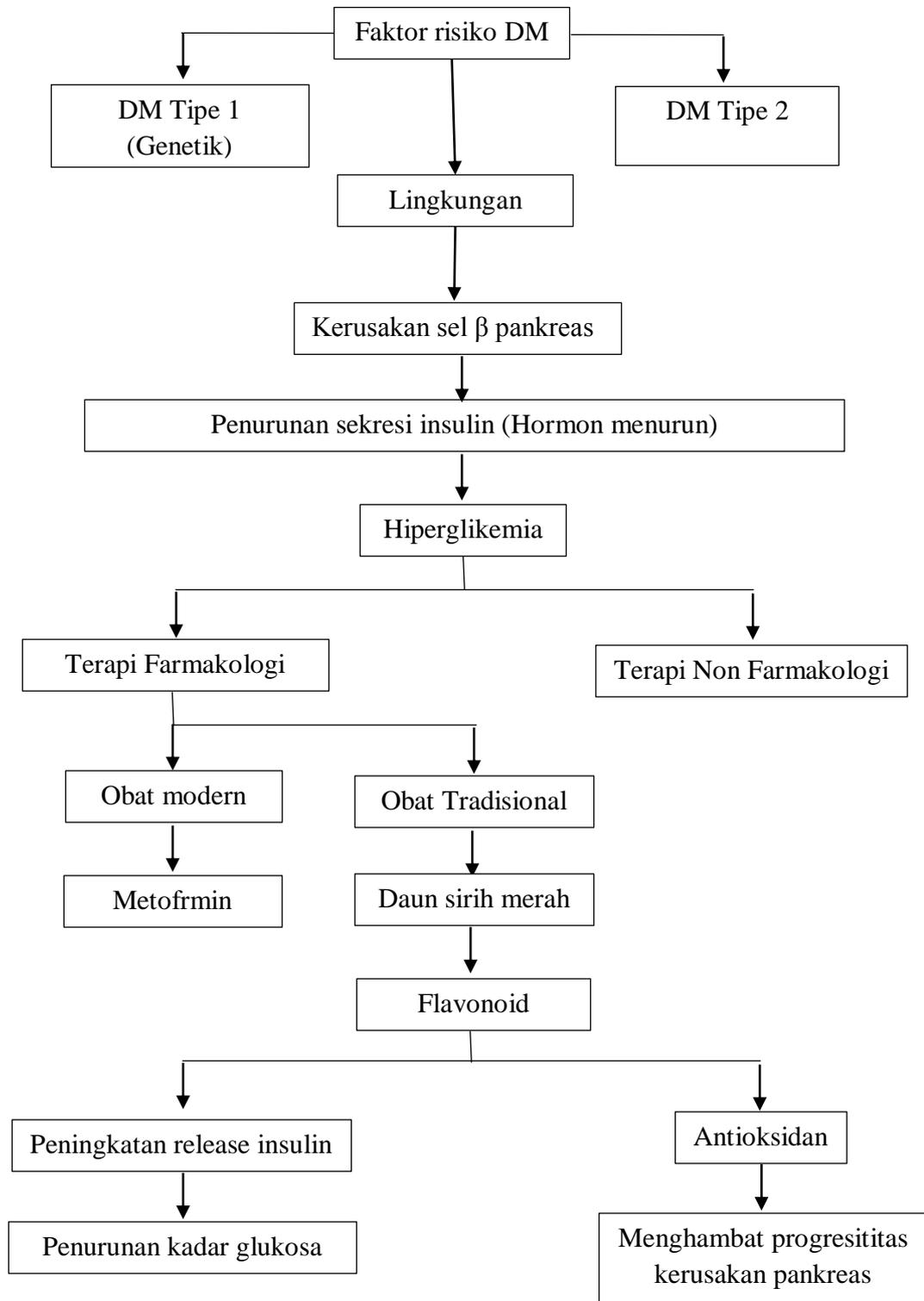
Menurut penelitian Fitriana (2012) tikus yang mengalami DM-2 akibat resistensi insulin dapat dibuat dengan cara pemejanaan insulin eksogen yaitu 1.8 IU/kgBB/hari dalam kurun waktu selama 14 hari. Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa kadar gula darah puasa tikus galur Wistar normal adalah  $71,17 \pm 23,60$  mg/dL untuk menghindari jumlah range yang lebar maka tikus dikatakan menderita DM tipe-2 bila kadar gula darah puasa yaitu  $>85$  mg/dL (Wang *et al.* 2010).

## I. Hipotesis

Pertama, ekstrak etanol daun sirih merah memiliki aktivitas yang dapat menurunkan kadar gula darah tikus yang mengalami resistensi insulin.

Kedua, ekstrak etanol daun sirih merah 100 mg/kg BB tikus adalah dosis yang efektif menurunkan kadar gula darah.

### J. Kerangka Pikir



Gambar 2. Kerangka pikir