

**EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium*  
Walp.) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN HISTOPATOLOGI  
PANKREAS TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN**



Oleh :

**Khoirun Nisa Krissanty**  
**20144248A**

**FAKULTAS FARMASI**  
**UNIVERSITAS SETIA BUDI**  
**SURAKARTA**  
**2018**

**EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium*  
Walp.) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN HISTOPATOLOGI  
PANKREAS TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

*SKRIPSI*

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

**Oleh :**

**Khoirun Nisa Krissanty  
20144248A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2018**

**PENGESAHAN SKRIPSI**

Dengan judul :

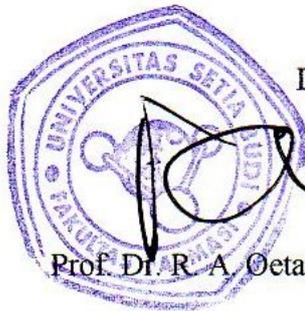
**EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium* Walp.) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh :

Khoirun Nisa Krissanty  
20144248A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 29 Juni 2018

Mengetahui ,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing,

Tri Wijayanti, S.Farm., MPH., Apt

Pembimbing Pendamping,

Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt

Penguji :

1. Dr. Wiwin Herdwiani, M.Sc., Apt

1.

2. Yane Dila Keswara, M.Sc., Apt

2.

3. Fitri Kurniasari, M.Farm., Apt

3.

4. Tri Wijayanti, S.Farm., MPH., Apt

4.

## PERSEMBAHAN

**Kupersembahkan karyaku ini kepada:  
Allah SWT syukur atas karuniaMu, nikmatMu, dan perlindunganMu.  
Segala pertolonganMu karena engkau yang Maha Pengasih lagi  
Maha Penyayang sehingga terselesaikan karyaku ini.**

Tugas akhir ini saya persembahkan untuk :  
Mama dan papa terCinta tersayang  
Sutorejo family tersayang  
Sahabatku 'Bidadari Surga' (Zainab, Soleca, Febrilia, Ani, Rizki,  
Hilda, Desi, Kiny, Farha, Wahyu, Anita, Suci, Hanifa )  
Teman seperjuangan diabetes (Venin, Pristovia, Tika, Jofrin)

*Langkah pertama dalam mencari ilmu adalah mendengarkan, lalu diam  
dan penuh perhatian, lalu mengamalkannya dan kemudian  
menyebarkannya*

*(Sufyan bin Uyainah )*

Barang siapa yang menapaki suatu jalan dalam rangka menuntut  
ilmu, maka Allah akan memudahkan baginya jalan menuju surga  
(HR. Ibnu Majah dan Abu Dawud)

**".... Dan janganlah kamu berputus asa dari rahmat Allah. Sesungguhnya  
tiada berputus asa dari rahmat Allah melainkan kaum yang kafir"  
(QS. Yusuf: 12)**

When you feel like hope is gone.  
Look inside you and be strong.  
And you'll finally see the truth.  
That a hero lies in you  
-Mariah Carey-

## **PERNYATAAN**

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

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

Surakarta, Juli 2018



Khoirun Nisa Krissanty

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabilalamin, Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, Rabb semesta alam yang tidak pernah berhenti memberikan berjuta nikmat-Nya. Maha suci Allah yang telah memudahkan segala urusan, karena berkat kasih sayang-Nya lah akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium* Walp.) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN ”** dengan baik. Shalawat dan salam semoga tercurah kepada Rasulullah SAW beserta keluarga, sahabat, dan pengikutnya yang setia sampai akhir zaman. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat mencapai gelar derajat Sarjana pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan penulisan tugas akhir ini bukan hanya karena usaha keras dari penulis sendiri, akan tetapi karena adanya do'a, bantuan, motivasi serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis ingin berterima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Taringan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. RA. Oetari, S.U., MM., MSc., Apt selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Tri Wijayanti, S.Farm., MPH., Apt selaku Pembimbing Utama dan Dr. Titik Sunarni, S.Si., M.Si., Apt selaku Pembimbing Pendamping yang telah berkenan mengorbankan waktunya guna membimbing, memberi nasehat, dan mengarahkan penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi.
4. Tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan kritik saran untuk skripsi ini menjadi lebih baik.
5. Mama papa tersayang dan tercinta, Sami Asih dan Muhammad Bakri yang senantiasa memberikan dukungan, motivasi, kasih sayang dan perhatian yang tiada henti serta doa yang selalu dipanjatkan kepada Allah sehingga penulis bisa menyelesaikan penelitian.

6. Direktur dan staf laboratorium USB yang telah memberikan izin penelitian dan banyak membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.
7. Segenap civitas akademika dan seluruh staff dan karyawan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran untuk meningkatkan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat memberikan tambahan ilmu dan bermanfaat bagi semua.

Surakarta, Juli 2018



Khoirun Nisa Krissanty

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI .....	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN .....	xv
INTISARI.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Rumusan Masalah .....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
A. Tanaman Pucuk Merah ( <i>Syzygium myrtifolium</i> Walp.).....	5
1. Sistematika tanaman .....	5
2. Nama lain dan sinonim .....	5
3. Morfologi tanaman.....	5
4. Kandungan kimia .....	6
5. Manfaat dan khasiat .....	6
B. Simplisia .....	7
1. Pengertian simplisia .....	7
2. Pengumpulan simplisia .....	7
3. Pemilihan simplisia .....	8
4. Pengeringan.....	8
C. Metode Pemisahan Senyawa .....	9
1. Pengertian penyarian.....	9

2.	Pelarut .....	9
3.	Ekstraksi.....	10
D.	Diabetes Melitus.....	11
1.	Pengertian.....	11
2.	Patofisiologi .....	12
3.	Tanda dan gejala .....	12
3.1	Gejala akut diabetes melitus.....	12
3.2	Gejala kronik diabetes melitus.....	12
4.	Klasifikasi .....	12
4.1	Diabetes melitus tipe 1.....	13
4.2	Diabetes melitus tipe 2.....	13
4.3	Diabetes melitus gestasional.....	14
5.	Komplikasi .....	14
6.	Diagnosa.....	15
7.	Terapi .....	15
7.1	Perubahan gaya hidup.....	15
7.2	Insulin.....	16
8.	Obat antidiabetes oral.....	16
8.1	Golongan sulfonilurea.....	16
8.3	Golongan meglitinid.....	17
8.4	Golongan inhibitor alfa glukosidase.....	17
8.5	Golongan thiazolidinedione.....	17
E.	Glibenklamid .....	18
1.	Kelarutan.....	18
2.	Indikasi dan kontraindikasi .....	18
3.	Farmakokinetik .....	18
4.	Mekanisme kerja .....	19
5.	Efek samping.....	19
6.	Interaksi obat.....	19
7.	Dosis dan aturan pakai .....	19
F.	Aloksan.....	20
1.	Pengertian dan sifat kimia.....	20
2.	Pengaruh aloksan terhadap kerusakan sel $\beta$ pankreas.....	21
G.	Metode Uji Induksi Aloksan .....	22
H.	Metode GOD-PAP.....	22
I.	Hewan Uji.....	22
1.	Sitematika hewan .....	22
2.	Karakteristik tikus putih.....	23
3.	Jenis kelamin.....	23
4.	Pemberian secara oral .....	23
5.	Pengambilan darah hewan percobaan.....	24
J.	Pankreas.....	24
1.	Struktur dan anatomi pankreas.....	24
2.	Kerusakan pankreas .....	25
2.1	Berkurangnya jumlah dan ukuran islet.....	25
2.2	Degranulasi sel $\beta$ yang sudah rusak.....	26

2.3	Peningkatan jumlah dan ukuran islet.....	26
K.	Histopatologi Organ Pankreas.....	26
1.	Pengertian histopatologi.....	26
2.	Histopatologi pankreas.....	26
1.1	Diameter pulau Langerhans.....	26
1.2	Nekrosis.....	27
3.	Metode pembuatan preparat histopatologi.....	27
L.	Landasan Teori.....	27
M.	Hipotesis.....	29
N.	Kerangka Pikir.....	30
BAB III METODE PENELITIAN.....		31
A.	Populasi dan Sampel.....	31
1.	Populasi.....	31
2.	Sampel.....	31
B.	Variabel Penelitian.....	31
1.	Identifikasi variabel utama.....	31
2.	Klasifikasi variabel utama.....	31
3.	Definisi operasional variabel utama.....	32
C.	Bahan dan Alat.....	33
1.	Bahan.....	33
1.1.	Bahan sampel.....	33
1.2.	Bahan kimia.....	33
2.	Alat.....	33
3.	Hewan percobaan.....	34
D.	Jalannya Penelitian.....	34
1.	Determinasi tanaman pucuk merah.....	34
2.	Pembuatan serbuk daun pucuk merah.....	34
3.	Pembuatan ekstrak etanolik daun pucuk merah.....	35
4.	Penetapan susut pengeringan.....	35
5.	Penetapan kadar air.....	35
6.	Penetapan bobot jenis ekstrak.....	36
7.	Identifikasi senyawa kimia serbuk dan ekstrak berdasarkan reaksi warna.....	36
7.1	Identifikasi flavonoid.....	36
7.2	Identifikasi tanin.....	36
7.3	Identifikasi saponin.....	36
7.4	Identifikasi steroid/terpenoid.....	37
7.5	Identifikasi alkaloid.....	37
8.	Penentuan dosis.....	37
8.1	Dosis glibenklamid.....	37
8.2	Dosis sediaan uji.....	37
8.3	Dosis aloksan monohidrat.....	37
9.	Pembuatan larutan uji.....	37
9.1	Larutan suspensi CMC Na 0,5%.....	37
9.2	Larutan glibenklamid.....	37

9.3	Larutan aloksan monohidrat.....	38
9.4	Larutan sediaan uji.....	38
10.	Perlakuan hewan uji.....	38
11.	Penetapan kadar glukosa darah.....	39
12.	Histopatologi organ pankreas.....	39
12.1	Pembuatan preparat histopatologi.....	39
12.2	Pemeriksaan histopatologi.....	41
E.	Analisis Statistik.....	41
F.	Skema Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Pucuk Merah.....	42
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	44
A.	Hasil Penyiapan Bahan Tanaman.....	44
1.	Hasil Determinasi Tanaman.....	44
2.	Hasil Pembuatan Serbuk Daun Pucuk Merah.....	44
3.	Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah.....	45
B.	Hasil Karakterisasi Serbuk dan Ekstrak Daun Pucuk Merah.....	45
1.	Hasil Penetapan Susut Pengerinan.....	45
2.	Hasil Penetapan Kadar Air.....	46
3.	Hasil Penetapan Berat Jenis Ekstrak.....	46
4.	Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia.....	47
C.	Hasil Pengujian Aktivitas Antidiabetes.....	48
1.	Hasil Pengukuran Berat Badan.....	48
2.	Hasil Pengukuran Kadar Gula Darah.....	50
3.	Hasil Uji Histopatologi Pankreas.....	55
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	59
A.	Kesimpulan.....	59
B.	Saran.....	59
DAFTAR PUSTAKA	.....	60
LAMPIRAN	.....	69

## DAFTAR GAMBAR

	<b>Halaman</b>
Gambar 1. Struktur glibenklamid .....	18
Gambar 2. Struktur aloksan .....	20
Gambar 3. Asinus dan Pulau Langerhans .....	25
Gambar 4. Skema Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Pucuk Merah .....	42
Gambar 5. Tahapan Histopatologi .....	43
Gambar 6. Persentase penurunan kadar gula darah tikus T1 ke T2 ( $\Delta T1$ ) dan T1 ke T3 ( $\Delta T2$ ) .....	54
Gambar 7. Profil histopatologi pankreas tikus dengan pewarnaan HE dengan perbesaran 1000x. a) sel normal b) piknotik c) karioreksis d) kariolisis .....	56

## DAFTAR TABEL

### Halaman

Tabel 1. Perlakuan pengukuran kadar glukosa darah metode GOD-PAP .....	39
Tabel 2. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun pucuk merah .....	44
Tabel 3. Hasil rendemen ekstrak daun pucuk merah .....	45
Tabel 4. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun pucuk merah .....	45
Tabel 5. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun pucuk merah .....	46
Tabel 6. Hasil penetapan kadar air daun pucuk merah .....	46
Tabel 7. Hasil penetapan berat jenis ekstrak daun pucuk merah .....	47
Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun pucuk merah .....	47
Tabel 9. Hasil rata-rata berat badan tikus .....	48
Tabel 10. Rata-rata hasil pengukuran kadar gula darah tikus .....	51
Tabel 11. Presentase penurunan kadar gula darah tikus T1 ke T2 dan T1 ke T3 .....	53
Tabel 12. Hasil rata-rata skor kerusakan pankreas pada masing-masing kelompok perlakuan .....	57

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat Determinasi tanaman pucuk merah.....	70
Lampiran 2. Surat <i>Ethical Clearence</i> .....	71
Lampiran 3. Surat histopatologi.....	72
Lampiran 4. Tanaman pucuk merah .....	73
Lampiran 5. Alat, bahan dan perlakuan .....	74
Lampiran 6. Hasil identifikasi kimia serbuk dan ekstrak.....	75
Lampiran 7. Perhitungan dosis dan volume pemberian.....	77
Lampiran 8. Hasil perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun pucuk merah .....	80
Lampiran 9. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun pucuk merah.....	81
Lampiran 10. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun pucuk merah .....	82
Lampiran 11. Hasil perhitungan kadar air serbuk.....	83
Lampiran 12. Perhitungan Berat jenis ekstrak .....	84
Lampiran 13. Hasil pengukuran kadar gula darah pada T0 .....	85
Lampiran 14. Hasil pengukuran kadar gula darah pada T1 .....	86
Lampiran 15. Hasil pengukuran kadar gula darah pada T2 .....	87
Lampiran 16. Hasil pengukuran kadar gula darah pada T3 .....	88
Lampiran 17. Hasil penimbangan berat badan tikus.....	89
Lampiran 18. Persentase penurunan kadar gula darah $\Delta T1$ dan $\Delta T2$ .....	90
Lampiran 19. Hasil perhitungan jumlah sel normal dan sel yang mengalami kerusakan.....	91
Lampiran 20. Hasil uji stastistik one way anova BB T3.....	92
Lampiran 21. Hasil uji stastistik one way anova T0 .....	95
Lampiran 22. Hasil uji stastistik one way anova T1 .....	97

Lampiran 23. Hasil uji statistik one way anova T2 .....	100
Lampiran 24. Hasil uji statistik one way anova T3 .....	103
Lampiran 25. Hasil uji statistik one way anova presentase penurunan kadar gula darah tikus T1 terhadap T2 .....	106
Lampiran 26. Hasil uji statistik one way anova presentase penurunan kadar gula darah T1 terhadap T3.....	110
Lampiran 27. Hasil uji statistik one way anova skor kerusakan pankreas.....	113
Lampiran 28. Hasil uji statistik one way anova BB T0 .....	116
Lampiran 29. Hasil uji statistik one way anova BB T1 .....	118
Lampiran 30. Hasil uji statistik one way anova BB T2 .....	120

## DAFTAR SINGKATAN

Na CMC	<i>Natrium Carboxy Methyl Celulosa</i>
GOD-PAP	<i>Glucose Oxidase Phenol Aminophenazone</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
DM	<i>Diabetes Mellitus</i>
UV-Vis	<i>Ultraviolet Visible</i>

## INTISARI

**KRISSANTY KN., 2018, EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PUCUK MERAH (*Syzygium myrtifolium* Walp.) TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN , SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Diabetes Melitus merupakan suatu penyakit metabolik yang terjadi karena kelainan sekresi insulin sehingga glukosa dalam darah mengalami peningkatan dan ditandai dengan perubahan progresif terhadap struktur histopatologi sel beta pankreas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas daun pucuk merah sebagai antidiabetes serta dosis yang sebanding dengan glibenklamid 0,45 mg/kg BB dan histopatologi pankreas tikus.

Tiga puluh ekor tikus jantan galur wistar dibagi dalam enam kelompok. Kelompok normal, kelompok diabetes, kelompok pembanding (glibenklamid 0,45 mg/kg BB), kelompok perlakuan (daun pucuk merah dosis 150 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 600 mg/kg BB). Aloksan monohidrat diinduksikan pada tikus dengan dosis 150 mg/kg BB secara intraperitoneal. Tikus kemudian diberi perlakuan selama 14 hari. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-0, hari ke-4, hari ke-7, dan hari ke-14. Hari ke-15 dilakukan histopatologi pankreas dengan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE) dan diamati kerusakan pulau Langerhans berupa pinotik, karioreksis, dan kariolisis. Data kadar gula darah dan kerusakan pulau Langerhans dianalisis menggunakan metode *One Way ANOVA*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun pucuk merah memiliki aktivitas antidiabetes dengan menurunkan kadar glukosa darah dan menghambat kerusakan pulau Langerhans sebanding dengan glibenklamid 0,45 mg/kg BB pada dosis 600 mg/kg BB.

**Kata kunci :** aloksan, diabetes melitus, histopatologi pankreas, daun pucuk merah

## ABSTRACT

**KRISSANTY KN., 2018, EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT PUCUK MERAH LEAF (*Syzygium myrtifolium* Walp.) AGAINST BLOOD GLUCOSE LEVELS AND HISTOPATHOLOGY PANCREATIC IN MALE WHITE RATS WHICH INDUCED ALLOXAN, THESIS, PHARMACY FACULTY OF, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Diabetes Mellitus is a metabolic disease that occurs due to abnormal secretion of insulin, so glucose in the blood increases and is characterized by progressive changes in the structure of the pancreatic beta cell histopathology. This study to prove about antidiabetic activity as well as a dosage glibenclamide 0,45 mg/kg BB and histopathology pancreatic of ethanol extract of pucuk merah leaf.

Thirty Wistar strain of rats male were divided into six groups. Normal group (only given feed), diabetic group (it was induced alloxan), glibenclamide group (it was given glibenclamide 0,45 mg/kg BB), and treatment group (ethanol extract of pucuk merah leaf (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dose 150 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, and 600 mg/kg BB). Alloxan monohidrat induced intraperitoneally in rats with a single dose of 150 mg/kg BB. Rats were treated for 14 days. Measurement of blood glucose levels performed 0,4,7,and 14 days. After 14 days, pancreatic histopathology performed with Hematoxylin-Eosin (HE) staining and observed the damage of the pancreatic islets of Langerhans reviewed from piknotik, karioreksis, and kariolisis. Blood glucose levels and damage of islets of Langerhans were analyzed using *One Way* ANOVA.

The results showed that ethanol extract of pucuk merah leaf (*Syzygium myrtifolium* Walp.) have antidiabetic activity by lowering blood glucose levels and reduce damage of the pancreatic islets of Langerhans which proportional with glibenclamide 0,45 mg/kg BB an effective dosage of 600 mg/kgBB.

**Keywords :** alloxan, diabetes mellitus, histopathology pancreatic, pucuk merah leaf.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

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

Seiring dengan perkembangan zaman yang semakin modern disertai kemajuan teknologi menuntut manusia untuk semakin padat dalam aktivitasnya. Aktivitas yang cenderung padat memberikan pengaruh besar terhadap gaya hidup seseorang yang berorientasi dengan sesuatu yang lebih praktis. Salah satunya pola makan yang kurang sehat, gaya hidup yang tidak teratur, kurang berolahraga yang dapat memicu suatu penyakit, salah satunya adalah diabetes.

Diabetes merupakan penyakit kronik yang terjadi saat pankreas tidak mampu memproduksi insulin dengan baik atau saat tubuh tidak mampu memproduksi insulin secara efektif yang menimbulkan peningkatan konsentrasi glukosa dalam darah (WHO 2016). Hiperglikemik terjadi karena tubuh tidak bisa menghasilkan insulin karena terjadi kerusakan sel  $\beta$  pankreas (Suarsana *et al.* 2010). Diabetes melitus (DM) umumnya ada dua jenis yaitu diabetes tipe 1 yang disebabkan kerusakan sel  $\beta$  pankreas yang mutlak karena kekurangan insulin dan tipe 2 yang disebabkan kombinasi antara kurangnya sekresi produksi insulin dan kurangnya kepekaan reseptor insulin (Dipiro *et al.* 2008).

Penyakit DM ini juga telah diketahui sebagai salah satu masalah kesehatan terbesar di dunia. Menurut data dari *World Health Organization* (WHO), sebanyak 346 miliar manusia di dunia diindikasikan mengalami DM (Aklima *et al.* 2013). WHO juga memprediksi bahwa Indonesia akan menjadi negara dengan tingkat penderita DM terbesar keempat di dunia pada tahun 2030 nanti, setelah India, Cina, dan Amerika Serikat (Fitri 2015). Berdasar data IDF pada tahun 2015 terdapat 415 juta penderita dan pada tahun 2040 diperkirakan terjadi peningkatan sebanyak 642 juta orang.

Penderita DM terjadi perubahan histopatologi pada organ pankreas. Perubahan ini dapat berupa kerusakan dan sering ditemukan sebagai salah satu gambaran patologis yang khas pada pasien dan hewan model DM. Perubahan pulau Langerhans yang terutama terjadi pada populasi sel  $\beta$  ini, mengakibatkan

kadar insulin dalam tubuh rendah, dan berdampak pada peningkatan kadar glukosa darah (terjadi keadaan hiperglikemia) (Suarsana *et al.* 2010). Kondisi hiperglikemia menurut Robertson *et al.* (2003) dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS=*reactive oxygen species*). ROS yang berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif dan dapat memperparah kerusakan sel  $\beta$  pankreas.

Pengobatan diabetes yang tersedia pada saat ini adalah terapi insulin dan obat hipoglikemik oral, dimana pemilihan pengobatan didasarkan pada kegawatan penyakit pasien. Namun pengobatan yang tersedia saat ini relatif mahal dan dapat menimbulkan efek samping pada pasien. Sebagai contoh adalah metformin, suatu obat hipoglikemik oral, dapat menyebabkan muntah-muntah, diare, dan asidosis laktat (Depkes 2005). Lebih lanjut, seperti yang dipaparkan oleh Capasso (2003), bahwa diperlukannya pengobatan alternatif untuk DM karena selain terapi yang tersedia untuk DM relatif mahal, ketersediaannya rendah pada negara-negara berkembang. Padahal mayoritas penderita DM seperti yang dilaporkan oleh WHO adalah masyarakat di negara berkembang.

Pengobatan DM dengan memanfaatkan penggunaan tanaman berkhasiat obat, dipercaya sebagai bentuk pengobatan yang efektif dan memiliki efek samping lebih ringan, dibandingkan dengan obat antidiabetes oral. Selain itu tanaman berkhasiat obat juga dapat diperoleh dengan mudah, dapat dipetik langsung untuk pemakaian segar atau dapat dikeringkan (Wijayakusuma 2004). Pengembangan pengobatan modern dapat dilakukan dengan cara memanfaatkan tanaman hias di pekarangan rumah dan di sepanjang jalan raya, diantaranya tumbuhan pucuk merah yang berasal dari keluarga *Myrtaceae*.

Daun pucuk merah memiliki potensi untuk pengobatan penyakit degeneratif (Diabetes Melitus). Pucuk merah mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, kalkon, terpenoid, dan betulinic acid (Aisha *et al.* 2013), alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, dan fenolik (Juwita *et al.* 2017), dimethyl cardamonin (DMC) (Memon *et al.* 2014), minyak atsiri (Sembiring *et al.* 2015).

Peningkatan kadar glukosa darah dapat menyebabkan perubahan histopatologi pada pulau Langerhans dalam jaringan pankreas. Sel  $\beta$  pankreas

yang rusak akibat pembentukan oksigen reaktif diduga mampu diregenerasi oleh flavonoid yang terkandung dalam daun pucuk merah, oleh karena itu dilakukan pengamatan terhadap gambaran histopatologi pankreas agar dapat mengetahui perubahan sel endokrin pulau Langerhans (Akrom *et al.* 2014). Berdasarkan latar belakang di atas penulis tertarik untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun pucuk merah pada histopatologi pankreas dan kadar glukosa darah pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

### **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah :

Pertama, apakah ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang diinduksi aloksan?

Kedua, berapakah dosis ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) yang sebanding dengan glibenklamid 0,45 mg/kg BB dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan?

Ketiga, apakah pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dapat menghambat kerusakan pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan yang diinduksi aloksan ditinjau dari piknosis, karioreksis, dan kariolisis?

### **C. Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan :

Pertama, untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

Kedua, untuk mengetahui dosis ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) yang sebanding dengan glibenklamid 0,45 mg/kg BB dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

Ketiga, untuk mengetahui kemampuan ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dalam menghambat kerusakan pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan yang diinduksi aloksan ditinjau dari piknosis, karioreksis, dan kariolisis.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar pengembangan dan memberikan informasi ilmiah kepada seluruh lapisan masyarakat bahwa ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dapat digunakan sebagai obat herbal untuk menurunkan kadar gula darah.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.)**

##### **1. Sistematika tanaman**

Kedudukan tanaman pucuk merah dalam sistematika tumbuhan adalah :

Kingdom	: Plantae
Sub Kingdom	: Tracheobiota
Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Magnoliopsida
Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Myrtales
Famili	: Myrtaceae
Sub Famili	: Myrtoideae
Genus	: <i>Syzygium</i>
Spesies	: <i>Syzygium myrtifolium</i> Walp. (Gilman & Watson 2013)

##### **2. Nama lain dan sinonim**

Pucuk merah merupakan tanaman hias populer dari famili *Myrtaceae* dengan distribusi asli di Timur Laut India, Myanmar, Thailand, Semenanjung Malaysia, Singapura, Sumatera, Kalimantan dan Filipina. Tanaman ini memiliki beberapa nama lokal yaitu Pokok Kelat Paya (Malaysia), Ubah Laut (Malaysia Timur), Chinese Red-Wood (Chinese), Wild Cinnamon, Red-lip, Australian Brush Cherry dan Kelat Oil (Memon *et al.* 2014). *Syzygium oleana* juga memiliki beberapa sinonim antara lain *Syzygium myrtifolium* Walp. dan *Syzygium campanulatum* Korth.

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

Pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) adalah sejenis tanaman perdu. Tanaman yang berciri khas memiliki daun yang berwarna merah dan hijau. Daun tumbuh rapat antara satu daun dengan daun lainnya. Tekstur daun halus dengan

panjang daun berkisar 5 cm dan permukaan daun yang mengkilap. Saat daun masih pucuk dan muda, daun akan berwarna merah. Kemudian warna daun akan berubah menjadi hijau saat daun semakin tua. Pucuk merah cocok hidup di daerah tropis. Diameter tanaman dapat mencapai 30 cm dengan tinggi mencapai 7 meter. Usia tanaman dapat mencapai puluhan tahun. Ciri khas lain dari jenis tumbuhan ini jika diremas akan mengeluarkan aroma khas kandungan minyak atsiri yang terdapat pada berbagai *Syzygium*. Memon *et al.* (2014) juga menyatakan jika diremas, daunnya memproduksi suatu pewangi (*fragrance*) yang seperti dimiliki oleh *cinnamon*.

Daun pucuk merah berupa daun tunggal berbentuk lancet, bertangkai sangat pendek hampir duduk, tumbuh berhadapan, permukaan daun bagian atas mengkilat; warna daun mengalami perubahan, ketika baru tumbuh berwarna merah menyala, kemudian berubah menjadi coklat, lalu berubah lagi menjadi warna hijau; ukuran daun panjang  $\pm 6$  cm dan lebar  $\pm 2$  cm, pertulangan daunnya menyirip.

Akar pucuk merah berupa akar tunggang. Reproduksi pucuk merah secara alami adalah dengan biji, namun secara komersial tanaman ini dapat diperbanyak dengan cara cangkok atau stek batang. Manfaat pucuk merah pada umumnya hanya sebagai tanaman hias dan tanaman peneduh (Djamal 1990).

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

Pucuk merah mengandung beberapa senyawa seperti flavonoid, kalkan, terpenoid, dan betulinic acid (Aisha *et al.* 2013), alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, dan fenolik (Juwita *et al.* 2017), dimethyl cardamonin (DMC) (Memon *et al.* 2014), minyak atsiri (Sembiring *et al.* 2015). Buah tanaman pucuk merah mengandung antosianin (Santoni *et al.* 2013).

#### **5. Manfaat dan khasiat**

Tanaman pucuk merah berkembang di Indonesia sebagai tanaman hias. Tanaman ini mempunyai banyak kegunaan, antara lain buah dari tanaman ini mengandung antosianin yang berguna sebagai pewarna alami dan antioksidan (Santoni *et al.* 2013). Daun hijau pucuk merah memiliki efek antiangiogenik dan

antitumor (Aisha *et al.* 2013), antikanker (Memon *et al.* 2014), antihiperuresimia (Juwita *et al.* 2017), antidiabetes (Hasti *et al.* 2016 dan Sundhani *et al.* 2016).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian simplisia**

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan simplisia tidak lebih dari 60°C. Simplisia segar adalah bahan alam yang belum dikeringkan (Depkes 2013).

Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu pertama simplisia nabati berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman; kedua simplisia hewani adalah hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni; ketiga simplisia pelikan (mineral) yang belum diolah dengan cara-cara yang sederhana dan belum berupa zat-zat kimia murni (Depkes 1979).

### **2. Pengumpulan simplisia**

Simplisia berdasarkan bahan bakunya bisa diperoleh dari tanaman liar atau dari tanaman yang dibudidayakan. Jika simplisia yang diambil adalah dari tanaman budidaya maka keseragaman umur, masa panen dan galur (asal-usul, garis keturunan) tanaman dapat dipantau. Tetapi jika pengambilan simplisia dari tanaman liar dan banyak kendala dan variabilitas yang tidak bisa dikendalikan seperti asal tanaman, umur, dan tempat tumbuh (Depkes 1985).

Waktu panen sangat erat hubungannya dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang akan dipanen. Waktu panen yang tepat adalah pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah besar. Senyawa aktif terbentuk secara maksimal di dalam bagian tanaman pada umur tertentu (Depkes 1985).

Pencucian dilakukan untuk memisahkan kotoran dari simplisia yang akan digunakan seperti tanah yang tertinggal pada simplisia. Cara pencucian juga sangat mempengaruhi jenis dan jumlah mikroba pada simplisia. Jika air yang digunakan pada simplisia itu kotor maka jumlah mikroba pada permukaan bahan

simplisia bertambah dan air pada simplisia tersebut akan mudah mempercepat pertumbuhan mikroba (Depkes 1985).

Beberapa simplisia perlu mengalami proses perajangan, untuk mempermudah proses pengeringan dari bahan simplisia, pengepakan serta penggilingan. Apabila semakin tipis bahan simplisia yang dirajang dan dikeringkan semakin baik karena semakin cepat penguapan airnya. Irisan yang terlalu tipis juga menyebabkan berkurangnya atau hilangnya zat berkhasiat yang mudah menguap, sehingga mempengaruhi komposisi, bau, dan rasa yang diinginkan (Depkes 1985).

### **3. Pemilihan simplisia**

Proses pemilihan simplisia digunakan untuk memisahkan simplisia dari benda asing yang berbahaya atau tidak berbahaya dalam jumlah kecil atau besar yang biasanya merugikan. Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpan bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda-tanda pengotoran lain, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya (Depkes 1985).

### **4. Pengeringan**

Pengeringan simplisia bertujuan mengurangi kadar air simplisia, sehingga simplisia tidak mudah rusak, berjamur, atau kandungan bahan aktif berubah jika disimpan dalam waktu cukup lama. Sebelum proses pengeringan, simplisia seperti rimpang, batang atau kulit kayu dipotong kecil-kecil untuk mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan secara alami, dilakukan dengan menjemur di bawah sinar matahari langsung. Simplisia ini dihamparkan merata setipis mungkin dengan alas tikar atau plastik dengan sambil sering dibalik agar keringnya merata (Dalimartha 2008).

Proses ini, kadar air dan reaksi-reaksi zat aktif pada bahan akan berkurang, sehingga suhu dan waktu pengeringan perlu diperhatikan. Suhu pengeringan tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan. Pada umumnya suhu pengeringan berkisar antara 40<sup>0</sup>C- 60<sup>0</sup>C dan hasil yang baik dari proses pengeringan ini adalah simplisia yang mengandung kadar air 10%. Waktu pengeringan bervariasi,

tergantung pada jenis bahan yang dikeringkan seperti rimpang, daun, kayu ataupun bunga. Hal ini yang perlu diperhatikan dalam proses pengeringan ini adalah kebersihan (khususnya pengeringan menggunakan sinar matahari). Kelembapan udara, aliran udara, dan tebal bahan (tidak saling menumpuk). Pengeringan bahan dapat dilakukan secara tradisional dengan menggunakan sinar matahari ataupun secara modern dengan menggunakan alat pengering seperti oven, rak pengering, *blower* ataupun dengan *freeze dryer*.

### **C. Metode Pemisahan Senyawa**

#### **1. Pengertian penyarian**

Penyarian adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang disari mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan zat yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain (Depkes 1985).

Pemilihan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria-kriteria: murah, stabil secara fisika dan kimia, netral dan tidak mudah terbakar, selektif, tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Anonim 1993).

#### **2. Pelarut**

Sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah yang maksimum dari zat aktif dan semimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan. Pelarut yang biasa digunakan dalam penelitian adalah air, etanol, atau campuran etanol dengan air (Ansel 1989).

Pemilihan cairan penyari harus dipertimbangkan 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 1986).

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol. Etanol adalah pelarut polar yang dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, sulit ditumbuhi kapang dan kuman dalam etanol 20 % keatas, tidak beracun, netral,

absorbsinya baik, dapat bercampur dengan air pada berbagai perbandingan, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol juga dapat melarutkan alkaloid, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid dan klorofil. Tanin dan saponin hanya terlarut sedikit (Depkes 2000).

Campuran alkohol-air merupakan campuran bahan pelarut yang berbeda dan sering digunakan. Cairan pengestraksi etanol 96% sangat sering didapatkan dari hasil bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya skala kecil cairan pengestraksi (Voight 1994). Pemilihan pelarut ini karena etanol 96% bersifat universal sehingga dapat menarik kandungan zat aktif secara optimal, sedangkan pengotornya hanya berada pada skala kecil (Voight 1994).

Keuntungan etanol adalah tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut, etanol juga mempunyai sifat mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim (Voight 1994).

### **3. Ekstraksi**

Ekstraksi adalah pemisahan bahan aktif sebagai obat dari jaringan tumbuhan ataupun hewan menggunakan pelarut yang sesuai melalui prosedur yang telah ditetapkan. Selama proses ekstraksi, pelarut akan berdifusi sampai ke material padat dari tumbuhan dan akan melarutkan senyawa dengan polaritas yang sesuai dengan pelarutnya (Tiwari *et al.* 2011).

Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat. Sifat dari bahan mentah obat dapat merupakan faktor utama yang harus dipertimbangkan dalam memperoleh metode ekstraksi (Ansel 1989).

Pada penelitian ini dipilih metode maserasi. Maserasi adalah proses penyarian serbuk simplisia dengan cara menempatkan dalam wadah tertutup dan direndam dengan pelarut, lalu dibiarkan berada pada suhu kamar selama minimal 3 hari sambil sering diaduk hingga larut. Setelah beberapa waktu yang ditentukan, maserasi disaring (Handa *et al.* 2008). Kelemahan dari proses maserasi adalah tidak dapat menghasilkan penyarian optimal untuk senyawa senyawa yang kurang

larut dalam suhu kamar. Namun karena dilakukan pada suhu kamar, maka hal tersebut menjadi salah satu kelebihan dari maserasi, yakni tidak menyebabkan terjadinya degradasi dari metabolit yang tidak tahan panas (Depkes 2000).

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana, dimana dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan terlarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel. Peristiwa ini terjadi berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes 1986).

Cairan penyari yang biasa digunakan untuk maserasi adalah pelarut yang bersifat non polar, semipolar dan polar. Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan bentuk dan faktor cairan penyari yang baik. Penyari harus memenuhi kriteria, yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif (hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki) dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 1986).

Maserasi dilakukan dengan cara sebanyak 10 bagian serbuk kering atau 1000 gram dimaserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 7,5 L pada suhu kamar selama 5 hari ke dalam bejana dan terlindung dari cahaya matahari sambil dilakukan pengadukan. Setelah 5 hari, ampas diperas. Ampas ditambahkan cairan penyari secukupnya kemudian dimaserasi kembali selama 2 hari sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 10 bagian dan dipekatkan menggunakan *rotatory vacuum evaporator* serta disempurnakan pengeringannya di dalam oven suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak etanol awal (Depkes 1986).

## **D. Diabetes Melitus**

### **1. Pengertian**

Diabetes melitus merupakan penyakit yang timbul karena suatu gangguan dari pankreas, yaitu organ tubuh yang biasa menghasilkan insulin dan sangat berperan dalam metabolisme glukosa sel dalam tubuh. Kurangnya hormon insulin

mengakibatkan glukosa tidak diubah menjadi tenaga atau energi dan tertimbun dalam darah (Sudewo 2004).

## **2. Patofisiologi**

Berbagai proses patologis berperan dalam terjadinya DM, mulai dari kerusakan autoimun dari sel pankreas yang berakibat defisiensi insulin sampai kelainan yang menyebabkan resistensi terhadap kerja insulin. Kelainan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein pada DM disebabkan kurangnya kerja insulin pada target (Adnyana *et al.* 2006)

## **3. Tanda dan gejala**

Gejala Diabetes Melitus dapat digolongkan menjadi gejala akut dan gejala kronik (Parkeni 2011).

**3.1 Gejala akut diabetes melitus.** Permulaan gejala yang ditunjukkan oleh penderita DM meliputi serba banyak (*poli*) yaitu banyak makan (*polifagi*), banyak minum (*polidipsi*) dan banyak kencing (*poliuri*). Gejala utama penderita diabetes yaitu poliuri (peningkatan pengeluaran urin) karena air mengikuti glukosa yang keluar melalui urin (Corwin 2009). Keadaan tersebut jika tidak segera diobati maka akan timbul gejala banyak minum, banyak kencing, nafsu makan mulai berkurang atau berat badan turun dengan cepat (turun 5-10 kg dalam 2-4 minggu), mudah lelah dan apabila tidak lekas diobati akan timbul rasa mual, bahkan penderita akan jatuh koma yang disebut dengan koma diabetik (Parkeni 2011).

**3.2 Gejala kronik diabetes melitus.** Gejala kronik yang dialami oleh penderita DM adalah kesemutan, kulit terasa panas, atau seperti tertusuk-tusuk jarum, rasa tebal di kulit, kram, mudah mengantuk, mata kabur, gatal disekitar kemaluan terutama wanita, gigi mudah goyang dan mudah lepas, kemampuan seksual menurun, bahkan impotensi dan para ibu hamil sering mengalami keguguran atau kematian janin dalam kandungan, atau dengan bayi berat lahir lebih dari 4 kg (Soegondo 2013).

## **4. Klasifikasi**

Diabetes melitus diklasifikasikan sebagai berikut:

**4.1 Diabetes melitus tipe 1.** *Insulin Dependent Diabetes Melitus (IDDM)* atau tipe 1 adalah sebuah penyakit inflamasi autoimun pada pankreas, sehingga menyebabkan kekurangan produksi insulin. Proses autoimun ini mengenai sel  $\beta$  pada pulau Langerhans. Munculnya gejala klinis membutuhkan destruksi yang sangat berat yaitu lebih dari 90% sel  $\beta$  yang rusak. Diabetes melitus tipe 1 dapat dibagi menjadi dua subtipe : autoimun, akibat disfungsi autoimun dengan kerusakan sel-sel  $\beta$ , dan idiopatik tanpa bukti adanya autoimun dan tidak diketahui sumbernya (Price & Wilson 2005).

Diabetes melitus tipe 1 merupakan bentuk diabetes parah yang berhubungan dengan terjadinya ketosis apabila tidak diobati. Keadaan tersebut merupakan suatu gangguan katabolisme yang disebabkan karena hampir tidak terdapat insulin dalam sirkulasi, glukagon plasma meningkat, dan sel-sel  $\beta$  pankreas gagal merespon semua stimulus insulinogenik. Pemberian insulin eksogen diperlukan untuk memperbaiki katabolisme, mencegah ketosis, dan menurunkan hiperglikemi, serta peningkatan kadar glukosa darah (Katzung 2002).

**4.2 Diabetes melitus tipe 2.** *Non Insulin Dependent Diabetes Melitus (NIDDM)* hiperglikemia yang disebabkan insensivitas seluler terhadap insulin disebut diabetes melitus tipe 2. DM tipe ini terjadi efek sekresi insulin ketidakmampuan pankreas untuk menghasilkan insulin yang cukup untuk mempertahankan glukosa plasma yang normal. Diabetes melitus tipe 2 tampaknya berkaitan dengan kegemukan. Kecenderungan pengaruh genetik yang menentukan kemungkinan individu mengidap penyakit ini cukup kuat. Meskipun obesitas merupakan risiko utama untuk diabetes melitus tipe 2, ada beberapa individu yang mengidap diabetes tipe 2 di usia muda dan individu yang kurus atau dengan berat badan normal (Corwin 2009).

Penderita DM tipe 2 mempunyai sirkulasi yang endogen cukup untuk mencegah terjadinya ketoasidosis tetapi insulin tersebut sering dalam kadar yang kurang normal atau kadar relatif tidak mencukupi karena kurang pekanya jaringan untuk memproduksi insulin, terjadi pula defisiensi respon sel  $\beta$  pankreas terhadap glukosa (Katzung 2002). Adanya resistensi insulin pemanfaatan glukosa oleh jaringan akan mengalami gangguan sedangkan produksi glukosa di hati akan

meningkat sehingga kelebihan glukosa menumpuk dalam sirkulasi. Hiperglikemik merangsang pankreas untuk memproduksi lebih banyak insulin dalam mengatasi resistensi insulin (Koda kimble *et al.* 2009)

Patogenesis dari DM tipe 2 sangat kompleks termasuk interaksi dari faktor genetik dan lingkungan. Latar belakang etnis, jenis kelamin, dan usia merupakan faktor penting dalam menentukan perkembangan resiko diabetes tipe ini (Buse *et al.* 2003).

**4.3 Diabetes melitus gestasional.** Diabetes melitus yang terjadi pada kehamilan toleransi terhadap glukosa secara normal berfluktuasi selama kehamilan. Sebagian besar perempuan dengan diabetes melitus gestasional memperlihatkan pemulihan kadar glukosa normal setelah persalinan (Sacher & Mc Pherson 2004) .

**4.4 Diabetes melitus tipe lain.** Diabetes melitus tipe lain merupakan diabetes melitus yang timbul akibat penyakit lain yang mengakibatkan gula darah meningkat misalnya infeksi berat, pemakaian obat kortikosteroid dan lain-lain. Dalam klasifikasi diabetes melitus ini individu mengalami hiperglikemia akibat kelainan spesifik seperti kelaian genetik fungsi sel  $\beta$  dan endokrinopati (Nabyl 2012).

## **5. Komplikasi**

Hiperglikemia yang terjadi dari waktu ke waktu dapat menyebabkan kerusakan ke berbagai sistem tubuh terutama syaraf dan pembuluh darah. Beberapa konsekuensi dari diabetes melitus yang sering terjadi, adalah meningkatnya resiko penyakit jantung dan stroke, neuropati (kerusakan syaraf) di kaki yang meningkatkan kejadian ulkus kaki, infeksi dan bahkan keharusan untuk amputasi kaki. Selain itu, juga dapat menyebabkan retinopati diabetikum, yang merupakan salah satu penyebab utama kebutaan, terjadi akibat kerusakan pembuluh darah kecil di retina. Diabetes juga merupakan salah satu penyebab utama gagal ginjal. Resiko kematian penderita diabetes secara umum adalah dua kali lipat dibandingkan bukan penderita diabetes. Dengan pengendalian diabetes yang baik, menjaga agar kadar gula darah berada dalam kategori normal, maka komplikasi dapat dicegah atau ditunda (Depkes 2014).

## 6. Diagnosa

Diagnosa DM harus didasarkan atas pemeriksaan kadar gula darah. Uji diagnostik DM dilakukan pada mereka yang menunjukkan gejala DM. Kepastian diagnostik diabetes melitus umumnya berdasarkan adanya gejala dan keluhan serta hasil pemeriksaan glukosa darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dl (dalam plasma) dan kadar gula darah puasa  $\geq 126$  mg/dl dan  $\geq 110$  mg/dl (darah kapiler) (Sudoyo *et al.* 2006).

Pemeriksaan yang dapat dilakukan untuk mendiagnosis diabetes melitus antara lain adalah pemeriksaan urin untuk mendeteksi adanya glukouria. Pemeriksaan darah yang meliputi glukosa darah puasa, glukosa darah sewaktu, tes toleransi glukosa oral (TTGO), glukosa darah kapiler dan tes glikohemoglobin (HbA1c) (Porth & Matfin 2009).

## 7. Terapi

**7.1 Perubahan gaya hidup.** Gaya hidup merupakan salah satu faktor penyebab timbulnya penyakit diabetes melitus. Sehingga untuk mengurangi resiko timbulnya diabetes maka dilakukan perubahan seperti :

**7.1.1 Mengatur pola makan.** Pada prinsipnya adalah mengatur pola makan dan melakukan modifikasi diet berdasarkan kebutuhan individual. Manfaat dari terapi gizi antara lain menurunkan berat badan, menurunkan tekanan darah sistolik dan diastolik, menurunkan kadar glukosa darah, memperbaiki sistem koagulasi darah (Sudoyo *et al.* 2006). Tujuan dari pengaturan pola makan yaitu untuk menjaga konsentrasi glukosa dalam rentang normal atau mendekati normal. Standar yang dianjurkan adalah makanan yang seimbang dalam hal karbohidrat, lemak, dan protein sesuai dengan kecukupan gizi baik yaitu karbohidrat 60-70%, protein 10-15%, dan lemak 20-25% (Soegondo 2005).

**7.1.2 Olahraga.** Berolahraga secara teratur dapat menurunkan dan menjaga kadar gula darah tetap normal. Prinsipnya, tidak perlu olahraga berat, olahraga ringan asal dilakukan secara teratur akan sangat bagus pengaruhnya bagi kesehatan. Olahraga yang disarankan adalah yang bersifat CRIPE (*Continuous, Rhythmical, Interval, Progressive, Endurance Training*). Sedapat mungkin mencapai zona sasaran 75-85% denyut nadi maksimal (220-umur), disesuaikan

dengan kemampuan dan kondisi penderita. Beberapa contoh olahraga yang disarankan antara lain, jalan pagi atau lari pagi, bersepeda, dan berenang. Olahraga akan memperbanyak jumlah dan meningkatkan aktivitas reseptor insulin dalam tubuh dan juga meningkatkan penggunaan glukosa.

**7.1.3 Berhenti merokok.** Kandungan nikotin dalam rokok dapat mempengaruhi penyerapan glukosa oleh sel. Merokok perlu sekali dihentikan agar pemburukan lebih lanjut dari arteriole terhambat (Tjay & Rahardja 2002).

**7.2 Insulin.** Mekanisme kerja insulin dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan menstimulasi pengambilan glukosa perifer dan menghambat produksi glukosa hepatic (Sukandar *et al.* 2008). Terapi insulin mutlak bagi penderita DM tipe 1 karena sel  $\beta$  Langerhans pankreas rusak, sehingga tidak lagi dapat memproduksi insulin. Sebagai penggantinya, maka penderita DM tipe 1 harus mendapat insulin untuk membantu agar metabolisme karbohidrat di dalam tubuh dapat berjalan normal. Insulin juga diberikan pada penderita DM tipe 2 yang kadar glukosa darahnya tidak dapat dikendalikan dengan diet dan antidiabetik oral. Pemberian insulin tidak dapat diberikan melalui oral karena dapat dipecah oleh enzim pencernaan (Suherman 2007).

## **8. Obat antidiabetes oral**

**8.1 Golongan sulfonilurea.** Efek utama sulfonilurea adalah meningkatkan pelepasan insulin dari pankreas. Obat golongan ini diberikan pada pasien yang sel  $\beta$  masih berfungsi atau diberikan pada pasien diabetes melitus tipe 2. Sulfonilurea dapat mengurangi glukosa darah dan meningkatkan pembentukan glikogen, lemak, dan protein (Katzung 2012).

Golongan sulfonilurea terdapat dua generasi, generasi I terdiri dari tolnutamid, tolazamid, asetoheximid dan klorpropamid. Generasi II yang berpotensi hipoglikemik lebih besar adalah gliburid (glibenklamid), glipizid, glikazid, dan glimepirid. Sulfonilurea dalam plasma sebagian besar (90-99%) berikatan dengan protein, terutama albumin. Semua senyawa sulfonilurea dimetabolisme oleh hati, dan metabolitnya diekskresi di dalam urin (Katzung 2010).

**8.2 Golongan biguanida.** Biguanida sangat sering diberikan pada pasien dengan hiperglikemia yang disebabkan oleh kerja insulin yang tidak efektif, seperti sindrom resistensi insulin. Mekanisme obat golongan biguanida meliputi penurunan glukoneogenesis di hati dan ginjal, perlambatan absorpsi glukosa dari saluran cerna dengan peningkatan konversi glukosa menjadi laktat oleh eritrosit, stimulasi langsung glikolisis di jaringan dengan peningkatan bersihan glukosa dari darah, dan penurunan kadar glukagon plasma (Katzung 2010). Efek primer obat ini adalah mengurangi produksi glukosa hati melalui pengaktifan enzim *AMP-activated protein kinase*. Contoh obat golongan ini adalah metformin (Katzung 2012).

**8.3 Golongan meglitinid.** Obat – obat ini memodulasi pelepasan insulin sel  $\beta$  dengan mengatur refleks kalium melalui saluran kalium. Golongan ini memiliki dua tempat pengikatan yang sama dengan sulfonilurea (Katzung 2012). Meglitinid mencetuskan pelepasan insulin dari pankreas segera sesudah makan. Golongan ini harus diminum tepat sebelum makan, karena reabsorpsinya cepat maka mencapai kadar puncak dalam 1 jam. Ekskresinya juga cepat, dalam waktu 1 jam sudah dikeluarkan dari tubuh. Golongan meglitinid dapat dikombinasikan dengan metformin digunakan dalam pengobatan DM tipe 2 sebagai tambahan terhadap diet dan olahraga untuk penderita yang hiperglikemiknya tidak dapat dikontrol secara memuaskan dengan cara-cara tersebut. Contoh obat dalam golongan ini adalah repaglinid dan nateglinid (Tjay & Rahardja 2002).

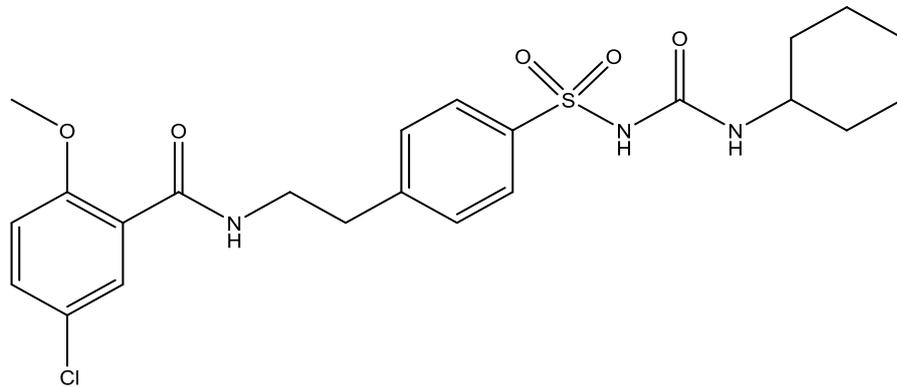
**8.4 Golongan inhibitor alfa glukosidase.** Inhibitor  $\alpha$ - glukosidase menurunkan absorpsi pati, dekstrin, dan disakarida di usus dengan cara menghambat kerja  $\alpha$ - glukosidase pada mikrofil usus. Penghambatan enzim ini memperlambat absorpsi karbohidrat, peningkatan glukosa plasma setelah makan tidak terjadi pada subyek normal dan diabetes, contoh obatnya adalah akarbose (Goodman & Gilman 2007).

**8.5 Golongan thiazolidinedione.** Thiazolidinedione merupakan suatu golongan obat antidiabetes oral yang dapat meningkatkan sensitivitas insulin terhadap jaringan sasaran. Kerja utama senyawa ini adalah mengurangi resistensi insulin dengan meningkatkan pengambilan glukosa dan metabolisme dalam otot

dan jaringan lemak. Obat ini tidak dianjurkan pada pasien dengan penyakit hati akut. Efek tidak diinginkan antara lain edema, dan pada penggunaan dalam kombinasi dengan insulin atau sulfonilurea dapat terjadi hiperglikemia (Katzung 2010). Obat yang termasuk dalam golongan ini adalah pioglitazon, rosiglitazon, dan troglitazon (Tjay & Rahardja 2002).

### E. Glibenklamid

Glibenklamid adalah obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea untuk mengobati DM tipe 2 dan mempunyai struktur kimia menurut Depkes 2014 dapat terlihat pada Gambar 1



Gambar 1. Struktur glibenklamid (Depkes 2014)

#### 1. Kelarutan

Kelarutan glibenklamid adalah praktis tidak larut dalam air dan dalam eter, sukar larut dalam etanol dan dalam metanol, larut sebagian dalam kloroform (Depkes 1995).

#### 2. Indikasi dan kontraindikasi

Glibenklamid merupakan salah satu golongan sulfonilurea, pada obat ini sedapat mungkin dihindari pada gangguan fungsi hati, gagal ginjal dan porifiria. Sebaiknya tidak digunakan pada ibu menyusui selama kehamilan sehingga diganti dengan terapi insulin, dikontraindikasikan jika terjadi ketoasidosis (BPOM 2008).

#### 3. Farmakokinetik

Reabsorpsi glibenklamid di usus praktis lengkap, glibenklamid terikat oleh protein plasma di atas 99% dan  $t_{1/2}$  mencapai 10 jam, kerjanya dapat bertahan

sampai 24 jam. Zat ini akan dirombak dalam hati menjadi metabolit kurang aktif yang diekskresikan lewat kemih dan tinja (Tjay & Rahardja 2002).

#### **4. Mekanisme kerja**

Merangsang sekresi hormon insulin pada sel  $\beta$  pankreas. Interaksi dengan ATP-sensitive K channel pada sel  $\beta$  menyebabkan depolarisasi membran sehingga kanal Ca akan terbuka. Terbukanya kanal Ca menyebabkan ion  $Ca^{2+}$  masuk ke dalam sel  $\beta$  yang kemudian merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin (Suherman 2007). Glibenklamid dimetabolisme dalam hati menjadi produk yang memiliki aktivitas rendah, hanya 25% metabolit diekskresi dan sisanya diekskresi melalui empedu dan tinja (Handoko & Suharto 2003).

#### **5. Efek samping**

Efek samping dari glibenklamid antara lain gejala saluran cerna berupa mual, diare, hipersekresi asam lambung, dan efek samping di daerah jantung, gejala di susunan saraf pusat berupa vertigo, bingung, ataksia, gejala hematologi berupa leukopenia dan agranulositosis, gejala hipertiroidisme dan gejala ikhterus obstruktif. Hipoglikemia dapat terjadi bila dosis tidak tepat, tidak cukup makan dan terjadi gangguan hati atau ginjal (Sukandar *et al.* 2008).

#### **6. Interaksi obat**

Glibenklamid meningkat seiring dengan pemberian insulin, alkohol, fenformin, fenilbutazon, kloramfenikol, guanetidin, fenfluramin, dan klofibrat. Glibenklamid mengurangi efek hipoglikemik dengan menginduksi aktivitas enzim mikrosomal hati misalnya rifampisin, barbiturat atau obat yang menghambat pelepasan atau aktivasi insulin misalnya diuretik tiazid, diazoksid, glukokortikoid, estrogen atau amin simpatomimetik (Hardjasaputra *et al.* 2002).

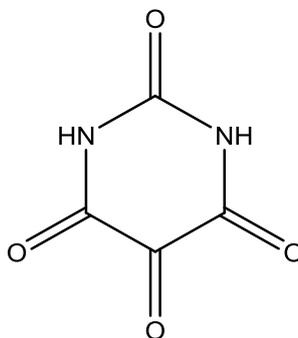
#### **7. Dosis dan aturan pakai**

Dosis awal yang biasa diberikan adalah 2,5 mg per hari atau lebih kecil. Dosis pemeliharaan rata-rata 5-10 mg per hari, yang diberikan pada dosis tunggal di pagi hari. Dosis pemeliharaan yang lebih tinggi dari 20 mg per hari tidak dianjurkan (Katzung 2010).

## F. Aloksan

### 1. Pengertian dan sifat kimia

Aloksan adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana yang mempunyai struktur kimia seperti yang terlihat pada Gambar 2. Aloksan diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer. Nama aloksan diperoleh dari penggabungan kata allantoin dan oksalurea (asam oksalurik). Nama lain dari aloksan adalah 2,4,5,6-tetraoxypirimidin; 2,4,5,6-primidinetetron; 1,3-diazinan-2,4,5,6-tetron (IUPAC) dan asam mesoxalylurea 5-oxobarbiturat. Rumus kimia aloksan adalah  $C_4H_2N_2O_4$ . Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat. Aloksan adalah senyawa kimia tidak stabil dan senyawa hidrofilik (Yuriska 2009).



Gambar 2. Struktur aloksan (Nugroho 2006)

Waktu paruh aloksan pada pH 7,4 dan suhu 37°C adalah 1,5 menit dan bisa lebih lama pada suhu yang lebih rendah. Sebagai diabetogenik, aloksan dapat digunakan secara intravena, intraperitoneal, dan subkutan. Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kg BB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Nugroho 2006).

Aloksan menimbulkan kondisi diabetik eksperimental pada hewan uji dengan cepat yaitu 24-28 jam setelah injeksi aloksan subkutan. Tiga fase yang timbul setelah injeksi aloksan adalah fase I (hiperglikemia) terjadi setelah 2-4 jam setelah injeksi aloksan, fase II (hiperglikemia) selama kurang lebih 6 jam yang mungkin disebabkan pelepasan insulin karena kerusakan sel  $\beta$ , disusul fase III (hiperglikemia permanen) pada saat sel  $\beta$  mengalami degenerasi sehingga kandungan insulin menurun ke level sangat rendah (Bondy & Rosenberg 1980).

## 2. Pengaruh aloksan terhadap kerusakan sel $\beta$ pankreas

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan. Tingginya konsentrasi aloksan tidak mempunyai pengaruh pada jaringan percobaan lainnya (Yuriska 2009).

Mekanisme kerja aloksan secara *in vitro* menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pemasukan ion kalsium ke dalam mitokondria sel  $\beta$  pankreas yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Penghambatan keluarnya ion kalsium dari mitokondria menyebabkan masuknya ion Ca dan penghambatan eliminasi Ca dari sitoplasma sel  $\beta$  sehingga mengakibatkan gangguan homeostasis dan depolarisasi berlebih yang merupakan awal dari matinya sel (Szkudelski 2001).

Efek diabetogenik aloksan bersifat antagonis terhadap glutathion yang bereaksi dengan gugus SH. Aloksan secara cepat dapat mencapai pankreas, aksinya diawali oleh pengambilan yang cepat oleh sel  $\beta$  pankreas. Aloksan bereaksi dengan merusak substansi esensial di dalam sel  $\beta$  pankreas sehingga menyebabkan berkurangnya granula-granula pembawa insulin di dalam sel  $\beta$  pankreas. Aloksan meningkatkan pelepasan insulin dan protein dari sel  $\beta$  pankreas tetapi tidak berpengaruh pada sekresi glukagon. Efek ini spesifik untuk sel  $\beta$  pankreas sehingga aloksan dengan konsentrasi tinggi tidak berpengaruh terhadap jaringan lain. Aloksan mungkin mendesak efek diabetogenik oleh kerusakan membran sel pankreas dengan meningkatkan permeabilitas. Aloksan dan produk reduksinya, asam dialurik, membentuk siklus redoks dengan formasi radikal superoksida. Radikal ini mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida. Radikal hidroksil dengan kereaktifan yang tinggi dibentuk oleh reaksi fenton. Aksi radikal bebas dengan rangsangan tinggi meningkatkan konsentrasi kalsium sitosol yang menyebabkan destruksi sel  $\beta$  secara cepat (Nugroho 2006).

Aloksan di dalam tubuh mengalami metabolisme oksidasi reduksi menghasilkan radikal bebas dan radikal aloksan. Radikal ini mengakibatkan

kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas. Pada pulau Langerhans terlihat pengurangan jumlah massa sel, beberapa pulau Langerhans mengalami kerusakan, dimana ukuran menjadi lebih kecil bahkan ada yang hancur dan menghilang. Akibat kerusakan sel  $\beta$ , sel  $\beta$  tersebut tidak mampu menghasilkan insulin sehingga terjadi penyakit diabetes yang dikarakterisasi dengan keadaan hiperglikemia (Szkudelski 2001).

### **G. Metode Uji Induksi Aloksan**

Metode ini dilakukan dengan memberikan diabetogen yang dapat menyebabkan pankreas hewan uji rusak sehingga terkondisi seperti pada penderita diabetes melitus. Diabetogenik yang banyak digunakan adalah aloksan monohidrat karena obat tersebut cepat menimbulkan hiperglikemi yang permanen dalam waktu dua sampai tiga hari (Anonim 1993). Penyuntikan dilakukan secara intravena dan perkembangan hiperglikemia diperiksa setiap hari. Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kg BB sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Nugroho 2006).

### **H. Metode GOD-PAP**

Metode GOD-PAP yaitu reaksi kolorimetrik-enzimetik untuk pengukuran pada daerah cahaya yang terlihat oleh mata. Prinsip dari metode ini adalah glucose oxidase (GOD) mengkatalisa oksidasi dari glucose menurut persamaan berikut :  

$$\text{Glukosa} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{GOD}} \text{asam glukonat} + \text{H}_2\text{O}_2$$
 (2) Hidrogen peroksida yang terbentuk bereaksi dengan 4-aminoantipyrin dan 2,4-dichlorohenol dengan adanya peroxidase (POD) dan menghasilkan antipirylquinonimine, yaitu suatu zat warna merah. Jumlah zat warna yang terbentuk ini sebanding dengan konsentrasi glukosa (Merck 1987).

## **I. Hewan Uji**

### **1. Sitematika hewan**

Sistematika tikus menurut Sugiyanto (1995) adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Sub Kelas	: Placentalia
Bangsa	: Rodentia
Suku	: Muridae
Marga	: Rattus
Jenis	: <i>Rattus norvegicus</i>

## **2. Karakteristik tikus putih**

Pada umumnya tikus putih relative resiten terhadap infeksi, cerdas, tenang, dan mudah ditangani, tidak bersifat fotopobik seperti halnya mencit dan kecenderungan berkumpul dengan sesamanya tidak begitu besar. Tidak terlalu terganggu dengan adanya manusia relative jinak akan tetapi dapat menjadi agresif saat tidak merasa nyaman atau saat diperlakukan kasar atau mengalami defisiensi nutrisi. Hewan ini harus diperlakukan dengan halus namun sigap dan makanannya harus dijaga agar tetap terpenuhi kebutuhannya (Sugiyanto 1995).

Suhu tubuh normal tikus adalah  $37,5^{\circ}\text{C}$  (Sugiyanto 1995). Tikus lebih besar daripada mencit, maka untuk beberapa percobaan tikus lebih menguntungkan. Tikus jantan jarang berkelahi seperti mencit jantan. Keuntungan tikus yaitu tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim yaitu di tempat esophagus bermuara ke dalam lambung dan tikus tidak memiliki kantung empedu. Keuntungan lain, tikus merupakan binatang menyusui, banyak gen tikus yang relatif mirip dengan manusia, kemampuan berkembang biak tikus sangat tinggi, cocok digunakan dalam eksperimen (Smith & Mangoewidjojo 1988).

## **3. Jenis kelamin**

Tikus berjenis kelamin jantan kecepatan metabolisme obat lebih cepat dibandingkan dengan tikus betina. Kondisi biologis tubuh tikus jantan juga lebih stabil dari tikus betina yang secara berkala dalam tubuhnya mengalami perubahan kondisi seperti masa kehamilan, menyusui dan menstruasi (Sugiyanto 1995).

## **4. Pemberian secara oral**

Pemberian obat secara oral pada tikus dilakukan menggunakan jarum suntik oral (berujung tumpul) yang dimasukkan perlahan-lahan kedalam mulut melalui tepi langit-langit kebelakang sampai esophagus (Sugiyanto 1995).

## **5. Pengambilan darah hewan percobaan**

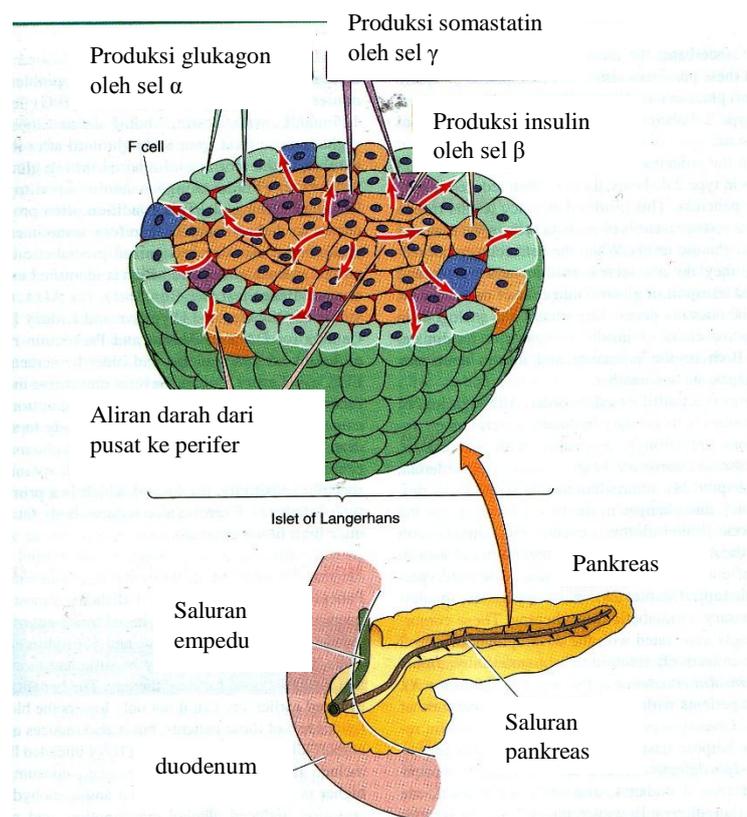
Pengambilan darah dengan volume yang sedikit dapat dilakukan dengan memotong ujung ekor, namun cara ini kurang tepat untuk pengambilan berulang. Cara lain adalah dengan mengambilnya dari vena lateralis ekor dengan menggunakan jarum intradermal yang sangat kecil. Pengambilan darah dengan volume yang cukup banyak dilakukan melalui sinus orbitalis darah diambil dari medical canthus sinus orbitalis dan yang penting posisi tabung kapiler harus betul-betul tepat. Cara dekapitasi sering dipakai pada tikus namun kurang estetik (Smith & Mangkoewidjojo 1988).

## **J. Pankreas**

### **1. Struktur dan anatomi pankreas**

Pankreas merupakan organ retroperitoneal yang terletak di bagian posterior dari dinding lambung. Letaknya di antara duodenum dan limfa, di depan aorta abdominalis dan arteri serta vena mesenterica superior. Organ ini konsistensinya padat, panjangnya  $\pm 11,5$  cm, beratnya  $\pm 150$  gram. Pankreas terdiri bagian kepala atau caput yang terletak di sebelah kanan, diikuti corpus di tengah, dan cauda di sebelah kiri. Ada sebagian kecil dari pankreas yang berada di bagian belakang Arteri Mesenterica Superior yang disebut dengan Processus Uncinatus (Simbar 2007).

Jaringan penyusun pankreas (Guyton & Hall 2006) terdiri dari jaringan eksokrin dan jaringan endokrin. Jaringan eksokrin, berupa sel sekretorik yang berbentuk seperti anggur yang disebut sebagai asinus atau *Pancreatic acini*, yang merupakan jaringan yang menghasilkan enzim pencernaan ke dalam duodenum. Jaringan endokrin yang terdiri dari pulau-pulau Langerhan atau *Islet of Langerhans* yang tersebar (Gambar 3) yang tersebar di seluruh jaringan pankreas, yang menghasilkan insulin dan glukagon ke dalam darah.



**Gambar 3. Asinus dan Pulau Langerhans (Lilley *et al.* fifth edition )**

Pulau – pulau Langerhans tersebut terdiri dari beberapa sel (Mescher 2010), yaitu sel  $\alpha$  (sekitar 20%), menghasilkan hormon glukagon. Sel  $\beta$  (dengan jumlah paling banyak 70%), menghasilkan hormon insulin. Sel  $\gamma$  (sekitar 5-10%), menghasilkan hormon Somatostatin. Sel F atau PP (paling jarang), menghasilkan polipeptida pankreas (Sherwood 2012).

## 2. Kerusakan pankreas

Pada hewan percobaan yang diinduksi aloksan, akan terjadi pembentukan radikal bebas dan radikal aloksan melalui metabolisme oksidasi reduksi. Radikal ini mengakibatkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas (Suarsana *et al.* 2010).

Lesi di pankreas tidak konstan dan jarang bernilai diagnostik. Perubahan khas lebih sering berkaitan dengan diabetes tipe 1 daripada tipe 2. Mungkin ditemukan satu atau lebih perubahan berikut:

**2.1 Berkurangnya jumlah dan ukuran islet.** Paling sering ditemukan pada diabetes tipe 1, terutama pada penyakit yang berkembang cepat. Sebagian

besar islet tampak kecil, tidak menonjol dan sulit ditemukan. Pada diabetes tipe 2, kerusakan sel  $\beta$  terjadi belakangan dan biasanya tidak lebih dari 20-50%

**2.2 Degranulasi sel  $\beta$  yang sudah rusak.** Hal ini lebih sering ditemukan pada pasien dengan diabetes tipe 1A yang baru didiagnosis, saat masih terdapat beberapa sel  $\beta$ .

**2.3 Peningkatan jumlah dan ukuran islet.** Merupakan gambaran khas pada neonatus nondiabetes yang lahir dari ibu diabetes. Diperkirakan sel islet janin mengalami hiperplasia sebagai respons terhadap hiperglikemia ibu (Kumar 2007).

## **K. Histopatologi Organ Pankreas**

### **1. Pengertian histopatologi**

Histopatologi merupakan studi tentang manifestasi struktur penyakit di bawah cahaya mikroskop. Pada histopatologi, dapat dibedakan histopatologi jaringan normal, variasi proses penyakit, dan perubahan-perubahan yang mungkin timbul sebagai hasil dari penelitian jaringan penyakit yang dilakukan (Chrissman *et al.* 2004)

Pemeriksaan histopatologi bertujuan untuk mengetahui perubahan-perubahan yang terjadi pada pankreas tikus yang mengalami hiperglikemi akibat induksi aloksan (Rahayu *et al.* 2006).

### **2. Histopatologi pankreas**

Kerusakan pankreas yang terjadi akibat diabetes melitus dapat dilihat pada perubahan morfologi pulau Langerhans, baik diameter, jumlah pulau, jumlah sel endokrin dan presentase nekrosis sel yang terjadi.

**1.1 Diameter pulau Langerhans.** Hewan percobaan DM akan mengalami penurunan ukuran diameter pulau Langerhans, hal ini karena terjadi penurunan massa sel  $\beta$  pankreas. Penurunan massa sel  $\beta$  pankreas dapat disebabkan oleh kematian sel akibat efek toksik glukosa darah yang berlebihan dalam waktu yang lama (Cnop *et al.* 2005). Kisaran diameter pulau Langerhans pankreas adalah 100-400  $\mu\text{m}$  (Ridwan 2012).

**1.2 Nekrosis.** Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang fatal ditandai oleh kerusakan struktur dan fungsi sel secara menyeluruh yang diikuti dengan lisisnya sel dan peradangan jaringan sehingga terdapat ruang-ruang kosong pada pulau Langerhans disebabkan karena nekrosis sel  $\beta$  (Nurdiana 1998). Sel yang mengalami nekrosis dapat dilihat dari perubahan inti selnya yaitu adanya piknosis. Perubahan inti piknotik dengan ciri yang dapat diamati adalah inti sel yang mati menyusut, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap (Price & Wilson 1992). Jenis kerusakan lain yaitu karioreksis atau pecahnya inti sel. Sedangkan kariolisis merupakan keadaan dimana inti sel telah mati, sehingga terlihat lebih pucat dan tidak nyata (Rohmatin *et al.* 2015).

### **3. Metode pembuatan preparat histopatologi**

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

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

### **L. Landasan Teori**

Diabetes melitus (DM) adalah gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas insulin, atau keduanya yang menyebabkan komplikasi

kronis mikrovaskuler, makrovaskuler, dan neuropati (Sukandar *et al.* 2013). Diabetes melitus merupakan sindroma klinik yang ditandai oleh poliuri (meningkatnya buang air kecil), polidipsi (meningkatnya rasa haus), dan polifagi (meningkatnya rasa lapar), disertai peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemia (glukosa puasa  $\geq 126$  mg/dl atau postprandial  $\geq 200$  mg/dl atau glukosa sewaktu  $\geq 200$  mg/dl) (Gunawan & Sulistia 2007).

Pada penderita diabetes melitus terjadi perubahan histopatologi pulau Langerhans yang disebabkan oleh kondisi hiperglikemia pada penderita diabetes melitus. Hal tersebut terjadi karena hiperglikemia memicu pembentukan *reactive oxygen spesific* yang dapat menyebabkan stress oksidatif dan mempengaruhi pankreas. Gambaran histopatologi pankreas pada kelompok diabetes, kondisi islet Langerhans mengalami kerusakan yang ditandai dari adanya ruang-ruang kosong di bagian tengah pulau Langerhans karena terjadinya nekrosis dan degenerasi sel-sel endokrin pulau Langerhans. Sedangkan pada kelompok normal kondisi pulau Langerhans sel pankreas dalam keadaan relatif baik yang ditandai pada kondisi islet Langerhans yang relatif rapat (Prameswari & Widjanarko 2014).

Salah satu tanaman hias yang dapat dijadikan sebagai obat untuk penyakit diabetes melitus adalah daun pucuk merah. Daun pucuk merah diketahui memiliki kandungan beberapa senyawa seperti flavonoid, kalkon, dan terpenoid (Aisha *et al.* 2013), alkaloid, saponin, triterpenoid, steroid, dan fenolik (Juwita *et al.* 2017), minyak atsiri (Sembiring *et al.* 2015). Buah tanaman pucuk merah mengandung antosianin (Santoni *et al.* 2013).

Sundhani *et al.* (2016) menyebutkan bahwa ekstrak etanol daun pucuk merah pada tikus putih jantan dengan metode toleransi glukosa pada dosis 300 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah setara dengan efek yang ditimbulkan glibenklamid dengan dosis 0,6 mg/kg BB. Selain itu pada ekstrak n-heksan daun pucuk merah dosis 100 mg/kg BB memberikan efek penurunan kadar glukosa darah pada mencit putih jantan yang diinduksi aloksan (Hasti *et al.* 2016).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dengan pelarut etanol 96% yaitu dengan cara merendam serbuk dalam etanol 96% selama 5 hari. Penyarian dengan menggunakan metode ini dapat menarik zat aktif

dari tanaman pucuk merah yang diduga dapat meningkatkan efek dalam menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki pankreas yang dilihat dari diameter pulau Langerhans dan luas area kerusakan pulau Langerhans.

Hewan uji yang digunakan adalah tikus. Tikus yang digunakan yaitu berjenis kelamin jantan kecepatan metabolisme obat lebih cepat dibandingkan dengan tikus betina. Kondisi biologis tubuh tikus jantan juga lebih stabil dari tikus betina yang secara berkala dalam tubuhnya mengalami perubahan kondisi seperti masa kehamilan, menyusui dan menstruasi (Sugiyanto 1995). Tikus ini sangat cocok untuk dilakukan penelitian karena tikus bersifat responsif sehingga dapat menghasilkan data yang baik.

Pengujian aktivitas antidiabetes dilakukan secara *in vivo*. Kemudian dilakukan histopatologi organ pankreas. Pengujian antidiabetes secara *in vivo* dilakukan dengan melihat status kadar glukosa darah dengan metode GOD-PAP pada tikus yang diinduksi oleh aloksan. Untuk mengetahui perubahan histopatologi pulau Langerhans berupa piknotik, karioreksis, dan kariolisis pewarnaan menggunakan hematoxylin eosin (HE). Pengamatan jaringan pankreas dengan pewarnaan HE hanya dapat mengamati morfologi secara umum jaringan pankreas meliputi keadaan sel-sel pada pulau Langerhans.

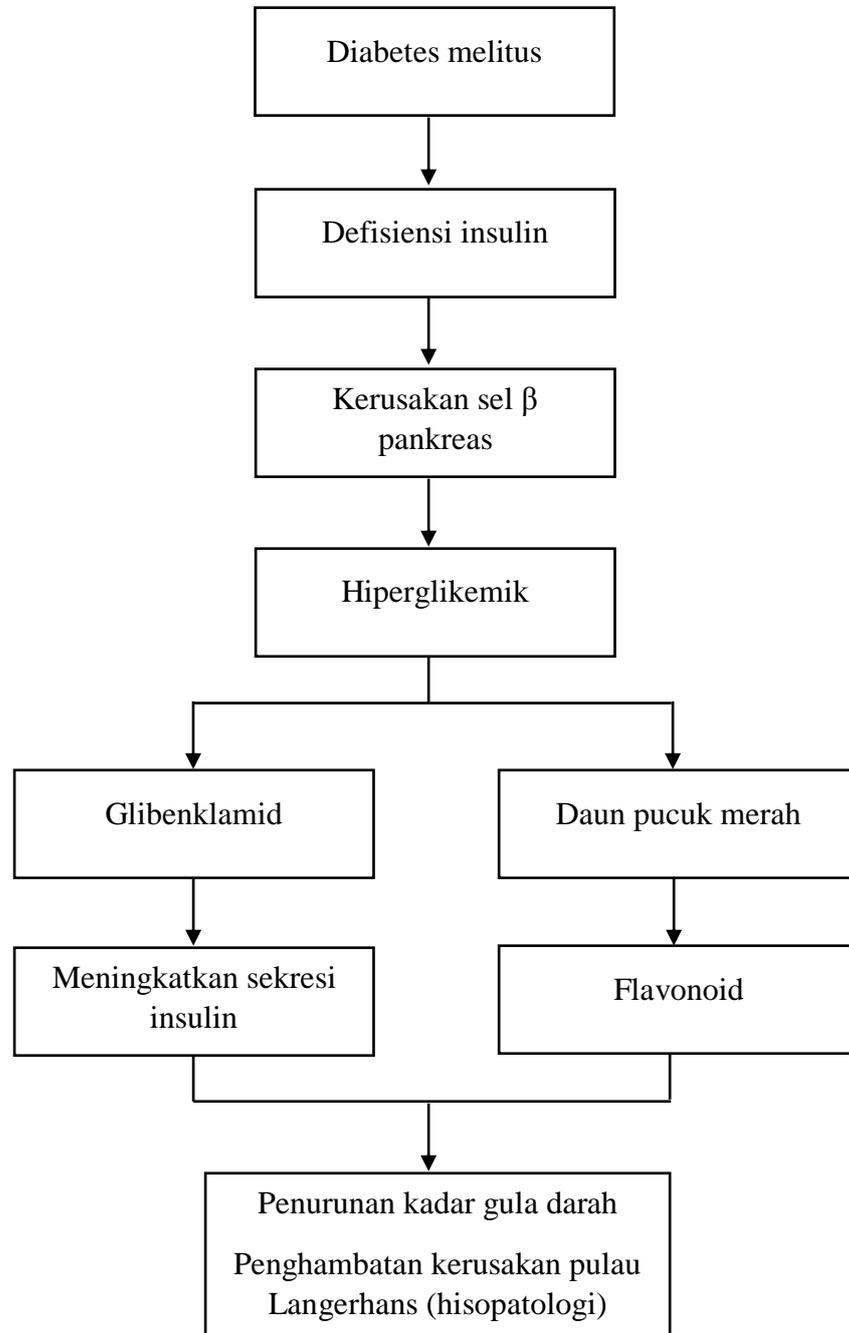
### **M. Hipotesis**

Dari tinjauan pustaka dapat diambil kesimpulan untuk menyusun hipotesis dalam melaksanakan penelitian ini adalah sebagai berikut :

Pertama, ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan.

Kedua, ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) 300 mg/ kg bb merupakan dosis yang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi aloksan.

Ketiga, ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dapat menghambat kerusakan pulau Langerhans pada organ pankreas tikus yang diinduksi aloksan ditinjau dari piknosis, karioreksis, kariolisis.

**N. Kerangka Pikir**

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

##### **1. Populasi**

Populasi pada penelitian ini adalah daun dari tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) yang tumbuh dari Desa Padan, Kelurahan Kauman, Kecamatan Polanharjo, Klaten, Jawa Tengah, pada bulan Desember tahun 2017.

##### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) secara acak, berwarna hijau, tidak rusak, bersih, segar, tidak busuk.

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

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

Variabel utama pada penelitian ini adalah aktivitas ekstrak etanol daun pucuk merah terhadap kadar glukosa dan histopatologi pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan monohidrat.

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

Variabel utama memuat identifikasi semua variabel yang diteliti langsung. Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan ke dalam berbagai variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung dan variabel terkontrol.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah dosis ekstrak etanol 96% daun pucuk merah.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar glukosa darah dan histopatologi pankreas pada tikus setelah pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah dengan dosis yang berbeda-beda. Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama, variabel tergantung dalam penelitian ini adalah selisih

penurunan kadar glukosa darah pada hewan uji sesudah dan sebelum diberi perlakuan serta histopatologi pankreas.

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralkan atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah metode ekstraksi daun pucuk merah, kondisi fisik hewan uji meliputi berat badan tikus, galur, jenis kelamin, kondisi percobaan, laboratorium, zat penginduksi, dan peneliti.

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

Pertama, daun pucuk merah adalah seluruh daun pada tanaman pucuk merah yang segar, berwarna hijau, tidak rusak, bersih, segar, dan tidak busuk yang diperoleh dari Desa Padan, Kelurahan Kauman, Kecamatan Polanharjo, Klaten, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk adalah simplisia daun pucuk merah yang dihaluskan dengan penggilingan dan diayak dengan pengayak ukuran mesh 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun pucuk merah adalah cairan hasil dari penarikan sari dari daun pucuk merah dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, kemudian diuapkan dengan evaporator untuk mendapatkan ekstrak kental.

Keempat, hewan uji yang dipakai adalah tikus jantan galur wistar dengan berat badan 150-200 g dan berumur 2-3 bulan.

Kelima, glibenklamid adalah tablet dengan zat aktif glibenklamid .

Keenam, aloksan adalah bahan yang diberikan secara intra peritoneal untuk merusak sel  $\beta$  pankreas pulau Langerhans yang fungsinya menghasilkan insulin sehingga terjadi diabetes.

Ketujuh, kadar glukosa darah adalah kadar glukosa darah yang diambil melalui sinus orbitalis tikus jantan dan ditetapkan dengan metode GOD-PAP menggunakan spektrofotometer.

Kedelapan, perubahan kadar glukosa darah adalah kadar gula darah yang diukur pada T0 kemudian terjadi peningkatan pada T1, dan terjadi penurunan pada T7 dan T14 .

Kesembilan, kondisi histopatologi adalah kerusakan piknosis, karioreksis, kariolisis sel endokrin pulau Langerhans.

Kesepuluh, piknosis adalah kerusakan inti sel yang mengalami penyusutan, lebih padat, batasnya tidak teratur dan berwarna gelap pada organ pankreas setelah diinduksi aloksan.

Kesebelas, karioreksis adalah kerusakan inti sel yang mengalami kehancuran, robek, dan tersebar kromatin dalam sel pada organ pankreas setelah diinduksi aloksan.

Keduabelas, kariolisis adalah kematian inti sel dan berwarna pucat pada sel organ pankreas setelah diinduksi aloksan.

### **C. Bahan dan Alat**

#### **1. Bahan**

**1.1. Bahan sampel.** Bahan sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pucuk merah yang diperoleh dari daerah Klaten, Jawa Tengah.

**1.2. Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol 96% sebagai larutan penyari. Uji farmakologi digunakan aloksan monohidrat, tablet glibenklamid, reagen GOD FS, CMC Na 0,5%, larutan fisiologis (NaCl 0,9%), aquades. Uji identifikasi senyawa tanaman yaitu alkohol 70%, anhidrida asam asetat, kloroform, asam sulfat, HCl 2N, metanol 50%, serbuk magnesium, amil alkohol, *xylena*, asam klorida pekat, besi (III) klorida, reagen meyer, reagen dragendroff, reagen libermann burchard, dan aquades. Pengamatan histopatologi adalah formalin PA, larutan warna Haematoxylin Eosin, formaldehid, etanol, xylen, parafin, dan alkohol.

#### **2. Alat**

Alat untuk membuat simplisia yaitu pisau untuk merajang, oven dengan suhu rendah dan konstan, mesin penggiling dan ayakan no. 40. Alat penyari yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi, evaporator, bejana maserasi, kain flannel, neraca elektrik, pipet, alat gelas, sterling bidwell, moisture balance (Ohaus-MB 23). Alat untuk perlakuan hewan uji adalah timbangan elektrik (Ohaus-PA 214), jarum oral, spuit injeksi insulin 1.0 ml merck, pipa kapiler, alat gelas, dan

kandang tikus. Alat untuk preparat histopatologi adalah rangkaian alat bedah, mikrotom putar (*rotatory microtome*) leica RM2245, tissue kaset, object glass dan deck glass, mikroskop cahaya leica DM500.

### **3. Hewan percobaan**

Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih galur wistar kelamin jantan, umur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 150-200 g sebanyak 30 ekor. Pengelompokan dilakukan secara acak masing-masing 5 ekor per kelompok. Semua tikus dipelihara dengan cara yang sama, mendapat diet yang sama, ukuran kandang yang sesuai dengan temperature  $30\pm 10^{\circ}\text{C}$ .

Penerangan diatur dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap. Selama penelitian kebutuhan makanan dan minuman harus selalu terkontrol agar mencegah kematian tikus terutama saat diinduksi aloksan untuk membuat tikus diabetes.

## **D. Jalanya Penelitian**

### **1. Determinasi tanaman pucuk merah**

Tahap pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman untuk menetapkan kebenaran sampel tanaman berkaitan dengan ciri-ciri mikroskopis dan makroskopis, serta ciri-ciri morfologis yang ada pada tanaman terhadap pustaka yang dilakukan di laboratorium biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jawa Tengah.

### **2. Pembuatan serbuk daun pucuk merah**

Pengumpulan sampel daun pucuk merah dilakukan pada daun yang berwarna hijau di daerah Klaten, Jawa Tengah. Daun pucuk merah kemudian dicuci dengan air untuk membersihkan kotoran dan debu yang menempel pada daun lalu ditiriskan dan dikeringkan dengan oven.

Daun pucuk merah yang sudah dicuci dengan air untuk membersihkan kotoran atau bahan asing yang menempel pada daun. Pengeringan dilakukan dengan cara di oven pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$  hingga kering yang bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam

waktu yang lama (Voight 1994). Setelah itu dibuat serbuk diayak dengan ayakan nomor mesh 40, kemudian dilakukan perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah.

### **3. Pembuatan ekstrak etanolik daun pucuk merah**

Ekstraksi serbuk daun pucuk merah dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk daun pucuk merah sebanyak 700 g dimasukkan dalam botol coklat kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 5,25 L ditutup dan direndam selama 5 hari dengan pengocokan berulang-ulang. Setelah 5 hari maserat disaring dan diperas dengan menggunakan kain flanel. Residu dibilas etanol 96% secukupnya kemudian diaduk dan disertai dengan penggojokan selama 2 hari sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 10 bagian. Sari yang diperoleh dipisahkan dengan evaporator dengan suhu 40<sup>0</sup> C sampai didapat ekstrak kental. (Depkes 1986).

### **4. Penetapan susut pengeringan**

Penetapan susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun pucuk merah menggunakan alat *moisture balance*. Suhu atau temperatur diatur yaitu sebesar 105<sup>0</sup>C dan waktu pengeringan secara manual hingga kering. Serbuk daun pucuk merah dimasukkan sebanyak 2 g pada neraca timbang. Ditunggu sampai alat berbunyi, menandakan hasil analisa telah selesai. Susut pengeringan memenuhi syarat dimana kadar air tidak boleh lebih dari 10%.

### **5. Penetapan kadar air**

Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun pucuk merah dilakukan dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Caranya dengan menimbang serbuk daun pucuk merah sebanyak 20 gram dimasukkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, tahap selanjutnya dipanaskan. Cairan pembawa yang digunakan adalah *xylena* karena *xylena* memiliki titik didih lebih tinggi dari pada air dan tidak bercampur dengan air sehingga memudahkan dalam penetapan kadar air. Pemanasan dihentikan bila air pada penampung tidak menetes lagi (kurang lebih 1

jam), kemudian diukur kadar airnya dengan melihat volume pada skala alat tersebut dan dihitung % air dari berat sampel (Sudarmadji *et al.* 1997)

## **6. Penetapan bobot jenis ekstrak**

Penetapan bobot jenis ekstrak dilakukan terhadap ekstrak 1% dalam etanol dengan menggunakan alat *piknometer*. Caranya yaitu *piknometer* yang bersih, kering ditimbang dalam keadaan kosong. Selanjutnya *piknometer* diisi penuh dengan air dengan suhu 20<sup>0</sup>C, atur suhu *piknometer* yang telah diisi hingga suhu 25<sup>0</sup>C dan ditimbang, sehingga kerapatan air dapat ditetapkan. Dengan cara yang sama, *piknometer* dikosongkan dan diisi penuh dengan ekstrak dengan suhu 20<sup>0</sup>C, atur suhu *piknometer* yang telah diisi hingga suhu 25<sup>0</sup>C ditimbang. Bobot jenis suatu zat adalah hasil yang diperoleh dengan membagi bobot zat dengan bobot air, dalam *piknometer* (Depkes 1995).

## **7. Identifikasi senyawa kimia serbuk dan ekstrak berdasarkan reaksi warna.**

**7.1 Identifikasi flavonoid.** Serbuk dan ekstrak daun pucuk merah , ditambahkan 5 ml aquades selama satu menit. Kemudian ke dalam larutan dimasukkan 0,1 gram serbuk magnesium dan ditambahkan 2 ml larutan alkohol 70% : asam klorida pekat (1:1) dan pelarut amil alkohol. Campuran ini digojog kuat kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditandai dengan adanya warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Adawiah 2016).

**7.2 Identifikasi tanin.** Serbuk dan ekstrak daun pucuk merah ditambahkan 10 ml air panas, kemudian dipanaskan selama 15 menit dan disaring. Filtrat yang diperoleh disebut larutan B. Sebanyak 5 ml larutan B ditambah FeCl<sub>3</sub> 1%. Reaksi positif jika terbentuknya warna biru atau hitam kehijauan (Adawiah 2016).

**7.3 Identifikasi saponin.** Serbuk dan ekstrak daun pucuk merah dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan air panas sama banyak, didinginkan, lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Adawiah 2016).

**7.4 Identifikasi steroid/terpenoid.** Sebanyak 2 ml filtrat sampel dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan reagen libermann burchard dan 3 tetes asam sulfat pekat ke dalam tabung tersebut (positif steroid jika berwarna biru kehijauan dan positif terpenoid jika terbentuk cincin kecoklatan) (Sarker 2006).

**7.5 Identifikasi alkaloid.** Serbuk dan ekstrak daun pucuk merah dilarutkan air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat ditambahkan dengan sedikit HCl 2N lalu ditambah reagen dragendroff terbentuk endapan coklat dan keruh (Harbone 1987). Dengan ditambah reagen meyer terbentuk endapan dan keruh putih (Depkes 1989).

## **8. Penentuan dosis**

**8.1 Dosis glibenklamid.** Dosis glibenklamid yang digunakan adalah dihitung dari dosis lazim yaitu 5 mg/kg bb manusia. Dosis yang digunakan untuk tikus dengan berat badan 200 g adalah 0,09 mg/200 g BB tikus.

**8.2 Dosis sediaan uji.** Dosis sediaan diberikan berdasarkan dosis efektif  $\frac{1}{2}$  DE, DE, dan 2DE (Sundhani *et al.* 2016). Dibuat tiga variasi perbandingan dosis kombinasi ekstrak etanol daun pucuk merah yaitu dosis 150 mg/kg BB, dosis 300 mg/kg BB dan dosis 600 mg/kg BB.

**8.3 Dosis aloksan monohidrat.** Dosis aloksan yang digunakan untuk membuat tikus diabetes adalah 150 mg/kg bb tikus secara intraperitoneal (Sakika *et al.* 2014). Tikus yang digunakan adalah tikus yang memiliki berat sekitar 200 g, sehingga didapatkan dosis aloksan yang digunakan pada penelitian ini adalah 30 mg/200 g berat badan tikus

## **9. Pembuatan larutan uji**

**9.1 Larutan suspensi CMC Na 0,5%.** CMC Na konsentrasi 0,5% adalah larutan yang digunakan sebagai kontrol negatif, dibuat dengan cara menimbang serbuk CMC Na sebanyak 500 mg kemudian dimasukkan ke dalam mortir dan ditambah aqudest panas. Selanjutnya digerus sampai mengembang dan menambahkan sedikit demi sedikit aquadest panas hingga 100 ml, diaduk hingga homogen.

**9.2 Larutan glibenklamid.** Suspensi glibenklamid 0,09 mg/ml dibuat dengan cara melarutkan serbuk glibenklamid sebanyak 9 mg dalam CMC Na 0,5% sampai volume 100 ml.

**9.3 Larutan aloksan monohidrat.** Larutan aloksan monohidrat adalah larutan yang digunakan sebagai penginduksi diabetes. Larutan aloksan monohidrat dibuat dengan cara melarutkan aloksan monohidrat 1,5 g dalam larutan garam fisiologis 0,9% sampai volume 100 ml.

**9.4 Larutan sediaan uji.** Banyaknya ekstrak daun pucuk merah yang akan digunakan dihitung berdasarkan berat dari masing- masing tikus. Aquades panas dimasukkan dalam mortir kemudian ditaburi CMC Na sebanyak 50 mg. Ditambahkan ekstrak daun pucuk merah digerus sampai mengembang dan menambahkan sedikit demi sedikit aquades panas diaduk hingga homogen.

## **10. Perlakuan hewan uji**

Pengujian dilakukan dengan metode induksi aloksan terhadap 5 kelompok tikus dan 1 kelompok tikus normal. Sebanyak 30 ekor tikus ditimbang dan masing-masing diberi tanda pengenal. Semua tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam dan diperiksa kadar gula darah awalnya (T0). Tikus diinduksi dengan aloksan 150 mg/kg BB tikus secara ip kecuali pada tikus kelompok I sebagai kontrol normal pada penelitian ini. Pada hari ke 4 tikus diambil darahnya ditetapkan kadar gula darahnya (T1). Jika kadar gula darah lebih dari 200 mg/dl maka tikus dikatakan sudah diabetes. Pemberian sediaan uji secara peroral selama 14 hari dihitung setelah tikus dinyatakan diabetes. Pada hari ke 7 dan ke 14 tikus diambil darahnya ditetapkan kadar gula darahnya (T2) dan (T3). Perlakuan terhadap masing-masing kelompok sebagai berikut :

Kelompok I : Kontrol normal, hanya diberi makan dan minum

Kelompok II : Kontrol diabetes, diberi CMC Na 0,5%

Kelompok III : Kontrol pembanding, diberi glibenklamid 0,45 mg/kg bb

Kelompok IV : Diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 150 mg/kg bb

Kelompok V : Diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 300 mg/kg bb

Kelompok VI : Diberi ekstrak daun pucuk merah dosis 600 mg/kg bb

Tikus yang telah diberi perlakuan, pada hari ke-15 dikorbankan. Tikus dikorbankan dengan cara dislokasi leher dimana ekor tikus dipegang kemudian ditempatkan pada suatu permukaan dan dibiarkan meregangkan badannya. Tengkuik tikus ditempatkan suatu penahan (pensil atau batang logam) yang

dipegang dengan tangan kiri. Ekornya ditarik menggunakan tangan kanan dengan keras, sehingga lehernya akan terdislokasi dan tikus akan terbunuh. Tikus dibedah dimulai dari bagian perut menggunakan gunting bengkok. Organ pankreas kemudian diambil untuk dilakukan pengamatan histopatologi menggunakan gunting lurus.

Semua sisa organ tikus yang tidak terpakai dimasukkan dalam kantong plastik. Kantong plastik ditutup dan dipastikan tidak ada bau yang keluar dari kantong plastik. Kantong plastik tersebut diserahkan ke kandang tikus bagian Farmakologi dan Toksikologi untuk dilakukan insinerasi.

### 11. Penetapan kadar glukosa darah

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan sebelum perlakuan ( $T_0$ ), 4 hari setelah diinduksi aloksan ( $T_1$ ), hari ke-7 ( $T_2$ ), dan hari ke-14 ( $T_3$ ) setelah tikus dinyatakan diabetes. Pengukuran kadar glukosa darah dengan metode GOD-PAP. Darah sebanyak 0,5 ml ditampung di dalam tabung ependorf kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit agar didapatkan serum. Serum (bagian bening) sebanyak 10  $\mu$ l ditambah reagen dyasis sebanyak 1000  $\mu$ l. Larutan di inkubasi pada suhu ruang selama 20 menit, kemudian diukur dengan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

**Tabel 1. Perlakuan pengukuran kadar glukosa darah metode GOD-PAP**

Larutan yang dibuat	Volume pereaksi yang ditambahkan			Keterangan
	Sampel	Aquades	Reagen dyasis	
Blanko	-	10 $\mu$ L	1000 $\mu$ L	Inkubasi 20 menit pada suhu 20-25°C, dibaca dengan spektrofotometer uv-vis $\lambda$ 500 nm
Sampel	10 $\mu$ L	-	1000 $\mu$ L	

### 12. Histopatologi organ pankreas

**12.1 Pembuatan preparat histopatologi.** Pertama, organ pankreas tikus yang telah didekapitasi diambil dan dimasukan dalam pot plastik. Organ langsung difiksasi dengan menggunakan formalin 10% PA agar preparat tidak cepat rusak, dan diberi label kode tikus sesuai kelompok perlakuan. Setelah itu, dilakukan

pemotongan pada organ pankreas yang telah difiksasi tadi dan dimasukkan ke dalam *tissue cassette* dan dicuci di bawah air mengalir selama 30 menit.

Kedua, tahap dehidrasi yaitu proses penarikan cairan jaringan. Jaringan pankreas yang telah dimasukkan ke dalam *tissue cassette* direndam dengan menggunakan etanol secara bertingkat berturut-turut etanol 70%, 80%, 90% masing-masing selama 1 jam, kemudian etanol absolut I selama 1 jam, etanol absolut II selama 1 jam dan etanol absolut III selama 1 jam.

Ketiga, dilakukan proses penjernihan (*clearing*), dengan menggunakan larutan xylene, untuk menghilangkan alkohol (dealkoholisasi). Dimulai dengan memasukkan jaringan pankreas ke dalam xylene I selama 20 menit, kemudian xylene II selama 20 menit dan selanjutnya xylene III selama 20 menit.

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

Kelima, dilakukan proses selanjutnya yakni tahap *embedding* atau penanaman jaringan dalam parafin, dengan memasukkan jaringan ke dalam blok parafin. Pemotongan dengan mikrotom menghasilkan lapisan dengan ketebalan 5 mikrometer, lapisan jaringan diletakkan di atas kaca objek untuk siap diwarnai.

Keenam, tahap pewarnaan haematoxylin eosin. Tahap ini diawali dengan deparafinisasi dengan xylen yang bertujuan untuk menghilangkan parafin pada jaringan. Dimulai dengan memasukkan jaringan ke xylen I selama 3 menit, dan xylen II selama 3 menit.

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

Kedelapan, dilakukan tahap *staining* dimana jaringan dimasukkan ke dalam larutan pewarna. Jaringan dimasukkan ke dalam pewarna haematoxylin selama 10 sampai 20 menit, kemudian diamati apakah jaringannya sudah bewarna ungu. Selanjutnya, jaringan yang sudah diwarnai tadi dicuci di bawah air mengalir

selama 10 menit. Setelah itu, pewarnaan dilanjutkan dengan memasukkan sediaan ke dalam pewarnaan eosin selama 10 menit.

Kesembilan, dilakukan rehidrasi tujuannya untuk menarik air dari jaringan agar awet dan tidak cepat rusak. Jaringan dicelupkan 4 kali secara berurutan ke dalam larutan etanol 70%, 80%, dan 90% masing-masing selama 30 detik. Selanjutnya direndam dengan etanol absolut dicelupkan sebanyak 4 kali, masing-masing selama 1 menit.

Kesepuluh, dilakukan proses penjernihan atau *clearing*, dengan memasukkan jaringan ke dalam larutan xylene I dan dilakukan *mounting*, yaitu penutupan sediaan dengan menggunakan gelatin sebagai perekat dan ditutup dengan deg glass (Lerebulan 2014).

**12.2 Pemeriksaan histopatologi.** Pemeriksaan gambaran histopatologi dilakukan untuk mengetahui perbedaan gambaran struktur pankreas. Untuk dapat mengamati kerusakan yang terjadi pada pulau Langerhans, maka preparat jaringan pankreas diamati pada perbesaran 1000x. Pengamatan histopatologi pulau Langerhans dilakukan dengan mengamati bentuk keteraturan pulau Langerhans dan daerah yang mengalami nekrosis meliputi piknotik, karioreksis, dan kariolisis. Pada penelitian ini, preparat diamati dengan mikroskop cahaya leica DM 500, sehingga sel yang diamati tampak jelas.

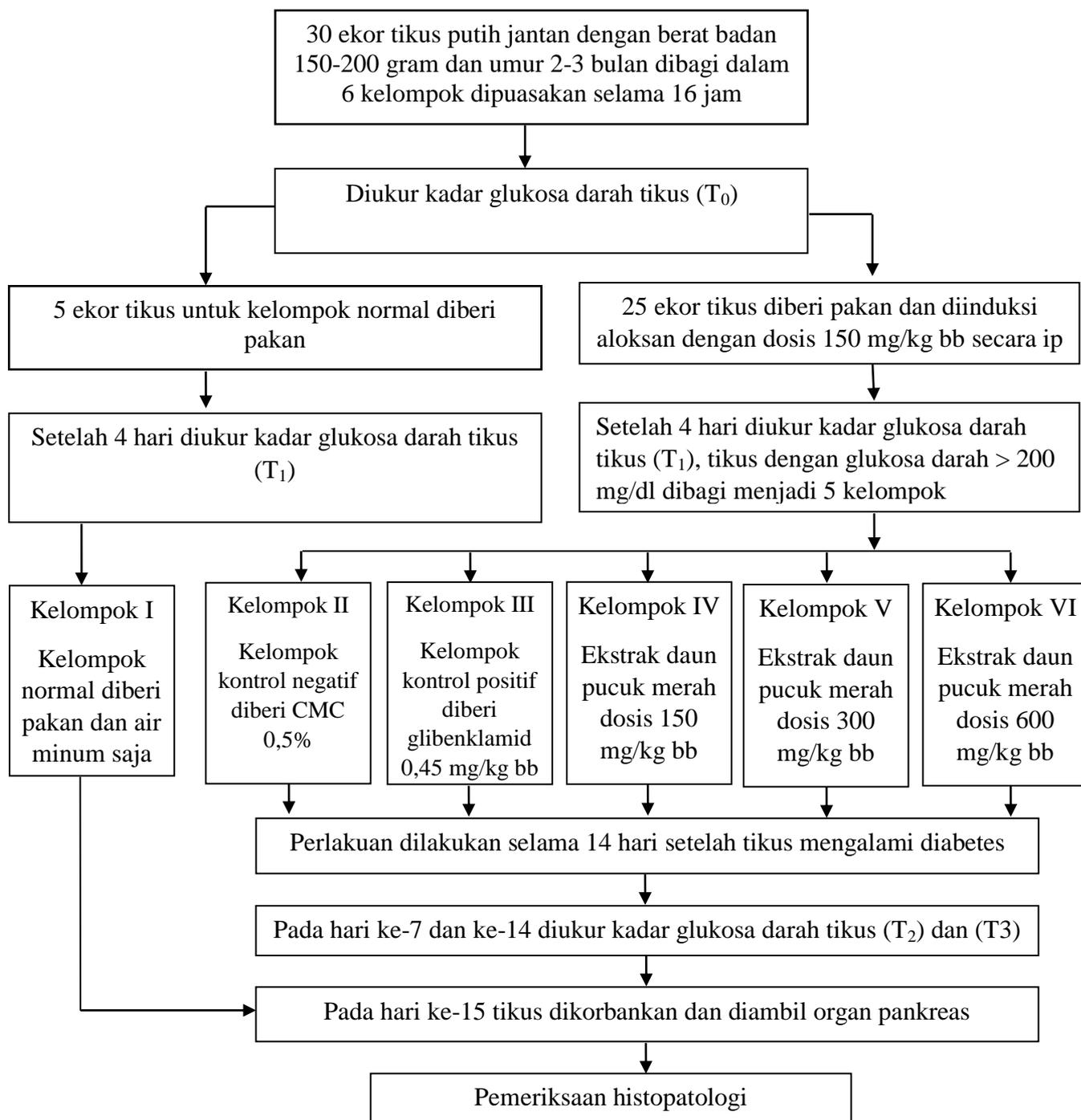
Parameter yang diamati pada histopatologi penelitian ini adalah luas area kerusakan pulau Langerhans. Tiap 100 sel dilakukan perhitungan kerusakan berupa piknotik, karioreksis, dan kariolisis. Untuk mengetahui kerusakan dilakukan melalui pengamatan menggunakan penghitung digital dan perhitungan dengan menggunakan skor kerusakan

### **E. Analisis Statistik**

Analisa statistik yang pertama digunakan dalam penelitian ini untuk melihat apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak yaitu dengan menggunakan uji distribusi normal (*Saphiro Wilk*). Jika data terdistribusi normal ( $p > 0,05$ ), analisis data dilanjutkan dengan uji parametrik (*One Way ANOVA*) untuk mengetahui perbedaan yang nyata diantara perlakuan. Jika hasil uji *One Way ANOVA* dan *uji Lavene Statistic* menunjukkan hasil normal ( $> 0,05$ ), selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk melihat penurunan kadar glukosa darah

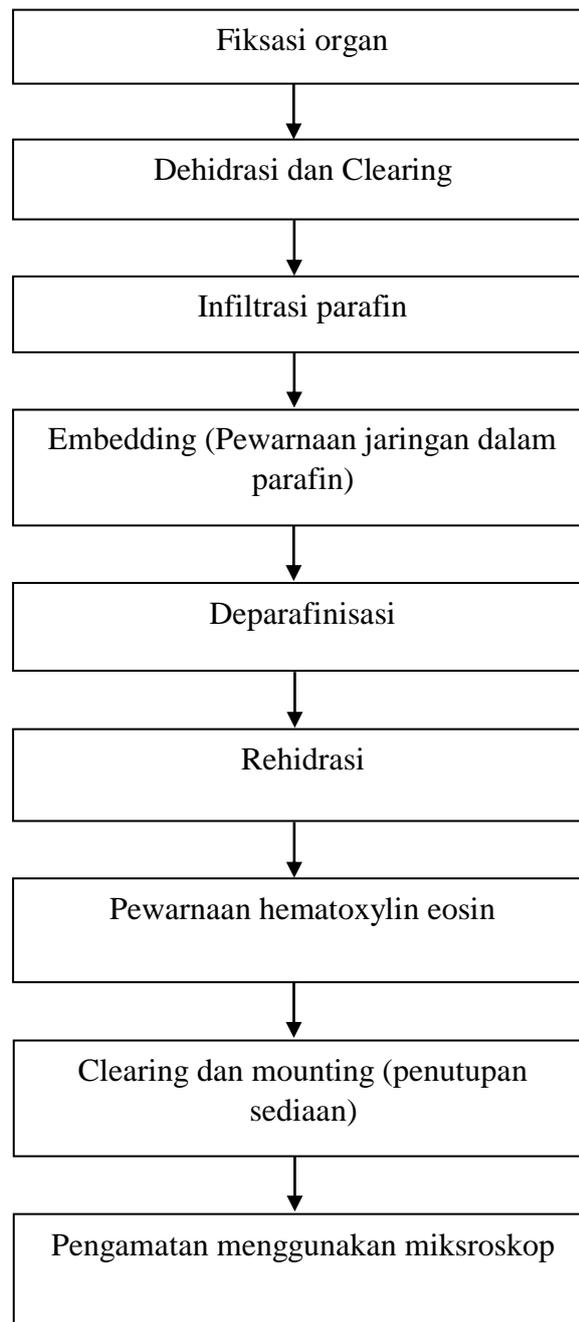
dan perubahan histopatologi pankreas yang efektif diantara kelompok perlakuan. Namun, jika hasilnya tidak normal ( $p < 0,05$ ), maka dilakukan uji non parametrik menggunakan uji *Mann-Whitney*.

#### F. Skema Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Pucuk Merah



Gambar 4. Skema Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Daun Pucuk Merah

### G. Tahapan Histopatologi



**Gambar 5. Tahapan Histopatologi**

## BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

### A. Hasil Penyiapan Bahan Tanaman

#### 1. Hasil Determinasi Tanaman

Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman pucuk merah yang diperoleh di Desa Padan, Kelurahan Kauman, Kecamatan Polanharjo, Klaten, Jawa Tengah pada bulan Desember 2017. Pucuk merah merupakan tanaman yang berciri khas memiliki daun yang berwarna merah dan hijau. Daun tumbuh rapat antara satu daun dengan daun lainnya. Tekstur daun halus dengan panjang daun berkisar 5 cm dan permukaan daun yang mengkilap.

Tanaman pucuk merah terlebih dahulu diidentifikasi untuk menetapkan kebenaran bahan tanaman yang digunakan sebagai objek penelitian dan menghindari kesalahan dalam mengumpulkan bahan. Identifikasi tanaman pucuk merah dilakukan di Laboratorium MIPA Biologi Universitas Sebelas Maret Surakarta. Berdasarkan surat keterangan identifikasi no: 237/ UN27.9.6.4/ Lab/ 2017 dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.). Hasil identifikasi tanaman dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### 2. Hasil Pembuatan Serbuk Daun Pucuk Merah

Daun pucuk merah yang telah disortir dan dicuci, dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50<sup>0</sup>C sampai kering. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah timbulnya jamur yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan kimia dan dapat menurunkan kualitas daun pucuk merah. Daun pucuk merah yang telah kering dibuat serbuk, kemudian diayak dengan ayakan no. 40 untuk memperoleh serbuk yang halus. Daun pucuk merah sebanyak 4,8 kg dikeringkan dan didapatkan rendemen bobot basah adalah 64,58%. Hasil perhitungan presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun pucuk merah dapat dilihat pada Lampiran 8.

**Tabel 2. Hasil rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun pucuk merah**

Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%)
4,80	3,10	64,58%

### 3. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah

Serbuk daun pucuk merah yang telah dimaserasi menggunakan etanol 96% diuapkan dengan alat *rotatory evaporator* hingga didapat ekstrak kental. Hasil pembuatan ekstrak daun pucuk merah dapat dilihat pada tabel di bawah ini. Dapat dilihat pada tabel 3, ekstrak kental yang didapat dari 700 gram serbuk daun pucuk merah sebesar 296,94 gram dan diperoleh rendemen 42,42%. Hasil rendemen pembuatan ekstrak daun pucuk merah dapat dilihat pada Lampiran 9.

**Tabel 3. Hasil rendemen ekstrak daun pucuk merah**

Bobot serbuk (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen (%)
700	296,94	42,42%

## B. Hasil Karakterisasi Serbuk dan Ekstrak Daun Pucuk Merah

### 1. Hasil Penetapan Susut Pengerinan

Penetapan susut pengerinan serbuk dan ekstrak daun pucuk merah menggunakan alat *moisture balance*. Penetapan susut pengerinan dilakukan untuk mengetahui batasan besarnya senyawa yang hilang pada proses pengerinan. Data hasil penetapan susut pengerinan serbuk dan ekstrak daun pucuk merah dapat dilihat berturut-turut pada tabel 4 dan tabel 5. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 10.

Hasil penetapan susut pengerinan serbuk daun pucuk merah sebesar 8,9%. Persyaratan susut pengerinan serbuk tidak boleh lebih dari 10% dapat menghentikan reaksi enzimatik dan kerusakan simplisia (Depkes 1985). Hasil susut pengerinan ekstrak daun pucuk merah diperoleh 27,37% ,persyaratan susut pengerinan ekstrak etanol tidak boleh lebih dari 30% (Voigt 1994). Sehingga senyawa yang hilang pada serbuk dan ekstrak tidak banyak.

**Tabel 4. Hasil penetapan susut pengerinan serbuk daun pucuk merah**

Replikasi	Berat serbuk (g)	Susut pengerinan (%)
1	2,00	8,60
2	2,00	8,90
3	2,00	9,20
Rata – rata ± SD		8,90 ± 0,30

**Tabel 5. Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun pucuk merah**

Replikasi	Berat serbuk (g)	Susut pengeringan (%)
1	2,00	27,68
2	2,00	26,98
3	2,00	27,45
Rata – rata ± SD		27,37 ± 0,36

## 2. Hasil Penetapan Kadar Air

Serbuk daun pucuk merah yang diperoleh dilakukan penetapan kadar air dengan cara destilasi menggunakan alat *Sterling- Bidwell*. Penetapan kadar air daun pucuk merah bertujuan untuk mengetahui batasan minimal besarnya kandungan air dalam daun pucuk merah (Depkes 2000). Sehingga dapat meminimalkan terjadinya kontaminasi bakteri, jamur maupun parasit yang dapat tumbuh sehingga kerusakan simplisia dapat dihambat dan dapat memperpanjang waktu penyimpanan. Persyaratan kadar air serbuk simplisia yaitu kurang dari 10% (Depkes 1986). Cairan pembawa yang digunakan adalah *xylena* karena *xylena* memiliki berat jenis dan titik didih yang lebih besar daripada air dan tidak bercampur dengan air. Hasil penetapan kadar air serbuk daun pucuk merah dapat dilihat pada tabel 6.

Hasil perhitungan kadar air serbuk daun pucuk merah didapat kadar air 5,83%. Jadi, serbuk daun pucuk merah pada penelitian ini sesuai dengan kadar air yang dipersyaratkan. Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk daun pucuk merah dapat dilihat pada lampiran 11.

**Tabel 6. Hasil penetapan kadar air daun pucuk merah**

Replikasi	Berat serbuk (g)	Volume terbaca (mL)	Kadar air (%)
1	20	1,20	6,00
2	20	1,20	6,00
3	20	1,10	5,50
Rata – rata ± SD			5,83 ± 0,29

## 3. Hasil Penetapan Berat Jenis Ekstrak

Penetapan bobot jenis ekstrak di lakukan untuk memberikan batasan tentang besarnya massa persatuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang dan memberi gambaran kandungan kimia terlarut (Depkes 2000). Penetapan bobot jenis ekstrak pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan alat *Piknometer*. Hasil

penetapan bobot jenis ekstrak yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 7 dan perhitungannya penetapan bobot jenis ekstrak dapat dilihat pada lampiran 12. Hasil penetapan bobot jenis yang diperoleh sebesar 0,81 g/ml.

**Tabel 7. Hasil penetapan berat jenis ekstrak daun pucuk merah**

Replikasi	Berat ekstrak (g)	Volume air (ml)	Berat jenis ekstrak (g/ml)
1	40,13	49,74	0,81
2	41,55	50,98	0,82
3	41,62	53,58	0,78
Rata – rata ± SD			0,81 ± 0,01

#### 4. Hasil Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia

Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun pucuk merah menggunakan reaksi warna untuk mengetahui ada atau tidaknya kandungan kimia yang terdapat di dalam daun pucuk merah seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, steroid atau terpenoid. Identifikasi dilakukan dengan melihat adanya perubahan warna atau terjadinya endapan setelah diberikan pereaksi khusus kemudian dibandingkan dengan pustaka acuan yang ada. Hasil identifikasi dapat dilihat pada tabel 8.

**Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak etanol daun pucuk merah.**

Senyawa	Pereaksi	Serbuk	Ekstrak	Ket	Pustaka
Flavonoid	0,1 g magnesium + alkohol : HCl pekat (1:1) + amil alkohol	Ada warna jingga pada amil alkohol	Ada warna merah pada amil alkohol	+	Adanya warna merah/ jingga pada amil alkohol (Adawiah 2016)
Saponin	+ air panas kemudian dikocok	Terbentuk buih	Terbentuk buih	+	Terbentuk buih dan tidak hilang dengan penambahan HCl (Adawiah 2016)
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Terbentuk warna hitam kehijauan	Terbentuk warna hitam kehijauan	+	Terbentuk warna biru atau hitam kehijauan (Adawiah 2016)
Alkaloid	Reagen meyer	Terbentuk endapan dan kekeruhan putih	Terbentuk endapan dan kekeruhan putih	+	Terbentuk endapan dan kekeruhan putih (Depkes 1977)
	HCl 2% + Reagen dragendroff	Terjadi kekeruhan atau endapan coklat	Terjadi kekeruhan atau endapan coklat	+	Terjadi kekeruhan atau endapan coklat (Harbone 1987)
Steroid/ terpenoid	Liebermann burchard dan H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Terbentuk warna coklat	Terbentuk warna coklat	-	Adanya cincin biru kehijauan (Sarker 2006)

Senyawa yang ada pada ekstrak daun pucuk merah sesuai dengan penelitian Juwita *et al.* (2017) yang mengatakan bahwa ekstrak daun pucuk merah memiliki kandungan senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid. Hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 6.

### C. Hasil Pengujian Aktivitas Antidiabetes

#### 1. Hasil Pengukuran Berat Badan

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur wistar. Tikus dipuasakan selama 10 jam sebelum dilakukan pengambilan darah awal (T0). Tujuan dipuasakan untuk menghindari pengaruh makanan yang dapat mempengaruhi kadar glukosa darah tikus.

Penimbangan berat badan hewan uji mulai dilakukan sebelum aklimatisasi kemudian setelah aklimatisasi untuk memastikan kondisi hewan uji antara kelompok perlakuan setara. Pengukuran berat badan hewan uji dilakukan setiap kali pengambilan darah yaitu pada hari ke-4 setelah induksi aloksan, hari ke-7 dan hari ke-14 setelah perlakuan untuk melihat perubahan yang terjadi pada berat badan tikus pada masing-masing perlakuan. Perubahan berat badan dapat dilihat pada tabel 9.

**Tabel 9. Hasil rata-rata berat badan tikus**

Kelompok	Rata –rata berat badan tikus $\pm$ SD				
	Sebelum aklimatisasi (g)	Hari ke-0 (g)	Hari ke-4 (g)	Hari ke-7 (g)	Hari ke-14 (g)
Kelompok normal	190 $\pm$ 1.58	197 $\pm$ 2.28	202 $\pm$ 1.92 <sup>bc</sup>	208 $\pm$ 2.74 <sup>bc</sup>	214 $\pm$ 2.49 <sup>bc</sup>
Kelompok diabetes	183 $\pm$ 2.39	190 $\pm$ 3.67	188 $\pm$ 3.16 <sup>a</sup>	184 $\pm$ 4.09 <sup>ac</sup>	180 $\pm$ 2.86 <sup>ac</sup>
Glibenklamid 0,45 mg/kg BB	185 $\pm$ 5.15	191 $\pm$ 4.12	190 $\pm$ 4.44 <sup>a</sup>	195 $\pm$ 4.66 <sup>ab</sup>	199 $\pm$ 5.94 <sup>ab</sup>
Pucuk merah 150 mg/kg BB	186 $\pm$ 6.53	192 $\pm$ 5.70	190 $\pm$ 5.32 <sup>a</sup>	194 $\pm$ 5.15 <sup>ab</sup>	198 $\pm$ 5.81 <sup>ab</sup>
Pucuk merah 300 mg/kg BB	188 $\pm$ 2.74	196 $\pm$ 2.95	194 $\pm$ 3.11 <sup>a</sup>	198 $\pm$ 3.46 <sup>ab</sup>	204 $\pm$ 3.67 <sup>ab</sup>
Pucuk merah 600 mg/kg BB	184 $\pm$ 3.58	190 $\pm$ 2.07	188 $\pm$ 2.28 <sup>a</sup>	194 $\pm$ 3.27 <sup>ab</sup>	201 $\pm$ 2.07 <sup>ab</sup>

Keterangan :

a : berbeda signifikan dengan kelompok normal ( $P < 0,05$ )

b : berbeda signifikan dengan kelompok diabetes ( $P < 0,05$ )

c : berbeda signifikan dengan kelompok glibenklamid 0,45 mg/kg BB ( $P < 0,05$ )

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

Berdasarkan rata – rata berat badan hewan uji pada tabel 9 menunjukkan bahwa kelompok normal terjadi peningkatan berat badan. Peningkatan berat badan pada kelompok normal disebabkan kondisi hewan yang sehat, asupan

makanan cukup dan penyerapan glukosa yang normal. Pada kelompok diabetes terjadi penurunan berat badan setelah induksi aloksan tetapi akan terjadi peningkatan berat badan kembali. Kondisi diabetes akan mengakibatkan tikus normal menjadi tikus diabetes ditandai dengan terjadinya penurunan berat badan (Pasaribu *et al.* 2015). Hal ini disebabkan karena kondisi tikus menderita diabetes yang menyebabkan penurunan insulin yang memicu hilangnya jaringan adiposa dan terganggunya metabolisme karbohidrat, lemak dan protein sehingga menyebabkan turunnya berat badan selama perlakuan (Yassin & Mwafy 2007). Pada penderita diabetes, walaupun kadar glukosa dalam darah tinggi tetapi sel tidak dapat memanfaatkan glukosa dalam darah sehingga sumber energi diambil dari otot atau hati melalui proses glukoneogenesis sehingga keadaan ini menyebabkan penurunan berat badan (Zubaidah 2015).

Kelompok glibenklamid terjadi penurunan berat badan setelah dilakukan induksi aloksan tetapi terjadi peningkatan berat badan setelah diberikan perlakuan. Peningkatan berat badan ini dikaitkan dengan pemberian glibenklamid yang dapat menyebabkan jumlah insulin yang dilepaskan dari sel  $\beta$  pankreas meningkat. Peningkatan pelepasan insulin akan menyebabkan peningkatan transport glukosa ke dalam sel sampai jaringan perifer (Kumar *et al.* 2013). Pada tikus yang diberikan perlakuan ekstrak dengan variasi tiga dosis juga menunjukkan terjadi peningkatan berat badan setelah tikus mengalami diabetes diberikan perlakuan menggunakan ekstrak etanol daun pucuk merah.

Hasil analisis statistik uji *post hoc test* terhadap berat badan menunjukkan hasil bahwa berat badan pada hari ke 14, semua kelompok perlakuan terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok normal dan kelompok diabetes. Sedangkan antar kelompok diabetes dan kelompok normal sendiri juga terdapat perbedaan yang signifikan. Pada kelompok diabetes rata – rata berat badan paling rendah dibandingkan dengan kelompok lain. Hal ini dapat disimpulkan bahwa kadar gula darah berpengaruh pada berat badan tikus.

## 2. Hasil Pengukuran Kadar Gula Darah

Penelitian pengujian aktivitas antidiabetes ini dilakukan dengan menggunakan metode uji induksi aloksan, hewan uji dibuat diabetes dengan menggunakan senyawa diabetogenik aloksan. Aloksan diberikan secara intraperitoneal dengan volume pemberian sebanyak 2 mL/200 g BB tikus dengan dosis aloksan 150 mg/kg BB tikus. Aloksan dapat meningkatkan pelepasan insulin dan protein dari sel  $\beta$  pankreas tetapi tidak berpengaruh pada sekresi glukagon, efek ini spesifik untuk sel  $\beta$  pankreas sehingga aloksan dengan konsentrasi tinggi tidak berpengaruh pada jaringan lain. Mekanisme aksi aloksan dalam menimbulkan kerusakan sel pankreas secara selektif belum diketahui, tetapi dari penelitian *in vitro* mekanisme aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal matinya sel (Suharmiati 2003).

Kelompok glibenklamid digunakan untuk membuktikan bahwa penelitian yang dilakukan sudah tepat dan dapat menghasilkan perubahan. Glibenklamid merupakan obat antidiabetes oral golongan sulfonilurea yang memiliki efek menurunkan kadar gula darah yang ditimbulkan dengan cara menstimulasi pelepasan insulin dari sel  $\beta$  pankreas (Katzung 2002). Sulfonilurea memblokir kanal K-ATP di sel  $\beta$  pankreas yang dapat memfasilitasi terjadinya sekresi insulin sehingga menurunkan kadar gula darah (Chalal 2013).

Pengukuran kadar gula darah tikus dilakukan dengan menggunakan metode GOD-PAP. Sampel darah diambil dari masing – masing tikus sesuai dengan kelompok. Serum diperiksa kadar gula darah ditentukan dengan cara mengukur absorbansi standart dan sampel dengan spektrofotometer Uv-vis. Gula darah diukur sebelum diberi perlakuan (T0), hari ke-4 (T1), hari ke-7 (T2), dan hari ke-14 (T3). Aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun pucuk merah dilihat dari penurunan kadar gula darah tikus sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji. Data pengukuran gula darah dapat dilihat pada Tabel 10.

Pada tabel 10 menunjukkan bahwa tikus setelah diinduksi aloksan 150 mg/kg BB mempunyai rata-rata kadar gula darah lebih dari 200 mg/dl. Pengukuran kadar gula darah dilakukan pada hari ke 4 setelah induksi aloksan.

Kadar glukosa darah tikus normal yaitu 50-135 mg/dl (Kusumawati 2004). Hewan uji dapat dikatakan diabetes apabila setelah 4 hari pemberian aloksan terjadi hiperglikemia (kadar gula darah >200 mg/dl) (Sujono & Sutrisna 2010). Hasil pengukuran kadar gula darah pada tabel 10 tersebut menunjukkan bahwa telah terjadi peningkatan kadar gula darah setelah induksi aloksan dengan rata-rata kadar gula sebesar 203,82 mg/dl. Penelitian Wijayanti (2017) tikus yang diinduksi aloksan dengan dosis 160 mg/kg BB mempunyai rata-rata kadar glukosa darah sebesar 261,85 mg/dl. Perbedaan rata-rata kadar gula darah tikus karena terdapat perbedaan dosis aloksan yang digunakan tetapi dengan cara induksi yang sama yaitu secara intraperitoneal. Meskipun pada penelitian ini rata-rata kadar gula lebih rendah, aloksan berhasil menginduksi tikus menjadi diabetes. Peningkatan gula darah tersebut disebabkan aloksan dapat mendestruksi sel beta pankreas dengan sifat sebagai radikal bebas (Nurlaela 2010). Aloksan berpengaruh terhadap dua mekanisme patologi yang berbeda dengan jelas dalam menginduksi diabetes, yaitu secara selektif menghambat sekresi insulin yang diinduksi oleh glukosa melalui penghambatan khusus pada sensor glukosa di dalam sel  $\beta$  (glukokinase), dan menginduksi pembentukan ROS yang menyebabkan nekrosis sel  $\beta$  pankreas secara selektif dan menginduksi resistensi insulin (Lenzen 2008).

**Tabel 10. Rata-rata hasil pengukuran kadar gula darah tikus**

Kelompok	Rata – rata gula darah tikus $\pm$ SD			
	Hari ke-0 (mg/dl)	Hari ke-4 (mg/dl)	Hari ke-7 (mg/dl)	Hari ke-14 (mg/dl)
Kelompok normal	77.65 $\pm$ 1.92	78.78 $\pm$ 1.76 <sup>bc</sup>	79.37 $\pm$ 1.90 <sup>bc</sup>	80.96 $\pm$ 2.19 <sup>bc</sup>
Kelompok diabetes	76.78 $\pm$ 3.99	204.44 $\pm$ 2.16 <sup>a</sup>	205.33 $\pm$ 2.18 <sup>ac</sup>	209.32 $\pm$ 1.58 <sup>ac</sup>
Glibenklamid 0,45 mg/kg BB	72.01 $\pm$ 1.40	202.25 $\pm$ 1.02 <sup>a</sup>	187.44 $\pm$ 1.39 <sup>ab</sup>	101.43 $\pm$ 2.58 <sup>ab</sup>
Pucuk merah 150 mg/kg BB	76.51 $\pm$ 3.27	205.08 $\pm$ 2.77 <sup>a</sup>	201.54 $\pm$ 2.77 <sup>ac</sup>	141.43 $\pm$ 3.02 <sup>abc</sup>
Pucuk merah 300 mg/kg BB	71.41 $\pm$ 1.10	205.02 $\pm$ 3.93 <sup>a</sup>	201.75 $\pm$ 4.24 <sup>ac</sup>	131.31 $\pm$ 4.10 <sup>abc</sup>
Pucuk merah 600 mg/kg BB	73.49 $\pm$ 1.44	202.32 $\pm$ 1.78 <sup>a</sup>	187.79 $\pm$ 2.10 <sup>ab</sup>	103.19 $\pm$ 3.24 <sup>ab</sup>

Keterangan :

- a : berbeda signifikan dengan kelompok normal (P < 0,05)
- b : berbeda signifikan dengan kelompok diabetes (P < 0,05)
- c : berbeda signifikan dengan kelompok glibenklamid (P < 0,05)
- Kelompok diabetes : Kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

Berdasarkan rata – rata pengukuran kadar gula darah tikus pada tabel 10 menunjukkan hasil bahwa kelompok normal mempunyai kadar gula darah dibawah 200 mg/dl karena kelompok ini tidak diberikan induksi aloksan.

Kelompok kontrol diabetes yang hanya diberikan CMC Na 0,5% mempunyai kadar gula darah yang selalu tinggi setelah diinduksi aloksan yaitu dari T1 sampai T3. Keadaan ini menunjukkan bahwa pemberian CMC Na 0,5% tidak berpengaruh dalam penurunan kadar gula darah tikus dan menunjukkan keefektifan bahwa ekstrak berefek sebagai antidiabetes (Yunita 2013). CMC Na konsentrasi 0,5% juga berfungsi sebagai *suspending agent*.

Pada kelompok yang diberikan glibenklamid menunjukkan terjadi penurunan gula darah tikus. Hal ini terjadi karena glibenklamid mempunyai efek menurunkan kadar gula darah yang ditimbulkan dengan cara menstimulasi pelepasan insulin dari sel  $\beta$  pankreas (Katzung 2002). Golongan sulfonilurea dapat memblok kanal K-ATP di sel  $\beta$  menyebabkan depolarisasi sel, kemudian ion Ca masuk dalam sel yang menyebabkan terjadi sekresi insulin. Insulin yang dihasilkan akan menurunkan kadar gula darah (Khardori 2017). Pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun pucuk merah pada dosis 150 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, 600 mg/kg BB juga menunjukkan terjadi penurunan kadar gula darah tikus. Penurunan kadar gula darah yang sebanding dengan glibenklamid yaitu dosis 600 mg/kg BB. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak yang diberikan membawa pengaruh pada penurunan kadar gula tikus.

Hasil analisis statistik uji *post hoc test* terhadap kadar gula darah menunjukkan hasil perlakuan hari ke-7 (T2), ekstrak dosis 150 mg/kg dan 300 mg/kg tidak terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok diabetes. Sedangkan ekstrak dosis 600 mg/kg terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok diabetes. Hari ke-14 (T3) ekstrak dosis 150 mg/kg, 300 mg/kg, dan 600 mg/kg terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok diabetes. Hal ini dapat disimpulkan bahwa tiga variasi dosis ekstrak daun pucuk merah dapat menurunkan kadar gula darah tikus. Tetapi pada T2 belum terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok diabetes hal ini terkait dengan salah satu prinsip obat tradisional bahwa reaksi yang lambat untuk dapat memberikan suatu efek. Senyawa dalam obat tradisional membutuhkan waktu yang relatif lama untuk menyatu dalam metabolisme tubuh dibanding dengan obat sintetik.

Berdasarkan persentase penurunan kadar gula darah tikus pada  $\Delta T1$  dan  $\Delta T2$  (tabel 11 dan gambar 6) dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah dengan variasi tiga dosis dapat menurunkan kadar gula darah tikus yang sebanding dengan kelompok yang diberikan glibenklamid. Pada  $\Delta T1$  kelompok uji ekstrak etanol daun pucuk merah dosis 150 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 600 mg/kg BB secara berturut-turut mampu menurunkan kadar gula darah sebesar 1,72%; 1,59%; 7,18%, sedangkan kelompok glibenklamid sebesar 7,32%. Pada  $\Delta T2$  kelompok uji ekstrak etanol daun pucuk merah dosis 150 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 600 mg/kg BB secara berturut-turut mampu menurunkan kadar gula darah sebesar 31,03%; 35,95%; 49%, sedangkan kelompok glibenklamid dosis 0,45 mg/kg BB sebesar 49,85%. Hasil penelitian Khaerati (2015) glibenklamid dosis 0,65 mg/kg BB mampu menurunkan kadar gula darah sebesar 48,1%. Terdapat perbedaan kemampuan menurunkan kadar gula darah dimungkinkan dari perbedaan dosis glibenklamid yang digunakan. Dosis yang kecil mampu menurunkan kadar gula lebih besar.

**Tabel 11. Presentase penurunan kadar gula darah tikus T1 ke T2 dan T1 ke T3**

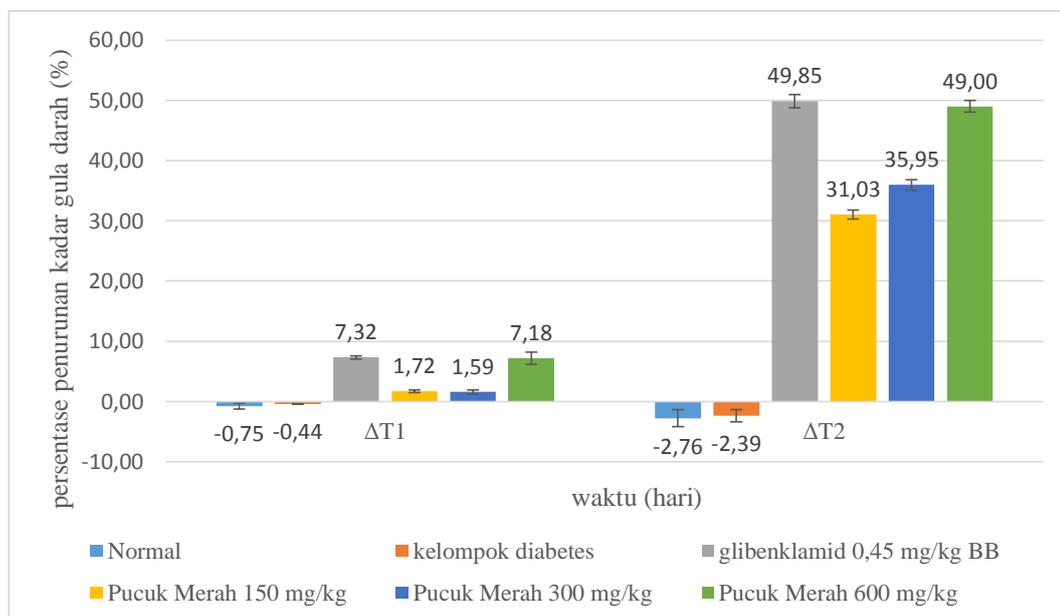
Kelompok	Presentase penurunan $\Delta T1$ (%) $\pm$ SD	Presentase penurunan $\Delta T2$ (%) $\pm$ SD
Kelompok diabetes	-0.44 $\pm$ 0.04	-2.39 $\pm$ 1.01 <sup>ac</sup>
Glibenklamid 0,45 mg/kg BB	7.32 $\pm$ 0.28	49.85 $\pm$ 1.14 <sup>ab</sup>
Pucuk merah 150 mg/kg BB	1.72 $\pm$ 0.22 <sup>abc</sup>	31.03 $\pm$ 0.76 <sup>abc</sup>
Pucuk merah 300 mg/kg BB	1.59 $\pm$ 0.36 <sup>abc</sup>	35.95 $\pm$ 0.91 <sup>abc</sup>
Pucuk merah 600 mg/kg BB	7.18 $\pm$ 0.26 <sup>ab</sup>	49.00 $\pm$ 1.27 <sup>ab</sup>

Keterangan :

- a : berbeda signifikan dengan kelompok normal ( $P < 0,05$ )
- b : berbeda signifikan dengan kelompok diabetes ( $P < 0,05$ )
- c : berbeda signifikan dengan kelompok glibenklamid ( $P < 0,05$ )
- Kelompok diabetes : Kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

Hasil analisis statistik *post hoc test* pada  $\Delta T2$  (Lampiran 26 ) dilakukan untuk melihat efektivitas, ekstrak dosis 600 mg/kg tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok glibenklamid dengan nilai sig= 0,827 ( $P > 0,05$ ). Sedangkan ekstrak dosis 150 mg/kg dan 300 mg/kg terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok glibenklamid dengan nilai sig= 0,00 ( $P < 0,05$ ). Hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pucuk merah 150 mg/kg sudah

memiliki efek antidiabetes namun belum sebanding dengan glibenklamid. Pucuk merah dosis 600 mg/kg yang mampu menurunkan kadar gula yang sebanding dengan glibenklamid.



**Gambar 6.** Persentase penurunan kadar gula darah tikus T1 ke T2 ( $\Delta T1$ ) dan T1 ke T3 ( $\Delta T2$ )

Kemampuan ekstrak etanol daun pucuk merah dalam menurunkan kadar gula darah, diduga disebabkan oleh senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Senyawa flavonoid dalam menurunkan kadar gula darah yaitu dengan memperbaiki sensitivitas reseptor insulin (Marianne *et al.* 2011). Selain itu dapat meregenerasi pankreas yang menyebabkan adanya peningkatan jumlah sel  $\beta$  pankreas dan pulau-pulau langerhans sehingga sekresi insulin akan mengalami peningkatan. Peningkatan sekresi insulin tersebut akan membantu penurunan kadar glukosa darah (Firdous *et al.*, 2009). Menghindari absorpsi glukosa atau memperbaiki toleransi glukosa (Inawati 2011). Menstimulasi pengambilan glukosa pada jaringan perifer, mengatur aktivitas dan ekspresi enzim yang terlibat dalam jalur metabolisme karbohidrat dan bertindak menyerupai insulin, dengan mempengaruhi mekanisme signaling insulin (Zubaidah 2015). Tanin memiliki aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis dan mengurangi penyerapan makanan sehingga asupan gula dan laju peningkatan gula darah

berkurang (Ridwan *et al.* 2012). Selain itu, Tanin dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan cara menangkap radikal bebas dan mengurangi peningkatan stres oksidatif pada penderita diabetes sehingga mampu mengontrol kadar glukosa darah (Widiowati 2008).

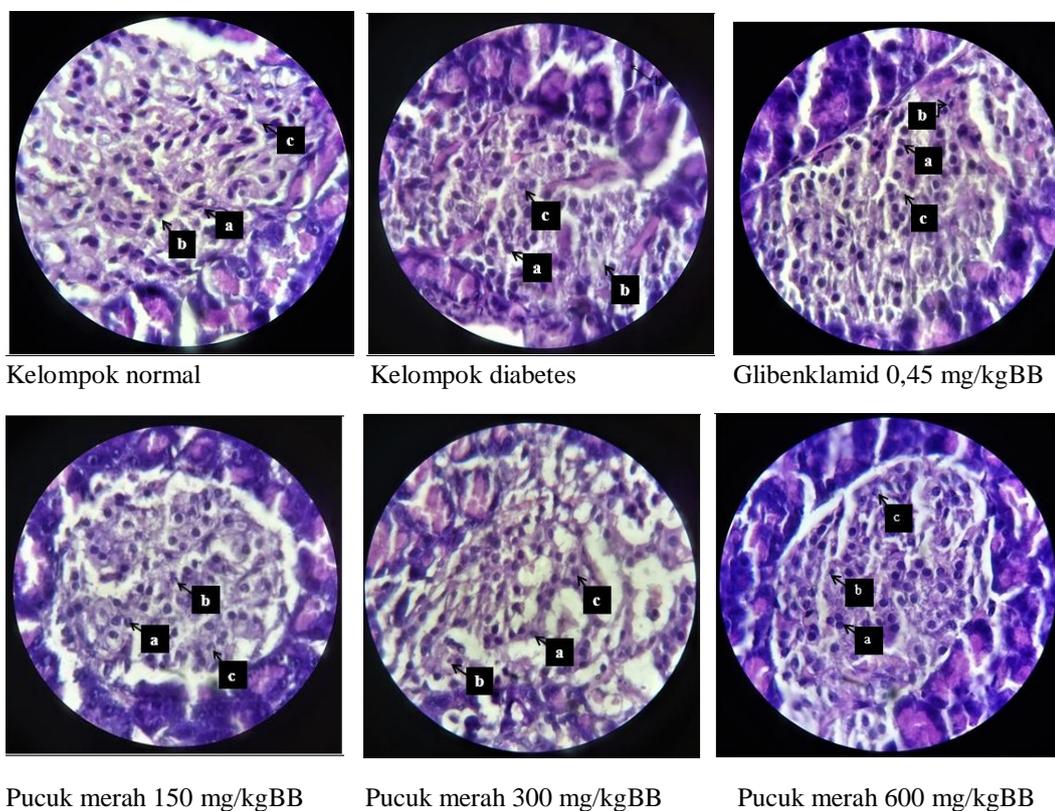
Saponin dapat memberikan efek hipoglikemik karena mampu menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase dengan cara menghambat perubahan karbohidrat menjadi glukosa sehingga dapat menekan peningkatan glukosa dalam tubuh (Makalalag 2013). Alkaloid mampu menghambat absorpsi glukosa di usus, meningkatkan transportasi glukosa dalam darah, menghambat enzim yang berperan dalam glukoneogenesis (Larantukan 2014).

### **3. Hasil Uji Histopatologi Pankreas**

Pankreas merupakan salah satu organ yang akan mengalami kerusakan akibat ROS yang disebabkan kondisi hiperglikemik. Pengamatan kerusakan pankreas dilakukan uji histopatologi dengan metode pewarnaan HE (*Hematoxylin Eosin*). Pengamatan histopatologi pankreas untuk mengetahui secara lebih rinci mengenai pengaruh perlakuan ekstrak daun pucuk merah dibandingkan dengan glibenklamid terhadap pemulihan fungsi pankreas akibat induksi aloksan.

Metode pewarnaan HE menggunakan pewarnaan ganda (*double staining*), dimana hematoxylin memberikan warna biru pada nukleus dan eosin memberikan warna merah pada sitoplasma dan kolagen (Junquera 2007). Sel yang terdapat pada pulau Langerhans ada empat jenis yaitu sel  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , dan F, dengan pewarnaan HE sel-sel tersebut tidak dapat dibedakan sehingga pada penelitian ini hanya melihat sel pankreas secara umum. Hasil pewarnaan HE pada kontrol normal tidak terjadi nekrosis dan terlihat inti sel sangat padat sehingga mengindikasikan bahwa pulau Langerhans dalam keadaan normal. Seperti pada penelitian Wonodirekso (2003) sel pulau langerhans yang normal akan terlihat bulat dan membran sel tidak mudah dilihat. Pada kelompok ini bentuk sel seragam serta inti tidak mengalami perubahan struktur morfologi pankreas. Pengamatan pada kelompok diabetes terjadi perubahan sel, dengan susunan sel tidak teratur dan terlihat adanya kerusakan berupa nekrosis. Ragavan (2006), melaporkan bahwa

histologi pankreas tikus diabetes menunjukkan perubahan yang signifikan pada sel  $\beta$  pulau langerhans. Berikut hasil uji histopatologi pankreas tikus tiap kelompok perlakuan (Gambar 7).



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

Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang ditandai dengan pengerutan inti (piknosis), inti pecah menjadi bentuk fragmen (kariokresis), dan menghilangnya inti (kariolisis) (Lestari 2011). Piknosis merupakan kerusakan dimana inti sel yang mati mengalami penyusutan sehingga terlihat padat, gelap, dan batas yang tidak teratur. Kerusakan lain yaitu karioreksis atau pecahnya inti sel dan meninggalkan kromatin yang tersebar di dalam sel. Sedangkan kariolisis yaitu inti sel yang mati sehingga terlihat lebih pucat dan tidak nyata (Rohmatin *et al.* 2015).

Kerusakan pada jaringan pankreas disebabkan oleh efek toksik langsung terhadap sel  $\beta$ . Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel  $\beta$  pankreas yang memproduksi insulin, dengan cara terakumulasi melalui transporter glukosa. Dan

dalam prosesnya akan terdapat radikal, radikal inilah yang menyebabkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas (Esmawati 2015).

Pada kelompok perlakuan ekstrak menunjukkan bahwa dapat memperbaiki kerusakan pada pankreas tikus namun tidak sebanding dengan pemberian glibenklamid.

**Tabel 12. Hasil rata-rata skor kerusakan pankreas pada masing-masing kelompok perlakuan**

Kelompok	Rata-rata jumlah sel normal	Rata-rata jumlah kerusakan			Rata-rata SKP total $\pm$ SD
		Piknosis	Karioreksis	Kariolisis	
Kelompok normal	93,67	3,00	6,67	0	9,67 $\pm$ 3,06 <sup>b</sup>
Kelompok diabetes	56,00	29,33	29,33	0	58,67 $\pm$ 8,96 <sup>ac</sup>
Glibenklamid 0,45 mg/kg BB	88,33	5,67	12,00	0	17,67 $\pm$ 4,51 <sup>b</sup>
Pucuk merah 150 mg/kg BB	80,00	8,67	22,67	0	31,33 $\pm$ 5,86 <sup>abc</sup>
Pucuk merah 300 mg/kg BB	87,00	6,67	12,67	0	20 $\pm$ 5,29 <sup>b</sup>
Pucuk merah 600 mg/kg BB	88,33	3,33	16,67	0	19,33 $\pm$ 4,04 <sup>b</sup>

Keterangan:

SKP :Skor Kerusakan Pankreas

a :berbeda signifikan dengan kelompok normal ( $P < 0,05$ )

b :berbeda signifikan dengan kelompok diabetes ( $P < 0,05$ )

c :berbeda signifikan dengan kelompok glibenklamid ( $P < 0,05$ )

Penentuan skor kerusakan dapat dilihat pada lampiran 19. Berdasarkan rata – rata skor kerusakan dapat diketahui bahwa pemberian ekstrak etanol daun pucuk merah dengan variasi tiga dosis dapat menurunkan kerusakan tikus yang sebanding dengan kelompok yang diberikan glibenklamid. Semakin besar nilai SKP, semakin besar kerusakan yang terjadi atau sebaliknya semakin rendah SKP menunjukkan bahwa adanya perbaikan kerusakan. Kelompok normal menunjukkan nilai SKP terendah dibanding kelompok lain. Sedangkan kelompok diabetes menunjukkan nilai SKP tertinggi dibanding kelompok lain, ini menunjukkan bahwa pemberian aloksan sebagai agen diabetogenik bersifat toksik dan menghasilkan radikal bebas yang dapat mengakibatkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas (Szkudelski 2001). Hasil analisis statistik *post hoc test* pada skor kerusakan pankreas (Lampiran 27), ekstrak dosis 600 mg/kg tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok glibenklamid. Sedangkan ekstrak dosis 150 mg/kg dan 300 mg/kg tidak terdapat perbedaan yang signifikan dengan kelompok glibenklamid. Terjadi penurunan kerusakan diduga adanya kandungan flavonoid pada daun pucuk merah. Flavonoid yang mempunyai efek antioksidan

yang mampu memutus rantai reaksi radikal bebas. Dengan cara teroksidasi dan berikatan dengan radikal bebas, flavonoid menyumbangkan atom hidrogen sehingga radikal bebas menjadi senyawa lebih stabil (Attanayake 2015). Flavonoid memiliki efek antioksidan yang kuat dengan mekanisme kerja flavonoid sebagai antioksidan adalah menekan pembentukan ROS dengan menghambat enzim dalam pembentukan ROS dan meningkatkan regulasi serta proteksi dari antioksidan. Flavonoid pun dapat melindungi membran lipid dari kerusakan oksidatif, sehingga peroksidasi lipid dapat dihambat (Lestari 2016). Hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pucuk merah 600 mg/kg dapat menurunkan kerusakan pada pulau Langerhans.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan hasil bahwa:

Pertama, ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dapat menurunkan kadar gula darah tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

Kedua, ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dosis 600 mg/kg BB tikus merupakan dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar gula darah yang sebanding dengan kelompok glibenklamid 0,45 mg/kg BB pada tikus putih jantan yang diinduksi aloksan.

Ketiga, ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) dapat menghambat kerusakan pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan yang diinduksi aloksan yang ditunjukkan dengan berkurangnya jumlah kerusakan ditinjau dari piknosis, karioreksis, kariolisis.

#### **B. Saran**

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

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian antihiperglikemik dan antioksidan daun pucuk merah dengan menggunakan metode dan parameter lain dengan variasi dosis fraksi-fraksi dan dengan cairan penyari lain.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang golongan flavonoid yang berperan sebagai antihiperglikemik dalam daun pucuk merah.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang khasiat lain dari ekstrak daun pucuk merah.

Keempat, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pengujian toksisitas untuk menunjang keamanan penggunaan daun pucuk merah.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah. 2016. *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia*, (2)1.63-70
- Adnyana L, Hensen, Budhiarta AG. 2006. Penatalaksanaan Pasien Diabetes Melitus di Poliklinik Rumah Sakit Sanglah Denpasar. *Jurnal Penyakit Dalam*. Volume 7: pp. 186-192.
- Aisha AFA, Ismail Z, Abu-Salah KM, Alrokayan SA, Majid AMSA. 2013. *Syzygium campanulatum* Korth methanolic extract inhibits angiogenesis and tumor growth in nude mice. *BMC Complementary & Alternative Medicine*, 13:168-178.
- Aklima S, Charunawan K, Thaniawattananon P. 2013. Dietary behavior among patient with type 2 diabetes mellitus in Indonesia. *Nurse Medical Journal Nourising*. 3(1): 499-509
- Akrom, Harjanti PD, Armansyah T. 2014. Hypoglycemia Effect of Sweet Potatoes (*Ipomoea batatas* P) Root Ethanolic Extract In Alloxan Induced Swiss Mice. *Pharmaciana*. Vol. 4 (1): 69
- [Anonim]. 1993. *Research Guidelines for Evaluating The Safety And Efficacy of Herbal Medicines*. Manila: WHO.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar bentuk sediaan farmasi*. Ed ke-4 Farida Ibrahim, penerjemah. Jakarta: UI Press
- Attanayake AP. 2015. *Gmelina arborea* Roxb Extract Upregulates the  $\beta$ -cell Regeneration in STZ Induced Diabetic rats. *Journal of Diabetes Research*.
- Bondy PK, Rosenberg. 1980. *Metabolic Control and Disease 8<sup>th</sup> Edition*. Tokyo: Saunders Company.
- Buse JB, Polonsky KS, Burant CF. 2003. Type 2 Diabetes Mellitus. In : Larsen, P.R. et al. *Williams Textbook of Endocrinology*. 10th Ed. Philadelphia: Elsevier. 1428-1468, 1510-1521.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. *Informatorium Obat Nasional Indonesia*. Jakarta: Sagung Seto
- Capasso. 2003. *Phytotherapy : A Quick Reference to Herbal Medicine*. New York. Springer-Verlag. Page 3.
- Chalal H. 2013. Comparative Safety and Efficacy of Glibenclamide in the Elderly. [http://who.int/selection\\_medicines/committees/expert/19/applications/Sulfonylurea/index.html](http://who.int/selection_medicines/committees/expert/19/applications/Sulfonylurea/index.html)

- Chrissman JW. 2004. *Best practices guideline: Toxicologic histopathology*. Society of Toxicologic Pathology Guideline. 32(1) : 126-131
- Cnop MN, Welsh JC, Jonas A, Jorns S, Lenzen, Eizirik. 2005. Mechanism of Pancreatic  $\beta$  cell death in type 1 and 2 diabetes.
- Corwin JE. 2000. *Buku Saku Patofisiologi*. EGC: Jakarta.
- Corwin JE. 2009. *Buku Saku Patofisiologi*. Alih Bahasa: Nike Budi Subekti. Jakarta : Rineka Cipta.
- Dalimartha S. 2008. *1001 Resep Herbal*. Jakarta: Penebar Swadaya. 11-12
- Departemen Kesehatan. 1979. *Farmakope Indonesia. Edisi ke-3*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Departemen Kesehatan. 1985. *Sediaan Galenik. Edisi I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta .
- Departemen Kesehatan. 1986. *Sediaan Galenik. Jilid III*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1989. *Materia Medika Indonesia. Jilid V*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi ke-4. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, 1, 3, Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Departemen Kesehatan. 2005. *Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik. Direktorat Jendral Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, Departemen kesehatan RI. hlm 15.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Farmakope Indonesia*. Edisi ke-5. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Dipiro, Talbert, Yee, Matzke, Wells, dan Posey. 2008. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach Seventh Edition*. New York: The Mc Graw – Hill.
- Djamal R. 1990. *Kimia Bahan Alam*. Universitas Andalas : Padang.
- Esmawati E. 2015. Pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap kadar glukosa darah dan histopatologi pankreas tikus (*Rattus Norvegicus*)

yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.

- Firdous M, Koneri R, Sarvaraidu CH, Shubhapriya KH. 2009. NIDDM Antidiabetic Activity Of Saponins Of Momordica Cymbalaria In Streptozotocin-Nicotinamide NIDDM Mice. *Journal of Clinical and Diagnosis Research*3: 1460-1465.
- Fitri. 2015. Data prevalensi penderita diabetes. <http://sehat.link/data-prevalensi-penderita-diabetes-di-indonesia.info> (22 Oktober 2017).
- Gilman EF, Watson DG. 2013. *Syzygium oleana*. Forest Service Departement of Agriculture, 1-3
- Goodman, Gilman. 2007. *Dasar Farmakologi Terapi*. Ed ke-10, Volume ke-2, Tim alih bahasa Sekolah ITB. Jakarta : EGC, hlm 1670-1674.
- Gunawan, Sulistia. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi V. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Guyton AC, Hall JE. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 11. Penerjemah : Irawati, Ramadani D, Indriyani F. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Handa SS. 2008. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants.
- Handoko T. Suharto B. 2003. *Insulin Glukagon dan Antidiabetik Oral*. Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. hlm 469, 471, 476-477.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Ed ke-2. Diterjemahkan Ibrahim F. Bandung: ITB Bandung Press.
- Hardjasaputra P, Budipranoto G, Sembiring SU, Kamil I. 2002. *Daftar Obat Indonesia*. Edisi 10. Gravidin medipress.
- Hasti S, Emrizal Susilawati F. 2016. Uji aktivitas Antidiabetes Ekstrak N-Heksan Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap Mencit Putih Diabetes. *Pharmacy*. Vol 13 No 2
- Inawati. 2011. Pengaruh Ekstrak Biji Juwet Terhadap Penurunan Glukosa Darah pada Mencit BALB/c Jantan yang Diinduksi Streptozotocin. Universitas Wijaya Kusuma, Surabaya.
- Junquiera LC. 2007. *Persiapan jaringan untuk pemeriksaan mikroskopik*. Histology Dasar: teks dan atlas. Edisi 10. Jakarta.

- Jusuf AA. 2009. *Histoteknik Dasar*. Depok : Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia
- Juwita R, Saleh C, Sitorus S. 2017. Uji Aktivitas Antihiperurisemia dari Daun Hijau Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap Mencit Jantan Mus Musculus. *Jurnal Atomik* 02:162-168.
- Katzung BG. 2002. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi III. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Katzung BG. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi ke-10. Nugroho AW, Rendy L, Dwijayanthi L, penerjemah; Nirmala WK, editor. Jakarta: ECG. Terjemahan dari: Basic and Clinical Pharmacology.
- Katzung BG, Masters SB, Trevor AJ. 2012. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 12. Jakarta : Buku Kedokteran EGC.
- Khadori R. 2017. Type 2 Diabetes Mellitus. Medscape <http://emedicine.medscape.com/article/117853-overview>
- Khaerati K, Ihwan, Maya MS. 2015. Uji Efek Antidiabetes Ekstrak Daun Rambusa (*Passiflora foetida* L.) Pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Glukosa. *Journal of Pharmacy* 1(2): 99-104.
- Koda kimble, Young, Alldredge, Corelli, Guglietmo, Kradjan, Williams. 2009. *Applied Therapeutics*. Ninth edition
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Ed ke-7. Volume ke-2. Bram Pendit, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Terjemahan dari: Robbins Basic Pathology 7<sup>th</sup> ed.
- Kusumawati D. 2004. *Deals with Animal Model in Laboratory*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Larantukan SVM, Setiasih NLE, Widyastuti SK. 2014. Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor Glukosa Darah Tikus Hiperglikemia. *Indonesia Medicus Veterinus* 3(4):292-299
- Lenzen S. 2008. The Mechanisms of Alloxan- and Streptozotocin-Induced Diabetes. *Diabetologia* 51 (2), 216-226.
- Lerebulan EF. 2014. Aktivitas kombinasi ekstrak etanolik batang brotowali (*tinespora crispa* L. Miers) dan fraksi ekstrak etanolik daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI) Hook. F. & Th) terhadap nekrosis dan jumlah sel  $\beta$  pankreas tikus yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

- Lestari A, Mulyono A. 2011. Analisis Citra Ginjal untuk Identifikasi Sel Piknosis dan Sel Nekrosis. *Jurnal Neutrino Vol. 4, No. 1*.
- Lestari EE, Kurniawaty E. 2016. Uji Efektivitas Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Sebagai Pengobatan Diabetes Melitus. *Jurnal Majority Vol.5, No.2*
- Lilley Linda Lane, Harrington Scott, Snyder Julie S. fifth edition. *Pharmacology and the Nursing Process*. hlm 477
- Makalalag. 2013. Uji Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia Steen.*) Terhadap kadar Gula Darah Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Sukrosa. *Jurnal Ilmiah Farmasi UNSRAT Vol.2 No.1*.
- Marianne, Yuandani, Rosnani. 2011. Antidiabetic activity From ethanol Extract of Kluwih's leaf (*Artocarpus camansi*). Hlm: 64-67
- Memon AH, Ismail Z, Aisha, AFA, Al-Suede, FSR, Hamil MSR, Hashim S, Saeed MAA, Laghari M, Majid AMSA. 2014. Isolation, characterization, crystal structure elucidation and anticancer study of dimethyl cardamomin, isolated from *Syzygium campanulatum* Korth. *Evidance-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014:1-11.
- Merck. 1987. *Buku Pedoman Kerja Kimia Klinik*. Jakarta: Merck. hlm 62-78
- Mescher AL. 2010. *Junquiera's Basic Histology Text & Atlas* 12<sup>th</sup> ed. New York : The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Muntiha M. 2001. Teknik pembuatan preparat histopatologi dari jaringan hewan dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E). *Temu Tekhnis Fungsional Non Peneliti*.
- Nabyl. 2012. Panduan Hidup Sehat Mencegah dan Mengatasi Diabetes Melitus. Yogyakarta: Aulia Publishing.
- Nugroho AE. 2006. Review hewan percobaan diabetes mellitus : patologi dan mekanisme aksi diabetogenik, animal models of diabetes mellitus: pathology and mechanism of some diabetogenics. *Biodiversitas* 7:378-382.
- Nurdiana NP, Setyawati, Ali M. 1998. Efek streptozotocin sebagai bahan diabetogenik pada tikus wistar dengan cara pemberian intraperitoneal dan intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw*
- Nurlaela. 2010. Pengaruh pemberian ekstrak bungan rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih yang diinduksi aloksan. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.

- Pasaribu R, Hutapea S, Ilyas S. 2015. Uji antihyperglykemik ekstrak etanol daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi diabetes dengan aloksan. *Jurnal Biosains* Vol. 1 No. 2.
- Perkeni. 2011. Konsensus pengelolaan diabetes melitus tipe 2 di Indonesia 2011. Semarang : PB PERKENI.
- Porth CM, Matfin G. 2009. Pathophysiology : Concepts of Altered Health States. 8<sup>th</sup> edition.
- Prameswari OM, Widjanarko SB. 2014. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Melitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol.2 No.2
- Price AS, Wilson L Mc C. 1992. *Patologis Konsep Klinik Proses-proses Penyakit*. Ed 6. Dharma A, penerjemah. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Price AS, Wilson. 2005. *Patofisiologi : Konsep Kimia Proses-Proses Penyakit*. Edisi 6. Volume 2. Hartanto H, penerjemah. Jakarta : EGC. Terjemahan dari : *Pathophysiology Clinical Concepts of Disease Processes*. Hlm 1267-1272.
- Rahayu L, Damayanti R, Thamrin. 2006. Gambaran histopatologi pankreas tikus hyperglykemia setelah mengkonsumsi k-karagenan dan i-karagenan. *Ilmu Kefarmasian Indonesia* 4: 96-101.
- Ragavan. 2006. Effect of *T. Arjuna* Stem Bark Extract on Histopathology of Liver, Kidney and Pancreas of Alloxan Induced Diabetic Rats. *African Journal of Biomedical Research* Vol. 9: 189-197.
- Ridwan A, Astrian RT, Barlian A. 2012. Pengukuran Efek Antidiabetes Polifenol 60 Berdasarkan Kadar Glukosa Darah dan Histologi pankreas Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang dikondisikan Diabetes Mellitus. *Jurnal FMIPA ITB*.
- Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y, Takahashi H. 2003. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes* 52:581-587.
- Rohmatin AR, Susetyarini E, Hadi S. 2015. The Damage of Hepar Cells of White Male Mice (*Rattus norvegicus*) which are induced by Carbon Tetrachloride after being given Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* Merr.) Ethanol Extract. FKIP-UMM: Malang.
- Sacher RA, Mc Pherson RA. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Jakarta: EGC. hlm. 518-526.

- Sakika KA, Hanwar D, Suhendi A, Trisharyanti I, Santoso B. 2014. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Rimpang Lempuyang Emprit (*Zingiber amaricans* BL) Pada Tikus Putih Yang Diinduksi Aloksan.
- Santoni, A., Darwis, D., dan Syahri, S. 2013. Isolasi antosianin dari buah pucuk merah (*Syzygium campanulatum* Korth) serta pengujian antioksidan dan aplikasi sebagai pewarna alami. *Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung*.
- Sembiring FR, Sulaeman R, Sribudiani E. 2015. Karakteristik Minyak Atsiri dari Daun Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium campanulatum* Korth. ). *Jom Faperta* Vol 2:2.
- Sherwood L. 2012. *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. Edisi ke-6. Brahm U. Pendit, penerjemah. Jakarta :EGC. Terjemahan dari : *Human Physiology : From Cells to Systems*.
- Simbar, Viktor. 2007. Olahraga perlu pemanasan dan pendinginan.
- Smith, Mangkoewidjaja. 1988. *Pemeliharaan Pembiakan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta : UI Press.
- Soegondo S. 2005. *Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Melitus Terkini, dalam Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu*. 17-26. Jakarta: Indonesia University Press.
- Soegondo S. 2013. *Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu*. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Suarsana IN, Priosoeryanto BP, Bintang M, Wresdiyati T. 2010. Profil glukosa darah dan ultrastruktur sel beta pankreas tikus yang diinduksi senyawa aloksan. *JITV* 15:118-123.
- Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty. Hal 99-100
- Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiadi S, editor. 2006. *Buku Ajar Penyakit Dalam*. Jilid 3 Edisi IV. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI. Hal 1852-1893.
- Sugiyanto. 1995. *Petunjuk Praktikum Farmakologi* Edisi IV. Yogyakarta : Fakultas Farmasi Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi UGM.
- Suharmiati. 2003. Cermin Dunia Kedokteran No. 140: *Pengujian Bioaktivitas antidiabetes Melitus Tumbuhan Obat*. Surabaya: Departemen Kesehatan

- Suherman SK. 2007. *Insulin dan antidiabetik oral*. Dalam : Gunawan, SG., Setiabudy R, Nafrialdi, Elysabeth. Farmakologi dan Terapi. Jakarta: Departemen Farmakologi.
- Sujono TA, Sutrisna EM. 2010. Pengaruh Lama Praperlakuan Flavonoid Rutin Terhadap Efek Hipoglikemik Tolbutamid Pada Tikus Jantan Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi* Vol 11 No. 2.
- Sukandar EY, Andrajati R, Sigit JI, Adnyana IK, Setiadi AAP, Kusnandar. 2008 *ISO Farmakoterapi*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan. Hlm 26-36
- Sundhani E, Syarifah DCN, Zumrohmi LR, Nurulita NA. 2016. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Adam Hawa (*Rhoeo discolor*) dan Daun Pucuk Merah (*Syzygium campanulatum* korth.) dalam Menurunkan Kadar Gula Darah. *Pharmacy* Vol 13.
- Szkudelski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in b-cell of the rat pancreas. *Physiol. Res.* 50:536-546.
- Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. 2011. Phytochemical Screening And Extraction: A Review, *International Pharmaceutica Scientia*, 1, 1, 98-106.
- Tjay H, Rahardja K. 2002. *Obat-obat Penting, Khasiat Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi ke-5 Jakarta : PT Alex Media Komputindo hlm 690-713.
- Uray AD. 2009. Profil sel  $\beta$  pulau Langerhans jaringan pankreas tikus diabetes melitus yang diberi Virgin Coconut Oil (VCO) [Skripsi]. Bogor : Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian.
- Widiowati W. 2008. Potensi antioksidan sebagai antidiabetes. *Jurnal Kedokteran Maranatha* 7(2).
- Wijayakusuma H. 2004. *Bebas Diabetes Mellitus ala Hembing*. Jakarta : Puspa Swara.
- Wijayanti R, Rosyid A, Izza IK. 2017. Pengaruh ekstrak kulit umbi bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap kadar kolesterol darah total tikus jantan galur wistar diabetes mellitus. *Jurnal Pharmacia* 7(1) : 9-16.
- Wonodirekso S. 2010. *Penuntun Praktikum Histologi*. Jakarta: Dian Rakyat.
- WHO. 2016. Diabetes. [www.who.int/topics/diabetes\\_melitus/en/](http://www.who.int/topics/diabetes_melitus/en/). Diakses 6 Agustus 2017
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi ke-5. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. Hlm 4-10, 560-564, 568, 570.

- Yassin MM, Mwafy SN. 2007. Protective Potential of Glimepiride and Nerium oleander Extract on Lipid Profile, Body Growth Rate, and Renal Function in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Turk J Biol* 31 : 95-102
- Yunita EO. 2013. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak etanol Biji Alpukat (persea americana Mill.) Terhadap Tikus Galur Wistar yang Diinduksi Aloksan. Fakultas Farmasi : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Yuriska FA. 2009. *Efek Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar. Undergraduate thesis.* Fakultas kedokteran. Universitas Diponegoro.
- Zubaidah E, Rosdiana I. 2016. Efektifitas cuka salak dan cuka apel terhadap kadar glukosa darah dan histopatologi pankreas tikus diabetes. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 4(1): 170-179.

# LAMPIRAN

## Lampiran 1. Surat Determinasi tanaman pucuk merah



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
<http://www.biology.mipa.uns.ac.id>, E-mail [biologi@mipa.uns.ac.id](mailto:biologi@mipa.uns.ac.id)

Nomor : 237/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Khoirun Nisa Krissanty  
NIM : 20144248A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Syzygium myrtifolium* Walp.  
Synonym : *Eugenia oleina* Wight  
*Eugenia myrtifolia* Roxb.  
Familia : Myrtaceae

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

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59d-72b-73b-74a-75b-76b-333b-334b-335b-336b-345b-346b-348b-349a-350b-351a-352a 84. Myrtaceae  
1a-2b-3b-7b-8b-9b-10b 9. Syzygium  
1b-7b-8b-11b-13b-14b-15a-16b-18b-20a *Syzygium myrtifolium* Walp.

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : perdu, menahun, tumbuh tegak, tinggi 0.75-3 m. Akar : tunggang, bercabang, putih kotor atau putih kekuningan atau coklat muda. Batang : bentuk bulat ketika dewasa, ketika muda segi empat, berkayu, bercabang, kulit batang berwarna coklat abu-abu, permukaan licin tapi pecah-pecah. Daun : tunggal, letak berhadapan; helaian daun berbentuk lanset sempit atau lanset-bulat telur, panjang 4-7 cm, lebar 0.75-3 cm, pangkal membulat hingga tumpul, tepi daun rata, ujung meruncing, permukaan gundul dan mengkilat, tulang daun menyirip, berbintik kelenjar minyak yang sangat halus, daging daun agak kaku, permukaan atas hijau tua dan permukaan bawah hijau muda ketika dewasa, ketika muda berwarna merah hingga merah tua, berbau harum; tangkai daun gundul, panjang 3 mm. Bunga : majemuk malai dengan banyak kuntum bunga, muncul di ujung batang atau ketiak daun paling atas, bunga kecil-kecil, duduk, berbau harum, bagian-bagian bunga berbilangan-4-5, bunga berkelamin banci; kelopak bunga berbentuk seperti mangkuk, panjangnya sekitar 4-5 mm, warna hijau-merah muda; daun mahkota bunga berlempasan, berwarna putih-merah muda; benang sari banyak, berwarna putih-merah muda, lekas rontok; tangkai putik merah hingga merah muda, panjang putik 5-6 mm; piringan di tengah agak persegi, merah muda hingga merah. Buah : buni membulat, diameter 8 mm, berwarna hijau-merah muda ketika muda dan hitam apabila masak. Biji : 1-2 biji per buah, warna coklat kehitaman.

Surakarta, 12 Desember 2017

Kepala Lab. Program Studi Biologi

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

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

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



Mengetahui  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

## Lampiran 2. Surat *Ethical Clearance*

2/26/2018

Form A2



**HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE**  
**KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
**Dr. Moewardi General Hospital**  
**RSUD Dr. Moewardi**



**School of Medicine Sebelas Maret University**  
**Fakultas Kedokteran Universitas sebelas Maret**

**ETHICAL CLEARANCE**  
**KELAIKAN ETIK**

Nomor : 236 / II / HREC / 2018

*The Health Research Ethics Committee Dr. Moewardi General Hospital / School of Medicine Sebelas Maret*  
 Komisi Etik Penelitian Kesehatan RSUD Dr. Moewardi / Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

*Maret University Of Surakarta, after reviewing the proposal design, herewith to certify*  
 Surakarta, setelah menilai rancangan penelitian yang diusulkan, dengan ini menyatakan

*That the research proposal with topic :*  
 Bahwa usulan penelitian dengan judul

**EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PUCUK MERAH TERHADAP KADAR GULA DARAH DAN HISTOPATOLOGI PANKREAS  
 TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

*Principal investigator*  
 Peneliti Utama : Khoirun Nisa Krissanty  
 20144248A

*Location of research*  
 Lokasi Tempat Penelitian : lab Gizi UGM dan UNS

*Is ethically approved*  
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 26 Feb 2018

**Chairman**  
**Ketua**

**Dr. Hari Wijoso, dr. Sp.FMM**  
 NIP. 19621022 199503 1 001

### Lampiran 3. Surat histopatologi



KEMENTERIAN RISET TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET SURAKARTA  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
BAGIAN PATOLOGI ANATOMI  
Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta. Telp. (0271) 632494, Fax. (0271) 632494

---

#### SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Prof. Dr. Ambar Mudigdo, dr. SpPA(K)

Jabatan : Kepala Laboratorium Patologi Anatomi

Dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Khoirun Nisa Krissanty

NIM : 20144248A

Judul Penelitian : “ Efek ekstrak etanol daun pucuk merah (*Syzygium oleana*) terhadap kadar gula darah dan histopatologi pankreas tikus putih jantan yang diinduksi aloksan “

telah menyelesaikan tugas penelitiannya di Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta dengan baik dan sesuai prosedur yang berlaku.

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Kepala

Prof. Ambar Mudigdo, dr. Sp.PA(K)  
NIP.19490317 1977609 1 001

#### Lampiran 4. Tanaman pucuk merah



Daun pucuk merah basah



Daun pucuk merah kering



Ekstrak daun pucuk merah

## Lampiran 5. Alat, bahan dan perlakuan



Glibenklamid



aloksan monohidrat



CMC Na



Kit GOD - PAP



Penetapan berat jenis



Penetapan kadar air



Penimbangan BB tikus



Induksi Aloksan



Pengambilan darah

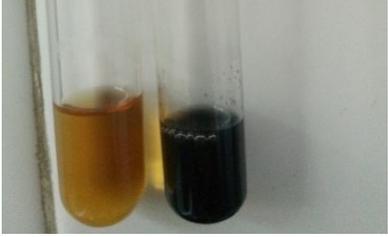


Pembedahan



Pankreas tikus

**Lampiran 6. Hasil identifikasi kimia serbuk dan ekstrak**

Senyawa dan pereaksi	Serbuk	Ekstrak
<p><b>Flavonoid</b></p> <p>Mg + alkohol : HCl (1:1) + amil alkohol</p>	 <p>Warna jingga pada amil alkohol (positif)</p>	 <p>Warna merah pada amil alkohol (positif)</p>
<p><b>Saponin</b></p> <p>+ air panas kemudian dikocok</p>	 <p>Terbentuk buih (positif)</p>	 <p>Terbentuk buih (positif)</p>
<p><b>Tanin</b></p> <p>FeCl<sub>3</sub></p>	 <p>Warna hitam kehijauan (positif)</p>	 <p>Warna hitam kehijauan (positif)</p>
<p><b>Alkaloid</b></p> <p>Reagen meyer</p> <p>HCl + Reagen dragendroff</p>	 <p>Dragendroff : terbentuk endapan coklat atau keruh (positif)</p> <p>Meyer : terbentuk endapan dan keruh putih (positif)</p>	 <p>Meyer : terbentuk endapan dan keruh putih (positif)</p> <p>Dragendroff : terbentuk endapan atau keruh (positif)</p>

<b>Senyawa dan reaksi</b>	<b>Serbuk</b>	<b>Ekstrak</b>
<b>Steroid dan terpenoid</b>  Libermann burchard + $H_2SO_4$ pekat	 Warna coklat (negatif)	 Warna coklat (negatif)

## Lampiran 7. Perhitungan dosis dan volume pemberian

### 1. Aloksan

Pembuatan aloksan dibuat dengan konsentrasi 1,5% dengan cara menimbang sebanyak 1,5 g kemudian dilarutkan 100 ml larutan NaCl

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi aloksan} &= 1,5 \text{ g}/100 \text{ mL} \\ &= 1500 \text{ mg}/100 \text{ mL} \\ &= 15 \text{ mg}/\text{mL}\end{aligned}$$

Dosis aloksan yang digunakan 150 mg/kg BB secara intra peritoneal.

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

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

$$\begin{aligned}\text{Volume pemberian aloksan} &= \frac{30 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} \\ &= 2 \text{ mL untuk } 200 \text{ g BB tikus}\end{aligned}$$

### 2. Suspensi CMC Na 0,5%

Serbuk CMC Na 0,5 g kemudian disuspensikan dengan aquades panas ad 100 mL sampai homogen. Suspensi ini digunakan sebagai kontrol dan suspending agent.

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

### 3. Glibenklamid

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

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

Berat tablet glibenklamid = 0,2 g

$$\text{Dosis glibenklamid tablet untuk tikus } 200 \text{ g} = \frac{0,09 \text{ mg}}{5 \text{ mg}} \times 200 \text{ g}$$

$$= 3,6 \text{ mg} / 200 \text{ g BB}$$

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

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

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

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian glibenklamid} &= \frac{3,6 \text{ mg}}{1,8 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} \\ &= 2 \text{ mL untuk } 200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

### **Pembuatan larutan stok dan volume pemberian**

#### **1. Ekstrak daun pucuk merah 150 mg/kg BB**

Menimbang ekstrak daun pucuk merah 1,5 gram disuspensikan dengan CMC 0,5% hingga homogen kemudian ditambahkan ad 100 ml

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi larutan stok ekstrak daun pucuk merah} &= \frac{1,5 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \\ &= 1,5 \% \\ &= \frac{1500 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \\ &= 15 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Ekstrak daun pucuk merah 150 mg/kg BB = 30 mg/200 g BB

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian ekstrak daun pucuk merah} &= \frac{30 \text{ mg}}{15 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} \\ &= 2 \text{ mL}/200 \text{ g BB tikus} \end{aligned}$$

Jadi, volume pemberian untuk tikus dosis 150 mg/kg BB adalah 2 ml/200 g BB tikus

## 2. Ekstrak daun pucuk merah 300 mg/kg BB

Menimbang ekstrak daun pucuk merah 3 gram disuspensikan dengan CMC 0,5% hingga homogen kemudian ditambahkan ad 100 ml

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi larutan stok ekstrak daun pucuk merah} &= \frac{3 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \\ &= 3 \% \\ &= \frac{3000 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \\ &= 30 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Ekstrak daun pucuk merah 300 mg/kg BB = 60 mg/200 g BB

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian ekstrak daun pucuk merah} &= \frac{60 \text{ mg}}{30 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} \\ &= 2 \text{ mL/200 g BB tikus} \end{aligned}$$

Jadi, volume pemberian untuk tikus dosis 300 mg/kg BB adalah 2 ml/200 g BB tikus

## 3. Ekstrak daun pucuk merah 600 mg/kg BB

Menimbang ekstrak daun pucuk merah 6 gram disuspensikan dengan CMC 0,5% hingga homogen kemudian ditambahkan ad 100 ml

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi larutan stok ekstrak daun pucuk merah} &= \frac{6 \text{ g}}{100 \text{ mL}} \\ &= 6 \% \\ &= \frac{6000 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \\ &= 60 \text{ mg/mL} \end{aligned}$$

Ekstrak daun pucuk merah 600 mg/kg BB = 120 mg/200 g BB

$$\begin{aligned} \text{Volume pemberian ekstrak daun pucuk merah} &= \frac{120 \text{ mg}}{60 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} \\ &= 2 \text{ mL/200 g BB tikus} \end{aligned}$$

Jadi, volume pemberian untuk tikus dosis 600 mg/kg BB adalah 2 ml/200 g BB tikus

**Lampiran 8. Hasil perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun pucuk merah**

<b>Berat basah (Kg)</b>	<b>Berat kering (Kg)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
4,80	3,10	64,58

perhitungan rendemen :

$$\text{rendemen} = \frac{\text{berat kering daun}}{\text{berat basah daun}} \times 100 \%$$

$$\begin{aligned} \% \text{rendemen} &= \frac{3,1}{4,8} \times 100 \% \\ &= 64,58\% \end{aligned}$$

**Lampiran 9. Hasil perhitungan rendemen ekstrak daun pucuk merah**

<b>Bobot serbuk (g)</b>	<b>Bobot ekstrak (g)</b>	<b>Rendemen (%)</b>
700	296,95	42,42%

Berat gelas kosong = 323,05 g

Berat gelas + ekstrak = 620 g

Berat ekstrak = 296,95 g

perhitungan rendemen :

$$\text{rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk}} \times 100 \%$$

$$\text{rendemen} = \frac{296,9448}{700} \times 100 \% = 42,42\%$$

**Lampiran 10. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun pucuk merah**

<b>Replikasi</b>	<b>Berat serbuk (g)</b>	<b>Susut pengeringan (%)</b>
1	2	8,60
2	2	8,90
3	2	9,20
Rata – rata		8,90± 0,30

Perhitungan rata – rata susut pengeringan serbuk daun pucuk merah:

$$\frac{8,60\% + 8,90\% + 9,20\%}{3} = 8,90\%$$

**Hasil penetapan susut pengeringan ekstrak daun pucuk merah**

<b>Replikasi</b>	<b>Berat serbuk (g)</b>	<b>Susut pengeringan (%)</b>
1	2	27,68
2	2	26,98
3	2	27,45
Rata - rata		27,37 ± 0.36

Perhitungan rata – rata susut pengeringan ekstrak daun pucuk merah:

$$\frac{27,677\% + 26,978\% + 27,451\%}{3} = 27,369\%$$

**Lampiran 11. Hasil perhitungan kadar air serbuk**

<b>Replikasi</b>	<b>Berat serbuk (g)</b>	<b>Volume terbaca (mL)</b>	<b>Kadar air (%)</b>
1	20	1,20	6,00
2	20	1,20	6,00
3	20	1,10	5,50
Rata - rata			5,83 ± 0,29

perhitungan kadar air :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{\text{volume terbaca (ml)}}{\text{berat serbuk}} \times 100 \%$$

Replikasi 1 :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,2}{20} \times 100 \% = 6 \%$$

Replikasi 2 :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,2}{20} \times 100 \% = 6 \%$$

Replikasi 3 :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{1,1}{20} \times 100 \% = 5,5 \%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{6 + 6 + 5,5}{3} = 5,83\%$$

**Lampiran 12. Perhitungan Berat jenis ekstrak**

Menimbang ekstrak = 100 mg dilarutkan dengan etanol ad 50 mL

$$\text{Berat Piknometer kosong} = 27,6677 \text{ gr}$$

$$\text{Berat Piknometer + aquades} = 77,4045 \text{ gr}$$

$$\text{Berat Aquades} = 77,4045 \text{ gr} - 27,6677 \text{ gr} = 49,7368 \text{ g}$$

$$\text{Bj air} = \frac{49,7368}{1} = 49,7368$$

$$\text{Berat Piknometer kosong} = 27,6677 \text{ gr}$$

$$\text{Berat Piknometer + ekstrak} = 67,802 \text{ gr}$$

$$\text{Berat Ekstrak} = 67,802 \text{ gr} - 27,6677 \text{ gr} = 40,1343 \text{ g}$$

$$\text{Bj ekstrak} = \frac{40,1343}{49,7368} = 0,8069 \text{ g/ml}$$

**Lampiran 13. Hasil pengukuran kadar gula darah pada T0**

Kelompok	Kode hewan	Standar	Absorbansi	Kadar gula	Kadar rata-rata±SD
Normal (I)	I.1	0.298	0.224	75.17	77.65±1.92
	I.2		0.232	77.85	
	I.3		0.240	80.54	
	I.4		0.230	77.18	
	I.5		0.231	77.52	
Diabetes (II)	II.1	0.298	0.228	76.51	76.78±3.99
	II.2		0.248	83.22	
	II.3		0.230	77.18	
	II.4		0.218	73.15	
	II.5		0.220	73.83	
Pemanding (III)	III.1	0.298	0.215	72.15	72.01±1.40
	III.2		0.212	71.14	
	III.3		0.210	70.47	
	III.4		0.221	74.16	
	III.5		0.215	72.15	
Pucuk merah 150 mg/kg (IV)	IV.1	0.298	0.240	80.54	76.51±3.27
	IV.2		0.237	79.53	
	IV.3		0.221	74.16	
	IV.4		0.223	74.83	
	IV.5		0.219	73.49	
Pucuk merah 300 mg/kg (V)	V.1	0.298	0.214	71.81	71.41±1.10
	V.2		0.209	70.13	
	V.3		0.210	70.47	
	V.4		0.217	72.82	
	V.5		0.214	71.81	
Pucuk merah 600 mg/kg (VI)	VI.1	0.298	0.219	73.49	73.49±1.44
	VI.2		0.225	75.50	
	VI.3		0.221	74.16	
	VI.4		0.216	72.48	
	VI.5		0.214	71.81	

Keterangan

Diabetes : kelompok kontrol negatif diberi CMC Na 0,5%

Pemanding : kelompok kontrol positif diberi glibenklamid dosis 0,45 mg/kg

**Lampiran 14. Hasil pengukuran kadar gula darah pada T1**

Kelompok	Kode hewan	Standar	Absorbansi	Kadar gula	Kadar rata-rata±SD
<b>Normal (I)</b>	I.1	0.311	0.237	76.21	78.78±1.76
	I.2		0.245	78.78	
	I.3		0.251	80.71	
	I.4		0.243	78.14	
	I.5		0.249	80.06	
<b>Diabetes (II)</b>	II.1	0.311	0.637	204.82	204.44±2.16
	II.2		0.640	205.79	
	II.3		0.644	207.07	
	II.4		0.628	201.93	
	II.5		0.630	202.57	
<b>Pembanding (III)</b>	III.1	0.311	0.625	200.96	202.25±1.02
	III.2		0.631	202.89	
	III.3		0.629	202.25	
	III.4		0.633	203.54	
	III.5		0.627	201.61	
<b>Pucuk merah 150 mg/kg (IV)</b>	IV.1	0.311	0.649	208.68	205.08±2.77
	IV.2		0.644	207.07	
	IV.3		0.632	203.22	
	IV.4		0.636	204.50	
	IV.5		0.628	201.93	
<b>Pucuk merah 300 mg/kg (V)</b>	V.1	0.311	0.629	202.25	205.02±3.93
	V.2		0.622	200.00	
	V.3		0.639	205.47	
	V.4		0.646	207.72	
	V.5		0.652	209.65	
<b>Pucuk merah 600 mg/kg (VI)</b>	VI.1	0.311	0.628	201.93	202.32±1.78
	VI.2		0.638	205.14	
	VI.3		0.630	202.57	
	VI.4		0.627	201.61	
	VI.5		0.623	200.32	

Keterangan

Diabetes : kelompok kontrol negatif diberi CMC Na 0,5%

Pembanding : kelompok kontrol positif diberi glibenklamid dosis 0,45 mg/kg

**Lampiran 15. Hasil pengukuran kadar gula darah pada T2**

Kelompok	Kode hewan	Standar	Absorbansi	Kadar gula	Kadar rata-rata $\pm$ SD
Normal (I)	I.1	0.285	0.218	76.49	79.37 $\pm$ 1.90
	I.2		0.225	78.95	
	I.3		0.232	81.40	
	I.4		0.226	79.30	
	I.5		0.230	80.70	
Diabetes (II)	II.1	0.285	0.586	205.61	205.33 $\pm$ 2.18
	II.2		0.589	206.67	
	II.3		0.593	208.07	
	II.4		0.578	202.81	
	II.5		0.580	203.51	
Pembanding (III)	III.1	0.285	0.529	185.61	187.44 $\pm$ 1.39
	III.2		0.535	187.72	
	III.3		0.534	187.37	
	III.4		0.540	189.47	
	III.5		0.533	187.02	
Pucuk merah 150 mg/kg (IV)	IV.1	0.285	0.586	205.61	201.54 $\pm$ 2.77
	IV.2		0.578	202.81	
	IV.3		0.569	199.65	
	IV.4		0.573	201.05	
	IV.5		0.566	198.60	
Pucuk merah 300 mg/kg (V)	V.1	0.285	0.568	199.30	201.75 $\pm$ 4.24
	V.2		0.560	196.49	
	V.3		0.573	201.05	
	V.4		0.584	204.91	
	V.5		0.590	207.02	
Pucuk merah 600 mg/kg (VI)	VI.1	0.285	0.535	187.72	187.79 $\pm$ 2.10
	VI.2		0.544	190.88	
	VI.3		0.537	188.42	
	VI.4		0.532	186.67	
	VI.5		0.528	185.26	

## Keterangan

Diabetes : kelompok kontrol negatif diberi CMC Na 0,5%

Pembanding : kelompok kontrol positif diberi glibenklamid dosis 0,45 mg/kg

**Lampiran 16. Hasil pengukuran kadar gula darah pada T3**

Kelompok	Kode hewan	Standar	Absorbansi	Kadar gula	Kadar rata-rata $\pm$ SD
Normal (I)	I.1	0.251	0.196	78.09	80.96 $\pm$ 2.19
	I.2		0.199	79.28	
	I.3		0.209	83.27	
	I.4		0.205	81.67	
	I.5		0.207	82.47	
Diabetes (II)	II.1	0.251	0.523	208.37	209.32 $\pm$ 1.58
	II.2		0.526	209.56	
	II.3		0.530	211.16	
	II.4		0.528	210.36	
	II.5		0.520	207.17	
Pembanding (III)	III.1	0.251	0.250	99.60	101.43 $\pm$ 2.58
	III.2		0.258	102.79	
	III.3		0.246	98.01	
	III.4		0.262	104.38	
	III.5		0.257	102.39	
Pucuk merah 150 mg/kg (IV)	IV.1	0.251	0.368	146.61	141.43 $\pm$ 3.02
	IV.2		0.355	141.43	
	IV.3		0.351	139.84	
	IV.4		0.352	140.24	
	IV.5		0.349	139.04	
Pucuk merah 300 mg/kg (V)	V.1	0.251	0.325	129.48	131.31 $\pm$ 4.10
	V.2		0.317	126.29	
	V.3		0.329	131.08	
	V.4		0.332	132.27	
	V.5		0.345	137.45	
Pucuk merah 600 mg/kg (VI)	VI.1	0.251	0.266	105.98	103.19 $\pm$ 3.24
	VI.2		0.269	107.17	
	VI.3		0.256	101.99	
	VI.4		0.254	101.20	
	VI.5		0.250	99.60	

Keterangan

Diabetes : kelompok kontrol negatif diberi CMC Na 0,5%

Pembanding : kelompok kontrol positif diberi glibenklamid dosis 0,45 mg/kg

**Lampiran 17. Hasil penimbangan berat badan tikus**

Kelompok	Kode hewan	Berat badan (g)				
		Sebelum aklimatisasi	Hari ke-0	Hari ke-4	Hari ke-7	Hari ke-14
Normal	1	189	195	201	207	
	2					216
	3	192	199	202	208	214
	4	191	197	204	211	216
	5	190	199	203	210	210
			188	194	199	204
Rata – rata ± SD		190 ± 1,58	196± 2,28	201 ± 1,92	208± 2,74	213 ± 2,49
Diabetes	1	185	193	190	187	182
	2					184
	3	186	194	192	189	178
	4	182	188	186	182	177
	5	180	185	184	179	180
			183	190	188	182
Rata – rata ± SD		183± 2,39	190± 3,67	188 ±3,16	183± 3,16	180 ±2,86
Pemanding	1	180	188	187	190	195
	2					193
	3	181	186	184	191	198
	4	183	191	190	194	204
	5	190	194	193	198	207
			191	196	195	201
Rata – rata ± SD		185 ± 5,15	191 ± 4,12	189 ± 4,44	194 ± 4,66	199 ± 5,94
Pucuk merah 150 mg/kg	1	187	196	192	196	199
	2					197
	3	184	189	188	192	195
	4	183	188	187	191	193
	5	180	187	186	189	208
			197	200	199	202
Rata – rata ± SD		186 ± 6,53	192 ± 5,70	190± 5,32	194 ± 5,15	198 ± 5,81
Pucuk merah 300 mg/kg	1	192	199	196	201	206
	2					204
	3	189	198	195	199	201
	4	188	193	190	193	209
	5	186	198	197	201	200
			185	193	191	196
Rata – rata ± SD		188 ± 2,74	196 ± 2,95	193 ± 3,11	198 ± 3,46	204 ± 3,67
Pucuk merah 600 mg/kg	1	188	192	190	197	202
	2					199
	3	182	190	186	191	198
	4	180	187	185	190	203
	5	188	192	190	197	201
			184	191	188	194
Ratarata±SD		184 ±3,58	190 ± 2,07	187 ± 2,28	193±3,27	200 ±2,07

**Lampiran 18. Persentase penurunan kadar gula darah  $\Delta T1$  dan  $\Delta T2$**

Kelompok	$\Delta T1 = T1 - T2$	$\Delta T2 = T1 - T3$
Kelompok normal	-0.59±0.39	-2.18±1.11
Kelompok diabetes	-0.90±0.08	-4.89±2.02
Pembanding	14.81±0.51	100.82±2.11
Pucuk merah 150 mg/kg	3.54±0.45	63.65±1.37
Pucuk merah 300 mg/kg	3.26±0.72	73.70±1.29
Pucuk merah 600 mg/kg	14.53±0.44	99.13±2.10

Kelompok	Presentase penurunan $\Delta T1 = T1 - T2 / T1 \times 100$ (%)	Presentase penurunan $\Delta T2 = T1 - T3 / T1 \times 100$ (%)
Kelompok normal	-0.75±0.50	-2.76±1.41
Kelompok diabetes	-0.44±0.04	-2.39±1.01
Pembanding	7.32±0.28	49.85±1.14
Pucuk merah 150 mg/kg	1.72±0.22	31.03±0.76
Pucuk merah 300 mg/kg	1.59±0.36	35.95±0.91
Pucuk merah 600 mg/kg	7.18±0.26	49.00±1.27

Misalnya

Pada kelompok pucuk merah 150 mg/kg BB

$$\begin{aligned}\Delta T1 &= \frac{T1 - T2}{T1} \times 100 \% \\ &= \frac{3,54}{205,08} \times 100 \% \\ &= 1,72\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\Delta T2 &= \frac{T1 - T3}{T1} \times 100 \% \\ &= \frac{63,65}{205,08} \times 100 \% \\ &= 31,03\end{aligned}$$

**Lampiran 19. Hasil perhitungan jumlah sel normal dan sel yang mengalami kerusakan**

Setiap jumlah sel yang mengalami kerusakan berupa piknosis, karioreksis, dan kariolisis dikali dengan skor dari tiap bentuk kerusakan, seperti dibawah ini :

Skor	Kerusakan
0	Normal
1	Piknosis
2	Karioreksis
3	Kariolisis

Kelompok	Kode tikus	Jumlah sel				SKP (total)	Rata – rata kerusakan ± SD
		Normal	Piknosis	Karioreksis	Kariolisis		
Normal	1	92	3	5	0	13	9,67 ± 3,06
	2	96	1	3	0	7	
	3	93	5	2	0	9	
Diabetes	1	58	30	12	0	54	58,67 ± 8,96
	2	58	31	11	0	53	
	3	52	27	21	0	69	
Pemanding	1	90	7	3	0	13	17,67 ± 4,51
	2	89	4	7	0	18	
	3	86	6	8	0	22	
Daun pucuk merah 150 mg/kg BB	1	77	8	15	0	38	31,33 ± 5,86
	2	83	7	10	0	27	
	3	80	11	9	0	29	
Daun pucuk merah 300 mg/kg BB	1	85	7	8	0	23	19,33 ± 4,04
	2	87	6	7	0	20	
	3	89	7	4	0	15	
Daun pucuk merah 600 mg/kg BB	1	86	2	12	0	26	20 ± 5,29
	2	89	4	7	0	18	
	3	90	4	6	0	16	

### Lampiran 20. Hasil uji statistik one way anova BB T3

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kontrol_normal	.212	5	.200	.895	5	.384
kontrol_diabetes	.179	5	.200	.962	5	.823
kontrol_pembanding	.193	5	.200	.933	5	.616
dosis_150mg	.259	5	.200	.884	5	.330
dosis_300mg	.193	5	.200	.957	5	.787
dosis_600mg	.180	5	.200	.952	5	.754

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari hasil statistik diatas dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *one way anova*.

#### Test of Homogeneity of Variances

beratbadan\_tikus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.867	5	24	.138

Nilai probabilitas dari hasil statistik diatas adalah sig. = 0,138  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) atau keenam kelompok tersebut memiliki varian yang sama sehingga dilanjutkan uji *post hoc*.

#### ANOVA

beratbadan\_tikus

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2998.000	5	599.600	35.514	.000
Within Groups	405.200	24	16.883		
Total	3403.200	29			

Dari output anova diatas dapat diketahui nilai sig. 0,000  $< 0,05$  ( $H_0$  ditolak) maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada tiap kelompok.

## Multiple Comparisons

beratbadan\_tikus  
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol normal	kontrol diabetes	33.600	2.599	.000	25.56	41.64
	kontrol pembanding	14.400	2.599	.000	6.36	22.44
	dosis 150 mg/kg BB	15.400	2.599	.000	7.36	23.44
	dosis 300 mg/kg BB	9.800	2.599	.011	1.76	17.84
	dosis 600 mg/kg BB	13.200	2.599	.000	5.16	21.24
kontrol diabetes	kontrol normal	-33.600	2.599	.000	-41.64	-25.56
	kontrol pembanding	-19.200	2.599	.000	-27.24	-11.16
	dosis 150 mg/kg BB	-18.200	2.599	.000	-26.24	-10.16
	dosis 300 mg/kg BB	-23.800	2.599	.000	-31.84	-15.76
	dosis 600 mg/kg BB	-20.400	2.599	.000	-28.44	-12.36
kontrol pembanding	kontrol normal	-14.400	2.599	.000	-22.44	-6.36
	kontrol diabetes	19.200	2.599	.000	11.16	27.24
	dosis 150 mg/kg BB	1.000	2.599	.999	-7.04	9.04
	dosis 300 mg/kg BB	-4.600	2.599	.502	-12.64	3.44
	dosis 600 mg/kg BB	-1.200	2.599	.997	-9.24	6.84
dosis 150 mg/kg BB	kontrol normal	-15.400	2.599	.000	-23.44	-7.36
	kontrol diabetes	18.200	2.599	.000	10.16	26.24
	kontrol pembanding	-1.000	2.599	.999	-9.04	7.04
	dosis 300 mg/kg BB	-5.600	2.599	.294	-13.64	2.44
	dosis 600 mg/kg BB	-2.200	2.599	.955	-10.24	5.84
dosis 300 mg/kg BB	kontrol normal	-9.800	2.599	.011	-17.84	-1.76
	kontrol diabetes	23.800	2.599	.000	15.76	31.84
	kontrol pembanding	4.600	2.599	.502	-3.44	12.64
	dosis 150 mg/kg BB	5.600	2.599	.294	-2.44	13.64
	dosis 600 mg/kg BB	3.400	2.599	.778	-4.64	11.44
dosis 600 mg/kg BB	kontrol normal	-13.200	2.599	.000	-21.24	-5.16
	kontrol diabetes	20.400	2.599	.000	12.36	28.44
	kontrol pembanding	1.200	2.599	.997	-6.84	9.24
	dosis 150 mg/kg BB	2.200	2.599	.955	-5.84	10.24
	dosis 300 mg/kg BB	-3.400	2.599	.778	-11.44	4.64

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## beratbadan\_tikus

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol diabetes	5	180.20		
dosis 150 mg/kg BB	5		198.40	
kontrol pembanding	5		199.40	
dosis 600 mg/kg BB	5		200.60	
dosis 300 mg/kg BB	5		204.00	
kontrol normal	5			213.80
Sig.		1.000	.294	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar gula darah yang signifikan antara kelompok dosis 150 mg/kg BB dengan kelompok pembanding, kelompok dosis 600 mg/kg BB, kelompok dosis 300 mg/kg BB kecuali pada kelompok diabetes dan kelompok normal.

## Lampiran 21. Hasil uji statistik one way anova T0

### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kontrol_diabetes	.204	3	.	.993	3	.844
kontrol_pembanding	.293	3	.	.922	3	.460
dosis_150mg	.220	3	.	.986	3	.776
dosis_300mg	.175	3	.	1.000	3	.996
dosis_600mg	.219	3	.	.987	3	.783

a. Lilliefors Significance Correction

Dari hasil statistik diatas dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *one way anova*.

### Test of Homogeneity of Variances

kqdT0 tikus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.279	4	10	.885

### ANOVA

kqdT0 tikus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	48.221	4	12.055	10.080	.002
Within Groups	11.960	10	1.196		
Total	60.182	14			

Nilai probabilitas dari hasil statistik diatas adalah sig. =  $0,885 > 0,05$  ( $H_0$  diterima) atau keenam kelompok tersebut memiliki varian yang sama sehingga dilanjutkan uji *post hoc*.

Dari output anova diatas dapat diketahui nilai sig.  $0,002 < 0,05$  ( $H_0$  ditolak) maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada tiap kelompok.

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

kgdTO\_tikus  
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol diabetes	kontrol pembanding	-.247	.893	.998	-3.19	2.69
	dosis 150 mg/kg BB	2.543	.893	.099	-.40	5.48
	dosis 300 mg/kg BB	2.787	.893	.065	-.15	5.73
	dosis 600 mg/kg BB	4.480 <sup>*</sup>	.893	.004	1.54	7.42
kontrol pembanding	kontrol diabetes	.247	.893	.998	-2.69	3.19
	dosis 150 mg/kg BB	2.790	.893	.065	-.15	5.73
	dosis 300 mg/kg BB	3.033 <sup>*</sup>	.893	.042	.09	5.97
	dosis 600 mg/kg BB	4.727 <sup>*</sup>	.893	.003	1.79	7.67
dosis 150 mg/kg BB	kontrol diabetes	-2.543	.893	.099	-5.48	.40
	kontrol pembanding	-2.790	.893	.065	-5.73	.15
	dosis 300 mg/kg BB	.243	.893	.999	-2.70	3.18
	dosis 600 mg/kg BB	1.937	.893	.265	-1.00	4.88
dosis 300 mg/kg BB	kontrol diabetes	-2.787	.893	.065	-5.73	.15
	kontrol pembanding	-3.033 <sup>*</sup>	.893	.042	-5.97	-.09
	dosis 150 mg/kg BB	-.243	.893	.999	-3.18	2.70
	dosis 600 mg/kg BB	1.693	.893	.378	-1.25	4.63
dosis 600 mg/kg BB	kontrol diabetes	-4.480 <sup>*</sup>	.893	.004	-7.42	-1.54
	kontrol pembanding	-4.727 <sup>*</sup>	.893	.003	-7.67	-1.79
	dosis 150 mg/kg BB	-1.937	.893	.265	-4.88	1.00
	dosis 300 mg/kg BB	-1.693	.893	.378	-4.63	1.25

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

kgdTO\_tikus

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
dosis 600 mg/kg BB	3	78.67		
dosis 300 mg/kg BB	3	80.36	80.36	
dosis 150 mg/kg BB	3	80.61	80.61	80.61
kontrol diabetes	3		83.15	83.15
kontrol pembanding	3			83.40
Sig.		.265	.065	.065

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar gula darah yang signifikan antara kelompok dosis 600 mg/kg BB dengan kelompok dosis 300 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB, antara kelompok dosis 300 mg/kg BB dengan kelompok dosis 150 mg/kg BB dan kelompok diabetes, antara kelompok dosis 150 mg/kg BB dengan kelompok diabetes dan pembanding.

## Lampiran 22. Hasil uji statistik one way anova T1

### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kontrol_normal	.167	5	.200	.964	5	.835
kontrol_diabetes	.206	5	.200	.941	5	.675
kontrol_pembanding	.135	5	.200	.987	5	.970
dosis_150mg	.183	5	.200	.957	5	.789
dosis_300mg	.159	5	.200	.968	5	.861
dosis_600mg	.243	5	.200	.931	5	.606

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari hasil statistik diatas dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *one way anova*.

### Test of Homogeneity of Variances

kgdT1\_tikus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.595	5	24	.052

Nilai probabilitas dari hasil statistik diatas adalah sig. = 0,052  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) atau keenam kelompok tersebut memiliki varian yang sama sehingga dilanjutkan uji *post hoc*.

### ANOVA

kgdT1\_tikus

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	65186.099	5	13037.220	2229.885	.000
Within Groups	140.318	24	5.847		
Total	65326.417	29			

Dari output anova diatas dapat diketahui nilai sig. 0,000  $< 0,05$  ( $H_0$  ditolak) maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada tiap kelompok.

## Multiple Comparisons

kgdT1\_tikus  
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol normal	kontrol diabetes	-125.656	1.529	.000	-130.38	-120.93
	kontrol pembanding	-123.470	1.529	.000	-128.20	-118.74
	dosis 150 mg/kg BB	-126.300	1.529	.000	-131.03	-121.57
	dosis 300 mg/kg BB	-126.238	1.529	.000	-130.97	-121.51
	dosis 600 mg/kg BB	-123.534	1.529	.000	-128.26	-118.81
kontrol diabetes	kontrol normal	125.656	1.529	.000	120.93	130.38
	kontrol pembanding	2.186	1.529	.710	-2.54	6.91
	dosis 150 mg/kg BB	-.644	1.529	.998	-5.37	4.08
	dosis 300 mg/kg BB	-.582	1.529	.999	-5.31	4.15
	dosis 600 mg/kg BB	2.122	1.529	.734	-2.61	6.85
kontrol pembanding	kontrol normal	123.470	1.529	.000	118.74	128.20
	kontrol diabetes	-2.186	1.529	.710	-6.91	2.54
	dosis 150 mg/kg BB	-2.830	1.529	.455	-7.56	1.90
	dosis 300 mg/kg BB	-2.768	1.529	.478	-7.50	1.96
	dosis 600 mg/kg BB	-.064	1.529	1.000	-4.79	4.66
dosis 150 mg/kg BB	kontrol normal	126.300	1.529	.000	121.57	131.03
	kontrol diabetes	.644	1.529	.998	-4.08	5.37
	kontrol pembanding	2.830	1.529	.455	-1.90	7.56
	dosis 300 mg/kg BB	.062	1.529	1.000	-4.67	4.79
	dosis 600 mg/kg BB	2.766	1.529	.479	-1.96	7.49
dosis 300 mg/kg BB	kontrol normal	126.238	1.529	.000	121.51	130.97
	kontrol diabetes	.582	1.529	.999	-4.15	5.31
	kontrol pembanding	2.768	1.529	.478	-1.96	7.50
	dosis 150 mg/kg BB	-.062	1.529	1.000	-4.79	4.67
	dosis 600 mg/kg BB	2.704	1.529	.503	-2.02	7.43
dosis 600 mg/kg BB	kontrol normal	123.534	1.529	.000	118.81	128.26
	kontrol diabetes	-2.122	1.529	.734	-6.85	2.61
	kontrol pembanding	.064	1.529	1.000	-4.66	4.79
	dosis 150 mg/kg BB	-2.766	1.529	.479	-7.49	1.96
	dosis 300 mg/kg BB	-2.704	1.529	.503	-7.43	2.02

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

**kgdT1\_tikus**Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol normal	5	78.78	
kontrol pembanding	5		202.25
dosis 600 mg/kg BB	5		202.31
kontrol diabetes	5		204.44
dosis 300 mg/kg BB	5		205.02
dosis 150 mg/kg BB	5		205.08
Sig.		1.000	.455

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar gula darah yang signifikan pada setiap kelompok kecuali kelompok normal

### Lampiran 23. Hasil uji statistik one way anova T2

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kontrol_normal	.213	5	.200	.946	5	.706
kontrol_diabetes	.198	5	.200	.952	5	.754
kontrol_pembanding	.220	5	.200	.967	5	.858
dosis_150mg	.171	5	.200	.960	5	.805
dosis_300mg	.172	5	.200	.970	5	.876
dosis_600mg	.182	5	.200	.982	5	.944

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari hasil statistik diatas dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *one way anova*.

#### Test of Homogeneity of Variances

kgdT2\_tikus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.065	5	24	.105

Nilai probabilitas dari hasil statistik diatas adalah sig. = 0,105  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) atau keenam kelompok tersebut memiliki varian yang sama sehingga dilanjutkan uji *post hoc*.

#### ANOVA

kgdT2\_tikus

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	58875.580	5	11775.116	1752.070	.000
Within Groups	161.297	24	6.721		
Total	59036.877	29			

Dari output anova diatas dapat diketahui nilai sig. 0,000  $< 0,05$  ( $H_0$  ditolak) maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada tiap kelompok.

## Multiple Comparisons

kgdT2\_tikus  
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol normal	kontrol diabetes	-125.966*	1.640	.000	-131.04	-120.90
	kontrol pembanding	-108.070*	1.640	.000	-113.14	-103.00
	dosis 150 mg/kg BB	-122.176*	1.640	.000	-127.25	-117.11
	dosis 300 mg/kg BB	-122.386*	1.640	.000	-127.46	-117.32
	dosis 600 mg/kg BB	-108.422*	1.640	.000	-113.49	-103.35
kontrol diabetes	kontrol normal	125.966*	1.640	.000	120.90	131.04
	kontrol pembanding	17.896*	1.640	.000	12.83	22.97
	dosis 150 mg/kg BB	3.790	1.640	.228	-1.28	8.86
	dosis 300 mg/kg BB	3.580	1.640	.282	-1.49	8.65
	dosis 600 mg/kg BB	17.544*	1.640	.000	12.47	22.61
kontrol pembanding	kontrol normal	108.070*	1.640	.000	103.00	113.14
	kontrol diabetes	-17.896*	1.640	.000	-22.97	-12.83
	dosis 150 mg/kg BB	-14.106*	1.640	.000	-19.18	-9.04
	dosis 300 mg/kg BB	-14.316*	1.640	.000	-19.39	-9.25
	dosis 600 mg/kg BB	-.352	1.640	1.000	-5.42	4.72
dosis 150 mg/kg BB	kontrol normal	122.176*	1.640	.000	117.11	127.25
	kontrol diabetes	-3.790	1.640	.228	-8.86	1.28
	kontrol pembanding	14.106*	1.640	.000	9.04	19.18
	dosis 300 mg/kg BB	-.210	1.640	1.000	-5.28	4.86
	dosis 600 mg/kg BB	13.754*	1.640	.000	8.68	18.82
dosis 300 mg/kg BB	kontrol normal	122.386*	1.640	.000	117.32	127.46
	kontrol diabetes	-3.580	1.640	.282	-8.65	1.49
	kontrol pembanding	14.316*	1.640	.000	9.25	19.39
	dosis 150 mg/kg BB	.210	1.640	1.000	-4.86	5.28
	dosis 600 mg/kg BB	13.964*	1.640	.000	8.89	19.03
dosis 600 mg/kg BB	kontrol normal	108.422*	1.640	.000	103.35	113.49
	kontrol diabetes	-17.544*	1.640	.000	-22.61	-12.47
	kontrol pembanding	.352	1.640	1.000	-4.72	5.42
	dosis 150 mg/kg BB	-13.754*	1.640	.000	-18.82	-8.68
	dosis 300 mg/kg BB	-13.964*	1.640	.000	-19.03	-8.89

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## kgdT2\_tikus

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol normal	5	79.37		
kontrol pembanding	5		187.44	
dosis 600 mg/kg BB	5		187.79	
dosis 150 mg/kg BB	5			201.54
dosis 300 mg/kg BB	5			201.75
kontrol diabetes	5			205.33
Sig.		1.000	1.000	.228

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar gula darah yang signifikan antara kelompok pembanding dengan kelompok dosis 600 mg/kg BB, antara kelompok dosis 150 mg/kg BB dengan kelompok dosis 300 mg/kg BB dan kelompok diabetes.

### Lampiran 24. Hasil uji statistik one way anova T3

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kontrol_normal	.228	5	.200	.925	5	.565
kontrol_diabetes	.159	5	.200	.976	5	.913
kontrol_pembanding	.245	5	.200	.944	5	.695
dosis_150mg	.300	5	.160	.804	5	.087
dosis_300mg	.208	5	.200	.974	5	.899
dosis_600mg	.244	5	.200	.913	5	.484

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari hasil statistik diatas dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *one way anova*.

#### Test of Homogeneity of Variances

kgdT3\_tikus

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.731	5	24	.607

Nilai probabilitas dari hasil statistik diatas adalah sig. = 0,607  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) atau keenam kelompok tersebut memiliki varian yang sama sehingga dilanjutkan uji *post hoc*.

#### ANOVA

kgdT3\_tikus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	51697.496	5	10339.499	1232.281	.000
Within Groups	201.373	24	8.391		
Total	51898.869	29			

Dari output anova diatas dapat diketahui nilai sig. 0,000  $< 0,05$  ( $H_0$  ditolak) maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada tiap kelompok.

## Multiple Comparisons

kgdT3\_tikus  
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol normal	kontrol diabetes	-128.368*	1.832	.000	-134.03	-122.70
	kontrol pembanding	-20.478*	1.832	.000	-26.14	-14.81
	dosis 150 mg/kg BB	-60.476*	1.832	.000	-66.14	-54.81
	dosis 300 mg/kg BB	-50.358*	1.832	.000	-56.02	-44.69
	dosis 600 mg/kg BB	-22.232*	1.832	.000	-27.90	-16.57
kontrol diabetes	kontrol normal	128.368*	1.832	.000	122.70	134.03
	kontrol pembanding	107.890*	1.832	.000	102.23	113.55
	dosis 150 mg/kg BB	67.892*	1.832	.000	62.23	73.56
	dosis 300 mg/kg BB	78.010*	1.832	.000	72.35	83.67
	dosis 600 mg/kg BB	106.136*	1.832	.000	100.47	111.80
kontrol pembanding	kontrol normal	20.478*	1.832	.000	14.81	26.14
	kontrol diabetes	-107.890*	1.832	.000	-113.55	-102.23
	dosis 150 mg/kg BB	-39.998*	1.832	.000	-45.66	-34.33
	dosis 300 mg/kg BB	-29.880*	1.832	.000	-35.54	-24.22
	dosis 600 mg/kg BB	-1.754	1.832	.927	-7.42	3.91
dosis 150 mg/kg BB	kontrol normal	60.476*	1.832	.000	54.81	66.14
	kontrol diabetes	-67.892*	1.832	.000	-73.56	-62.23
	kontrol pembanding	39.998*	1.832	.000	34.33	45.66
	dosis 300 mg/kg BB	10.118*	1.832	.000	4.45	15.78
	dosis 600 mg/kg BB	38.244*	1.832	.000	32.58	43.91
dosis 300 mg/kg BB	kontrol normal	50.358*	1.832	.000	44.69	56.02
	kontrol diabetes	-78.010*	1.832	.000	-83.67	-72.35
	kontrol pembanding	29.880*	1.832	.000	24.22	35.54
	dosis 150 mg/kg BB	-10.118*	1.832	.000	-15.78	-4.45
	dosis 600 mg/kg BB	28.126*	1.832	.000	22.46	33.79
dosis 600 mg/kg BB	kontrol normal	22.232*	1.832	.000	16.57	27.90
	kontrol diabetes	-106.136*	1.832	.000	-111.80	-100.47
	kontrol pembanding	1.754	1.832	.927	-3.91	7.42
	dosis 150 mg/kg BB	-38.244*	1.832	.000	-43.91	-32.58
	dosis 300 mg/kg BB	-28.126*	1.832	.000	-33.79	-22.46

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## kgdT3\_tikus

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
kontrol normal	5	80.96				
kontrol pembanding	5		101.43			
dosis 600 mg/kg BB	5		103.19			
dosis 300 mg/kg BB	5			131.31		
dosis 150 mg/kg BB	5				141.43	
kontrol diabetes	5					209.32
Sig.		1.000	.927	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar gula darah yang signifikan antara kelompok pembanding dengan kelompok dosis 600 mg/kg BB dan terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok lainnya.

**Lampiran 25. Hasil uji statistik one way anova presentase penurunan kadar gula darah tikus T1 terhadap T2**

**Tests of Normality**

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kontrol_diabetes	.208	4	.200	.961	4	.814
kontrol_pembanding	.178	4	.200	.971	4	.879
dosis_150mg	.252	4	.200	.938	4	.652
dosis_300mg	.242	4	.200	.912	4	.479
dosis_600mg	.305	4	.144	.832	4	.145

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari hasil statistik diatas dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *one way anova*.

**Test of Homogeneity of Variances**

persenpenurunankgd\_1

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.008	4	20	.043

Nilai probabilitas dari hasil statistik diatas adalah sig. = 0,043  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) atau keenam kelompok tersebut memiliki varian yang sama sehingga dilanjutkan uji *post hoc*.

**ANOVA**

persenpenurunankgd\_1

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	252.476	4	63.119	971.302	.000
Within Groups	1.300	20	.065		
Total	253.776	20			

Dari output anova diatas dapat diketahui nilai sig. 0,000  $< 0,05$  ( $H_0$  ditolak) maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada tiap kelompok.

## Multiple Comparisons

persenpenurunankgd\_t1

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok diabetes	kelompok pembanding	-7.76400*	.16123	.000	-8.2464	-7.2816
	dosis 150 mg/kg BB	-2.16200*	.16123	.000	-2.6444	-1.6796
	dosis 300 mg/kg BB	-2.03000*	.16123	.000	-2.5124	-1.5476
	dosis 600 mg/kg BB	-7.62000*	.16123	.000	-8.1024	-7.1376
kelompok pembanding	kelompok diabetes	7.76400*	.16123	.000	7.2816	8.2464
	dosis 150 mg/kg BB	5.60200*	.16123	.000	5.1196	6.0844
	dosis 300 mg/kg BB	5.73400*	.16123	.000	5.2516	6.2164
	dosis 600 mg/kg BB	.14400	.16123	.896	-.3384	.6264
dosis 150 mg/kg BB	kelompok diabetes	2.16200*	.16123	.000	1.6796	2.6444
	kelompok pembanding	-5.60200*	.16123	.000	-6.0844	-5.1196
	dosis 300 mg/kg BB	.13200	.16123	.922	-.3504	.6144
	dosis 600 mg/kg BB	-5.45800*	.16123	.000	-5.9404	-4.9756
dosis 300 mg/kg BB	kelompok diabetes	2.03000*	.16123	.000	1.5476	2.5124
	kelompok pembanding	-5.73400*	.16123	.000	-6.2164	-5.2516
	dosis 150 mg/kg BB	-.13200	.16123	.922	-.6144	.3504
	dosis 600 mg/kg BB	-5.59000*	.16123	.000	-6.0724	-5.1076
dosis 600 mg/kg BB	kelompok diabetes	7.62000*	.16123	.000	7.1376	8.1024
	kelompok pembanding	-.14400	.16123	.896	-.6264	.3384
	dosis 150 mg/kg BB	5.45800*	.16123	.000	4.9756	5.9404
	dosis 300 mg/kg BB	5.59000*	.16123	.000	5.1076	6.0724

## Multiple Comparisons

persenpenurunankgd\_t1

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok diabetes	kelompok pembanding	-7.76400*	.16123	.000	-8.2464	-7.2816
	dosis 150 mg/kg BB	-2.16200*	.16123	.000	-2.6444	-1.6796
	dosis 300 mg/kg BB	-2.03000*	.16123	.000	-2.5124	-1.5476
	dosis 600 mg/kg BB	-7.62000*	.16123	.000	-8.1024	-7.1376
kelompok pembanding	kelompok diabetes	7.76400*	.16123	.000	7.2816	8.2464
	dosis 150 mg/kg BB	5.60200*	.16123	.000	5.1196	6.0844
	dosis 300 mg/kg BB	5.73400*	.16123	.000	5.2516	6.2164
	dosis 600 mg/kg BB	.14400	.16123	.896	-.3384	.6264
dosis 150 mg/kg BB	kelompok diabetes	2.16200*	.16123	.000	1.6796	2.6444
	kelompok pembanding	-5.60200*	.16123	.000	-6.0844	-5.1196
	dosis 300 mg/kg BB	.13200	.16123	.922	-.3504	.6144
	dosis 600 mg/kg BB	-5.45800*	.16123	.000	-5.9404	-4.9756
dosis 300 mg/kg BB	kelompok diabetes	2.03000*	.16123	.000	1.5476	2.5124
	kelompok pembanding	-5.73400*	.16123	.000	-6.2164	-5.2516
	dosis 150 mg/kg BB	-.13200	.16123	.922	-.6144	.3504
	dosis 600 mg/kg BB	-5.59000*	.16123	.000	-6.0724	-5.1076
dosis 600 mg/kg BB	kelompok diabetes	7.62000*	.16123	.000	7.1376	8.1024
	kelompok pembanding	-.14400	.16123	.896	-.6264	.3384
	dosis 150 mg/kg BB	5.45800*	.16123	.000	4.9756	5.9404
	dosis 300 mg/kg BB	5.59000*	.16123	.000	5.1076	6.0724

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## persenpenurunankgd\_t1

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok diabetes	5	-.4380		
dosis 300 mg/kg BB	5		1.5920	
dosis 150 mg/kg BB	5		1.7240	
dosis 600 mg/kg BB	5			7.1820
kelompok pembanding	5			7.3260
Sig.		1.000	.922	.896

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar gula darah yang signifikan antara kelompok dosis 300 mg/kg BB dengan kelompok dosis 150 mg/kg BB serta antara kelompok dosis 600 mg/kg BB dengan kelompok pembanding.

### Lampiran 26. Hasil uji statistik one way anova presentase penurunan kadar gula darah T1 terhadap T3

#### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompok_diabetes	.349	4	.046	.727	4	.018
kelompok_pembanding	.273	4	.200	.915	4	.499
dosis_150mg	.353	4	.040	.815	4	.108
dosis_300mg	.309	4	.134	.860	4	.230
dosis_600mg	.295	4	.180	.842	4	.170

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari hasil statistik diatas dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *one way anova*.

#### Test of Homogeneity of Variances

persenpenurunankgd\_t2

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.987	4	20	.437

Nilai probabilitas dari hasil statistik diatas adalah sig. = 0,437  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) atau keenam kelompok tersebut memiliki varian yang sama sehingga dilanjutkan uji *post hoc*.

#### ANOVA

persenpenurunankgd\_t2

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9024.606	4	2256.152	2118.301	.000
Within Groups	21.302	20	1.065		
Total	9045.908	24			

Dari output anova diatas dapat diketahui nilai sig. 0,000  $< 0,05$  ( $H_0$  ditolak) maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada tiap kelompok.

## Multiple Comparisons

persenpenurunankgd\_t2

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok diabetes	kelompok pembanding	-52.24400*	.65271	.000	-54.1972	-50.2908
	dosis 150 mg/kg BB	-33.43200*	.65271	.000	-35.3852	-31.4788
	dosis 300 mg/kg BB	-38.35400*	.65271	.000	-40.3072	-36.4008
	dosis 600 mg/kg BB	-51.39800*	.65271	.000	-53.3512	-49.4448
kelompok pembanding	kelompok diabetes	52.24400*	.65271	.000	50.2908	54.1972
	dosis 150 mg/kg BB	18.81200*	.65271	.000	16.8588	20.7652
	dosis 300 mg/kg BB	13.89000*	.65271	.000	11.9368	15.8432
	dosis 600 mg/kg BB	.84600	.65271	.696	-1.1072	2.7992
dosis 150 mg/kg BB	kelompok diabetes	33.43200*	.65271	.000	31.4788	35.3852
	kelompok pembanding	-18.81200*	.65271	.000	-20.7652	-16.8588
	dosis 300 mg/kg BB	-4.92200*	.65271	.000	-6.8752	-2.9688
	dosis 600 mg/kg BB	-17.96600*	.65271	.000	-19.9192	-16.0128
dosis 300 mg/kg BB	kelompok diabetes	38.35400*	.65271	.000	36.4008	40.3072
	kelompok pembanding	-13.89000*	.65271	.000	-15.8432	-11.9368
	dosis 150 mg/kg BB	4.92200*	.65271	.000	2.9688	6.8752
	dosis 600 mg/kg BB	-13.04400*	.65271	.000	-14.9972	-11.0908
dosis 600 mg/kg BB	kelompok diabetes	51.39800*	.65271	.000	49.4448	53.3512
	kelompok pembanding	-.84600	.65271	.696	-2.7992	1.1072
	dosis 150 mg/kg BB	17.96600*	.65271	.000	16.0128	19.9192
	dosis 300 mg/kg BB	13.04400*	.65271	.000	11.0908	14.9972

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## persenpenurunankgd\_t2

Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kelompok diabetes	5	-2.3940			
dosis 150 mg/kg BB	5		31.0380		
dosis 300 mg/kg BB	5			35.9600	
dosis 600 mg/kg BB	5				49.0040
kelompok pembanding	5				49.8500
Sig.		1.000	1.000	1.000	.696

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan kadar gula darah yang signifikan antara kelompok dosis 600 mg/kg BB dengan kelompok pembanding.

### Lampiran 27. Hasil uji statistik one way anova skor kerusakan pankreas

#### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompok.normal	.253	3	.	.964	3	.637
kontrol.negatif	.365	3	.	.797	3	.107
kontrol.positif	.196	3	.	.996	3	.878
dosis.150mg	.321	3	.	.881	3	.328
dosis.300mg	.232	3	.	.980	3	.726
dosis.600mg	.314	3	.	.893	3	.363

a. Lilliefors Significance Correction

Dari hasil statistik diatas dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan uji *one way anova*.

#### Test of Homogeneity of Variances

Kerusakan

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.677	5	12	.215

Nilai probabilitas dari hasil statistik diatas adalah sig. = 0,215  $> 0,05$  ( $H_0$  diterima) atau keenam kelompok tersebut memiliki varian yang sama sehingga dilanjutkan uji *post hoc*.

#### ANOVA

Kerusakan

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4536.444	5	907.289	28.854	.000
Within Groups	377.333	12	31.444		
Total	4913.778	17			

Dari output anova diatas dapat diketahui nilai sig. 0,000  $< 0,05$  ( $H_0$  ditolak) maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan histopatologi pankreas tikus pada tiap kelompok.

## Multiple Comparisons

Kerusakan  
Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok diabetes	-49.000 <sup>*</sup>	4.579	.000	-64.38	-33.62
	pembanding	-8.000	4.579	.529	-23.38	7.38
	dosis 150 mg/kg BB	-21.667 <sup>*</sup>	4.579	.005	-37.05	-6.29
	dosis 300 mg/kg BB	-10.333	4.579	.282	-25.71	5.05
	dosis 600 mg/kg BB	-9.667	4.579	.343	-25.05	5.71
kelompok diabetes	kelompok normal	49.000 <sup>*</sup>	4.579	.000	33.62	64.38
	pembanding	41.000 <sup>*</sup>	4.579	.000	25.62	56.38
	dosis 150 mg/kg BB	27.333 <sup>*</sup>	4.579	.001	11.95	42.71
	dosis 300 mg/kg BB	38.667 <sup>*</sup>	4.579	.000	23.29	54.05
	dosis 600 mg/kg BB	39.333 <sup>*</sup>	4.579	.000	23.95	54.71
Pembanding	kelompok normal	8.000	4.579	.529	-7.38	23.38
	kelompok diabetes	-41.000 <sup>*</sup>	4.579	.000	-56.38	-25.62
	dosis 150 mg/kg BB	-13.667	4.579	.093	-29.05	1.71
	dosis 300 mg/kg BB	-2.333	4.579	.995	-17.71	13.05
	dosis 600 mg/kg BB	-1.667	4.579	.999	-17.05	13.71
dosis 150 mg/kg BB	kelompok normal	21.667 <sup>*</sup>	4.579	.005	6.29	37.05
	kelompok diabetes	-27.333 <sup>*</sup>	4.579	.001	-42.71	-11.95
	pembanding	13.667	4.579	.093	-1.71	29.05
	dosis 300 mg/kg BB	11.333	4.579	.206	-4.05	26.71
	dosis 600 mg/kg BB	12.000	4.579	.165	-3.38	27.38
dosis 300 mg/kg BB	kelompok normal	10.333	4.579	.282	-5.05	25.71
	kelompok diabetes	-38.667 <sup>*</sup>	4.579	.000	-54.05	-23.29
	pembanding	2.333	4.579	.995	-13.05	17.71
	dosis 150 mg/kg BB	-11.333	4.579	.206	-26.71	4.05
	dosis 600 mg/kg BB	.667	4.579	1.000	-14.71	16.05
dosis 600 mg/kg BB	kelompok normal	9.667	4.579	.343	-5.71	25.05
	kelompok diabetes	-39.333 <sup>*</sup>	4.579	.000	-54.71	-23.95
	pembanding	1.667	4.579	.999	-13.71	17.05
	dosis 150 mg/kg BB	-12.000	4.579	.165	-27.38	3.38
	dosis 300 mg/kg BB	-.667	4.579	1.000	-16.05	14.71

\* . The mean difference is significant at the 0.05 level

## Kerusakan

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok normal	3	9.67		
Pembanding	3	17.67	17.67	
dosis 600 mg/kg BB	3	19.33	19.33	
dosis 300 mg/kg BB	3	20.00	20.00	
dosis 150 mg/kg BB	3		31.33	
kelompok diabetes	3			58.67
Sig.		.282	.093	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Output diatas menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok pembanding dengan kelompok dosis 600 mg/kg BB dan dosis 300 mg/kg BB.

### Lampiran 28. Hasil uji statistik one way anova BB T0

#### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompok_normal	.233	5	.200*	.884	5	.329
kelompok_diabetes	.193	5	.200*	.957	5	.787
kelompok_pembanding	.167	5	.200*	.964	5	.832
dosis_150mg	.301	5	.158	.860	5	.227
dosis_300mg	.329	5	.081	.775	5	.050
dosis_600mg	.224	5	.200*	.842	5	.171

a. Lilliefors Significance Correction

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

#### Test of Homogeneity of Variances

Bb

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.806	5	24	.039

#### ANOVA

Bb

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	225.067	5	45.013	3.326	.020
Within Groups	324.800	24	13.533		
Total	549.867	29			

**bb**

Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05
		1
kelompok diabetes	5	190.00
dosis 600 mg/kg bb	5	190.40
Pembanding	5	191.00
dosis 150 mg/kg bb	5	192.00
dosis 300 mg/kg bb	5	196.20
kelompok normal	5	196.80
Sig.		.072

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

## Lampiran 29. Hasil uji statistik one way anova BB T1

### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompok_normal	.141	5	.200*	.979	5	.928
kelompok_diabetes	.136	5	.200*	.987	5	.967
kelompok_pembanding	.165	5	.200*	.974	5	.898
dosis_150mg	.274	5	.200*	.857	5	.216
dosis_300mg	.250	5	.200*	.885	5	.332
dosis_600mg	.233	5	.200*	.884	5	.329

a. Lilliefors Significance Correction

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

### Test of Homogeneity of Variances

Bb

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.594	5	24	.200

### ANOVA

Bb

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	701.467	5	140.293	10.989	.000
Within Groups	306.400	24	12.767		
Total	1007.867	29			

**bb**Tukey HSD<sup>a</sup>

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
dosis 600 mg/kg bb	5	187.80	
kelompok diabetes	5	188.00	
Pembanding	5	189.80	
dosis 150 mg/kg bb	5	190.40	
dosis 300 mg/kg bb	5	193.80	
kelompok normal	5		201.80
Sig.		.122	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

### Lampiran 30. Hasil uji statistik one way anova BB T2

#### Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompok_normal	.167	5	.200*	.964	5	.833
kelompok_diabetes	.270	5	.200*	.923	5	.551
kelompok_pembanding	.193	5	.200*	.933	5	.619
dosis_150mg	.251	5	.200*	.915	5	.497
dosis_300mg	.214	5	.200*	.887	5	.341
dosis_600mg	.236	5	.200*	.870	5	.265

a. Lilliefors Significance Correction

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

#### Test of Homogeneity of Variances

bb

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.856	5	24	.525

#### ANOVA

Bb

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1524.800	5	304.960	19.240	.000
Within Groups	380.400	24	15.850		
Total	1905.200	29			

**Bb**-Tukey HSD<sup>a</sup>

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kelompok diabetes	5	183.80		
dosis 600 mg/kg bb	5		193.80	
dosis 150 mg/kg bb	5		194.00	
pembanding	5		194.80	
dosis 300 mg/kg bb	5		198.00	
kelompok normal	5			208.00
Sig.		1.000	.564	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.