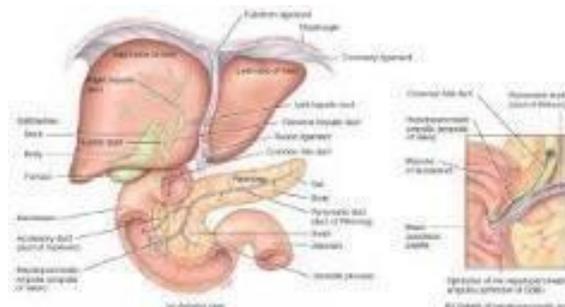


## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Diabetes melitus

Diabetes Melitus (DM) termasuk penyakit degeneratif metabolik kronis atau kelainan etiologi yang beragam, ditandai dengan hiperglikemia dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein sekunder akibat fungsi insulin yang tidak adekuat. Defisiensi fungsi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau tidak adanya produksi insulin oleh sel beta Langerhans pankreas atau oleh kurangnya respon seluler tubuh terhadap insulin (Chen *et al.*, 2015).

Pankreas adalah organ yang terdiri dari jaringan eksokrin dan endokrin. Bagian eksokrin mengeluarkan larutan alkali berair dan enzim pencernaan ke dalam lumen saluran pencernaan melalui saluran pankreas. Diselingi antara sel eksokrin pankreas adalah "pulau" sel endokrin yang dikenal sebagai pulau Langerhans. Sel endokrin yang paling melimpah di pankreas adalah sel  $\beta$  (beta), yang mensintesis dan mensekresi insulin, dan sel  $\alpha$  (alfa), yang menghasilkan glukagon. Situs unik untuk sintesis somatostatin, sel D (delta) (Sherwood, 2014).



**Gambar 1. Anatomi Organ Pankreas**  
(Sumber: Mahadevan, 2019)

Faktor genetik dan lingkungan dapat menjadi etiologi munculnya diabetes. Etiologi diabetes lainnya adalah gangguan sekresi insulin atau sensitivitas insulin, gangguan metabolisme, disfungsi mitokondria, dan berbagai kondisi lainnya. Diabetes dapat terjadi akibat kelebihan penyakit lain yang mengganggu toleransi glukosa. Diabetes bisa timbul akibat penyakit kelenjar eksokrin pankreas, ketika area pulau pankreas yang luas rusak. Hormon yang berperan sebagai antagonis insulin juga dapat menyebabkan diabetes (Putra, 2015).

## 1. Penyebab dan Gejala

Faktor genetik dan pola hidup masih menjadi faktor utama penyebab diabetes. Selain itu, faktor sosial-lingkungan dan akses ke layanan kesehatan juga berkontribusi terhadap angka prevalensi diabetes. Komplikasi dapat terjadi saat derajat keparahan sudah mempengaruhi sistem organ lainnya dalam kurun waktu tertentu. Komplikasi diabetes dapat dibagi menjadi komplikasi mikrovaskular dan komplikasi makrovaskular. Komplikasi mikrovaskular meliputi cedera sistem saraf (neuropati), cedera ginjal (nefropati), dan cedera mata (retinopati) (Rosyada, 2013).

Selain faktor genetik dan pola hidup sehari-hari, faktor risiko bisa timbul karena diabetes gestasional, stress, riwayat penyakit atau penyakit penyerta, dan kondisi lainnya. Trisnawati (2013) melaporkan bahwa riwayat keluarga, aktivitas fisik, usia, stres, tekanan darah dan kadar kolesterol berkaitan dengan perkembangan diabetes tipe 2, dan orang yang kelebihan berat badan dan obesitas memiliki risiko 7,14 kali lebih tinggi terkena diabetes tipe 2 dibandingkan dengan orang dengan berat badan ideal atau normal. Gejala DM meliputi poliuria, polifagi, dan penurunan berat badan. Kadar glukosa darah di atas ambang batas ginjal ( $>180\text{mg/dl}$ ) mengakibatkan kebutuhan buang air kecil lebih banyak dari biasanya, terutama pada malam hari (poliuria), mengeluarkan gula dalam urin.

Untuk mengurangi konsentrasi urin yang dikeluarkan, tubuh menyerap sebanyak mungkin air dari urin untuk mengeluarkan lebih banyak urin dan frekuensi buang air kecil cukup tinggi. Dalam kondisi normal, keluaran urin sekitar 1,5 liter per hari, tetapi pada penderita diabetes yang tidak terkontrol, keluaran urin lima kali lebih tinggi. Saat buang air kecil, tubuh akan mengalami dehidrasi, untuk mengatasi masalah ini, tubuh terasa haus. Oleh karena itu, pasien selalu mempunyai rasa haus berlebihan, terutama air putih yang dingin, manis, manis, dan banyak. Polifagi atau peningkatan nafsu makan (bulimia) dan penurunan energi. Insulin merupakan masalah bagi penderita diabetes, sehingga lebih sedikit gula yang diserap oleh sel-sel tubuh dan lebih sedikit energi yang dihasilkan. Oleh sebab itu pasien merasa lesu. Selain itu, sel juga rendah asupan glukosa, otak merasakan kekurangan energi karena kekurangan makanan, dan tubuh membunyikan alarm lapar dan mencoba makan lebih banyak. Penurunan Berat Badan Ketika kekurangan insulin mencegah tubuh

mendapatkan energi yang cukup dari gula, tubuh bergegas memproses lemak dan protein dalam tubuh dan mengubahnya menjadi energi. dalam sistem saluran kemih, penderita diabetes yang tidak terkontrol dapat kehilangan hingga 500 gram glukosa dari urinnya setiap 2 jam (2000 kalori per hari). Gejala lain atau tambahan yang mungkin muncul kemudian dan biasanya muncul akibat masalah tersebut adalah kaki gatal atau borok yang tidak kunjung sembuh yang dapat disertai dengan gatal selangkangan pada wanita dan anak perempuan (ulkus eksternal), pruritus genital). Vulva pria nyeri di ujung penis (balanitis) (Simatupang, 2017).

## **2. Pencegahan dan pengobatan**

Jenis tes DM yang dapat dijalankan adalah tes seleksi. Menurut Widodo (20114), riwayat kesehatan sering menunjukkan gejala khusus diabetes seperti poliuria, polidipsia, polifagi dan penurunan berat badan drastis secara tiba-tiba. Keluhan lain yang sering dilaporkan antara lain mudah lelah, kesemutan, gatal, penglihatan terganggu, impoten, dan gatal pada vulva. Diagnosis diabetes dapat dikonfirmasi melalui pemeriksaan kadar gula darah dengan kriteria sebagai berikut: Gula darah saat lapar >126 mg/dL, gula darah 2 jam >200 mg /dL, dan gula darah acak >200 mg/dL.

Pilihan pengobatan untuk penderita DM antara lain pemberian insulin, obat hipoglikemik oral, terapi alternatif, modifikasi gaya hidup serta berolahraga (pola hidup sehat). Menurut Departemen Kesehatan (2010) pemahaman tentang faktor risiko dapat menjadi upaya preventif DM. Faktor risiko ini dapat dikontrol oleh masyarakat seperti menerapkan himbauan dari pemerintah, perilaku diri seperti pola makan, aktivitas, dan manajemen stres (Suiraoaka, 2012).

## **B. Kedondong Bangkok (*Spondias Dilcus*)**

### **1. Sistematika Tanaman**

Sistematika tanaman kedondong bangkok (*Spondias Dilcus*) adalah sebagai berikut :

Divisi : *Spermatophyta*

Kelas : *Dicotyledoneae*

Bangsa: *Sapindales*

Suku : *Anacardiaceae*

Marga : *Spondias*

Jenis : *Sponidas pinnata* Kurz.

Nama umum : Kedondong  
 Nama daerah : Kacemcem (Bali), Kedondong (Jawa)  
 Sinonim : *Spondias mangifera Willd* (Hutapea *et al.*,1994)



**Gambar 2. Tanaman kedondong bangkok**  
 (Koleksi pribadi, 2023)

## 2. Morfologi

Secara morfologi, Kedondong bangkok merupakan buah tanaman obat asli dari famili *Anacardiaceae*. Sulawesi Tenggara mengenal dengan sebutan Tawaloho (Asnani *et al.* 2017). Kedondong bangkok adalah kerabat dekat kedondong bangkok (*Spondias dulcis*). Perbedaan kedondong bangkok dengan kedondong lainnya adalah banyaknya buah yang berukuran kecil dan warna merah kehijauan pada daun muda tanaman ini (Sujarwo & Keim 2019) (Prihatinigrat, 2018).

Kedondong bangkok memiliki ketinggian  $\pm 20$  m, dengan berkayu dan permukaan licin, batang lurus, dan percabangan mirip simposium berwarna hijau. Bentuk daunnya majemuk, lingkaran telur, ganjil, menyebar, pangkal coklat, ujung runcing, tulang siku, tepi licin, panjang 5-8 cm, lebar 2-6 cm, hijau. Kedondong Bangkok juga memiliki duri yang rumit, terletak di ujung daun dan cabang berwarna gelap, kelopak bunga  $\pm 5$  cm, berwarna ungu, benang sari delapan, mahkota 4-5, kuning sedikit putih, serat kasar berwarna putih kekuningan, serta akar pada jenis kedondong umumnya (Hutapea *et al.*, 1994).

## C. Kandungan & Manfaat

Tanaman kedondong (*Spondias dulcis* G. Forst) diyakini berkhasiat tanaman obat secara empiris pada bagian buah juga daunnya. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam kedondong seperti flavonoid, saponin, dan tanin memiliki khasiat sebagai antivirus,

antihistamin, antioksidan, antimikroba, peradangan, anti kanker dan sering digunakan masyarakat untuk mengatasi kondisi ulkus kulit, luka bakar, batuk, dan disentri (Harmanto, 2002). Seperti tanaman pada umumnya, metabolit sekunder yang ada dalam tanaman kedondong memiliki sifat yang beragam sehingga memungkinkan adanya interaksi antar senyawa dalam tubuh. Metabolit yang dihasilkan dan senyawa yang belum berupa isolat sehingga dapat mempengaruhi ekskresi ginjal yang sering kontak dengan senyawa-senyawa tersebut.

Dalam konteks farmakokinetik, zat yang memasuki tubuh akan mengalami proses ADME (absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi). Organ yang bertanggung jawab sebagai ekskresi utama untuk mengeluarkan sisa-sisa metabolisme tubuh, termasuk zat-zat toksik yang mungkin bisa berada dalam tubuh. Senyawa yang toksik atau yang bersifat iritatif dapat menyebabkan perubahan signifikan dalam penurunan mulai degenerasi melemak sampai nekrosis (Katzung, 2001).

#### **D. Simplisia**

Simplisia merupakan produk alam yang telah mengalami proses pengeringan, namun biasanya belum diolah. Proses pengeringan bahan alami rata-rata menggunakan oven atau sinar matahari untuk mengeringkan simplisia. Suhu pengeringan sekitar 60°C. Komposisi simplisia bervariasi mulai dari hewani, nabati hingga mineral (Kemenkes, 2017). Simplisia nabati Simplisia nabati adalah simplisia yang dapat berbentuk tumbuhan utuh, fitoekstrak, atau gabungan ketiganya (Gunawan *et al.*, 2004). Simplisia Hewan Simplisia Hewan adalah Simplisia dalam bentuk hewan utuh atau komponen turunan hewan, belum dalam bentuk kimia murni. Contohnya adalah minyak ikan (*Oleum iecoris asselli*) dan madu (*Mel depuratum*).

Simplisia pelican atau mineral adalah simplisia yang belum diolah atau diolah secara sederhana dan belum dalam bentuk kimia murni contohnya adalah bubuk seng dan bubuk tembaga. Simplisia terbuat dari serangkaian proses meliputi pengambilan bahan baku, sortasi basah, pencucian, pengeringan, pengayakan atau penggilingan, dan penyimpanan. Pengumpulan bahan baku dilakukan dengan memilah bahan segar pasca panen dan dilakukan penyimpanan bahan baku. Pada saat pengambilan harus diperhatikan usia, waktu panen dan lingkungan hidupnya. Ada hubungan saling keterkaitan antara

waktu panen dengan terbentuknya kandungan metabolit sekunder tanaman. Waktu yang tepat untuk memanen umumnya adalah pada saat umur tertentu di mana sudah membentuk senyawa dalam jumlah banyak, misalnya umbi bawang merah (Gunawan dan Mulyani 2004).

Sortasi, proses ini dilakukan dengan cara memilah tanaman pada saat kondisi masih segar dengan cara memisahkan tanah, kerikil, gulma, dan bahan tanaman lain yang tidak diinginkan, membuang bagian yang dianggap rusak, tidak utuh, atau penuh kontaminan juga dipisahkan (Gunawan dan Mulyani, 2004). Tahap pembersihan dimaksudkan agar dapat menghilangkan kontaminan dan benda asing lainnya dari bahan. Pada proses pembersihan digunakan air mengalir dan bahan yang mengandung senyawa atau zat yang mudah larut dalam air dan agar efisien (Prastowo, 2012). Beberapa bahan harus dipotong untuk memperbesar permukaan dan proses pengeringannya relatif cepat (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Proses pengeringan. Proses ini secara termal menghilangkan air dari sampel untuk menjadikannya produk kering. Ada faktor internal dan eksternal yang dapat mempengaruhi proses pengeringan. Faktor internal yang dimaksud antara lain kadar air, bentuk, luas permukaan, dan keadaan fisik sampel. Faktor luar antara lain suhu, kelembaban, tekanan, dan kecepatan, sedangkan (Gunawan dan Mulyani, 2004). Pengeringan secara tradisional dapat dilakukan dengan hanya menjemur di bawah sinar matahari dengan rentang waktu 2-3 hari, namun pengeringan modern dilakukan dengan oven, rak pengering, atau baru dijemur sekitar 6-8 jam. digunakan. Suhu disesuaikan (Gunawan dan Mulyani, 2004).

Untuk memudahkan proses pengayakan yang merupakan langkah selanjutnya dihaluskan dengan pulverizer. Proses pengayakan bahan bertujuan untuk mendapatkan serbuk dengan permukaan bahan, diharapkan pelarut lebih cepat larut dan senyawa terserap dengan baik, disimpan dalam jangka waktu tertentu dan dapat digunakan untuk proses selanjutnya. Hal-hal yang krusial dalam proses penyimpanan adalah oksidasi, cahaya, kelembaban, reaksi internal bahan, pengeringan, kontaminasi, jamur dan serangga (Prastowo, 2012).

### **E. Ekstraksi**

Ekstraksi dikenal dengan pemisahan suatu zat dari campurannya menggunakan pelarut yang sesuai. Pelarut yang

digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol 70%. Pelarut etanol dapat menarik senyawa yang larut dalam sifat non-polar hingga polar, sehingga penggunaan *solvent* etanol 70% ditujukan untuk mengekstraksi seluruh komponen serbuk simplisia (Suhaimi *et al.*, 2019). Pemilihan dan penggunaan pelarut harus sesuai dengan harapan dapat menarik senyawa tanpa melarutkan komponen lainnya terlebih saat ekstraksi. Serangkaian proses ekstraksi haruslah memperhatikan langkah krusial seperti volume penambahan *solvent*, proses difusi untuk memperpanjang kontak antara sampel dengan pelarut, dan pembentukan fase ekstraksi untuk memisahkan zat terlarut dari sampel (Wilson *et al.*, 2000). Maserasi termasuk metode merendam bahan dalam pelarut yang sesuai dengan bahan aktif yang akan diekstraksi secara dingin atau tanpa panas.

Cara ekstraksi sangat rentan terhadap sifat pelarut, suhu, waktu, rasio bahan dan pelarut, serta besaran partikel. Metanol dan etanol banyak dipilih sebagai pelarut dalam ekstraksi, hal itu dibuktikan Ketika pelarut tersebut efektif menarik saponin pada daun bidara karena sifat kepolarannya yang memudahkan dalam pemisahan, serta cara maserasi memiliki keunggulan tidak merusak bahan aktif yang diekstraksi (Suharto *et al.*, 2016) (Pratiwi, 2010). Selama proses perendaman, dinding sel dan membran mengalami degradasi akibat perbedaan tekanan ekstraseluler dan intraseluler, menyebabkan metabolit yang terdapat dalam sitoplasma terdegradasi dan terlarut dalam etanol pelarut organik lainnya (Nobitasari dkk, 2016).

Metode maserasi termasuk cara dingin yang menggunakan suhu ruangan dalam prinsipnya, namun kelemahan dari penggunaan suhu kamar adalah metode ekstraksi yang tidak sempurna dan senyawa tidak larut dengan sempurna. Oleh karena itu, pengaturan suhu perlu disesuaikan untuk menentukan perlakuan suhu agar proses ekstraksi dapat optimal (Ningrum, 2017). Waktu lamanya maserasi juga bentuk faktor yang dapat mempengaruhi hasilnya. Biasanya sesuai panduan ekstraksi didiamkan selama 24 jam dengan sesekali diaduk agar kontak pelarut dengan bahan aktif dapat maksimal (Wahyuni dan Widjanarko, 2015). Keadaan ini bertahan sampai tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam bahan dan konsentrasi senyawa dalam pelarut. Yulianingtyas dan Kusmartono(2016).

## **F. Obat-obat antidiabetes**

Terapi farmakologi diabetes sudah banyak dikenal dengan pengobatan insulin dan secara oral. Obat tersebut biasanya diperlukan saat pengaturan diet maksimal belum berhasil dalam mengendalikan kadar glukosa darah. Perubahan pola hidup sehat sangat penting sebagai pengendalian diabetes dan secara intensif atau biasa disebut terapi non farmakologi.

### **1. Golongan Sulfonilurea**

Bekerja dengan cara meningkatkan sekresi insulin. Sulfonilurea berikatan dengan reseptor sulfonilurea secara khusus pada sel  $\beta$  pankreas. Menutup saluran kanal  $K^+$  yang terjaga keamanannya dan mengurangi produksi kalium. Depolarisasi membran kemudian terjadi, pompa kalsium terbuka sehingga kalsium dapat masuk. Kandungan kalsium intraseluler yang meningkat memicu sekresi insulin. Efek samping yang sering dijumpai yaitu hipoglikemik dan berat badan bertambah (~2 kg) (Triplet *et al.*, 2008).

### **2. Golongan Meglitinid (Glinid)**

Hampir mirip dengan sistem kerja seperti sulfonilurea. Dengan demikian, ia menutup saluran kalium yang peka terhadap ATP, menyebabkan depolarisasi, masuknya kalsium, dan peningkatan sekresi insulin. Penyerapan obat initergolong cepat dan ekskresi oleh hati juga berlangsung cepat. Golongan obat ini mempunyai efek samping gastrointestinal, hipoglikemia, dan berat badan naik namun masih jarang ditemui pada kondisi dosis rendah. Contoh obat ini adalah repaglinide dan nateglinide.

### **3. Kelompok Biguanid**

Golongan obat yang sering digunakan saat terapi bahkan mejadikannya masuk ke dalam regimen terapi lini pertama bagi terapi diabetes karena tidak menyebabkan hipoglikemik, contohnya adalah metformin. Metformin sukses menekan produksi glukosa di hati serta menambah sensitifitas terhadap insulin (Kroon & Williams, 2013). Metformin berkontribusi dalam stimulasi pengambilan glukosa pada jaringan adiposa bertujuan untuk mengurangi kadar insulin di tubuh sehingga tidak secara langsung mempengaruhi sel beta (Katzung, 2011). Kelompok obat ini mempunyai efek samping penurunan berat badan, gangguan gastrointestinal, dan asidosis laktat juga pernah dilaporkan. Obat diberikan dengan atau setelah makan (Triplit *et al.*, 2008).

#### **4. Golongan tiazolidinedion**

Kelompok tiazolidinedion bertindak dengan mengikat peroxisome proliferative receptor-gamma (PPAR-gamma) yang terdapat di adiposit dan otot. Obat ini juga efektif dalam mengurangi peresistensi insulin untuk menambah penyerapan glukosa perifer. Contohnya termasuk pioglitazone (Actos) dan rosiglitazone (Avandia). Efek samping yang pernah dilaporkan adalah edema pada sebagian kondisi (Triplit *et al.*, 2008) (Kroon & Williams, 2013).

#### **5. Penghambat $\alpha$ -glukosidase**

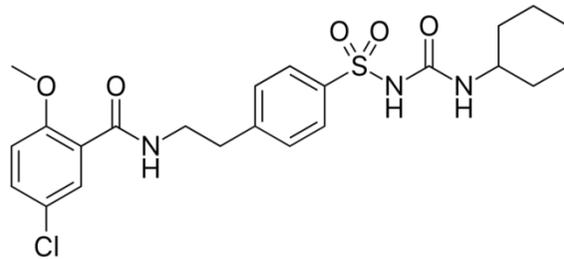
Kelompok obat ini bekerja dengan cara menghambat enzim alfa-glukosidase yang mengakibatkan penghambatan absorpsi glukosa pada usus kecil seperti enzim maltase dan lukoamilase. Kedua obat tersebut memperlambat degradasi sukrosa dan karbohidrat. Efek samping obat tersebut yaitu menurunkan kadar glukosa darah postprandial (Triplit *et al.*, 2008) (Kroon & Williams, 2013). Efek samping yang umum termasuk gas, kembung, konstipasi, dan diare.

#### **6. DPP-IV Kelompok penghambat**

Kelompok ini menperlama jalur degradasi glukagon sebagai peptida 1 (GLP-1) dan GIP, mensinergiskan aksi dua inkretin selama tahap awal sekresi insulin, dan menghambat glukagon. Efek samping yang pernah dilaporkan yaitu flatulen dan tinja terasa empuk tidak seperti kondisi normal umumnya.

### **G. Glibenklamid**

Obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea generasi kedua cukup sering digunakan pada lini terapi khususnya diabetes tipe 2 seperti glibenklamid atau gliburid. Obat ini bekerja dengan menutup saluran kalium yang sensitif terhadap ATP pada  $\beta$ -pankreas. Saluran kalium yang sensitif terhadap ATP pada sel beta dikenal sebagai reseptor sulfonilurea. Penghambatan tersebut menyebabkan timbulnya depolarisasi membran sel yang mengakibatkan terbukanya voltage dependent kanal kalsium. Kanal kalsium yang terbuka menyebabkan tingginya kadar kalsium intraseluler di dalam sel beta yang menyebabkan perangsangan dalam pelepasan insulin (Dhillon *et al.*, 2015).



**Gambar 3. Struktur Kimia Glibenklamid**

Source: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> ID 3488

Glibenklamid atau dikenal dengan IUPAC 1-[[4-[2-(5-*chloro*-2-*methoxy*-*benzamide*)ethyl]benzenasulfonyl]-3-*cycloheksilurea*. Obat ini mempunyai rumus molekul  $C_{23}H_{28}C_1N_3O_5S$  dan bobot molekul (BM) yaitu 494. Kelarutan glibenklamid memiliki ciri sukar larut dalam etanol dan methanol, tidak mudah karut dalam air dan ester, serta larut dalam klorofom (Depkes RI, 1995). Nilai pKa glibenklamid berkisar 5,3 yang menunjukkan sifat asam lemah. Sifat asam lemah tersebut menjadikannya lebih mudah di absorpsi di lambung daripada di usus. Kondisi usus terbilang basa sehingga obat asam lemah akan terionisasi dan sukar untuk diserap. Begitupun sebaliknya, pada kondisi lambung yang asam, akan memudahkan obat asam lemah untuk diabsorpsi (Gitawati, 2008)

Ditinjau dari *Biopharmaceutical Classification System* (BCS), glibenklamid masuk kategori BCS kelas II yang berarti memiliki permeabilitas tinggi dengan kelarutan yang rendah (Bachhav *et al.*, 2009). Kondisi asam atau basa menandakan pH mempengaruhi kelarutan suatu obat. Dalam kondisi pH asam dan netral, globenklamid mempunyai kelarutan yang kecil pada suhu 37°C yaitu <0,004 mg/ml. Peningkatan 0,02 mg/mL dapat terjadi ketika pada kondisi pH basa.

## H. Aktivitas Antidiabetes

### 1. Uji aktivitas antidiabetes

**1.1. Streptozotocin** adalah metode yang digunakan untuk membuat tikus atau mencit mencapai kadar glukosa darah >200 mg/dL. Mekanisme kerja streptozotocin dalam meningkatkan gula darah karena sifatnya yang toksik, yaitu merusak sel  $\beta$  pankreas (Pathak *et al.*, 2008).

**1.2. Aloksan tetrahydrate** adalah agen antidiabetes bekerja pada sel  $\beta$  pankreas secara selektif, yang merupakan organ penghasil insulin. Alloxan yang berada dalam darah berikatan dengan GLUT-2

(*glucose transporter*) yang menjadi dasar alloxan masuk ke dalam sel  $\beta$ -sitoplasma pankreas. Pada sel beta, aloksan akan menyebabkan depolarisasi berlebihan akibat penetrasi ion  $\text{Ca}^{2+}$  di mitokondria yang menyebabkan pengeluaran energi berlebihan yang menyebabkan kekurangan energi seluler. Kedua mekanisme tersebut merusak baik jumlah maupun volume sel pankreas yang dapat menyebabkan pelepasan insulin menurun dan berujung pada hiperglikemia (Lenzen, 2008).

**1.3. Tes toleransi dan tes resistensi insulin** adalah Tes in vivo pada hewan laboratorium. Tes toleransi adalah tes untuk melihat seberapa baik penurunan gula darah dapat ditoleransi dengan obat percobaan tertentu (Susilavati, dkk, 2016). Penelitian Rokhdiana dkk (2012) membuktikan batas keterkaitan ekstrak teh hijau dengan 6 kelompok tikus pada kontrol normal, negatif, positif dan tiga variasi dosis dan kadar glukosa darah yang diamati. Tikus yang diberi makan selama 7 hari dan dipuaskan selama 18 jam diuji kadar glukosa darahnya pada interval 0, 60, 120, 180 dan 240 menit. Hasilnya adalah aktivitas antidiabetes dan hipoglikemik.

**1.4. Uji resistensi** dilakukan untuk mengetahui seberapa baik obat antidiabetes bekerja untuk memperbaiki sensitivitas insulin. Pengujian dilaksanakan dengan kelompok hewan uji dan memberikan sediaan emulsi atau sediaan uji selama 14 hari yang diyakini dapat menginduksi resistensi insulin. (Susilavat dkk, 2016) dalam penelitiannya menunjukkan daun singalawang memberikan aktivitas antidiabetes yang menarik dalam memperbaiki sensitivitas insulin terhadap senyawa *n-hexane*. Ekstrak emulsi lemak tinggi yang diinduksi tikus, bagian etil asetat, bagian n-heksana dan bagian air menunjukkan peningkatan sensitivitas insulin yang nyata dalam fraksi n-heksana. Hasil sensitivitas insulin berupa nilai KTTI (konstanta uji toleransi insulin) yang menggambarkan kemiringan atau kemiringan kurva dikalikan 100 dari regresi linier logaritmik kadar glukosa darah spontan dari waktu ke waktu (Fitriani, 2014). Tes in vivo untuk menentukan aktivitas hipoglikemik seberapa rendah glukosa darah menyebabkan penurunan glukosa darah (Uddin *et al.*, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Udin dkk (2014) memuaskan tikus terlebih dahulu untuk diberi glibenklamid dan buah *Citrus macroptera* untuk mengetahui hipoglikemik. Hewan uji dipuaskan selama 24 jam dan diambil darah tikus sebelum intervensi obat dan 2 jam setelah

pemberian obat. Penurunan terjadi pada ekstrak buah *Citrus macropetra* namun tidak signifikan seperti glibenklamid.

## I. Aloksan

Aloksan merupakan derivat pirimidin yang mempunyai gugus oksigen dan hadir sebagai aloksan *hydrate* sederhana yang diperoleh dari oksidasi asam urat dari asam nitrat (Tika, 2018). Aloksan yang memiliki senyawa kimia nama IUPAC 2,4,5,6-tetraoksipirimidina; 5,6-dioksiurasil (Szkudelski, 2001). Studi eksperimental banyak menggunakan aloksan sebagai induksi diabetes karena dapat menghancurkan sel beta pankreas yang bertanggung jawab sebagai produksi insulin selektif. Respon glukosa darah multiphasic pada hewan uji memberikan respon saat diinduksi aloksan, kejadian itu disertai dengan perubahan invers dan perubahan sel beta yang sesuai pada konsentrasi insulin plasma yang berakhir pada kematian sel nekrotik. Fase transien hipoglikemik akan terlihat di menit pertama pada tahap pertama berkisar maksimal adalah 30 menit (Rohilla & Ali, 2012).

Aloksan bekerja dengan membentuk khelat pada Zn dan raksi tersebut menghasilkan hydrogen peroxide yang dapat menghancurkan sel lisosom, degenerasi dan rearsorpsi sel pankreas dan defisiensi insulin terjadi (Skudelski, 2001). Pelepasan insulin yang diinduksi aloksan ini terjadi untuk waktu yang singkat bahkan ketika konsentrasi glukosa tinggi digunakan, respons pulau terhadap glukosa benar-benar berhenti. Selain itu, kinerja aloksan dipercepat oleh absorpsi sel beta pankreas sebagai ciri penting yang menyebabkan diabetes aloksan. Proses reduksi pada sel beta berkontribusi dengan berbagai agen pereduksi seperti glutathione (GSH), sistein, askorbat, dan gugus sulfhidril (-SH). Asam dialuric membentuk aloksan setelah dioksidasi karena proses reduksi aloksan yang kemudian menciptakan siklus oksigen yang menghasilkan oksigen reaktif serta radikal superoksida (Rohila dan Ali, 2012). Secara morfologis, destruksi dan nekrosis sel beta pankreas yang ireversibel terjadi pada dosis aloksan 150 mg/kgBB (Sujono & Sutrisna, 2010) (Rahila & Ali, 2012).

## J. Hewan Uji

### 1. Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*)

Sistematika hewan uji menurut Krinke (2000) adalah sebagai berikut :

Kingdom : *Animalia*  
 Phylum : *Chordata*  
 Subphylum : *Vertebrata*  
 Class : *Mamalia*  
 Ordo : *Rodentia*  
 Family : *Muridae*  
 Genus : *Ratus*



**Gambar 4. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)**  
 (Jondrianto, 2012)

Hewan uji laboratorium merupakan hewan peliharaan untuk kepentingan penelitian saja dan digunakan sebagai sampel dalam penelitian kimia atau farmasi. Keunggulan tikus albino (*Rattus norvegicus*) sebagai hewan percobaan adalah bersifat omnivora (makan apa saja), memiliki jaringan tubuh yang hampir sama dengan manusia, dan membutuhkan pola makan yang hampir sama dengan manusia. Tubuh tikus wiski putih (*Rattus norvegicus*) yang berkembang dengan baik mudah beradaptasi dengan lingkungannya. Perbedaan antara tikus jantan dan tikus betina memiliki perbedaan dengan terlihatnya testis pada tikus putih jantan dan tidak terlihatnya testis pada tikus putih betina. Rata-rata kadar glukosa darah normal pada tikus putih berkisar pada 50-135 mg/dL.

### **K. Histopatologi Organ pankreas**

Histopatologi adalah representasi struktural penyakit yang diamati melalui mikroskop. Kondisi ini dapat dicirikan dari adanya jaringan yang masih normal, penyakit variasi, dan kemungkinan terjadi dinamika hasil studi yang telah dilakukan secara visual dan mikroskopis (Chrissman *et al.*, 2004). Tujuan pemeriksaan ini dilakukan untuk memeriksa kondisi yang terjadi pada pankreas yang diinduksi aloksan (Rahayu *et al.*, 2006). Pankreas berfungsi sebagai kelenjar eksokrin dan endokrin. Strukturnya yang lembut disebabkan oleh keberadaan banyak jaringan kelenjar dan pancreas yang terbagi

menjadi beberapa bagian, termasuk korpus, kauda, dan kaput dengan berat keseluruhan sekitar 80 g.

Endokrin pankreas memiliki fungsi fisiologis yang dijalankan sel yang membentuk kelompok yaitu pulau Langerhans dengan diameter 75- 500  $\mu\text{m}$  yang berkontribusi dalam metabolisme karbohidrat dari pembentukan glukagon dan hormon insulin. Sementara itu, fungsi eksokrin saluran pankreas, melibatkan pengeluaran jus pankreas ke dalam duodenum sebanyak 500-1200 mL per hari (Katzung, 2012). Kumpulan pulau ini disebut organ pulau, menunjukkan kemandiriannya secara morfologik dan fungsional. Sekitar 80% pulau ini tersusun dari sel  $\beta$  berwarna muda serta bertanggung jawab untuk memproduksi insulin. Kelenjar pankreas secara keseluruhan tersusun dari pulau-pulau Langerhans yang membentuk kelompok tersebar di sepanjang kelenjar eksokrin pancreas. Unit endokrin pulau Langerhans memiliki 4 macam sel, yaitu sel alfa, sel beta, sel delta, dan sel PP (polipeptida pankreas) (Seungbum *et al.*, 2007). Pada tikus memiliki pankreas di rongga abdomen dengan permukaan seperti lobulasi putih keabuan hingga kemerahan (Fradson, 1992).

### 1. Kerusakan pankreas

Pada hewan percobaan yang diinduksi aloksan terjadi metabolisme oksidasi-reduksi yang menghasilkan radikal bebas dan radikal aloksan. Radikal ini menyebabkan kerusakan pada sel  $\beta$ -pankreas. Pada pulau Langerhans terlihat pengurangan massa sel, beberapa pulau Langerhans mengalami kerusakan, ukuran menjadi lebih kecil bahkan ada yang hancur dan menghilang. Akibat kerusakan tersebut, sel-sel kehilangan kemampuan untuk menghasilkan insulin menyebabkan terjadinya penyakit diabetes yang ditandai dengan keadaan hiperglikemia (Suarsana *et al.*, 2010). Lesi pada pankreas jarang bernilai diagnostik dan tidak tetap. Diabetes tipe 1 sering mengalami perubahan khas lebih dari tipe 2 dan memungkinkan adanya perubahan yang terlihat seperti berikut:

**1.1. Ukuran dan banyaknya islet.** Diabetes tipe 1 mengalami penurunan cukup banyak pada ukuran dan jumlah islet terutama kasus yang berkembang cepat, Karena pengurangan tersebut menjadikan volume, bentuk, dan keberadaan sulit ditemukan. Sedangkan kerusakan sel beta lebih lambat dialami oleh diabetes tipe 2 yang tidak melebihi 20% hingga 50% kerusakan.

**1.2. Degranulasi sel beta.** Pada diabetes tipe lain umumnya tidak ditemukan. Kejadian ini sering dijumpai pada diagnosis baru DM tipe 1 yang masih didapati beberapa sel yang ditemukan.

**1.3. Kuantitas dan dimensi islet yang meningkat.** Sel-sel islet pada neonates yang tidak menderita diabetes lahir keturunan dari ibu penderita, diyakini bahwa sel-sel akan mengalami peningkatan jumlah sebagai respon dari kadar glukosa yang tinggi pada ibu hamil (Kumar, 2007).

## **2. Histopatologi Pankreas**

Morfologi mengalami perubahan dimensi pada pulau Langerhans seperti diameter, kuantitas sel endokrin, dan persentase adanya nekrosis, merupakan indikasi dari kerusakan pankreas yang disebabkan oleh diabetes melitus.

**2.1. Kuantitas Langerhans.** Penurunan jumlah pulau Langerhans cenderung lebih banyak pada hewan uji yang mengalami DM cenderung dengan hewan uji normal. Jika diamati, jaringan pancreas normal pada hewan percobaan akan terlihat lebih dari dua pulau dari perspektif di pandangan nyata. Namun, pengamatan pada hewan uji diabetes tipe 2 sering dijumpai tidak ditemukan atau masih jarang dijumpai pulau Langerhans yang terlihat (Andayani, 2003).

**2.2. Nekrosis** merupakan salah satu pola dasar kematian sel. Nekrosis terjadi setelah suplai darah hilang atau setelah terpajan toksin dan ditandai dengan pembengkakan sel, denaturasi protein dan kerusakan organel. Hal ini dapat menyebabkan disfungsi berat jaringan (Kumar *et al.*, 2007). Pada nekrosis, perubahan terutama terletak pada inti. Memiliki tiga pola, yaitu piknosis merupakan pengerutan inti, homogenisasi sitoplasma dan peningkatan eosinofil, DNA berkondensasi menjadi massa yang melisut padat. Karioreksis Inti terfragmentasi (terbagi atas fragmen-fragmen) yang piknotik serta kariolisis yaitu pemudaran kromatin basofil akibat aktivitas DNA (Lestari, 2011).

## **3. Pembuatan preparat histopatologi**

Pewarna hematoxylin eosin (HE) digunakan dalam preparasi histopatologi dengan metode yang umum digunakan. Jenis pewarnaan ini sering dijumpai dalam preparasi histopatologi dengan berbagai spesies hewan yang dibuat sakit atau telah mati. Proses ini ditujukan untuk pemeriksaan histopatologi guna memperkuat diagnosa awal pada hewan yang digunakan (Muntiha, 2001). Terdapat dua jenis zat

warna yang digunakan yaitu hematoxilin (HE) dan eosin. Pada pewarnaan HE biasa disebut basofilik karena memberikan warna biru yang nyata saat pewarnaan inti sel, sedangkan eosin diaplikasikan dalam pewarnaan sitoplasma sel dan jaringan, menampilkan warna merah muda secara visual (Jusuf, 2009). Pengamatan perlu dilakukan terhadap jaringan setelah pewarnaan yang melibatkan analisis morfologi umum jaringan. Ini mencakup evaluasi kondisi sel pulau Langerhans, deteksi inflamasi, serta perhitungan banyaknya pulau per jarak mata pandang (Uray, 2009).

## L. Landasan Teori

Kelainan sekresi insulin menyebabkan hiperglikemia yang menjadi tanda adanya gangguan metabolisme dan berujung diabetes. Penderita penyakit ini tidak mampu memproduksi atau merespon hormon insulin yang diproduksi oleh pankreas dan memiliki kadar gula darah yang tinggi (Tentero *et al.*, 2016). Kedondong (*Spondias dulcis*) adalah pohon buah dari keluarga persik. Tumbuhan ini banyak terdapat di Asia Selatan, Asia Tenggara dan daerah tropis (Prihatman, 2008). Daun kedondong (*Spondias dulcis*) mengandung flavonoid, saponin, alkaloid dan tanin (Inayati, 2007). Flavonoid adalah senyawa polifenol dan vitamin C dalam jumlah besar ditransfer ke daun kedondong dan ke umbi, buah, batang dan bunga di tempat yang dibutuhkan (Harjanti, 2012). Daun kedondong kini banyak digunakan sebagai obat herbal. mencegah penyakit akibat kanker, penuaan dini, antioksidan, penyakit jantung, diabetes dan kolesterol (Andriani, 2007).

Hewan percobaan *in vivo* dapat diujikan dengan beberapa cara atau intervensi, seperti metode streptozotocin, induksi aloksan, uji toleransi glukosa, dan resistensi insulin. *Alloxan tetrahydrate* adalah agen antidiabetes yang bekerja pada sel  $\beta$  pankreas penghasil insulin secara selektif. Dalam darah aloksan dapat berikatan oleh GLUT-2 (transporter glukosa), yang mendasari aloksan dapat menginduksi ke dalam sel  $\beta$ -sitoplasma. Pada sel  $\beta$ , aloksan menyebabkan depolarisasi berlebihan karena masuknya ion  $Ca^{2+}$ , menyebabkan pengeluaran energi berlebih dan defisit energi seluler. Kedua mekanisme tersebut merusak baik jumlah maupun kondisi yang dapat menyebabkan menurunnya pelepasan insulin dan mengakibatkan gula darah berlebih (Lenzen, 2008).

Aloksan bekerja dengan mengganggu permeabilitas membran sel. Aloksan mempromosikan pelepasan ion kalsium dari mitokondria dan menghentikan proses oksidatif seluler. Penghapusan ion kalsium

dari mitokondria menyebabkan homeostasis, yang merupakan awal dari kematian sel. Hal ini menghentikan produksi insulin pada sel  $\beta$  pankreas (Lenzen, 2007). Kemampuan aloksan untuk menginduksi diabetes juga bergantung pada jalur induksi, dosis senyawa, hewan uji, dan status gizi (Szkudelski, 2001).

Ekstraksi adalah proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak zat yang diinginkan tanpa melarutkan komponen lain. Pada tingkat tinggi, Langkah krusial dalam pemisahan ditinjau dari penambahan jumlah pelarut yang sesuai, lama kontak antara sampel dengan pelarut yang dapat dicapai dengan difusi, dan fase ekstraksi untuk memisahkan zat dan solvent yang digunakan (Wilson *et al.*, 2000). Ekstraksi dengan cara maserasi memiliki keunggulan tidak merusak bahan aktif yang diekstraksi (Prathivi, 2010). Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah etanol 70%. Penggunaan pelarut etanol 70% bertujuan untuk mengekstraksi semua komponen dalam serbuk Simplisia, karena pelarut etanol merupakan pelarut universal yang dapat mengekstraksi senyawa yang larut dalam pelarut polar (Suhaimi *et al.*, 2019).

Kelompok tikus yang normal memiliki gambaran histopatologis pancreas yang baik ditinjau dari keadaan pulau Langerhans saat saling berhimpitan. Berbeda dengan kondisi diabetes, terlihat ada ruang kosong di bagian tengah pulau Langerhans menandakan kondisi pulau Langerhans mengalami kerusakan karena terjadinya degenerasi sel-sel endokrin dan nekrosis pada pulau Langerhans. Dalam penggunaan antidiabetes, mekanisme yang diharapkan adalah menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki histopatologi dari pankreas serta perbaikan ekskresi protein insulin pankreas.

### **M. Hipotesis**

1. Ekstrak etanol daun kedondong bangkok (*Spondias Dulcis*) mempunyai aktivitas antidiabet pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan.
2. Ekstrak etanol daun kedondong bangkok (*Spondias Dulcis*) memiliki dosis efektif sebagai antidiabet terhadap tikus putih jantan yang diinsuksi aloksan.
3. Ekstrak etanol daun kedondong bangkok (*Spondias Dulcis*) memiliki potensi memperbaiki kondisi histopatologi pankreas tikus yang mengalami kerusakan.