

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH DUWET (*Syzygium cumini* L.)
TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA TIKUS
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**



Oleh :

**Tika Indrasari
20144144A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH DUWET (*Syzygium cumini* L.)
TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA TIKUS
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**



Oleh:

**Tika Indrasari
20144144A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH DUWET (*Syzygium cumini* L.)
TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN
HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA TIKUS
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh :

Tika Indrasari
20144144A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 19 April 2018



Dekan,

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

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

Pembimbing,

Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt

Pembimbing pendamping,

Sri Rejeki Handayani, M.Farm., Apt

Penguji:

1. Dr. Titik Sunarni, M.Si., Apt
2. Reslely Harjanti, M.Sc., Apt
3. Sunarti, M.Sc., Apt
4. Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur kehadiran Allah SWT, aku persembahkan karya sederhana ini untuk :

Bapak (Suyanto) dan Ibu (Warsini) yang senantiasa dengan tulus ikhlas mendidik dan membimbingku, memberikan limpahan kasih sayang, serta memanjatkan doa dalam setiap sujudnya demi menanti keberhasilanku.

Adik semata wayangku Dimas Achmad Indranto terimakasih untuk tidak mengganggu ku selama proses pengerjaan skripsi ini berlangsung.

Keluarga besar Mulyo Dihadjo dan Sastro Karyono terimakasih atas doa dan cinta yang diberikan.

Pristovia Oksinanida Rahmawati dan Jolifan Regulo Freitas anggota PJT geng duwet anti libur, terimakasih atas kesabaran dan semangat selama penelitian, akhirnya selesai ya...

Kupersembahkan kepada kalian semua, terimakasih beribu terimakasih atas segala kekhilafan salah dan kekuranganku, beribu kata maaf tercurah.

Skripsi ini kupersembahkan –Tika Indrasari-

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di perguruan tinggi lain dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain. Kecuali yang secara tertulis diacu didalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

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

Surakarta.



Tika Indrasari

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH DUWET (*Syzygium cumini* L.) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN”** ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Taringan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A Oetari, SU., M.Sc.,Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt selaku Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktu beliau untuk membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Sri Rejeki Handayani.,M.Farm.,Apt selaku Pembimbing Pendamping yang dengan sabar membimbing penulis, sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak dan Ibu dosen panitia penguji skripsi yang telah memberi masukan demi kesempurnaan skripsi ini.
6. Terima kasih kepada Pak Yuli dari Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada yang telah banyak membantu.
7. Orang tua yang senantiasa memanjatkan doa dalam setiap sujudnya demi menanti keberhasilanku. Keluarga besar yang telah mendoakan dan memberi semangat terimakasih untuk semuanya.
8. Pristovia Oksinanida Rahmawati dan Jolifan Regulo Freitas yang telah menjadi teman satu tim selama proses penelitian penulis.

9. Sahabat-sahabatku Pina Vironika, Siti Mutmainah, Merlyna Fajar Pratiwi, Rika Arfiana Safitri, Serliandi dan teman-teman pejuang skripsi yang telah memberi dukungan nasehat serta doa untuk saya.
10. Teman – teman kost Griya Asri Rika, Serli, Annora, Tari, Henny, Fitri, Wulan, Anggi
11. Ima, Lucy, Winda, Asti, Mia, Nanni, Devi, Nadya teman-teman FKK-2, terimakasih atas doa dan dukungan serta kerja samanya.
12. Teman – teman S-1 Farmasi angkatan 2014 yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, terimakasih atas dukungan dan kerja samanya.
13. BTS atas lagu - lagu yang selalu menjadi moodboster selama proses pengerjaan skripsi berlangsung.
14. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini. Kritik dan saran dari siapapun yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang mempelajarinya.

Surakarta, 04 April 2018

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tanaman Duwet	
1. Klasifikasi tanaman	5
2. Nama lain dan nama daerah.....	5
3. Morfologi tanaman	6
4. Kandungan kimia tanaman	6
5. Kegunaan tanaman	8
B. Tinjauan Fitokimia	
1. Flavonoid	8
2. Tanin.....	9
3. Alkaloid	9
C. Simplisia	
1. Pengertian	10

2. Pengumpulan simplisia.....	10
3. Pengeringan simplisia.....	11
D. Ekstraksi	
1. Pengertian Ekstraksi	11
2. Ekstrak	11
3. Maserasi	12
4. Pelarut	12
E. Diabetes Mellitus	
1. Pengertian	13
2. patofisiologi	14
3. Tanda dan Gejala	14
4. Faktor resiko	15
4.1.Usia.....	15
4.2.Keturunan (genetik)	15
4.3.Kegemukan (obesitas)	15
4.4.Penyakit penyerta	15
5. Klasifikasi	
5.1.Diabetes melitus tipe 1	16
5.2.Diabetes melitus tipe 2	16
5.3.Diabetes melitus tipe lain	16
5.4.Diabetes melitus gestasional.....	17
6. Komplikasi	17
7. Dampak diabetes melitus	
7.1. Komplikasi pada sistem kardiovaskukuler.....	17
7.2. Gangguan penglihatan	18
7.3. Kerusakan ginjal.....	18
7.4. Neuropatic diabetik	18
7.5. gestasional	19
8. Diagnosa	19
9. Terapi	
9.1.Insulin	19
9.2.Obat antidiabetik oral	20
10. Upaya pencegahan diabetes melitus	
10.1. Pencegahan primer	21
10.2. Pencegahan sekunder.....	21
10.3. Pencegahan tersier	22
F. Glibenklamid	
1. Kelarutan	22
2. Indikasi dan kontraindikasi.....	22
3. Dosis dan aturan pakai.....	22
4. Farmakokinetik.....	22
5. Mekanisme kerja.....	22
6. Efek samping	23
6.1.Hipoglikemia	23

6.2.Efek pada saluran pencernaan	23
6.3.Efek pada hepar	23
6.4.Reaksi sensitivitas dan dermatologi	23
6.5.Efek pada darah	23
7. Interaksi obat	23
G. Diabetogenik.....	24
H. Stres Oksidatif	25
I. Metode Analisa Kadar Glukosa Darah	
1. Metode analisa kadar glukosa darah dengan glukometer	26
2. Metode GLUC-DH	26
3. Metode GOD-PAP	26
4. Metode 0-toluidine.....	27
J. Hewan Percobaan	
1. Klasifikasi hewan uji	27
2. Karakteristik utama.....	28
3. Biologi tikus	28
4. Kandang dan perawatan.....	28
5. Pemberian secara oral.....	28
K. Histopatologi Organ Pankreas	
1. Pengertian histopatologi	29
2. Struktur dan anatomi pankreas	29
3. Kerusakan pankreas	30
4. Histopatologi pankreas	31
5. Metode pembuatan preparat histopatologi	31
L. Landasan Teori	32
M.Hipotesis	33
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Populasi dan Sampel.....	34
B. Variabel Penelitian	
1. Identifikasi variabel utama	34
2. Klasifikasi variabel utama	34
3. Definisi operasional variabel utama	35
C. Alat dan Bahan	
1. Alat	36
2. Bahan	36
3. Hewan percobaan.....	37
D. Jalannya Penelitian	
1. Determinasi tanaman duwet	37
2. Pengumpulan, pengeringan dan pembuatan serbuk	37
3. Penetapan kadar air buah duwet	37
4. Pembuatan ekstrak etanol buah duwet	38
5. Uji bebas alkohol	38
6. Identifikasi kandungan senyawa	
6.1. Identifikasi flavonoid.....	38

6.2. Identifikasi tanin	38
6.3. Identifikasi saponin.....	39
6.4. Identifikasi alkaloid	39
6.5. Identifikasi steroid & terpenoid	39
7. Penentuan dosis	
7.1 Penentuan dosis aloksan	39
7.2 Penentuan dosis glibenklamid	39
8. Pembuatan sediaan uji	
8.1.Aloksan monohidrat.....	39
8.2.CMC Na 0,5%	40
8.3.Glibenklamid	40
8.4.Larutan garam fisiologis	40
9. Pengelompokan dan perlakuan hewan uji	40
10. Pengambilan sampel	41
11. Penetapan kadar glukosa darah.....	41
12. Pembuatan preparat histopatologi	41
13. Perlakuan hewan uji pasca bedah	43
14. Pemeriksaan histopatologi	43
E. Analisa Statistik.....	44
F. Alur Penelitian	45
G. Alur Pemeriksaan Histopatologi.....	46
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
A. Determinasi buah duwet	47
B. Pembuatan serbuk buah duwet dan sifat fisik	47
1. Pembuatan serbuk buah duwet	47
2. Identifikasi serbuk buah duwet.....	48
C. Hasil penetapan kadar air buah duwet	48
D. Hasil pembuatan ekstrak buah duwet	49
E. Hasil uji bebas alkohol	49
F. Hasil identifikasi kandungan kimia	50
G. Hasil pengukuran berat badan tikus.....	50
H. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus	52
I. Hasil pemeriksaan histopatologi pankreas	60
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan.....	66
B. Saran	66
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	76

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Buah duwet	6
2. Struktur kimia flavonoid	8
3. Struktur kimia tanin	9
4. Struktur kimia alkaloid	9
5. Struktur kimia glibenklamid	22
6. Struktur kimia aloksan	25
7. Grafik pengaruh pemberian terhadap kadar gula darah	53
8. Grafik rata-rata AUC	56
9. Persentase penurunan kadar gula darah	57
10. Pankreas dengan perbesaran 100x	60
11. Persentase nekrosis sel endokrin pulau langerhans.....	63

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Rendemen pengeringan buah duwet	48
2. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk buah duwet	48
3. Hasil penetapan kadar air buah duwet	48
4. Hasil rendemen ekstrak etanol buah duwet	49
5. Hasil uji bebas alkohol ekstrak buah duwet.....	51
6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol buah duwet.....	50
7. Rata-rata berat badan tikus.....	51
8. Rata-rata hasil pengukuran kadar gula tikus	53
9. Persentase rata rata AUC	55
10. Persentase penurunan kadar glukosa darah T ₁ ke T ₂	56
11. Persentase nekrosis sel endokrin pulau langerhans.....	63

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Surat determinasi tanaman	76
2. Ethical clearance	78
3. Sertifikat pelatihan dasar hewan coba.....	79
4. Foto tanaman buah duwet	80
5. Foto kegiatan penelitian	81
6. Foto perlakuan pada hewan uji	83
7. Foto hewan percobaan proses pembedahan pankreas tikus	84
8. Hasil presentase rendemen buah duwet	86
9. Hasil identifikasi serbuk buah duwet secara organoleptis	87
10. Hasil penetapan kadar air buah duwet	88
11. Perhitungan rendemen ekstrak buah duwet	89
12. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak buah duwet	90
13. Perhitungan dosis dan volume pemberian	92
14. Data rata-rata hasil penimbangan berat badan tikus	95
15. Perhitungan dosis glibenklamid	96
16. Perhitungan volume penyuntikan dosis ekstrak etanol buah duwet	97
17. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T_0	98
18. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T_1	99
19. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T_2	100
20. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula darah	101
21. Penurunan dan presentase penurunan kadar gula darah.....	102
22. Perhitungan AUC kadar gula darah	103
23. Hasil perhitungan presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans	104
24. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus	105
25. Hasil statistik presentase penurunan kadar gula darah T_1 terhadap T_2	108
26. Hasil uji statistik AUC kadar glukosa darah	111
27. Uji statistik presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans	114
28. Hasil histopatologi organ pankreas	118

INTISARI

INDRASARI, T., 2018. PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH DUWET (*Syzygium cumini* L.) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH DAN HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI SURAKARTA

Buah duwet merupakan salah satu buah yang digunakan sebagai antidiabetes alami karena mengandung senyawa kimia antara lain alkaloid, flavonoid, tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek yang diberikan ekstrak etanol buah duwet dalam menurunkan kadar gula darah, kemampuan menghambat nekrosis pada pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan, mengetahui dosis yang paling efektif sebagai antidiabetes

Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus dibagi dalam 6 kelompok, yang terdiri dari kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak 100mg/kg BB, 200mg/kg BB, 400mg/kg BB. Semua kelompok diberikan perlakuan selama 14 hari. Hari ke0 dan hari ke-14 ditetapkan kadar gula darah, pada hari ke-15 tikus dibedah serta diambil organ pankreasnya untuk dibuat preparat histopatologi. Pengukuran kadar gula darah pada tikus dengan menggunakan metode glukosa oksidase (GOD-PAP).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah duwet dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB dapat menurunkan kadar gula darah dan mampu menghambat nekrosis pada pankreas tikus diabetes yang diinduksi aloksan. Dosis paling optimal 400mg/kg BB.

Kata kunci : buah duwet, antidiabetes, gula darah, nekrosis pankreas, aloksan

ABSTRACT

INDRASARI, T., 2018. THE EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT OF DUWET (*Syzygium cumini* L.) FRUIT ON THE DECREASE OF BLOOD GLUCOSE LEVEL AND PANCREAS HISTOPATHOLOGY OF ALLOXAN INDUCED DIABETIC RATS. THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA

Duwet fruit is one of the fruit used as natural antidiabetes because it contains chemical compounds such as alkaloids, flavonoids, tannins. This study aims to determine the effect of ethanol extract as antidiabetes, ability of duwet fruit ethanol extract to inhibiting necrosis of the pancreas in alloxan induced diabetic rats.

This study used 30 rats divided into 6 groups, consisting of normal control, negative control, positive control, duwet fruit ethanol extract dose of 100 mg/kg BW, 200 mg/kg BW, 400 mg/kg BW. All groups were given treatment for 14 days. Day 0 and 14th set blood glucose levels, on the 15th day rats more sacrificed, then dissected and taken pancreatic organs to be made histopathology preparations. Measured of blood glucose level by using glucose oxidase (GOD-PAP) methode.

The results showed that duwet fruit ethanol extractdose of 100 mg/kg BW, 200 mg/kg BW, 400 mg/kg BW can lower blood glucose level and can inhibit necrosis in pancreas of alloxan induced diabetic rats. The most optimal dose of 400mg/kg BW.

Keywords: duwet fruit, antidiabetes, blood sugar, pancreatic necrosis, alloxan

BAB 1

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit fisiologis berupa perubahan homeostasis glukosa sehingga kadar glukosa dalam plasma darah mengalami kenaikan di atas normal. Keadaan kadar gula di atas normal ($>200\text{mg/dL}$) dalam jangka panjang dapat menimbulkan kerusakan serius sistem tubuh, terutama kerusakan syaraf dan pembuluh darah (Althan 2003). Penelitian Guariguata *et al.* (2014) melaporkan dari 219 negara, penduduk usia 20 - 79 tahun mengalami DM sebanyak 382 juta pada tahun 2013 dan diperkirakan terus meningkat menjadi 592 juta pada tahun 2035. Indonesia menempati peringkat ke 7 di dunia yang menderita DM dengan jumlah 8,5 juta dan diperkirakan naik ke peringkat 6 pada tahun 2035 sejumlah 14,1 juta untuk kategori usia 20 – 79 tahun.

America Diabetes Assosiation (ADA) mengklasifikasikan DM ke dalam empat kelas terdiri atas DM tipe I disebabkan karena kerusakan sel β pankreas yang berakibat pada defisiensi insulin, DM tipe II ditandai dengan terjadinya kerusakan sekresi insulin sehingga menyebabkan resistensi insulin, DM gestasional terjadi pada dua atau tiga trimester saat hamil dengan penyebab belum jelas, dan DM penyebab lain (Cefalu 2015)

Kerusakan sel-sel beta pankreas dapat disebabkan oleh banyak faktor antaranya faktor genetik, infeksi oleh kuman, faktor nutrisi, zat diabetogenik, dan radikal bebas (stress oksidatif), hal ini menyebabkan tubuh tidak bisa menghasilkan insulin sehingga menyebabkan kadar glukosa darah meningkat (terjadi keadaan hiperglikemia). 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 β pankreas (Suarsana *et al* 2010).

Perubahan histopatologis pulau Langerhans pada penderita diabetes telah dilaporkan sejumlah peneliti. Perubahan ini dapat terjadi baik secara kuantitatif,

seperti pengurangan jumlah atau ukuran, maupun secara kualitatif, seperti terjadi nekrosis, degenerasi, dan amyloidosis (Suarsana *et al.* 2010).

Kerusakan pulau langerhans yang terjadi dilihat pada perubahan morfologi pulau langerhans, baik secara kuantitatif seperti pengurangan jumlah pulau langerhans, maupun secara kualitatif seperti nekrosis dan degenerasi sel endokrin pulau langerhans. Menurut Andayani (2003), hewan percobaan yang diinduksi aloksan akan mengalami penurunan jumlah pulau Langerhans, dibandingkan dengan hewan percobaan normal.

Pada kelompok tikus normal kondisi pulau Langerhans pankreas dalam keadaan relatif baik yang ditandai dengan kondisi pulau Langerhans yang relatif rapat. Sedangkan pada kelompok diabetes, kondisi pulau Langerhans mengalami kerusakan yang ditandai dari adanya ruang-ruang kosong di bagian tengah pulau Langerhans (Ismi & Zubaidah 2013). Ruang-ruang kosong pada pulau Langerhans tersebut disebabkan karena nekrosis dari sel β pankreas. Kim *et al.* (2006) mengemukakan bahwa agen diabetogenik senyawa aloksan dapat menyebabkan nekrosis dan degenerasi sel β pankreas. Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang fatal ditandai oleh kerusakan struktur dan fungsi sel secara menyeluruh yang diikuti oleh lisisnya sel dan peradangan jaringan. Hal ini yang mengindikasikan bahwa tikus mengalami gangguan sekresi insulin (Nurdiana 1998).

Melihat tingkat keparahan yang ditimbulkan oleh penyakit DM, maka banyak penelitian yang dilakukan untuk mencari pengendalian terhadap penyakit ini. Salah satunya adalah dengan melakukan penelitian bahan-bahan tradisional yang dipercaya memiliki khasiat dalam mengendalikan diabetes (Uray 2009). Pengobatan DM dengan memanfaatkan penggunaan bahan-bahan tradisional seperti 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).

Salah satu tanaman yang memiliki potensi sebagai antidiabetes alami adalah duwet (*Syzygium cumini* L.). Tanaman duwet dilaporkan mengandung senyawa kimia antara lain suatu alkaloid, flavonoid, tanin. (Arifin 2006) Tanaman ini banyak digunakan untuk pengobatan penyakit yang berbeda-beda seperti radang, sembelit, obesitas, gangguan kemih, diabetes dan hipertensi. Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak buah duwet mempunyai aktivitas sangat baik sebagai antioksidan dengan dosis 500 mg (Sharma 2012)

Duwet tumbuh di daerah Jawa dan hingga kini masih dimanfaatkan secara tradisional sebagai tanaman obat. Bagian duwet yang sering digunakan adalah buah. Masyarakat Jawa menggunakan buah dengan mengandalkan pengetahuan dan pengalaman secara turun temurun, sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti diabetes, hepatitis dan gangguan pencernaan.

Buah duwet biasanya dikonsumsi secara langsung dalam bentuk buah segar, sedangkan bagian biji dan daunnya oleh masyarakat Indonesia digunakan untuk pengobatan tradisional penyakit diabetes. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui manfaat kesehatan dari beberapa bagian tanaman duwet seperti kulit batang, daun, biji, dan buah. Kulit batang tanaman memiliki aktivitas antibakteri (Warrier *et al.* 1996) dan antiinflamasi (Muruganandan *et al.* 2001). Bagian buah dan biji digunakan untuk pengobatan diabetes (Warrier *et al.* 1996) dan memiliki aktivitas antioksidan (Veigas *et al.* 2007). Bagian daun juga digunakan untuk pengobatan diabetes (Teixeira *et al.* 1997), konstipasi, dan antibakteri (Warrier *et al.* 1996).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perlu dilakukan penelitian untuk menguji pengaruh ekstrak etanol buah duwet terhadap kondisi histopatologi pankreas baik jumlah pulau maupun persentasi nekrosis sel endokrin pulau Langerhans tikus yang diinduksi aloksan.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, dalam penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut :

1. Apakah pemberian ekstrak etanol buah duwet dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi aloksan?
2. Apakah pemberian ekstrak etanol buah duwet dapat meningkatkan jumlah serta menurunkan presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan?
3. Berapakah dosis efektif ekstrak etanol buah duwet yang memiliki aktivitas menurunkan kadar gula darah dan meningkatkan jumlah serta menurunkan presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui pemberian ekstrak etanol buah duwet dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi aloksan
2. Untuk mengetahui kemampuan ekstrak buah duwet dalam meningkatkan serta menurunkan presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.
3. Untuk mengetahui dosis efektif ekstrak etanol buah duwet yang memiliki aktivitas menurunkan kadar gula darah dan meningkatkan jumlah serta menurunkan presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang penggunaan ekstrak etanol buah duwet (*Syzygium cumini* L.) yang dapat menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes melitus.

Hasil penelitian dapat digunakan untuk penelitian selanjutnya sebagai sumber acuan untuk mengembangkan penggunaan buah duwet sebagai alternatif pengobatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Duwet

1. Klasifikasi tanaman

Taksonomi lengkap tanaman Duwet (*Syzygium cumini* L.) (Bhowmik *et al.* 2013) sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridaeplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Divisio	: Tracheophyta
Subdivision	: Spermatophytina
Infradivisio	: Angiospermae
Class	: Magnoliopsida
Superorder	: Rosanae
Ordo	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: <i>Syzygium</i>
Species	: <i>Syzygium cumini</i> (L)
Sinonim	: <i>Eugenia cumini</i> (L) Druce <i>Eugenia jambolala</i> Lam. <i>Syzygium jamnolana</i> DC

2. Nama lain dan nama daerah

Duwet (*Syzygium cumini* L.) memiliki berbagai macam nama seperti di India dan Malaysia dikenal dengan nama jaman, jambul, jamelong, di Indonesia dikenal dengan nama jambulan, jamblang (Jawa Barat), juwer atau duwet (Jawa Timur), dam jambu kaliang (Sumatera Barat) (Arifin *et al.* 2006). Gambar buah duwet dapat dilihat pada gambar 1 :



Gambar 1. Buah duwet

3. Morfologi tanaman

Tanaman duwet merupakan tanaman pekarangan atau tumbuh liar di hutan – hutan. Duwet dapat tumbuh baik di daerah tropis pada ketinggian 600 meter di atas permukaan laut. Dijumpai juga tumbuh pada ketinggian sampai 1800 meter di atas permukaan laut. Pohon duwet merupakan pohon yang kokoh dengan tinggi 20 – 30 meter dan diameter batangnya 40 – 90 cm dengan percabangan pohon rendah dan tidak beraturan (IPB 2012).

Duwet memiliki bunga mejemuk berbentuk malai dengan cabang yang berjauhan, bunga duduk, tumbuh di ketiak daun dan di ujung percabangan, kelopak bentuk lonceng berwarna hijau muda, mahkota berbentuk bulat telur, benang sari banyak, panjangnya 4 -7 mm, berwarna putih, daun baunya harum, bakal buahnya dengan 2 – 3 ruang, tangkai putik 6 – 7 mm panjangnya, berwarna putih. Buahnya buah buni, lonjong, panjang 2 – 3 cm, masih muda hijau, setelah masak warnanya merah tua keunguan, bergerombol mencapai 40 butir, daging buah berwarna kuning kelabu sampai ungu, mengandung banyak sari buah, hampir tidak berbau, dengan rasa sepat keasaman. Bijinya 0 – 5 butir, bentuk lonjong, keras, panjangnya 3 – 5 cm, berwarna hijau sampai cokelat. Berakar tunggang bercabang – cabang, berwarna cokelat muda (Verheiji & Coronel 1997).

4. Kandungan kimia tanaman

Kulit batang mengandung betulinic acid, eugenin, β -sitosterol, asam oleanolat, tanin, asam galat, asam elagat, quersetin, isoquersitin, kaempferol, myrisetin, flavonoid, triterpenoids, saponin dan antosianin. Akar tanaman ini mengandung flavonoid glikosida dan *isorhaminetin-3-rutinoside*. Daun kayu akan

flavonol glikosida, kuersetin, myrisetin, myrisitin, triterpenoid, esterase, galloylcarboxylase dan tanin. Bungan banyak mengandung kaempferol, kuersetin, myrisetin, isokuersetin, dihydromyrisetin, eugenol-triterpenoid A dan eugenol triterpenoid B. (Ayyanar & Subash-Babu 2012).

Buah duwet mengandung senyawa kimia antara lain suatu alkaloid, flavonoid, resin, tannin, dan minyak atsiri (Cazarolli *et al.* 2008). Buah duwet juga mengandung *rafinos*, *fructose*, asam citrat, asam malat, asam galat, *anthocyanin*, *antimelin*, *delphinidin-3-gentiobioside*, *eyanidindicli glycoside*, *petunidin* dan *malvidin* (Ayyanar & Subash-Babu 2012). Buah duwet mengandung antosianin, delphinidin, petunidin, malvidin diglukosida yang bertanggung jawab pada warna ungu buah duwet (Ramya *et al.* 2012).

Biji duwet mengandung minyak berwarna kuning pucat, lemak, resin, albumin, klorofil, *alkaloid jambosine*, tanin (3,6-hexahydroxydiphenoylglucose dan isomernya, 4,6-hexahydroxydiphenoylglucose), 1-galloylglucose, 3-galloylglucose, asam elegat, β -sistosterol, *corilagin*, *ellagitannins*, asam kafein, *isoquercetin*, *guaiacol*, *quercetin*, *gallic-acid*, asam ferulat, dan *resorcinol dimethyl ether* (Modi dkk 2010).

4. 1. Alkaloid. Alkaloid berkhasiat sebagai antidiabetes dengan menghambat α -glukosidase dan transportasi penurunan glukosa melalui epitel usus (Bhushan *et al.* 2010). Alkaloid secara bermakna menurunkan glukoneogenesis dan meningkatkan sekresi insulin dalam sel.

4. 2. Flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa polar, sehingga flavonoid dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, dimetilsulfoksida dan air. Flavonoid merupakan antioksidan yang potensial untuk mencegah pembentukan radikal bebas (Bhushan *et al.* 2010)

4. 3. Tanin. Tanin diketahui dapat memacu metabolisme glukosa dan lemak, sehingga timbunan kedua sumber kalori dalam darah dapat dihindari. Tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis, selain itu tanin juga berfungsi sebagai astringent atau pengkhelat yang dapat mengerutkan membrane epitel halus sehingga mengurangi penyerapan

sari makanan yang menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Dalimartha 2005).

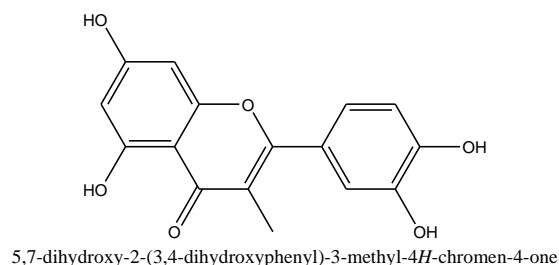
5. Kegunaan tanaman

Tumbuhan *Syzygium cumini* (L.) digunakan sebagai obat tradisional beraneka ragam penyakit. Kulit batang bersifat manis digestif dan penyejuk dimanfaatkan untuk sakit perut, anthelmintik dan pengobatan sakit tenggorokan, bronchitis, asma, disentri dan ulser. Buah mempunyai rasa sepat, manis, segar digunakan untuk sakit perut, bau mulut, lambung, penyegar, diuretik dan antidiabetik. Biji digunakan sakit perut dan diabetes. Daun dimanfaatkan untuk memperkuat gigi dan gusi (Ayyanar & Subash-Babu 2012).

B. Tinjauan Fitokimia

1. Flavonoid

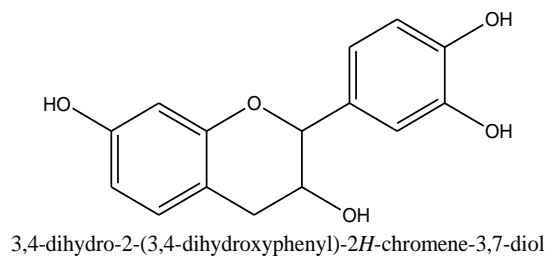
Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang secara kimia mempunyai struktur dasar dengan dua cincin aromatis dengan tiga atom C di antara cincin ($C_6-C_3-C_6$). Tiga atom C antar cincin tersebut membentuk cincin ketiga yang berupa heterosiklik O. Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar yang terdapat di alam. Flavonoid ditemukan pada berbagai tanaman serta terdistribusi pada bagian-bagian seperti buah, daun, biji, akar, kulit kayu, batang dan bunga. Berdasarkan kerangka karbon strukturnya, senyawa flavonoid dibagi menjadi enam sub kelompok utama yaitu flavon, flavonol, flavanon, flavanol, isoflavon dan antosianidin (Raharjo 2013). Gambar struktur flavonoid dapat dilihat pada gambar 2 :



Gambar 2. Struktur kimia flavonoid

2. Tanin

Tanin merupakan kandungan tumbuhan yang fenol, yang mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Kelarutan tanin adalah larut dalam air, tidak larut dalam pelarut organik non polar (Robinson 1995). Tanin juga memiliki aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis, dan juga memiliki aktivitas lain yaitu sebagai astringent atau pengkhelat (Dalimartha 2005). Gambar struktur tanin dapat dilihat pada gambar 3 :

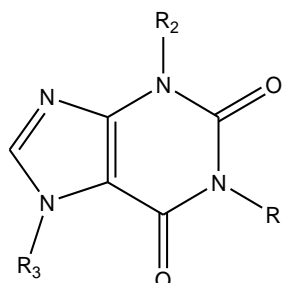


Gambar 3. Struktur kimia Tanin

3. Alkaloid

Alkaloid merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder yang mempunyai sifat alkali. Sifat inilah yang membuat penamaan golongan senyawa-senyawa ini sebagai alkaloid. Sifat alkali ini dimungkinkan karena secara kimia alkaloid adalah senyawa organik yang mengandung nitrogen baik satu atau lebih dalam bentuk amina primer sekunder maupun tersier.

Berdasarkan sumber atom N dalam strukturnya, alkaloid dapat dikategorikan menjadi alkaloid yang berasal dari ornitin, lisin, asam nikotinat, tirosin, triptofan, asam antranilat, histidin, proses aminasi dan purin (Raharjo 2013). Gambar struktur alkaloid dapat dilihat pada gambar 4 :



Gambar 4. Struktur kimia alkaloid

C. Simplisia

1. Pengertian

Simplisia adalah bahan alami yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan, dan kecuali dinyatakan lain, simplisia merupakan bahan yang dikeringkan (Kemenkes 2009). Simplisia dapat berupa simplisia nabati, simplisia hewani dan simplisia pelikan atau kinerat. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewan adalah simplisia yang berupa hewan dan belum berupa zat murni. Simplisia pelikan (mineral) yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Depkes 1979). Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia nabati, yaitu simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman tertentu atau eksudat tanaman.

Eksudat tanaman ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman atau isi sel yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tanamannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia nabati harus bebas dari serangga, fragmen hewan atau kotoran hewan, tidak boleh menyimpang bau dan warnanya, tidak boleh mengandung lendir dan cendawan atau menunjukkan tanda pengotoran lain, tidak boleh mengandung bahan lain yang beracun atau berbahaya (Depkes RI 1995).

2. Pengumpulan Simplisia

Mutu simplisia salah satunya dipengaruhi oleh pengumpulan bahan baku segar yang akan diolah menjadi simplisia diambil dengan mempertimbangkan bagian tumbuhan yang digunakan, umur tumbuhan atau bagian tumbuhan pada saat dipanen, waktu panen dan lingkungan tempat tumbuh (Depkes 1985)

Bagian simplisia yang diambil dari tanaman, misalnya daun, bunga, buah, akar atau rimpang karena zat berkhasiat tidak terdapat pada seluruh bagian dari tanaman. Kadang ada bagian dari tanaman justru beracun dan tidak dikehendaki. Bila yang dikumpulkan daun sebaiknya tidak tercampur dengan bagian lain dari tanaman seperti biji, bunga, atau tangkai. Pengumpulan simplisia juga perlu memperhatikan kondisi khusus, misalnya pemanenan daun yang dilakukan sewaktu daun masih muda atau ketika masih tunas (Dalimartha 2008).

3. Pengeringan Simplisia

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).

D. Ekstraksi

1. Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan zat yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang disari mengandung zat aktif yang dapat larut dan zat yang tidak larut seperti serat, karbohidrat, protein dan lain-lain (Depkes 1986). Sediaan ekstraksi dibuat agar zat berkhasiat dari simplisia mempunyai kadar yang tinggi, sehingga memudahkan dalam pengaturan dosis (Ansel 1989).

Ekstraksi meliputi pemisahan bahan aktif berkhasiat obat dalam jaringan tanaman atau hewan dari komponen yang tidak aktif atau *inert* menggunakan pelarut selektif, sesuai dengan standar prosedur ekstraksi (Handa 2008).

2. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental dan atau cair yang diperoleh dengan mengekstrak senyawa aktif dari simplisia nabati maupun hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian diuapkan dan massa yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI 2010).

Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat dalam simplisia mempunyai kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan pengaturan dosis zat berkhasiat (Anief 1998)

3. Maserasi

Maserasi merupakan metode pemisahan zat aktif secara pengadukan dan penyaringan. Metode maserasi digunakan untuk membuat ekstrak tumbuhan. Cairan pelarut masuk kedalam sel menciptakan perbedaan konsentrasi antara larutan didalam dan diluar sel. Larutan konsentrasi rendah berada di dalam sel sedangkan larutan konsentrasi tinggi terdesak keluar sel (Depkes RI 2010).

Metode maserasi dapat menghasilkan ekstrak dalam jumlah banyak serta terhindar dari perubahan kimia senyawa-senyawa tertentu karena pemanasan (Pratiwi 2009).

4. Pelarut

Pelarut adalah suatu zat yang dapat digunakan untuk melarutkan obat dalam preparat larutan. Dalam ekstraksi bahan mentah obat tertentu, pelarut dipilih berdasarkan daya larut zat aktif dan zat yang tidak aktif (Ansel 1989).

Faktor yang dipertimbangkan dalam pemilihan cairan penyari seperti murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan terbakar. Selektif yaitu menarik zat berkhasiat yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat berkhasiat, diperbolehkan untuk peraturan (Depkes 1986). Dalam penelitian kali ini menggunakan etanol.

Etanol memiliki keuntungan yakni tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Selain itu, etanol juga mempunyai sifat yang mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim termasuk peragian serta menghalangi pertumbuhan jamur dan sebagian besar bakteri, sehingga disamping sebagai cairan penyari juga berguna sebagai pengawet (Voigt 1994). Zat zat kimia yang dapat disari dengan etanol antara lain alkaloid, kurkumin, flavonoid, minyak menguap, glikosida, kumarin, klorofil, lemak dan saponin (Depkes 1986).

Selain itu etanol juga dapat memperbaiki stabilitas bahan obat yang terlarut dan sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal (Ansel 1989).

E. Diabetes Melitus

1. Pengertian

Menurut WHO (2006), Diabetes melitus adalah gangguan metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar gula dalam darah yang disebut Hiperglikemia dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang disebabkan karena kerusakan dalam produksi insulin dan kerja dari insulin tidak optimal. Diabetes melitus adalah suatu kumpulan gejala yang timbul karena adanya peningkatan kadar glukosa darah akibat penurunan sekresi insulin yang progresif yang dilatar belakangi oleh retensi insulin (Suyono 2009)

Diabetes melitus merupakan sindroma klinik yang ditandai oleh poliuri, polidipsi dan polifagi, disertai peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemia (glukosa puasa ≥ 126 mg/dl atau postprandial ≥ 200 mg/dl atau glukosa sewaktu ≥ 200 mg/dl) (Gunawan dan Sulistia 2007). Gejala awal berhubungan dengan efek langsung dari kadar gula darah yang tinggi. Jika kadar gula darah lebih dari 160-180 mg/dl maka glukosa akan sampai ke air kemih. Jika kadarnya lebih tinggi lagi, ginjal akan membuang air tambahan untuk mengencerkan sejumlah besar glukosa yang hilang. Ginjal menghasilkan air kemih dalam jumlah yang berlebihan maka penderita sering berkemih dalam jumlah yang banyak (poliuri). Akibat dari poliuri maka penderita merasa haus yang berlebihan sehingga banyak minum air (polidipsi). Sejumlah besar kalori hilang ke dalam air kemih, penderita mengalami penurunan berat badan, hal ini menyebabkan penderita sering kali merasa lapar yang luar biasa sehingga banyak makan (polifagi) (Dalimartha 2005).

2. Patofisiologi

Diabetes melitus adalah penyakit kekurangan hormon insulin, yang berfungsi memungkinkan glukosa masuk ke dalam sel untuk dimetabolisir (dibakar) dan demikian dimanfaatkan sebagai sumber energi. Akibatnya glukosa bertumpuk di dalam darah (hiperglikemia) dan akhirnya dieksresikan lewat kemih tanpa digunakan (*glycosuria*). Karena itu, produksi kemih sangat meningkat dan penderita sering berkemih (*poliuri*), banyak minum (*polidipsi*), banyak makan

(*polifagi*), merasa amat haus, berat badan menurun dan merasa lelah (Tan & Rahardja 2006)

Defisiensi insulin dapat terjadi melalui 3 jalan, yaitu (ADA 2012) :

- 1) Rusaknya sel-sel β pankreas. Rusaknya sel β ini dapat dikarenakan genetik, imunologis atau dari lingkungan seperti virus. Karakteristik ini biasanya terdapat pada Diabetes Melitus tipe 1.
- 2) Penurunan reseptor glukosa pada kelenjar pankreas.
- 3) Kerusakan reseptor insulin di jaringan perifer.

Defisiensi insulin ini menyebabkan penggunaan glukosa oleh sel menjadi menurun sehingga kadar glukosa darah dalam plasma tinggi (hiperglikemi). Jika hiperglikemianya parah dan melebihi ambang ginjal maka timbul glikosuria. Glikosuria ini akan menyebabkan deuresis osmotik yang meningkatkan pengeluaran kemih (poliuri) dan timbul rasa haus (polidipsi) sehingga terjadi dehidrasi. Glukosuria menyebabkan keseimbangan kalori negatif sehingga menimbulkan rasa lapar (*polifagi*). Penggunaan glukosa oleh sel menurun mengakibatkan produksi metabolime energi menjadi menurun sehingga tubuh menjadi lemah (Price 1992).

3. Tanda dan gejala

Menurut Depkes RI (2005), diabetes seringkali muncul tanpa gejala. Namun demikian ada beberapa gejala yang harus diwaspadai sebagai isyarat kemungkinan diabetes. Gejala tipikal yang sering dirasakan penderita diabetes antara lain poliuria (sering buang air kecil), polidipsia (sering haus), dan polifagia (banyak makan/mudah lapar). Selain itu sering pula muncul keluhan penglihatan kabur, koordinasi gerak anggota tubuh terganggu, kesemutan pada tangan atau kaki, timbul gatal-gatal yang seringkali sangat mengganggu (*pruritus*), dan berat badan menurun tanpa sebab yang jelas.

Pada DM Tipe 1 gejala klasik yang umum dikeluhkan adalah poliuria, polidipsia, polifagia, penurunan berat badan, cepat merasa lelah (*fatigue*), iritabilitas, dan *pruritus* (gatal-gatal pada kulit). Pada DM Tipe 2 gejala yang dikeluhkan umumnya hampir tidak ada. DM Tipe 2 seringkali muncul tanpa diketahui, dan penanganan baru dimulai beberapa tahun kemudian ketika penyakit

sudah berkembang dan komplikasi sudah terjadi. Penderita DM Tipe 2 umumnya lebih mudah terkena infeksi, sukar sembuh dari luka, daya penglihatan makin buruk, dan umumnya menderita hipertensi, hiperlipidemia, obesitas, dan juga komplikasi pada pembuluh darah dan syaraf.

4. Faktor Resiko

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi terjadinya peningkatan kadar gula darah dan Diabetes Melitus yaitu :

4.1. Usia. Usia sangat erat kaitannya dengan kenaikan kadar glukosa darah, meningkatnya usia, maka prevalensi DM dan gangguan gula darah semakin tinggi. Umumnya manusia mengalami perubahan fisiologis yang menurun dengan cepat setelah usia 40 tahun. Diabetes Melitus sering muncul setelah usia lanjut terutama setelah berusia 45 tahun pada mereka yang berat badannya berlebih, sehingga tubuhnya tidak peka terhadap insulin (Waspandji 2006)

4.2. Keturunan (Genetik). Diabetes Melitus dapat diturunkan dari keluarga sebelumnya yang juga menderita Diabetes Melitus, karena kelainan gen mengakibatkan tubuhnya tidak dapat menghasilkan insulin dengan baik. Tetapi resiko terkena Diabetes Melitus juga tergantung pada faktor kelebihan berat badan, kurang gerak dan stress (Waspandji 2006)

4.3. Kegemukan (obesitas). Obesitas bukanlah karena makanan yang manis dan kaya lemak saja, tetapi juga disebabkan karena konsumsi terlalu banyak yang disimpan dalam tubuh dan sangat berlebihan. Hidup santai dan kurang aktifitas (Waspandji 2006)

4.4. Penyakit Penyerta Penderita Diabetes Melitus mempunyai resiko untuk terjadinya penyakit jantung koroner dan penyakit pembuluh darah otak dua kali lebih besar, lima kali mudah terkena ulkus atau gangren, tujuh kali lebih mudah terkena gagal ginjal terminal, 25 kali lebih mudah mengalami kebutaan akibat kerusakan retina dari pada penderita non diabetes melitus. Bila sudah terjadi penyakit, usaha untuk penyembuhan melalui pengontrolan kadar gula darah dan pengobatan penyakit tersebut ke arah normal sangat sulit. Kerusakan yang sudah terjadi umumnya akan menetap (Waspandji 2006)

5. Klasifikasi

Klasifikasi etiologis DM menurut American Diabetes Association (2010), dibagi dalam 4 jenis yaitu:

5.1. Diabetes melitus Tipe 1 atau Insulin Dependent Diabetes Mellitus/IDDM. DM tipe 1 terjadi karena adanya destruksi sel β pankreas karena sebab autoimun. Pada DM tipe ini terdapat sedikit atau tidak sama sekali sekresi insulin dapat ditentukan dengan level protein c-peptida yang jumlahnya sedikit atau tidak terdeteksi sama sekali. Manifestasi klinik pertama dari penyakit ini adalah ketoasidosis.

5.2. Diabetes Melitus Tipe 2 atau Insulin Non-dependent Diabetes Mellitus/NIDDM. Pada penderita DM tipe ini terjadi hiperinsulinemia tetapi insulin tidak bisa membawa glukosa masuk ke dalam jaringan karena terjadi resistensi insulin yang merupakan turunnya kemampuan insulin untuk merangsang pengambilan glukosa oleh jaringan perifer dan untuk menghambat produksi glukosa oleh hati. Oleh karena terjadinya resistensi insulin (reseptor insulin sudah tidak aktif karena dianggap kadarnya masih tinggi dalam darah) akan mengakibatkan defisiensi relatif insulin. Hal tersebut dapat mengakibatkan berkurangnya sekresi insulin pada adanya glukosa bersama bahan sekresi insulin lain sehingga sel β pankreas akan mengalami desensitisasi terhadap adanya glukosa. Onset DM tipe ini terjadi perlahan-lahan karena itu gejalanya asimtomatik. Adanya resistensi yang terjadi perlahan-lahan akan mengakibatkan sensitivitas reseptor akan glukosa berkurang. DM tipe ini sering terdiagnosis setelah terjadi komplikasi.

5.3. Diabetes Melitus Tipe Lain. DM tipe ini terjadi karena etiologi lain, misalnya pada defek genetik fungsi sel β , defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, penyakit metabolik endokrin lain, iatrogenik, infeksi virus, penyakit autoimun dan kelainan genetik lain.

5.4. Diabetes Melitus Gestasional. DM tipe ini terjadi selama masa kehamilan, dimana intoleransi glukosa didapati pertama kali pada masa kehamilan, biasanya pada trimester kedua dan ketiga. DM gestasional berhubungan dengan meningkatnya komplikasi perinatal. Penderita DM

gestasional memiliki risiko lebih besar untuk menderita DM yang menetap dalam jangka waktu 5-10 tahun setelah melahirkan.

6. Komplikasi

Hiperglikemia yang terjadi dari waktu ke waktu dapat menyebabkan kerusakan ke berbagai sistem tumbuh 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/ditunda (Menkes 2014).

Angka kejadian komplikasi pada pasien DM sekitar 15% terjadi pada DM Tipe 1 dan 85% terjadi pada DM Tipe 2. Kondisi kadar gula darah tinggi akan timbul berbagai komplikasi. Komplikasi dibagi menjadi dua yaitu komplikasi akut dan komplikasi kronis. Komplikasi akut meliputi ketoasidosis diabetik, hiperosmolar non ketotik, dan hipoglikemia (Perkeni 2011). Komplikasi kronik adalah makroangiopati, mikroangiopati dan neuropati (Seogondo dkk 2004)

7. Dampak Diabetes Melitus

7.1. Komplikasi pada sistem kardiovaskuler. Tingginya kadar glukosa dalam darah menyebabkan terjadinya penebalan membran basal pembuluh-pembuluh kecil. Hal tersebut menyebabkan penurunan penyaluran oksigen dan zat gizi ke jaringan-jaringan. Selain itu, terjadi pula kerusakan pada sel endotel arteri yang menyebabkan meningkatnya permeabilitas sel endotel, sehingga molekul yang mengandung lemak masuk ke arteri, serta terjadinya pengendapan trombosit, makrofag, dan jaringan fibrosis. Penebalan dinding arteri menyebabkan hipertensi, yang semakin merusak lapisan endotel arteri yang menimbulkan gaya sehingga merobek sel-sel endotel. Efek vaskuler dari diabetes yang lain adalah

penyakit arteri koroner dan stroke. Efek kardiovaskuler dari diabetes yang lain adalah penyakit arteri koroner dan stroke. Aterosklerosis juga menyebabkan penyakit vaskuler perifer yang sering dijumpai pada penderita Diabetes Melitus kronis, dan ini menimbulkan amputasi (Corwing 2008).

7.2. Gangguan penglihatan. Kurangnya aliran oksigen (hipoksia) ke retina yang diakibatkan oleh hiperglikemia, menyebabkan terjadinya retinopati. Terbentuk daerah-daerah infark (jaringan yang mati) yang diikuti neovaskularisasi (pembentukan pembuluh baru), dan bertunasnya pembuluh-pembuluh lama. Pembuluh-pembuluh baru dan tunas-tunas dari pembuluh lama berdinding tipis dan sering hemoragik, sehingga menyebabkan kolapsnya kapiler dan saraf yang tersisa sehingga terjadi kebutaan. Gangguan penglihatan lainnya yang terjadi akibat Diabetes Melitus adalah katarak dan glaukoma (Corwin 2008).

7.3. Kerusakan Ginjal. Tingginya kadar gula dalam darah menyebabkan pelebaran glomerulus. Hal ini menyebabkan penderita DM mengalami kebocoran protein ke urin. Kebocoran protein yang menembus glomerulus secara lebih lanjut akan merusak nefron, sehingga lebih banyak protein yang keluar bersama urin. Proteinuria dikaitkan dengan penurunan fungsi ginjal.

Penurunan fungsi ginjal menyebabkan kemampuan mensekresi ion hidrogen ke dalam urin menurun. Penurunan pembentukan vitamin D oleh ginjal menyebabkan penguraian tulang. Selain itu, penurunan pembentukan eritropoietin dapat menyebabkan defisiensi sel darah merah dan anemia. Filtrasi glomerulus yang menurun drastis juga dapat menyebabkan gagal ginjal (Corwin 2008).

7.4. Neuropatic Diabetik. Neuropatic Diabetik merupakan penyakit saraf yang disebabkan oleh Diabetes Melitus. Neuropatic Diabetik disebabkan oleh hipoksia sel-sel saraf kronis serta efek dari hiperglikemia, termasuk hiperglikolisis protein yang melibatkan fungsi saraf. Sel-sel penunjang saraf, terutama sel Schwann mengatasi beban peningkatan glukosa kronis, yang menyebabkan demielinisasi segmental saraf perifer. Demielinisasi menyebabkan perlambatan hantaran saraf dan menurunnya sensitivitas. Hilangnya sensitivitas terhadap suhu dan nyeri dan meningkatkan kemungkinan pasien mengalami cedera yang parah dan tidak disadari.

Kerusakan saraf otonom perifer ini juga dapat menyebabkan hipotensi posturna, perubahan fungsi gastrointestinal, gangguan pengosongan kandung kemih, disertai infeksi saluran kemih, dan pada pria menyebabkan disfungsi ereksi dan impotensi (Corwing 2008)

7.5. Gestasional. Meningkatkan resiko malformasi kongenital, lahir mati, dan bayi bertumbuh besar untuk masa kehamilan (BMK), yang dapat menyebabkan masalah pada persalinan (Corwin 2008)

8. Diagnosa

Diagnosis DM awalnya dapat dilihat melalui gejala khas yang terjadi, yakni banyak makan (polifagi), sering berkemih (poliuri), banyak minum (polidipsi), lemas dan berat badan menurun. Gejala lain yang mungkin dikeluhkan adalah kesemutan, mata kabur, gatal, impotensi pada pria dan pruritus bulva pada wanita. Keluhan dan gejala yang khas ditambah hasil pemeriksaan glukosa darah sewaktu >200 mg/dl atau glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl sudah cukup untuk menegaskan diagnosis DM. Bila hasil pemeriksaan glukosa darah meragukan, pemeriksaan Tes Toleransi Glukosa Oral diperlukan untuk memastikan diagnosis DM. Sekurang-kurangnya diperlukan kadar glukosa darah 2 kali abnormal untuk konfirmasi diagnosis DM pada hari yang lain. Konfirmasi tidak diperlukan pada keadaan khas hiperglikemia dengan dekompensasi metabolik akut seperti ketoasidosis dan berat badan yang menurun cepat (Mansjoer *et al* 2001).

9. Terapi

9.1. 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 β Langerhans pankreas rusak, sehingga tidak lagi dapat memproduksi insulin. sebagai penggantinya, maka penderita DM tipe 1 harus mendapat insulin untuk membantu agar metabolisme karbohidrat didalam tubuh dapat berjalan normal. Insulin juga diberikan pada penderita DM Tipe 2 yang kadar glukosa darahnya tidak dapat dikendalikan dengan diet antidiabetik oral. Pemberian insulin tidak dapat diberikan melalui oral karena dapat dipecah oleh enzim pencernaan (Suherman 2007).

9.2. Obat antidiabetik oral. Obat anti diabetik oral digunakan untuk pengobatan diabetes melitus tipe 2 yang hanya digunakan jika pasien gagal memberikan respons terhadap setidaknya 3 bulan diet rendah karbohidrat dan energi, disertai aktivitas fisik yang dianjurkan (BPOM 2008).

9.2.1. Golongan Sulfonilurea. Efek utama sulfonilurea adalah meningkatkan pelepasan insulin dari pankreas. Obat golongan ini diberikan pada pasien yang sel β masih berfungsi atau diberikan pada pasien diabetes melitus tipe 2. Sulfonilurea dapat mengurangi glukosa darah dan meningkatkan pembentukan glikogen, lemak dan protein. Contoh obat golongan sulfonilurea antara lain Glipizid, Gliburid, dan Glimepirid (Katzung 2012).

9.2.2. Biguanida. Efek primer obat ini adalah mengurangi produksi glukosa hati melalui pengaktifan enzim *AMP-activated protein kinase*. Mekanisme minor lainnya adalah penghambatan glukoneogenesis di ginjal, perlambatan penyerapan glukosa di saluran cerna, disertai peningkatan konversi glukosa di eritrosit. Efek biguanid dalam menurunkan glukosa darah tidak bergantung pada fungsi sel β pankreas. Contoh obat dari golongan ini adalah Metformin (Katzung 2012).

9.2.3. Meglitinid. Meglitinid bekerja menurut suatu mekanisme khusus, yaitu mencetuskan pelepasan insulin dari pankreas segera sesudah makan. Meglitinid harus diminum tepat sebelum makan, karena reabsorbsinya cepat maka mencapai kadar puncak dalam 1 jam. Insulin yang dilepaskan menurunkan glukosa darah secukupnya. Ekskresinya juga cepat sekali, dalam waktu 1 jam sudah dikeluarkan dari tubuh. Obat 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. Obat yang termasuk dari golongan meglitinid adalah repaglinida dan nateglinid (Tjay & Rahardja 2002).

9.2.4. Thiazolidindion. Thiazolidindion 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 dalam golongan thiazolidindion adalah troglitazon (Tjay & Rahardja 2012).

9.2.5. Inhibitor α -glukosidase. Akarbosa dan miglitol adalah inhibitor kompetitif α -glukosidase usus serta mengurangi penyimpanan kadar glukosa pasca makan dengan menunda pencernaan dan penyerapan tepung dan disakarida (Katzung 2012).

10. Upaya Pencegahan Diabetes Melitus

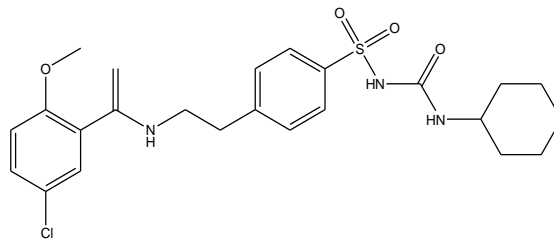
Upaya pencegahan Diabetes Melitus terdiri dari tiga tahap, yaitu pencegahan primer, pencegahan sekunder, dan pencegahan tersier (WHO 2006).

10.1. Pencegahan primer. Pencegahan primer meliputi kegiatan yang bertujuan mencegah terjadinya diabetes, terutama pada populasi yang beresiko. Kegiatan tersebut mencakup upaya modifikasi faktor lingkungan dan perilaku, atau intervensi yang terfokus pada kelompok dengan resiko tinggi diabetes. Upaya pencegahan primer juga termasuk intervensi pada level individu, yang telah menunjukkan tanda awal dari diabetes, misalnya pada individu dengan toleransi glukosa terganggu.

10.2. Pencegahan Sekunder. Upaya pencegahan sekunder meliputi deteksi dini diabetes melitus, agar dapat dilakukan usaha untuk mencegah perkembangan yang lebih lanjut dari diabetes melitus. Upaya ini juga bertujuan untuk meningkatkan deteksi diabetes, karena banyak penderita diabetes yang penyakitnya belum terdiagnosis oleh tenaga kesehatan. Aktivitas ini dapat difokuskan pada individu atau kelompok yang beresiko tinggi diabetes melitus.

10.3. Pencegahan tersier. Pencegahan tersier dilakukan untuk mencegah terjadinya komplikasi dan kecacatan akibat diabetes melitus, pada individu yang telah mengidap DM. Pencegahan tersier terdiri dari tiga tahap yaitu mencegah terjadinya komplikasi, mencegah komplikasi berkembang dan merusak organ atau jaringan, mencegah terjadinya kecacatan akibat kegagalan organ atau jaringan.

F. Glibenklamid



Gambar 5. Struktur kimia glibenklamid

1. Kelarutan

Glibenklamid mempunyai sifat kelarutan yang praktis tidak larut di dalam air dan eter, sukar larut dalam etanol dan metanol, larut sebagian dalam kloroform (Depkes 1993)

2. Indikasi dan kontraindikasi

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

3. Dosis dan aturan pakai

Pengobatan dengan glibenklamid dimulai dari dosis rendah (2,5 mg) diberikan pada pagi hari, sedangkan profil mingguan glukosa serum dipantau. Dosis permulaan 1 kali sehari 2,5-5 mg, bila perlu dinaikkan setiap minggu sampai maksimal 2 kali sehari 10 mg (Tan dan Raharja 2006).

4. Farmakokinetika

Resorpsi 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 sama rata lewat kemih dan tinja (Tjay & Rahardja 2006).

5. Mekanisme kerja

Glibenklamid merupakan Obat Hipoglikemik Oral (OHO) golongan sulfonilurea yang hanya digunakan untuk mengobati individu dengan DM tipe II

(Moore 1997). Obat golongan ini menstimulasi sel β pankreas untuk melepaskan insulin yang tersimpan. Mekanisme kerja obat golongan sulfonilurea dengan cara menstimulasi pelepasan insulin yang tersimpan (*stored insulin*) dan meningkatkan sekresi insulin akibat rangsangan glukosa (Soegondo 2005). Obat ini cepat diserap dalam saluran pencernaan dan memiliki waktu paruh ($t_{1/2}$) sekitar 4 jam (Suherman 2007).

6. Efek samping

6.1. Hipoglikemia. Hipoglikemia yang terjadi pada pasien dengan pemberian glibenklamid bisa berat dan berefek fatal. Dari beberapa uji klinis, hipoglikemia merupakan efek merugikan yang paling sering terjadi saat menggunakan obat ini, meskipun terjadinya hipoglikemia dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti diet, atau olah raga tanpa disertai asupan jumlah kalori yang cukup.

6.2. Efek pada saluran pencernaan. Efek yang terjadi pada saluran pencernaan antara lain adalah mual, rasa panas pada perut, dan perut terasa penuh merupakan reaksi yang paling umum terjadi pada pasien yang menggunakan glibenklamid

6.3. Efek pada hepar. Jaundice mungkin jarang terjadi pada pasien yang menggunakan glibenklamid. Tes fungsi liver abnormal, termasuk peningkatan konsentrasi serum aminotransferase telah dilaporkan pada penggunaan obat ini.

6.4. Reaksi sensitivitas dan dermatologi. Reaksi alergi yang terjadi pada kulit antara lain, gatal, kemerahan, urtikaria, dan erupsi makropapular.

6.5. Efek pada darah. Seperti pada obat golongan sulfonilurea yang lain, glibenklamid memiliki efek, trombositopeni, agranulosis, anemia aplastik, dan anemia hemolitik, walaupun hal tersebut jarang terjadi (McEvoy 2002).

7. 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 / aktivitas insulin misalnya diuretik tiazid, diazoksid, glukokortikoid, estrogen atau amin simpatomimetik (Hardjasaputra *et al.* 2002).

G. Diabetogenik

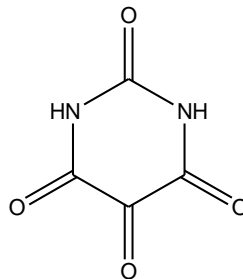
Dalam penelitian untuk mengetahui aktivitas antidiabetes dibutuhkan zat diabetogenik untuk membuat kondisi hewan percobaan memiliki kadar glukosa darah yang tinggi. Salah satu zat yang dikenal sebagai diabetogenik adalah aloksan (Szkudelski 2001).

Aloksan merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil. 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 adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana. Aloksan diperkenalkan sebagai hidrasi aloksan pada larutan encer. Nama aloksan diperoleh dari penggabungan katamallantoin 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 (Yuriska 2009).

Senyawa aloksan merupakan salah satu zat diabetogenik yang bersifat toksik, terutama terhadap sel β pankreas, dan apabila diberikan kepada hewan coba seperti tikus dapat menyebabkan hewan coba tikus menjadi diabetes. Kerusakan sel β pankreas menyebabkan tubuh tidak bisa menghasilkan insulin sehingga menyebabkan kadar glukosa darah meningkat (terjadi keadaan hiperglikemia). Kondisi hiperglikemia dapat menghasilkan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS=*reactive oxygen species*) ROS yang berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif dan dapat memperparah kerusakan sel β pankreas (Suarsana *et al.* 2010).

Menurut Ressang (1984), perubahan sel-sel yang ditimbulkan oleh zat ini juga menyerupai perubahan sel-sel pada diabetes, yaitu pengecilan pada pulau-pulau pankreas, pengurangan jumlah sel-sel β dan degranulasi. Efek senyawa

aloksan terhadap sel β menyebabkan nekrosis dan degenerasi bahkan dilaporkan 40-50% sel β mengalami nekrosis (Suarsana *et al.* 2010). Gambar struktur aloksan dapat dilihat pada gambar 6 :



pyrimidine-2,4,5,6(1H,3H)-tetraone

Gambar 6. Struktur kimia aloksan

H. Stress Oksidatif

Stress oksidatif didefinisikan sebagai suatu keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara prooksidan antioksidan di dalam tubuh (Power & Jackson 2008). Ketidakseimbangan ini dikarenakan adanya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dengan sistem pertahanan antioksidan di dalam tubuh (Finaund 2006).

Pada stress oksidatif terjadi peningkatan produksi dan penurunan kemampuan eliminasi molekul-molekul yang bersifat sangat reaktif di dalam tubuh seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS). Produksinya yang berlebihan ini akan menyebabkan stress oksidatif yang mengakibatkan keadaan patologik seperti kerusakan protein, lipid dan DNA (Johansen 2005).

Pada keadaan patologik seperti diabetes, peningkatan ROS dalam tubuh akan memicu kerusakan sel β pankreas dimana sel tersebut akan mengalami degranulasi sehingga mengakibatkan produksi di insulin terganggu (Panjuatiningrum 2009). Regenerasi sel β pankreas diawali dengan perbaikan sel-sel β pankreas yang baru (mitosis) yang menyebabkan jumlah sel β pankreas sehingga diharapkan produksi insulin meningkat sehingga kadar glukosa darah dapat berangsur-angsur menjadi normal (Yuriska 2009).

I. Metode Analisa Kadar Glukosa Darah

Macam-macam metode analisa kadar glukosa dalam darah adalah sebagai berikut :

1. Metode analisa kadar glukosa darah dengan glukometer

Metode ini yang paling sering digunakan karena mudah dan cepat dilakukan. Mekanismenya sampel darah masuk kedalam test strip melalui aksi kapiler. Glukosa yang ada dalam darah akan bereaksi dengan glukosa oksidase dan kalium ferisianida yang ada didalam strip dan akan dihasilkan ferosianida. Kalium ferosianida yang dihasilkan sebanding dengan konsentrasi glukosa yang ada dalam sampel darah. Oksidase kalium ferosianida akan menghasilkan muatan listrik yang akan diubah oleh glukometer untuk ditampilkan sebagai konsentrasi pada layar (Merck 1989)

β -D-Glikogen + Kalium ferisianida $\xrightarrow{\text{Glukosa Oksidase}}$ asam glukonat + kalium ferosianida.

Kalium ferosianida $\xrightarrow{\text{Oksidase}}$ kalium ferisianida + e^- (Linghuat 2008)

2. Metode GLUC-DH

GLUC-DH adalah sebuah metode rutin enzimatik yang dibedakan dari yang lain oleh kespesifikannya yang tinggi, kepraktisan dan keluwesannya. Pengukuran dilakukan pada daerah UV. Prinsip metode ini adalah glucose dehydrogenase mengkatalisa oksidasi dari glucose menurut persamaan berikut :

$3\text{-D-Glukose} + \text{NAD} \xrightarrow{\text{Gluc,DH}}$ D-Glukonolactone + NADH + H + (1) Metode

Gluc-DH dapat digunakan pada bahan sampel yang dideproteinisasi atau yang tidak dideproteinisasi, serta untuk hemolysate (Merck 1987).

3. 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 oksidase dari glucose menurut persamaan berikut :

$\text{Glukosa} + \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{GOD}}$ asam glukonat + H₂O (2) Hidrogen peroksida yang

terbentuk bereaksi dengan 4-aminoantipyrin dan 2,4-dichlorohenol dengan adanya peroxidase (POD) dan menghasilkan antipiryquinonimine, yaitu suatu zat warna

merah. Jumlah zat warna yang terbentuk ini sebanding dengan konsentrasi glukosa (Merck 1987).

4. Metode o-toluidine

Prinsip dari metode ini, yaitu protein yang terdapat dalam darah diendapkan terlebih dahulu dengan asam trikloroasetat. Kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan supernatan dan endapan. Glukosa yang terdapat dalam supernatan yang jernih kemudian akan direaksikan dengan o-toluidin yang merupakan amin aromatis primer dalam pelarut asam asetat glasial panas. O-toluidine berkondensasi dengan gugus aldehid pada glukosa membentuk suatu campuran kroogen hijau-biru dengan panjang gelombang maksimum 630 nm. Pengukuran serapan dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Prinsipnya adalah dimana glukosa akan bereaksi dengan ortho-toluidin dalam asam asetat panas membentuk senyawa berwarna hijau. Warna yang membentuk diukur serapannya pada panjang gelombang 625 nm (Dubowsky 2008).

J. Hewan Percobaan

1. Klasifikasi hewan uji

Sistematika tikus putih jantan galur wistar (Sharp *et al* 1998) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Subkelas	: Theria
Ordo	: Rodensia
Subordo	: Sciurognathi
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>

2. Karakteristik utama

Tikus putih merupakan hewan yang cerdas dan relatif resistensi terhadap infeksi. Pada umumnya tikus putih tenang dan mudah ditangani, tidak begitu bersifat fotofobik seperti halnya mencit. Kecenderungan untuk berkumpul dengan sesama tidak begitu besar sehingga tikus putih dapat tinggal sendirian di kandang asal bisa mendengar dan melihat tikus lain. Hewan ini harus diperlakukan dengan halus namun sigap dan makanan harus dijaga agar tetap memenuhi kebutuhannya. Tikus putih yang dibiakkan di laboratorium lebih cepat dewasa dan berkembang biak (Smith & Mankoewidjojo 1998).

3. Biologi tikus

Tikus putih baik jantan maupun betina dapat bertahan hidup 2-3 tahun, bahkan sampai 4 tahun. Tikus tumbuh dewasa pada umur 40-60 hari. Berat badan tikus jantan yang dewasa bekisar 300-400 gram, sedangkan betina 250-300 gram. Tikus dapat dikawinkan pada umur 10 minggu (Smith & Mankoewidjojo 1998).

Tikus jantan memiliki kondisi biologis serta sistem hormonal yang lebih stabil dibandingkan tikus betina, lebih tenang dan mudah ditangani. Selain itu tikus jantan memiliki kecepatan metabolisme obat lebih cepat dari pada tikus betina (Blodinger 1994).

4. Kandang dan perawatan

Kandang tikus pada dasarnya mirip dengan kandang mencit hanya ukurannya lebih besar. Jumlah tikus di dalam kandang dibatasi agar tidak berdesakan. Kondisi ini dapat mengakibatkan hipertemia, sedangkan tikus yang memiliki kelenjar keringat di telapak kakinya hal ini akan menyulitkan untuk menurunkan suhu badannya. Cara lain yang dilakukan tikus dalam menurunkan suhu tubuh adalah dengan mengeluarkan banyak ludah dan menjilati tubuhnya dengan ludah tersebut. Sebaiknya kondisi suhu dapat dijaga antara 20-25⁰C, untuk menjaga terjadi hipertemia yang mungkin dapat menyebabkan kematian untuk memudahkan tikus berkembang (Smith & Mangkoewidjojo 1998).

5. Pemberian secara oral

Pemberian obat secara oral pada tikus dilakukan dengan menggunakan jarum suntik berujung tumpul untuk tikus yang dimasukkan ke dalam mulut

kemudian secara perlahan diluncurkan melalui tepi langit-langit ke belakang sampai esofagus (Sugiyanto 1995).

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. Struktur dan anatomi pankreas

Pankreas adalah suatu kelenjar eksokrin sekaligus juga kelenjar endokrin, mempunyai konsistensi yang lunak karena banyak mengandung jaringan kelenjar dan dibagi menjadi beberapa bagian yaitu kaput, korpus, dan kauda, dimana memiliki berat rata-rata 80 g.

Secara fisiologis fungsi pankreas bertindak sebagai kelenjar eksokrin dan endokrin. Fungsi endokrin pankreas dilakukan sekelompok sel yang disebut pulau Langerhans yang memproduksi hormon insulin dan glukagon yang penting untuk metabolisme karbohidrat. Fungsi eksokrin oleh kelenjar tubuloacinar, pankreas menyekresi 500-1.200 ml getah pankreas setiap hari ke duodenum. Suatu enzim pencernaan yang terdiri atas amilase, tripsin dan lipase (Katzung 2012).

Pulau Langerhans pankreas merupakan gabungan sel dengan diameter 75-500 μm , yang tersebar (dalam bentuk pulau) dalam jaringan pankreas dan dipasok dengan banyak pembuluh darah. Keseluruhannya sering disebut organ pulau, untuk menyatakan ketidaktergantungannya secara morfologik dan fungsional. Masa utama sel pulau (sekitar 80%) disusun oleh sel B (sel β) yang diwarnai lemah, dan karena itu sel B terang (berwarna muda), yang memproduksi insulin.

Kelenjar pankreas tersusun atas pulau Langerhans yang merupakan *cluster* yang tersebar di sepanjang kelenjar eksokrin pankreas. Unit endokrin yang disebut sebagai pulau Langerhans memiliki 4 macam sel, yaitu sel alfa, sel beta, sel delta, dan sel PP (polipeptida pankreas) (Seungbum *et al.* 2007)

Pankreas tikus terletak pada rongga abdomen, memiliki permukaan yang membentuk lobulasi, berwarna putih keabuan hingga kemerahan (Fradson 1992).

3. Kerusakan pankreas

Pada hewan percobaan yang diinduksi aloksan akan mengalami metabolisme oksidasi reduksi menghasilkan radikal bebas dan radikal aloksan. Radikal ini mengakibatkan kerusakan pada sel β 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 β , sel β tersebut tidak mampu menghasilkan insulin sehingga terjadi penyakit diabetes yang dikarakterisasi dengan keadaan hiperglikemia (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 :

3.1. 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 β terjadi belakangan dan biasanya tidak lebih dari 20-50%.

3.2. Degranulasi sel β yang sudah rusak. Hal ini lebih sering ditemukan pada pasien dengan diabetes tipe 1A yang baru didiagnosis, saat masih terdapat beberapa sel β .

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

4. Histopatologi Pankreas

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

4.1. Jumlah pulau Langerhans. Hewan percobaan DM akan mengalami penurunan jumlah pulau Langerhans, dibandingkan dengan hewan percobaan normal. Apabila jaringan pankreas normal diamati pada hewan percobaan, maka per lapang pandang pankreas ditemukan lebih dari dua buah pulau Langerhans. Sedangkan pada hewan percobaan DM tipe 2, kadang-kadang tidak satupun pulau Langerhans ditemukan (Andayani 2003).

4.2. Nekrosis. 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; Cotran & Robbins 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 DNase (Lestari 2011).

5. 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 suatu penyakit yang ditandai dengan kadar glukosa darah di atas normal. Penyebab diabetes melitus, atau yang biasa disebut sebagai penyakit kencing manis, adalah kekurangan hormon insulin yang berfungsi memungkinkan glukosa masuk ke dalam sel untuk dibakar dan dimanfaatkan sebagai sumber energi. Jika tubuh kekurangan hormon insulin maka glukosa akan menumpuk di dalam darah atau hiperglikemia, dan akhirnya dieksresikan lewat kemih tanpa digunakan.

Pada penderita DM 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.

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antidiabetes adalah buah duwet telah digunakan secara empiris sebagai bahan obat untuk pengobatan diabetes, faringitis dan infeksi kurap. Buah duwet mengandung alkaloid, flavonoid, resin, tannin, dan minyak atsiri. Flavonoid yang memainkan peran penting dalam pengobatan diabetes dan pencegahan komplikasinya.

Analisis fitokimia yang diperoleh dari tanaman satu family menunjukkan hasil positif terhadap golongan senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin. Senyawa-senyawa inilah yang berperan sebagai antidiabetes. Flavonoid diketahui mampu menangkap radikal bebas (ROS/*Reactive Oxygen Species* atau RNS/*Reactive Nitrogen Species*) melalui transfer elektron, serta menghambat reaksi peroksidasi. Flavonoid merupakan pengkhelat logam dan menghambat reaksi Fenton dan Haber- Weiss, yang penting sebagai sumber radikal oksigen reaktif. Flavonoid dapat bekerja secara langsung terhadap sel beta pankreas, dengan memicu

pengaktifan kaskade sinyal cAMP dalam memperkuat sekresi insulin yang disensitisasi oleh glukosa (Brahmachari, 2011).

Mekanisme antioksidan dalam memperbaiki kerusakan sel β pankreas adalah antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang memiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Zubaidah dan Rosdiana 2016).

Gambaran histopatologi pankreas pada kelompok tikus yang normal adalah kondisi pulau Langerhans sel pankreas dalam keadaan relatif baik yang ditandai dari kondisi pulau Langerhans yang relatif rapat. Sedangkan pada kelompok diabetes, kondisi pulau 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.

Dalam penggunaan antidiabetes, mekanisme yang diharapkan adalah menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki histopatologi dari pankreas serta perbaikan ekskresi protein insulin pankreas. Oleh karena itu, diharapkan dapat memperbaiki histopatologi pankreas dan ekskresi protein insulin pankreas.

M. Hipotesis

Pertama, ekstrak etanol buah duwet (*Syzygium cumini* L.) dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar.

Kedua, ekstrak etanol buah duwet (*Syzygium cumini* L.) mempunyai efek meningkatkan jumlah pulau dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur wistar.

Ketiga, pemberian dosis tertentu ekstrak etanol buah duwet (*Syzygium cumini* L.) memiliki efektivitas dalam meningkatkan jumlah pulau dan menurunkan persentase nekrosis sel serta endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah buah duwet (*Syzygium cumini* L.) yang diperoleh dari Ngawi, Jawa Timur

2. Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah duwet (*Syzygium cumini* L.) yang diperoleh dari desa Ngrambe, kabupaten Ngawi, Jawa Timur yang dalam kondisi segar, bersih dan matang.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah aktivitas ekstrak etanol buah duwet hasil maserasi dengan pelarut etanol 96% terhadap kadar glukosa dan diameter, jumlah pulau, densitas pulau dan jumlah sel endokrin pulau Langerhans pankreas 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 mempelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 96% dalam berbagai dosis.

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah penurunan kadar gula darah dan kondisi organ pankreas pada tikus setelah mendapat perlakuan dengan ekstrak etanol 96% dengan dosis yang berbeda-beda. Variabel tergantung merupakan variabel akibat dari variabel utama, dalam penelitian ini adalah selisih penurunan kadar gula darah pada hewan uji sesudah dan sebelum diberi perlakuan.

Variabel terkontrol adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu dinetralisir atau ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang didapatkan tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah kondisi hewan uji yang meliputi berat badan, lingkungan lingkungan hidup, jenis kelamin, usia, galur, kondisi laboratorium dan peneliti sendiri.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, buah duwet adalah buah pada tanaman duwet yang berwarna biru keunguan, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda yang diperoleh dari pohon duwet yang berasal dari Ngawi, Jawa Timur

Kedua, serbuk buah duwet adalah serbuk yang diperoleh dari hasil pengeringan, penggilingan dan pengayakan buah duwet dengan menggunakan mash 40.

Ketiga, ekstrak etanol buah duwet adalah ekstrak yang dihasilkan dari penyarian dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian dipekatkan di atas *rotary evaporator* pada suhu 40°C.

Keempat, hewan uji dalam penelitian ini adalah tikus jantan putih yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan rata-rata 180-220 g yang diinduksikan dengan aloksan 180 mg/kg BB sehingga mengalami diabetes.

Kelima, metode uji diabetes aloksan adalah metode yang digunakan dengan upaya merusak sebagian organ pankreas tikus.

Keenam, glibenklamid adalah serbuk obat hipoglikemik oral yang diperoleh dari PT. Indofarma.Tbk

Ketujuh, kondisi histopatologi jaringan pankreas adalah peningkatan jumlah pulau dan penurunan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pankreas terhadap jumlah sel normal.

Ketujuh, persentase nekrosis adalah persentase jumlah sel-sel endokrin pulau Langerhans pankreas yang mengalami piknosis terhadap jumlah sel normal.

Kedelapan, dosis efektif adalah dosis dari ekstrak etanol buah duwet yang memiliki aktivitas menurunkan kadar gula darah dan meningkatkan jumlah pulau

serta menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans yang setara dengan kontrol positif.

C. Alat, Bahan dan Hewan Uji

1. Alat

Alat untuk membuat simplisia yaitu oven dengan suhu rendah dan konstan, mesin penggiling dan ayakan ukuran mesh no. 40. Alat penyari yang digunakan adalah seperangkat alat maserasi, evaporator, bejana maserasi, kain fanel, neraca elektrik, pipet, tabung reaksi, beaker glass. Alat untuk mengukur kadar air adalah *Sterling-Bidwell*. Alat yang digunakan untuk perlakuan hewan uji adalah timbangan, jarum oral, spuit injeksi insulin 1.0 ml merck, pipa kapiler, gelas ukur, beaker glass dan kandang tikus. Alat yang digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah tikus adalah *Spektrofotometer UV-Vis*. Alat yang digunakan untuk preparat histopatologi adalah rangkaian alat bedah (scalpel, pinset, pisau, gunting, jarum, dan meja lilin), mikrotom putar (*rotary microtome*), object glass dan deck glass, mikroskop cahaya Olimpus CH20.

2. Bahan

2.1. Bahan Sampel. Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah duwet (*Syzygium cumini* L.) yang segar, berwarna biru keunguan yang diperoleh dari Ngawi, Jawa Timur.

2.2. Bahan Kimia. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% sebagai larutan penyari. untuk uji farmakologi digunakan aloksan monohidrat, glibenklamid, *Carbonil Metil Cellulose Natrium* (CMC-Na) 0,5%, , larutan fisiologis NaCl 0,9% dan aquadest. Untuk penetapan kadar gula darah menggunakan kit assay GOD-PAP. Bahan untuk pengamatan histopatologi adalah formalin PA, larutan warna *Haematoxylin Eosin*, formaldehid, etanol, xylene dan alkohol. Untuk uji identifikasi senyawa tanaman alkohol, anhidrida asam asetat, kloroform, asam sulfat, HCL 2N, serbuk magnesium, amil alkohol, xylene, asam klorida, besi (III) klorida dan air suling.

3. Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih galur Wistar jantan berumur 2-3 bulan dengan berat badan antara 150-220 gram sebanyak 30 ekor. Pengelompokan dilakukan secara acak 5 ekor per kelompok. Semua tikus dipelihara dan dirawat dengan cara yang sama, mendapat perlakuan yang sama, ukuran kandang yang sesuai dengan temperature $\pm 10^{\circ}\text{C}$. Penerangan diatur dengan siklus 12 jam terang dan 12 jam gelap, selama penelitian kebutuhan makanan dan minuman harus selalu terkontrol agar kondisi tikus tetap sehat.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi tanaman duwet

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran tanaman yang berkaitan dengan makroskopis dan mikroskopisnya. Hal ini dilakukan dengan mencocokkan ciri-ciri morfologis tanaman pada pustaka yang dibuktikan dengan determinasi yang dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas Keguruan Dan Ilmu Pendidikan (FKIP) Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jawa Tengah.

2. Pengumpulan, pengeringan dan pembuatan serbuk

Sampel yang digunakan adalah buah duwet matang yang diperoleh dari desa Ngrambe, kabupaten Ngawi, Jawa Timur. Sampel yang diperoleh disortasi basah lalu dicuci. Sampel kemudian diiris tipis dan dipisahkan dari bijinya kemudian dikeringkan dengan oven. Setelah itu, dilakukan sortasi kering dan diserbuk dengan menggunakan mesin serbuk serta diayak dengan menggunakan pengayak no.40 sampai didapatkan serbuk buah duwet yang diinginkan.

3. Penetapan kadar air buah duwet

Penetapan kadar air buah duwet dilakukan dengan cara menimbang serbuk buah duwet sebanyak 20 gram, dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xylen sampai serbuk terendam, kemudian memasang alat *Sterling-Bidwell*, dipanaskan dengan api kecil, setelah mendidih apinya dibesarkan. Pemanasan dihentikan bila pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes dan diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling-Bidwell*

dengan melihat volume pada skala alat tersebut selanjutnya dihitung kadar air dalam satuan persen dengan rumus:

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Volume terbaca}}{\text{Berat bahan}} \times 100\%$$

4. Pembuatan ekstrak etanol buah duwet

Pembuatan ekstrak etanol buah duwet dilakukan dengan cara mengambil buah duwet yang telah diserbuk, kemudian ditimbang sebanyak 500 gram. Serbuk dimasukan ke dalam botol maserasi berwarna gelap dan ditambahkan etanol 96% sebanyak 5000 ml. Setelah itu botol didiamkan selama 5 hari sambil sering diaduk dan pengocokan berulang. Setelah lima hari, filtrat disaring dengan kain flanel, sedangkan ampasnya yang telah disaring dimasukan kembali ke dalam botol berwarna gelap dan dibilas lagi dengan etanol 96%. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* 50°C sampai diperoleh ekstrak kental (Depkes 1986).

5. Uji bebas alkohol

Tes bebas alkohol ekstrak etanol buah duwet dilakukan dengan cara esterifikasi alkohol, dimana ekstrak buah duwet ditambah asam asetat encer dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Bila tidak ada bau ester (etil asetat) berarti sudah tidak ada etanol (Depkes 1979).

6. Identifikasi kandungan senyawa

6.1. Identifikasi flavonoid. Ekstrak etanol buah duwet dimasukan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, ditambah 2 ml larutan alkohol : HCl (1:1) dan pelarut amil alkohol, lalu dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah atau kuning atau jingga pada amil alkohol.

6.2. Identifikasi tanin. Sejumlah ekstrak buah duwet ditambah 20 ml air panas kemudian didihkan selama 15 menit, setelah dingin disaring. Sebanyak 5 ml filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pereaksi larutan besi (III) klorida 1%. Jika tanin positif maka akan terbentuk warna hijau violet setelah direaksikan dengan larutan besi (III) klorida (Depkes 1995).

6.3. Identifikasi saponin. Sebanyak 0,5 gram ekstrak buah duwet dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah air panas 10 ml dan dikocok kuat-kuat. Tambahkan 1 tetes HCl 2N dan amati jika terjadi reaksi positif yang ditunjukkan dengan buih yang terbentuk setinggi 1-10 cm dan tidak hilang.

6.4. Identifikasi alkaloid. Pemeriksaan alkaloid dilakukan dengan cara serbuk dan ekstrak simplisia sebanyak 500 mg dilarutkan dalam 100 ml air panas, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrate sebanyak 5 ml dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan dengan 1,5 ml HCl 2% kemudian dilanjutkan dengan penambahan 2 sampai 4 tetes reagen Dragendroff. Alkaloid positif terjadi kekeruhan atau endapan coklat (Harborne 1987).

6.5. Identifikasi steroid & terpenoid. Sebanyak 2 ml larutan uji diuapkan, kemudian residu dilarutkan dengan 0,5 ml kloroform dan ditambahkan 0,5 ml asam asetat anhidrat. HCl pekat kemudian ditambahkan melalui dinding tabung. Terpenoid menunjukkan reaksi positif dengan adanya cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan larutan. Sedangkan, steroid menunjukkan reaksi positif apabila muncul cincin biru kehijauan (Ciulei 1984).

7. Penentuan dosis

7.1. Penentuan dosis aloksan. Dosis aloksan yang digunakan untuk membuat tikus diabetes adalah 180 mg /kg bb secara intraperitoneal (Sujono & Sutrisna 2010). Tikus yang digunakan adalah tikus yang memiliki berat sekitar 200 g, sehingga didapatkan dosis aloksan yang digunakan pada penelitian ini adalah 36 mg/200 g berat badan tikus

7.2. Penentuan dosis glibenklamid. Dosis glibenklamid diambil berdasarkan penggunaannya pada manusia, yaitu 5 mg untuk 70 kg BB manusia. Faktor konversi manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat badan 200 gram adalah 0,018. Sehingga, dosis glibenklamid untuk tikus pada penelitian ini adalah 0,09 mg/200 gram BB tikus (0,45 mg/kg BB tikus).

8. Pembuatan sediaan uji

8.1. Aloksan monohidrat. Larutan aloksan monohidrat dengan konsentrasi 1% dibuat dengan cara melarutkan 1 g aloksan monohidrat dalam

larutan garam fisiologi pada volume 100 ml. Aloksan digunakan untuk penginduksi diabetes.

8.2. CMC Na 0,5%. CMC Na 0,5% digunakan sebagai kontrol negatif. CMC Na 0,5% dibuat dengan cara melarutkan 0,5 g CMC Na 0,5% dengan aquadest hangat sedikit demi sedikit, kemudian dimasukkan ke dalam mortir dan digerus sampai halus. Setelah itu, aquadest ditambahkan hingga 100 ml dan diaduk.

8.3. Glibenklamid. Suspensi glibenklamid dibuat dalam kadar 0,09% mg/mL. Cara pembuatannya dimulai dengan menimbang serbuk glibenklamid sebanyak 9 mg, kemudian disuspensikan ke dalam larutan CMC Na 0,5% sampai 100 ml.

8.4. Larutan garam fisiologis Larutan fisiologis 0,9% dibuat dengan cara melarutkan 0,9 g NaCl dalam air suling pada volume 100 ml dibuat untuk melarutkan aloksan monohidrat.

9. Pengelompokan dan perlakuan hewan uji

Tikus ditimbang dan diberi tanda. Sebelum perlakuan, selama satu minggu tikus diadaptasi terlebih dahulu untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan dengan berat rata-rata 180-220 gram. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 30 ekor yang secara acak dibagi dalam 6 kelompok. Setelah itu tikus dipuasakan selama 16 jam untuk mengukur kadar glukosa awal (T_0). Kemudian, masing-masing tikus diberikan aloksan dosis 180 mg/kg BB secara intraperitoneal kecuali pada 5 ekor tikus sebagai kontrol normal dan setelah 5 hari diperiksa kadar glukosa darahnya. Tikus yang kadar glukosanya naik >200 mg/dL dikelompokkan, masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus, dengan perlakuan yang diberikan yaitu:

Kelompok 1 : Kontrol normal (hanya diberi makan dan minum)

Kelompok 2 : Kontrol negatif, tikus diberikan CMC Na 0,5%

Kelompok 3 : Kontrol positif, tikus diberikan glibenklamid dosis 0,45 mg/kg BB

Kelompok 4 : Ekstrak etanol 96% buah duwet dosis 100 mg/kg BB

Kelompok 5 : Ekstrak etanol 96% buah duwet dosis 200 mg/kg BB

Kelompok 6 : Ekstrak etanol 96% buah duwet dosis 400 mg/kg BB

Setelah itu, tikus diambil darahnya untuk pengukuran kadar glukosa pertama (T_1). Kemudian, diberikan larutan uji secara oral setiap hari pada pagi hari selama 14 hari. Pada hari ke-15 semua tikus dikorbankan dengan cara didislokasi lehernya, setelah itu diambil organ pankreas untuk dilakukan uji histopatologinya.

10. Pengambilan sampel

Pada akhir penelitian, hewan uji dikorbankan dan organnya diambil untuk dihitung berat organ dan persen indeks organ. Hewan uji dikorbankan dengan cara *decapitation* (perusakan otak lewat leher). *Decapitation* dilakukan dengan jalan memotong kepala hewan dengan menggunakan peralatan tajam dengan tujuan untuk memutus kepekaan saraf tulang belakang.

11. Penetapan kadar glukosa darah

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan 5 hari setelah diinduksi aloksan (T_1) dan hari ke 14 (T_2) setelah pemberian sediaan uji. 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 μ l ditambah reagen GOD-PAP sebanyak 1000 μ l. Larutan diinkubasi pada suhu ruang selama 10 menit, kemudian diukur dengan menggunakan Spektrofotometer UV-VIS.

12. Pembuatan preparat histopatologi

Pertama, organ pankreas tikus yang telah didekapitasi diambil dan dimasukkan dalam pot plastik. Organ langsung difiksasi dengan menggunakan formalin 10% PA agar preparat tidak cepat rusak, dan diberi label pada pot 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% dan 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 memasukan 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 memasukan 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 hematoxylin 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 hematoxylin selama 10 sampai 20 menit, kemudian diamati apakah jaringannya sudah berwarna ungu. Selanjutnya, jaringan yang sudah diwarnai tadi dicuci di bawah air mengalir selama 10 menit. Setelah itu, pewarnaan dilanjutkan dengan memasukkan sediaan ke dalam pewarna 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 memasukan jaringan ke dalam larutan xylen I dan dilakukan *mounting*, yaitu penutupan sediaan dengan menggunakan gelatin sebagai perekat dan ditutup dengan deg glass (Lerebulan 2014).

13. Perlakuan hewan uji pasca bedah

Pada akhir penelitian setelah hewan uji dibedah dan diambil organnya, selanjutnya jasad hewan uji dikubur dengan membuat lubang dengan kedalaman minimal setengah meter untuk menghindari terbongkarnya tempat penguburan. Hewan uji dikubur di tempat yang telah disediakan.

14. Pemeriksaan histopatologi

Untuk dapat mengamati seluruh lapangan pandang pada daerah-daerah yang ditentukan, maka preparat jaringan pankreas diamati pada perbesaran 40-100x. Daerah yang diamati adalah daerah asinar yang merupakan tempat terdistribusinya sel-sel endokrin yang membentuk kumpulan tersendiri yang disebut pulau Langerhans dan sel dalam pulau Langerhansnya. Pada penelitian ini, preparat diamati dengan mikroskop cahaya Olympus CH20, sehingga sel yang diamati tampak jelas.

Untuk mengetahui persentase nekrosis dihitung jumlah inti sel dan jumlah sel yang mengalami piknosis. Setelah itu, dilakukan perbandingan antara jumlah sel yang mengalami piknosis dengan jumlah total sel pada jaringan pankreas, sehingga dapat ditentukan persentase kerusakan pada jaringan pankreasnya.

$$\text{Persentase nekrosis} = \frac{\text{Total inti piknosis sel pankreas}}{\text{Total inti sel pankreas}} \times 100\%$$

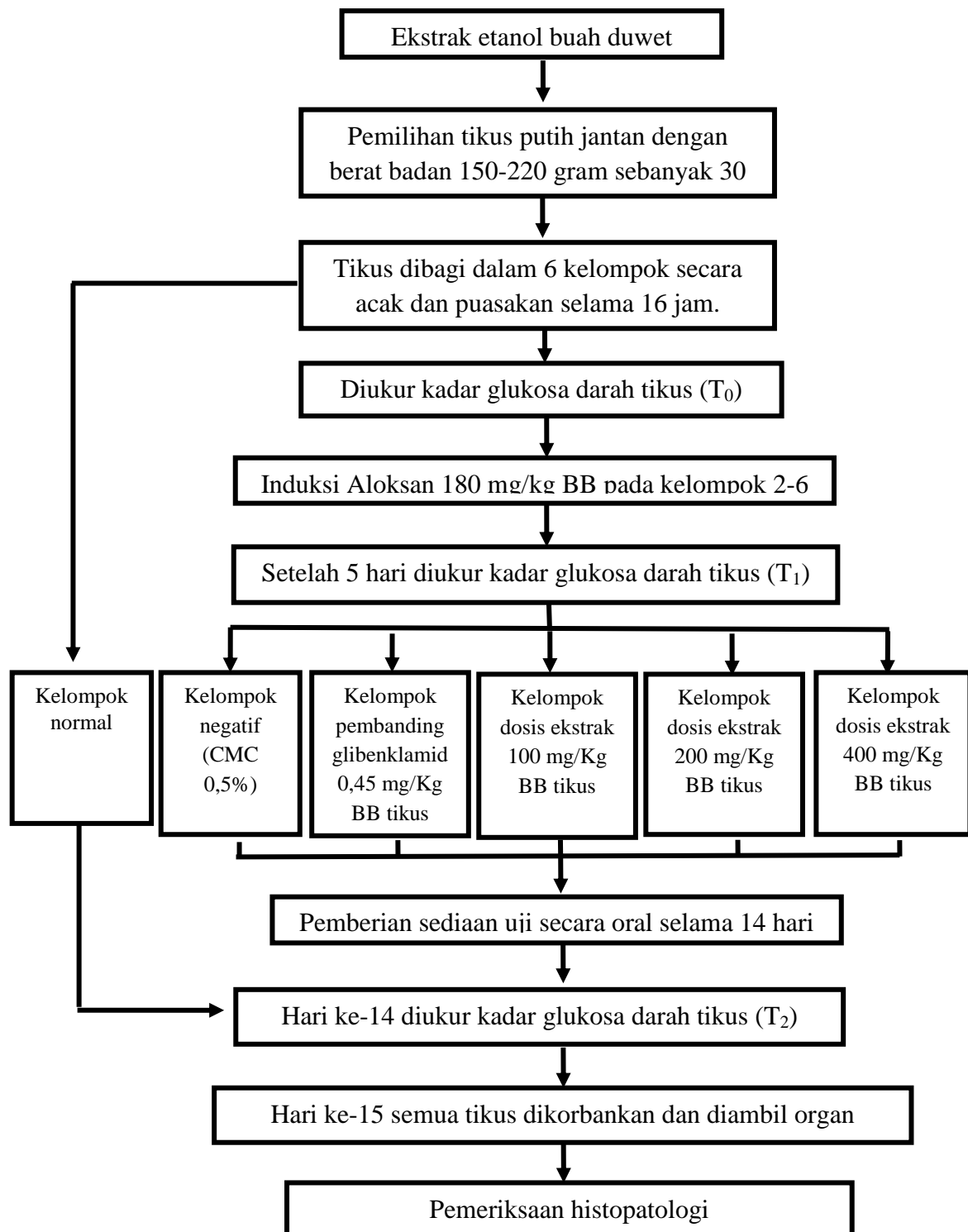
Jumlah pulau Langerhans (n) pada tiap preparat dihitung pada tiap lapang pandang. Sel-sel pulau Langerhans diidentifikasi dengan perbesaran, dihitung, lalu dicatat. Jumlah seluruh sel endokrin pulau Langerhans pada pulau

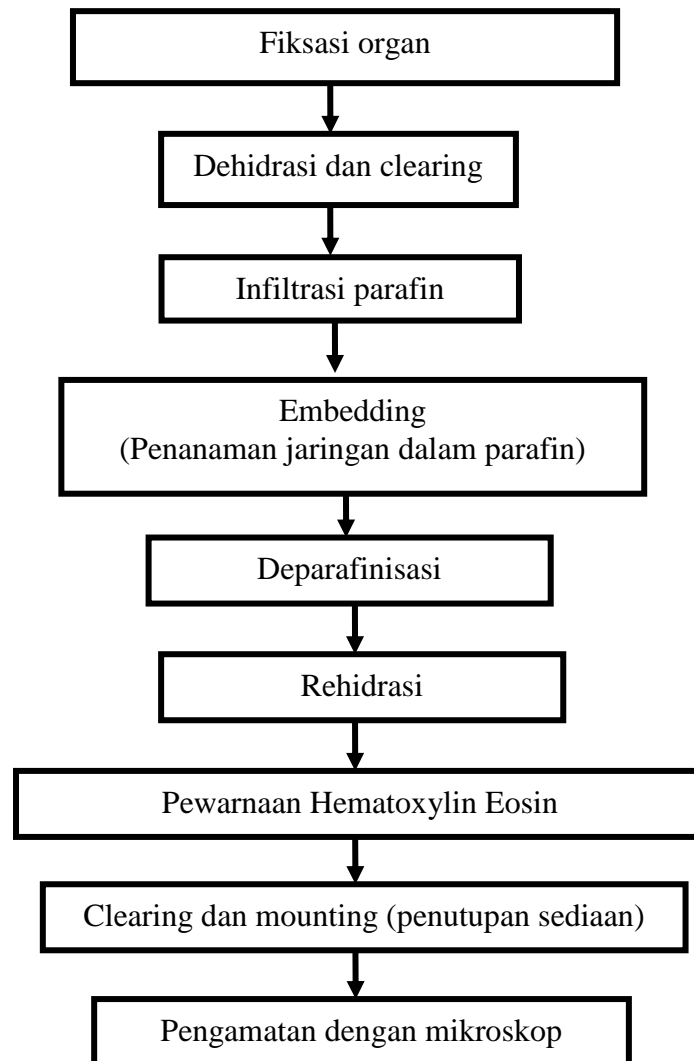
Langerhans dihitung dan dinyatakan dalam satuan n/pulau. Hasil pengamatan didokumentasikan dengan melakukan pemotretan dengan menggunakan kamera digital.

E. Analisa Statistik

Analisa statistik yang pertama digunakan dalam penelitian ini untuk melihat penurunan kadar glukosa darah, data diameter, densitas pulau dan jumlah sel endokrin yang diperoleh dilakukan analisa statistik dengan menggunakan uji distribusi normal (Saphiro Wilk) yang bertujuan untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Jika data yang didapatkan terdistribusi normal ($p > 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji parametrik (Anova satu jalan). Setelah itu dilanjutkan dengan Post Hoc test untuk mengetahui perbedaan bermakna di antara tiap-tiap kelompok.

F. Alur Penelitian



G. Alur Pemeriksaan Histopatologi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Buah Duwet

Buah Duwet (*Syzygium cumini* L) yang digunakan sebagai bahan penelitian ini dideterminasi terlebih dahulu dengan tujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil serta menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman lain. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. Hasil determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

B. Pembuatan Serbuk Buah Duwet dan Sifat Fisik Serbuk Buah Duwet

1. Pembuatan serbuk buah duwet

Tanaman buah duwet dalam penelitian ini diperoleh dari desa Ngrambe, kabupaten Ngawi, Jawa Timur Ngawi, Jawa Timur. Buah Duwet yang berwarna ungu kehitaman dengan berat 36 Kg dibersihkan dari kotoran dengan cara dicuci dengan air bersih dan ditimbang kembali berat buah duwet menjadi 35 Kg. Kemudian dipisahkan dari bijinya dan didapatkan berat buah duwet tanpa biji sebanyak 18 Kg. Selanjutnya buah duwet dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C sampai diperoleh buah yang kering. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah timbulnya jamur yang dapat menyebabkan terjadinya perubahan kimia dan dapat menurunkan mutu dan khasiat buah duwet. Buah duwet yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan dan dibuat serbuk dengan menggunakan mesin penggiling didapatkan hasil 1,8 Kg. Selanjutnya serbuk buah duwet diayak dengan pengayak no. 40 untuk memperoleh serbuk yang halus.

Penentuan persentase bobot kering terhadap bobot basah dilakukan dengan cara menimbang buah duwet yang masih basah, kemudian hasilnya dibandingkan dengan bobot buah duwet yang sudah kering. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah buah duwet dapat dilihat pada tabel 1 :

Tabel 1. Rendemen pengeringan buah duwet

No.	Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%)
1	18	1,8	10

Buah duwet sebanyak 18 kg dikeringkan dan didapatkan persentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah adalah 10%. Hasil perhitungan bobot kering terhadap bobot basah buah duwet dapat dilihat pada lampiran 8.

2. Identifikasi serbuk buah duwet secara organoleptis

Identifikasi secara organoleptis dilakukan berdasarkan pengindraan yang meliputi bentuk, bau, rasa, dan warna. Hasil identifikasi serbuk buah duwet dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan organoleptis serbuk buah duwet

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Serbuk
Bau	Khas buah duwet
Rasa	Tidak berasa
Warna	Ungu kehitaman

C. Hasil Penetapan Kadar Air Buah Duwet

Serbuk buah duwet yang diperoleh dilakukan penetapan kadar air dengan cara destilasi menggunakan alat *Sterling-Bidwell*. Penetapan kadar air buah duwet dimaksudkan agar mutu dan khasiat buah duwet tetap terjaga. Persyaratan kadar air serbuk simplisia yaitu kurang dari 10%. Cairan pembawa yang digunakan adalah xylen karena xylen memiliki berat jenis dan titik didih yang lebih besar daripada air dan tidak bercampur dengan air. Pada umumnya simplisia yang sudah kering memiliki kadar air $\pm 8 - 10\%$ (Depkes 1986), dimana dengan jumlah kadar air tersebut kerusakan simplisia dapat ditekan baik dalam pengolahan maupun waktu penyimpanan. Hasil penetapan kadar air serbuk buah duwet dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air buah duwet

No.	Berat serbuk (g)	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,8	9,0
2	20	1,6	9,0
3	20	1,8	9,0
Rata-rata			8,7 \pm 0,52

Hasil perhitungan kadar air serbuk buah duwet menggunakan alat *Sterling-Bidwell* didapat kadar air rata-rata 8,7%. Jadi, serbuk buah duwet pada

penelitian ini sudah sesuai dengan kadar air yang dipersyaratkan. Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk buah duwet dapat dilihat pada lampiran 10.

D. Hasil Pembuatan Ekstrak Etanol Buah Duwet

Serbuk buah duwet ditimbang 500 gram, kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 3750 ml dengan perbandingan 1:10 kemudian dimaserasi selama 5 hari dengan melakukan pengocokan 3 kali sehari. Buah duwet yang telah dimaserasi disaring menggunakan kain flanel, dilanjutkan dengan kertas saring. Ampas atau residu yang tersisa kemudian dialiri kembali dengan etanol 96% sebanyak 1250 ml dan dibiarkan selama 2 hari. Hasilnya kemudian disaring dengan menggunakan kain flanel dan dilanjutkan dengan kertas saring. Setelah itu, dilakukan penguapan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* sampai terbentuk ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dilakukan pemeriksaan organoleptis yang bertujuan untuk mengetahui sifat fisik dari ekstrak etanol buah duwet yaitu ekstrak terbentuk kental dengan warna ungu tua dan berbau khas. Ekstrak tersebut kemudian ditimbang untuk selanjutnya dihitung rendemen ekstrak buah duwet. Hasil perhitungan ekstrak etanol dan rendemen buah duwet dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak etanol buah duwet

No.	Berat serbuk (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
1	500	154,38	30,87

Dapat dilihat pada tabel 4, ekstrak kental yang didapat dari 500 gram serbuk buah duwet sebesar 154,38 gram dan diperoleh rendemen 30,87%.

E. Hasil Uji Bebas Alkohol Ekstrak Etanol Buah Duwet

Ekstrak etanol buah duwet yang diperoleh diuji bebas alkohol. Ekstrak ditambah larutan asam asetat dan larutan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan hingga tidak tercium bau ester khas alkohol. Berdasarkan hasil uji bebas alkohol, ekstrak etanol buah duwet tidak mengandung alkohol. Uji bebas alkohol dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi.

Tabel 5. Hasil uji bebas alkohol ekstrak buah duwet

Prosedur	Hasil	Pustaka	Keterangan
Ekstrak + CH_3COOH + $\text{H}_2\text{SO}_{4\text{pekat}}$ (dipanaskan)	Tidak tercium bau khas ester (etil asetat) dari alkohol	Tidak ada bau khas ester (etil asetat) dari alkohol	(-)

F. Hasil Identifikasi Kandungan Kimia Buah Duwet

Ekstrak etanol buah duwet dilakukan uji kualitatif menggunakan reaksi warna untuk mengetahui kandungan flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, dan steroid. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol buah duwet dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol buah duwet

Kandungan Kimia	Hasil Penelitian	Interpretasi Hasil	Pustaka
Flavonoid	Warna jingga pada lapisan amil alkohol	+	Warna jingga pada lapisan amil alkohol
Tanin	Warna hijau violet	+	Terbentuk warna hijau violet
Saponin	Buih tinggi 1-10 cm	+	Buih tinggi 1-10 cm
Alkaloid	Endapan warna cokelat	+	Terbentuk kekeruhan atau endapan warna cokelat
Terpenoid	Cincin kecoklatan	+	Cincin kecoklatan

G. Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan galur Wistar yang diperoleh dari Laboratorium Gizi, Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Sebelum dilakukan perlakuan hewan uji diaklimatisasi selama 7 hari kemudian dipuasakan terlebih dahulu selama 10 jam. Tujuan dipuasakan untuk menghindari pengaruh makanan yang dapat mempengaruhi kadar glukosa darah tikus, selanjutnya dilakukan penimbangan berat badan dan pengambilan darah untuk mengetahui kadar gula darah awal (T_0).

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

Tabel 7. Rata-rata berat badan tikus

Kelompok	Rata-rata berat badan tikus		
	Hari ke-0	Hari ke-4	Hari ke-14
Normal	193,60±3,36	199,00±3,94	213,80±3,77 ^{bc}
Kontrol diabetes	192,20±2,86	188,40±2,70	183,00±4,70 ^{ac}
Pembanding	191,40±2,07	188,00±2,73	199,80±2,38 ^{ab}
Duwet 100 mg/kg	194,40±3,21	190,60±2,70	200,00±3,39 ^{abc}
Duwet 200 mg/kg	190,80±2,05	187,40±2,41	201,00±3,61 ^{abc}
Duwet 400 mg/kg	187,60±2,88	184,20±2,95	198,00±3,16 ^{ab}

Keterangan :**Kontrol diabetes : Kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)****Pembanding : Kelompok kontrol pembanding (Glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus)****a : Berbeda signifikan terhadap kelompok normal****b : Berbeda signifikan terhadap kelompok diabetes****c : Berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol**

Berdasarkan rata-rata berat badan hewan uji pada Tabel 7 yang digunakan sebagai indikator untuk memastikan tingkat penyerapan glukosa, menunjukkan bahwa pada kelompok normal terjadi peningkatan berat badan hewan uji hal ini disebabkan oleh kondisi hewan uji yang sehat, asupan makanan tercukupi dan penyerapan glukosa serta nutrisi lainnya yang normal.

Pada kelompok kontrol diabetes terjadi penurunan berat badan hewan uji setelah diinduksi aloksan secara intraperitoneal, hal ini menunjukkan bahwa induksi aloksan dengan dosis 180 mg/kg BB tikus yang dilakukan berhasil membuat hewan coba mengalami diabetes. Kondisi eksperimental diabetes akan mengakibatkan tikus normal menjadi tikus penderita diabetes dengan ditandai salah satu ciri diagnosa klinis dengan terjadinya penurunan berat badan yang disebabkan oleh defisiensi hormon insulin sehingga transport glukosa ke dalam sel jaringan perifer berkurang. Kondisi ini mengakibatkan sel akan melakukan metabolisme dengan menggunakan cadangan glikogen melalui proses glikolisis, meningkatnya katabolisme protein dimana asam amino yang dihasilkan digunakan sebagai substrat untuk glukoneogenesis dalam hati. (Pasaribu *et al.* 2015).

Pada kelompok pembanding terjadi penurunan berat badan setelah dilakukan induksi aloksan namun terjadi peningkatan berat badan setelah diberikan perlakuan. Peningkatan berat badan ini dapat dikaitkan sebagai akibat dari pemberian glibenklamid yang menyebabkan jumlah insulin yang dilepaskan dari sel β pankreas meningkat. Peningkatan pelepasan insulin ini akan

meningkatkan transport glukosa ke dalam sel sampai ke jaringan perifer dan mengarah pada pemanfaatan nutrisi penting lain, penyerapan asam amino dan komponen makromolekul lainnya (Kumar *et al.* 2013).

Pengukuran berat badan tikus pada kelompok perlakuan ekstrak dengan 3 variasi dosis juga menunjukkan terjadinya peningkatan berat badan setelah tikus yang telah mengalami diabetes melitus diberikan perlakuan dengan ekstrak etanol buah duwet. Peningkatan berat badan ini dikaitkan dengan kandungan kimia buah duwet yang berperan sebagai antioksidan alami yang berfungsi untuk melindungi sel β pankreas dari radikal bebas.

H. Hasil Pengukuran Kadar Gula Darah Tikus

Pada penelitian ini pengujian aktivitas antidiabetes dilakukan dengan menggunakan metode uji diabetes induksi aloksan dimana hewan uji dibuat diabetes dengan menggunakan senyawa diabetogenik aloksan. Aloksan diberikan secara intraperitoneal dengan volume pemberian sebanyak 3 ml/200 gram BB tikus dengan dosis aloksan yang digunakan sebesar 180 mg/kg BB tikus. Hewan uji dapat dikatakan diabetes apabila setelah 4 hari pemberian aloksan terjadi hiperglikemia (kadar gula darah > 200 mg/dl) (Putra *et al.* 2015).

Mekanisme aloksan menginduksi diabetes terutama dimediasi oleh produk radikal bebas yang terbentuk dari reaksi redoks yang dapat menyebabkan rusaknya sel β pankreas. Pengukuran kadar gula darah tikus dilakukan dengan menggunakan metode GOD-PAP. Sampel darah diambil dari masing-masing tikus sesuai dengan kelompok. Setelah diproses sesuai dengan prosedur, kemudian diperoleh serum dan diperiksa kadar gula darahnya yang ditentukan dengan menggunakan metode GOD-PAP. Glukosa ditentukan setelah terjadi oksidasi enzimatis dengan adanya glukosa oksidase (Pasaribu 2015).

Pengukuran kadar gula darah dilakukan sebelum dan sesudah diberikan perlakuan (T_0 - T_2) pada awal penelitian dilakukan pengukuran kadar gula darah tikus yaitu pada T_0 yang digunakan sebagai pembandingan untuk melihat berhasil atau tidaknya induksi aloksan pada kelompok tikus diabetes melitus yaitu pada kelompok kontrol diabetes, pembandingan, duwet 100 mg/kg, duwet 200mg/kg dan

duwet 400 mg/kg, setelah kelompok tikus diabetes diinduksi aloksan, 4 hari kemudian dilakukan pengukuran kadar gula darah tikus kembali untuk memastikan tikus yang diinduksi telah mengalami diabetes (T_1) dan didapatkan hasil bahwa tikus mengalami kenaikan kadar gula darah.

Pengukuran kadar gula darah hewan uji dengan metode GOD-PAP hasilnya dapat diperoleh dari perbandingan antara nilai absorbansi sampel dengan absorbansi standar. Aktivitas antidiabetes ekstrak etanol buah duwet dilihat dari penurunan kadar gula darah tikus sebelum dan sesudah pemberian sendiaan uji. Data pengukuran gula darah pada 6 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 5 ekor tikus putih jantan galur Wistar dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula tikus pada berbagai kelompok perlakuan selama 14 hari

Kelompok	Rata-rata kadar gula darah tikus		
	Hari ke-0	Hari ke-4	Hari ke-14
Normal	71,45±1,54	72,32±1,62	73,10±1,63 ^{bc}
Kontrol diabetes	72,54±2,25	236,71±10,24	237,89±9,51 ^{ac}
Pembanding	76,45±1,51	239,92±6,98	115,99±3,98 ^{ab}
Duwet 100mg/kg	76,23±0,83	248,10±9,27	170,49±3,99 ^{abc}
Duwet 200mg/kg	72,46±3,16	243,97±10,26	151,97±2,80 ^{abc}
Duwet 400mg/kg	71,81±3,56	242,03±3,96	122,84±3,17 ^{ab}

Keterangan :

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

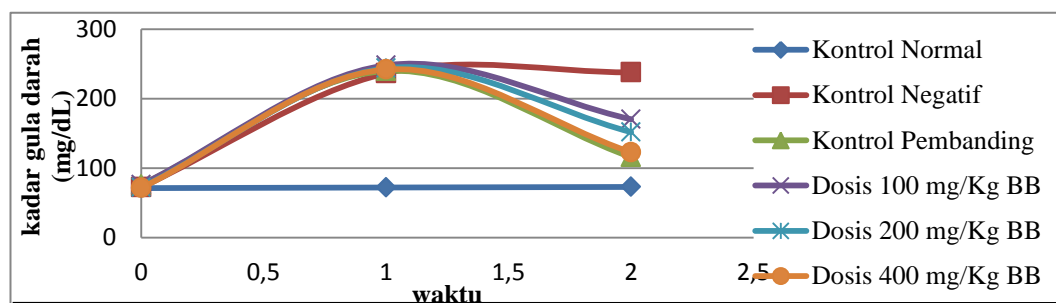
Pembanding : Kelompok kontrol pembanding (Glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus)

a : berbeda signifikan terhadap kelompok normal

b : berbeda signifikan terhadap kontrol diabetes

c : berbeda signifikan terhadap kelompok pembanding

Berdasarkan data rata-rata pengukuran kadar gula darah tikus pada Tabel 8, maka dapat dilihat pengaruh ekstrak etanol buah duwet terhadap kadar gula darah tikus yang diinduksi aloksan, dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Grafik pengaruh pemberian ekstrak etanol buah duwet terhadap kadar gula darah tikus yang diinduksi aloksan selama 14 hari

Gambar 7 menunjukkan hasil, kelompok normal memiliki kadar gula darah yang normal dimana peningkatan kadar gula darah yang terjadi tidak sampai

melebihi 200 mg/dl dan stabil berada di bawah 100 mg/dl karena hewan uji hanya diberikan pakan tanpa induksi aloksan. Kelompok kontrol diabetes yang hanya diberikan perlakuan dengan CMC Na 0,5% memiliki kadar gula darah yang tetap tinggi setelah diinduksi dengan aloksan yaitu diatas 200 mg/dl pada waktu T_1 sampai T_2 yang mengindikasikan bahwa induksi aloksan telah berhasil membuat tikus mengalami keadaan hiperglikemik. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian CMC Na 0,5% tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar gula darah tikus diabetes.

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

Pada kelompok pembanding yang diberikan yaitu glibenklamid menunjukkan terjadinya penurunan kadar glukosa darah tikus. Glibenklamid merupakan obat hiperglikemik oral yang bekerja dengan cara merangsang sekresi insulin dari sel-sel β Langerhans, menurunkan keluaran glukosa dari hati dan meningkatkan sensitivitas sel-sel saraf perifer terhadap insulin sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kadar gula darah. Pada kelompok perlakuan ekstrak etanol buah duwet dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB juga menunjukkan terjadinya penurunan kadar gula darah pada tikus. Penurunan kadar gula darah tikus pada semua kelompok perlakuan ekstrak menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan pada penelitian ini memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar gula darah tikus.

Pada hari ke-14 (T2) setelah diberi sediaan uji, kadar glukosa darah semua kelompok mengalami penurunan. Dilihat dari hasil analisa statistik uji *post hoc test* kelompok dengan dosis ekstrak buah duwet dosis 400 mg/kg BB menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) dengan kelompok pembanding yang diberikan glibenklamid 0,09 mg/Kg sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah duwet dengan dosis 400 mg/kg BB mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah secara nyata serta memiliki efektivitas sebagai antidiabetes yang sebanding dengan kelompok kontrol pembanding (glibenklamid) dibandingkan dengan dosis ekstrak etanol buah duwet dosis 200 mg/kg dan dosis 100 mg/kg.

Berdasarkan kurva hubungan kadar glukosa darah pada berbagai dosis pembebanan terhadap waktu (Gambar 7) dapat dihitung AUC antar setiap kelompok kontrol (Tabel 9). Parameter nilai AUC menggambarkan jumlah total glukosa yang mencapai sirkulasi sistemik, sehingga nilai AUC terbesar menunjukkan bahwa glukosa lebih banyak masuk ke sirkulasi sistemik.

Tabel 9. Persentase rata- rata AUC

Kelompok	AUC
	Rata-rata \pm SD
Normal	1308,77 \pm 29,21 ^{bc}
Kontrol diabetes	4271,37 \pm 177,68 ^{ac}
Pembanding	3203,18 \pm 76,97 ^{ab}
Duwet 100 mg/Kg	3767,35 \pm 108,69 ^{abc}
Duwet 200 mg/Kg	3563,44 \pm 68,99 ^{abc}
Duwet 400mg/Kg	3283, 58 \pm 51,40 ^{ab}

Keterangan :

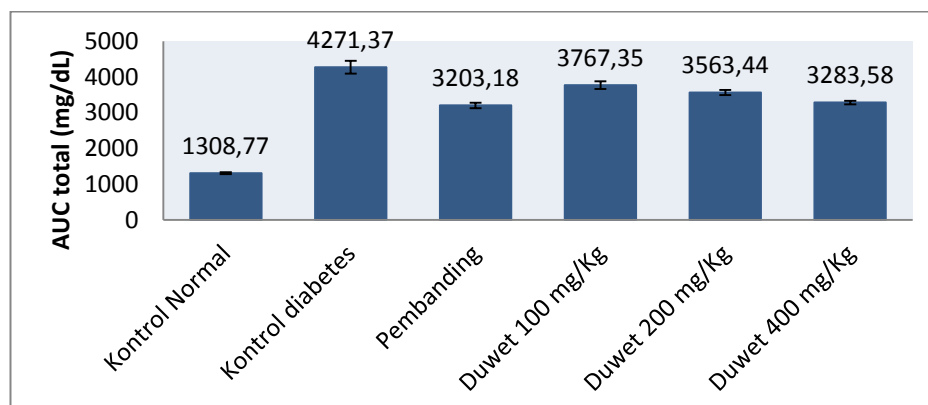
Kontrol diabetes : Kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5%)

Pembanding : Kelompok kontrol pembanding (Glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus)

a : berbeda bermakna terhadap kelompok normal

b : berbeda bermakna terhadap kontrol diabetes

c : berbeda bermakna terhadap kelompok kontrol pembanding



Gambar 8. Grafik rata-rata AUC

Pada kontrol normal diabetes yang hanya diberikan CMC Na 0,5% memiliki nilai AUC paling besar dan setelah diberi sediaan uji, kadar glukosa darah yang masuk ke dalam sirkulasi sistemik mengalami penurunan. Dilihat dari hasil analisa statistik uji *post hoc test* kelompok dengan dosis ekstrak buah duwet dosis 400 mg/Kg BB menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) dengan kelompok pembanding yang diberikan glibenklamid 0,09 mg/Kg sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah duwet dengan dosis 400 mg/Kg BB mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah dalam sirkulasi sistemik secara nyata sebanding dengan kelompok kontrol pembanding (glibenklamid) dibandingkan dengan dosis ekstrak etanol buah duwet dosis 200mg/Kg dan dosis 100 mg/Kg.

Tabel 10. Persentase penurunan kadar glukosa darah T_1 ke T_2

Kelompok	$\Delta T_1 = T_1 - T_2$	Persentase Penurunan (%)
Normal	$-0,78 \pm 0,13$	$-1,08 \pm 0,18^c$
Kontrol diabetes	$-1,18 \pm 0,89$	$-0,51 \pm 0,38^c$
Pembanding	$123,92 \pm 7,47$	$51,63 \pm 1,99^{ab}$
Duwet 100 mg/Kg	$77,61 \pm 7,60$	$31,23 \pm 2,08^{abc}$
Duwet 200 mg/Kg	$91,99 \pm 12,94$	$37,58 \pm 3,75^{abc}$
Duwet 400mg/Kg	$119,19 \pm 4,35$	$49,24 \pm 1,33^{ab}$

Keterangan :

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

Pembanding : Kelompok kontrol pembanding (Glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus)

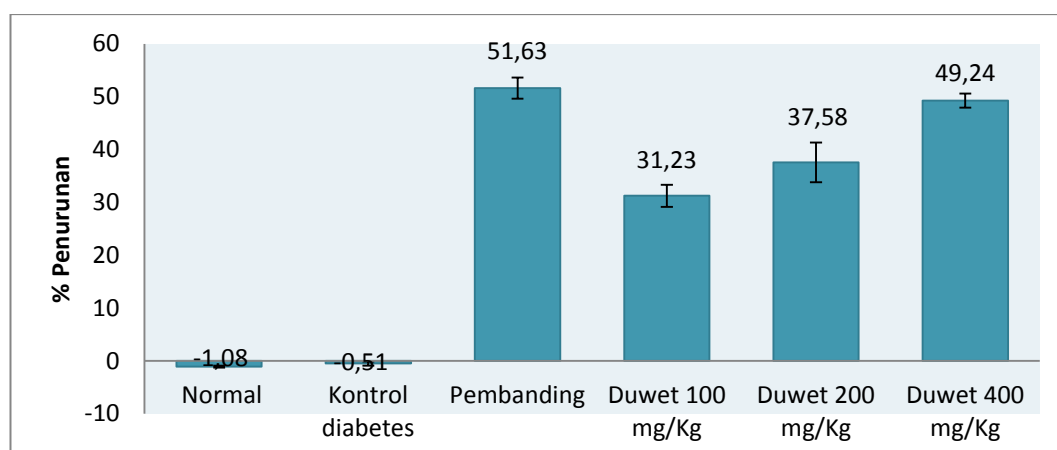
a : berbeda bermakna terhadap kelompok normal

b : berbeda bermakna terhadap kontrol diabetes

c : berbeda bermakna terhadap kelompok pembanding

Pada tabel 10 persen penurunan kadar glukosa darah pada hari ke-14. Pemberian ekstrak etanol buah duwet dan kontrol positif (glibenklamid) terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah. Ekstrak etanol buah duwet dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB berturut-turut mampu menurunkan kadar glukosa darah sebesar 31,23%, 37,58%, dan 49,24%. Glibenklamid mampu menurunkan glukosa darah sebesar 51,63%.

Berdasarkan analisa statistik uji ANOVA menunjukkan bahwa terdapat beda antar kelompok kecuali pada kelompok kontrol pembanding glibenklamid dengan kelompok dosis ekstrak etanol buah duwet 400 mg/kg BB dengan kontrol positif dengan nilai sig = 0,440 ($p > 0,05$). Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah duwet dengan dosis 400 mg/kg BB memiliki aktivitas setara dengan glibenklamid.



Gambar 9. Persentase penurunan kadar gula darah tikus T₁ ke T₂

Keterangan :

- 1 = Kontrol Normal
- 2 = Kontrol Negatif
- 3 = Kontrol pembanding (Glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus)
- 4 = Dosis ekstrak buah duwet (100 mg/kg BB)
- 5 = Dosis ekstrak buah duwet (200 mg/kg BB)
- 6 = Dosis ekstrak buah duwet (400 mg/kg BB)

Penurunan kadar glukosa darah pada gambar 8 dosis ekstrak etanol buah duwet dengan dosis 400 mg/Kg BB menunjukkan persen penurunan kadar glukosa yang lebih tinggi dibanding dengan ekstrak etanol buah duwet dosis 100 mg/kg BB dan dosis 200 mg/Kg BB. Dosis ekstrak etanol buah duwet 400 mg/kg BB juga memberikan hasil persen penurunan yang hampir sama serta memiliki

efektivitas sebagai antidiabetes yang sebanding dengan kelompok kontrol pembanding (glibenklamid)

Berdasarkan data yang diperoleh dari penelitian ini dapat diketahui bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol buah duwet yang diberikan maka semakin besar pula efek penurunan kadar gula darah yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena semakin banyaknya jumlah zat aktif yang berkontribusi dalam menurunkan kadar gula darah tikus.

Penelitian yang dilakukan oleh Zhang & Lin (2009) menunjukkan bahwa ekstrak aseton buah Duwet memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC50 sebesar 165 ppm, senyawa yang diduga aktif adalah senyawa tannin dan flavonoid. Menurut Lestario *et al* (2005) buah duwet juga memiliki kadar antosianin sebesar 14,8 mg/g dan aktivitas antioksidan sebesar 94,3%. Antioksidan alami mampu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas salah satunya dengan cara mencegah terjadinya oksidasi pada sel β pankreas sehingga kerusakan yang terjadi dapat diminimalkan. Penurunan kadar glukosa darah dengan pemberian ekstrak etanol buah duwet dapat disebabkan oleh adanya senyawa bioaktif yang terkandung dalam buah duwet yang dapat mencegah terjadinya oksidasi pada sel β pankreas sehingga kerusakan dapat diminimalkan. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam buah duwet diantaranya adalah flavonoid, tanin, saponin dan alkaloid.

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

Mekanisme kerja lain dari flavonoid sebagai antioksidan adalah dengan cara menghambat proses fosfodiesterase sehingga meningkatkan cAMP pada sel β pankreas. Peningkatan cAMP akan menstimulasi pengeluaran protein kinase A (PKA) yang merangsang sekresi insulin semakin meningkat (Harapan 2010). Sedangkan, aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh senyawa fenolik membantu mencegah komplikasi klinis diabetes mellitus sebab stres oksidatif dan gangguan pertahanan antioksidan yang merupakan keistimewaan penyakit diabetes mellitus yang terjadi sejak awal penyakit. Hasil dari identifikasi buah duwet menunjukkan adanya flavonoid yang ditandai dengan merah jingga pada lapisan amil alkohol.

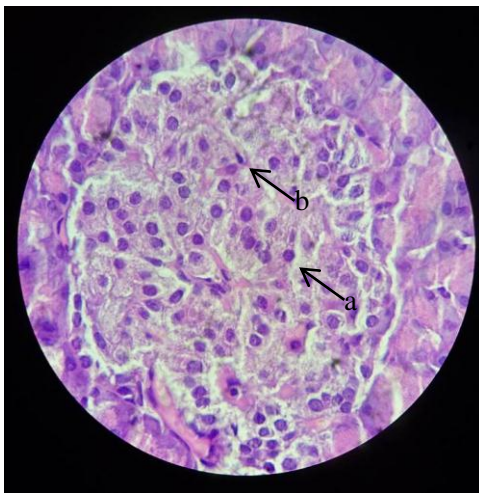
Tanin diketahui dapat memacu metabolisme glukosa dan lemak sehingga timbunan kedua sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari. Tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis. Selain itu, tanin juga berfungsi sebagai pengkhelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan sebagai akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Velayutham *et al* 2012).

Saponin menurunkan kadar gula darah dengan menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase, yaitu enzim dalam pencernaan yang bertanggung jawab terhadap pengubahan karbohidrat menjadi glukosa (Makalalag *et al.* 2013).

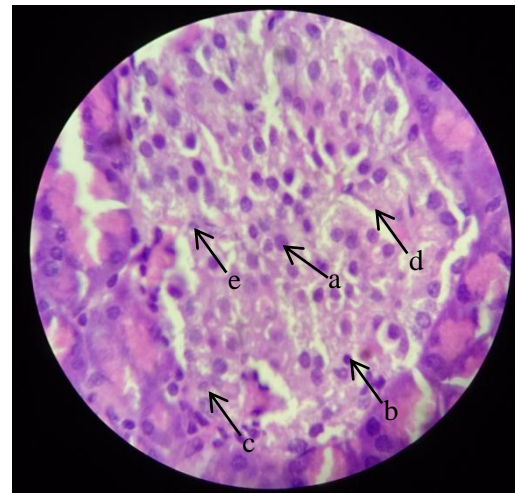
Alkaloid merupakan senyawa yang juga terdapat pada buah duwet. Alkaloid terbukti mempunyai kemampuan regenerasi berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suryono dan Yudha C (2012), dimana ekstrak alkaloid terbukti secara nyata mempunyai kemampuan regenerasi sel β pankreas yang rusak. Alkaloid menurunkan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

I. Hasil Pemeriksaan Histopatologi Pankreas

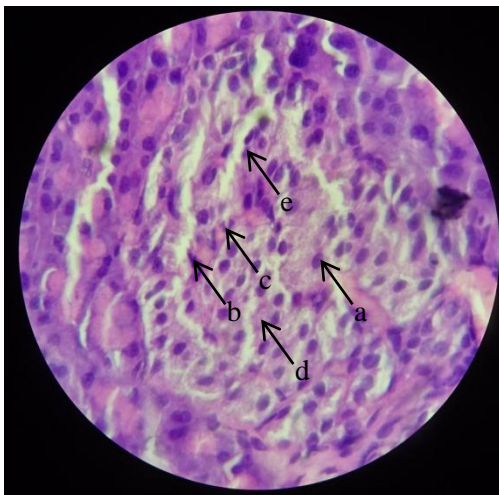
Metode pemeriksaan yang digunakan untuk melihat kondisi histopatologi pankreas hewan uji adalah metode pewarnaan Hematoxilyn Eosin (HE). Metode ini menggunakan pewarnaan ganda (*double staining*), sehingga hematoxilyn akan memulas inti dan struktur asam lainnya dari sel menjadi biru, sedangkan eosin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



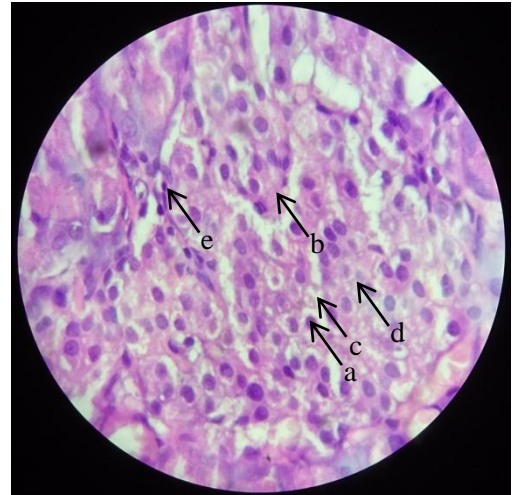
1



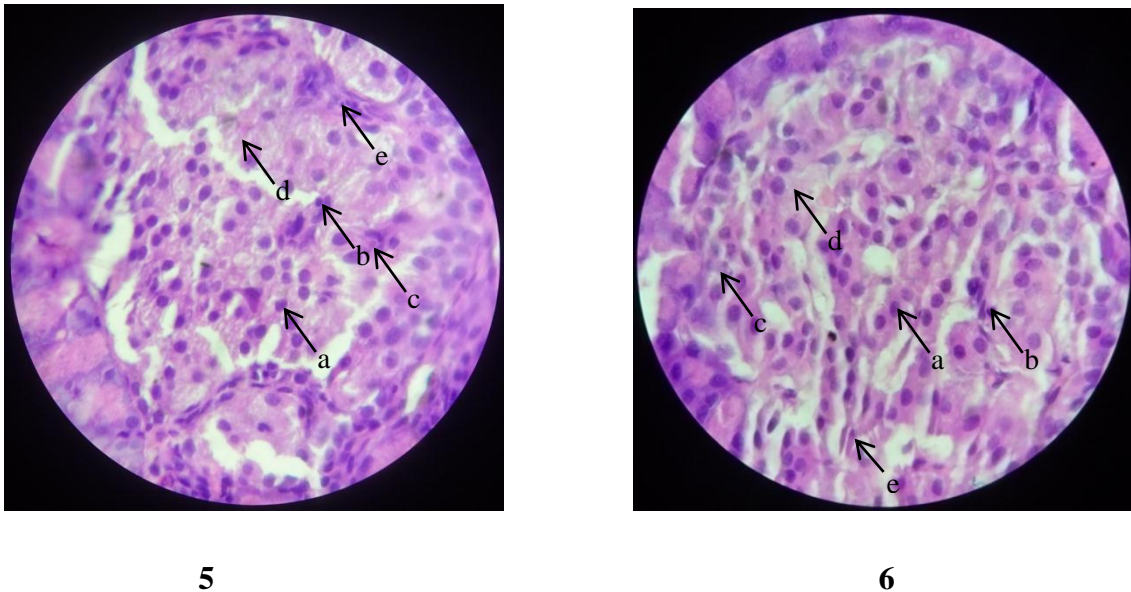
2



3



4



Gambar 10. Pulau Langerhans potongan pankreas dengan pewarnaan HE perbesaran 100x

Keterangan:

(1) Kontrol normal. (2) Kontrol negatif. (3) Kontrol positif. (4) Kelompok ekstrak etanol buah duwet 100 mg/kg BB (5) Kelompok ekstrak etanol buah duwet 200 mg/kg BB (6) Kelompok ekstrak etanol buah duwet 400 mg/kg BB

(a) Sel normal (b) sel yang mengalami piknosis (c) sel yang mengalami karioreksis (d) sel yang mengalami kariolisis (e) sel yang mengalami atrofi

Pewarnaan dengan HE dilakukan untuk mengamati bentuk morfologi dan struktur jaringan pankreas. Hasil pengamatan histopatologi pankreas dapat dilihat pada lampiran 26. Pada kelompok normal menunjukkan gambaran kondisi normal atau sehat dari pulau Langerhans yang terlihat dari adanya keteraturan susunan sel endokrin yang menyebar di pulau Langerhans dengan bentuk sel yang seragam.

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

Langerhans pada kelompok kontrol negatif menjadi lebih sedikit jumlahnya dan menyebabkan kekosongan dalam pulau Langerhans.

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

Untuk mengetahui dosis yang paling baik antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, maka pada penelitian ini dilakukan pengamatan terhadap jumlah pulau dan persentase nekrosis sel-sel endokrin pulau Langerhans pankreas tikus. Jumlah pulau Langerhans diamati pada lapangan pandang untuk mengetahui kerusakan yang terjadi akibat pemberian zat diabetogenik. Kelompok normal yang tidak diberikan perlakuan menunjukan jumlah pulau yang relatif lebih banyak dibandingkan dengan kontrol negatif. rusaknya sel-sel endokrin pulau Langerhans pankreas disebabkan oleh induksi agen diabetogenik sehingga sekresi insulin ke dalam pembuluh darah menurun (Suarsana *et al* 2011). Kerusakan sel endokrin ini menyebabkan penyusutan pulau Langerhans menjadi lebih kecil bahkan ada yang hancur dan menghilang.

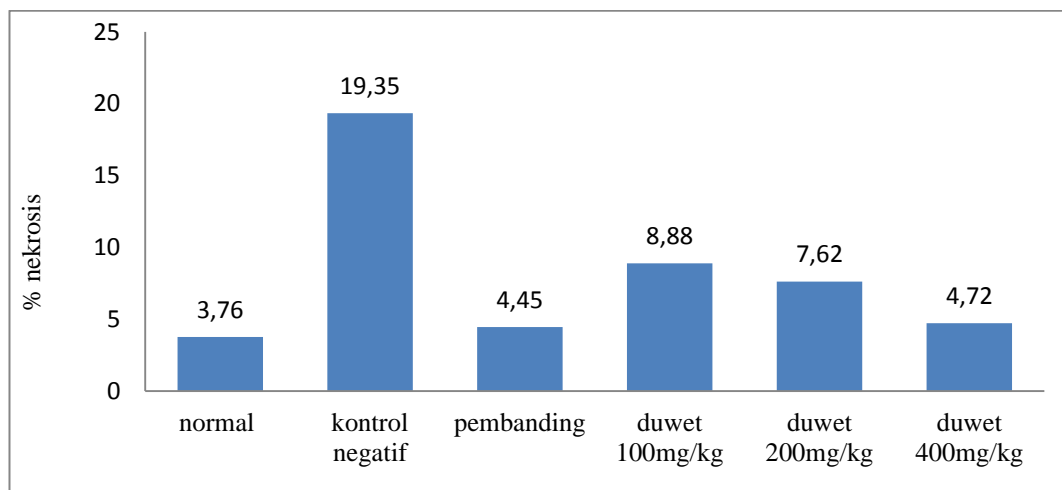
Pada penelitian ini juga dilakukan perhitungan persentase nekrosis sel endokrin pankreas. Hasil perhitungan rata-rata persentase nekrosis sel endokrin pankreas dapat dilihat pada tabel 11 dan lampiran 22.

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

Kelompok perlakuan	Rata-rata persentase nekrosis (Mean \pm SD)
I	3,76 \pm 0,60 ^b
II	19,53 \pm 2,55 ^{ac}
III	4,45 \pm 1,16 ^{ab}
IV	8,88 \pm 2,26 ^{abc}
V	7,62 \pm 3,16 ^{abc}
VI	4,72 \pm 0,81 ^{ab}

Keterangan :

- I : Kelompok normal
- II : Kelompok kontrol negatif
- III : Kelompok kontrol pembanding
- IV : Kelompok ekstrak etanol buah duwet dosis 100 mg/kg BB
- V : Kelompok ekstrak etanol buah duwet dosis 200 mg/kg BB
- VI : Kelompok ekstrak etanol buah duwet 400 mg/kg BB
- a : berbeda bermakna terhadap kelompok normal
- b : berbeda bermakna terhadap kontrol diabetes
- c : berbeda bermakna terhadap kelompok pembanding



Gambar 11. Persentase nekrosis sel endokrin pulau langerhans

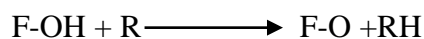
Data hasil perhitungan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans tersebut kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji normalitas dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Dari data uji *Shapiro-Wilk* diperoleh nilai signifikansi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

menggunakan Post Hoc sehingga diketahui adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan.

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

Berdasarkan tabel 11, kelompok uji yang memberikan rata-rata persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans dari terkecil sampai terbesar berturut-turut adalah sebagai berikut: kelompok kontrol normal, kelompok kontrol pembanding, kelompok ekstrak etanol buah duwet dosis 400mg/kg, , kelompok ekstrak etanol buah duwet 200 mg/kg BB, kelompok ekstrak etanol buah duwet dosis 100 mg/kg BB dan kelompok kontrol negatif.

Hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah duwet memiliki kemampuan untuk menurunkan rata-rata persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans hampir sama dengan kontrol positif. Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa yang ditunjukkan pada hasil identifikasi kualitatif pada tabel 6 yakni flavonoid. Flavonoid disebut sebagai senyawa yang memiliki aktivitas antihiperqlikemi karena dapat bertindak sebagai antioksidan dan inhibitor aldosa reduktase. Sebagai antioksidan, flavonoid menghambat pembentukan radikal bebas yang dapat merusak sel β pankreas dengan mendonorkan atom hidrogen dari gugus fenoliknya untuk berikatan dengan substituen radikal bebas sehingga membentuk radikal flavonoid (Sandhar *et al* 2011). Mekanisme reaksinya sebagai berikut:



Sebagai inhibitor enzim, flavonoid menghambat kerja enzim aldosa reduktase, yaitu enzim yang mengkatalisis perubahan glukosa menjadi sorbitol. Jika kadar sorbitol meningkat maka terjadi penurunan kadar ATP dalam mitokondria yang mengakibatkan peningkatan nekrosis sel β pankreas. Dengan adanya flavonoid yang terkandung dalam tanaman, maka flavonoid tersebut akan menghambat kerja enzim aldosa reduktase dan meningkatkan regenerasi sel-sel dalam pulau Langerhans pankreas serta memicu pelepasan insulin. Kemampuan

flavonoid dalam menghambat kerusakan dan meningkatkan regenerasi sel inilah yang menyebabkan rendahnya persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada kelompok ekstrak etanol buah duwet. Persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans yang semakin mengecil mengindikasikan adanya peningkatan produksi insulin pada sel-sel endokrin pankreas sehingga dapat menurunkan kadar gula darah (Sandhar *et al* 2011).

Hasil yang didapatkan juga menunjukkan bahwa dosis ekstrak etanol buah duwet yang paling efektif dalam menurunkan persentase nekrosis yaitu dosis 400 mg/kg BB. Hal ini sesuai dengan uji penurunan kadar gula darah yang dilakukan di mana pemberian ekstrak etanol buah duwet dengan tiga variasi dosis terbukti mampu menurunkan kadar gula darah tikus dan dosis efektif ekstrak etanol buah duwet yang memberikan efek antihiperglikemi adalah dosis 400 mg/kg BB, dengan persentase penurunan kadar gula darah kelompok uji ekstrak etanol buah duwet pada dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB secara berturut-turut sebesar 31,23%, 37,58%, dan 49,24%. Glibenklamid mampu menurunkan glukosa darah sebesar 51,63%.

Pada kelompok kontrol positif atau pembanding yang diberikan glibenklamid juga menunjukkan penurunan persentase nekrosis pada sel endokrin pulau Langerhans dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Glibenklamid digunakan sebagai kontrol positif karena obat ini telah terbukti dan sudah digunakan oleh masyarakat luas dalam pengobatan penyakit diabetes dan diberikan secara peroral sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin pada setiap pemasukan glukosa.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, pemberian ekstrak etanol buah duwet dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes pada dosis 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB, 400 mg/Kg BB dengan dosis paling efektif adalah 400 mg/Kg BB.

kedua, pemberian ekstrak etanol buah duwet dapat meningkatkan jumlah pulau langerhans dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan.

Ketiga, dosis ekstrak etanol buah duwet yang efektif dalam meningkatkan jumlah pulau langerhans dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan adalah dosis 400 mg/kg bb.

B. Saran

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

Pertama, perlu dilakukan penelitian menggunakan fraksi dari buah duwet.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan metode pewarnaan dan parameter yang berbeda terkait efek antidiabetes ekstrak etanol buah duwet terhadap histopatologi pankreas.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melihat senyawa apa saja yang terkandung dalam buah duwet yang mampu menghambat kerusakan pada pulau Langerhans pankreas.

DAFTAR PUSTAKA

- [ADA] American Diabetes Association. 2010. *Standards of Medical Care in Diabetes 2010*.
- Ahmad, A., dan Patong R. 2006. *Aktivitas antikanker senyawa bahan alam kurkumin dan analognya pada tingkat molekuler*. Makasar : biochemistry and Biotechnology Laboratory, Departmen of Chemistry Hasanuddin University.
- Ajie, Risky Bayu. 2015. White dragon fruit (*Hylocercus undatus*) potentialas diabetes melitus treatment. *J MAJORITY | Volume 4 Nomor 1*.
- American Diabetes Association. 2012. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. Diabetes Care, Volume 35, Suplemen 1, January 2012
- American Diabetes Association. (2015, Januari). Diabetes Care. (W. T. Cefalu, Ed.) *Standart of Medical Care in Diabetes 2015*, s17-s31.
- Aklima S, Charunawan K, Thaniawattananon P. 2013. Dietary behavior among patient with type 2 diabetes mellitus in Indonesia. *Nurse Medical Journal Noursing*. 3(1): 499-509.
- Althan, V.M. 2003. The pharmacology of diabetic complications. *Current Medicinal Chemistry* 10:1317-1327.
- Andayani Y. 2003. *mekanisme aktivitas antihiperglikemik ekstrak buncis (Phaseolus vulgaris Linn) pada tikus diabetes dan identifikasi komponen bioaktif* [Disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Anin YM. 2014. uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol klika faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br) dengan metode DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) [Skripsi]. Makasar: Fakultas Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makasar.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Ed ke-4. Farida Ibrahim, penerjemah. Jakarta: UI Press.
- Arifin, H., Anggraini, N., Handayani, D., dan Rasyid, R., 2006, Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Eugina cumini Merr, Jurnal Sains Teknologi Farmasi, 11 (2), 88
- Ayyanar M, Subash-Babu P, 2012. Syzygium cumini (L). Skeels : A review of phytochemical constituents and traditional uses. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2 (3): 240-246

- Bhowmik D et al. 2013. Traditional and medicinal uses of indian black berry. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 15:35-40
- Blodinger, Jack. 1994. *Formulasi Bentuk Sediaan Veteriner*. Surabaya: Airlangga University Press.
- [BPOM RI] Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2008. *Informatorium Obat Nasional Indonesia*. Jakarta: Sagung Seto
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2008. IONI : *Informatorium Obat Nasional Indonesia*. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Brahmachari G. (2011). Bio-flavonoids with promising antidiabetic potentials: A critical survey. *Research Signpost*. 187-212
- Bhusnan MS *et al.* 2010. An analytical review of plant for anti diabetic activity with their phytoconstituen & mechanism on action. *LIPJR* 1:1
- Cefalu, William T., MD. 2015. Norbert Freinkel, *Diabetes Care*, Volume 38, Supplement 1
- Ciulei, J. 1984. *Methodology for Analysis of vegetables and drugs*. Bucharest : Faculty of Pharmacy. Pp.11-26.
- Chrissman JW. 2004. Best practices guideline: Toxicologic histopathology. *Society of Toxicologic Pathology Guideline*. 32(1) : 126-131
- Corwing E. T. (2008). *Handbook of pathophysiology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins
- Dalimartha S. 2005. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Diabetes Melitus*. Jakarta: Penebar Swadatnya.
- Dalimartha S. 2008. *1001 Resep Herbal*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- [Depkes RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jilid III. Jakarta. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1-15.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Depkes RI
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1979. *Materia Medika Jilid III*. Jakarta: Depkes RI.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1993. *Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitokimia: Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Depkes RI

- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia Jilid VI*. Jakarta: Depkes RI.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2005. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Mellitus*. Jakarta: Direktorat Bina Farmasi Komunitas dan Klinik, Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2010. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta : Depkes RI.
- Dewanti T, Wijayanti N, Handayani D, Rachmawati N, 2015. *Efek Hipoglikemik Ekstrak Cincau Hitam (Mesona Palustaris BL) pada Tikus Wistar Diabetes yang di induksi Aloksan*. Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Brawijaya: Malang.
- Dubowsky KM. 2008. An *O*-toluidine Method for Body-Fluid Glucose Determination. Clin Chem. 54 (11), 1919-1920.
- Finaund JL. 2006. Oxidative stress, relationship with exercise and training. *Journal Sports Med* 36 (4), 327-358.
- Frandsen, R. D. 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Yogyakarta: UGM Press. Pp 864:867.
- Guariguata, L.; Whiting, D.; Hambleton, I.; Beagley, J.; Linnenkamp, U.; Shaw, J. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **2014**, 103(2), 137-149.
- Gunawan dan Sulistia. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi V. Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Gunawan D, Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid ke-1. Yogyakarta: Penebar Swadaya.
- Handa, S.S., 2008, *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, 22, UNIDO, Italy.
- Harapan, Jamil KF, Hayati Z, Muhammad I. Peran puasa dalam remodelling sel enteroendokrin untuk mencegah diabetes melitus tipe 2. *JIMKI*, 2010;1 (1): 36-40
- Harbone, JB. 1987. *Metode Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Edisi 4. Bandung : ITB.
- Hardjasaputra P, Budipranoto G, Sembiring SU, Kamil I. 2002. *Daftar Obat Indonesia* Edisi 10. Gravidin medipress.

- IPB., 2012. *Tanaman Duwet dan Kegunaannya*. Diakses http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/54378/I12des_BA_B%20II%20Tinjauan%20Pustaka.pdf?sequence=6 (25 September, 2017)
- Ismi IF, Zubaidah E. 2013. Studi komplikasi pemberian cuka salak dan cuka anggur terhadap penurunan glukosa darah dan histopatologi sel pankreas pada tikus wistar jantan diabetes melitus yang diinduksi Streptozotocin. *Medika Eksakta* 1-19
- Jusuf AA. 2009. *Histoteknik Dasar*. Depok: Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia.
- Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. 2005. Oxydative stress and the use of antioxidant in diabetes. *Linking Basic Science to Clinical practice*.
- Junquiera LC. 2007. *Persiapan jaringan untuk pemeriksaan mikroskopik*. Histology Dasar: teks dan atlas. Edisi 10. Jakarta
- Katzung BG. 2010. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 10. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran. Hal 705-707
- Katzung, BG, Masters SB, Trevor AJ. 2012. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi 12. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- [Kemenkes] Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 2009. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama*. Menteri Kesehatan Republik Indonesia. 261/Menkes/SK/IV/2009.
- Kim *et al.* 2006. Hypoglycemic and antihyperlipidemic effect of four korean medicinal plants in alloxan induced diabetic rats. *Am. J. Biochem. Biotech.* 2:154-160.
- 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 7th ed.*
- Kumar V, Ahmed D, Anwar F, Ali M, Mujeeb M. 2013. Enhanced glycemic control, pancreas protective, antioxidant and hepatoprotective effects by umbelliferon α -D-glucopyranosyl-(2) glucopyranoside in streptozotocin induced diabetic rats. *Spinger Plus*, 2:639.
- Lestari A, Mulyono A. 2011. *Analisis Citra Ginjal untuk Identifikasi Sel Piknosis dan Sel Nekrosis*. Jurnal Neutrino Vol. 4, No.1
- Lestario LN, Suparmo, Raharjo S, Tranggono. 2005. Perubahan aktivitas antioksidan, kadar antosianin dan polifenol pada beberapa tingkat pemasakan buah duwet (*Syzygium cumini*). *Agritech* 25 (4):169-172

- Lerebulan EF. 2014. aktivitas kombinasi ekstrak etanolik batang brotowali (*Tinespora crista* (L) Miers) dan fraksi ekstrak etanolik daun kepel (*Stelechocarpus burahol* (BI) Hook. F. & Th) terhadap nekrosis dan jumlah sel β pankreas tikus yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.
- Linghuat L. R. 2008. Uji Efek Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni*) Jags Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih [skripsi]. Medan: Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.
- Makalalag *et al.* 2013. Uji ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* Steen.) terhadap kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistas (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi sukrosa. *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT* Vol.2 No.01.
- Mansjoer *et al.* 2001. *Kapita Selekta Kedokteran Jilid I*. Edisi Ke-3. Jakarta: Media Aesculapicus Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Markham, K.R. 1988. *Techniques of Flavonoid Identification*. London: Academic Pr.
- McEvoy, K., 2002. AHFS Drug Information. Wisconsin : American Society of Health-System Pharmacists.
- Menkes RI. 2014. Pusat Data dan Informasi tentang Diabetes Melitus. Jakarta: Kementrian Kesehatan RI.
- Merck. 1987. Buku Pedoman Kerja Kimia Klinik. Jakarta : Merck. Hlm 62-78
- Modi D.C., Patel J.K., Shah B.N., Nayak B.S., 2010. Pharmacognostic Studies of The Seed of *Syzygium Cumini* Linn. *Pharma Science Monitor an International Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1: 20-26.
- Muntiha M. 2001. Teknik pembuatan preparat histopatologi dari jaringan hewan dengan pewarnaan hematoksilin dan eosin (H&E). *Temu Tekhnis Fungsional Non Peneliti*.
- Muruganandan S *et al.* 2001. Anti-inflammatory activity of *Syzygium cumini* bark. *Fitoterapia* 72:369-375.
- Nugroho, A. E. 2006. *Animals Models Of Diabetes mellitus: Pathology and Mechanism of Some Diabetogenics*. Laboratorium Farmakologi Dan Toksikologi, Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Nurdiana NP, Setyawati, Ali M. 1998. Efek streptozotocin sebagai bahan diabetogenik pada tikus wistar dengan cara pemberian intraperitoneal dan intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw*


- Panjuatiningrum F. 2009. pengaruh pemberian buah naga merah (*Hylocerres polyhizus*) terhadap kadar glukosa darah tikus putih yang diinduksi aloksan [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.
- Pasaribu, Ronald., Hutahaeen, Salomo., Ilyas, S. 2015. Uji antihiperglikemia 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 dan Pencegahan Diabetes Melitus di Indonesia 2011*. Perkumpulan Endokrinologi Indonesia. Jakarta
- Power SK, Jackson MJ. 2008. Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanism and impact on muscle force production. *Phsiol Rev*1243-1276.
- Pratiwi, S.A., 2009, Pengaruh Pemberian Jus Buah Tomat (*Lycopersion esculentum* Mill.) terhadap Perubahan Warna Gigi pada Proses Pemutihan Gigi Secara In Vitro, *Laporan Penelitian*, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Price SA, Wilson L Mc C. 1992. *Patologis Konsep Klinik Proses-proses Penyakit*. Ed-6. Dharma A, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Putra AL, Wowor PM, Wungouw HIS. 2015. Gambaran kadar gula darah sewaktu pada mahasiswa angkatan 2015 Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi Manado. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, Volume 3, Nomor 3, September-Desember.
- Raharjo TJ. 2013. *Kimia Hasil Alam*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar
- Rahayu L, Damayanti R, Thamrin. 2006. Gambaran histopatologi pankreas tikus hiperglikemia setelah mengkonsumsi k-Karagenan dan i-Karagenan. *Ilmu Kefarmasian Indonesia* 4: 96-101
- Ramya, S., Neethi rajan, K., and Jaya kumaraj, R. (2012). Profile of bioactive compounds in *Syzygium cumini*-a review. *J. Pharm. Res.* 5, 4548-4553.
- Ranta F, Wasrin S, Pribadi ES, Nawawi DS. 2012. Aktivitas anticendawan zat ekstraktif faloak (*Sterculia comosa* Wallich). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kayu Tropis* Vol. 10.
- Redha, Abdi. 2010. Flavonoid : Struktur, sifat antioksidatif dan peranannya dalam sistem biologis. *Jurnal Belian* 9(2).
- Ressang AA. 1984. *Patologi Khusus Veteriner*. Edisi ke-2. Denpasar: Percetakan Bali.

- Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Tanaka Y and Takahashi H. 2003. Glucose toxicity in beta-cells: type 2 diabetes, good radicals gone bad, and the glutathione connection. *Diabetes* 52 (3): 581-587.
- 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.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Padmawinata K, penerjemah; Bandung: ITB Bandung. Terjemahan dari : *The Organic Constituent of Higher Plant*. Hlm 157.
- Russell-Smith J, Djoeroemana S, Maan J, Pandanga P. 2007. Rural livelihoods and burning practices in savanna landscapes of Nusa Tenggara Timur, Eastern Indonesia. *Hum Ecol.* 35: 345–359.
- Sandhar *et al.* 2011. A Review of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids, *International Pharmaceutica Scientia*, Vol 1.
- Sarker, Satyajit D., Zahid L., Alexander I., Gray. 2006. *Natural Product Isolation Second Edition*. Human Press, New Jersey.
- Seungbum, K., S. Jun-Seop, K. Hyun-Jung, K.C. Fisher, L. Mi-Ji And K.Chan-Wha. 2007. Streptozotocin-induced diabetes can be reversed by hepatic oval cell activation through hepatic transdifferentiation and pancreatic islet regeneration. *Lab. Investigation* 87: 702-712.
- Sharma S *et al.* 2012. A review of pharmacological activity of *Syzygium cumini* extracts using different solvent and their effective doses. *IRJP* 2012. ISSN 2230-8407.
- Sharp PE, LaRegina MC, Suckw Ma. 1998. *The Laboratory Rat*. USA: CRC Press.
- Siswadi S, S.G, Rianawati H. 2013. Potential distribution and utilization of falok (*Sterculia quadrifida* R.Br 1844), *Proceeding International Confrence of Forest and Biodiversity Manado*
- Smith JB, Mankoewidjojo. 1998. *Pemeliharaan, Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*. Jakarta: UI-Press. Hlm 10-36
- Soegondo. 2004. *Diabetes Melitus, Penatalaksanaan Terpadu*. Jakarta : Penerbitan FKUI
- Soegondo S. 2013. *Penatalaksanaan Diabetes Mellitus 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
- Suarsana IN, Utam IH, Agung IG, Suartini A. 2011. Pengaruh hiperglikemia dan vitamin E pada kadar Malondialdehida dan Enzim Antioksidan. *MKB* 43(2): 102-113
- Sustrani, L., Alam, S., Hadibroto, I. 2010. Diabetes : Informasi lengkap untuk penderita dan keluarganya. Jakarta : Gramedia Pustaka.
- Studiawan H, Santosa MH. 2005. Uji aktivitas penurunan kadar glukosa darah ekstrak daun *Eugenia polyantha* pada mencit yang diinduksi aloksan. *Media Kedokteran Hewan* 21: 62-65.
- Sugiyanto. 1995. *Penuntutan Praktikum Farmakologi Edisi IV*. Yogyakarta : Universitas Gajah Mada.
- Suherman S.K., 2007. Insulin dan Antidiabetik Oral. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi V:481-495.
- Sukandar EY, et al. 2008. *ISO Farmakoterapi Buku 1*. Jakarta: PT. ISFI Penerbitan. hlm 26.
- Suryono & Yudha C, Sevin. 2012. Efektifitas daun sirih merah untuk menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes melitus. *Jurnal AKP no.6*
- Suyono S., 2009. Diabetes Melitus di Indonesia. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi V: 1873-1879.
- Szkudelski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotosin action in β cells of rat pancreas. *J Physiol Res* 50:537-546
- Teixeira CC. 1997. The effect of *Syzygium cumini* (L.) Skeels on post-prandial blood glucose levels in non-diabetic rats and rats with streptozocin induced diabetes mellitus. *Journal of Ethnopharmacology* 56:209-213.
- Tjay TH and Rahardja K. 2002. *Obat-Obat Penting, Penggunaan, dan Efek-efek Sampingnya*. Edisi ke-6. Jakarta : Elex Media Komputindo, pp : 568-582.
- Tan H, Rahardja K. 2006. *Obat-Obat Penting*. Ed ke-6. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo.
- Uray AD. 2009. profil sel β pulau Langerhans jaringan pankreas tikus diabetes mellitus yang diberi *Virgin Coconut Oil* (VGO) [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian.

- Veigas JM, Narayan MS, Laxman PMrne B. 2007. Chemical nature, stability and bioefficacies of anthocyanins from fruit peel of *syzygium cumini* Skeels. *Food Chemistry* 105:619-627.
- Velayutham R, Sankaradoss N, Nazeer A. 2012. Protectic effect of tannins from ficus racemosa in hyperchlesteromia and diabetes induced vascular tissue damage in rats. *Asian Pasific Journal of Tropical Medicin* 367-373.
- Verheij, E.M.W. dan R.E. Coronel, 1997. Sumber Daya Nabati Asia Tenggara, Buah-buahan yang Dapat Dimakan. Terjemahan S. Somaatmadja. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi ke-5. Soendani Noerono, penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Warrier PK, Nambiar VPK, Ramankutty C. 1996. Indian Medicinal Plants, vol 5. Orient Longman Ltd., Hyderabad, India.
- Waspandji S. Komplikasi kronik diabetes : mekanisme terjadinya, diagnosis, dan strategi pengelolaan. Dalam : Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiadi S. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Edisi IV. Jilid III. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006 : 1906 – 10.
- Wijayakusuma H. 2004. *Bebas Diabetes Mellitus ala Hembing*. Jakarta: Puspa Swara
- World Health Organization, 2006, Definition and diagnosis of diabetes melitus and intermediete hiperglycaemia, Report of WHO/IDF Consultation 2006
- Yuriska A. 2009. Efek aloksan terhadap kadar glukosa darah tikus wistar [Skripsi]. Semarang : Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Zubaidah E dan 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.
- Zhang LL, Lin YM. 2009. Antioxidant tannins from *Syzygium cumini* fruit. *Afr J Biotechnol* 8: 2301-2309.

Lampiran 1. Surat determinasi tanaman



LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
 Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan Kartasura Surakarta 57102.Telp. (0271) 717417 ext 171

SURAT KETERANGAN
 No: 680/A.E-I/LAB.BIO/IX/2017

Yang bertanda tangan di bawah ini atas nama Laboratorium Biologi Universitas Muhammadiyah Surakarta menerangkan bahwa:

Nama : Tika Indrasari
 NIM : 20144144A
 Program Studi : S1 Farmasi
 Fakultas : Farmasi
 Perguruan Tinggi : Universitas Setia Budi
 Keperluan : Skripsi

Menyatakan bahwa mahasiswa tersebut telah mendeterminasikan Tanaman **Duwet atau Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.)** dengan sinonim:


1. *Eugenia cumini* (L.) Druse.
2. *Eugenia jambolana* Lmk.


Pendeterminasian dilakukan pada:

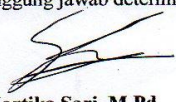
Hari : Kamis
 Tanggal : 07 September 2017
 Tempat : Laboratorium Biologi

Demikian surat keterangan ini kami buat, harap dipergunakan dengan semestinya.

Surakarta, 07 September 2017



Kepala Laboratorium Biologi,

Rina Astuti, M.Pd
NIK: 110.1653

Mengetahui,
 Penanggung jawab determinasi,

Siti Kartika Sari, M.Pd.

Duwet atau Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels.)

Kunci Determinasi :

1b, 2b, 3b, 4b, 12b, 13b, 14b, 17b, 18b, 19b, 20b, 21b, 22b, 23b, 24b, 25b, 26b, 27a,
28b, 29b, 30b, 31a, 32b, 403b, 404b, 405a, 406a, 407b, ... → Familia : Myrtaceae
1a, 2b, 3b, 7b 8b, 9b, 10b, → Genus : *Syzygium*
1b, 7b, 8b, 11a, 13b, 14b, 15a, 16b, 18a, 19a, → Species: *Syzygium cumini* (L.) Skeels.

Klasifikasi :

Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Classis : Dicotyledoneae
Sub Classis : Dialypetalae
Ordo : Myrtales
Familia : Myrtaceae
Genus : *Syzygium*
Species : *Syzygium cumini* (L.) Skeels.

Sinonim : *Eugenia cumini* (L.) Druse.
Eugenia jambolana Lmk.

Tabel Deskripsi tanaman *Syzygium cumini* (L.) Skeels. :

Keterangan	Deskripsi
Akar dan ciri umum	Tanaman pohon, memiliki perakaran tunggang.
Batang	Batang berkayu, kulit batang coklat dan kasar, silindris, monopodial.
Daun	Daun berwarna hijau, duduk berhadapan, lamina tebal dan beraroma khas, pertulangan menyirip, ptecolus pendek, panjang helaian sekitar ± 10 cm dengan lebar ± 6,5cm, bangun daun bulat telursampai oval, basis membulat sampai tumpul, apex membulat meruncing.
Buah	Buah buni dengan ujung bebas dan membulat.
Manfaat	Merupakan tanaman yang sering dibudidayakan sebagai tanaman hias dan tanaman obat.

Sumber :


Becker, D.Sc , C.A. and Van den Brink Jr, PH.D., R.C. Bakhuizen. 1965. *Flora of Java (Spermatophytes only)* Vol I. Groningen-The Netherlands: Wolters-Noordhoff N.V.

Steenis, C.G.G.J. van. 2005. *Flora*. Jakarta : PT. Pradnya Paramita.

Tjitrosoepomo, G. 2007. *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*. Yogyakarta : UGM Press.


Lampiran 2. Ethical clearance

12/29/2017 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 : 1.055 / XII / HREC / 2017

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

**PENGARUH EKSTRAK ETANOL BUAH DUWET (*Syzygium cumini* L.) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH
 DAN HISTOPATOLOGI PANKREAS PADA TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Principal investigator : Tika Indrasari
 Peneliti Utama : 20144144A


Location of research : Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Sebelas Maret
 Lokasi Tempat Penelitian :


Is ethically approved
 Dinyatakan layak etik

Issued on : 29 Dec 2017

Chairman
Ketua

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



Lampiran 3. Sertifikat pelatihan dasar hewan coba

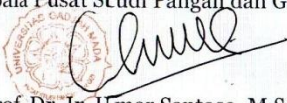
Pusat Studi Pangan dan Gizi
Universitas Gadjah Mada

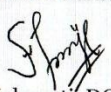
SERTIFIKAT
Nomor : PSPG-UGM/05/PHC/XI/2018

DIBERIKAN KEPADA
Tika Indrasari

sebagai
Peserta

Pada “Pelatihan Dasar Penanganan Hewan Coba”
yang diselenggarakan oleh:
Pusat Studi Pangan dan Gizi
Universitas Gadjah Mada
Yogyakarta, 30 Januari 2018

Kepala Pusat Studi Pangan dan Gizi,

Prof. Dr. Ir. Umar Santoso, M.Sc.

Ketua Pelaksana,

Dr. Siti Helmyati, DCN., M.Kes

Lampiran 4. Foto tanaman buah duwet



Buah duwet



Buah duwet tanpa biji



Buah duwet kering



Serbuk buah duwet

Lampiran 5. Foto kegiatan penelitian



Pengeringan buah duwet suhu 50°C



Penggilingan buah duwet



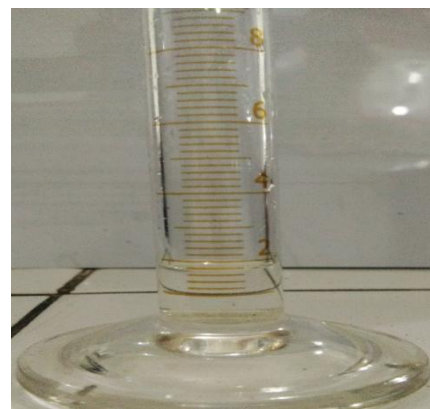
Ayak serbuk buah duwet



Penetapan kadar air dengan rangkaian alat *Sterling*-



Hasil penetapan kadar air



Volume air yang diperoleh



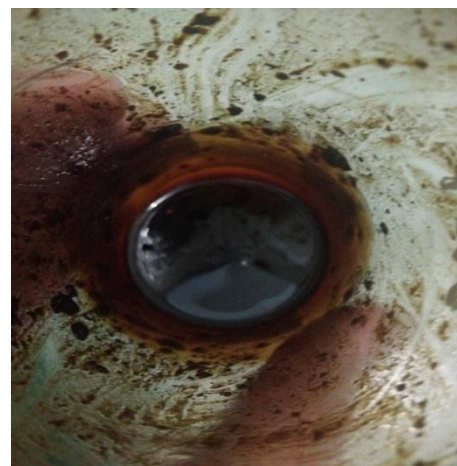
Maserasi 500 gram serbuk buah jambang dengan 5 L etanol 96% (1:10)



Vakum hasil maserasi



evaporator



Ekstrak etanol buah duwet



Uji bebas alkohol

Lampiran 6. Foto perlakuan pada hewan uji



Penimbangan BB Tikus



Pemberian Pakan Tikus



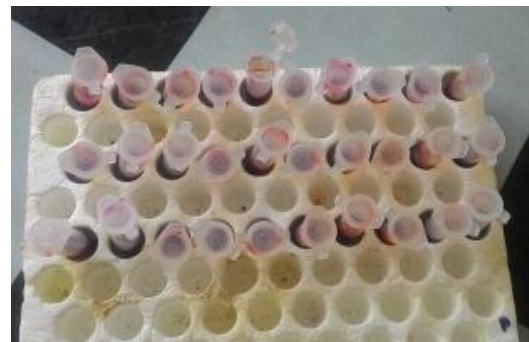
Induksi Aloksan



Oral Ekstrak Buah Duwet



Pengambilan Darah Tikus



Darah Tikus

Lampiran 7. Foto hewan percobaan, proses pembedahan, pankreas tikus.



Tikus dianastesi inhalasi
dengan eter



Korbankan tikus dengan cara
dislokalisasi leher



Pembedahan dan
pengambilan organ pankreas
tikus



Pankreas tikus



Aloksan



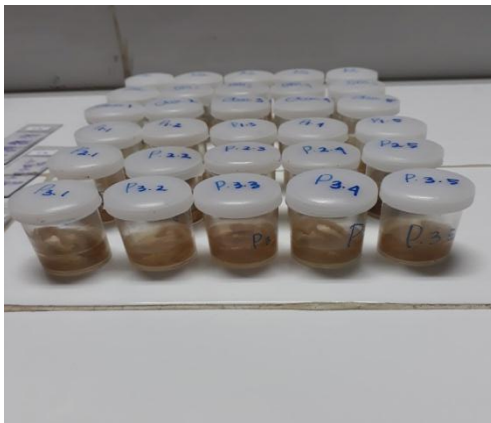
Larutan Na CMC 0,5%



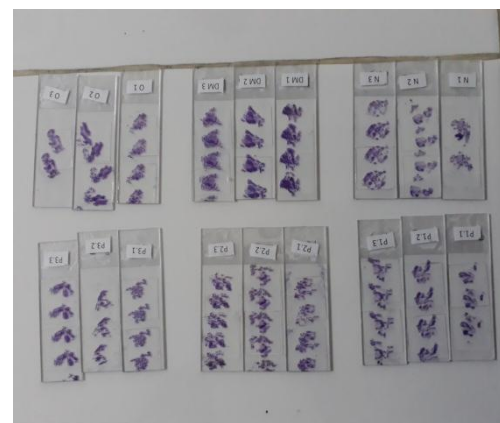
NaCl 0,9%



Kit assay GOD-PAP



Sampel pankreas



Preparat pankreas

Lampiran 8. Hasil presentase rendemen bobot kering terhadap bobot basah buah duwet

No.	Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen
1	18	1,8	10%

Perhitungan rendemen :

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

$$= \frac{1,8}{18} \times 100\%$$

$$= 10\%$$

Lampiran 9. Hasil identifikasi serbuk buah duwet secara organoleptis

Organoleptis	Hasil
Bentuk	Serbuk
Bau	Khas buah duwet
Rasa	Manis sepat
Warna	Ungu kehitaman

Lampiran 10. Hasil penetapan kadar air serbuk buah duwet

No.	Berat serbuk (g)	Volume terbaca (ml)	Kadar air (%) \pm SD
1	20	1,8	9,0
2	20	1,6	8,0
3	20	1,8	9,0
Rata-rata			8,7 \pm 0,58

Perhitungan :

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air}_1 &= \frac{\text{volume terbaca (mL)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,8 \text{ mL}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 9 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air}_2 &= \frac{\text{volume terbaca (mL)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,6 \text{ mL}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 8 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar air}_3 &= \frac{\text{volume terbaca (mL)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{1,8 \text{ mL}}{20 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 9 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata kadar air serbuk buah duwet} &= \frac{\text{Kadar air}_1 + \text{kadar air}_2 + \text{kadar air}_3}{3} \\
 &= \frac{9\% + 8\% + 9\%}{3} = 8,7\%
 \end{aligned}$$

Lampiran 11. Perhitungan rendemen ekstrak buah duwet

No.	Berat simplisia (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen
1	500	154,38	30,87 %

Perhitungan rendemen :

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen ekstrak etanol buah duwet} &= \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100\% \\
 &= \frac{154,38 \text{ g}}{500 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 30,87 \%
 \end{aligned}$$

Lampiran 12. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak buah duwet

1. Flavonoid



Ekstrak ditambah serbuk Mg secukupnya, 1 mL HCl dan 2 mL amil alkohol → merah jingga pada lapisan amil alkohol (+)

2. Tanin



Ekstrak + 20 mL air panas, disaring + FeCl_3 5 tetes → Warna hijau kehitaman (+)

3. Saponin



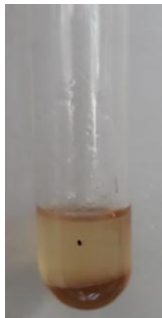
Ekstrak ditambah 10 mL air suling panas dan didinginkan lalu dikocok → buih tinggi 1-10 cm (+)

4. Alkaloid



Ekstrak + larutan amonia 10% 1,5 mL dan reagen Dragendroff → endapan dan kekeruhan berwarna coklat (+)

5. Terpenoid



Ekstrak + 20 mL air panas, disaring + H_2SO_4 anhidrat 2 tetes + HCl pekat 1 tetes → Cincin kecoklatan pada perbatasan larutan Terpenoid (+)

Lampiran 13. Perhitungan dosis dan volume pemberian

1. Aloksan

Pembuatan aloksan sebagai penginduksi diabetes dibuat dengan konsentrasi 1% dengan cara :

$$\begin{aligned}\text{Aloksan 1\%} &= 1 \text{ g/100 mL} \\ &= 1000 \text{ mg/100 mL} \\ &= 10 \text{ mg/mL}\end{aligned}$$

Larutan aloksan 1% sebagai pengiduksi dibuat dengan cara ditimbang sebanyak 1 g kemudian dilarutkan ke dalam 100 mL larutan NaCl. Dosis aloksan untuk tikus adalah 180 mg/kgBB secara intraperitoneal.

$$\begin{aligned}180 \text{ mg/g BB tikus} &= \frac{200 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 180 \text{ mg} \\ &= 36 \text{ mg/200 g BB tikus}\end{aligned}$$

Jadi, volume pemberian untuk tikus dengan berat badan 200 g adalah :

$$\begin{aligned}\text{Volume pemberian aloksan} &= \frac{36 \text{ mg}}{10 \text{ mg}} \times 1 \text{ mL} \\ &= 3 \text{ mL untuk 200 g BB tikus}\end{aligned}$$

2. CMC Na 0,5%

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

$$\begin{aligned}\text{Larutan stok CMC 0,5\% dibuat 100 mL} &= \frac{100 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} \times 500 \text{ mg} \\ &= 500 \text{ mg/100 mL aquadest} \\ &= 0,5 \text{ g/100 mL aquadest}\end{aligned}$$

Ditimbang serbuk CMC 0,5% kemudian disuspensikan dengan aquadest panas *ad* 100 mL sampai homogen. Suspensi ini digunakan sebagai kontrol negatif dan *suspending agent*.

3. Glibenklamid

Dosis glibenklamid untuk manusia BB = 70 Kg adalah 5 mg.

Faktor konversi dari manusia BB 70 Kg → tikus BB 200 g adalah 0,018

Dosis glibenklamid untuk tikus BB 200 g = 5 mg x 0,018

$$= 0,09 \text{ mg/200 g BB tikus}$$

$$= 0,45 \text{ mg/Kg BB tikus}$$

Contoh :

$$\begin{aligned} \text{Dosis glibenklamid untuk tikus BB 180 g} &= \frac{180 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 0,09 \text{ mg} \\ &= 0,081 \text{ mg} \end{aligned}$$

4. Dosis ekstrak etanol buah duwet

1. Dosis ekstrak buah duwet 100 mg/kg BB tikus

$$\text{Faktor konversi ke tikus} = 56$$

$$\text{Dosis tikus} = 100 \text{ mg/Kg BB} = 20 \text{ mg/200 gram BB tikus}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis ekstrak ke manusia} &= \text{Dosis tikus} \times \text{faktor konversi tikus ke manusia} \\ &= (20 \text{ mg/200 gram bb tikus}) \times 56 \\ &= 1120 \text{ mg/ 70 g BB manusia} \\ &= \mathbf{1,1 \text{ gram/70 g BB manusia}} \end{aligned}$$

Perhitungan dosis ekstrak berdasarkan berat badan dosis 100 mg

$$\text{Rumus perhitungan dosis ekstrak} = \text{BB/1000} \times \text{dosis 100 mg}$$

$$\text{contoh} = 200 \text{ gram/1000} \times 100 \text{ mg}$$

$$= 20 \text{ mg/200 gram BB tikus}$$

2. Dosis ekstrak buah duwet 200 mg/Kg BB tikus

$$\text{Dosis tikus} = 200 \text{ mg/kg bb} = 40 \text{ mg/200 gram bb tikus}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis ekstrak ke manusia} &= \text{Dosis tikus} \times \text{faktor konversi tikus ke manusia} \\ &= (40 \text{ mg/200 gram bb tikus}) \times 56 \\ &= 2240 \text{ mg/ 70 kg bb manusia} \\ &= \mathbf{2,2 \text{ gram/70 kg bb manusia}} \end{aligned}$$

Perhitungan dosis ekstrak berdasarkan berat badan dosis 200 mg

$$\begin{aligned}\text{Rumus perhitungan dosis ekstrak} &= \text{bb}/1000 \times \text{dosis } 200 \text{ mg} \\ \text{contoh} &= 200 \text{ gram}/1000 \times 200 \text{ mg} \\ &= 40 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}\end{aligned}$$

3. Dosis ekstrak buah duwet 400 mg/Kg BB tikus

$$\begin{aligned}\text{Faktor konversi ke tikus} &= 56 \\ \text{Dosis tikus} &= 400 \text{ mg/kg bb} = 80 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus} \\ \text{Dosis ekstrak ke manusia} &= \text{Dosis tikus} \times \text{faktor konversi tikus ke manusia} \\ &= (80 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}) \times 56 \\ &= 4480 \text{ mg}/70 \text{ kg bb manusia} \\ &= \mathbf{4,5 \text{ gram}/70 \text{ kg bb manusia}}\end{aligned}$$

Perhitungan dosis ekstrak berdasarkan berat badan dosis 400 mg

$$\begin{aligned}\text{Rumus perhitungan dosis ekstrak} &= \text{bb}/1000 \times \text{dosis } 400 \text{ mg} \\ \text{contoh} &= 200 \text{ gram}/1000 \times 400 \text{ mg} \\ &= 80 \text{ mg}/200 \text{ gram bb tikus}\end{aligned}$$

Lampiran 14. Data rata-rata hasil penimbangan berat badan tikus saat perlakuan

Kelompok	Rata-rata berat badan tikus		
	Hari ke-0	Hari ke-4	Hari ke-14
Normal	193,60 ± 3,36	199,00 ± 3,94	213,80 ± 3,77
Kontrol diabetes	192,20 ± 2,86	188,40 ± 2,70	183,00 ± 4,74
Pembanding	191,40 ± 2,07	188,00 ± 2,74	199,80 ± 2,39
Duwet 100 mg/kg	194,40 ± 3,21	190,60 ± 2,70	200,00 ± 3,39
Duwet 200 mg/kg	190,80 ± 2,05	187,40 ± 2,41	201,00 ± 3,61
Duwet 240 mg/kg	187,60 ± 2,88	184,20 ± 2,95	198,00 ± 3,16

Keterangan :

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

Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 0,45 mg/Kg BB)

Lampiran 15. Perhitungan dosis glibenklamid

Berat badan hewan uji	Dosis (gram)	Volume pemberian (mL)
187	0,084	1,87
190	0,085	1,90
188	0,084	1,88
184	0,082	1,84
191	0,086	1,91

Contoh perhitungan :

$$\begin{aligned}
 \text{Rumus perhitungan dosis} &= \frac{\text{BB}}{1000} \times \text{dosis konversi} \\
 &= \frac{187}{1000} \times 0,45 \\
 &= 0,084
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Volume yang diberikan} &= \frac{\text{BB}}{200} \times \text{volume maksimum} \\
 &= \frac{187}{200} \times 2 \text{ mL} \\
 &= 1,87
 \end{aligned}$$

Lampiran 16. Perhitungan volume penyuntikan dosis ekstrak etanol buah duwet 100 mg/Kg BB tikus, 200 mg/Kg BB tikus, 400 mg/Kg BB tikus

Dosis ekstrak	Berat badan hewan uji (gram)	Dosis pemberian (gran)
100 mg/Kg BB tikus	189	18,90
	191	19,10
	190	19,00
	195	19,50
	188	18,80
200 mg/Kg BB tikus	184	38,80
	188	37,60
	190	38,00
	186	37,20
	189	37,80
400 mg/Kg BB tikus	183	73,20
	187	74,80
	180	72,00
	184	73,60
	187	74,80

Rumus perhitungan dosis ekstrak etanol :

$$\text{Dosis pemberian} = \frac{\text{BB}}{1000} \times \text{Dosis ekstrak}$$

Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan rumus tersebut maka diperoleh dosis pemberian pada tikus berdasarkan berat badannya seperti yang terlihat pada tabel diatas.

Lampiran 17. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T₀

Kelompok	Kode hewan	Standar	Absorbansi	Kadar glukosa	Kadar rata-rata ± SD
I Normal	I.1	0,276	0,203	73,55	71,45±1,54
	I.2		0,191	69,20	
	I.3		0,200	72,46	
	I.4		0,198	71,74	
	I.5		0,194	70,29	
II Kontrol diabetes	II.1	0,276	0,195	70,65	72,54±2,26
	II.2		0,202	73,19	
	II.3		0,210	76,09	
	II.4		0,199	72,10	
	II.5		0,195	70,65	
III Pembanding	III.1	0,276	0,211	76,45	76,45±1,51
	III.2		0,207	75,00	
	III.3		0,213	77,17	
	III.4		0,217	78,62	
	III.5		0,207	75,00	
IV Duwet 100 mg/kg	IV.1	0,276	0,209	75,72	76,23±0,84
	IV.2		0,214	77,54	
	IV.3		0,211	76,45	
	IV.4		0,210	76,09	
	IV.5		0,208	75,36	
V Duwet 200 mg/kg	V.1	0,276	0,199	72,10	72,46±3,16
	V.2		0,209	75,72	
	V.3		0,207	75,00	
	V.4		0,198	71,74	
	V.5		0,187	67,75	
VI Duwet 400 mg/kgI	VI.1	0,276	0,197	71,38	71,81±3,57
	VI.2		0,199	72,10	
	VI.3		0,183	66,30	
	VI.4		0,202	73,19	
	VI.5		0,210	76,09	

Keterangan :

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

Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 0,45 mg/Kg BB)

Lampiran 18. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T₁

Kelompok	Kode hewan	Standar	Absorbansi	Kadar glukosa	Kadar rata-rata ± SD
I Normal	I.1	0,237	0,177	74,68	72,32±1,62
	I.2		0,167	70,46	
	I.3		0,173	73,00	
	I.4		0,171	72,15	
	I.5		0,169	71,31	
II Kontrol diabetes	II.1	0,237	0,585	246,84	236,71±10,24
	II.2		0,554	233,76	
	II.3		0,562	237,13	
	II.4		0,524	221,10	
	II.5		0,580	244,73	
III Pembanding	III.1	0,237	0,562	237,13	239,92±6,98
	III.2		0,573	241,77	
	III.3		0,595	251,05	
	III.4		0,561	236,71	
	III.5		0,552	232,91	
IV Duwet 100 mg/kg	IV.1	0,237	0,597	251,90	248,10±9,27
	IV.2		0,571	240,93	
	IV.3		0,614	259,07	
	IV.4		0,598	252,32	
	IV.5		0,560	236,29	
V Duwet 200 mg/kg	V.1	0,237	0,604	254,85	243,97±10,26
	V.2		0,553	233,33	
	V.3		0,552	232,91	
	V.4		0,586	247,26	
	V.5		0,596	251,48	
VI Duwet 400 mg/kgI	VI.1	0,237	0,560	236,29	242,03±3,96
	VI.2		0,573	241,77	
	VI.3		0,586	247,26	
	VI.4		0,577	243,46	
	VI.5		0,572	241,35	

Keterangan :

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

Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 0,45 mg/Kg BB)

Lampiran 19. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada T₂

Kelompok	Kode hewan	Standar	Absorbansi	Kadar glukosa	Kadar rata-rata \pm SD
I Normal	I.1	0,284	0,214	75,35	73,10 \pm 1,63
	I.2		0,202	71,13	
	I.3		0,210	73,94	
	I.4		0,207	72,89	
	I.5		0,205	72,18	
II Kontrol diabetes	II.1	0,284	0,703	24,54	237,89 \pm 9,51
	II.2		0,668	23,21	
	II.3		0,675	237,68	
	II.4		0,635	223,59	
	II.5		0,697	245,42	
III Pembanding	III.1	0,284	0,337	118,66	115,99 \pm 3,98
	III.2		0,340	118,66	
	III.3		0,329	119,75	
	III.4		0,311	115,85	
	III.5		0,330	116,20	
IV Duwet 100 mg/kg	IV.1	0,284	0,473	166,55	170,49 \pm 3,99
	IV.2		0,488	171,83	
	IV.3		0,498	175,35	
	IV.4		0,490	172,54	
	IV.5		0,472	166,20	
V Duwet 200 mg/kg	V.1	0,284	0,420	147,89	151,97 \pm 2,80
	V.2		0,438	154,23	
	V.3		0,440	154,93	
	V.4		0,431	151,76	
	V.5		0,429	151,06	
VI Duwet 400 mg/kgI	VI.1	0,284	0,377	119,72	122,84 \pm 3,17
	VI.2		0,366	120,77	
	VI.3		0,370	121,33	
	VI.4		0,360	126,76	
	VI.5		0,357	125,70	

Keterangan :

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

Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 0,45 mg/Kg BB)

Lampiran 20. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran kadar gula darah tikus pada berbagai kelompok perlakuan

Kelompok	Rata-rata berat badan tikus		
	Hari ke-0	Hari ke-7	Hari ke-14
Normal	71,45±1,54	72,32 ± 1,62	73,10 ± 1,63
Kontrol diabetes	72,54 ± 2,25	236,71 ± 10,24	237,89 ± 9,51
Pembanding	76,45 ± 1,51	239,92 ± 6,98	115,99 ± 3,98
Duwet 100 mg/kg	76,23 ± 0,83	248,10 ± 9,27	170,49 ± 3,99
Duwet 200 mg/kg	72,46 ± 3,16	243,97 ± 10,26	151,97 ± 2,80
Duwet 400 mg/kg	71,81 ± 3,56	242,03 ± 3,96	122,84 ± 3,17

Keterangan :

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

Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 0,45 mg/Kg BB)

Lampiran 21. Penurunan kadar gula darah tikus dan presentase penurunan kadar gula darah tikus

Kelompok	$\Delta T_1 = T_1 - T_2$	Presentase Penurunan (%)
Normal	$-0,78 \pm 0,13$	$-1,08 \pm 0,18$
Kontrol diabetes	$-1,18 \pm 0,89$	$-0,51 \pm 0,38$
Pembanding	$123,92 \pm 7,47$	$51,63 \pm 1,99$
Duwet 100 mg/kg	$77,61 \pm 7,60$	$31,23 \pm 2,08$
Duwet 200 mg/kg	$91,99 \pm 12,94$	$37,58 \pm 3,75$
Duwet 400 mg/kg	$119,19 \pm 4,35$	$49,24 \pm 1,33$

Keterangan :

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

Pembanding : kelompok kontrol positif (Glibenklamid 0,45 mg/Kg BB)

Lampiran 22. Perhitungan AUC kadar gula darah

Kelompok	Kode Hewan	Hari ke 0-4	Hari ke 4-18	AUC Total	AUC Rata-rata \pm SD
I Normal	I.1	300.07	1050.25	1350.32	1308,77 \pm 29,21
	I.2	283.18	991.14	1274.32	
	I.3	293.88	1028.58	1322.45	
	I.4	290.08	1015.27	1305.35	
	I.5	286.98	1004.44	1291.42	
II Kontrol diabetes	II.1	988.74	3460.59	4449.34	4271,37 \pm 177,68
	II.2	937.93	3282.77	4220.70	
	II.3	949.61	3323.65	4273.26	
	II.4	889.38	3112.82	4002.20	
	II.5	980.30	3431.04	4411.33	
III Pembanding	III.1	711.59	2490.55	3202.13	3203,18 \pm 76,97
	III.2	723.05	2530.68	3253.73	
	III.3	733.80	2568.30	3302.10	
	III.4	692.43	2423.51	3115.94	
	III.5	698.22	2443.76	3141.98	
IV Duwet 100 mg/kg	IV.1	836.90	2929.14	3766.03	3767,35 \pm 108,69
	IV.2	825.52	2889.31	3714.83	
	IV.3	868.85	3040.97	3909.81	
	IV.4	849.71	2973.99	3823.70	
	IV.5	804.97	2817.39	3622.36	
V Duwet 200 mg/kg	V.1	805.48	2819.18	3624.66	3563,44 \pm 68,99
	V.2	775.12	2712.91	3488.03	
	V.3	775.68	2714.89	3490.57	
	V.4	798.04	2793.13	3591.16	
	V.5	805.07	2817.73	3622.80	
VI Duwet 400 mg/kg	VI.1	712.01	2492.04	3204.05	3283,77 \pm 51,40
	VI.2	725.09	2537.83	3262.92	
	VI.3	736.98	2579.43	3316.41	
	VI.4	740.44	2591.54	3331.98	
	VI.5	734.11	2569.38	3303.49	

Lampiran 23. Hasil perhitungan presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans

kelompok	Kode Tikus	Jumlah Pulau Langerhans	Total Inti Sel	Total Piknotik	Presentase Nekrosis (%)	Rata Rata Presentase Nekrosis	SD
I	1	2	53	2	3,77	3,76	0,60
	2	1	45	3	6,67		
	3	1	115	4	4,35		
II	1	1	112	22	19,64	19,35	2,55
	2	2	120	20	16,67		
	3	2	92	20	21,74		
III	1	2	106	5	4,72	4,45	1,16
	2	1	126	4	3,17		
	3	1	110	6	5,45		
IV	1	1	109	10	9,17	8,88	2,26
	2	1	82	9	10,98		
	3	1	108	7	6,48		
V	1	1	91	10	10,99	7,62	3,16
	2	1	127	6	4,72		
	3	1	70	5	7,14		
VI	1	1	120	5	4,17	4,72	0,81
	2	1	124	7	5,65		
	3	1	92	4	4,35		

Lampiran 24. Hasil uji statistik kadar gula darah tikus

Kelompok	Tests of Normality					
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Kadar Gula Darah Kontrol_Normal	.151	5	.200*	.990	5	.978
Kontrol_Negatif	.189	5	.200*	.935	5	.628
Kontrol_Pembanding	.286	5	.200*	.885	5	.331
Dosis_100mg	.239	5	.200*	.892	5	.365
Dosis_200mg	.190	5	.200*	.944	5	.696
Dosis_400mg	.286	5	.200*	.864	5	.245

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Kadar_gula_darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.569	5	24	.054

Nilai probabilitas dari output diatas adalah sig. = 0,054 $> 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*

ANOVA

Kadar_gula_darah

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	79137.394	5	15827.479	666.213	.000
Within Groups	570.177	24	23.757		
Total	79707.572	29			

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

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Kadar_gula_darah

Tukey HSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) kelompok	(J) kelompok				Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-164.79000 [*]	3.08269	.000	-174.3215	-155.2585
	Kontrol Pembanding	-42.89600 [*]	3.08269	.000	-52.4275	-33.3645
	Dosis 100 mg/Kg BB	-97.39600 [*]	3.08269	.000	-106.9275	-87.8645
	Dosis 200 mg/Kg BB	-78.87600 [*]	3.08269	.000	-88.4075	-69.3445
	Dosis 400 mg/Kg BB	-49.75800 [*]	3.08269	.000	-59.2895	-40.2265
Kontrol Negatif	Kontrol Normal	164.79000 [*]	3.08269	.000	155.2585	174.3215
	Kontrol Pembanding	121.89400 [*]	3.08269	.000	112.3625	131.4255
	Dosis 100 mg/Kg BB	67.39400 [*]	3.08269	.000	57.8625	76.9255
	Dosis 200 mg/Kg BB	85.91400 [*]	3.08269	.000	76.3825	95.4455
	Dosis 400 mg/Kg BB	115.03200 [*]	3.08269	.000	105.5005	124.5635
Kontrol Pembanding	Kontrol Normal	42.89600 [*]	3.08269	.000	33.3645	52.4275
	Kontrol Negatif	-121.89400 [*]	3.08269	.000	-131.4255	-112.3625
	Dosis 100 mg/Kg BB	-54.50000 [*]	3.08269	.000	-64.0315	-44.9685
	Dosis 200 mg/Kg BB	-35.98000 [*]	3.08269	.000	-45.5115	-26.4485
	Dosis 400 mg/Kg BB	-6.86200	3.08269	.263	-16.3935	2.6695
Dosis 100 mg/Kg BB	Kontrol Normal	97.39600 [*]	3.08269	.000	87.8645	106.9275
	Kontrol Negatif	-67.39400 [*]	3.08269	.000	-76.9255	-57.8625
	Kontrol Pembanding	54.50000 [*]	3.08269	.000	44.9685	64.0315
	Dosis 200 mg/Kg BB	18.52000 [*]	3.08269	.000	8.9885	28.0515
	Dosis 400 mg/Kg BB	47.63800 [*]	3.08269	.000	38.1065	57.1695

Dosis 200 mg/Kg BB	Kontrol Normal	78.87600*	3.08269	.000	69.3445	88.4075
	Kontrol Negatif	-85.91400*	3.08269	.000	-95.4455	-76.3825
	Kontrol Pembanding	35.98000*	3.08269	.000	26.4485	45.5115
	Dosis 100 mg/Kg BB	-18.52000*	3.08269	.000	-28.0515	-8.9885
	Dosis 400 mg/Kg BB	29.11800*	3.08269	.000	19.5865	38.6495
Dosis 400 mg/Kg BB	Kontrol Normal	49.75800*	3.08269	.000	40.2265	59.2895
	Kontrol Negatif	-115.03200*	3.08269	.000	-124.5635	-105.5005
	Kontrol Pembanding	6.86200	3.08269	.263	-2.6695	16.3935
	Dosis 100 mg/Kg BB	-47.63800*	3.08269	.000	-57.1695	-38.1065
	Dosis 200 mg/Kg BB	-29.11800*	3.08269	.000	-38.6495	-19.5865

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

Homogeneous Subsets

Kadar Gula Darah

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kontrol Normal	5	73.0980				
Kontrol Pembanding	5		115.9940			
Dosis 400 mg/Kg BB	5		122.8560			
Dosis 200 mg/Kg BB	5			151.9740		
Dosis 100 mg/Kg BB	5				170.4940	
Kontrol Negatif	5					237.8880
Sig.		1.000	.263	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

Dari data output dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar setiap kelompok kecuali pada kelompok dosis 400 mg/Kg BB dan kelompok kontrol positif (glibenklamid) dengan nilai sig = 0,263 ($P > 0,05$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa kelompok dosis ekstrak etanol buah duwet dosis 400 mg/Kg BB memiliki aktivitas antidiabetes yang hampir sama dengan glibenklamid.

Lampiran 25. Hasil uji statistik presentase penurunan kadar gula darah tikus T₁ terhadap T₂

Tests of Normality						
Kelompok		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk	
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Sig.
% Penurunan Kadar Gula Darah Tikus	Kontrol_Normal	.228	5	.200*	.892	.366
	Kontrol_Negatif	.325	5	.090	.797	.076
	Kontrol_Pembanding	.323	5	.097	.808	.094
	Dosis_100mg	.175	5	.200*	.969	.870
	Dosis_200mg	.237	5	.200*	.896	.389
	Dosis_400mg	.237	5	.200*	.906	.443

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig. dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

persentase_penurunan_kadar_gula_darah

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
10.230	5	24	.000

Nilai probabilitas dari output diatas adalah sig. = 0,000 $< 0,05$ maka H_0 ditolak atau kelima kelompok memiliki varians yang berbeda.

ANOVA

persentase_penurunan_kadar_gula_darah

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13849.384	5	2769.877	683.559	.000
Within Groups	97.251	24	4.052		
Total	13946.636	29			

Dari ouput ANOVA diatas diketahui nilai sig. = 0,000 $< 0,05$ (H_0 ditolak) maka disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar gula darah tikus pada setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

persentase_penurunan_kadar_gula_darah

Dunnett T3

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-.57000	.18804	.200	-1.3921	.2521
	Kontrol Pembanding	-52.70600*	.89433	.000	-57.2851	-48.1269
	Dosis 100 mg/Kg BB	-32.31000*	.93425	.000	-37.0971	-27.5229
	Dosis 200 mg/Kg BB	-38.65800*	1.67862	.000	-47.3079	-30.0081
	Dosis 400 mg/Kg BB	-50.31800*	.60175	.000	-53.3665	-47.2695
Kontrol Negatif	Kontrol Normal	.57000	.18804	.200	-.2521	1.3921
	Kontrol Pembanding	-52.13600*	.90693	.000	-56.6429	-47.6291
	Dosis 100 mg/Kg BB	-31.74000*	.94633	.000	-36.4571	-27.0229
	Dosis 200 mg/Kg BB	-38.08800*	1.68537	.000	-46.6950	-29.4810
	Dosis 400 mg/Kg BB	-49.74800*	.62033	.000	-52.7080	-46.7880
Kontrol Pembanding	Kontrol Normal	52.70600*	.89433	.000	48.1269	57.2851
	Kontrol Negatif	52.13600*	.90693	.000	47.6291	56.6429
	Dosis 100 mg/Kg BB	20.39600*	1.28841	.000	15.3804	25.4116
	Dosis 200 mg/Kg BB	14.04800*	1.89866	.003	5.9767	22.1193
	Dosis 400 mg/Kg BB	2.38800	1.07204	.447	-1.9576	6.7336
Dosis 100 mg/Kg BB	Kontrol Normal	32.31000*	.93425	.000	27.5229	37.0971
	Kontrol Negatif	31.74000*	.94633	.000	27.0229	36.4571
	Kontrol Pembanding	-20.39600*	1.28841	.000	-25.4116	-15.3804
	Dosis 200 mg/Kg BB	-6.34800	1.91779	.136	-14.4233	1.7273
	Dosis 400 mg/Kg BB	-18.00800*	1.10557	.000	-22.5270	-13.4890
Dosis 200 mg/Kg BB	Kontrol Normal	38.65800*	1.67862	.000	30.0081	47.3079
	Kontrol Negatif	38.08800*	1.68537	.000	29.4810	46.6950
	Kontrol Pembanding	-14.04800*	1.89866	.003	-22.1193	-5.9767
	Dosis 100 mg/Kg BB	6.34800	1.91779	.136	-1.7273	14.4233
	Dosis 400 mg/Kg BB	-11.66000*	1.77967	.011	-19.8678	-3.4522

Dosis 400 mg/Kg BB	Kontrol Normal	50.31800 [*]	.60175	.000	47.2695	53.3665
	Kontrol Negatif	49.74800 [*]	.62033	.000	46.7880	52.7080
	Kontrol Pembanding	-2.38800	1.07204	.447	-6.7336	1.9576
	Dosis 100 mg/Kg BB	18.00800 [*]	1.10557	.000	13.4890	22.5270
	Dosis 200 mg/Kg BB	11.66000 [*]	1.77967	.011	3.4522	19.8678

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

Lampiran 26. Hasil uji statistik AUC kadar glukosa darah

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompok_normal	.147	5	.200*	.986	5	.963
kelompok_negatif	.188	5	.200*	.933	5	.615
kelompok_pembanding	.187	5	.200*	.958	5	.796
kelompok_dosis_100mg	.114	5	.200*	1.000	5	1.000
kelompok_dosis_200mg	.256	5	.200*	.791	5	.069
kelompok_dosis_400mg	.249	5	.200*	.908	5	.453

a. Lilliefors Significance Correction

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

Dari data output tampak nilai probabilitas (Sig.) dari masing-masing kelompok $>0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut mengikuti distribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian ANOVA.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

rata_rata_AUC_total

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.266	5	24	.080

Nilai probabilitas dari output diatas adalah $\text{sig.} = 0,080 > 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

rata_rata_AUC_total

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.590E7	5	5179043.292	539.826	.000
Within Groups	230253.949	24	9593.915		
Total	2.613E7	29			

Dari output ANOVA diatas diketahui bahwa nilai $\text{sig} = 0,000 < 0,05$ (H_0 ditolak) maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar glukosa darah pada tikus setiap kelompok.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

rata_rata_AUC_total

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol Normal	Kontrol Negatif	-2962.59400*	61.94809	.000	-3154.1332	-2771.0548
	Kontrol Pembanding	-1894.40400*	61.94809	.000	-2085.9432	-1702.8648
	Dosis 100 mg/Kg BB	-2458.57400*	61.94809	.000	-2650.1132	-2267.0348
	Dosis 200 mg/Kg BB	-2254.67200*	61.94809	.000	-2446.2112	-2063.1328
	Dosis 400 mg/Kg BB	-1974.99800*	61.94809	.000	-2166.5372	-1783.4588
Kontrol Negatif	Kontrol Normal	2962.59400*	61.94809	.000	2771.0548	3154.1332
	Kontrol Pembanding	1068.19000*	61.94809	.000	876.6508	1259.7292
	Dosis 100 mg/Kg BB	504.02000*	61.94809	.000	312.4808	695.5592
	Dosis 200 mg/Kg BB	707.92200*	61.94809	.000	516.3828	899.4612
	Dosis 400 mg/Kg BB	987.59600*	61.94809	.000	796.0568	1179.1352
Kontrol Pembanding	Kontrol Normal	1894.40400*	61.94809	.000	1702.8648	2085.9432
	Kontrol Negatif	-1068.19000*	61.94809	.000	-1259.7292	-876.6508
	Dosis 100 mg/Kg BB	-564.17000*	61.94809	.000	-755.7092	-372.6308
	Dosis 200 mg/Kg BB	-360.26800*	61.94809	.000	-551.8072	-168.7288
	Dosis 400 mg/Kg BB	-80.59400	61.94809	.782	-272.1332	110.9452
Dosis 100 mg/Kg BB	Kontrol Normal	2458.57400*	61.94809	.000	2267.0348	2650.1132
	Kontrol Negatif	-504.02000*	61.94809	.000	-695.5592	-312.4808
	Kontrol Pembanding	564.17000*	61.94809	.000	372.6308	755.7092
	Dosis 200 mg/Kg BB	203.90200*	61.94809	.032	12.3628	395.4412
	Dosis 400 mg/Kg BB	483.57600*	61.94809	.000	292.0368	675.1152

Dosis 200 mg/Kg BB	Kontrol Normal	2254.67200*	61.94809	.000	2063.1328	2446.2112
	Kontrol Negatif	-707.92200*	61.94809	.000	-899.4612	-516.3828
	Kontrol Pembanding	360.26800*	61.94809	.000	168.7288	551.8072
	Dosis 100 mg/Kg BB	-203.90200*	61.94809	.032	-395.4412	-12.3628
	Dosis 400 mg/Kg BB	279.67400*	61.94809	.002	88.1348	471.2132
Dosis 400 mg/Kg BB	Kontrol Normal	1974.99800*	61.94809	.000	1783.4588	2166.5372
	Kontrol Negatif	-987.59600*	61.94809	.000	-1179.1352	-796.0568
	Kontrol Pembanding	80.59400	61.94809	.782	-110.9452	272.1332
	Dosis 100 mg/Kg BB	-483.57600*	61.94809	.000	-675.1152	-292.0368
	Dosis 200 mg/Kg BB	-279.67400*	61.94809	.002	-471.2132	-88.1348

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

Homogeneous Subsets

Rata_rata_AUC_total

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Kontrol Normal	5	1308.7720				
Kontrol Pembanding	5		3203.1760			
Dosis 400 mg/Kg BB	5		3283.7700			
Dosis 200 mg/Kg BB	5			3563.4440		
Dosis 100 mg/Kg BB	5				3767.3460	
Kontrol Negatif	5					4271.3660
Sig.		1.000	.782	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.

Dari data output dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar setiap kelompok kecuali pada kelompok dosis 400 mg/Kg BB dan kelompok kontrol positif (Glibenklamid) dengan nilai sig = 0,782 ($P > 0,05$). Hal ini dapat disimpulkan bahwa kelompok dosis ekstrak etanol buah duwet 400 mg/Kg BB memiliki aktifitas antidiabetes yang hampir sama dengan

Lampiran 27. Hasil uji statistik presentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
persen_nekrosis	18	8.1289	5.74400	3.16	21.74

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
kelompok_normal	.314	3	.	.893	3	.363
kelompok_negatif	.212	3	.	.990	3	.811
kelompok_positif	.259	3	.	.959	3	.609
kelompok_dosis_100mg	.218	3	.	.987	3	.785
kelompok_dosis_200mg	.227	3	.	.983	3	.750
kelompok_dosis_400mg	.345	3	.	.840	3	.213

a. Lilliefors Significance Correction

Dari data output diatas maka dapat diketahui bahwa nilai sig dari masing-masing kelompok $> 0,05$ (H_0 diterima) maka dapat disimpulkan bahwa data tersebut berkontribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan pengujian *Anova*.

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Presentase nekrosis_sel endokrin

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.108	5	12	.406

Nilai probabilitas dari output diatas adalah sig. = $0,406 > 0,05$ maka H_0 diterima atau kelima kelompok memiliki varians yang sama sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *post hoc*.

ANOVA

Presentase nekrosis_sel endokrin

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	485.689	5	97.138	22.436	.000
Within Groups	51.955	12	4.330		
Total	537.644	17			

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

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Presentase nekrosis pankreas

Tukey HSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kelompok normal	kelompok negatif	-14.42000*	1.69894	.000	-20.1266	-8.7134
	kelompok pembanding	.48333	1.69894	1.000	-5.2233	6.1899
	kelompok dosis 100mg	-3.94667	1.69894	.257	-9.6533	1.7599
	kelompok dosis 200mg	-2.68667	1.69894	.624	-8.3933	3.0199
	kelompok dosis 400mg	.20667	1.69894	1.000	-5.4999	5.9133
kelompok negatif	kelompok normal	14.42000*	1.69894	.000	8.7134	20.1266
	kelompok pembanding	14.90333*	1.69894	.000	9.1967	20.6099
	kelompok dosis 100mg	10.47333*	1.69894	.001	4.7667	16.1799
	kelompok dosis 200mg	11.73333*	1.69894	.000	6.0267	17.4399
	kelompok dosis 400mg	14.62667*	1.69894	.000	8.9201	20.3333
kelompok pembanding	kelompok normal	-.48333	1.69894	1.000	-6.1899	5.2233
	kelompok negatif	-14.90333*	1.69894	.000	-20.6099	-9.1967
	kelompok dosis 100mg	-4.43000	1.69894	.169	-10.1366	1.2766
	kelompok dosis 200mg	-3.17000	1.69894	.464	-8.8766	2.5366
	kelompok dosis 400mg	-.27667	1.69894	1.000	-5.9833	5.4299

kelompok dosis 100mg	kelompok normal	3.94667	1.69894	.257	-1.7599	9.6533
	kelompok negatif	-10.47333*	1.69894	.001	-16.1799	-4.7667
	kelompok pembanding	4.43000	1.69894	.169	-1.2766	10.1366
	kelompok dosis 200mg	1.26000	1.69894	.972	-4.4466	6.9666
	kelompok dosis 400mg	4.15333	1.69894	.215	-1.5533	9.8599
kelompok dosis 200mg	kelompok normal	2.68667	1.69894	.624	-3.0199	8.3933
	kelompok negatif	-11.73333*	1.69894	.000	-17.4399	-6.0267
	kelompok pembanding	3.17000	1.69894	.464	-2.5366	8.8766
	kelompok dosis 100mg	-1.26000	1.69894	.972	-6.9666	4.4466
	kelompok dosis 400mg	2.89333	1.69894	.554	-2.8133	8.5999
kelompok dosis 400mg	kelompok normal	-.20667	1.69894	1.000	-5.9133	5.4999
	kelompok negatif	-14.62667*	1.69894	.000	-20.3333	-8.9201
	kelompok pembanding	.27667	1.69894	1.000	-5.4299	5.9833
	kelompok dosis 100mg	-4.15333	1.69894	.215	-9.8599	1.5533
	kelompok dosis 200mg	-2.89333	1.69894	.554	-8.5999	2.8133

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

Homogeneous Subsets

nekrosis_sel

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kelompok pembanding	3	4.4467	19.3500
kelompok dosis 400mg	3	4.7233	
kelompok normal	3	4.9300	
kelompok dosis 200mg	3	7.6167	
kelompok dosis 100mg	3	8.8767	
kelompok negatif	3		19.3500
Sig.		.169	1.000

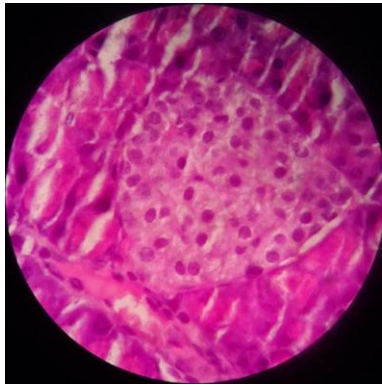
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

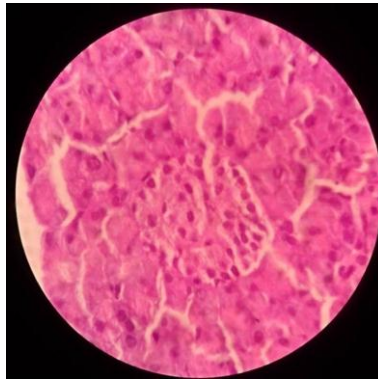
Dari data output dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok kecuali pada kelompok negatif. Hal ini dapat disimpulkan bahwa kelompok dosis ekstrak etanol buah duwet 400 mg/Kg BB memiliki aktivitas efektif dalam meningkatkan jumlah pulau langerhans dan menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans.

Lampiran 28. Hasil histopatologi organ pankreas**1. Kontrol normal**

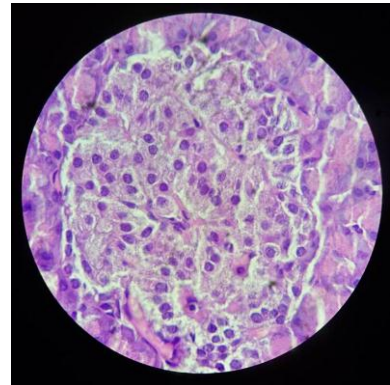
Perbesaran 100



N1

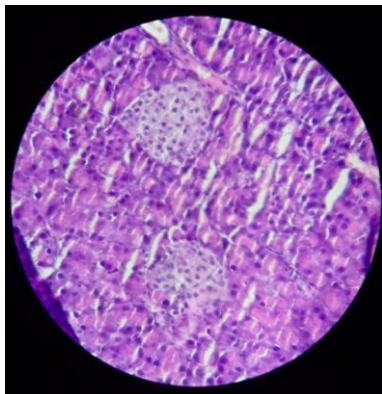


N2

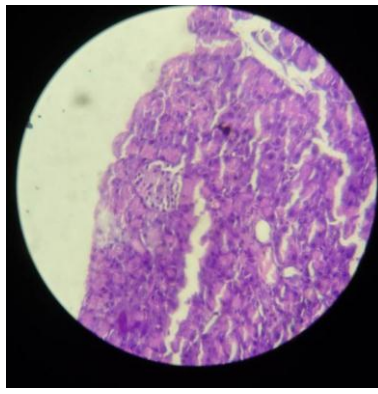


N3

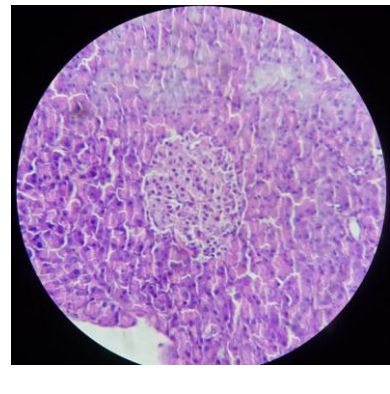
Perbesaran 40



N1



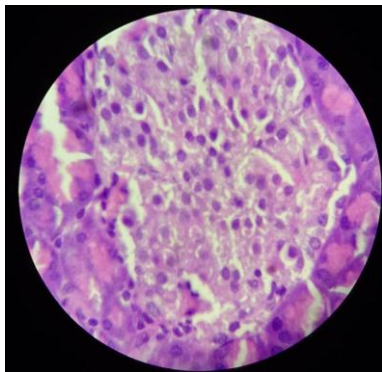
N2



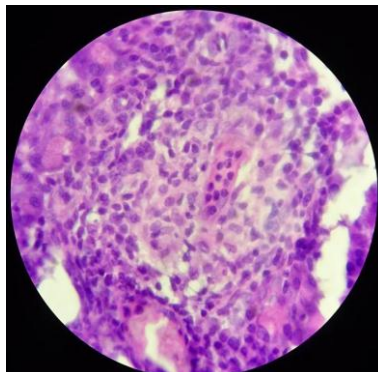
N3

2. Kontrol negatif

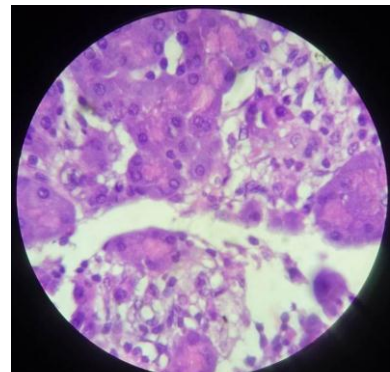
Perbesaran 100



DM 1

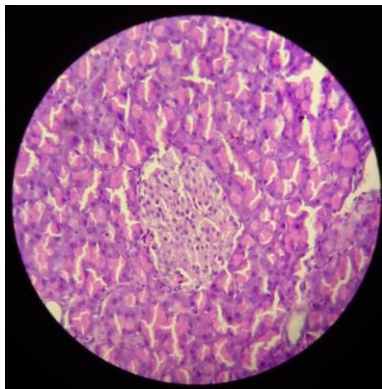


DM 2

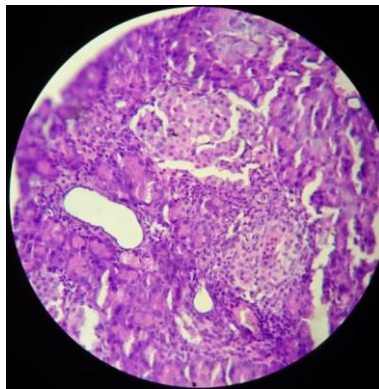


DM 3

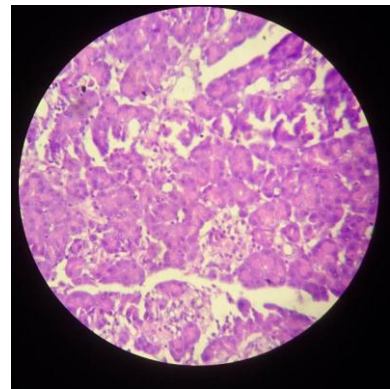
Perbesaran 40



DM 1



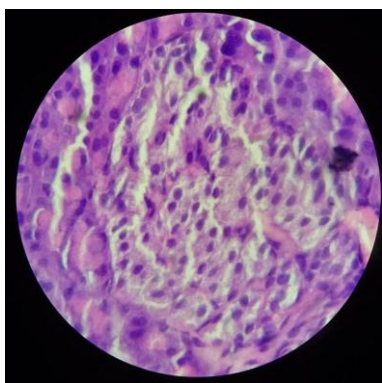
DM 2



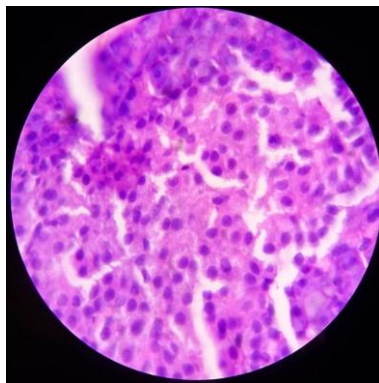
DM 3

3. Kontrol positif

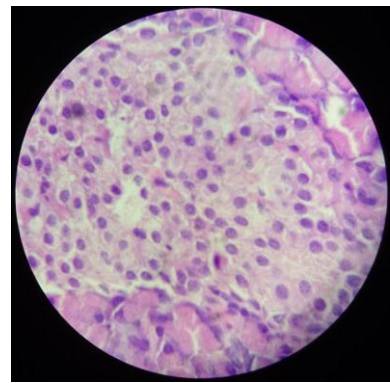
Perbesaran 100



Glibenklamid 1

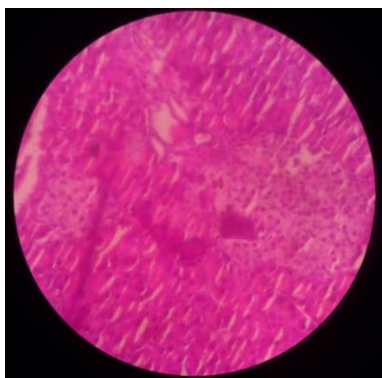


Glibenklamid 2

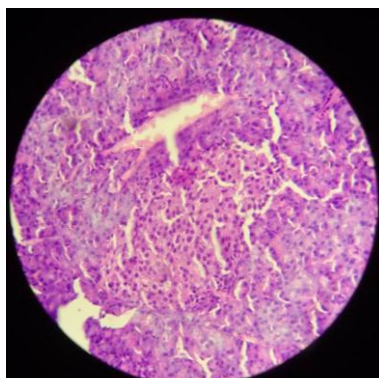


Glibenklamid 3

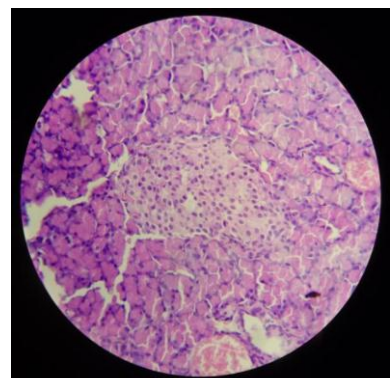
Perbesaran 40



Glibenklamid 1



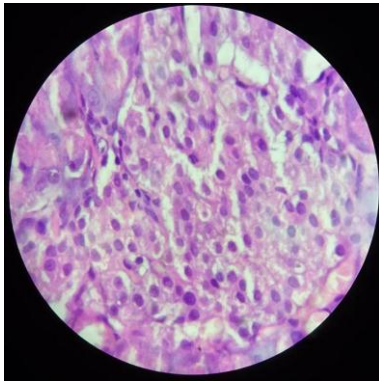
Glibenklamid 2



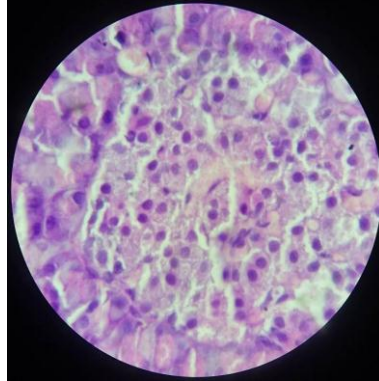
Glibenklamid 3

4. Ekstrak etanol buah duwet 100 mg

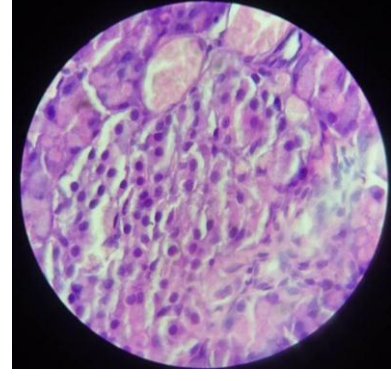
Perbesaran 100



Duwet 100.1

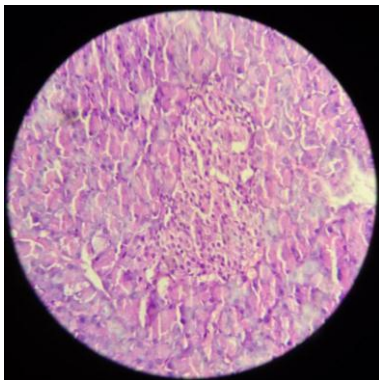


Duwet 100.2

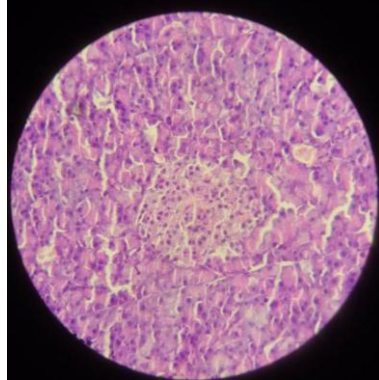


Duwet 100.3

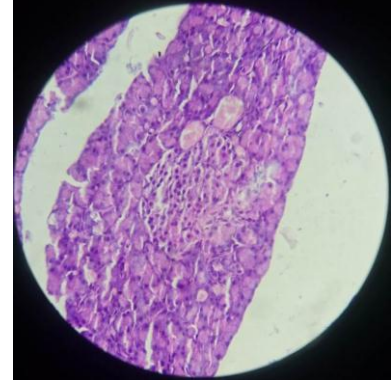
Perbesaran 40



Duwet 100.1



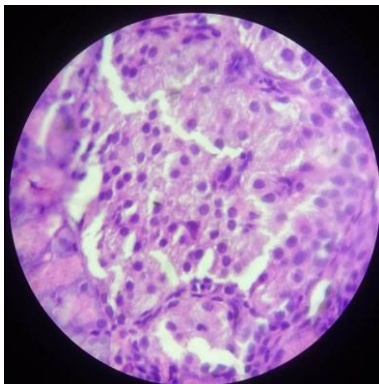
Duwet 100.2



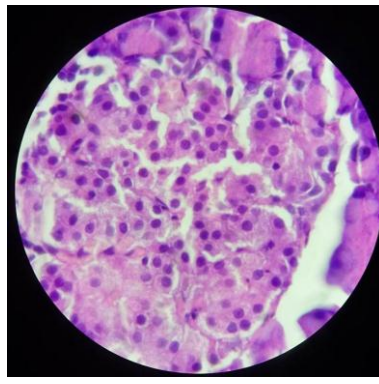
Duwet 100.3

5. Ekstrak etanol buah duwet 200 mg

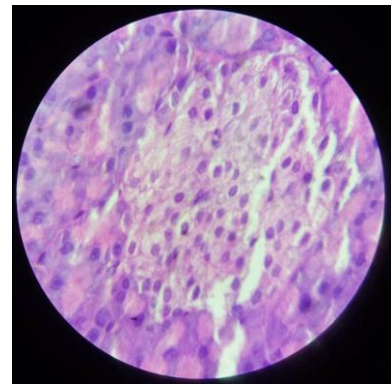
Perbesaran 100



Duwet 200.1

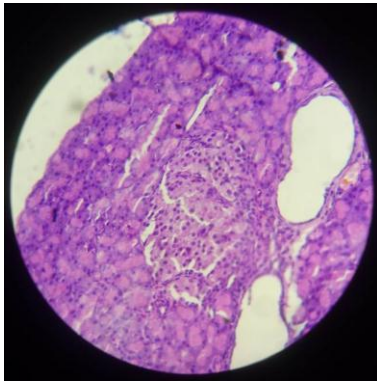


Duwet 200.2

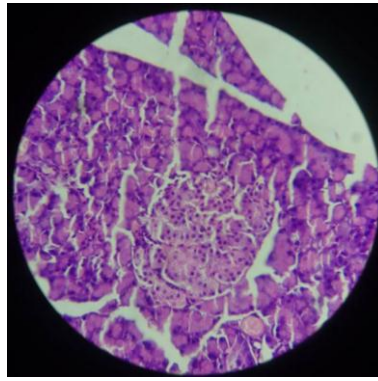


Duwet 200.3

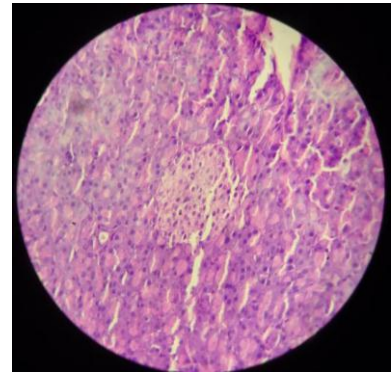
Perbesaran 40



Duwet 200.1



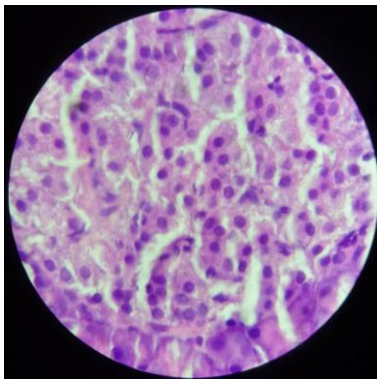
Duwet 200.2



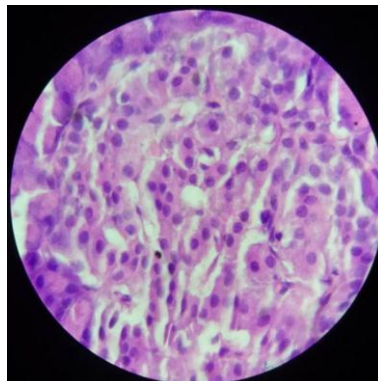
Duwet 200.3

6. Ekstrak etanol buah duwet 400 mg

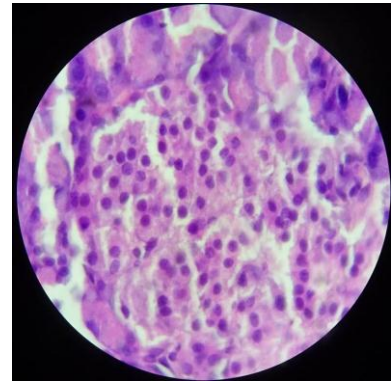
Perbesaran 100



Duwet 400.1

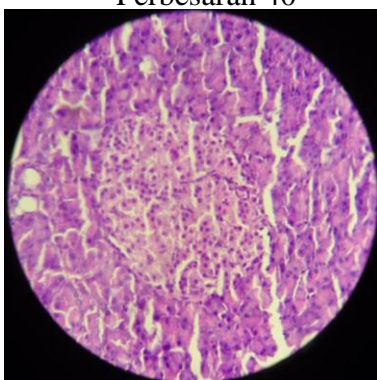


Duwet 400.2

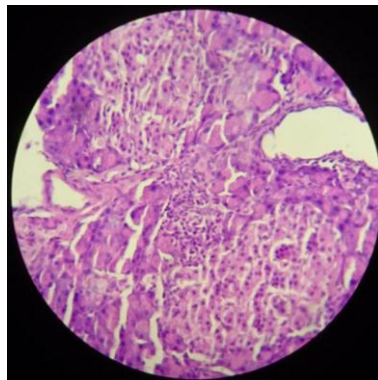


Duwet 400.3

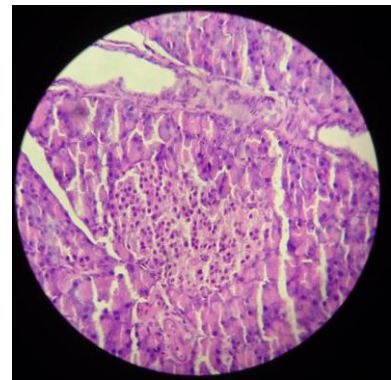
Perbesaran 40



Duwet 400.1



Duwet 400.2



Duwet 400.3