

**PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR
DARI EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP
KADAR GULA DARAH MENCIT YANG
DIINDUKSI ALOKSAN**



Oleh :

**Ardianti Khusnul Khotimah
18123448 A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

**PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR
DARI EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP
KADAR GULA DARAH MENCIT YANG
DIINDUKSI ALOKSAN**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai

derajat Sarjana Farmasi (S.F)

Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi

Universitas Setia Budi



UNIVERSITAS

SETIA BUDI

BUDI

Oleh :

Ardianti Khusnul Khotimah

18123448A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2016**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

**PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR
DARI EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP
KADAR GULA DARAH MENCIT YANG
DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh :

Ardianti Khusnul Khotimah
18123448 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 27 Desember 2016

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



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

Pembimbing utama

Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping

Fransiska Leviana, M.Sc., Apt

Penguji :

1. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU.,MM.,M.Sc.,Apt
2. Dra. Nony Puspawati., M.Si
3. Prof. Dr. M. Muchalal DEA
4. Sri Rejeki Handayani, M. Farm, Apt

HALAMAN PERSEMBAHAN

**“ALLAH AKAN MENINGGIKAN ORANG-ORANG YANG BERIMAN DI
ANTARAMU DAN ORANG-ORANG YANG DIBERI ILMU PENGETAHUAN
BEBERAPA DERAJAT “**

{ QS .AL MUJADALAH AYAT : 11 }

I NEVER DREAMED ABOUT SUCCESS

I WORKED FOR IT

PERSEMBAHAN KARYA ILMIAH INI UNTUK:

*Kedua orang tua ku yang tercinta, terima kasih telah memberikan kasih sayang,
dukungan semangat dan pengorbanan yang tak terhingga untuk anakmu ini.*

*Saudaraku satu-satunya “Dinda Suci Rahmadhani” yang tersayang dan Keluarga
Besar Kutai (Kalimantan Timur) yang telah memberikan semangat.*

*My Bestfriends” {Niken,Ste,Mia}, {Mimi Ratih, Ocis, Ella, Vita, Hirya, Mae, Tatak,
Aysyah,Vivi}, {Pale Nuzul, Pale Arif, Pale Bayu, Pale singgih, Pale fafa, Pale
aziz} dan ADITYA N.S terima kasih banyak atas dukungan kalian semua.*

*Kost Anton’s yang isinya anak Kalimantan {kak Iis, Kak Apre, Kak Amel} terima
kasih atas dukungan dan hiburannya selama berada di Solo.*

“FKK2” terima kasih memberikan keceriaan selama ini.

“WAPALA EXESS” terima kasih telah menjadi keluarga kedua.

Almamater Universitas Setia Budi, Bangsa dan Negaraku tercinta Indonesia

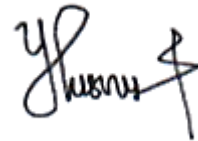
Semua pihak yang telah membantu yang tidak dapat saya sebutkan satu-persatu.

PERNYATAAN

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

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

Surakarta, 27 Desember 2016



Ardianti Khusnul Khotimah

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada ALLAH SWT atas berkat dan kuasanya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul: **“PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) TERHADAP KADAR GULA DARAH MENCIT YANG DIINDUKSI ALOKSAN”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan motivasi bimbingan berbagai pihak, maka dengan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi, yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas kepada penulis.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt dan Fransiska Leviana, M.Sc., Apt selaku pembimbing yang telah bersedia membimbing dan mengarahkan penulis.
4. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberi masukan untuk menyempurnakan skripsi ini.
5. Segenap dosen, karyawan, dan staf Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu demi kelancaran dan selesainya skripsi ini.

6. Segenap karyawan Laboratorium Universitas Setia Budi yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama penelitian.
7. Segenap karyawan perpustakaan Universitas Setia Budi yang telah menyediakan fasilitas dan referensi buku-buku untuk menunjang dan membantu kelancaran dan selesainya skripsi ini.
8. Papa, Mama, dan adik tercinta serta seluruh keluarga besar Kalimantan Timur, yang selalu memberikan doa, dukungan, dan semangat.
9. Teman-teman tim skripsi untuk bantuan, motivasi, dan kerjasamanya.
10. Teman-teman angkatan 2012, terutama teman-teman FKK dan OA.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna dan oleh karena itu, saran dan kritik yang bersifat membangun sangat diharapkan oleh penulis. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapa saja yang mempelajarinya.

Surakarta, 27 Desember 2016

Ardianti Khusnul Khotimah

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Tanaman Sirsak	5
1. Sistematika tanaman	5
2. Nama lain	5
3. Morfologi tanaman	6
4. Kandungan kimia	6
4.1. Flavonoid	7
4.2. Alkaloid	8
4.3. Saponin	8
4.4. Tanin	9
5. Manfaat sirsak.....	9
B. Simplisia	11

1. Definisi simplisia	11
2. Pengeringan Simplisia	11
C. Metode Penyarian Simplisia	12
1. Penyarian	12
2. Ekstrak	12
3. Maserasi	12
4. Fraksinasi	13
5. Pelarut	14
5.1. Etanol	14
5.2. <i>n</i> -heksana	14
5.3. Etil asetat	15
5.4. Air	15
D. Diabetes Melitus	15
1. Definisi diabetes melitus	15
2. Patofisiologi diabetes melitus	16
3. Klasifikasi diabetes melitus	17
3.1. DM tipe 1	17
3.2. DM tipe 2	18
3.3. Diabetes gestasional	18
3.4. DM tipe lain	18
4. Diagnosa diabetes melitus	19
5. Komplikasi diabetes melitus	20
5.1. Komplikasi akut	20
5.2. Komplikasi kronis	20
6. Terapi nonfarmakologi	21
6.1. Pengaturan diet	21
6.2. Program olahraga	21
6.3. Terapi gizi medis	22
7. Terapi insulin	22
7.1. Insulin kerja singkat	23
7.2. Insulin kerja cepat	23
7.3. Insulin kerja panjang	24
7.4. Insulin kerja Sedang	24
8. Antidiabetik oral	24
8.1. Golongan sulfonilurea	24
8.2. Golongan meglitinide	25
8.3. Golongan thiazolidindion	25
8.4. Golongan biguanide	25
8.5. Golongan inhibitor glukosidase	25
E. Uji Efek Antidiabetes	26
1. Metode uji toleransi glukosa	26
2. Metode uji pengrusak pankreas	26
2.1. Aloksan	26
2.2. Streptozotozin	27
2.3. Na ₂ EDTA	27
3. Metode uji resistensi insulin	28

F. Alokasan.....	28
G. Hewan Uji.....	30
1. Sistematika hewan percobaan.....	30
2. Karakteristik utama mencit.....	30
3. Pengambilan darah hewan percobaan.....	31
H. Landasan Teori.....	31
I. Hipotesis.....	34
BAB III METODE PENELITIAN.....	35
A. Populasi dan Sampel Penelitian.....	35
B. Variabel Penelitian.....	35
1. Identifikasi variabel utama.....	35
2. Kasifikasi variabel utama.....	35
3. Definisi operasional variabel utama.....	36
C. Alat dan Bahan.....	37
1. Bahan.....	37
1.1. Bahan sampel.....	37
1.2. Bahan kimia.....	37
1.3. Hewan uji.....	37
2. Alat.....	38
D. Jalannya Penelitian.....	38
1. Determinasi tanaman.....	38
2. Pembuatan serbuk daun sirsak.....	38
3. Penetapan kandungan lembab serbuk daun sirsak.....	38
4. Pembuatan ekstrak etanol 96% daun sirsak.....	39
5. Pembuatan fraksi <i>n</i> -heksan, fraksi etil asetat dan air.....	39
6. Identifikasi kandungan secara KLT.....	40
6.1. Identifikasi saponin.....	41
6.2. Identifikasi flavonoid.....	41
6.3. Identifikasi alkaloid.....	42
6.4. Identifikasi tanin.....	42
7. Persiapan larutan dan suspensi.....	42
7.1. Larutan aloksan monohidrat.....	42
7.2. Larutan garam fisiologis.....	42
7.3. Suspensi CMC-Na 0,5% b/v.....	42
7.4. Larutan glibenklamid.....	43
7.5. Larutan sediaan uji.....	43
8. Penentuan dosis.....	43
8.1. Dosis aloksan monohidrat.....	43
8.2. Dosis glibenklamid.....	43
8.3. Dosis sediaan uji.....	43
9. Prosedur pengujian antidiabetes.....	44
10. Penetapan kadar gula darah.....	45
E. Analisa Data.....	46
F. Skema Uji Penelitian.....	47

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	48
A. Hasil Determinasi dan Identifikasi Daun Sirsak	48
1. Determinasi tanaman	48
2. Deskripsi tanaman	48
B. Hasil Pembuatan Serbuk Daun Sirsak	48
C. Hasil Penetapan Kandungan Lembab Serbuk Daun Sirsak.....	49
D. Hasil Ekstraksi Daun Sirsak	50
E. Hasil Fraksinasi Daun Sirsak.....	50
F. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Daun Sirsak	51
G. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes.....	53
 BAB V KESIMPULAN.....	 60
A. Kesimpulan.....	60
B. Saran	60
 DAFTAR PUSTAKA	 61
LAMPIRAN.....	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tanaman daun sirsak.....	5
Gambar 2. Struktur kimia aloksan.....	29
Gambar 3. Skema pembuatan fraksinasi.....	40
Gambar 4. Skema uji penelitian.....	47
Gambar 5. Grafik hubungan rata-rata kadar gula darah (mg/dL) dengan waktu.....	56

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Identifikasi secara KLT.....	41
Tabel 2. Hasil penetapan kandungan lembab serbuk daun sirsak.....	49
Tabel 3. Prosentase rendemen ekstrak daun sirsak.....	50
Tabel 4. Prosentase rendemen fraksinasi.....	50
Tabel 5. Hasil identifikasi senyawa secara KLT.....	51
Tabel 6. Rata-rata kadar gula darah (mg/dL) ekstrak etanol daun sirsak pada mencit jantan yang diinduksi aloksan.....	55
Tabel 7. Persentase penurunan KGD $\Delta T7$ dan $\Delta T14$	57

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Surat keterangan determinasi tanaman.....	69
Lampiran 2.	Surat keterangan hewan uji	70
Lampiran 3.	Foto serbuk dan ekstrak daun sirsak.....	71
Lampiran 4.	Foto alat-alat yang digunakan	72
Lampiran 5.	Foto fraksinasi dari ekstrak daun sirsak	73
Lampiran 6.	Foto larutan stock dan perlakuan hewan uji.....	74
Lampiran 7.	Data perhitungan rendemen ekstrak kental daun sirsak	75
Lampiran 8.	Data perhitungan rendemen fraksi ekstrak daun sirsak.....	76
Lampiran 9.	Foto hasil identifikasi kandungan kimia secara KLT.....	79
Lampiran 10.	Penentuan dosis dan pembuatan larutan stock	81
Lampiran 11.	Penentuan dosis dan volume pemberian dan larutan stock pada mencit berdasarkan penimbangan berat badan mencit.....	84
Lampiran 12.	Data kuantitatif penurunan kadar gula darah pada berbagai kelompok perlakuan	88
Lampiran 13.	Data analisis statistik rata-rata penurunan kadar gula darah	90
Lampiran 14.	Analisis statistik perbandingan antara penurunan kadar gula darah $\Delta T7$ dan $\Delta T14$	96
Lampiran 15.	Analisis statistik penurunan kadar gula darah $\Delta T14$ antar kelompok perlakuan.....	100

INTISARI

KHOTIMAH, AK., 2016. PENGARUH PEMBERIAN FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK DAUN SIRSAK (*Annona Muricata* L.) TERHADAP KADAR GULA DARAH MENCIT YANG DIINDUKSI ALOKSAN, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang bermanfaat sebagai antidiabetes. Daun sirsak mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi-fraksi dari ekstrak daun sirsak terhadap penurunan kadar gula darah yang diinduksi aloksan.

Daun sirsak dimaserasi dengan etanol 96% lalu difraksinasi dengan *n*-heksan, etil asetat dan air. Penelitian ini menggunakan 35 ekor mencit jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 20 g. Hewan uji dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok I kontrol normal, kelompok II kontrol negatif CMC 0,5%, kelompok III kontrol positif glibenklamid 0,013 mg, kelompok IV ekstrak daun sirsak dosis 21 mg/20 g BB mencit, kelompok V fraksi *n*-heksan dosis 4,55 mg/20 g BB mencit, kelompok VI fraksi etil asetat dosis 11,05 mg/20 g BB mencit, kelompok VII fraksi air dosis 5,38 mg/20 g BB mencit. Semua kelompok diinduksi aloksan secara intraperitoneal kecuali kelompok kontrol normal. Pengukuran kadar gula darah dilakukan pada hari ke-0, 3, 7 dan 14.

Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa kelompok ekstrak daun sirsak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air berpengaruh signifikan terhadap penurunan kadar gula darah yang sebanding dengan kontrol positif.

Kata kunci : *Annona muricata* L, fraksi daun sirsak, penurunan kadar gula darah

ABSTRACT

KHOTIMAH, AK., 2016. THE EFFECT OF N-HEXANE FRACTION, ETHYL ACETATE AND WATER OF SOURSOP (*Annona muricata* L.) LEAVES EXTRACT ON BLOOD GLUCOSE LEVEL IN ALLOXANE-INDUCED MICE, THESIS, PHARMACY FACULTY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Soursop (*Annona muricata* L.) leaves is one of medicinal herbs useful as antidiabetic agent. Soursop leaf contains flavonoid, alkaloid, tannin and saponin. This research aimed to find out the effect of fractions of soursop leaves extract on the decrease of blood glucose level induced by alloxane.

Soursop leaves macerated with 96% ethanol and then fractionated by *n*-hexane, ethyl acetate and water. This research employed 35 male mice aged 2-3 months and weighing 20 g on average. The tested animals were divided into 7 treatment groups, each of which consisted of 5 mice. Group I normal control, group II negative control CMC 0.5%, group III positive control, glibenclamide 0.013 mg, group IV soursop leaves extract at 21 mg/20 g BW mice dose, group V *n*-hexane fraction at 4.55 mg/20 g BW mice dose, group VI ethyl acetate fraction at 11.05 mg/20 g BW mice dose, group VII water fraction at 5.38 mg/20 g BW mice dose. All of groups but normal control were induced with alloxane intraperitoneally. The measurement of blood glucose level was carried out on the days-0, 3, 7 and 14.

The result of statistic analysis showed that soursop leaves extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction and water fraction groups affected significantly the decrease of blood glucose level proportional to the positive control.

Keywords: *Annona muricata* L., soursop leaves fraction, blood glucose level decrease.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Diabetes melitus (DM) adalah salah satu jenis penyakit degeneratif yang mengalami peningkatan setiap tahun di negara-negara seluruh dunia. Angka kejadian DM terjadi peningkatan dari 1,1% di tahun 2007 meningkat menjadi 2,1% di tahun 2013 dari keseluruhan penduduk sebanyak 250 juta jiwa (Risksedas 2013). Menurut *Internasional of Diabetic Federation* (IDF 2014) tingkat prevelensi global penderita DM pada tahun 2014 sebesar 8,3% dari keseluruhan penduduk di dunia dan mengalami peningkatan pada tahun 2014 menjadi 387 juta kasus. Indonesia merupakan negara menempati urutan ke 7 dengan penderita DM sejumlah 8,5 juta penderita setelah Cina, India, Brazil, Rusia, Mexico dan Amerika Serikat. Peningkatan penderita DM terutama disebabkan oleh pertumbuhan populasi, peningkatan jumlah orang usia lanjut, urbanisasi, pola makan dan gaya hidup yang tidak sehat (Widowati 2008).

DM merupakan penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemik yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya (Lasker *et al.* 2010). Hiperglikemik adalah suatu keadaan dimana terjadi peningkatan kadar glukosa darah puasa penderita > 110 mg/dL serta glukosa darah 2 jam pp (*post prandial*) > 140 mg/dL (Perkemi 2012). DM disebabkan karena kekurangan hormon insulin yang berfungsi memanfaatkan glukosa sebagai sumber energi dan mensintesa lemak. Akibatnya glukosa bertumpuk di dalam darah (hiperglikemia) dan akhirnya diekskresikan lewat kemih (glikosuria) tanpa digunakan, sehingga

produksi kemih sangat meningkat dan mengakibatkan penderita sering mengeluarkan air seni, merasa amat haus, berat badan menurun dan merasa lelah (Tjay & Rahardja 2007).

Penyakit DM pada dasarnya ditangani dengan pola hidup sehat, pemberian obat antidiabetes oral serta suntikan insulin. Tetapi masalah yang muncul adalah efek samping karena penggunaan dalam jangka panjang. Masyarakat selalu mencari obat alternatif lain yang mudah dijangkau, yang mudah didapat, mempunyai harga yang relatif murah, terbuat dari bahan alami, dan mempunyai efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat sintetik.

Pemanfaatan obat tradisional di Indonesia sudah mulai banyak diminati oleh masyarakat luas, sehingga penting dilakukan uji secara ilmiah mengenai kemampuan tumbuh-tumbuhan sebagai obat tradisional yang digunakan untuk pengobatan. Salah satu tanaman yang diperbincangkan dan sering digunakan masyarakat dalam pengobatan tradisional untuk menurunkan kandungan glukosa adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.). Sebagian dari masyarakat Indonesia menggunakan seduhan daun sirsak untuk mengobati DM (Anonim 2012). Sedangkan masyarakat Amazon menggunakan akar dan kulit batang tanaman sirsak sebagai obat antidiabetes (Anonim 2012). Adewole & Caxton-Martins (2006) meneliti tentang efek daun sirsak ekstrak air terhadap morfologi sel-sel β pankreas tikus diabetes akibat streptozotocin. Pemberian ekstrak daun sirsak nyata menunjukkan dalam menurunkan kadar gula darah dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dibandingkan dengan pemberian streptozotocin (Adewole & Caxton-Martins 2006). Daun sirsak mempunyai kandungan senyawa yang

berpotensi sebagai antidiabetes antara lain flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (Nurrahmani 2012).

Penelitian sebelumnya telah dilakukan pada daun sirsak mendapatkan hasil bahwa ekstrak daun sirsak dosis 150 mg/kg BB paling efektif berpengaruh dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi dengan aloksan (Suastuti *et al.* 2015). Berdasarkan hal tersebut maka penulis tertarik melakukan penelitian terhadap tanaman tersebut untuk mengetahui efektifitas pengaruh pemberian fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air pada ekstrak daun sirsak dalam menurunkan kadar gula darah.

Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat di simplisia dalam bentuk kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan zat berkhasiat dapat diatur dosisnya. Dalam penelitian ini dilakukan fraksinasi yang bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan kepolarannya. Uji farmakologi *in vivo* DM diinduksi menggunakan aloksan karena zat ini cepat menimbulkan hiperglikemik yang permanen dalam waktu dua sampai tiga hari. Aloksan dapat menyebabkan stres oksidatif pada sel β pankreas (Halliwell & Gutteridge 1994).

B. Perumusan Masalah

Perumusan masalah dalam penelitian ini yaitu antara lain :

1. Apakah fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak daun sirsak dapat menurunkan kadar gula darah pada mencit jantan yang dibuat hiperglikemik?

2. Manakah diantara fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak daun sirsak yang mempunyai aktivitas yang efektif dalam menurunkan kadar gula darah pada mencit yang dibuat hiperglikemik?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu antara lain :

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak daun sirsak dalam menurunkan kadar gula darah pada mencit jantan yang dibuat hiperglikemik.
2. Untuk mengetahui aktivitas antidiabetes antara fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak daun sirsak yang paling aktif dalam menurunkan kadar gula darah pada mencit jantan yang dibuat hiperglikemik.

D. Manfaat Penelitian

Pertama, memberikan informasi dan dasar pengetahuan secara ilmiah tentang manfaat fraksi-fraksi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang mempunyai aktivitas dalam menurunkan kadar gula darah.

Kedua, memberikan pengetahuan secara ilmiah tentang pengembangan obat tradisional bahwa daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan dan mampu menjadi agen antidiabetes secara *in vivo* melalui penurunan kadar gula darah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Sirsak

1. Sistematika tanaman

Sistematika tanaman sirsak sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Polycarpiceae
Famili	: Annonaceae
Genus	: Annona
Species	: <i>Annona muricata</i> L. (Depkes RI 2001).



Gambar 1. Daun sirsak

2. Nama lain

Nama lain *Annona muricata* L. di Indonesia adalah sirsak, sedangkan di Amerika Selatan dan Belanda adalah *zuurzak*. Nama lain dari tanaman sirsak

adalah deureujan (Aceh), tarutung belanda (Batak Toba), durio olandra (Nias), durian bawahi (Minangkabau), jambu lada (Lampung), durian belanda (Melayu), nangka walanda (Sunda), sirsak (Jawa Tengah), nangka boris (Madura), srikaya jawa (Bali), diam blade (Kenya), naka (Flores), naka loanda (Buru), durian (Halahera) (Depkes RI 2001).

3. Morfologi tanaman

Tanaman sirsak dapat tumbuh pada ketinggian antara 100-300 meter di atas permukaan laut. Suhu udara yang sesuai antara 22-32 °C dengan curah hujan yang antara 1.500-3.000 mm/tahun. Lokasi yang disenangi tanaman sirsak yaitu lahan yang terbuka, tidak ada naungan, dan tidak ada kabut. Tanaman sirsak memerlukan sinar matahari antara 50-70% (Sunarjono 2005). Pada tanaman ini secara umum adalah pohon, 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 16-18 cm lebar 2-6 cm, daun 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 bentuk bulat telur. Buahnya majemuk berbentuk bulat telur dengan panjang 15-35 cm berdiameter 5-10 cm dan berwarna hijau. Biji berbentuk tunggang, bulat, dan berwarna coklat muda (Depkes RI 2001).

4. Kandungan kimia

Kandungan kimia pada daun sirsak terdapat metabolit sekunder antara lain Flavonoid, saponin, tanin, steroid (Adewole & Caxton-Martins 2006; Nurrahmani

2012; Londok & Mandey 2014). Alkaloid, kuinon, minyak atsiri dan kumarin (Adewole & Caxton-Martins 2006; Nurrahmani 2012). Triterpenoid (Adewole & Caxton-Martins 2006). Kadar flavonoid total 4,86% dan kadar senyawa kuersetin 0,0905% dan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas penghambatan terhadap α -glukosidase (Nurrahmani 2012). Senyawa yang sudah ditemukan dalam daun sirsak adalah rutin, quercetin, boswellic acid, dan ellagic acid (Jadhav & Puchchakayala 2012). Acetogenins, annocatacin, annocatalin, annohexocin, annonacin, annomuricin, anomurine, ananol, cacLOURINE, gentisic acid, gigantetronin, linoleic acid, muricapentoci, asam lemak, fitosterol, dan mirisil alkohol (Joe 2012). Kariofilen, etiltetradekanoat, asam 2-sikloheksana-1-on, 4-hidroksi-3,5,6-trimetil-4-(3-oxo-1 butenil), etil heksa dekanat, fitol, tiazol-2,4 (3H,5H)-dion, 5 benzilideno-3 [(etifenilamino) metal], asam 9-oktadekanoat, etil linoteat, etil oleat, dan etil oktadekanoat (Suastuti *et al.* 2015).

4.1. Flavonoid. Flavonoid adalah senyawa fenol mengandung 15 atom karbon sehingga rangka dasar yang mempunyai struktur dasar C₆-C₃-C₆. Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang merupakan bentuk kombinasi glikosida (Harborne 1987). 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 β pankreas untuk melepaskan lebih banyak

insulin, karena penggunaan glukosa perifer dapat ditingkatkan melalui otot rangka dan melalui rangsangan sel β (Jadhav & Puchchakayala 2012).

4.2. Alkaloid. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan sebagian dari sistem siklik. Alkaloid sering kali beracun tetapi juga banyak yang mempunyai kegiatan fisiologi yang menonjol. Alkaloid digunakan secara luas dalam bidang pengobatan (Harborne 1987). Alkaloid biasanya diperoleh dengan cara mengekstraksi bahan tanaman menggunakan air yang diasamkan digunakan untuk melarutkan alkaloid sebagai garam atau bahan tanaman yang dapat dibasakan dengan natrium karbonat dan basa bebas diekstraksi dengan pelarut organik seperti kloroform dan eter (Robinson 1995). Alkaloid memiliki kemampuan meregenerasi sel β pankreas yang rusak. Alkaloid berperan dalam proses penyerapan glukosa yang relatif tinggi di β -TC6 dan sel C2C12. Alkaloid juga berfungsi sebagai “sensitizer insulin” dalam pengelolaan DM tipe 2 (Soon *et.al.* 2013).

4.3. Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat menimbulkan busa bila dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Senyawa saponin ini mempunyai rasa pahit yang menusuk, biasanya menyebabkan bersin dan iritasi pada selaput lendir dan bersifat racun terhadap hewan berdarah dingin seperti ikan. Saponin ada 2 jenis yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995). Saponin memiliki

efek antidiabetes karena mekanisme kerja menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase yaitu enzim yang bertanggung jawab pada perubahan karbohidrat menjadi glukosa (Makalalag *et al.* 2013).

4.4. Tanin. Senyawa tanin adalah sejenis kandungan tumbuhan berisi fenol mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Tanin merupakan senyawa amorf berwarna coklat kuning yang larut dalam pelarut organik polar, tetapi tidak larut dalam pelarut organik nonpolar seperti benzena dan kloroform. Tanin mempunyai aktivitas penurunan kadar glukosa darah yaitu dengan meningkatkan glikogenesis, tanin juga berfungsi sebagai adstringen atau pengkhelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan menghambat asupan gula sehingga laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Meidiana & Widjanarko 2014).

5. Manfaat sirsak

Semua bagian tumbuhan sirsak dapat digunakan sebagai bahan obat alami termasuk kayu, dan, akar, buah, dan biji. Pada setiap pohon tanaman memiliki khasiat dan kandungan yang berbeda.

Tanaman sirsak mempunyai khasiat sebagai antikanker, antidiabetes, antibakteri, antijamur, emetika, sedatif, digestif, analgetik. Di Malaysia memanfaatkan tanaman daun sirsak sebagai obat antihipertensi. Pada daun sirsak yang digunakan sebagai bahan berkhasiat obat yang mampu menurunkan dan mempertahankan kadar gula dalam batas normal (Anonim 2012).

Daun sirsak dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif untuk pengobatan kanker dan tumor, yaitu dengan mengkonsumsi air rebusan daun sirsak. Selain untuk pengobatan kanker, tanaman sirsak juga dimanfaatkan untuk pengobatan

demam, diare, sakit pinggang, asam urat, gatal-gatal, bisul, flu dan lain-lain (Mardiana & Ratnasari 2011).

Perkembangan penelitian tanaman sirsak antara lain Adewole & Caxton-Martins (2006) meneliti tentang efek daun sirsak ekstrak air terhadap morfologi sel-sel β pankreas tikus diabetes akibat streptozotocin pada dosis 100 mg/kg BB. Aktivitas antidiabetes ekstrak air dan etanol daun sirsak secara *in vitro* melalui enzim α -glukosidase (Purwatesna 2012). Ekstrak daun sirsak pada dosis 125 mg/dl mampu bekerja setara dengan metformin 63 mg/dl dalam menurunkan kadar gula darah tikus (Putri 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Aziz *et al.* (2013) adalah efektifitas air rebusan daun sirsak terhadap kadar gula darah pada penderita diabetes melitus tipe II. Ekstrak etanol daun sirsak dosis 1000, 2000, dan 5000 mg/kg BB memiliki penurunan kadar gula darah pada tikus yang diinduksi aloksan (Moniaga *et al.* 2013). Penelitian kadar gula darah pada tikus yang diinduksi streptozotocin pada sirsak juga telah dilakukan ekstrak kulit batang, akar, dan daun pada dosis 125 mg/kg BB (Rahmawati & Rifqiyati 2014). Penelitian lain menunjukkan ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas antidiabetes terhadap mencit yang diinduksi aloksan pada dosis 100 mg/kg BB & dosis 200 mg/kg BB, sedangkan pada dosis 50 mg/kg BB tidak memberikan efek antidiabetes (Pratama 2014). Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak daun sirsak dosis 150 mg/kg BB paling efektif berpengaruh dalam menurunkan kadar glukosa darah yang diinduksi dengan aloksan (Suastuti *et al.* 2015).

B. Simplisia

1. Definisi simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun, kecuali dinyatakan lain berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, hewani, dan mineral (Depkes RI 1985). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh atau bagian tanaman atau eksudat tanaman. Eksudat tanaman yang dimaksud disini adalah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau yang dengan cara tertentu dikeluarkan selnya atau zat-zat nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh. Bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia murni adalah simplisia yang berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia (Depkes RI 1983).

2. Pengeringan simplisia

Pengeringan secara alamiah dapat dilakukan dengan dioven 50 °C. Beberapa hal yang perlu diperhatikan pada proses pengeringan adalah waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembapan udara di sekitarnya dan kelembaban bahan atau kandungan air dari bahan, ketebalan bahan yang dikeringkan, sirkulasi udara, dan luas permukaan bahan (Gunawan & Mulyani 2004).

Pengeringan bertujuan menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi jamur dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif dan memudahkan dalam hal

pengelolaan poses selanjutnya. Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pengeringan adalah waktu pengeringan, suhu pengeringan, kelembaban udara dan kelembapan bahan, ketebalan bahan, sirkulasi udara dan luas permukaan bahan (Gunawan & Mulyani 2004).

C. Metode Penyarian Simplisia

1. Penyarian

Penyarian adalah merupakan peristiwa pemindahan masa. Zat aktif yang semula berada di dalam sel, ditarik oleh cairan penyari sehingga terjadi larutan zat aktif dalam cairan penyari tersebut. Umumnya penyarian akan bertambah baik bila permukaan serbuk simplisia yang bersentuhan dengan cairan penyari lebih luas (Depkes RI 1986).

2. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut yang cocok, di luar dari pengaruh cahaya matahari langsung. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk (Depkes RI 1979).

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).

3. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut dan beberapa kali pengadukan pada temperatur ruangan. Metode maserasi

digunakan untuk penarikan senyawa kimia yang mudah larut dalam pelarut yang cocok tanpa pemanasan (Depkes RI 2000).

Maserasi prinsipnya adalah merendam serbuk ekstrak dicairan pelarut yang sesuai dengan suhu temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Cairan penyari akan masuk ke dalam sel melewati dinding sel, isi sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan di dalam sel dengan di luar sel. Larutan yang konsentrasinya tinggi akan terdesak keluar dan diganti oleh cairan penyari dengan konsentrasi rendah (proses difusi). Peristiwa tersebut berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes RI 1986).

4. Fraksinasi

Fraksinasi adalah metode pemisahan golongan senyawa kimia yang satu dengan yang lain menggunakan dua pelarut yang berbeda kepolarannya. Umumnya pelarut pertama adalah air, sedangkan pelarut kedua adalah pelarut organik yang tidak bisa bercampur dengan air. Senyawa yang bersifat polar akan larut dalam bagian air, sedangkan senyawa non polar akan larut dalam bagian pelarut organik. Fraksinasi secara umum dilakukan dengan menggunakan corong pemisah. Corong pemisah memiliki ukuran yang bervariasi antara 50 mL sampai 3 L. Cara penggunaan corong pemisah yaitu kran corong pemisah ditutup terlebih dahulu kemudian kedua pelarut yang digunakan untuk fraksinasi dimasukkan dari atas, tutup corong pemisah kemudian digoyangkan corong dengan posisi horizontal supaya kedua pelarut tercampur. Kran corong pemisah sesekali dibuka untuk mengeluarkan tekanan gas yang berlebihan. Setelah selesai mencampurkan kedua pelarut, corong pemisah didiamkan dengan posisi vertikal hingga terlihat

pemisahan kedua pelarut. Kran dibuka pelan-pelan bila pemisahan sudah sempurna, larutan ditampung kemudian dipekatkan dalam oven (Sudjadi 1988).

Pada fraksinasi digunakan ekstraksi cair-cair, bersifat sederhana, bersih, cepat dan mudah. Ekstraksi cair-cair merupakan suatu teknik bila mana suatu larutan dibuat bersentuhan dengan suatu pelarut kedua biasanya organik, yang pada hakekatnya tak tercampur dengan pelarut pertama dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut (*Solute*) ke dalam pelarut yang kedua. Pemisahan dapat dilakukan dengan mengocok-ngocok dalam sebuah corong pemisah selama beberapa menit (Basset J *et al.* 1994).

5. Pelarut

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria antara lain yaitu murah, stabil, netral, tidak mudah terbakar, selektif, dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes RI 1986).

5.1. Etanol. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh pada etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorbansinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan dan pemekatannya lebih mudah (Depkes RI 1986).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% karena untuk ekstraksi pendahuluan. Pemilihan pelarut ini karena pelarut etanol 96% bersifat universal sehingga dapat menarik kandungan zat aktif secara optimal, sedangkan pengotornya hanya berada dalam skala kecil (Voight 1994).

5.2. *n*-Heksan. Senyawa yang dapat larut dalam *n*-heksan yaitu senyawa yang bersifat nonpolar seperti minyak lemak dan asam lemak tinggi, steroid,

triterpenoid dan karotenoid (Harborne 1987). *n*-Heksana adalah hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih terdiri dari suatu campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna atau pucat, transparan, bersifat volatil, mudah terbakar, bau karakteristik, tidak dapat larut dengan air, dapat larut dengan alkohol, benzen, kloroform, eter (Martindale 1993).

5.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semipolar, mudah terbakar, dan menguap. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas, seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dengan eter, etanol, dan kloroform. Senyawa yang larut ke dalam pelarut ini adalah flavonoid, alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, antraknon, dan steroid (Harborne 1987).

5.4. Air. Dipertimbangkan sebagai pelarut karena stabil, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air dapat melarutkan enzim hingga enzim yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan penurunan mutu, tetapi adanya air akan mempercepat proses hidrolisis. Penggunaan air sebagai cairan penyari kurang menguntungkan di samping zat aktif ikut tersaring juga zat lain yang tidak diperlukan mengganggu proses penyarian (Depkes RI 1986). Senyawa yang larut ke dalam pelarut ini adalah saponin, glikosida dan tanin (Harborne 1987).

D. Diabetes Melitus

1. Definisi diabetes melitus

DM merupakan sekumpulan gejala yang timbul pada seseorang, ditandai dengan kadar glukosa darah yang melebihi nilai normal (hiperglikemia) akibat

tubuh kekurangan insulin baik absolut maupun relatif. Gejala awal berhubungan dengan efek langsung dari kadar gula darah yang tinggi. Jika kadar gula darah lebih dari 160-180 mg/dl maka glukosa akan sampai ke air kemih. Jika kadarnya lebih tinggi lagi, ginjal akan membuang air tambahan untuk mengencerkan sejumlah besar glukosa yang hilang. Ginjal menghasilkan air kemih dalam jumlah yang berlebihan maka penderita sering berkemih dalam jumlah yang banyak (poliuri). Akibat dari poliuri maka penderita merasa haus yang berlebihan sehingga banyak minum air (polidipsi). Sejumlah besar kalori hilang ke dalam air kemih, penderita mengalami penurunan berat badan, hal ini menyebabkan penderita sering kali merasakan lapar yang luar biasa sehingga banyak makan (polifagi) (Dalimartha 2005).

DM merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemik yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin maupun kedua-duanya. Hiperglikemik kronik pada DM berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi atau kegagalan beberapa organ tubuh, terutama mata, ginjal, syaraf, jantung, dan pembuluh darah (Soegondo *et al.* 2009).

2. Patofisiologi diabetes melitus

Gangguan produksi insulin pada DM tipe 1 umumnya terjadi karena kerusakan sel-sel β pulau Langerhans yang disebabkan oleh reaksi autoimun, namun ada pula yang disebabkan oleh bermacam-macam virus, di antaranya virus Cocksakie, Rubella, CMVirus, Herpes, dan lain sebagainya. Pada pulau Langerhans kelenjar pankreas terdapat beberapa tipe sel, yaitu sel α , sel β dan sel δ . Sel-sel β memproduksi insulin, sel-sel α memproduksi glukagon, sedangkan sel-sel δ memproduksi hormon sematostatatin. Namun nampaknya serangan

autoimun secara selektif menghancurkan sel-sel β . Destruksi autoimun dari sel-sel β pulau Langerhans kelenjar pankreas langsung mengakibatkan defisiensi sekresi insulin. Defisiensi insulin inilah yang menyebabkan gangguan metabolisme menyertai DM tipe 1.

Patofisiologis DM tipe 2 bukan disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, tetapi karena sel-sel sasaran insulin gagal atau tak mampu merespon insulin secara normal. Keadaan ini disebut sebagai resisten insulin. Pada penderita DM tipe 2 dapat juga timbul gangguan sekresi insulin dan produksi glukosa hepatic yang berlebihan. Defisiensi fungsi insulin pada penderita DM tipe 2 hanya bersifat relatif, tidak absolut. Oleh sebab itu pada penanganannya umumnya tidak memerlukan terapi pemberian insulin.

Sel-sel β kelenjar pankreas mensekresi insulin dalam dua fase yaitu fase pertama sekresi insulin terjadi segera setelah stimulus atau rangsangan glukosa yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah, sedangkan sekresi fase kedua terjadi sekitar 20 menit sesudahnya. Pada awalnya perkembangan DM tipe 2, sel-sel β menunjukkan gangguan pada sekresi insulin fase pertama, yang artinya sekresi insulin gagal mengkompensasi resistensi insulin apabila tidak ditangani dengan baik, pada perkembangan penyakit selanjutnya penderita DM tipe 2 akan mengalami kerusakan sel-sel β pankreas yang terjadi secara progresif, yang seringkali akan mengakibatkan defisiensi insulin, sehingga memerlukan insulin eksogen (Depkes RI 2005).

3. Klasifikasi diabetes melitus

3.1. DM tipe 1. DM tipe 1 terjadi kerusakan pada sel β Langerhans sehingga mengakibatkan produksi insulin berhenti atau sedikit sekali (Nugroho

2012). Pada DM tipe 1 merupakan 5-10% dari semua kasus DM, biasanya ditemukan pada anak atau orang dewasa dan tidak ada pembentukan insulin sehingga penderita memerlukan suntikan insulin setiap hari (Depkes RI 2005).

3.2. DM tipe 2. DM tipe 2 disebabkan oleh dua hal yaitu penurunan respon jaringan terhadap insulin atau disebut resistensi insulin dan penurunan produksi insulin akibat regulasi sekresinya terganggu atau terjadi kerusakan fungsional pada sel β Langerhans. Sebagian besar penderita DM tipe 2 disebabkan oleh kegemukan karena kelebihan makanan (Nugroho 2012). Pada DM tipe 2 lebih banyak penderitanya dibandingkan DM tipe 1. Penderita DM tipe 2 mencapai 90-95% dari keseluruhan populasi penderita DM, umumnya berusia di atas 45 tahun tapi akhir-akhir ini penderita DM tipe 2 di kalangan remaja dan anak-anak populasinya meningkat (Depkes RI 2005).

3.3. Diabetes gestasional. DM gestasional adalah keadaan DM atau intoleransi glukosa yang timbul selama masa kehamilan dan biasanya berlangsung hanya sementara atau temporer. Sekitar 4-5% wanita hamil menderita DM gestasional dan biasanya terdeteksi pada saat atau setelah trimester kedua (Depkes RI 2005). Penyebab diabetes ini berkaitan dengan peningkatan kebutuhan energi dan kadar estrogen serta hormon pertumbuhan yang terus menerus tinggi selama kehamilan. Hormon estrogen dan pertumbuhan ini menstimulasi pelepasan insulin yang berlebihan mengakibatkan penurunan responsivitas seluler (Corwin & Elizabeth 2009).

3.4. DM tipe lain. Dalam klasifikasi DM ini individu mengalami hiperglikemi akibat kelainan spesifik seperti kelainan genetik fungsi sel β dan endokrinopati. DM tipe lain ini merupakan DM yang timbul akibat penyakit lain

yang mengakibatkan gula darah meningkat, misalnya infeksi berat, pemakaian obat kortikosteroid dan lain-lain (Nabyl 2012).

4. Diagnosa diabetes melitus

Diagnosis DM awalnya dengan adanya gejala khas berupa poliuria, lemas dan berat badan menurun. Gejala lain yang mungkin dikeluhkan adalah kesemutan, gatal, infeksi pada kulit berulang, mata kabur, dan impotensi pada pria, serta pruritis vulva pada wanita. Pada DM tipe 1 karena kekurangan insulin yang berat mereka mengalami penurunan berat badan. Penderita bisa mengalami ketoasidosis diabetikum. Kadar gula darah tinggi tetapi karena sebagian sel tidak menggunakan gula tanpa insulin, maka sel mengambil energi dari sumber lain. Sel lemak dipecah dan menghasilkan keton, merupakan senyawa kimia beracun yang menyebabkan darah menjadi asam. Gejala awal yaitu mual dan muntah, lelah dan nyeri perut. Pada DM tipe 2 tidak menunjukkan gejala-gejala selama beberapa tahun. Jika kekurangan insulin semakin parah, timbul gejala yang berupa sering berkemih dan merasa haus, jarang terjadi ketoasidosis (Gunawan & Sulistia 2007).

Hiperglikemik didefinisikan sebagai kadar glukosa puasa yang lebih tinggi dari 110 mg/dl. Kadar glukosa serum puasa normal adalah 70-110 mg/dl. Glukosa difiltrasi oleh glomerulus ginjal dan hampir semuanya direabsorpsi oleh tubulus ginjal selama kadar glukosa dalam plasma tidak melebihi 160-180 mg/dl. Jika konsentrasi serum naik melebihi kadar tersebut, glukosa akan keluar bersama urin dan keadaan ini disebut sebagai glikosuria. Test tradisional yang digunakan untuk menilai buangan glukosa adalah test toleransi glukosa oral (TTGO). Test ini telah

digunakan untuk mendiagnosis diabetes mellitus awal secara pasti, namun test ini dibutuhkan untuk penapisan (Price & Wilson 2005). Apabila ada keluhan yang khas, hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu > 200 mg/dL sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa > 126 mg/dL juga dapat digunakan sebagai patokan diagnosis DM (Depkes RI 2005).

5. Komplikasi diabetes melitus

5.1. Komplikasi akut. Komplikasi akut terjadi jika kadar glukosa darah seseorang meningkat atau menurun tajam dalam waktu relatif singkat. Pada komplikasi akut DM dapat terjadi hipoglikemia adalah suatu keadaan dimana seseorang dengan kadar glukosa darah di bawah nilai normal kurang dari 50 mg/dl. Walaupun ada orang tertentu yang sudah menunjukkan gejala hipoglikemia pada kadar glukosa diatas 50 mg/dl. Kadar glukosa terlalu rendah menyebabkan sel-sel otak tidak dapat pasokan energi sehingga tidak dapat berfungsi bahkan dapat rusak. Gejala hipoglikemia adalah keringat dingin pada muka terutama hidung, gemetar, lemas, rasa lapar, mual tekanan darah turun, gelisah, jantung berdebar, sakit kepala, serta kesemutan di jari tangan dan bibir. Bila dibiarkan tanpa pertolongan maka penderita menjadi tidak sadar (koma) dengan atau tanpa kejang (Dalimartha 2005).

5.2. Komplikasi kronis. Komplikasi kronis terjadi terutama akibat kelainan pembuluh darah seperti makroangiopati dan mikroangiopati. Kelainan pembuluh darah kecil (mikroangiopati) dapat menimbulkan berbagai perubahan pada pembuluh darah kapiler yang ada pada ginjal, mata, dan kaki.

Akibatnya timbul berbagai komplikasi seperti pada kapiler glomerulus ginjal yang menyebabkan nefropati diabetik, pada retina mata menyebabkan retinopati dan berakhir dengan kebutaan. Pada kelainan pada pembuluh darah besar (makroangiopati) dapat menyebabkan terjadinya penyumbatan pada pembuluh darah jantung yang menyebabkan penyakit jantung koroner. Penyempitan pada pembuluh darah tungkai bawah dapat menyebabkan ulkus dan gangren di kaki, dan kelainan pada pembuluh darah otak menyebabkan penyakit cerebrovaskuler yang mengakibatkan stroke (Dalimartha 2005).

6. Terapi nonfarmakologi

6.1. Pengaturan diet, yaitu merupakan kunci keberhasilan pelaksanaan DM. Diet yang dianjurkan adalah makanan dengan komposisi yang seimbang dalam masalah karbohidrat, protein dan lemak, sesuai dengan kecukupan gizi baik sebagai berikut: karbohidrat 60-70%, protein 10-15%, lemak 20-25%. Jumlah kalori disesuaikan dengan pertumbuhan, status gizi, umur, stress akut dan kegiatan fisik yang dasarnya ditujukan untuk mencapai dan mempertahankan berat badan ideal (Depkes RI 2005).

6.2. Program olahraga, yaitu berperan utama dalam pengaturan kadar glukosa darah. Masalah utama pada DM tipe 2 adalah kurangnya respons reseptor terhadap insulin (resistensi insulin). Karena adanya gangguan tersebut insulin tidak dapat membantu transfer glukosa ke dalam sel. Kontraksi otot memiliki sifat seperti insulin (insulin-like-effect). Permeabilitas membran terhadap glukosa meningkat pada otot yang berkontraksi. Pada saat berolahraga resistensi insulin berkurang, sebaliknya sensitivitas insulin meningkat, hal ini menyebabkan

kebutuhan insulin pada DM tipe 2 akan berkurang. Respon ini hanya akan terjadi setiap kali berolahraga, tidak merupakan efek yang menetap atau berlangsung lama, oleh karena itu olahraga harus dilakukan terus menerus dan dilakukan secara teratur. Olahraga pada DM tipe 2 selain bermanfaat sebagai glycemic control juga bermanfaat untuk menurunkan berat badan dan lemak tubuh (Soegondo *et al.* 2009).

6.3. Terapi gizi medis, yaitu perencanaan makan sebaiknya dengan kandungan zat gizi yang cukup dan disertai pengurangan total lemak terutama lemak jenuh. Dianjurkan pembatasan kalori sedang yaitu 250-500 kkal lebih rendah dari asupan rata-rata sehari. Penekanan tujuan terapi gizi medis pada DM tipe 2 sebaiknya pada pengendalian glukosa, lipid dan hipertensi. Penurunan berat badan dan diet hipokalori (pada pasien yang gemuk) biasanya memperbaiki kadar glikemik jangka pendek dan mempunyai potensi meningkatkan kontrol metabolik jangka lama (Soegondo *et al.* 2009).

7. Terapi insulin

Insulin merupakan polipeptida yang mengandung 51 asam amino yang tersusun dalam dua rantai (A dan B) dan dihubungkan oleh ikatan disulfida. Suatu prekursor yang disebut proinsulin, dihidrolisis dalam granula menyimpan untuk membentuk insulin dan peptida C resusial. Granula menyimpan insulin sebagai kristal yang mengandung zink dan insulin (Neal 2006).

Insulin disekresi sebagai respon atas meningkatnya konsentrasi glukosa dalam plasma darah. Konsentrasi ambang untuk sekresi tersebut adalah kadar glukosa pada saat puasa adalah antara 80-100 mg/dl. Respon maksimal diperoleh

kadar glukosa yang berkisar dari 300-500 mg/dl. Insulin yang disekresikan dialirkan melalui aliran darah ke seluruh tubuh. Umur insulin dalam aliran darah sangat cepat, waktu paruhnya adalah kurang dari 3-5 menit (Suriani 2012).

Kadar glukosa yang tinggi dalam tubuh tidak bisa diserap semua dan tidak mengalami metabolisme dalam sel akibatnya seseorang akan kekurangan energi sehingga mudah lelah dan berat badan turun. Kadar glukosa yang berlebih tersebut dikeluarkan melalui ginjal dan dikeluarkan bersama urin. Gula memiliki sifat yang menarik air sehingga menyebabkan seseorang banyak mengeluarkan urin dan selalu merasa haus (Maulana 2009). Klasifikasi akhir diabetes mellitus mengidentifikasi terdapat suatu kelompok pasien DM tipe 1 yang hampir tidak mempunyai sekresi insulin dan kelangsungan hidupnya tergantung pemberian insulin eksogen dan pasien DM tipe 2 tidak memerlukan insulin eksogen untuk kelangsungan hidupnya, tetapi banyak memerlukan suplemen eksogen dari sekresi endogen untuk mencapai kesehatan yang optimum (Katzung 2002). Empat tipe insulin yang diproduksi dan dikategorikan berdasarkan puncak dan jangka waktu efeknya yaitu sebagai berikut:

7.1. Insulin kerja singkat (*short acting*). Insulin reguler adalah produk insulin yang cocok untuk pemberian intravena. Insulin kerja singkat yang beredar di Indonesia yaitu Actrapid, Humulin (Soegondo *et al.*2009)

7.2. Insulin kerja cepat (*rapid acting*). Obat ini khusus dianjurkan untuk penderita DM tipe 1 karena merupakan analogan sintetis dari insulin human. Mulai kerjanya dalam 100-200 menit dan lebih mendekati keadaan faal dan lama kerjanya lebih singkat 2,5 jam dan cepat diabsorpsi (Tjay & Rahardja

2007). Insulin analog seperti Novorapid, Humalog, dan Apidra (Soegondo *et al.*2009).

7.3. Insulin kerja panjang (*long acting*). Insulin ini banyak dipakai dalam terapi kombinasi baik dengan insulin lain maupun dengan obat diabetes oral, mempunyai kadar zink yang tinggi untuk memperpanjang waktu kerjanya. Jenis ini adalah ultra lente dan PZI (*protamine zinc insulin*). Insulin basal seperti Glargine dan Detemir yang dapat memenuhi kebutuhan basal insulin selama 24 jam tanpa adanya efek puncak (Soegondo *et al.* 2009).

7.4. Insulin kerja sedang (*medium acting*). NPH (*netral protamine hegedorn*) termasuk Monotard, Insulatard dan Humulin N. Pada NPH mengandung protamin dan sejumlah zink, dimana keduanya kadang-kadang mempunyai pengaruh sebagai penyebab reaksi imunologik seperti urtikaria pada lokasi suntikan (Soegondo *et al.*2009).

8. Antidiabetik oral

Obat antidiabetik oral yang diberikan untuk penderita DM dibagi dalam beberapa golongan yaitu :

8.1. Golongan sulfonilurea, yaitu menstimulasi sel-sel β dari pulau langerhans, sehingga sekresi sekresi insulin ditingkatkan. Obat ini hanya efektif pada penderita DM tipe 2 yang tidak begitu berat, dan sel β masih bekerja cukup baik. Ada indikasi bahwa obat-obat ini juga memperbaiki kepekaan organ tujuan terhadap insulin dan menurunkan absorpsi insulin oleh hati. Obat-obat yang termasuk golongan ini adalah: tolbutamid, klorpropamid, tolazamid (tolinase) glibenklamid, gliklazid, glipizid, dan glikidon (Tjay & Rahardja 2007).

8.2. Golongan meglitinide, yaitu hampir sama dengan sulfonilurea yaitu dengan memblok *ATP-sensitive K⁺ channels* pada sel β pankreas untuk merangsang sekresi insulin. Obat ini kurang poten dibandingkan obat sulfonilurea, namun aksinya lebih cepat. Contoh obat golongan ini adalah repaglinid dan nateglinid (Nugroho 2012).

8.3. Golongan thiazolidindion, yaitu memiliki kemampuan mengurangi resistensi insulin dan meningkatkan sensitivitas jaringan perifer untuk insulin. Oleh karena itu penyerapan glukosa ke dalam jaringan lemak dan otot meningkat, juga kapasitas penimbunannya di jaringan ini. Efeknya adalah kadar insulin, glukosa dan asam lemak bebas dalam darah menurun, begitu pula glukoneogenesis dalam hati. Obat-obat golongan thiazolidindion contohnya pioglitazon (Tjay & Rahardja 2007).

8.4. Golongan biguanide, yaitu tidak merangsang sekresi insulin dan terutama bekerja di hati dengan mengurangi *hepatic glucose output*, menurunkan kadar glukosa darah sampai normal (euglikemik) dan tidak pernah menyebabkan hipoglikemik. Efek samping yang sering terjadi adalah muntah, dan diare, oleh karena itu lebih baik diberikan kepada pasien yang gemuk sebab tidak merangsang ekskresi insulin (Soegondo *et al.* 2009).

8.5. Golongan inhibitor glukosidase, yaitu merupakan suatu penghambat enzim alfa glukosidase yang terletak pada dinding usus halus. Enzim alfa glukosidase adalah maltase, isomaltase, glukomaltase dan sukrase berfungsi untuk hidrolisis oligosakarida, trisakarida dan disakarida pada dinding usus halus (*brush border*). Inhibisi sistem enzim ini secara efektif dapat mengurangi digesti karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga pada orang dengan DM dapat

mengurangi peningkatan kadar glukosa post prandial. Obat ini juga menghambat alfa-amilase pankreas yang berfungsi melakukan hidrolisa tepung-tepung kompleks didalam lumen usus halus (Soegondo *et al.* 2009).

E. Uji Efek Antidiabetes

1. Metode uji toleransi glukosa

Prinsip metode ini yaitu kelinci dipuasakan selama 20-24 jam, diberikan larutan glukosa per oral dosis 70 mg/kg BB setengah jam sesudah pemberian sediaan uji. Pada awal percobaan sebelum pemberian sediaan uji, dilakukan pengambilan cuplikan darah vena telinga dari masing-masing kelinci sebanyak 0,5 ml sebagai kadar glukosa darah awal. Pada pengambilan cuplikan darah vena diulangi setelah perlakuan pada waktu-waktu tertentu misalnya pada menit ke 30, 60, 90 dan 120 (Depkes 1993).

2. Metode uji pengrusak pankreas

2.1. Aloksan. Prinsip metode ini dilakukan dengan memberikan diabetogen yang dapat menyebabkan pankreas hewan uji sebagian rusak sehingga keadaan seperti pada penderita DM. Diabetes yang biasa digunakan adalah aloksan monohidrat karena aloksan secara cepat dapat mencapai pankreas, aksinya diawali oleh pengambilan yang cepat oleh sel β Langerhans (Nugroho 2006). Induksi diabetes dilakukan pada tikus yang diberi suntikan aloksan dengan dosis 65 mg/kg BB. Penyuntikan dilakukan secara intravena dan perkembangan hiperglikemia diperiksa setiap hari. Aloksan dapat diberikan secara intraperitoneal atau subkutan dengan dosis efektif 2-3 kali lebih tinggi (Szkudelski 2001).

2.2. Streptozotolin. Merupakan antibiotik yang mengandung metilnitrosurea. Obat ini memiliki afinitas yang tinggi terhadap sel-sel pulau Langerhans pankreas, yang menyebabkan diabetes pada hewan uji (Gunawan & Mulyani 2004). Prinsip dari metode ini adalah tikus percobaan (BB 200-300 g) disuntik dengan streptozotolin dengan dosis 60 mg/ kg BB secara intravena. Streptozotolin akan menginduksi diabetes dalam waktu 3 hari dengan menghancurkan sel β pankreas (Akbarzadeh *et al.* 2007).

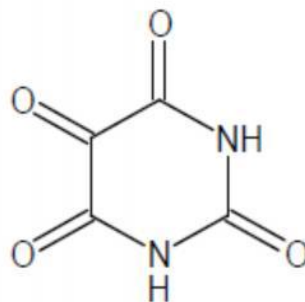
2.3. Na₂ EDTA. *Ethylendiamintetracetic acid* (EDTA) pada permulaannya dibuat untuk mengikat ion Ca dan Mg. Senyawa EDTA tidak terlalu bisa larut, namun garamnya (Na₂EDTA) jauh lebih mudah larut dalam air maupun garam saline. Bila diberikan pada binatang, maka garam ini dengan cepat membentuk persenyawaan kalsium dengan ion Ca yang berada dalam serum. Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan yang cepat dari jumlah ion Ca bebas yang ada dalam serum (*extra-celulair*). Bila Na₂EDTA diberikan secara intravena dengan terlal cepat, terjadi persenyawaan cepat dengan ion Ca dalam serum, Ca dalam serum bisa habis dengan cepat. Pengikatan senyawa Na₂EDTA dalam mengikat ion Mg yang berfungsi untuk mempertahankan seluruh struktur selubung sel, sehingga pemberian Na₂EDTA dengan dosis toksik (40-100 mg/kg BB) dapat membuat membran sel mudah rusak (lisis). Fase awal terjadinya hiperglikemik yang diinduksi Na₂EDTA terlihat setelah 2 jam, diikuti dengan fase normoglikemik setelah 8 jam dan menimbulkan hiperglikemik permanen yang kedua setelah 24-72 jam (Depkes 1993).

3. Metode uji resisten insulin

Prinsip metode ini yaitu induksi insulin dilakukan pada mencit yang diinduksi obesitas dengan memberikan pakan yang kaya lemak dan karbohidrat serta pemberian glukosa tinggi dilakukan sampai terjadi peningkatan kadar glukosa darah, yang dapat terjadi dalam waktu 4 minggu setelah pemberian pakan. Pada kondisi tersebut diasumsikan mencit sudah mengalami resistensi insulin. Pemeriksaan untuk melihat sensitivitas insulin dilakukan dengan cara mencit dipuasakan selama 5 jam dan larutan insulin diinjeksikan secara intraperitonium dengan dosis 0,75 IU/kg BB. Kadar gula darah diukur dengan cara mengambil darah vena ekor mencit pada menit 0, 15, 30, 60, 90 dan 120 setelah dilakukan injeksi dengan menggunakan alat glukometer (Lian *et al.* 2007).

F. Aloksan

Aloksan adalah suatu senyawa kimia yang tidak stabil dan senyawa hidrofilik. Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana yang diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer. Waktu paruh aloksan pada pH 7,4 dan suhu 37° C adalah 1,5 menit (Yuriska 2009). Nama lain dari aloksan adalah (2,4,5,6-tetraoksipirimidin; 5,6-dioksiurasil) dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal, dan subkutan. Aloksan selektif dapat menyebabkan nekrosis dan merusak sel β pankreas dengan tingkat kerusakan sesuai besar dosis yang diberikan (Rohilla & Ali 2012).



Gambar 2. Struktur kimia aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin)

Pembentukan oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel β Langerhans. Pembentukan itu diawali dengan proses reduksi aloksan dalam sel β Langerhans. Aloksan mempunyai aktivitas tinggi terhadap senyawa seluler yang mengandung gugus SH, glutathion tereduksi (GSH), sistein, dan senyawa sulfidril terikat protein. Faktor lain selain pembentukan oksigen reaktif adalah gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler dari penghambatan glukokinase dalam proses metabolisme energi. Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel β Langerhans pankreas. Efek tersebut menyebabkan influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, dan eliminasinya yang terbatas dari sitoplasma. Influks kalsium akibat aloksan tersebut mengakibatkan depolarisasi sel β Langerhans, lebih lanjut membuka kanal kalsium tergantung voltase dan semakin menambah masuknya ion kalsium ke sel. Pada keadaan tersebut konsentrasi insulin meningkat sangat cepat dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain faktor diatas tersebut aloksan juga diduga berperan dalam penghambatan glukokinase dalam proses metabolisme energi (Nugroho 2006).

Aloksan dapat bersifat toksik selektif terhadap sel β pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transpoter glukosa yaitu GLUT2 (Yuriska 2009). Aloksan dikenal secara luas sebagai agen diabetogenik yang digunakan untuk menginduksi DM tipe 2 pada hewan percobaan. Aloksan biasanya digunakan untuk menginduksi DM pada hewan seperti kelinci, tikus, mencit dan anjing. Pada aloksan monohidrat 150 mg/kg BB dilarutkan dalam larutan garam normal dan disuntikkan intraperitoneal setelah 18 jam berpuasa untuk menginduksi hiperglikemik pada tikus percobaan (Yuriska 2009).

G. Hewan Uji

1. Sistematika hewan percobaan

Sistematika mencit putih menurut (Kusumawati 2004) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordate
Class	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: Mus
Species	: <i>Mus musculus</i>

2. Karakteristik utama mencit

Hewan uji yang dipilih dalam percobaan ini adalah mencit karena mencit mudah ditangani. Suhu tubuh normal $37,5^{\circ}\text{C}$ dalam laboratorium. Mencit bersifat

penakut fotofobia, cenderung dengan sesamanya, mempunyai kecenderungan untuk bersembunyi dan lebih aktif pada malam hari (Sugiyanto 1995). Masa hidup mencit adalah 1-3 tahun, mencit dikatakan dewasa pada umur 35 hari serta siap untuk dikawinkan pada umur 8 minggu. Berat badan mencit bervariasi tetapi pada umur 4 minggu beratnya mencapai 18-20g (Smith & Mangkoewidjaja 1988).

3. Pengambilan darah hewan percobaan

Pengambilan darah dengan volume yang cukup banyak biasanya dapat diperoleh dari *sinus orbitalis*, dan darah diambil dari medial *canthus sinus orbitalis* yang penting bahwa posisi tabung kapiler harus betul-betul tepat saat pengambilan darah. Pada pengambilan darah dengan volume yang diperlukan hanya sedikit, darah dapat diperoleh dengan memotong ujung ekor atau dari vena ekor, juga jari kaki dapat dipotong tetapi hanya kalau kandang mencit bersih sekali supaya jari tidak terinfeksi. Pengambilan darah dari vena ekor sukar karena perlu jarum intradermal kecil sekali, darah dalam jarum menjendal sebelum diperoleh cukup banyak darah (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

H. Landasan Teori

DM adalah suatu sindroma gangguan metabolisme dengan keadaan hiperglikemik berlebihan sebagai akibat suatu defisiensi sekresi insulin atau berkurangnya efektivitas biologis dari insulin atau keduanya dengan manifestasi klinis berupa hilangnya toleransi karbohidrat (Guyton & Hall 1997). Keadaan hiperglikemik pada DM menyebabkan peningkatan pembentukan radikal bebas dan penurunan sejumlah antioksidan dan akhirnya terjadi peristiwa yang disebut

stres oksidatif dimana keadaan tersebut ditandai oleh ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dalam tubuh (Setiawan & Suhartono 2005).

Salah satu tanaman obat yang memiliki potensi bagi kesehatan dan digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.). Adewole & Caxton-Martins (2006) meneliti tentang efek daun sirsak ekstrak air pada dosis 100 mg/kg BB nyata menunjukkan dalam menurunkan kadar gula darah sel-sel β pankreas tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan yang berpengaruh secara langsung pada enzim lipid peroksidase dan secara tidak langsung memperbaiki produksi antioksidan endogen. Aktivitas antidiabetes ekstrak air dan etanol daun sirsak secara *in vitro* melalui enzim α -glukosidase (Purwatresna 2012). Ekstrak daun sirsak pada dosis 125 mg/dl mampu bekerja setara dengan metformin 63 mg/dl dalam menurunkan kadar gula darah tikus (Putri 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Aziz *et al.* (2013) adalah efektifitas air rebusan daun sirsak terhadap kadar gula darah pada penderita diabetes melitus tipe II. Penelitian kadar gula darah pada tikus yang diinduksi streptozotocin pada sirsak juga telah dilakukan ekstrak kulit batang, akar, dan daun pada dosis 125 mg/kg BB (Rahmawati & Rifqiyati 2014). Penelitian lain menunjukkan ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas antidiabetes terhadap mencit yang diinduksi aloksan pada dosis 100 mg/kg BB & dosis 200 mg/kg BB, sedangkan pada dosis 50 mg/kg BB tidak memberikan efek antidiabetes (Pratama 2014).

Kandungan kimia pada daun sirsak terdapat metabolit sekunder berupa senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan tanin yang berkhasiat sebagai antidiabetes (Suranto 2011). Penelitian terkini menunjukkan bahwa flavonoid

sangat berperan sebagai antidiabetes. Flavonoid terlibat dalam efek hipoglikemik *extra-hepatic* dengan merangsang penggunaan glukosa pada jaringan *extra-hepatic* atau meningkatkan ekspresi reseptor insulin di membran plasma hati (Adaramoye & Adeyemi 2006). Flavonoid dapat menstimulir pemanfaatan glukosa perifer, dengan cara meningkatkan jalur glikolitik dan glikogenik yang secara simultan menekan jalur glikogenolisis dan glukoneogenesis. Mekanisme tersebut bahwa flavonoid dalam daun sirsak memungkinkan dapat mengendalikan glukosa darah, sehingga kadar glukosa darah menurun (Winarsi *et al.* 2013).

Hasil dari penelitian Nurrahmani (2012) bahwa kadar flavonoid total 4,86% dan kadar senyawa kuersetin 0,0905% dan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sirsak memiliki aktivitas penghambatan terhadap α -glukosidase. Enzim α -glukosidase merupakan enzim yang bertugas memecah karbohidrat menjadi glukosa. Ekstrak daun sirsak dosis 150 mg/kg BB paling efektif berpengaruh dalam menurunkan kadar glukosa darah yang diinduksi dengan aloksan (Suastuti *et al.* 2015). Penelitian yang dilakukan Purwatresna (2012), ekstrak air menghambat aktivitas α -glukosidase sebesar 41.91%, sedangkan ekstrak etanol menghambat aktivitas α -glukosidase sebesar 89.33%.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi yang merupakan cara ekstraksi sederhana dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Daun sirsak dengan diekstraksi etanol 96% secara maserasi (Suastuti *et al.* 2015). Fraksinasi merupakan metode yang memisahkan golongan senyawa berdasarkan kepolaran. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar yaitu air, senyawa yang bersifat semipolar akan masuk ke pelarut semipolar yaitu etil asetat, dan senyawa yang bersifat nonpolar akan masuk ke

pelarut nonpolar yaitu *n*-heksan. Senyawa yang bersifat polar adalah saponin, tanin, dan glikosida. senyawa semipolar adalah kuinon, kumarin, alkaloid dan flavonoid dan senyawa yang bersifat nonpolar adalah steroid, minyak atsiri, dan triterpenoid.

Flavonoid bebas seperti isoflavon, flavon, dan flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter, etil asetat, dan kloroform (Markham 1988). Berdasarkan penelitian sebelumnya proses ekstraksi menggunakan pelarut semipolar etil asetat terbukti dapat menyari senyawa flavonoid dalam simplisia karena flavonoid bersifat kurang polar (Mahmiah 2006).

Hewan uji dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan *Balb/C*, berumur 2-3 bulan dengan berat 20-25 g dan dibuat keadaan hiperglikemik dengan cara diinduksi aloksan. Pemberian induksi aloksan karena zat ini cepat menimbulkan hiperglikemik pada hewan percobaan. Mekanisme kerja aloksan yaitu dengan merusak sel β pankreas menunjukkan bahwa aloksan merupakan agen oksidator kuat yang menghasilkan radikal bebas dalam jumlah besar sehingga menimbulkan keadaan stres oksidatif (Bartosikova *et al.* 2003).

I. Hipotesis

Pertama, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air ekstrak daun sirsak dapat menurunkan kadar gula darah yang diinduksi aloksan.

Kedua, fraksi etil asetat daun sirsak memiliki aktivitas yang paling efektif terhadap penurunan kadar gula darah dibandingkan dengan fraksi yang lain.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata L.*) yang telah diperoleh dari tanaman sirsak di daerah Tawangmangu, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah daun sirsak yang berasal dari daun yang masih segar tidak terlalu tua atau terlalu muda, dan sampel diambil secara acak.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sirsak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

Variabel utama yang kedua adalah mencit jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat rata-rata 20 g.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat dilakukan identifikasi ke dalam berbagai tiga variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkendali.

Variabel bebas merupakan variabel yang direncanakan untuk diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini

adalah pemberian ekstrak etanol daun sirsak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

Variabel tergantung merupakan variabel kriteria dalam penelitian ini yaitu suatu titik pusat persoalan. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah penurunan kadar gula darah pada hewan uji setelah pemberian fraksi-fraksi dari ekstrak daun sirsak.

Variabel terkontrol merupakan variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kondisi peneliti, laboratorium, dan kondisi fisik hewan uji yaitu meliputi berat badan, usia, jenis kelamin, dan lingkungan hidup.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun sirsak adalah daun sirsak yang masih segar, berwarna hijau dan bebas hama yang diambil dari Tawangmangu, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun sirsak adalah serbuk daun sirsak yang sudah dicuci kemudian dikeringkan, dirajang kemudian diayak dengan derajat halus mesh 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun sirsak adalah cairan hasil dari penarikan sari daun sirsak dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* dan dilanjutkan dengan oven untuk mendapatkan ekstrak kental.

Keempat, fraksi *n*-heksan adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol 96% daun sirsak dengan menggunakan *n*-heksan. Fraksi etil asetat adalah bagian etil asetat yang didapat dari residu *n*-heksan dengan etil asetat. Fraksi air adalah bagian dari hasil residu sisa hasil etil asetat.

Kelima, hewan uji yang dipakai adalah mencit putih jantan Balb/C berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-25 g.

Keenam, glibenklamid adalah serbuk obat antidiabetes oral yang diperoleh dari PT. Ifars, Solo, Jawa tengah.

Ketujuh, aloksan adalah bahan yang diberikan sebanyak 4,2 mg/20 g BB mencit secara intraperitoneal untuk merusak sel β pankreas karena zat ini cepat menimbulkan hiperglikemik.

Kedelapan, pengukuran kadar gula darah adalah sampel darah yang diambil melalui vena lateralis ekor mencit jantan yang ditetapkan kadarnya dengan alat glukometer dalam satuan mg/dl.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

2.1. Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah daun sirsak yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional, Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah dan obat glibenklamid.

2.2. Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol 96%, FeCl_3 , Uap Sitroborat, reagen Dragendroff dan Lieberman Burchard, *n*-heksan, etil asetat dan aqua destilata. Bahan uji farmakologi dalam penelitian ini digunakan aloksan monohidrat dan suspensi CMC 0,5%. Bahan untuk analisa fitokimia adalah silika gel 60 F₂₅₄.

2.3. Hewan uji. Hewan uji dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan Balb/C berusia 2-3 bulan dengan berat badan antara 20-25 g.

2. Alat

Alat yang digunakan untuk perlakuan hewan uji adalah kandang mencit dan timbangan mencit. Alat yang digunakan untuk mengukur kadar gula darah adalah glukometer. Alat yang digunakan untuk menginduksi aloksan adalah spuit 1 ml dengan jarum suntik. Alat yang digunakan ekstraksi maserasi dan partisi adalah botol kaca gelap, corong gelas, batang pengaduk, kain flanel, penangas air, dan gelas piala. *rotary vacuum evaporator*, blender, oven, ayakan mesh 40, beaker glass dan spektrofotometer UV-VIS.

D. Jalannya Penelitian

1. Deteminasi tanaman

Tahap awal penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman sirsak yang bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel tanaman sirsak dengan cara mencocokkan ciri-ciri morfologi pada daun sirsak yang dibuktikan di Laboratorium Mofologi Sistemik Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta.

2. Pembuatan serbuk daun sirsak

Daun sirsak dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel, dikeringkan dengan alat pengering yaitu oven pada suhu 45 °C, setelah kering dibuat serbuk dan diayak dengan ayakan mesh 40 (Depkes 1985).

3. Penetapan kandungan lembab serbuk daun sirsak

Penetapan kandungan lembab serbuk daun sirsak dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance* di Laboratorium Teknologi Farmasi Universitas Setia Budi. Parameter suhu diatur pada alat dan cawan pemanas diletakkan pada alat kemudian ditara. Sebanyak 2 gram serbuk daun sirsak

dimasukkan kedalam cawan yang ada dalam alat *Moisture Balance*. Hasil penetapan ditandai dengan adanya bunyi pada alat kemudian dicatat kadar kelembabannya dalam satuan persen dengan kadar yang ditentukan kurang dari 10%. Penetapan kadar lembab dilakukan sebanyak 3 kali (Depkes 1979).

4. Pembuatan ekstrak etanol 96% daun sirsak (*Annona muricata* L.)

Serbuk daun sirsak sebanyak 1500 g diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 11250 ml dengan metode maserasi. Caranya: Dimasukkan ke dalam bejana 10 bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok, kemudian dituangi dengan 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya, sambil berulang-ulang diaduk. Setelah 5 hari sari diserukai, ampas diperas menggunakan kain flanel kemudian disaring dengan kertas saring. Sisa pelarut etanol 96% sebanyak 3750 ml digunakan untuk membilas ampas kemudian disaring kembali. Hasil filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* dengan suhu 50 °C sampai didapat ekstrak kental (Depkes 1986).

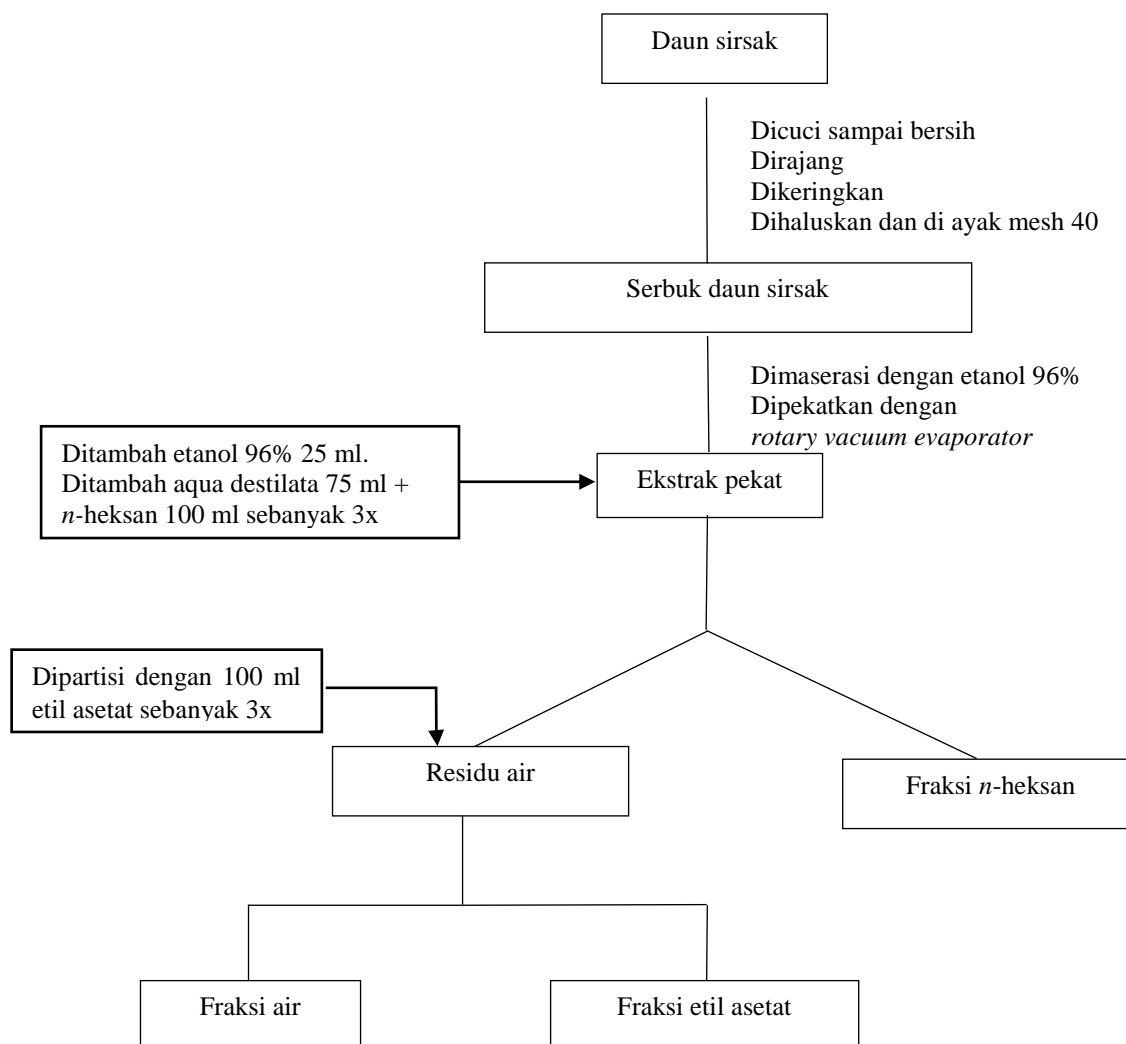
5. Pembuatan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun sirsak

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang ekstrak kental dari hasil maserasi. Kemudian ekstrak kental tersebut dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 25 ml dan aqua destilata sebanyak 75 ml lalu ditambahkan dengan pelarut *n*-heksan 100 ml sebanyak 3x dalam corong pisah. Fraksi *n*-heksan terletak dilapisan atas dan residu air terletak dilapisan bawah. Fraksi *n*-heksan yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40 °C.

Residu air dari fraksi *n*-heksan kemudian difraksinasi kembali dengan menggunakan pelarut etil asetat 100 ml sebanyak 3x dalam corong pisah. Filtrat

etil asetat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40 °C sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan residu air.

Residu air dari fraksi etil asetat kemudian dipekatkan di atas penangas air sampai mengental.



Gambar 3. Skema pembuatan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol daun sirsak.

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi daun sirsak secara KLT

Identifikasi secara kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengetahui isi kandungan senyawa kimia dan menetapkan kebenaran yang

terdapat pada ekstrak etanol daun sirsak dan masing-masing fraksinya. Senyawa yang diidentifikasi antara lain adalah saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan, ditotolkan pada pelat berupa bercak. Setelah pelat ditotolkan, ditaruh dalam bejana tertutup rapat yang fase gerak. Pemisahan terjadi selama perambatan kapiler. Hasil pemeriksaan yang diperoleh diidentifikasi dibawah sinar UV (254 dan 366 nm) ditandai dengan ada atau tidaknya fluoresensi.

Tabel 1. Identifikasi secara KLT

Senyawa	Fase diam	Fase gerak	Pereaksi semprot	Hasil pustaka	Daftar pustaka	Halaman
Saponin	Silika gel 254	Kloroform:metanol:air (64:50:1)	Lieberman Burchard	Coklat gelap	Harborne 1987	63
Flavonoid	Silika gel 254	Heksan:etil asetat:as. fomat (6:1,5:0,5)	Uap Sitroborat	Kuning pudar	Harborne 1987	63
Alkaloid	Silika gel 254	Toluene:etil asetat:diethyl amin (7 : 2 : 1)	Pereaksi Dragendorff	coklat atau jingga	Depkes RI 1989	61
Tanin	Silika gel 254	Etil asetat:as. fomat:toluene:air (6:1,5:3:0,5)	FeCl ₃	Hijau coklat kehitaman	Harborne 1987	63

Sejumlah ekstrak dan ketiga fraksi daun sirsak masing-masing ditimbang dan dilarutkan. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F₂₅₄, sedangkan fase gerak dan penampak noda yang digunakan sebagai berikut:

6.1. Identifikasi saponin. Fase gerak: kloroform:metanol:air (64 : 50 : 1).

Penampak noda: Lieberman Burchard menghasilkan warna coklat gelap, kekuningan. Sedangkan pada UV 254 nm terjadi warna gelap dan UV 366 nm terjadi warna kuning (Harborne 1987).

6.2. Identifikasi flavonoid. Fase gerak: heksana:etil asetat:asam fomat (6

: 4 : 0,2) dan terdiri dari 2 lapisan. Lapisan atas diambil dan dipakai sebagai fase gerak. Penampak noda: uap sitroborat. Jika timbul warna kuning pudar,

sedangkan pada UV 254 nm terjadi fluoresensi biru gelap dan UV 366 nm terjadi fluoresensi biru, kuning, ungu gelap (Harborne 1987).

6.3. Identifikasi alkaloid. Fase gerak: toluen:etil asetat:dietil amin (7 : 2 : 1). Penampak noda: pereaksi Dragendorff. Jika timbul warna coklat atau jingga setelah penyemprotan pereaksi Dragendorff menunjukkan adanya alkaloid. Bila tanpa pereaksi kimia, di bawah sinar UV 366 nm, alkaloid akan berfluoresensi biru, biru-hijau atau ungu (Depkes 1989).

6.4. Identifikasi tanin. Fase gerak: kloroform : etil asetat : asam formiat (0,5 : 9 : 0,5). Penampak noda: FeCl_3 1%. Kemudian bercak diamati di bawah sinar UV 366 nm. Jika tampak warna hijau coklat kehitaman menunjukkan adanya tanin (Harborne 1987).

7. Persiapan larutan dan suspensi

7.1. Larutan aloksan monohidrat. Larutan aloksan monohidrat konsentrasi 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 g aloksan monohidrat ke dalam larutan garam fisiologis 0,9% sampai volume 100 ml.

7.2. Larutan garam fisiologis. Larutan garam fisiologis 0,9% dibuat dengan cara melarutkan 0,9 g NaCl dalam aqua destilata sebanyak 100 ml.

7.3. Suspensi CMC-Na 0,5% b/v. Suspensi CMC-Na konsentrasi 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 0,5 g CMC-Na sedikit demi sedikit dalam aqua destilata panas pada volume 100 ml sambil diaduk hingga mengembang sampai homogen.

7.4. Larutan glibenklamid. Larutan glibenklamid konsentrasi 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 0,5 g glibenklamid ke dalam suspensi CMC-Na 0,5% yang telah dikembangkan sebanyak 100 ml diaduk sampai homogen.

7.5. Larutan sediaan uji. Banyaknya ekstrak daun sirsak yang digunakan dihitung berdasarkan berat dari masing-masing mencit, kemudian ditambahkan suspensi CMC-Na 0,5% yang sudah dikembangkan dan diaduk sampai homogen.

8. Penentuan dosis

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

8.1. Dosis Aloksan monohidrat. Aloksan diinjeksi sebanyak 150 mg/kg BB tikus secara intraperitoneal (Yuriska 2009). Konversi tikus ke mencit 0,14. Dosis efektif untuk mencit dengan berat badan 20 g adalah sebesar 4,2 mg/20 g BB dan volume pemberian pada mencit adalah sebesar 0,42 ml/20 g BB dari larutan stock 1%.

8.2. Dosis glibenklamid. Dosis glibenklamid dihitung dari dosis lazim dan faktor konversi manusia 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 adalah 0,013 mg/20 g BB, volume pemberian untuk mencit adalah 0,26 ml/20 g BB dari larutan stock 0,005 %.

8.3. Dosis sediaan uji. Dosis ekstrak daun sirsak berdasarkan penelitian terdahulu (Suastuti *et al.* 2015) yaitu dosis efektif 150 mg/kg BB tikus. Penelitian ini menggunakan mencit dengan faktor konversi tikus ke mencit adalah 0,14 sehingga dosis pada mencit adalah $150 \text{ mg} \times 0,14 = 21 \text{ mg/20 g BB}$ mencit.

Volume pemberian untuk mencit sebanyak 0,42 ml/20 g BB dari larutan stock 5%. namun akan dilakukan orientasi dosis terdahulu agar lebih akurat dosisnya.

9. Prosedur pengujian antidiabetes

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 20 g. Jenis kelamin yang dipilih jantan karena kadar gula darah dipengaruhi oleh hormon, dimana hormon ini ada pada betina umumnya tidak stabil, maka lebih baik menggunakan mencit jantan.

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental in vivo* dengan rancangan penelitian *pre test-post test only with control group design*. Penelitian ini menggunakan 35 ekor mencit. Hewan uji mencit diadaptasikan terhadap lingkungan selama satu minggu. Pengaturan suhu dan kelembaban harus diperhatikan karena dapat mempengaruhi uji dan hasil penelitian. Mencit yang telah diadaptasikan kemudian ditimbang dan masing-masing diberi tanda. Sebelumnya mencit dipuasakan selama 16 jam. Hewan uji dibagi menjadi 7 kelompok perlakuan masing-masing terdiri dari 5 mencit.

Kelompok I : kontrol normal (tidak diberi perlakuan)

Kelompok II : kontrol negatif (CMC 0,5%)

Kelompok III : kontrol positif glibenklamid 0.013 mg/20g BB mencit

Kelompok IV : ekstrak etanol 96% daun sirsak dengan dosis efektif

Kelompok V : fraksi *n*-heksan dengan dosis hasil rendemen

Kelompok VI : fraksi etil asetat dengan dosis hasil rendemen

Kelompok VII: fraksi air dengan dosis hasil rendemen

Pada hari pertama dilakukan pengambilan darah awal sebelum mencit diberi perlakuan. Kemudian dilakukan pengukuran kadar gula darah awal (T_0). Pada hari itu juga diberikan larutan aloksan 4,2 mg/20 BB mencit secara intraperitoneal. Hewan uji yang positif ($KGD > 200$) yang diambil lalu dikelompokkan. Kemudian masing-masing kelompok diberi larutan aqua destilata (Kelompok kontrol normal), suspensi CMC 0,5% (kelompok kontrol negatif), larutan glibenklamid 0,013 mg/20g BB mencit (Kelompok kontrol positif), ekstrak etanol 96% daun sirsak dengan dosis efektif/20g BB mencit, ekstrak fraksi *n*-heksan dengan dosis hasil rendemen, ekstrak fraksi etil asetat dengan dosis hasil rendemen, ekstrak fraksi air dengan dosis hasil rendemen (Kelompok perlakuan) secara oral hari pada pagi hari selama 14 hari.

Pengambilan sampel darah dilakukan pada hari ke 7, dan 14. Setelah perlakuan larutan uji lalu diukur kadar gula darah. Sampel darah diambil dari ekor mencit dengan cara menusuk ekor dengan menggunakan jarum, lalu darah diteteskan pada strip glukometer dan dimasukkan dalam glukometer untuk dibaca kadar gulanya.

10. Penetapan kadar gula darah

Alat yang digunakan untuk mengukur kadar gula darah adalah glukometer. Prinsip pengukuran dari alat ini adalah sampel akan masuk ke dalam test strip melalui aksi pipa kapiler. Gula dalam darah akan bereaksi dengan glukosa oksidase dan kalium ferisianida yang ada dalam strip dan akan menghasilkan kalium ferosianida. Kalium ferosianida yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi glukosa yang ada didalam sampel darah. Oksidasi kalium ferosianida

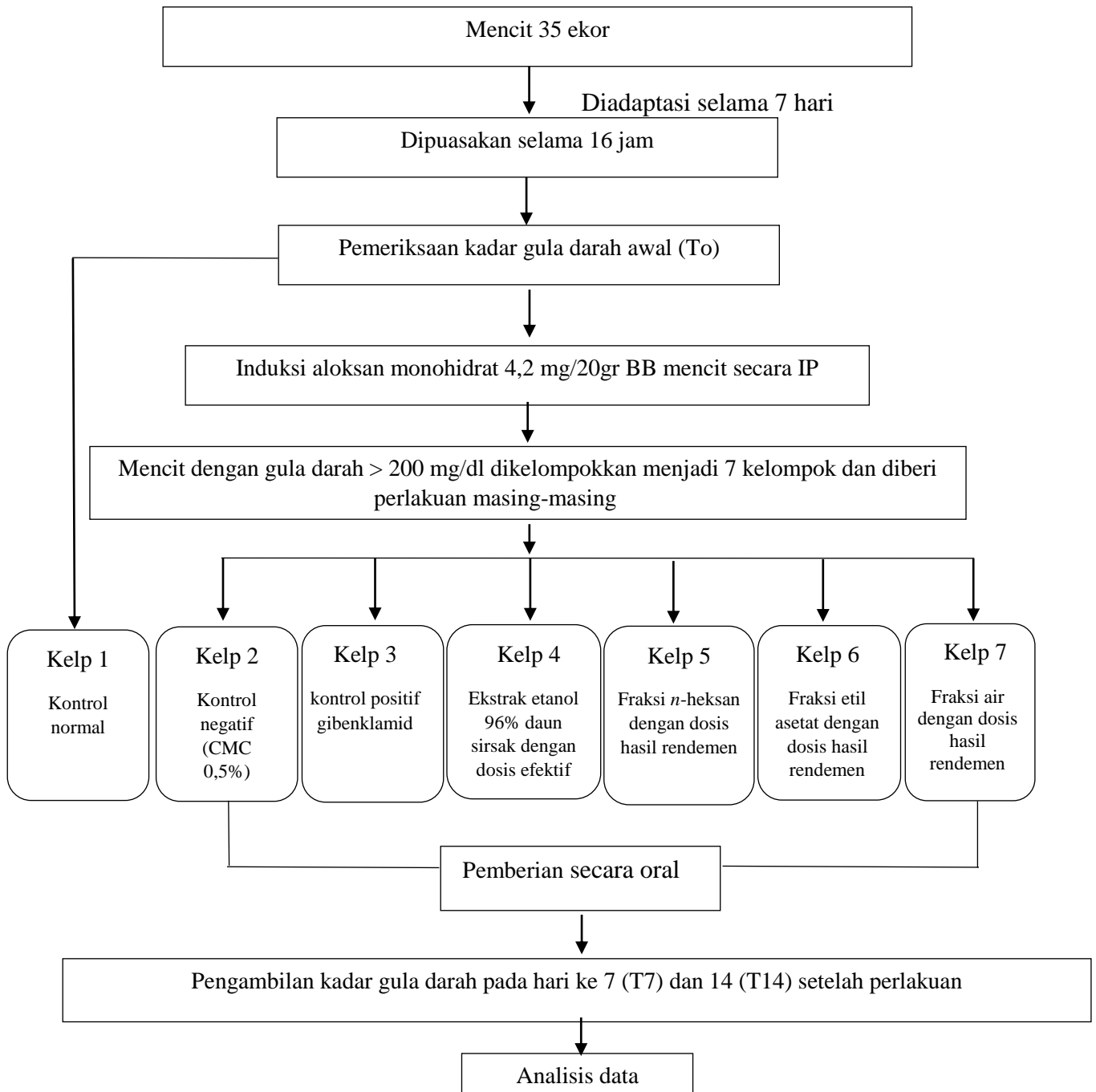
akan menghasilkan muatan listrik yang akan diubah oleh glukometer untuk ditampilkan sebagai konsentrasi gula pada layar (Raja 2008).

Prosedur penggunaan yaitu glukotest ini secara otomatis akan hidup ketika strip dimasukkan dan akan mati ketika strip dicabut. Darah disentuhkan ke strip, lalu reaksi aksi dari wadah strip akan otomatis menyerap darah kedalam strip melalui aksi kapiler. Ketika wadah terisi penuh oleh darah, alat akan mulai mengukur kadar gula darah, hasil pengukuran diperoleh selama 10 detik (Raja 2008).

E. Analisa Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian ini dilihat terlebih dahulu apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak dengan menggunakan uji distribusi normal (Kolmogorov-Smirnov), jika data tidak terdistribusi normal ($P < 0,05$) dilanjutkan dengan metode uji nonparametrik, sedangkan jika data terdistribusi normal ($P > 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji parametrik (ANOVA). Analisa statistik pada penelitian ini menggunakan One-way ANOVA. Uji dilanjutkan dengan Tukey HSD *Post Hoc* test untuk melihat apakah terdapat perbedaan diantara masing-masing kelompok perlakuan.

F. Skema Uji Penelitian



Gambar 4. Skema uji penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi dan Identifikasi Daun Sirsak

1. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di laboratorium Morfologi Sistematis Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta. Berdasarkan hasil identifikasi surat No:025/DET/UPT-LAB/28/XII/2015 telah mendeterminasi tumbuhan sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai berikut: 1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 15a. Golongan 8. 109b - 119b - 120b - 128b - 129b - 135b - 136b - 139b - 140b - 142b - 143b - 146b - 154b - 155b - 156a - 162b - 163a - 164b - 165b - 166a. Familia 50. Annonaceae. 1b - 2. Annona. 1a. *Annona muricata* L. dipastikan bahwa yang digunakan dalam penelitian adalah daun sirsak (*Annona muricata* L.), surat keterangan determinasi terdapat di Lampiran 1.

2. Deskripsi tanaman

Deskripsi tanaman daun sirsak (*Annona muricata* L.) berupa tunggal, bangun bulat telur terbalik, ujung meruncing pendek, pangkal tumpul, tepi rata, tulang daun menyirip, seperti kulit, panjang 10-13,5 cm, permukaan atas hijau tua dan mengkilat, permukaan bawah hijau muda, tangkai pendek.

B. Hasil Pembuatan Serbuk Daun Sirsak

Serbuk daun sirsak (*Annona muricata* L.) diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional.

Pembuatan serbuk daun sirsak dilakukan dengan pengeringan di oven pada suhu 45 °C agar zat aktif dalam daun sirsak tersebut tidak rusak, setelah kering lalu diayak dengan ayakan mesh 40 sehingga serbuk daun sirsak berbentuk halus dan memudahkan pelarut menarik zat aktif dari daun sirsak tersebut pada saat di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi.

C. Hasil Penetapan Kandungan Lembab Serbuk Daun Sirsak

Penetapan kandungan lembab serbuk daun sirsak menggunakan alat *Moisture Balance*. Pengukuran bertujuan untuk mengetahui kadar lembab yang terdapat pada simplisia. Pembuatan simplisia memiliki syarat kadar lembab kurang dari 10% supaya dalam penyimpanan simplisia tidak mudah ditumbuhi jamur dan bakteri yang menyebabkan perubahan kimiawi yang merusak simplisia. Hasil penetapan kandungan lembab daun sirsak diperoleh sebagai berikut.

Tabel 2. Hasil penetapan kandungan lembab serbuk daun sirsak

No	Berat awal (gram)	Berat hasil (gram)	Kelembaban (%)
1	2,0	1,84	8,0
2	2,0	1,83	8,6
3	2,0	1,84	8,0
Rata-rata ± SD			8,2 ± 0,3

Hasil penetapan kadar kandungan lembab pada serbuk daun sirsak didapatkan rata-rata sebesar 8,2% artinya serbuk daun sirsak sudah memenuhi persyaratan pengeringan simplisia.

D. Hasil Ekstraksi Daun Sirsak

Hasil rendemen ekstrak etanol daun sirsak yang diperoleh dari proses maserasi dapat dilihat pada tabel dan hasil perhitungan ekstrak etanol daun sirsak pada Lampiran 7.

Tabel 3. Prosentase rendemen ekstrak daun sirsak

Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
1500	166,61	11,10

Serbuk daun sirsak yang sudah halus kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi. Metode ini cocok untuk penarikan senyawa yang larut dalam cairan penyari dan zat aktif yang tidak tahan pada suhu tinggi. Botol maserasi yang digunakan berwarna gelap agar memaksimalkan proses maserasi dan melindungi senyawa aktif dalam serbuk daun sirsak. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96% untuk menyari zat aktif yang terkandung dalam daun sirsak.

E. Hasil Fraksinasi Daun Sirsak

Ekstrak etanol daun sirsak difraksinasi menggunakan tiga macam pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu nonpolar menggunakan pelarut *n*-heksana, semipolar menggunakan pelarut etil asetat dan polar menggunakan air. Hasil perhitungan fraksinasi daun sirsak dapat dilihat pada Lampiran 8.

Tabel 4. Prosentase rendemen fraksinasi

Rata-rata hasil rendemen (%)			Total rendemen (%)
Fraksi <i>n</i>-heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air	
16,5	40	19,5	76

Hasil fraksi etil asetat yang diperoleh lebih banyak dibandingkan hasil fraksi lain yang artinya sebagian besar senyawa dalam daun sirsak bersifat

semipolar. Rendemen setiap pelarut berbeda karena kemampuan dari setiap masing-masing pelarut dalam menyari senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak berbeda.

F. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Daun Sirsak

Identifikasi kandungan senyawa kimia dalam daun sirsak dilakukan terhadap ekstrak dan fraksi-fraksi daun sirsak secara kromatografi lapis tipis (KLT) yang bertujuan untuk membuktikan ada tidaknya senyawa-senyawa seperti disebutkan dalam pustaka sebelumnya meliputi flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin. Hasil identifikasi secara kromatografi lapis tipis (KLT) di bawah sinar UV 254 dan 366 nm dilihat pada Lampiran 9.

Tabel 5. Hasil identifikasi senyawa kimia secara KLT

Senyawa	Hasil Identifikasi KLT			
	Ekstrak	Fraksi <i>n</i> -Heksan	Fraksi Etil asetat	Fraksi Air
Flavonoid	+	-	+	+
Alkaloid	+	+	+	-
Tanin	+	-	+	+
Saponin	+	-	+	+

Keterangan :

+ (positif) = Mengandung senyawa

- (negatif) = Tidak mengandung senyawa

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi daun sirsak secara kromatografi lapis tipis menunjukkan positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, dan saponin.

Hasil pengamatan flavonoid di bawah sinar UV 254 nm terlihat adanya peredaman berwarna gelap, sedangkan pada UV 366 nm terlihat jelas adanya berfluoresensi kuning kebiruan. Hasil pustaka menyebutkan bahwa flavonoid

berfluoresensi biru, kuning dan ungu gelap (Harborne 1987). Hasil pengamatan secara visibel terdapat bercak berwarna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa flavonoid. Uji flavonoid menggunakan sampel ekstrak daun sirsak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun sirsak dan hasilnya menunjukkan positif kecuali fraksi *n*-heksan tidak terlihat jelas. Bercak yang lebih banyak ditimbulkan adalah pada ekstrak dibandingkan dengan fraksi etil asetat dan fraksi air. Hasil pengamatan alkaloid di bawah sinar UV 254 nm terjadi peredaman coklat kehitaman sedangkan pada UV 366 nm terlihat jelas berfluoresensi biru (Depkes 1989). Hasil menunjukkan positif pada sampel ekstrak daun sirsak, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat. Senyawa tanin menunjukkan positif pada sampel ekstrak daun sirsak, fraksi etil asetat dan fraksi air. Menurut Harborne (1987) hasil pengamatan tanin dibawah sinar UV 254 nm terjadi peredaman sedangkan pada UV 366 nm terlihat jelas berwarna biru kehijauan. Identifikasi senyawa saponin dengan pereaksi pesemprot Lieberman Burchard menghasilkan warna coklat gelap, kekuningan. Hasil pengamatan yang dilakukan di bawah sinar UV 254 nm berwarna coklat gelap sedangkan pada sinar UV 366 nm berfluoresensi kuning keunguan. Hasil menunjukkan positif terdapat pada ekstrak daun sirsak, fraksi etil asetat, dan fraksi air (Harborne 1987).

Perkembangan penelitian daun sirsak antara lain Mardiana & Ratnasari (2011) hasil identifikasi pada daun sirsak mengandung senyawa steroid, flavonoid, kumarin, alkaloid dan tanin. Uji pendahuluan terhadap daun sirsak menunjukkan hasil positif mengandung senyawa flavonoid, steroid, alkaloid, tanin dan saponin (Purwatresna 2012), acetogenins, annonacatin, annocatalin,

annohexocin, annonacin, annomuricin, anomurine, anonol, caclourine, gentisic acid, gigantetronim, linoleic acid, muricapentoci, asam lemak, fitosterol dan mirisil alcohol (Joe 2012). Hasil penapisan fitokimia daun sirsak menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, steroid, minyak atsiri dan kumarin (Aziz *et al.* 2013). Uji skrining fitokimia kualitatif dengan pelarut etanol menunjukkan bahwa pada daun sirsak terdapat metabolit sekunder berupa steroid, flavonoid, tanin dan saponin (Londok & Mandey 2014). Penelitian sebelumnya juga dilakukan oleh Juwita *et al.* (2015) daun sirsak mengandung flavonoid, steroid, alkaloid, triterpenoid, kumarin, fenolik, saponin dan tanin.

G. Hasil Uji Aktivitas Antidiabetes

Uji aktivitas antidiabetes fraksinasi dari ekstrak daun sirsak dilakukan terhadap hewan uji mencit jantan yang telah dikondisikan diabetes melalui induksi zat diabetogen. Penelitian ini menggunakan 7 kelompok dengan masing-masing diberi perlakuan selama 14 hari dan dilakukan pengukuran kadar gula darah pada hari ke-7 dan 14.

Penginduksi zat diabetogen yang digunakan adalah aloksan yang bertujuan untuk menghasilkan kondisi diabetic eksperimental. Mekanisme kerja aloksan dalam merusak sel β pankreas menunjukkan bahwa aloksan merupakan agen oksidator kuat yang menghasilkan radikal bebas dalam jumlah besar sehingga menimbulkan keadaan stres oksidatif. Aloksan diberikan secara intraperitoneal dengan dosis pada tikus 150 mg/kg BB yang kemudian di konversikan ke mencit (Yuriska 2009). Hiperglikemik adalah suatu keadaan dimana terjadi peningkatan

kadar glukosa darah puasa penderita > 110 mg/dL serta glukosa darah 2 jam pp (*post prandial*) > 140 mg/dL (Perkemi 2012).

Kontrol negatif yang digunakan adalah CMC-Na dengan konsentrasi 0,5% yang sekaligus sebagai *suspending agent*. Pada hewan uji yang diberi perlakuan dengan CMC 0,5% menunjukkan peningkatan kadar gula darah, artinya keberhasilan induksi aloksan dalam membuat keadaan hiperglikemik sudah tercapai.

Kontrol positif yang digunakan adalah golongan sulfonilurea yaitu glibenklamid dengan menstimulasi sel-sel β dari pulau Langerhans, sehingga sekresi insulin ditingkatkan (Tjay & Rahardja 2007). Dosis terapi glibenklamid yang biasa digunakan pada manusia dengan berat badan 70 kg adalah 5 mg lalu di konversikan ke mencit dengan berat badan 20 g adalah 0,0026 jadi dosis yang digunakan adalah 0,013 mg/20 g BB mencit.

Dosis ekstrak daun sirsak yang telah digunakan adalah berdasarkan penelitian terdahulu (Suastuti *et al.* 2015) yaitu dosis 150 mg/kg BB tikus yang efektif sebagai antidiabetes sehingga dikonversikan ke mencit didapatkan dosis 21 mg/20 g BB mencit dan diberikan ke hewan uji yang telah diinduksi aloksan.

Dosis fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air disesuaikan dengan rendemen dosis efektif ekstrak daun sirsak yang dapat menurunkan kadar gula darah. Data kuantitatif hasil pengukuran kadar gula darah pada berbagai kelompok perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 12 .

Tabel 6. Rata-rata kadar gula darah (mg/dL) ekstrak etanol daun sirsak pada mencit jantan yang diinduksi aloksan

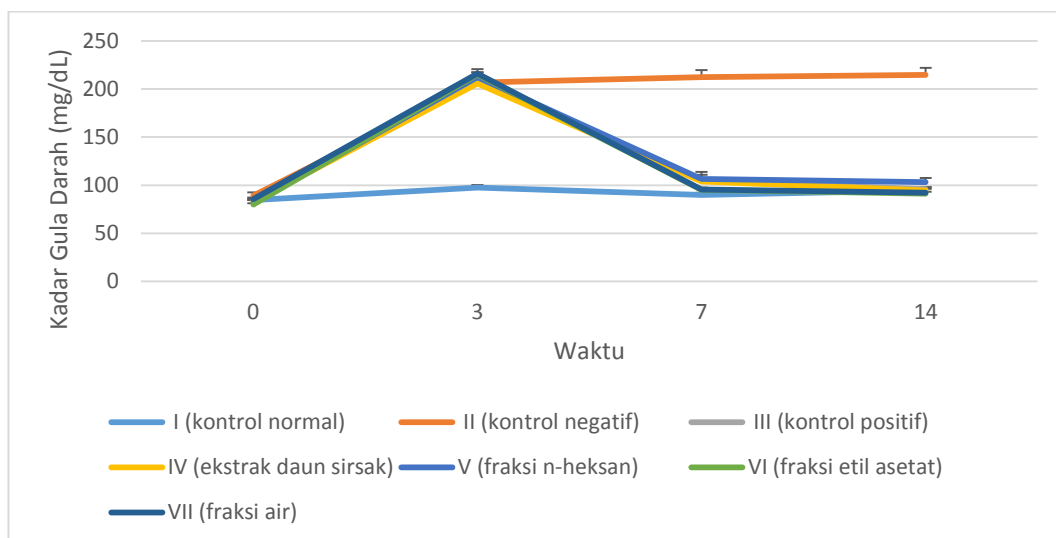
Kel. Uji	Rata-rata kadar Gula darah awal (mg/dl) (T0)	Rata-rata kadar gula darah setelah diinduksi aloksan (mg/dl) (T3)	Rata-rata kadar gula darah (mg/dl) setelah pemberian larutan uji	
			Hari ke-7 (T7)	Hari ke-14 (T14)
I	84,4±11,32	97,4±8,79	89,9±18,14 ^a	94,4±15,07 ^a
II	89,2±10,63	206,6±16,34	212,2±14,54 ^b	214,6±21,36 ^b
III	82,8±12,63	210,8±10,80	104,8 ±16,97 ^a	95,8±15,17 ^a
IV	82,8±14,30	205,8±18,52	104±24,08 ^a	94,6±10,71 ^a
V	81,4±13,90	212,4±23,71	106,4±21,52 ^a	103,2±15,70 ^a
VI	79,8±12,75	215±24,64	95,2±7,59 ^a	89±5,52 ^a
VII	85,6±10,26	216±15,52	95,4±7,92 ^a	92,2±8,87 ^a

Keterangan :

- Kelompok I : kontrol normal (tidak diberi perlakuan)
- Kelompok II : kontrol negatif (CMC 0,5%)
- Kelompok III : kontrol positif glibenklamid 0.013 mg /20 g BB mencit
- Kelompok IV : ekstrak etanol 96% daun sirsak 21 mg/20 g BB mencit
- Kelompok V : fraksi *n*-heksan 4,55 mg /20 g BB mencit
- Kelompok VI : fraksi etil asetat 11,05 mg /20 g BB mencit
- Kelompok VII : fraksi air 5,38 mg /20 g BB mencit
- ^a : berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif (CMC)
- ^b : berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif (glibenklamid)

Dilihat dari Tabel 6, hasil menunjukkan bahwa kelompok ekstrak daun sirsak dan fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air memiliki penurunan kadar gula darah yang tidak berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol positif.

Berdasarkan hasil data statistik uji normalitas T0, T3, T7 dan T14 menggunakan uji *One-Sample Kolmogorov Smirnov* diperoleh hasil data ($P > 0,05$) dapat dilihat pada Lampiran 13 . Varian data sama ($P > 0,05$) dilanjutkan dengan uji *One-way ANOVA* yang memiliki perbedaan bermakna ($< 0,05$) yaitu signifikansi 0,000 maka dilakukan uji menggunakan *Tukey HSD post hoc test* ($P > 0,05$) tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata artinya bahwa kelompok III, IV, V, VI, dan VII memiliki efek antidiabetes yang sebanding.



Gambar 5. Grafik hubungan rata-rata kadar gula darah (mg/dl) dengan waktu

Dilihat dari grafik hubungan rata-rata kadar gula darah (mg/dL) dengan waktu pemeriksaan kadar gula darah di atas bahwa dosis yang ditetapkan baik dari dosis fraksi maupun ekstrak terbukti dapat menurunkan kadar gula darah hewan uji. Pada T7 seminggu setelah diinduksi aloksan, kelompok dosis ekstrak dan fraksi daun sirsak maupun glibenklamid telah mengalami penurunan kadar gula darah sedangkan pada kontrol negatif tidak mengalami penurunan kadar gula darah.

Fraksinasi pada ekstrak daun sirsak yang terdiri dari fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air yang tingkat kepolaran masing-masing pelarut berbeda-beda yang berfungsi untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam daun sirsak menurut kepolarannya sehingga lebih spesifik dan juga dapat menentukan senyawa apa yang paling efektif sebagai antidiabetes.

Persentase penurunan kadar gula darah dengan membandingkan selisih kadar gula darah T3 dengan T7 dan T3 dengan T14. Hasil persentase penurunan kadar gula darah dapat dilihat pada tabel 7.

Tabel 7. Persentase penurunan kadar gula darah T3 ke T7, dan T3 ke T14

Kelompok	$\Delta T7=T3-T7$	$\Delta T14= T3-T14$	Persentase penurunan(%)
I	7.6±13,83	3±7,96	2,84
II	-5,6±24,05	-8±27,82	0,58
III	105,8±15,20	115±9,92	52,61
IV	101,8±11,00	111,2±12,39	51,75
V	106±10,09	109,2±11,64	50,66
VI	119,8±17,93	126±19,53	56,65
VII	120,6±13,44	123,8±18,34	56,57

Keterangan :

- Kelompok I : kontrol normal (tidak diberi perlakuan)
- Kelompok II : kontrol negatif (CMC 0,5%)
- Kelompok III : kontrol positif glibenklamid 0.013 mg /20 g BB mencit
- Kelompok IV : ekstrak etanol 96% daun sirsak 21 mg/20 g BB mencit
- Kelompok V : fraksi *n*-heksan 4,55 mg /20 g BB mencit
- Kelompok VI : fraksi etil asetat 11,05 mg /20 g BB mencit
- Kelompok VII : fraksi air 5,38 mg /20 g BB mencit
- $\Delta T1$: jumlah penurunan kadar gula darah dari T3 ke T7
- $\Delta T2$: jumlah penurunan kadar gula darah dari T3 ke T14

Pengujian statistik yang dilakukan pada selisih penurunan kadar gula darah $\Delta T7$ dan $\Delta T14$ diperoleh hasil dapat dilihat pada Lampiran 14. *One-Sample Kolmogorov Smirnov* yang tidak terdistribusi normal dikarenakan signifikansi ($P < 0.05$) maka dilakukan pengujian menggunakan non parametrik test dengan uji *Kruskal Walls* diperoleh signifikansi ($< 0,05$) sehingga dilanjutkan uji *Mann Whitney* diperoleh signifikansi (> 0.05) dari kedua data tersebut menunjukkan bahwa tidak berbeda nyata kelompok III, IV, V, VI dan VII dalam penurunan kadar gula darah mencit yang diinduksi aloksan. Dilihat juga pada Lampiran 15. Analisis statistik penurunan kadar gula darah $\Delta T14$ antar kelompok perlakuan ekstrak 96% daun sirsak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun sirsak bahwa tidak berbeda nyata atau sebanding.

Efek antihiperlikemik dari ekstrak etanol daun sirsak disebabkan karena daun sirsak mengandung beberapa senyawa kimia seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin. Senyawa yang terkandung dalam daun sirsak sebagai antidiabetes telah banyak ditemukan oleh penelitian-penelitian sebelumnya seperti steroid dan triterpenoid. Steroid biasa terdapat dalam bentuk glikosida (Harborne 1987). Dalam penelitian ini hanya mengidentifikasi senyawa flavonoid, alkaloid, tanin dan saponin.

Flavonoid memiliki aktivitas dalam menghambat enzim α -glukosidase yang dapat mempengaruhi mekanisme pleiotropic dan mengatur kegiatan enzim yang terlibat dalam jalur metabolisme karbohidrat sehingga dapat menurunkan terjadinya komplikasi DM (Goutam 2011). Flavonoid bersifat protektif terhadap kerusakan sel β sebagai penghasil insulin serta dapat meningkatkan sensitivitas insulin (Ruhe & McDonald 2001) sehingga dapat mengurangi resistensi insulin. Kemampuan mekanisme flavonoid terutama quercetin dalam menghambat GLUT 2 mukosa usus sehingga dapat menurunkan absorpsi gula. Hal ini menyebabkan pengurangan penyerapan glukosa dan fruktosa dari usus sehingga kadar gula darah turun. GLUT 2 diduga merupakan transporter mayor glukosa di usus pada kondisi normal. Pada penelitian yang dilakukan Song *et al* (2002) didapatkan bahwa flavonoid dapat menghambat penyerapan gula. Ketika quercetin yang tertelan dengan glukosa, hiperglikemik secara signifikan menurun (Ajie 2015). Quercetin dapat menurunkan kadar gula darah karena mempunyai mekanisme kerja pada otot dengan cara meningkatkan penyerapan glukosa, pada pankreas

meningkatkan sekresi insulin, dan pada hati meningkatkan penyimpanan glukosa (Aguirre *et al.* 2011).

Menurut Oztasan (2013) saponin yang terkandung dalam tanaman herbal dapat bertindak dengan merangsang insulin di pankreas dan meningkatkan aktivitas insulin. Penurunan kadar glukosa dikarenakan adanya sel beta yang menjaga keseimbangan homeostasis sehingga memperlancarkan kembali pelepasan insulin. Saponin memiliki efek antidiabetes karena mekanisme kerja menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase yaitu enzim yang bertanggung jawab pada perubahan karbohidrat menjadi glukosa (Makalalag *et al.* 2013).

Alkaloid memiliki kemampuan meregenerasi sel β pankreas yang rusak. Alkaloid berperan dalam proses penyerapan glukosa yang relatif tinggi di β -TC6 dan sel C2C12. Alkaloid juga berfungsi sebagai “*sensitizer insulin*” dalam pengelolaan DM tipe 2 (Soon *et.al.* 2013). Alkaloid sebagai metabolisme sekunder dimana metabolit alkaloid mempunyai aktivitas menghambat enzim α glukosidase (Samson 2010).

Tanin mempunyai aktivitas penurunan kadar gula darah yaitu dengan mekanisme meningkatkan glikogenesis, tanin juga berfungsi sebagai adstringen atau pengkhelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan menghambat asupan gula sehingga laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Meidiana & Widjanarko 2014). Tanin menurunkan absorpsi nutrisi dengan menghambat penyerapan glukosa di intestinal, selain itu menginduksi regenerasi sel β pankreas yang berefek pada sel adiposa sehingga menguatkan aktifitas insulin (Kumari & Jain 2012).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak daun sirsak mampu menurunkan kadar gula darah mencit jantan yang dibuat hiperglikemik.
2. Fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas yang sebanding dengan kontrol positif dalam menurunkan kadar gula darah mencit jantan yang dibuat hiperglikemik.

B. Saran

Perlu penelitian lebih lanjut tentang toksisitas penggunaan fraksi *n*-heksan, etil asetat, air dan ekstrak etanol daun sirsak baik dalam penggunaan jangka pendek maupun jangka panjang.

DAFTAR PUSTAKA

- [Anonim]. 2012. *Herbal Indonesia Berkhasiat Bukti Ilmiah & Cara Racik*. Vol 10 Jakarta: Trubus.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1983. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid V. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1993. *Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines*. Manila: WHO.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Cet 1.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2001. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Jilid 2. Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Halaman 313-314.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Diabetes Mellitus*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Adaramoye O.A, Adeyemi E.O. 2006. Hypoglycemic and hypolipemic effect of fractins from kolarvim, a biflavonoid from *Garcinia kola* in STZ diabetes mellitus rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 32: 40-45.
- Adewole SO, Caxton-Martins EA. 2006. Morphological changes and hypoglycemic effects of *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) leaf aqueous extract on pancreatic β -cells of streptozotocin-treated diaetic rats. *African Journal of Biomedical Research* 9 : 173-197.

- Aguirre L, Arias N, Macarulla M T, Gracia A, Portillo M P. 2011. Beneficial effects of quercetin on obesity and diabetes. *Spain Journal of The Open Nutraceuticals Journal* 4: 189-198.
- Ajie RB. 2015. White dragon fruit (*Hylocereus Undatus*) potential as diabetes mellitus treatment. Vol 4 Nomor 1 : 69-72.
- Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi MR, Jamshidi SH, Farhangi A, Verdi AA, Mofidian SMA, Rad BL. 2007. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*: 22 (2) 60-64.
- Anief M. 1997. *Ilmu Meracik Obat Teori dan Praktik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. Halaman 169.
- Arief, Hariana 2006. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Aziz AR, Hasneli Y, Woferst R. 2013. Efektifitas air rebusan daun sirsak (*Annona muricata* L) terhadap kadar gula darah pada penderita diabetes melitus tipe II. *Jurnal Universitas Binawidya*. 37: 1-10.
- Basset J, Denny R.C, Jeffrey G.H, Mendhom J. 1994. *Buku Ajar Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta: EGC.
- Bartosikova L, Nieces J, Succhy V, Kubinov R, Vesala D, Benes L. 2003. Monitoring of antoxidative effect of morine in alloxan-induced diabetes mellitus in the laboratory rat. *Acta Veterinaria Brno* 72: 191-200.
- Corwin J, Elizabeth. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Edisi tiga. Jakarta: EGC.
- Dalimartha S. 2005. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Diabetes Mellitus*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- 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.
- Gunawan & Sulistia. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi V. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid ke-1. Yogyakarta: Penebar Swadaya. Halaman 9.
- Guyton AC, Hall JE. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9 Terjemahan dari: The book physiology medicine. Setiawan I, Tengadi LMA, Santos, penerjemah. Jakarta: EGC.
- Halliwell B, Gutteridge JMC 1994. *Free radicals, Antioxidant and Human Diseases*. London: King College.

- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods*. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung: ITB Press. Hal 70-87,102-104.,234-236.
- IDF. 2014. IDF Diabetes Atlas Sixth Edition Update, Internasional Diabetes Federation 2014. <http://www.idf.org/worlddiabetesday/toolkit/gp/fact-figures>. [07 Desember 2015].
- Jadhav R, Puchchakayala G. 2012. Hypoglycemic and antidiabetic activity of flavonoids: boswellic acid, ellagic acid, quercetin, rutin on streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *Internasional Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 4* : 251-256.
- Joe W. 2012. *Dahsyatnya khasiat sirsak untuk banyak penyakit mematikan*. Yogyakarta: Andi.
- Juwita DA, Muchtar H, Martha D. 2015. Efek ekstrak etanol kulit batang sirsak terhadap penurunan kadar gula darah dan kolesterol. *Jurnal sains farmasi & klinis*. Vol. 2 (1) : 36-39.
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, editor. Jakarta: Salemba Mediaka. Halaman 449-452.
- Kedari TS, Ayesha AK. 2013. Guyabano (*Annona muricata*): a review of its traditional uses phytochemistry and pharmacology. *American Journal of Research Communication 2*:247-268.
- Kumari M dan Jain S. 2012. Tannins : An antinutrient with positive effect to manage diabetes. *Research Journal of Recent Science 1*(12) : 70-73
- Kusumawati. 2004. *Bersahabat dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Lasker SP, McLachlan CS, Wong L, Ali SMK, Jelinek HF. 2010. Discovery, treatment and management of diabetes. *Journal of Diabetology*. 1 (1): 1-8.
- Lian JH, Xiang YQ, Guo L, Wei RH, Gong BQ. 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 34*: 22-23.
- Londok JJ.M.R, Mandey JS. 2014. Potensi fitokimia dan aktivitas antimikroba daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai kandidat bahan pakan ayam pedaging. *Jurnal LPPM Bidang Sains dan Teknologi 1* (1): 30-36

- Mahmiah. 2006. Isolation and identification flavonoid compound from the stem bark of *Saccopetalum horsfieldii* Benn. *Jurnal Indo J.Chem* 6. (3): 312-315.
- 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 norvegicus*) yang diinduksi sukrosa. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 1: 28-34.
- Mardiana J, Ratnasari J. 2011. *Ramuan dan Khasiat Sirsak*, Jakarta: Penebar Swadaya.
- Markham KR. 1988. *Cara mengidentifikasi flavonoid*. Bandung: ITB
- Martindale. 1993. *The Extra Pharmacopoeia*. Edisi 23. London: The Pharmaceutical Press.
- Maulana M. 2009. *Mengenal Diabetes Mellitus*. Yogyakarta: Ar-Ruzz Media Group.
- Meidiana O, Widjanarko SB. 2014. Uji efek ekstrak air daun pandan wangi terhadap penurunn kadar glukosa darah dan histopatologi tikus diabetes mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 2: 16-27.
- Moniaga FS, Awaloei H, Posangi J, Bara R. 2013. Pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kadar gula darah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi alloxan. *Jurnal Bag. Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran*. Universitas Sam Ratulangi.
- Nabyl. 2012. *Panduan Hidup Sehat Mencegah dan Mengatasi Diabetes Mellitus*. Yogyakarta: Aulia Publishing.
- Neal MJ. 2006. *At a Glance Farmakologi Medis*. Edisi V. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Nugroho AE. 2006. Review hewan percobaan diabetes mellitus: patologi dan mekanisme aksi diabetogenik. *Biodiversitas* 7:387-391.
- Nugroho AE. 2012. *Farmakologi Obat-obat Penting Dalam Pembelajaran Ilmu Farmasi dan Dunia Kesehatan*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. Halaman 146-152.
- Nurrahmani. 2012. Pemeriksaan parameter mutu ekstrak etanol 70% daun sirsak (*Annona muricata* L.) dan uji penghambatan enzim α -glukosidase secara *in vitro*. Jakarta: Fakultas Farmasi. Universitas Pancasila.

- Oztasan N. 2013. The Effects of *Yucca schidegra* on blood glucose and lipid levels in diabetic rats. *African Journal of Biochemistry Research*. 7(9):179-183.
- PERKEMI. 2012. *Konsensus Pengelolaan Diabetes Pada Diabetes Melitus tipe 2*. Jakarta: PB Perkemi.
- Pratama A. 2014. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) pada mencit diabetes yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Jember: Fakultas Farmasi, Universitas Jember.
- Price SA, Wilson LM. 2005. *Patofisiologi: Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit*. Edisi ke 6. Hartanto H, Penerjemah; Jakarta: ECG. Terjemahan dari: *Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Processes*. Halaman 2: 1267-1272.
- Purwatesna E. 2012. *Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air dan Etanol Daun Sirsak secara In Vitro Melalui Enzim α -glukosidase* [Skripsi]. Bogor: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Bogor: Institut Pertanian.
- Putri NK. 2012. Pengaruh ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap penurunan kadar gula darah pada tikus putih galus wistar dengan pembebanan glukosa [Skripsi]. Ungaran : Ngudi Waluyo.
- Rahmawati S, Rifqiyati N. 2014. Efektivitas ekstrak kulit batang, akar, dan daun sirsak (*Annona muricata* L) terhadap kadar glukosa darah. *Jurnal UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta*. 10. (2) : 81-91.
- Raja LL. 2008. Uji efek ekstrak etanol biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jack) terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih [Skripsi]. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Riskesdas. 2013. Riset Kesehatan Dasar Laporan Nasional 2013. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. <http://www.depkes.go.id/resesoures/download/general/Hasil%20Riskesdas%202013>. [07 Desember 2015].
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Kokasih Padwaminta, penerjemah. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituents of Higher Plants*. Halaman 71-72,157,283.
- Rohilla A, Ali S. 2012. Alloxan induced diabetes: mechanisme and effects *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* 3: 819-823.
- Ruhe RC & Mcdonald RB. 2001. Use of antioxidant nutrient in the prevention and treatment of type 2 diabetes. *J. Am.Coll.Nutr.* 20 (5) : 363-369.

- Samson ZM. 2010. Senyawa Golongan Alkaloid Ekstrak Buah Mahkota Dewa Sebagai Inhibitor Alfa Glukosidase. [skripsi]. Bogor: Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Insitut Pertanian Bogor.
- Setiawan B, Suhartono E. 2005. Stres oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes melitus. *Majalah Kedokteran Indonesia* 55(2):86-91.
- Smith JB, Mangkoewidjaja. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI Press. Halaman 10-36.
- Soegondo S *et al.* 2009. *Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Song J, Kwon O, Chen S, Daruwala R, Eck P, Park JB, Levine M. 2002. Flavonoid inhibition of SVCT1 and GLUT2, intestinal transporters for vitamin c and glucose.
- Soon HT, Looi CY, Hazni H, Arya A, Paydar M, Wong WF, Cheah SC, Mustafa MR, Awang K. 2013. Antidiabetic and antioxidant properties of alkaloids from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. *Molecules* 18: 9770-9784.
- Suastuti DA, Dewi KSP, Ariati NK. 2015 Pemberian Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Untuk Memperbaiki Kerusakan Sel Beta Pankreas Melalui Penurunan Kadar Glukosa Darah, Advanced Glycation And Product dan 8-Hidroksi-2-Dioksiganosin Pada Tikus Wistar Hiperglikemia. *Jurnal Universitas Udayana* 2: 289-295
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi. Universitas Gadjah Mada. Halaman 60.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktek Farmakologi*. Edisi IV, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Sunarjono H. 2005. *Sirsak dan Srikaya: Budi Daya Untuk Menghasilkan Buah Prima*. Bogor: Penebar Swadaya.
- Suranto A. 2011. *Dahsyatnya Sirsak Tumpas Penyakit*. Jakarta: Pustaka Bunda.
- Suriani N. 2012. Gangguan Metabolisme Karbohidrat Pada Diabetes Mellitus. [Skripsi]. Malang: Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya.
- Szkudelski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B-cell of the rat pancreas. *Physiology. Research*. 50: 536-546.
- Tjay TH & Rahardja K. 2007. *Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya*. Jakarta: PT Alex Media Komputindo.

- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi ke-5. Soendani Noerono, Penerjemah. Terjemahan dari: *Lehrbuch Der Pharzeutischen Technology*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. hlm 4-10, 560-564, 568, 570.
- Winarsi H, Sasongko N.D, Purwanto A, Nuraeni I. 2013. Ekstrak daun kapulaga menurunkan indeks atherogenik dan kadar gula darah tikus diabetes induksi alloxan. *Jurnal Universitas Jenderal Soedirman*.33. (3):51-58.
- Yuriska A. 2009. *Efek aloksan terhadap kadar glukosa darah tikus wistar*. [Skripsi]. Semarang: Fakultas kedokteran, Universitas Diponegoro.

L

A

M

P

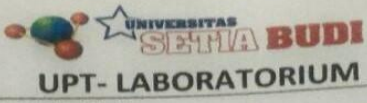
I

R

A

N

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman



UNIVERSITAS SETIA BUDI
UPT- LABORATORIUM

No : 025/DET/UPT-LAB/28/XII/2015
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Ardianti Khusnul Khotimah
NIM : 18123448 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Sirsak (*Annona muricata*.L.)**

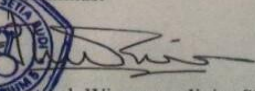
Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA
1b - 2b - 3b - 4b - 6b - 7b - 9b - 10b - 11b - 12b - 13b - 15a. golongan 8. 109b - 119b - 120b - 128b - 129b - 135b - 136b - 139b - 140b - 142b - 143b - 146b - 154b - 155b - 156a - 162b - 163a - 164b - 165b - 166a. familia 50. Annonaceae. 1b - 2. Annona. 1a.
Annona muricata.L.


Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi 3 - 8 meter.
Batang : Bulat, berkayu, percabangan monopodial.
Daun : Tunggal, bangun bulat telur terbalik, ujung meruncing pendek, pangkal tumpul, tepi rata, tulang daun menyirip, seperti kulit, panjang 10 - 13,5 cm, permukaan atas hijau tua dan mengkilat, permukaan bawah hijau muda, tangkai pendek.
Bunga : Tunggal, beraturan, berhadapan dengan daun. Daun kelopak 3, kecil. Daun mahkota 6, berdaging, 3 yang terluar hijau kemudian kuning panjang 3,5 - 5 cm, 3 yang terdalam bulat telur, kuning muda. Daun kelopak dan daun mahkota terluar pada kuncup tersusun seperti katup, daun mahkota terdalam seperti genting. Dasar bunga sangat cekung. Benangsari banyak. Penghubung ruangsari di atas ruang sari melebar, menutup ruangnya, putih. Bakal buah banyak, bakal biji 1. Tangkai putik langsing, berambut. Kepala putik silindris.
Buah : Buah majemuk tak beraturan, berduri tempel, bentuk telur miring atau bengkok, hijau tua, daging buah putih, masam.
Biji : Bentuk bulat telur, hitam, mengkilat.
Akar : Tunggang.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 28 Desember 2015
Determinasi


Wiryosoendjojo, SU.



Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo-Solo 57127 Telp.0271-852518, Fax.0271-853275
Homepage : www.setiabudi.ac.id, e-mail : info@setiabudi.ac.id

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, Mojosoongo 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 : Ardianti Khusnul Khotimah
Nim : 18123448 A
Institusi : Universitas Setia Budi Surakarta

Merupakan hewan uji dengan spesifikasi sebagai berikut:
Jenis hewan : Mencit Swiss
Umur : 2-3 bulan
Jenis kelamin : Jantan
Jumlah : 50 ekor
Keterangan : Sehat
Asal-usul : Unit Pengembangan Hewan Percobaan UGM Yogyakarta

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

Surakarta, 20 Mei 2016
Hormat kami

Sigit Pramono
"ABIMANYU FARM"

Lampiran 3. Foto serbuk dan daun sirsak



Serbuk daun sirsak



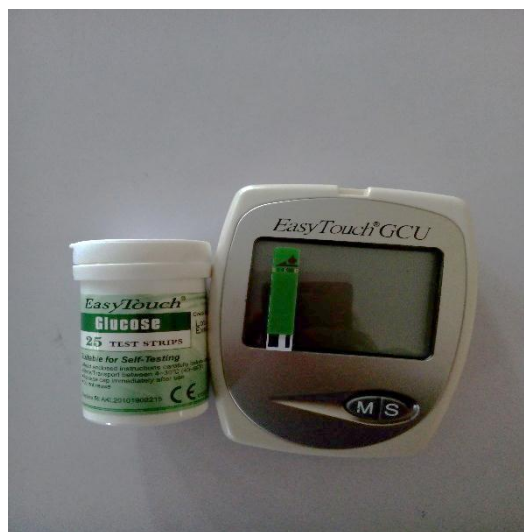
Ekstrak kental daun sirsak

Lampiran 4. Foto alat-alat yang digunakan

Botol maserasi

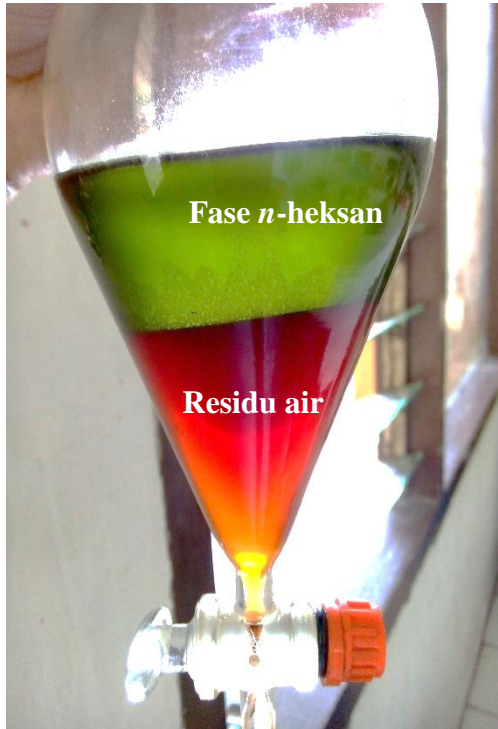


Moisture balance



Strip dan glukometer

Lampiran 5. Foto fraksinasi dari ekstrak daun sirsak



Lampiran 6. Foto larutan stock dan perlakuan hewan uji



Larutan stock



Induksi aloksan secara IP

Lampiran 7. Data perhitungan rendemen ekstrak kental daun sirsak

Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
1500	166,61	11,10

Perhitungan :

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

$$\text{Rendemen}(\%) = \frac{166,61}{1500} \times 100\%$$

$$= 11,10 \%$$

Lampiran 8. Data perhitungan rendemen fraksi ekstrak daun sirsak

1. Rendemen fraksi *n*-heksan

Berat ekstrak (g)	Berat Fraksi	Rendemen (%)
10,0	1,65	16,5
10,0	1,79	17,9
10,0	1,57	15,7
10,0	1,59	15,9
Total 40	6,6	16,5

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} \text{ } n\text{-heksan I} &= \frac{1,65}{10} \times 100\% \\ &= 16,5\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} \text{ } n\text{-heksan II} &= \frac{1,79}{10} \times 100\% \\ &= 17,9\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} \text{ } n\text{-heksan III} &= \frac{1,57}{10} \times 100\% \\ &= 15,7\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen (\%)} \text{ } n\text{-heksan IV} &= \frac{1,59}{10} \times 100\% \\ &= 15,9\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen total fraksi } n\text{-heksan} &= \frac{6,6}{40} \times 100\% \\ &= 16,5\% \end{aligned}$$

2. Rendemen fraksi etil asetat

Berat ekstrak (g)	Berat Fraksi	Rendemen (%)
10,0	3,5	35
10,0	4,1	41
10,0	3,9	39
10,0	4,5	45
Total 40	16	40

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen (\%)} \text{ etil asetat I} &= \frac{3,5}{10} \times 100\% \\
 &= 35\% \\
 \text{Rendemen (\%)} \text{ etil asetat II} &= \frac{4,1}{10} \times 100\% \\
 &= 41\% \\
 \text{Rendemen (\%)} \text{ etil asetat III} &= \frac{3,9}{10} \times 100\% \\
 &= 39\% \\
 \text{Rendemen (\%)} \text{ etil asetat IV} &= \frac{4,5}{10} \times 100\% \\
 &= 45\% \\
 \text{Rendemen total fraksi etil asetat} &= \frac{16}{40} \times 100\% \\
 &= 40\%
 \end{aligned}$$

3. Rendemen fraksi air

Berat ekstrak (g)	Berat Fraksi	Rendemen (%)
10,0	1,95	19,5
10,0	1,7	17
10,0	2,1	21
10,0	2,05	20,5
Total 40	7,8	19,5

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen (\%)} \text{ air I} &= \frac{1,95}{10} \times 100\% \\
 &= 19,5\% \\
 \text{Rendemen (\%)} \text{ air II} &= \frac{1,7}{10} \times 100\% \\
 &= 17\%
 \end{aligned}$$

$$\text{Rendemen (\% air III)} = \frac{2,1}{10} \times 100\%$$

$$= 21\%$$

$$\text{Rendemen (\% air IV)} = \frac{2,05}{10} \times 100\%$$

$$= 20,5\%$$

$$\text{Rendemen total fraksi air} = \frac{7,8}{40} \times 100\%$$


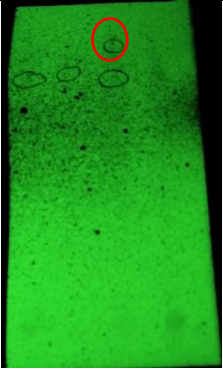
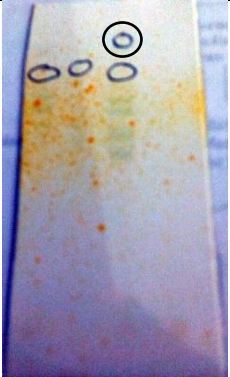

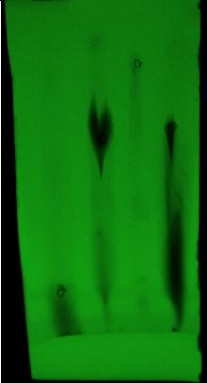
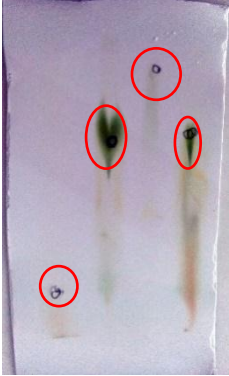
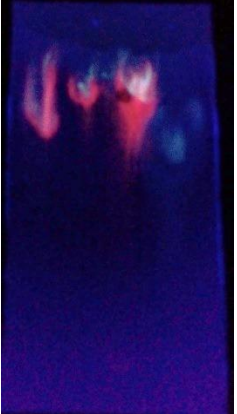
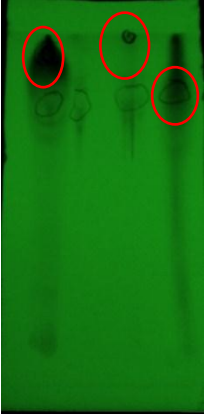

$$= 19,5\%$$

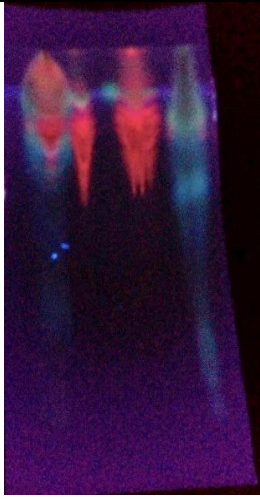

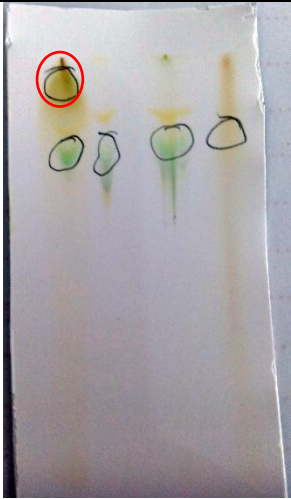
$$\text{Total rendemen fraksi (\%)} = \text{Fraksi n-heksan} + \text{fraksi etil asetat} + \text{fraksi air}$$

$$= 16,5 + 40 + 19,5$$

$$= 76 \%$$

Lampiran 9. Foto hasil identifikasi kandungan kimia secara KLT

Sampel	UV 366 nm	UV 254 nm	Visibel
Alkaloid			
	A B C D	A B C D	A B C D
Saponin			
	A B C D	A B C D	A B C D
Tanin			
	A B C B	A B C D	A B C D

Sampel	UV 366 nm	UV 254 nm	Visibel
Flavonoid			
	A B C D	A B C D	A B C D

Keterangan :

A : Ekstrak etanol 96% daun sirsak

B : Fraksi *n*-heksan

C : Fraksi etil asetat

D : Fraksi air

Lampiran 10. Penentuan dosis dan pembuatan larutan stock

1. Penentuan dosis aloksan monohidrat

Dosis aloksan untuk membuat hiperglikemik pada tikus adalah 150 mg/kg BB yang disuntikkan secara intraperitoneal (Yuriska 2009).

$$\text{Dosis tikus 200 g} = \frac{150 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 200 \text{ g} = 30 \text{ mg}/200 \text{ g BB}$$

$$\begin{aligned} \text{Konversi ke mencit 20 g} &= 30 \text{ mg} \times 0,14 \\ &= 4,2 \text{ mg}/20 \text{ g BB mencit} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stock aloksan 1 \%} &= 1 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 1000 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 10 \text{ mg}/1 \text{ ml} \end{aligned}$$

$$\text{Volume pemberian} = \frac{4,2}{10} \times 1 \text{ ml} = 0,42 \text{ ml}$$

2. 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.

$$\begin{aligned} \text{Dosis glibenklamid untuk mencit 20 g} &= 5 \text{ mg} \times 0,0026 \\ &= 0,013/20 \text{ g BB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Larutan stock glibenklamid dibuat 0,005\%} &= 0,005 \text{ g}/100 \text{ ml} \\ &= 5 \text{ mg}/100 \text{ ml} \\ &= 0,05 \text{ mg}/1 \text{ ml} \end{aligned}$$

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

3. Penentuan dosis CMC-Na 0,5%

Konsentrasi CMC-Na 0,5% = 0,5 g/100ml aquadest
 = 500 mg/100ml aquadest
 = 5 mg/ml

Dibuat larutan stok 100 ml

Larutan stock CMC-Na 0,5% = 500 mg/100ml
 = 0,5 g/100ml

CMC ditimbang sebanyak 0,5 g kemudian disuspensikan dengan aqua destilata panas 100 ml sampai homogen. Suspensi CMC digunakan sebagai kontrol negatif dan *suspending agent*.

4. Penentuan dosis ekstrak daun sirsak

Dosis ekstrak daun sirsak berdasarkan penelitian (Suastuti *et al.* 2015) yaitu dosis 150 mg/kg BB tikus yang paling efektif berpengaruh dalam menurunkan kadar gula darah yang diinduksi aloksan. Penelitian ini menggunakan mencit dengan faktor konversi tikus ke mencit adalah 0,14 adalah 21 mg/20 g BB mencit yang telah diorientasi dosis terlebih dahulu.

Larutan stock 5% = 5 g/100 ml
 = 5000 mg/100 ml
 = 50 mg/1 ml

Volume pemberian per oral:

(21 mg/20 g BB mencit) = $\frac{21 \text{ mg}}{50 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,42 \text{ ml}$

5. Penentuan dosis fraksi-fraksi

Dosis ekstrak daun sirsak yang paling efektif sebagai antidiabetes adalah 21 mg/20 g BB mencit, dari dosis tersebut maka dapat diperoleh dosis fraksi:

Perhitungan dosis pemberian fraksi untuk mencit dengan BB 20 g

$$\text{Fraksi} = \frac{\% \text{ rendemen fraksi}}{\% \text{ total rendemen}} \times \text{dosis efektif ekstrak daun sirsak}$$

$$5.1. \text{ Dosis fraksi } n\text{-heksan} = \frac{16,5\%}{76\%} \times 21 \text{ mg}$$

$$= 4,55 \text{ mg /20 g BB mencit}$$

$$\text{Larutan stock} = 4,55 \text{ mg/0,42 ml}$$

$$= 10,83 \text{ mg/100 ml suspensi CMC-Na 0,5\%}$$

$$5.2. \text{ Dosis fraksi etil asetat} = \frac{40\%}{76\%} \times 21 \text{ mg}$$

$$= 11,05 \text{ mg /20 g BB mencit}$$

$$\text{Larutan stock} = 11,05 \text{ mg/0,42 ml}$$

$$= 26,30 \text{ mg/100 ml suspensi CMC-Na 0,5\%}$$

$$5.3. \text{ Dosis fraksi air} = \frac{19,5\%}{76\%} \times 21 \text{ mg}$$

$$= 5,38 \text{ mg/20 g BB mencit}$$

$$\text{Larutan stock} = 5,38 \text{ mg/0,42 ml}$$

$$= 12,80 \text{ mg/100 ml suspensi CMC-Na 0,5\%}$$

Lampiran 11. Perhitungan dosis dan volume pemberian larutan stock pada mencit berdasarkan penimbangan berat badan mencit

1. Dosis dan volume pemberian aloksan

Kelompok	Berat badan (g)	Dosis (mg)	Volume oral
II	23,83	$\frac{23,83\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 5,00\text{ mg}$	$\frac{5\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,5\text{ ml}$
	23,16	$\frac{23,16\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 4,86\text{ mg}$	$\frac{4,86\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,4\text{ ml}$
	23,01	$\frac{23,01\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 4,83\text{ mg}$	$\frac{4,83\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,4\text{ ml}$
	22,80	$\frac{22,80\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 4,78\text{ mg}$	$\frac{4,78\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,4\text{ ml}$
	23,63	$\frac{23,63\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 4,96\text{ mg}$	$\frac{4,96\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,4\text{ ml}$

Kelompok	Berat badan (g)	Dosis (mg)	Volume oral
III	22,41	$\frac{22,41\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 4,70\text{ mg}$	$\frac{4,70\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,4\text{ ml}$
	22,86	$\frac{22,86\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 4,80\text{ mg}$	$\frac{4,80\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,4\text{ ml}$
	24,01	$\frac{24,01\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 5,04\text{ mg}$	$\frac{5,04\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,5\text{ ml}$
	24,13	$\frac{24,13\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 5,06\text{ mg}$	$\frac{5,06\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,5\text{ ml}$
	22,45	$\frac{22,45\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 4,71\text{ mg}$	$\frac{4,71\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,4\text{ ml}$

Kelompok	Berat badan (g)	Dosis (mg)	Volume oral
IV	20,92	$\frac{20,92\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 4,39\text{ mg}$	$\frac{4,39\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,4\text{ ml}$
	21,00	$\frac{21,00\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 4,41\text{ mg}$	$\frac{4,41\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,4\text{ ml}$
	23,83	$\frac{23,88\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 5,01\text{ mg}$	$\frac{5,01\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,5\text{ ml}$
	23,94	$\frac{23,94\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 5,02\text{ mg}$	$\frac{5,02\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,5\text{ ml}$
	23,02	$\frac{23,02\text{g}}{20\text{g}} \times 4,2\text{mg} = 4,83\text{ mg}$	$\frac{4,83\text{ mg}}{1000\text{ mg}} \times 100\text{ ml} = 0,4\text{ ml}$

Kelompok	Berat badan (g)	Dosis (mg)	Volume oral
V	23,15	$\frac{23,15 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 4,86 \text{ mg}$	$\frac{4,86 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	24,02	$\frac{24,02 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 5,04 \text{ mg}$	$\frac{5,04 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	22,60	$\frac{22,60 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 4,76 \text{ mg}$	$\frac{4,76 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	22,54	$\frac{22,54 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 4,73 \text{ mg}$	$\frac{4,73 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	20,15	$\frac{20,15 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 4,23 \text{ mg}$	$\frac{4,23 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
Kelompok	Berat badan (g)	Dosis (mg)	Volume oral
VI	24,13	$\frac{24,13 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 5,06 \text{ mg}$	$\frac{5,06 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	20,46	$\frac{20,46 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 4,29 \text{ mg}$	$\frac{4,29 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	23,85	$\frac{23,85 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 5,00 \text{ mg}$	$\frac{5 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	23,15	$\frac{23,15 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 4,86 \text{ mg}$	$\frac{4,86 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	23,00	$\frac{23,00 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 4,83 \text{ mg}$	$\frac{4,83 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
Kelompok	Berat badan (g)	Dosis (mg)	Volume oral
VII	22,41	$\frac{22,41 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 4,70 \text{ mg}$	$\frac{4,70 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	24,61	$\frac{24,61 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 5,16 \text{ mg}$	$\frac{5,16 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	24,32	$\frac{24,32 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 5,10 \text{ mg}$	$\frac{5,10 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	23,51	$\frac{23,51 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 4,93 \text{ mg}$	$\frac{4,93 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	23,72	$\frac{23,72 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 4,2 \text{ mg} = 4,98 \text{ mg}$	$\frac{4,98 \text{ mg}}{1000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$

2. Dosis dan volume pemberian glibenklamid

Kelompok	Berat badan (g)	Dosis (mg)	Volume oral
III	22,62	$\frac{22,62 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,013 \text{ mg} = 0,014 \text{ mg}$	$\frac{0,014 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$
	23,00	$\frac{23,00 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,013 \text{ mg} = 0,014 \text{ mg}$	$\frac{0,014 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$
	24,17	$\frac{24,17 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,013 \text{ mg} = 0,015 \text{ mg}$	$\frac{0,015 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$
	24,89	$\frac{24,89 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,013 \text{ mg} = 0,016 \text{ mg}$	$\frac{0,016 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$
	22,91	$\frac{22,91 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,013 \text{ mg} = 0,014 \text{ mg}$	$\frac{0,014 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,3 \text{ ml}$

3. Dosis dan volume pemberian ekstrak daun sirsak

Dosis 21 mg/0,42 ml untuk 20 g BB mencit

Kelompok	Berat badan (g)	Dosis (mg)	Volume oral
IV	21,46	$\frac{21,46 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 21 \text{ mg} = 22,53 \text{ mg}$	$\frac{22,53 \text{ mg}}{5000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	22,13	$\frac{22,13 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 21 \text{ mg} = 23,32 \text{ mg}$	$\frac{23,32 \text{ mg}}{5000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	24,08	$\frac{24,08 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 21 \text{ mg} = 25,28 \text{ mg}$	$\frac{25,28 \text{ mg}}{5000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	24,36	$\frac{24,36 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 21 \text{ mg} = 25,57 \text{ mg}$	$\frac{25,57 \text{ mg}}{5000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	24,82	$\frac{24,82 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 21 \text{ mg} = 26,06 \text{ mg}$	$\frac{26,06 \text{ mg}}{5000 \text{ mg}} \times 100 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$

4. Dosis dan volume pemberian fraksi *n*-heksan

Dosis 4,55 mg/0,42 ml untuk 20 g BB mencit

Kelompok	Berat badan (g)	Volume oral
V	23,89	$\frac{23,89 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	24,87	$\frac{24,87 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	23,80	$\frac{23,80 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	23,41	$\frac{23,41 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	23,17	$\frac{23,17 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$

5. Dosis dan volume pemberian fraksi etil asetat

Dosis 11,05 mg/0,42 ml untuk 20 g BB mencit

Kelompo	Berat badan (g)	Volume oral
VI	24,98	$\frac{24,98 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	22,89	$\frac{22,89 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	24,32	$\frac{24,32 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	24,39	$\frac{24,39 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	24,67	$\frac{24,67 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,242 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$

6. Dosis dan volume pemberian fraksi air

Dosis 5,38 mg/0,42 ml untuk 20 g BB mencit

Kelompo	Berat badan (g)	Volume oral
VII	23,08	$\frac{23,08 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,4 \text{ ml}$
	24,82	$\frac{24,82 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	24,98	$\frac{24,98 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	24,03	$\frac{24,03 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,42 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$
	24,56	$\frac{24,56 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 0,242 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml}$

Lampiran 12. Data kuantitatif penurunan kadar gula darah pada berbagai kelompok perlakuan

Kelompok	Kadar gula darah awal (mg/dl)	Kadar gula darah setelah diinduksi aloksan (mg/dl)	Kadar gula darah setelah diberikan larutan uji hari (mg/dl)		Selisih kadar gula (mg/dl)	
	T0	T3	T7 hari ke-7	T14 hari ke-14	$\Delta T7 = T3 - T7$	$\Delta T14 = T3 - T14$
I Kontrol normal (Tanpa diinduksi aloksan)	98	107	105	112	2	-5
	75	105	103	105	2	0
	71	92	101	95	-9	-3
	92	86	69	74	17	12
	86	97	71	86	26	11
Rata-rata	84,4	97,4	89,8	94,4	7,6	3
SD	$\pm 11,33$	$\pm 8,79$	$\pm 18,14$	$\pm 15,08$	$\pm 13,83$	$\pm 7,96$
II Kontrol negatif (CMC-Na 0,5%)	96	181	229	231	-48	-50
	82	209	205	208	4	1
	96	212	210	229	2	-17
	74	205	193	180	12	25
	98	226	224	225	2	1
Rata-rata	89,2	206,6	212,2	214,6	-5,6	-8
SD	$\pm 10,64$	$\pm 16,35$	$\pm 14,55$	$\pm 21,36$	$\pm 24,05$	$\pm 27,82$
III Kontrol positif (Glibenklamid)	72	203	121	98	82	105
	76	198	85	80	113	118
	95	224	124	120	100	104
	98	219	99	94	120	125
	73	210	95	87	115	123
Rata-rata	82,8	210,8	104,8	95,8	106	115
SD	$\pm 12,64$	$\pm 10,80$	$\pm 16,98$	$\pm 15,17$	$\pm 15,31$	$\pm 9,92$
IV Ekstrak etanol 96% daun sirsak (21 mg)	65	194	81	80	113	114
	70	188	99	96	89	92
	94	204	97	95	107	109
	96	207	98	92	109	115
	89	236	145	110	91	126
Rata-rata	82,8	205,8	104	94,6	101,8	111,2
SD	$\pm 14,31$	$\pm 18,53$	$\pm 24,08$	$\pm 10,71$	$\pm 11,00$	$\pm 12,39$
	Kadar	Kadar	Kadar gula darah		Selisih kadar gula	

Kelompok	gula darah awal (mg/dl)	gula darah setelah diinduksi aloksan (mg/dl)	setelah diberikan larutan uji hari (mg/dl)		(mg/dl)	
	T0	T3	T7 hari ke-7	T14 hari ke-14	$\Delta T7 = T3-T7$	$\Delta T14 = T3-T14$
V Fraksi <i>n</i> -heksan	92	242	133	121	109	121
	98	231	112	109	119	122
	79	199	98	96	101	103
	75	184	75	80	109	104
	63	206	114	110	92	96
Rata-rata	81,4	212,4	106,4	103,2	106	109,2
SD	$\pm 13,90$	$\pm 23,71$	$\pm 21,52$	$\pm 15,71$	$\pm 9,03$	$\pm 11,64$
VI Fraksi etil asetat	97	251	105	98	146	153
	63	222	98	88	124	134
	79	218	95	89	123	129
	74	195	94	87	101	108
	86	189	84	83	105	106
Rata-rata	79,8	215	95,2	89	119,8	126
SD	$\pm 12,76$	$\pm 24,65$	$\pm 7,60$	$\pm 5,97$	$\pm 17,93$	$\pm 19,53$
VI Fraksi Air	73	200	95	93	105	107
	98	207	82	80	125	127
	94	217	102	100	115	117
	80	241	100	87	141	154
	83	215	98	101	117	114
Rata-rata	85,6	216	95,4	92,2	120,6	123,8
SD	$\pm 10,26$	$\pm 15,52$	$\pm 7,92$	$\pm 8,87$	$\pm 13,44$	$\pm 18,34$

Lampiran 13. Data analisis statistik rata-rata kadar gula darah

Uji Normalitas T0

		Kadarguladarah
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	83.71
	Std. Deviation	11.570
Most Extreme Differences	Absolute	.163
	Positive	.119
	Negative	-.163
Kolmogorov-Smirnov Z		.965
Asymp. Sig. (2-tailed)		.310

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : sig > 0,05 maka data kadar gula darah terdistribusi normal

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variances

Kadar gula darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.379	6	28	.886

Kesimpulan : sig > 0,05 maka data kadar gula darah homogen

Uji ANOVA

ANOVA

Kadar gula darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	282.343	6	47.057	.309	.927
Within Groups	4268.800	28	152.457		
Total	4551.143	34			

Kesimpulan : sig > 0,05 maka tidak ada perbedaan nyata kadar gula darah antar kelompok perlakuan.

Homogeneous Subsets

Kadar gula darah

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
Fraksi etil asetat	5	79.80
Fraksi n-heksan	5	81.40
Kontrol positif	5	82.80
Ekstrak daun sirsak	5	82.80
Kontrol normal	5	84.40
Fraksi air	5	85.60
Kontrol negatif	5	89.20
Sig.		.887

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Uji Normalitas T3

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadarguladarah
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	194.86
	Std. Deviation	43.627
Most Extreme Differences	Absolute	.238
	Positive	.121
	Negative	-.238
Kolmogorov-Smirnov Z		1.405
Asymp. Sig. (2-tailed)		.039

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : sig < 0,05 maka data kadar gula darah tidak terdistribusi normal

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variances

Kadar gula darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.130	6	28	.371

Kesimpulan : sig > 0,05 maka data kadar gula darah homogen

Uji ANOVA**ANOVA**

Kadar gula darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55851.086	6	9308.514	29.413	.000
Within Groups	8861.200	28	316.471		
Total	64712.286	34			

Kesimpulan : $\text{sig} < 0,05$ maka terdapat perbedaan nyata kadar gula darah antar kelompok perlakuan.

Homogeneous Subsets**Kadar gula darah**Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol normal	5	97.40	
Ekstrak daun sirsak	5		205.80
Kontrol negatif	5		206.60
Kontrol positif	5		210.80
Fraksi n-heksan	5		212.40
Fraksi etil asetat	5		215.00
Fraksi air	5		216.00
Sig.		1.000	.968

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Uji Normalitas T7

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kelompok
N		35
Normal Parameters ^{a, b}	Mean	4.00
	Std. Deviation	2.029
Most Extreme Differences	Absolute	.124
	Positive	.124
	Negative	-.124
Kolmogorov-Smirnov Z		.731
Asymp. Sig. (2-tailed)		.659

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : sig > 0,05 maka data kadar gula darah terdistribusi normal

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variances

Kadar gula darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.559	6	28	.196

Kesimpulan : sig > 0,05 maka data kadar gula darah homogen

Uji ANOVA

ANOVA

Kadar gula darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	55784.800	6	9297.467	32.657	.000
Within Groups	7971.600	28	284.700		
Total	63756.400	34			

Kesimpulan : sig < 0,05 maka terdapat perbedaan nyata kadar gula darah antar kelompok perlakuan.

Homogeneous Subsets

Kadar gula darah

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Kontrol normal	5	89.80	
Fraksi etil asetat	5	95.20	
Fraksi air	5	95.40	
Ekstrak daun sirsak	5	104.00	
Kontrol positif	5	104.80	
Fraksi n-heksan	5	106.40	
Kontrol negatif	5		212.20
Sig.		.710	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Uji Normalitas T14

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kelompok
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4.00
	Std. Deviation	2.029
Most Extreme Differences	Absolute	.124
	Positive	.124
	Negative	-.124
Kolmogorov-Smirnov Z		.731
Asymp. Sig. (2-tailed)		.659

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : sig > 0,05 maka data kadar gula darah terdistribusi normal

Uji Homogenitas Varian

Test of Homogeneity of Variances

Kadar gula darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.514	6	28	.210

Kesimpulan : sig > 0,05 maka data kadar gula darah homogenya

Uji ANOVA

ANOVA

Kadar gula darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	62000.971	6	10333.495	52.246	.000
Within Groups	5538.000	28	197.786		
Total	67538.971	34			

Kesimpulan : $\text{sig} < 0,05$ maka terdapat perbedaan nyata kadar gula darah antar kelompok perlakuan.

Homogeneous Subsets

Kadar gula darah

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Fraksi etil asetat	5	89.00	
Fraksi air	5	92.20	
Kontrol normal	5	94.40	
Ekstrak daun sirsak	5	94.60	
Kontrol positif	5	95.80	
Fraksi n-heksan	5	103.20	
Kontrol negatif	5		214.60
Sig.		.686	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Lampiran 14. Analisis statistik perbandingan antara penurunan kadar gula darah $\Delta T7$ dan $\Delta T14$

Penurunan kadar gula darah $\Delta T7$

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadarguladarah
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	79.46
	Std. Deviation	52.875
Most Extreme Differences	Absolute	.257
	Positive	.138
	Negative	-.257
Kolmogorov-Smirnov Z		1.522
Asymp. Sig. (2-tailed)		.019

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : sig < 0,05 maka data kadar gula darah tidak terdistribusi secara normal, selanjutnya dilakukan uji Kruskal – Wallis untuk mengetahui kebermaknaan lebih dari dua kelompok.

Uji Kruskal- Wallis Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank
Kadarguladarah	Kontrol normal	5	6.00
	Kontrol negatif	5	5.00
	Kontrol positif	5	13.00
	Total	15	

Test Statistics^{a,b}

Kadarguladarah	
Chi-Square	9.673
df	2
Asymp. Sig.	.008

a. Kruskal Wallis Test

Test Statistics^{a,b}

	Kadarguladarah
Chi-Square	9.673
df	2
Asymp. Sig.	.008

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Kesimpulan : $\text{sig} < 0,05$ maka data kadar gula darah tidak terdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji Mann – Whitney untuk menguji kemaknaan perbedaan dua sampel tidak berhubungan (independen).

Uji Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadarguladarah	Kontrol normal	5	6.00	30.00
	Kontrol negatif	5	5.00	25.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	10.000
Wilcoxon W	25.000
Z	-.539
Asymp. Sig. (2-tailed)	.590
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.690 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kesimpulan : $\text{sig} > 0,05$ data kadar gula darah terdistribusi secara normal

Penurunan kadar gula darah $\Delta T14$

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kadarguladarah
N		35
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	82.89
	Std. Deviation	57.208
Most Extreme Differences	Absolute	.295
	Positive	.149
	Negative	-.295
Kolmogorov-Smirnov Z		1.743
Asymp. Sig. (2-tailed)		.005

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : sig < 0,05 maka data kadar gula darah tidak terdistribusi secara normal, selanjutnya dilakukan uji Kruskal – Wallis untuk mengetahui kebermaknaan lebih dari dua kelompok.

Uji Kruskal-Wallis Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank
Kadarguladarah	Kontrol normal	5	5.80
	Kontrol negatif	5	5.20
	Kontrol positif	5	13.00
	Total	15	

Test Statistics^{a,b}

Kadarguladarah	
Chi-Square	9.437
df	2
Asymp. Sig.	.009

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Kesimpulan : $\text{sig} < 0,05$ maka data kadar gula darah tidak terdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji Mann – Whitney untuk menguji kemaknaan perbedaan dua sampel tidak berhubungan (independen)..

Uji Mann-Whitney Test

Ranks				
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadarguladarah	Kontrol normal	5	5.80	29.00
	Kontrol negatif	5	5.20	26.00
	Total	10		

Test Statistics ^b	
	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-.314
Asymp. Sig. (2-tailed)	.753
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kesimpulan : $\text{sig} > 0,05$ data kadar gula darah terdistribusi secara normal

Lampiran 15. Analisis statistik penurunan kadar gula darah ΔT_{14} antar kelompok perlakuan

Kelompok 1 dengan 2

Mann-Whitney Test

		Ranks		
Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Kontrol normal	5	5.80	29.00
	Kontrol negatif	5	5.20	26.00
Total		10		

Test Statistics ^b	
	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-.314
Asymp. Sig. (2-tailed)	.753
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 1 dengan 3

Mann-Whitney Test

		Ranks		
Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Kontrol normal	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
Total		10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 1 dengan 4

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Kontrol normal	5	3.00	15.00
	Ekstrak daun sirsak	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 1 dengan 5**Mann-Whitney Test**

		Ranks		
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Kontrol normal	5	3.00	15.00
	Fraksi n-heksan	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics ^b	
	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 1 dengan 6**Mann-Whitney Test**

		Ranks		
	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Kontrol normal	5	3.00	15.00
	Fraksi etil asetat	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics ^b	
	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611

Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 1 dengan 7

Mann-Whitney Test

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Kontrol normal	5	3.00	15.00
	Fraksi air	5	8.00	40.00
Total		10		

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.611
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 2 dengan 3

Mann-Whitney Test

Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
----------	---	-----------	--------------

Kadar gula darah	Kontrol negatif	5	3.00	15.00
	kontrol positif	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 2 dengan 4

Mann-Whitney Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Kontrol negatif	5	3.00	15.00
	Ekstrak daun sirsak	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009

Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a
--------------------------------	-------------------

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 2 dengan 5

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Kontrol negatif	5	3.00	15.00
	Fraksi n-heksan	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 2 dengan 6

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
--	----------	---	-----------	--------------

Kadar gula darah	Kontrol negatif	5	3.00	15.00
	Fraksi etil asetat	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 2 dengan 7

Mann-Whitney Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Kontrol negatif	5	3.00	15.00
	Fraksi air	5	8.00	40.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	15.000
Z	-2.619
Asymp. Sig. (2-tailed)	.009
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.008 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 3 dengan 4

Mann-Whitney Test

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	kontrol positif	5	5.80	29.00
	Ekstrak daun sirsak	5	5.20	26.00
	Total	10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-.313
Asymp. Sig. (2-tailed)	.754
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 3 dengan 5**Mann-Whitney Test**

Ranks				
Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	kontrol positif	5	6.70	33.50
	Fraksi n-heksan	5	4.30	21.50
Total		10		

Test Statistics ^b	
	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	6.500
Wilcoxon W	21.500
Z	-1.257
Asymp. Sig. (2-tailed)	.209
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 3 dengan 6**Mann-Whitney Test**

Ranks				
Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	kontrol positif	5	4.20	21.00
	Fraksi etil asetat	5	6.80	34.00
Total		10		

Test Statistics ^b	
	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	6.000

Wilcoxon W	21.000
Z	-1.358
Asymp. Sig. (2-tailed)	.175
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 3 dengan 7

Mann-Whitney Test

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	kontrol positif	5	4.80	24.00
	Fraksi air	5	6.20	31.00
	Total	10		

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	9.000
Wilcoxon W	24.000
Z	-.731
Asymp. Sig. (2-tailed)	.465
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.548 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 4 dengan 5

Mann-Whitney Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Ekstrak daun sirsak	5	5.80	29.00
	Fraksi n-heksan	5	5.20	26.00
Total		10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	11.000
Wilcoxon W	26.000
Z	-.313
Asymp. Sig. (2-tailed)	.754
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.841 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 4 dengan 6

Mann-Whitney Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Ekstrak daun sirsak	5	4.60	23.00
	Fraksi etil asetat	5	6.40	32.00
Total		10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	23.000
Z	-.940

Asymp. Sig. (2-tailed)	.347
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.421 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 4 dengan 7

Mann-Whitney Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Ekstrak daun sirsak	5	4.50	22.50
	Fraksi air	5	6.50	32.50
Total		10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	7.500
Wilcoxon W	22.500
Z	-1.048
Asymp. Sig. (2-tailed)	.295
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.310 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 5 dengan 6

Mann-Whitney Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Fraksi n-heksan	5	3.80	19.00
	Fraksi etil asetat	5	7.20	36.00
Total		10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	19.000
Z	-1.776
Asymp. Sig. (2-tailed)	.076
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.095 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 5 dengan 7

Mann-Whitney Test

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Fraksi n-heksan	5	4.20	21.00
	Fraksi air	5	6.80	34.00
Total		10		

Test Statistics^b

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	21.000
Z	-1.358
Asymp. Sig. (2-tailed)	.175
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.222 ^a

- a. Not corrected for ties.
b. Grouping Variable: Kelompok

Kelompok 6 dengan 7

Mann-Whitney Test

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kadar gula darah	Fraksi etil asetat	5	5.60	28.00
	Fraksi air	5	5.40	27.00
Total		10		

	Kadarguladarah
Mann-Whitney U	12.000
Wilcoxon W	27.000
Z	-.104
Asymp. Sig. (2-tailed)	.917
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

- a. Not corrected for ties.
b. Grouping Variable: Kelompok

Ringkasan hasil analisis statistik penurunan kadar gula darah ΔT_{14} antar kelompok perlakuan

Kelompok	I	II	III	IV	V	VI	VII
I		0,841	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*
II			0,008*	0,008*	0,008*	0,008*	0,008*
III				0,841	0,222	0,222	0,548
IV					0,841	0,421	0,310
V						0,095	0,222

VI							1,000
VII							

Keterangan:

- I : Kontrol normal
- II : Kontrol negatif
- III : Kontrol positif
- IV : Ekstrak etanol 96% daun sirsak
- V : Fraksi *n*-heksan
- VI : Fraksi etil asetat
- VII : Fraksi air

Kesimpulan : dari hasil uji statistik Mann-Whitney bahwa kelompok perlakuan ekstrak 96% daun sirsak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan air dari ekstrak daun sirsak tidak berbeda bermakna atau sebanding.