

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Daun Mangga Kasturi

Daun mangga kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm.) yang digunakan sebagai bahan penelitian ini dideterminasi terlebih dahulu dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil serta menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Determinasi dilakukan di Laboratorium Terpadu Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah. Data mengenai kebenaran hasil determinasi dapat dilihat pada kunci determinasi di bawah ini :

Menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr. (1963, 1965) dan A.J.G.H. Kostermans & J.M. Bompard (1993) 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b--41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59b-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78a-79b-80b-81b-86b-87a-88b-89b-91c-95b

_____ **141. Anacardiaceae** _____ 1a-2a-3ap-4a _____ **2. Mangifera** 1
_____ ***Mangifera casturi* Kosterm.** Hasil determinasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 1.

B. Persiapan dan Pengeringan Simplisia Daun Mangga Kasturi

1. Persiapan dan pengeringan simplisia daun mangga kasturi

Daun mangga kasturi yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari desa Kapayang, Kalimantan Selatan pada bulan November 2018. Daun mangga kasturi yang diambil untuk penelitian ini adalah daun yang masih segar, berwarna hijau tidak terlalu muda dan juga tidak terlalu tua.

Daun mangga kasturi yang telah diambil kemudian dibersihkan dengan menggunakan air yang bersih dan mengalir untuk menghilangkan kotoran kemudian ditiriskan dan dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam untuk menghindari kontak langsung terhadap sinar matahari, untuk menjaga

agar kandungan senyawa kimia yang ada di dalam daun mangga kasturi tidak mengalami kerusakan. Ciri-ciri simplisia yang baik adalah warna tidak jauh berbeda dengan warna sebelum dikeringkan, yaitu warna hijau sesuai dengan warna aslinya, karena menjaga agar senyawa yang terkandung didalam daun kasturi tidak berkurang atau hilang. Hasil rendemen bobot daun kering terhadap bobot daun basah mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rendemen pengeringan daun mangga kasturi

No.	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%)
1	10.000	4600	46%

Daun mangga kasturi sebanyak 10 kg dikeringkan dan didapatkan persentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 46%. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan kandungan zat aktif yang ada dalam tanaman. Selain itu pengeringan juga dapat dilakukan untuk mencegah pertumbuhan jamur, dimana jamur akan mudah tumbuh pada simplisia yang kadar airnya masih cukup tinggi (di atas 10%) dan memperpanjang waktu pemakaian sehingga dapat disimpan dalam jangka waktu yang lebih lama. Perusakan kandungan aktif dalam simplisia dapat terjadi akibat peruraian zat aktif secara enzimatis seperti hidrolisis, oksidasi dan polimerisasi. Setelah simplisia segar dicuci dan ditiriskan, sebaiknya langsung segera dikeringkan untuk menghindari meningkatnya aktivitas enzim dengan adanya air dalam simplisia. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah daun mangga kasturi dapat dilihat pada lampiran 8.

2. Pembuatan serbuk daun mangga kasturi

Daun mangga kasturi selanjutnya diserbuk untuk memperkecil ukuran partikel sehingga memperluas permukaan partikel akibatnya proses ekstraksi dapat berlangsung efektif. Serbuk daun mangga kasturi kemudian diayak dengan pengayak nomor 40 mesh, agar mendapatkan hasil serbuk yang seragam ukurannya.

Tabel 2. Rendemen berat serbuk terhadap berat daun kering

Berat kering (g)	Berat serbuk (g)	Rendemen (%)
4600	2700	58,70

Pada perbandingan berat serbuk terhadap berat daun kering didapatkan rendemen sebesar 58,70%. Semakin tinggi nilai rendemen maka semakin bagus.

Hasil perhitungan berat serbuk terhadap berat daun kering mangga kasturi dapat dilihat pada lampiran 9.

3. Penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi

Serbuk daun mangga kasturi sebanyak 20 g, diukur kadar airnya dengan alat *Sterling Bidwell* menggunakan pelarut *xylene*. Persyaratan kadar air serbuk simplisia yaitu kurang dari 10%. Cairan pembawa yang digunakan adalah xylen karena xylen memiliki berat jenis dan titik didih yang lebih besar daripada air dan tidak bercampur dengan air. Pada umumnya simplisia yang sudah kering memiliki kadar air $\pm 8 - 10\%$ (Depkes 1986), dimana dengan jumlah kadar air tersebut kerusakan simplisia dapat ditekan baik dalam pengolahan maupun waktu penyimpanan. Hasil penetapan kadar air di dalam daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun mangga kasturi

No	Berat awal (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,0	5,0
2	20	0,9	4,5
3	20	1,2	6,0
Rata-rata \pm SD		1,03	5,16 \pm 0,763

Hasil perhitungan kadar air serbuk daun mangga kasturi menggunakan alat *Sterling-Bidwell* didapat kadar air rata-rata 5,16%. Jadi, serbuk daun mangga kasturi pada penelitian ini sudah sesuai dengan kadar air yang dipersyaratkan yaitu $<10\%$. Hasil perhitungan kadar air serbuk dapat dilihat pada lampiran 10.

4. Pembuatan ekstrak etanol daun mangga kasturi

Serbuk daun mangga kasturi yang digunakan untuk pembuatan ekstrak etanol. Untuk mendapatkan suatu ekstrak harus dilakukan dengan proses ekstraksi. Ekstrak etanol daun mangga kasturi dibuat dengan metode remaserasi. Remaserasi dipilih karena pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana, mudah dilakukan, mudah larut dalam pelarut dan untuk menghindari kerusakan senyawa aktif yang tidak tahan terhadap pemanasan. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut etanol 96%. Etanol merupakan pelarut universal yang mampu menarik sebagian besar senyawa dalam simplisia, bersifat tidak toksik bila dibandingkan

dengan metanol sehingga dapat digunakan baik untuk uji *in vitro* maupun *in vivo* dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 4. Persentase berat ekstrak terhadap berat serbuk kering

Berat serbuk kering (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
500	86,75	17,35

Dari hasil di atas dapat dilihat bahwa dari berat serbuk daun mangga kasturi 500 g kemudian di maserasi dengan etanol 96% didapatkan ekstrak sebesar 86,75 g dan menghasilkan %rendemen sebesar 17,35 %.

5. Hasil uji kadar air ekstrak daun mangga kasturi

Serbuk daun mangga kasturi sebanyak 10 g, diukur kadar airnya dengan alat *Sterling Bidwell* menggunakan pelarut *toluen*. Penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan rentang tentang besarnya kandungan air di dalam daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun mangga kasturi

No	Berat awal (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	10	0,5	5,0
2	10	0,7	7,0
3	10	0,5	5,0
Rata-rata ± SD		0,566	5,66 ± 1,154

Dari hasil yang diperoleh bahwa % kadar air ekstrak daun mangga kasturi rata-rata 5,66 % < 10% sehingga memenuhi persyaratan yang telah ditentukan bahwa kadar air ekstrak tidak boleh >10%. Penentuan kadar air dikaitkan dengan kemurnian ekstrak, dimana semakin sedikit kadar air pada ekstrak maka semakin sedikit kemungkinan ekstrak terkontaminasi oleh pertumbuhan jamur (Saifudin *et al.* 2011). Hasil perhitungan kadar air ekstrak dapat dilihat pada lampiran 11.

6. Identifikasi daun mangga kasturi secara organoleptis

Identifikasi secara organoleptis dilakukan berdasarkan pengindraan yang meliputi bentuk, bau, rasa, dan warna. Hasil identifikasi ekstrak daun mangga kasturi dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak daun manga kasturi

Organoleptis	Hasil
Bentuk	padat
Bau	Khas daun mangga kasturi
Rasa	sedikit pahit
Warna	hijau kehitaman

7. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun mangga kasturi

Ekstrak etanol daun mangga kasturi dilakukan uji kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun mangga kasturi dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun mangga kasturi

Kandungan Kimia	Hasil Penelitian	Interpretasi Hasil	Pustaka*
Flavonoid	Warna jingga pada lapisan amil alkohol	+	Warna jingga pada lapisan amil alkohol (Anonim 1980).
Tanin	Warna hijau kebiruan	+	Terbentuk warna hijau kebiruan (Depkes 1995)
Saponin	Buih tinggi 1-10 cm	+	Buih tinggi 1-10 cm (Anonim 1980).
Alkaloid	Terbentuk endapan putih atau kuning (Ekstrak + Reagen Mayer 2 tetes) Terbentuk warna coklat sampai hitam (Ekstrak + Reagen Dragendrof 2 tetes)	+	Terbentuk endapan putih (Harbone 1987). Endapan berwarna coklat sampai hitam (Depkes 1980)

Berdasarkan hasil identifikasi kualitatif terhadap ekstrak daun mangga kasturi pada Tabel 7, dapat diketahui bahwa ekstrak daun mangga kasturi positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, alkaloid. Berdasarkan hasil identifikasi oleh (Sutomo *dkk* 2017) pada ekstrak metanol kulit dan batang kasturi positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid. Sedangkan dari hasil identifikasi ekstrak daun mangga arumanis dihasilkan memiliki kandungan senyawa flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid (Syah *dkk* 2015) . Berdasarkan Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol daun mangga kasturi secara kualitatif dapat dilihat pada Lampiran 8.

8. Hasil pengukuran berat badan tikus

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Farmakologi-Toksikologi, Universitas Setia Budi. Sebelum dilakukan perlakuan hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari kemudian dipuasakan terlebih dahulu selama ± 10 jam. Tujuan

dipuaskan untuk menghindari pengaruh makanan yang dapat mempengaruhi kadar glukosa darah tikus, selanjutnya dilakukan penimbangan berat badan dan pengambilan darah untuk mengetahui kadar gula darah awal (T_0).

Penimbangan berat badan hewan uji dilakukan mulai pada hari ke-0 bertujuan untuk memastikan kondisi hewan uji antara kelompok perlakuan sama. Selanjutnya pengukuran berat badan hewan uji dilakukan setiap kali pengambilan darah yaitu ada hari ke-4 setelah induksi aloksan, hari ke-7 dan hari ke-14 setelah pemberian perlakuan untuk melihat perubahan berat badan tikus pada masing-masing perlakuan sebelum dan sesudah diberikan perlakuan pemberian perlakuan untuk melihat perubahan berat badan tikus pada masing-masing perlakuan sebelum dan sesudah diberikan perlakuan terhadap obat sintetik dan ekstrak daun mangga kasturi.

Tabel 8. Rata-rata berat badan tikus

Kelompok	Rata - rata berat tikus			
	T0	T1	T2	T3
Normal	196,60 ± 3,36	196,20 ± 3,94	204,20 ± 4,66 ^{bc}	213,80 ± 3,77 ^{bc}
Kontrol diabet	195,00 ± 3,25	189,00 ± 3,81	185,4 ± 3,65 ^{ac}	182,40 ± 4,28 ^{ac}
Pembanding	195,60 ± 3,85	188,00 ± 2,74	194,00 ± 3,74 ^{ab}	199,80 ± 2,39 ^{ab}
Kasturi 125 mg/Kg	195,80 ± 1,92	188,60 ± 1,67	190,60 ± 2,07 ^{ab}	195,20 ± 2,39 ^{ab}
Kasturi 250 mg/Kg	196,00 ± 2,41	187,40 ± 2,41	191,00 ± 1,58 ^{ab}	196,20 ± 2,95 ^{ab}
Kasturi 500 mg/Kg	196,40 ± 2,70	187,00 ± 1,87	192,80 ± 3,27 ^{ab}	197,20 ± 1,92 ^{ab}

Keterangan :

- Kontrol diabetik : kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)
 Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid)
 a : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal
 b : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol diabetes
 c : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol glibenklamid
 T_0 : sebelum perlakuan hari ke-0
 T_1 : setelah induksi aloksan hari ke-4
 T_2 : induksi sediaan uji hari ke-11
 T_3 : induksi sediaan uji hari-18

Berdasarkan rata-rata berat badan hewan uji pada tabel 8 yang digunakan sebagai tolok ukur untuk memastikan tingkat penyerapan glukosa, pada kelompok normal menunjukkan terjadinya peningkatan berat badan hewan uji hal ini dikarenakan oleh kondisi hewan uji yang sehat, asupan makanan tercukupi dan penyerapan glukosa serta nutrisi lainnya yang normal.

Pada kelompok kontrol diabetes terjadi penurunan berat badan hewan uji setelah diinduksi aloksan secara intraperitoneal, menunjukkan bahwa induksi aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB tikus yang dilakukan berhasil membuat

hewan coba mengalami diabetes. Kondisi eksperimental diabetes akan mengakibatkan tikus normal menjadi tikus penderita diabetes dengan ditandai salah satu ciri diagnosa klinis dengan terjadinya penurunan berat badan yang disebabkan oleh defisiensi hormon insulin sehingga transport glukosa ke dalam sel jaringan perifer berkurang. Kondisi ini mengakibatkan sel akan melakukan metabolisme dengan menggunakan cadangan glikogen melalui proses glikolisis, meningkatnya katabolisme protein dimana asam amino yang dihasilkan digunakan sebagai substrat untuk glukoneogenesis dalam hati (Pasaribu *et al.* 2015).

Pada kelompok pembanding terjadi penurunan berat badan setelah dilakukan induksi aloksan namun terjadi peningkatan berat badan setelah diberikan perlakuan. Peningkatan berat badan ini dapat dikaitkan sebagai akibat dari pemberian glibenklamid yang menyebabkan jumlah insulin yang dilepaskan dari sel β pankreas meningkat. Peningkatan pelepasan insulin ini akan meningkatkan transport glukosa ke dalam sel sampai ke jaringan perifer dan mengarah pada pemanfaatan nutrisi penting lain, penyerapan asam amino dan komponen makromolekul lainnya (Kumar *et al.* 2013).

Pengukuran berat badan tikus pada kelompok perlakuan ekstrak dengan 3 variasi dosis yaitu dosis ekstrak kasturi 125 mg/KgBB, ekstrak kasturi 250 mg/KgBB dan ekstrak kasturi 500 mg/KgBB menunjukkan terjadinya peningkatan berat badan setelah tikus yang telah mengalami diabetes melitus diberikan perlakuan dengan ekstrak etanol mangga kasturi. Peningkatan berat badan ini dikaitkan dengan kandungan kimia daun mangga kasturi yang berperan sebagai antioksidan alami yang berfungsi untuk melindungi sel β pankreas dari radikal bebas.

9. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus

Uji aktivitas antidiabetes ekstrak daun mangga kasturi dilakukan terhadap hewan uji tikus putih jantan. Tikus putih jantan digunakan karena mempunyai kerja metabolisme obat yang lebih cepat dan kondisi biologis yang lebih stabil karena tikus jantan tidak dipengaruhi hormon estrogen, yang dapat mempengaruhi kadar gula darah. Tikus diadaptasi selama 1 minggu sebelum digunakan. Setelah diadaptasikan, berat badan tikus kemudian ditimbang. Tikus terlebih dahulu

dipuaskan selama ± 10 jam sebelum diberi perlakuan. Tujuannya untuk meminimalkan faktor makanan yang dapat mempengaruhi kadar glukosa darah tikus dan absorpsi obat yang diberikan. Tikus kemudian dikondisikan diabetes dengan induksi zat diabetogen yaitu aloksan. Glukosa darah diukur dengan menggunakan metode Glukometer menggunakan alat glukometer. Glukosa darah diukur sebelum diberi perlakuan (T_0), hari ke-4 (T_1), hari ke- 11 (T_2), dan hari ke-18 (T_3).

Pada penelitian ini pengujian aktivitas antidiabetes dilakukan dengan menggunakan metode uji diabetes induksi aloksan dimana hewan uji dibuat diabetes dengan menggunakan senyawa diabetogenik aloksan. Aloksan diberikan secara intraperitoneal dengan dosis aloksan yang digunakan sebesar 150 mg/kg BB tikus. Hewan uji dapat dikatakan diabetes apabila setelah 4 hari pemberian aloksan terjadi hiperglikemia (kadar gula darah > 200 mg/dl) (Putra *et al.* 2015).

Aloksan adalah senyawa yang biasa digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan percobaan seperti kelinci, tikus, mencit dan anjing. Mekanisme aloksan menginduksi diabetes terutama dimediasi oleh produk radikal bebas yang terbentuk dari reaksi redoks yang dapat menyebabkan rusaknya sel β pankreas. Pengukuran kadar gula darah tikus dilakukan dengan menggunakan metode glukometer (GlucoDr Biosensor AGM-2100). Cuplikan darah yang diambil dari vena lateralis ekor tikus dalam jumlah sangat sedikit yang berkisar hanya 1 μ l disentuhkan dalam *test strip*, kemudian alat tersebut akan segera mengukur kadar glukosa darah setelah strip terisi oleh darah, darah akan masuk ke dalam strip melalui aksi kapiler. Glukosa yang ada dalam darah akan bereaksi dengan glukosa oksidase dan kalium ferrisianida yang ada dalam strip dan akan dihasilkan kalium ferrosianida. Kalium ferrosianida yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi glukosa yang ada dalam sampel darah. Oksidasi kalium ferrosianida akan menghasilkan muatan listrik yang akan diubah oleh glukometer untuk ditampilkan sebagai konsentrasi glukosa pada layar.

β -D-Glukosa + kalium ferrisianida ^{glukosa} oksidase as. Glukonat + Kalium ferrosianida
 Kalium ferrosianida ^{oksidasi} kalium ferrosianida + e- (Linghuat 2008).

Pengukuran kadar gula darah dilakukan sebelum dan sesudah diberikan perlakuan (T_0 - T_3). Pada awal penelitian dilakukan pengukuran kadar gula darah tikus yaitu pada T_0 . Data T_0 digunakan sebagai pembanding untuk melihat berhasil atau tidaknya induksi aloksan pada kelompok tikus diabetes melitus yaitu pada kelompok kontrol diabetes, pembanding, ekstrak kasturi 125 mg/kg, 250 mg/kg dan 500 mg/kg. Setelah kelompok tikus diabetes diinduksi aloksan, 4 hari kemudian dilakukan pengukuran kadar gula darah tikus kembali untuk memastikan tikus yang diinduksi telah mengalami diabetes (T_1).

Pengukuran kadar gula darah hewan uji dengan metode glukometer. Aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun kasturi dilihat dari penurunan kadar gula darah tikus sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji. Data pengukuran gula darah pada 6 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan galur Wistar dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula tikus pada berbagai kelompok perlakuan selama 14 hari

Kelompok	rata-rata hasil pengukuran kadar gula darah tikus (mg/dL)			
	T_0	T_1	T_2	T_3
Normal	79±6,2	82,0 ± 3,94	81,60 ± 3,36 ^{bc}	81,60±4,83 ^b
Kontrol diabetes	82±5,8	225 ± 3,91	231,80±4,21 ^{ac}	235,20±3,96 ^{ac}
Pembanding	81,8±3,8	221,00 ± 7,38	156,20 ± 6,10 ^{ab}	82,60±4,93 ^b
Kasturi 125 mg/kgBB	82,8±5,1	222,00 ± 9,41	174,40±5,22 ^{abc}	113,20±9,52 ^{abc}
Kasturi 250 mg/kgBB	83,8±5,0	222,40 ± 13,92	163,00±10,44 ^{abc}	94,60±9,02 ^{abc}
Kasturi 500 mg/kgBB	81,2±5,2	223,20 ± 15,30	158,40±16,10 ^{ab}	85,20±5,63 ^b

Keterangan :

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

Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid)

a : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal

b : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol diabetes

c : berbeda signifikan dengan kelompok kontrol glibenklamid

T_0 : hari ke-0 sebelum induksi aloksan

T_1 : hari ke-4 setelah induksi aloksan

T_2 : hari ke-11 setelah diberi sediaan uji

T_3 : hari ke-18 setelah diberi sediaan uji

Pada tabel 9 dapat dilihat kelompok normal memiliki kadar gula darah yang normal dimana peningkatan kadar gula darah yang terjadi tidak sampai melebihi 200 mg/dl dan stabil di bawah 100 mg/dl karena hewan uji hanya diberikan pakan tanpa induksi aloksan. Kelompok kontrol diabetes yang hanya diberikan perlakuan dengan CMC Na 0,5% memiliki kadar gula darah yang tetap tinggi setelah diinduksi dengan aloksan yaitu diatas 200 mg/dl pada waktu T_1

sampai T3 yang mengindikasikan bahwa induksi aloksan telah berhasil membuat tikus mengalami keadaan hiperglikemik. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian CMC Na 0,5% tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar gula darah tikus diabetes.

Senyawa aloksan merupakan salah satu zat diabetogenik yang bersifat toksik, terutama terhadap sel β pankreas, dan apabila diberikan kepada hewan coba seperti tikus maka dapat menyebabkan hewan coba tikus menjadi diabetes. Mekanisme toksisitas aloksan diawali dengan masuknya aloksan ke dalam sel-sel beta pankreas. Kerusakan pada sel-sel β terjadi melalui beberapa proses secara bersamaan, yaitu melalui oksidasi gugus sulfhidril dan pembentukan radikal bebas (Szkuldelski 2001). Pembentukan oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut. Aloksan mengakibatkan terjadinya penurunan respon jaringan perifer terhadap aksi insulin atau malfungsi dari reseptor insulin dan penurunan kemampuan sel β Langerhans pankreas dalam menstimulasi insulin sehingga mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah seperti pada kondisi diabetes melitus tipe 2 (Nugroho 2006).

Pada hari ke-7 setelah diberi sediaan uji, kadar glukosa darah semua kelompok mengalami penurunan. Dilihat dari hasil analisa statistik uji *post hoc test* pada kelompok 5 dan 6 dengan dosis ekstrak daun mangga kasturi 250 mg/kgB dan dosis 500 mg/kgBB menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) dengan kelompok pembanding (glibenklamid) nilai sig. =0,820 sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun mangga kasturi dengan dosis 250 mg/kgBB dan dosis 500 mg/kgBB mampu menurunkan kadar gula darah tikus yang diberi perlakuan selama 7 hari.

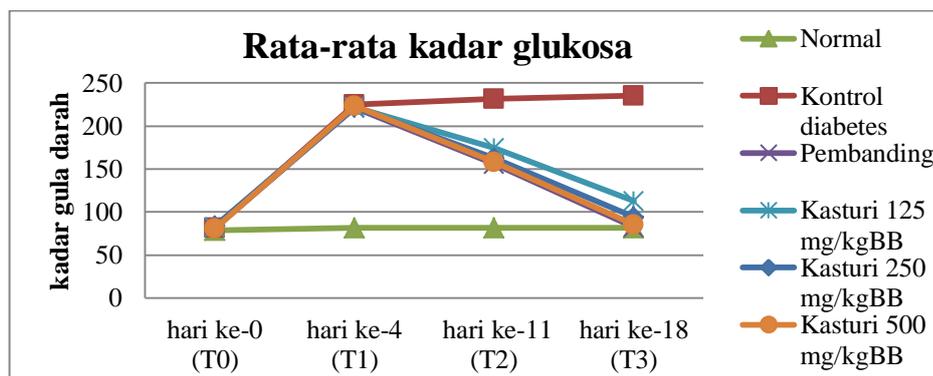
Pada hari ke-14 setelah diberi sediaan uji, kadar gula darah semua kelompok mengalami penurunan yang signifikan. Dilihat dari hasil analisa statistik uji *post hoc test* pada kelompok 6 dengan dosis ekstrak daun mangga kasturi 500 mg/kgB menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) dengan kelompok normal dan kelompok pembanding (glibenklamid) nilai sig. =0,979 sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak mangga kasturi dengan dosis

500 mg/kgBB mampu menurunkan kadar gula darah tikus selama perlakuan 14 hari.

Perubahan aktivitas ekstrak daun mangga kasturi yang terjadi pada hari ke-7 (T_2) dan hari ke-14 (T_3) dapat dikaitkan dengan salah satu prinsip kerja obat tradisional yaitu reaksi yang lambat tidak seperti obat kimia yang bisa langsung bereaksi. Hal itu disebabkan, senyawa-senyawa berkhasiat di dalam obat tradisional membutuhkan waktu relatif panjang untuk mempengaruhi fungsi metabolisme tubuh. Berbeda dengan kontrol pembanding (glibenklamid) yang bekerja dengan cara meningkatkan sekresi insulin dari sel beta pankreas sehingga dapat memberi efek penurunan kadar glukosa yang cenderung lebih cepat. Komponen aktif dalam ekstrak etanol daun mangga kasturi diduga bekerja melalui berbagai mekanisme, diantaranya melalui kerja aktivitas antioksidan dari senyawa flavonoid bersumber pada kemampuan mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam (Redha 2010).

Penghambatan absorpsi glukosa terdapat pada senyawa tanin yang berfungsi sebagai pengkhelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan sebagai akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Velayutham *et al* 2012).

Senyawa saponin yang juga terkandung pada daun mangga kasturi dilaporkan dapat merangsang insulin di pankreas dan meningkatkan aktivitas insulin. Peningkatan kadar insulin akan menurunkan kadar glukosa darah (Oztasan 2013). Sedangkan pada senyawa alkaloid bekerja untuk menurunkan kadar gula darah dengan memperbaiki atau meregenerasi sel beta pankreas serta merangsang pelepasan insulin (Zhang *et al* 2008). Namun beberapa aktivitas tersebut membutuhkan waktu yang relatif lebih lama dibandingkan obat sintetik (Katno 2008).



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

Keterangan:

- I = Kontrol Normal
- II = Kontrol diabetes
- III = Kontrol positif (Glibenklamid 0,09 mg)
- IV = Dosis ekstrak daun mangga kasturi (125 mg/kgBB)
- V = Dosis ekstrak daun mangga kasturi (250 mg/kg BB)
- VI = Dosis ekstrak daun mangga kasturi (500 mg/kgBB)

Pada grafik di atas menunjukkan kadar glukosa darah pada kelompok I tidak mengalami kenaikan maupun penurunan yang signifikan karena kelompok I sebagai kontrol normal yang tidak diinduksi aloksan dan hanya diberi makan dan minum saja. Kelompok II (CMC 0,5%) setelah diinduksi terus mengalami peningkatan hingga hari ke 14, sedangkan grafik kelompok III hingga kelompok VI pada T1 (induksi aloksan) sama-sama mengalami peningkatan glukosa darah tetapi pada T2 dan T3 mengalami penurunan glukosa darah.

Pada grafik di atas menunjukkan bahwa ekstrak daun mangga kasturi dapat menurunkan kadar glukosa darah dilihat dari tiap waktu pengukuran glukosa darahnya pada hari ke 11- dan ke 18. Pada hari ke 11 atau 7 hari setelah induksi sediaan uji pada Kelompok dosis ekstrak daun mangga kasturi 250 mg/kgBB dan 500 mg/kg BB mengalami penurunan kadar glukosa yang setara dengan kontrol positif (glibenklamid). Setelah 14 hari induksi sediaan uji kemudian diukur kadar gula darahnya mengalami penurunan yang signifikan pada ekstrak daun mangga kasturi dosis 500 mg/kgBB setara dengan kontrol positif (glibenklamid). Glibenklamid merupakan golongan sulfonilurea yang memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah yang ditimbulkan dengan cara menstimulasi pelepasan insulin dari sel beta pankreas serta dapat meningkatkan

kadar insulin dengan cara mengurangi bersihan hormon di hati (Guyton & Hall 1997). Glibenklamid hanya efektif pada diabetes mellitus tipe II yang keadaan diabetes tidak begitu berat dan sel betanya masih bekerja cukup baik (Tjay dan Rahardja 2012) dan juga Glibenklamid dimetabolisme oleh hati dan metabolitnya dieksresi di dalam urin (Prato *et al.* 2007).

Tabel 10. Persentase penurunan kadar gula darah tikus

Kelompok	Persen penurunan kadar gula darah T1 ke T2 dan T1 ke T3			
	T1-T2	% Δ T1	T1-T3	% Δ T2
normal	0,4	-0,25	0,4	13,33
kontrol diabetes	-6,8	-4,76	-10,2	-7,13
pembanding	64,8	45,63	138,4	95,49
kasturi 125	47,6	34,20	108,8	78,16
kasturi 250	59,4	42,86	127,8	92,21
kasturi 500	64,8	45,63	138	97,18

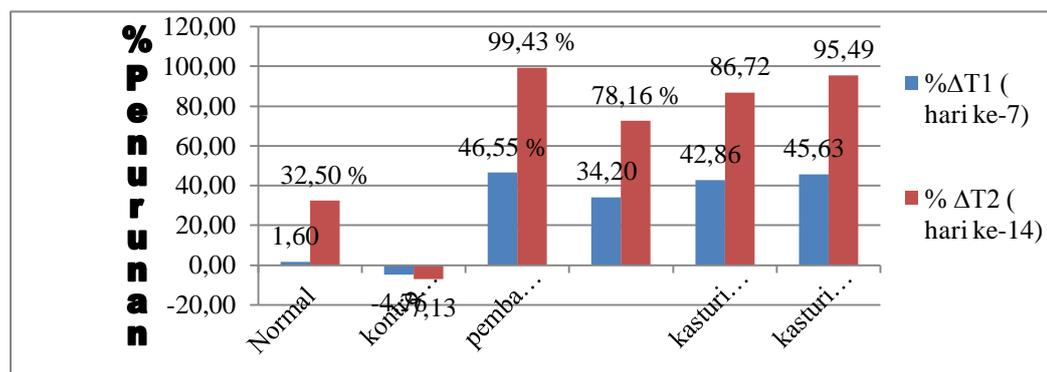
Keterangan :

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

Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid)

% Δ T₁ : persen penurunan kadar glukosa darah dari T₁ ke T₂

% Δ T₂ : persen penurunan kadar glukosa darah dari T₁ ke T₃



Gambar 10. Persentase penurunan kadar gula darah tikus T₁ ke T₂ dan T₁ ke T₃

Berdasarkan persentase penurunan kadar gula darah tikus pada Δ T₁ dan Δ T₂ (Tabel 10 dan Gambar 10) dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol daun mangga kasturi dengan tiga variasi dosis dan kelompok kontrol pembanding yang diberikan glibenklamid terbukti mampu menurunkan kadar gula darah tikus. Pada Δ T₁ kelompok uji ekstrak etanol daun mangga kasturi dengan dosis 125 mg/kgBB, 250 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB secara berturut-turut mampu menurunkan kadar gula darah sebesar 34,20%, 42,86% dan 45,63%, sedangkan untuk kelompok pembanding sebesar 46,55%. Pada Δ T₂ persentase penurunan kadar gula darah kelompok uji ekstrak etanol dauana mangga kasturi dengan

dosis 125 mg/kgBB, 250mg/kg BB dan 500 mg/kg BB secara berturut-turut mampu menurunkan kadar gula darah sebesar 78,16%; 86,72% dan 95,49% sedangkan kelompok pembanding sebesar 99,43%.

Berdasarkan data yang diperoleh dari penelitian ini dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol daun mangga kasturi yang diberikan maka semakin besar pula efek penurunan kadar gula darah yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi dosis yang diberikan maka akan semakin banyak jumlah zat aktif yang dapat menurunkan kadar gula darah tikus.

Penurunan kadar glukosa darah dengan pemberian ekstrak etanol daun mangga kasturi dapat disebabkan oleh adanya senyawa bioaktif yang terkandung dalam mangga kasturi yang dapat mencegah terjadinya oksidasi pada sel β pankreas sehingga kerusakan dapat diminimalkan. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam daun mangga kasturi diantaranya adalah flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin.

Flavonoid dapat menurunkan kadar gula darah karena bersifat protektif terhadap kerusakan sel islet pankreas sebagai penghasil insulin serta dapat meningkatkan sensitivitas insulin. Antioksidan dapat menekan apoptosis sel β tanpa mengubah proliferasi dari sel islet pankreas (Ajie 2015). Ruhe *et al.* (2001) membuktikan bahwa antioksidan dapat mengikat radikal bebas sehingga dapat mengurangi resistensi insulin. Dalam pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*), oksigen akan berikatan dengan elektron bebas yang keluar karena bocornya rantai elektron yang akan menghasilkan ROS (*Reactive Oxygen Spesies*) dalam mitokondria. Flavonoid sebagai antioksidan akan menyumbangkan atom hidrogennya sehingga flavonoid akan teroksidasi dan berikatan dengan radikal bebas yang akan menyebabkan radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil.

Selain itu flavonoid juga dapat berperan dalam melindungi terhadap kerusakan jaringan pankreas yang diakibatkan oleh alkilasi DNA akibat induksi aloksan sebagai akibatnya dapat memperbaiki morfologi pankreas tikus dan meningkatkan sensitivitas reseptor insulin pada tikus yang resistensi insulin. Flavonoid dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes yang mampu meregenerasi sel pada pulau Langerhans (Mohan & Nandhakumar 2014).

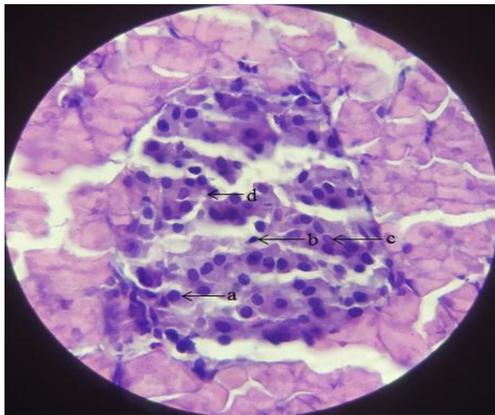
Tanin merupakan senyawa yang ada didalam daun mangga kasturi. Tanin diketahui dapat memacu metabolisme glukosa dan lemak sehingga timbunan kedua sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari. Tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis. Selain itu, tanin juga berfungsi sebagai pengkhelet 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 (Velayutham *et al.* 2012).

Alkaloid merupakan senyawa yang juga terdapat pada daun mangga kasturi. Alkaloid terbukti mempunyai kemampuan regenerasi berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suryono dan Yudha (2012), dimana alkaloid terbukti secara nyata mempunyai kemampuan regenerasi sel β pankreas yang rusak. Alkaloid menurunkan gula darah dengan cara menghambat absorpsi gula di usus (absorpsi gula secara perlahan), meningkatkan transportasi gula dengan menghambat enzim glukosa 6-fosfatase, fruktosa 1,6-bifosfatase yang merupakan enzim yang berperan dalam glukoneogenesis serta meningkatkan oksidasi glukosa melalui glukosa 6-fosfat dehidrogenase. Penghambatan pada enzim ini akan menurunkan pembentukan glukosa dari substrat lain selain karbohidrat

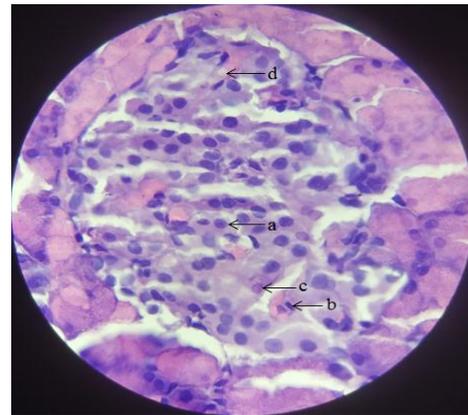
Saponin menurunkan kadar gula darah dengan menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase, yaitu enzim dalam pencernaan yang bertanggung jawab terhadap pengubahan karbohidrat menjadi glukosa (Makalalag *et al.* 2013). Penurunan kadar glukosa darah yang bervariasi tiap kelompok mungkin disebabkan oleh faktor endogen masing-masing tikus putih yang bersifat individual dan banyak dipengaruhi oleh beberapa faktor non fisik dan lingkungan. Nasib obat dalam hal penelitian ini dapat dipengaruhi oleh faktor patologik yang bisa menyebabkan obat meningkat atau menurun.

10. Hasil pemeriksaan histopatologi pankreas

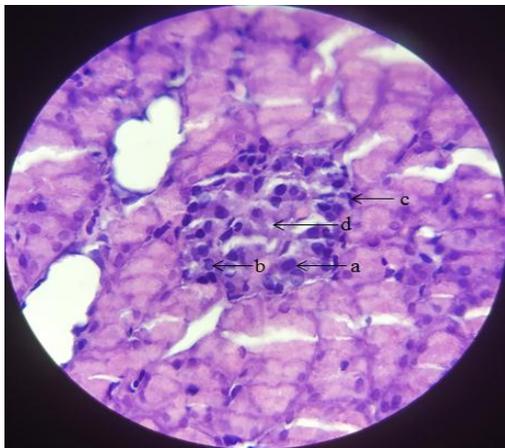
Metode pemeriksaan yang digunakan untuk melihat kondisi histopatologi pankreas hewan uji adalah metode pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE). Metode ini menggunakan pewarnaan ganda (*double staining*), sehingga hematoxylin akan memulas inti dan struktur asam lainnya dari sel menjadi biru, sedangkan eosin akan memberikan warna merah pada sitoplasma dan kolagen (Junquiera 2007).



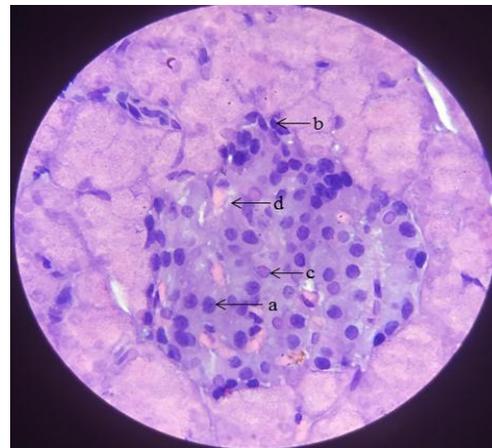
Kontrol normal



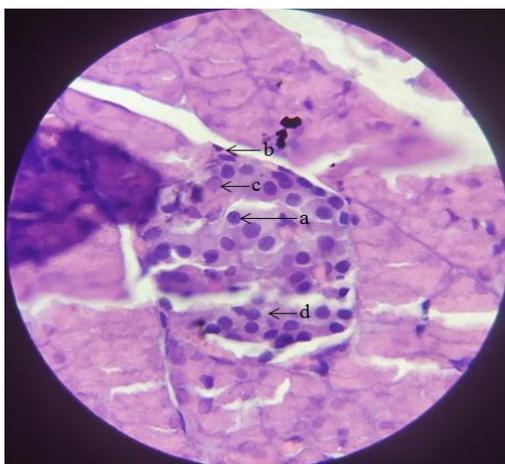
Kontrol diabetes



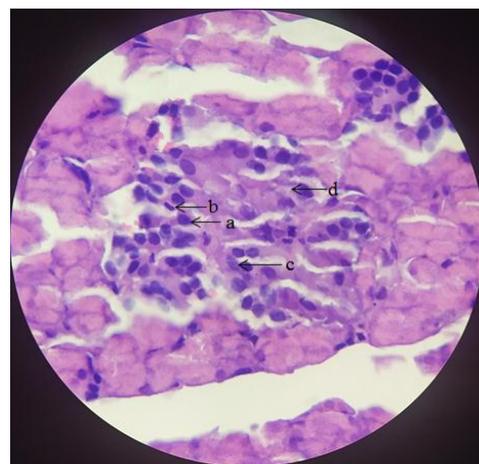
Kontrol Positif (glibenklamid)



Kasturi 125 mg/kgBB



Kasturi 250 mg/kgBB



Kasturi 500 mg/kgBB

Gambar 11. Pulau Langerhans potongan pancreas dengan pewarnaan HE perbesaran 100x

Keterangan :

- a: Sel Normal
- b: Piknosis
- c: Karioreksis
- d: Kariolisis

Pewarnaan secara HE dilakukan untuk mengamati bentuk morfologi dan struktur jaringan pankreas tikus. Hasil pengamatan histopatologi pankreas dapat dilihat pada Gambar dan Lampiran 28. Pada kelompok normal menunjukkan gambaran kondisi normal atau sehat dari pulau Langerhans yang terlihat dari adanya keteraturan susunan sel endokrin yang menyebar di pulau Langerhans dengan bentuk sel yang seragam.

Hasil pewarnaan HE pada kontrol negatif yang telah diinduksi aloksan terlihat perubahan yaitu degenerasi atau kerusakan sel yang ditunjukkan dengan adanya susunan sel yang tidak teratur dan penyusutan bentuk sel menjadi lebih kecil (atrofil) dibandingkan dengan sel normal, sehingga bentuk sel menjadi tidak seragam (polimorf). Selain itu, dapat dilihat juga bahwa pulau Langerhans pada kelompok kontrol negatif mengalami nekrosis sel endokrin, yang ditunjukkan dengan adanya penyusutan inti sel menjadi lebih kecil (piknosis), kerusakan inti menjadi bentuk fragmen (karioreksis) dan hilangnya inti sel (kariolisis) (Lestari 2011). Adanya nekrosis atau kematian sel ini menyebabkan sel-sel endokrin pulau Langerhans pada kelompok kontrol negative menjadi lebih sedikit jumlahnya dan menyebabkan kekosongan dalam pulau Langerhans.

Hal ini menunjukkan bahwa aloksan dapat merusak sel endokrin pankreas khususnya sel β yang mengisi 80% dari volume pulau Langerhans dengan merusak biomakromolekul seperti lipid, fosfolipid, dan karbohidrat yang merupakan komponen dinding sel, serta DNA yang berada dalam inti sel (Dewati 2015). Pewarnaan HE pada kontrol positif dan kelompok uji ekstrak etanol daun mangga kasturi pada berbagai variasi dosis memperlihatkan adanya perubahan pada sel-sel pulau Langerhansnya, yaitu terjadi regenerasi sel endokrin menuju bentuk normal dan susunan sel endokrin yang menyebar di pulau Langerhans dalam bentuk yang seragam.

Untuk mengetahui dosis yang paling baik antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, maka pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap jumlah pulau dan presentase nekrosis sel-sel endokrin pulau Langerhans pankreas tikus. Jumlah pulau Langerhans diamati pada tiap lapang pandang untuk mengetahui kerusakan yang terjadi akibat pemberian zat diabetogenik. Kelompok normal yang diberikan perlakuan menunjukkan jumlah pulau yang relatif lebih

banyak dibandingkan dengan kontrol negatif. Pada kelompok positif dan kelompok uji ekstrak etanol daun mangga kasturi 500 mg/ Kg BB juga masih ditemukan lebih dari dua pulau Langerhans, sedangkan pada kelompok kontrol negatif kadang-kadang tidak ditemukan satupun pulau Langerhans pada tiap lapang pandang. Hal ini terjadi karena rusaknya sel-sel endokrin pulau Langerhans pankreas yang disebabkan oleh induksi agen diabetogenik sehingga sekresi insulin ke dalam pembuluh darah menurun (Suarsana *et al.* 2011). Kerusakan sel endokrin ini menyebabkan penyusutan pulau Langerhans menjadi lebih kecil bahkan ada yang hancur dan menghilang.

Tabel 11. Rata-rata persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans potongan jaringan pankreas tikus dengan pewarnaan HE

Kelompok perlakuan	Rata-rata persentase nekrosis (%)
	(Mean \pm SD)
I	12 \pm 0,02 ^b
II	22 \pm 0,01 ^{ac}
III	15 \pm 0,02 ^b
IV	20 \pm 0,03 ^{abc}
V	17 \pm 0,01 ^{abc}
VI	16 \pm 0,01 ^b

Keterangan :

- I : Kelompok normal
- II : Kelompok kontrol negatif
- III : Kelompok kontrol pembandingan
- IV : Kelompok ekstrak etanol daun mangga kasturi dosis 125 mg/kg BB
- V : Kelompok ekstrak etanol daun mangga kasturi dosis 250 mg/kg BB
- VI : Kelompok ekstrak etanol daun mangga kasturi dosis 500 mg/kg BB
- a : berbeda bermakna terhadap kelompok normal
- b : berbeda bermakna terhadap kontrol diabetes
- c : berbeda bermakna terhadap kelompok pembandingan

Data hasil perhitungan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans tersebut kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Dari data uji *Shapiro-Wilk* diperoleh nilai signifikansi yang menyatakan bahwa data terdistribusi normal ($p > 0,05$) sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian hipotesis menggunakan metode parametrik yaitu One Way Anova. Hasil yang diperoleh dari uji Anova adalah 0,000 ($p < 0,05$) artinya terjadi perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji beda nyata menggunakan Post Hoc sehingga diketahui adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan.

Persentase nekrosis sel endokrin tersebut diperoleh dengan menghitung total inti sel dan total inti sel yang mengalami nekrosis, yakni piknosis. Data hasil menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap rata-rata persentase nekrosis sel endokrin yang dibuktikan dengan adanya perbedaan rata-rata persentase nekrosis.

Berdasarkan tabel 11, kelompok uji yang memberikan rata-rata persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans dari terkecil sampai terbesar berturut-turut adalah sebagai berikut: kelompok kontrol normal, kelompok kontrol pembanding, kelompok ekstrak etanol daun mangga kasturi dosis 500 mg/kg, kelompok ekstrak etanol daun mangga kasturi 250 mg/kg BB, kelompok ekstrak etanol daun mangga kasturi dosis 125 mg/kg BB dan kelompok kontrol negatif.

Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mangga kasturi memiliki kemampuan untuk menurunkan rata-rata persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans hampir sama dengan kontrol positif. Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa yang ditunjukkan pada hasil identifikasi kualitatif pada tabel 8 yakni flavonoid. Flavonoid disebut sebagai senyawa yang memiliki aktivitas antihiperqlikemi karena dapat bertindak sebagai antioksidan dan inhibitor aldosa reduktase (Sasmita *et al.* 2017). Sebagai antioksidan, flavonoid menghambat pembentukan radikal bebas yang dapat merusak sel β pankreas dengan mendonorkan atom hidrogen dari gugus fenoliknya untuk berikatan dengan substituen radikal bebas sehingga membentuk radikal flavonoid (Sandhar *et al.* 2011).

Tabel 12. Rata-rata skoring kerusakan pankreas

Kel	normal	Jumlah kerusakan			SKP _(total) ±SD
		piknosis	karioreksis	kariolisis	
I	58,3	11,7	28,3	1,7	73,3 ± 4,62
II	29,7	22,0	43,3	5,0	123,7 ± 4,16
III	51,0	14,7	32,0	2,3	85,7 ± 4,16
IV	36,7	20,0	40,0	3,3	110 ± 2,00
V	43,7	17,0	37,0	2,7	95,17 ± 3,61
VI	47,3	16,0	34,0	2,0	89,3 ± 2,52

Keterangan:

SKP : Skoring kerusakan pankreas

Kelompok I : kelompok kontrol normal

Kelompok II : kelompok kontrol diabetes

Kelompok III : kelompok kontrol pembanding (Glibenklamid)

Kelompok IV : kelompok uji ekstrak etanol daun mangga kasturi 125 mg/ Kg BB

Kelompok V : kelompok uji ekstrak etanol daun mangga kasturi 250 mg/ Kg BB

Kelompok VI : kelompok uji ekstrak etanol daun mangga kasturi 500 mg/ Kg BB

Perhitungan rata-rata skoring kerusakan pankreas dapat dilihat pada Lampiran 23. Piknosis merupakan jenis kerusakan dimana inti sel yang telah mati akan mengalami penyusutan sehingga terlihat lebih padat, gelap, dan juga memiliki batasan yang tidak teratur. Jenis kerusakan lainnya yang juga terjadi yakni karioreksis atau pecahnya inti sel dan meninggalnya zat kromatin yang tersebar di dalam sel sebagai akibat dari hancur dan robeknya inti sel. Sedangkan kariolisis merupakan keadaan dimana inti sel yang telah mati sudah kehilangan kemampuan untuk diwarnai sehingga menjadi lebih pucat dan terlihat tidak nyata (Rohmatin *et al* 2015).

Semakin besar nilai SKP menunjukkan bahwa semakin besar kerusakan yang terjadi ataupun sebaliknya semakin rendah nilai SKP mendeskripsikan adanya perbaikan pada pankreas tikus. Hasil rata-rata kerusakan pada tabel 12 diatas mendeskripsikan bahwa dari berbagai kelompok perlakuan memberikan hasil rata-rata kerusakan yang berbeda-beda. Kelompok kontrol normal menunjukkan nilai SKP terendah yaitu 73,3 lebih rendah dari kelompok lainnya, ini terjadi dikarenakan pada kelompok normal tidak diberi perlakuan seperti kelompok lainnya dan mendapatkan asupan makan yang tercukupi. Berbeda halnya dengan kontrol normal, pada kelompok kontrol diabetes menunjukkan nilai SKP 123,7 yang merupakan paling tinggi dibandingkan kelompok lainnya, ini membuktikan bahwa pemberian alloxan sebagai agen diabetogenik yang bersifat toksik dan dapat mengakibatkan kerusakan sel-sel di dalam pulau langerhans pankreas tikus baik dalam bentuk piknosis, karioreksis, kariolisis, hal ini sesuai dengan pernyataan Puspitasari (2016).

Piknosis merupakan jenis kerusakan dimana inti sel yang telah mati akan mengalami penyusutan sehingga terlihat lebih padat dan gelap selain itu juga memiliki batas yang tidak teratur. Jenis kerusakan lain yang juga terjadi yakni karioreksis atau pecahnya inti sel dan meninggalkan zat kromatin yang tersebar di dalam sel sebagai akibat dari hancur dan robeknya inti sel. Sedangkan kariolisis merupakan keadaan dimana inti sel yang telah mati sudah kehilangan kemampuan untuk diwarnai sehingga menjadi lebih pucat dan terlihat tidak nyata (Rohmatin *et al*. 2015).