

**AKTIVITAS PARTISI ETIL ASETAT EKSTRAK DAUN KERSEN  
(*Muntingia calabura L.*) DAPAT MENURUNKAN KADAR GULA DARAH  
DENGAN INDUKSI STREPTOZOTOSIN**

**KARYA TULIS ILMIAH**

**OLEH  
AYU INDAH ASRINING WULAN  
NIM 14.023**



**AKADEMI FARMASI PUTRA INDONESIA MALANG  
JUNI 2017**

AKTIVITAS PARTISI ETIL ASETAT EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura L.*) DAPAT MENURUNKAN KADAR GULA DARAH DENGAN  
INDUKSI STREPTOZOTOSIN

KARYA TULIS ILMIAH

Diajukan kepada  
Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang  
Untuk memenuhi salah satu persyaratan  
dalam menyelesaikan program D-III  
bidang Farmasi

OLEH

AYU INDAH ASRINING WULAN

NIM 14.023

AKADEMI FARMASI PUTRA INDONESIA MALANG

JUNI 2017

KARYA TULIS ILMIAH

AKTIVITAS PARTISI ETIL ASETAT EKSTRAK DAUN KERSEN  
(*Muntingia calabura L.*) DAPAT MENURUNKAN KADAR GULA DARAH  
DENGAN INDUKSI STREPTOZOTOSIN

AYU INDAH ASRINING WULAN  
NIM 14.023

Dipertahankan di depan penguji  
Pada Tanggal 19 Juni 2017  
dan dinyatakan memenuhi persyaratan

Dewan Penguji,

Dr. Sentot Woko Raharjo, M.Si.

Penguji I

Rizka Annisa Putri, S.Farm., Apt.

Penguji II

Mardhiyah, S.Farm., Apt.

Penguji III

Mengetahui,  
Pembantu Direktur I  
Bidang Pembelajaran dan Kemahasiswaan

Mengesahkan,  
Direktur

Nur Candra Eka Setiawan, S.Si., S.Pd., M.Pd  
NIDN. 0721058503

Ernanin Dyah Wijayanti, S.Si., M.P.  
NIDN. 0723118404



**KARYA TULIS ILMIAH (KTI)**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : AYU INDAH ASRINING WULAN

NIM : 14023

Menyatakan bahwa Karya Tulis Ilmiah (KTI) dengan judul :

AKTIVITAS PARTISI ETIL ASETAT EKSTRAK DAUN KERSEN (*Muntingia calabura L.*) DAPAT MENURUNKAN KADAR GULA DARAH DENGAN INDUKSI STREPTOZOTOSIN

Benar-benar merupakan hasil pribadi dan seluruh sumber yang dikutip dan dirujuk telah saya nyatakan benar.

Apabila ternyata di dalam naskah KTI ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur **PLAGIASI**, saya bersedia KTI ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (A.Md. Farm.) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

(Undang-undang No.20 tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan pasal 70)

Malang, 19 Juni 2017



Mahasiswa,

AYU INDAH A.W

14023



*LEMBAR PERSEMBAHAN*

*Karya tulis ini saya persembahkan kepada :*

*Tuhan Yesus Kristus yang selalu memberkati dan menyertaiku. Kedua orang tuaku yang tak henti-hentinya mendoakan dan memberikan semangat yang luar biasa. Doa dan air mata kalianlah yang membuat aku menjadi seperti ini. Kakak dan adik serta saudara-saudaraku yang selalu mengerti keadaanku. Kekasihku yang selalu mendoakanku, membantuku. Teman-teman seperjuangan yang keren abis dan yang paling mengerti, terimakasih untuk dukungan, pengalaman serta cerita selama tiga tahun ini. Kalian tidak akan pernah aku*

*lupakan. Terimakasih sudah menjadi teman dan sahabat terbaik selama*

*tiga tahun ini. Semoga kelak kita bisa bertemu dan bercerita tentang*

*kesuksesan kita masing-masing. Kepada dosen pembimbing Bapak Sentot Joko*

*Raharjo sebagai tempat konsultasi, terimakasih sudah*

*menjadi patriot saya selama menempuh gelar AM.d, ilmu yang kalian*

*berikan begitu berharga dalam kehidupan saya. Terimakasih kepada*

*seluruh AKFAR-PIM angkatan 2014 dan seluruh keluarga besar*

*PUTRA INDONESIA MALANG.*

*Terimakasih dan salam damai sejahtera*

**AMd FARM**





## ABSTRAK

Wulan, Ayu Indah Asrining. 2017 Aktivitas Partisi Etil Asetat Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) dapat Menurunkan Kadar Gula Darah dengan Induksi Streptozotosin Karya Tulis Ilmiah. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Pembimbing: Dr. Sentot Joko Raharjo, M.Si.

Kata kunci : Tanaman daun kersen, ekstrak dan fraksi etil asetat, skrining, KLT, kadar gula darah

Tanaman kersen (*Muntingia calabura L.*) dapat dengan mudah ditemui di Indonesia. Tanaman ini berwarna hijau, mempunyai bulu halus di sekitar daunnya, berbau khas kersen dan memiliki serat pada daunnya. Tanaman ini di ekstraksi dengan metode maserasi, setelah itu di fraksi dengan tiga fraksi yaitu fraksi air, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat. dari ketiga fraksi tersebut yang memiliki rendemen 1,191% b/b fraksi n-heksan, 4,402% b/b fraksi etil asetat, dan 2,487% b/b fraksi air, yang besar adalah fraksi etil asetat, itu artinya fraksi etil asetat bersifat semi polar, setelah itu di lakukan uji skrining dan uji KLT yang didapat nilai Rf 0,3 dan berwarna hijau muda atau kuning, dari uji tersebut menyatakan bahwa ekstrak dan fraksi daun kersen positif memiliki senyawa flavonoid. Kemudian dilakukan induksi pada mencit putih yang dibagi dalam 6 kelompok kontrol, pada akliminasi berat badan dan gula darah mencit normal, dan pada saat diinduksikan dengan STZ 50 mg, selain kontrol normal mengalami kenaikan yang spesifik, dan pada saat terapi selain kontrol normal mengalami penurunan. dari semua kelompok perlakuan yang penurunannya efektif yaitu dengan dosis fraksi etil asetat 200 mg rata-rata (134 mg/dl, 285 mg/dl, 136 mg/dl).

## ABSTRACT

Wulan, Ayu Indah Asrining. 2017 Activity Partition Ethyl Acetate Leaf Extract Kersen (*Muntingia calabura* L.) can Reduce Blood Sugar Levels by Streptozotosin Induction Scientific Writing. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang. Advisor: Dr. Sentot Joko Raharjo, M.Si.

**Keywords** : Plant leaves of cherry, extracts and fractions of ethyl acetate, screening, TLC, blood sugar levels or diabetes

Kersen plants (*Muntingia calabura* L.) can be easily found in Indonesia. This plant is green, has a fine hair around the leaves, typical smell of cherry and has fiber on the leaves. This plant is extracted by maceration method, then in fraction with three fractions ie water fraction, n-hexane fraction and ethyl acetate fraction. Of the three fractions having a yield of 1,191% w / w of the n-hexane fraction, 4,402% w / w ethyl acetate fraction, and 2,487% w / w of a large water fraction is the ethyl acetate fraction, Ethyl acetate is semi-polar, after which a screening test and TLC test obtained in Rf 0,3 and colored light green or yellow, from the test stated that the extract and fraction of positive kersen leaves have flavonoid compound. Then induced in white mice were divided into 6 control groups, in acclimation of body weight and blood sugar of normal mice, and when induced with STZ 50 mg, in addition to normal control had a specific increase, and at the time of therapy other than normal control decreased. Of all treatment groups were effectively decreased with an average dose of 200 mg ethyl acetate fraction (134 mg / dl, 285 mg / dl, 136 mg / dl).

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah yang berjudul “Aktivitas Partisi Etil Asetat Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) dapat Menurunkan Kadar Gula Darah dengan Induksi Streptozotisin 50 Mg” tepat pada waktunya.

Adapun tujuan dari penulisan karya tulis ilmiah ini adalah sebagai persyaratan untuk menyelesaikan program D-III di Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.

Sehubungan dengan terselesainya penulisan Karya Tulis Ilmiah ini, saya mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak, yaitu sebagai berikut:

1. Ernanin Dyah Wijayanti, S.Si., MP., selaku Direktur Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang
2. Dr. Sentot Joko Raharjo, M.Si., selaku dosen pembimbing
3. Rizka Anisa Putri, S.Farm, Apt., selaku dosen penguji I
4. Ambar Fidyasari, S. TP., MP. selaku dosen penguji II
5. Bapak dan Ibu Dosen Akademi Farmasi serta semua staf yang turut membantu dan mendukung selama penyelesaian Karya Tulis Ilmiah ini.
6. Kedua orang tua saya yang telah mengorbankan banyak hal dan selalu memberi doa serta motivasi dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini.
7. Kekasih saya Lyonk Bush Valentino yang selalu membantu saya dan memotivasi saya dalam menyelesaikan Karya Tulis Ilmiah ini
8. Sahabat-sahabat saya di Akfar dan Akafarma yang telah membantu dan memotivasi saya

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa Karya Tulis Ilmiah ini masih mempunyai beberapa kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran akan sangat diharapkan. Semoga Karya Tulis Ilmiah ini bermanfaat.

Malang, Mei 2017

Penulis



## DAFTAR ISI

**COVER**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**LEMBAR KEASLIAN TULISAN**

**HALAMAN PERSEMBAHAN**

**ABSTRAK ..... i**

**ABSTRACT ..... ii**

**KATA PENGANTAR..... iii**

**DAFTAR ISI..... iv**

**BAB I PENDAHULUAN..... 1**

1.1 Latar Belakang ..... 1

1.2 Rumusan Masalah ..... 5

1.3 Tujuan Penelitian ..... 5

1.4 Ruang Lingkup ..... 5

1.5 Keterbatasan Penelitian ..... 5

1.6 Definisi Istilah..... 6

**BAB II TINJAUAN PUSTAKA..... 7**

2.1 Diabetes mellitus..... 7

2.2 Patogenesis..... 9

2.3 Tinjauan insulin ..... 10

2.4 Hiperglikemia ..... 11

2.5 Tinjauan tentang Pankreas ..... 11

2.6 Tinjauan STZ ..... 12

2.7 Tanaman daun kersen..... 12

2.8 Ekstraksi..... 16

2.9 Fraksinasi..... 20

2.10 Kromatografi Lapis Tipis..... 20

2.11 Tinjauan tentang hewan uji .....	23
2.12 Kerangka teori.....	28
2.13 Hipotesis .....	30
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>31</b>
3.1 Rancangan Penelitian.....	31
3.2 Sampel Penelitian.....	31
3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	32
3.4 Definisi Operasional Variabel.....	32
3.5 Pengumpulan data.....	33
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>40</b>
4.1 Hasil determinasi .....	40
4.2 Hasil Simplisia .....	40
4.3 Hasil Ekstraksi .....	40
4.4 Hasil Uji Fraksi Etil Asetat .....	41
4.5 Hasil Uji Skrining .....	42
4.6 Hasil Kromatografi Lapis Tipis .....	43
4.7 Hasil Kadar Gula Darah .....	43
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>50</b>
5.1 Kesimpulan .....	50
5.2 Saran .....	50
<b>DAFTAR RUJUKAN .....</b>	<b>51</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Hasil kandungan metabolid sekunder .....	15
Tabel 2.2 Sifat berbagai golongan flavonoid .....	22
Tabel 2.3 Sifat biologis mencit .....	25
Tabel 2.4 Konversi dosis hewan coba.....	27
Tabel 4.1 Hasil uji organoleptis daun kersen.....	42
Tabel 4.2 Hasil uji organoleptis simplisia.....	43
Tabel 4.3 Hasil uji organoleptis ekstrak.....	43
Tabel 4.4 Hasil perhitungan rendemen & bobot jenis.....	43
Tabel 4.5 Hasil rendemen fraksi.....	45
Tabel 4.6 Hasil uji skrining.....	46
Tabel 4.7 Hasil rata-rata berat badan mencit.....	48
Tabel 4.8 Hasil rata-rata standart deviation betat badan mencit.....	48
Tabel 4.9 Hasil rata-rata kadar gula darah mencit.....	49
Tabel 4.10 Hasil rata-rata standart deviation kadar gula darah mencit.....	49



## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Gambar daun kersen .....	13
Gambar 2.2 Struktur Senyawa Flavonoid.....	16
Gambar 4.1 Grafik Rata-rata Berat Badan Mencit.....	44
Gambar 4.2 Grafik Rata-rata Kadar Gula Darah.....	45

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Determinasi.....	53
Lampiran 2. Simplisia dan Ekstraksi.....	54
Lampiran 3. Skrining.....	55
Lampiran 4.Kromatografi Lapis Tipis.....	56
Lampiran 5.Data Kadar Gula Darah.....	57
Lampiran 6.Perhitungan.....	59

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Seiring dengan berkembangnya zaman, kebutuhan manusia yang tinggi saat ini menyebabkan mereka lupa mengontrol terhadap asupan makanan yang masuk kedalam tubuh untuk dikonsumsi sehari-hari. Dengan banyaknya berbagai macam asupan dan makanan menjadikan gaya hidup yang tidak sehat. Makanan yang tidak terkontrol dan tidak dibatasi untuk memenuhi kebutuhan tubuh, menjadikan banyak penyakit yang beredar dimasyarakat. Salah satu penyakit yang beredar dan berkembang sangat luas dan cepat yaitu penyakit diabetes mellitus.

Diabetes melitus atau yang lebih dikenal dengan penyakit gula atau kencing manis diakibatkan oleh kekurangan hormon insulin. Hal ini disebabkan oleh pankreas sebagai produsen insulin tidak memproduksi insulin dalam jumlah yang cukup besar daripada yang dibutuhkan oleh tubuh, sehingga pembakaran tidak sempurna (Tjokroprawino, 1986). Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit kronis yang ditandai dengan kadar glukosa darah (KGD) yang tinggi (hiperglikemia), sehingga kerja insulin tidak maksimal (Bennett,P, 2008 ; Sujaya, I Nyoman,2009). Penyakit diabetes mellitus terbagi atas 2 jenis yaitu diabetes tipe 1 dan tipe 2. Diabetes tipe 1 atau *insulin-dependent diabetes* melitus (IDDM) ditandai dengan sistem imun tubuh yang menghancurkan sel-sel  $\beta$  pancreas, sehingga sel  $\beta$  tidak mampu memproduksi hormon insulin yang berfungsi untuk menurunkan kadar glukosa darah. Diabetes tipe



2 atau *non-insulin-dependent diabetes mellitus*, diawali dengan kondisi resistensi insulin yang merupakan menurunnya sensitifitas reseptor insulin pada hati, jaringan otot, dan jaringan adiposa sehingga hormon insulin tidak dipergunakan sebagaimana mestinya (Ahmad Ridwan, dkk, 2012). Berbagai laporan penelitian menyimpulkan bahwa resistensi insulin mengawali perkembangan keadaan hiperglikemik pada orang-orang yang mengalami DM tipe-2 (Mudaliar, et.al., 2001; Andul-Ghani dan DeFronzo, 2010; Choi dan Kim, 2010; Wang, et.al., 2013). Hiperglikemia yang terus menerus akan merangsang sel beta untuk menghasilkan insulin dalam jumlah yang berlebihan sebagai kompensasi terhadap resistensi insulin tersebut, Keadaan hiperglikemia kronik disertai berbagai kelainan metabolik akibat gangguan hormonal yang menimbulkan berbagai komplikasi kronik pada mata, ginjal, saraf dan pembuluh darah disertai lesi pada membran basalis dalam pemeriksaan dengan mikroskop elektron (Hongdiyanto, Yamlean, & Supriati, 2013). Resistensi insulin jika tidak ditangani dengan baik, pada perkembangan selanjutnya akan terjadi kerusakan sel-sel Beta pankreas. Kerusakan sel-sel Beta pankreas akan terjadi secara progresif seringkali akan menyebabkan defisiensi insulin, sehingga akhirnya penderita memerlukan insulin eksogen. Pada penderita diabetes melitus tipe 2 memang umumnya ditemukan kedua faktor tersebut, yaitu resistensi insulin dan defisiensi insulin. Kondisi ini dalam jangka panjang akan merusak pembuluh darah dan menimbulkan berbagai komplikasi. Komplikasi yang akan terjadi selain rusaknya sel beta pankreas, akan menyebar pada jaringan-jaringan yang lain dalam tubuh, jika sudah mulai parah sampai tidak menghasilkan insulin dan kadar gula darah meningkat akan berakibat amputasi (Heydari Iraj, Radi Vida, Razmjou Sara & Amiri

Afsaneh, 2009). Kadar glukosa darah yang tinggi akan merangsang sel beta pulau langerhans untuk mengeluarkan insulin. Akan tetapi, kerusakan sel beta pankreas menyebabkan tubuh tidak dapat menghasilkan insulin sehingga menyebabkan kadar glukosa darah meningkat (Raghavan V. A., Kline G. A., Corenblum B. 2009).

Beberapa penelitian yang menyatakan bahwa ada sebagian besar tanaman di Indonesia dapat menyembuhkan penyakit diabetes mellitus, salah satunya adalah daun kersen (*Muntingia calabura L.*), Daun kersen atau yang sering disebut daun talok ternyata memiliki banyak manfaat. Sebagian masyarakat menggunakan daun kersen untuk peluruh dahak dan penurun panas pada anak. Ekstrak etanol daun kersen yang diduga mempunyai efek menurunkan kadar gula darah (Setyowati, *et. al* 2016). Kersen (*Muntingia calabura* ), daun dan buahnya ternyata memiliki kandungan senyawa penting dan juga berkhasiat sebagai obat (Pramono 2014). Hasil penelitian daun kersen mengandung berbagai senyawa bioaktif yaitu senyawa flavonoid, saponin, triterpen, steroid, dan tannin (Kuntorini, Fitriana, & Astuti, 2013). Senyawa flavonoid sebenarnya terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah, dan biji. Kebanyakan flavonoid ini berada di dalam tumbuh-tumbuhan, karena kandungan zat aktif flavonoid yang dapat menurunkan kadar gula darah. Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan, sehingga sangat baik untuk pencegahan kerusakan sel (Waji dan Andis, 2009). Flavonoid inilah yang diduga sebagai agen antidiabetes. Flavonoid adalah senyawa organik alami yang ada pada tumbuhan secara umum. Flavonoid alami banyak memainkan peran penting dalam pencegahan diabetes dan komplikasinya

(Jack, 2012). Flavonoid merupakan senyawa polar karena mempunyai gugus hidroksil atau gula, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dan air (Markham, 1988). Sejumlah studi telah dilakukan untuk menunjukkan efek hipoglikemik dari flavonoid dengan menggunakan model eksperimen yang berbeda, hasilnya tanaman yang mengandung flavonoid telah terbukti memberi efek menguntungkan dalam melawan penyakit diabetes melitus, baik melalui kemampuan mengurangi penyerapan glukosa maupun dengan cara meningkatkan toleransi glukosa (Brahmachari, 2011).

Peningkatan kadar glukosa darah berperan terhadap komplikasi yang terjadi karena diabetes mellitus. Berdasarkan potensi penelitian sebelumnya yang dilakukan Jaiswal dkk. (2009) menyatakan daun kelor (*Moringa oleifera Lamk.*) memiliki senyawa flavonoid terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit putih, diketahui dapat mempunyai efek farmakologis antidiabetes (penurunan kadar gula darah), dimana mempunyai kandungan zat aktif flavonoid yang dapat menurunkan kadar gula darah pada dosis 120 mg/kg BB dan dosis 188 mg/kg BB. Berdasarkan Susi D. & Saleh H (2015). Selain pada tanaman daun kelor, tanaman lain yang berpotensi untuk menurunkan gula darah yaitu daun kersen (*Muntingia calabura L.*), karena mengandung zat aktif flavonoid. Menurut (Halimah,et.,al,2008) menyatakan tindakan aktivitas antioksidatif oleh flavonoid menghalangi radikal bebas pada sel  $\beta$  pankreas dan kemungkinan akan mencegah kerusakan sel yang lainnya. Flavonoid menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes dengan cara mengurangi penyerapan glukosa atau meningkatkan toleransi terhadap glukosa dan meningkatkan sekresi insulin, selain itu flavonoid dapat merangsang penyerapan glukosa pada



jaringan perifer dan mengatur kerja enzim yang terlibat dalam jalur metabolisme karbohidrat (Brahmachari, 2011). Penelitian lain juga telah membuktikan bahwa daun kersen berpotensi sebagai obat antikanker. Secara empiris, ekstrak air daun kersen telah digunakan masyarakat sebagai antidiabetes. Pada penelitian Ramdhani (2008), ekstrak etanol daun kersen dengan dosis 250 mg/kgBB mampu menurunkan kadar glukosa darah mencit akibat DM. Untuk lebih memastikan lagi dilakukan partisi atau fraksinasi. Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar. Maka pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antidiabetes fraksi etil asetat daun kersen dapat menurunkan kadar glukosa darah yang dipapar STZ pada mencit putih secara in vivo.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan pendahuluan diatas, adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah.

1. Apakah hasil partisi etil asetat ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dapat menurunkan kadar glukosa darah?

## **1.3 Tujuan**

Berdasarkan permasalahan diatas, maka tujuan dari penelitian ini sebagai berikut :

1. Membuktikan hasil partisi etil asetat ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dapat menurunkan kadar glukosa darah.

#### **1.4 Ruang Lingkup dan Keterbatasan Penelitian**

Bagian ini memuat : pengumpulan daun kersen, determinasi, pembuatan ekstrak daun kersen menggunakan etanol, isolasi, pemberian daun kersen pada tikus putih, dan uji aktivitas antidiabetes menggunakan 18 ekor mencit putih (*Mus musculus*) galur wistar dalam 6 kelompok perlakuan. Kadar glukosa diukur dengan glucometer, pengambilan data.

Adapun keterbatasan penelitian yang saya alami adalah pada metode pengujian histologi pankreas karena keterbatasan alat di laboratorium Putra Indonesia Malang.

#### **1.5 Definisi Istilah**

Untuk menghindari adanya kurang pemahaman dan salah penafsiran antara peneliti dan pembaca maka diperlukan definisi istilah sebagai berikut

1. Potensi : Merupakan kemampuan yang mempunyai kemungkinan untuk dikembangkan atau dapat pula didefinisikan sebagai kemampuan sesuatu hal yang memberikan aktivitas tertentu yang bermanfaat.
2. Daun kersen : Salah satu jenis tanaman yang mengandung flavonoid cukup tinggi serta memiliki bentuk silinder berwarna hijau. Batang tanaman berkayu, tegak bulat dengan percabangan simpodial.
3. Ekstraksi : Proses pemisahan senyawa tertentu dari suatu bahan alam dengan menggunakan pelarut dan metode tertentu.

4. STZ : bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi hewan coba seperti tikus agar hewan coba tersebut mengalami hiperglikemik.
5. Insulin : hormon yang berperan dalam metabolisme glukosa khususnya sebagai perantara masuknya glukosa di dalam darah ke sel-sel jaringan tubuh lainnya seperti otot dan jaringan lemak
6. Hiperglikemia : suatu kondisi dimana kadar glukosa dalam darah lebih tinggi dibandingkan kondisi normal
7. Metabolisme : perombakan dari glukosa dalam darah menjadi energy yang dialirkan keseluruh tubuh
8. Metabolisme karbohidrat: proses kimia yang berlangsung dalam tubuh untuk mengolah karbohidrat, dari makanan menjadi energy yang dialirkan keseluruh tubuh.
9. Fraksinasi : merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Diabetes Mellitus**

Diabetes Mellitus yaitu jenis penyakit metabolisme yang disebabkan oleh menurunnya hormon insulin yang diproduksi oleh sel beta pulau langerhans dalam kelenjar pankreas (Vessby 2006). Insulin merupakan hormon yang berperan dalam metabolisme glukosa khususnya sebagai perantara masuknya glukosa di dalam darah ke sel-sel jaringan tubuh lainnya seperti otot dan jaringan lemak. Penurunan jumlah insulin yang disekresikan oleh kelenjar pankreas mengakibatkan glukosa yang masuk ke dalam tubuh tidak dapat diproses secara sempurna sehingga kadar glukosa di dalam darah meningkat atau disebut hiperglikemia (Mahler 2007). Kadar glukosa dalam darah yang tinggi hingga melewati batas normal dapat menyebabkan penyakit gula atau diabetes mellitus. Batas kadar glukosa normal dalam darah adalah  $80 < 110$  mg/dl pada saat puasa dan  $110 < 160$  mg/dl setelah makan (Departemen Kesehatan 2005). Selain menurunnya produksi insulin, timbulnya penyakit diabetes mellitus juga dapat disebabkan oleh faktor keturunan/genetik, pola makan, obesitas, obat-obatan yang bersifat toksik atau beracun yang mampu merusak sel beta. Gejala umum yang dialami oleh penderita diabetes mellitus, yaitu sering buang air (poliuria), sering haus (polidipsia), sering lapar (polifagia), tubuh menjadi lemah dan mudah merasa lelah sehingga berat badan terus menurun, infeksi pada saluran kemih, dll

(Guyton 2006). Penyakit diabetes mellitus diklasifikasikan ke dalam beberapa kelompok, salah satunya berdasarkan gejala klinis/medis yaitu diabetes mellitus tipe 1, diabetes mellitus tipe 2, gestational diabetes mellitus.

Diabetes mellitus tipe 1 adalah tipe diabetes mellitus yang tergantung pada ketersediaan insulin. Penyebab timbulnya diabetes mellitus tipe 1 akibat kerusakan pada sel beta pulau Langerhans yang memproduksi insulin. Tipe ini dapat diderita oleh anak-anak maupun orang dewasa. Saat ini, diabetes mellitus tipe 1 hanya dapat diobati dengan penyuntikan insulin secara rutin kepada penderita (Bierman 2008).

Diabetes mellitus tipe 2 adalah tipe diabetes mellitus yang tidak tergantung pada insulin. Pada tipe ini, sel beta pulau Langerhans tidak rusak tapi insulin yang disekresikan jumlahnya sedikit dan tidak mencukupi kebutuhan tubuh akan insulin. Penderita tipe ini umumnya orang dewasa dan sifatnya diwariskan (diturunkan). Pengobatan untuk diabetes mellitus tipe 2 dilakukan dengan pengaturan pola makan dan olahraga namun dapat pula diobati dengan obat-obatan antidabetes tertentu tergantung resep dokter (Mahler 2009).

Berbagai usaha pengobatan bermunculan untuk mengobati penyakit ini namun pengobatan yang salah untuk penyakit diabetes mellitus dapat berdampak negatif terhadap beberapa organ tubuh seperti mata, jantung, dan ginjal. Obat-obat antidiabetes sekarang ini sudah banyak ditemukan. Obat antidiabetes (hipoglikemik) adalah golongan obat yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dan terbagi ke dalam dua, yaitu obat yang disintesis secara kimia dan obat tradisional (herbal) (Nurachman 2004).

## 2.2 Patogenesis

Pada DM tipe 1 atau yang disebut IDDM (Insulin Dependent Diabetes Mellitus) terjadi ketiadaan insulin yang mutlak, sehingga penderita membutuhkan pasokan insulin dari luar. Kondisi ini disebabkan karena adanya lesi pada sel beta pankreas. Pembentukan lesi ini disebabkan karena mekanisme gangguan autoimun dan infeksi virus yang terlibat dalam kerusakan sel-sel beta. Adanya antibody atau autoimun yang menyerang sel beta biasanya dideteksi beberapa tahun sebelum timbulnya penyakit. DM tipe 1 secara tiba-tiba, dengan tiga gejala pokok : (1) meningkatnya glukosa darah, (2) peningkatan penggunaan lemak untuk energy dan pembentukan kolesterol oleh hati, dan (3) penipisan protein tubuh. (Silbernagl, 2000 ; Guyton, 2011).

Diabetes mellitus tipe 2 merupakan penyakit kronis yang progresif, dimulai dengan resistensi insulin yang mengarah ke peningkatan produksi glukosa hepatic dan berakhir dengan kerusakan sel beta. Resistensi insulin didefinisikan sebagai ketidakmampuan jaringan target seperti otot dan jaringan adipose untuk merespon sekresi insulin endogen dalam tubuh (Moreira, 2010).

Faktor pemicu resiko diabetes mellitus yaitu seperti ras, etnik, riwayat keluarga dengan diabetes, usia > 45 tahun, riwayat melahirkan bayi dengan berat badan lahir lebih dari 4 kg, riwayat pernah menderita DM Gestasional dan riwayat berat badan lahir rendah <2,5 kg. faktor resiko yang dapat diperbaiki seperti berat badan lebih (indeks massa tubuh > 23 kg/m<sup>2</sup>, kurang aktivitas fisik, hipertensi (>140/90 mmHg), dyslipidemia (HDL <35 mg/dl dan atau trigliserida >250 mg/dl dan diet tinggi gula rendah serat. Faktor risiko lain yang terkait dengan resiko



diabetes seperti penderita sindrom ovarium poli-kistik, atau keadaan klinis lain yang terkait dengan resistensi insulin, sindrom metabolik, riwayat toleransi glukosa terganggu/glukosa darah puasa terganggu dan riwayat penyakit kardiovaskular (stroke, penyempitan pembuluh darah coroner jantung, pembuluh darah arteri kaki) (Tedjapranatan M, 2009).

### **2.3 Tinjauan Insulin**

Insulin merupakan hormon yang berperan penting dalam mekanisme penyakit diabetes mellitus dan memiliki peran secara langsung maupun tidak langsung dalam proses biokimia di dalam tubuh. Insulin adalah hormon yang dihasilkan oleh sel beta pada pulau Langerhans di pankreas. Kerja utama dari hormon ini adalah meningkatkan pengambilan glukosa darah ke dalam jaringan dan disimpan sebagai glikogen atau lipid (Squires 2003)

Insulin merupakan hormon anabolic yang menjaga agar tidak terjadi hiperglikemia sewaktu terjadi proses pemasukan glukosa atau pada saat terlalu banyak makan karena jumlah glukosa dalam darah merangsang sekresi insulin oleh sel beta pada pulau Langerhans pankreas. Pembentukan awal insulin terjadi akibat rangsangan glukosa pada ribosom reticulum endoplasmic kemudian menyebabkan translasi dan tran kripsim Rmenja diproinsulin. Proinsulin bergerak menuju apparatus golgi kemudian diubah menjadi insulin dan C-peptide yang dibungkus dalam granula sitoplasma (Andra, 2007 dalam Pratiwi, 2012). Granula-granula insulin tersebut tetap disimpan pada sel beta sampai waktunya dibutuhkan. Keberadaan asam lemak dapat mempengaruhi insulin. Asam lemak memiliki efek menghambat atau merangsang

sekresi insulin. Hal tersebut menegaskan bahwa asam lemak memiliki peran penting terhadap homeostasis glukosa dalam mekanisme pelepasan insulin (Gravenaetal.2002).

Reece (2005) menyatakan bahwa prinsip kerja utama dari insulin pada metabolisme karbohidrat jaringan yang sensitive terhadap insulin adalah menelenggarakan proses transportasi glukosa ke dalam membran sel.

#### **2.4 Hiperglikemia**

Hiperglikemia merupakan suatu kondisi dimana kadar glukosa dalam darah lebih tinggi dibandingkan kondisi normal. Hiperglikemia mengindikasikan penyakit diabetes mellitus, yang disebabkan tubuh tidak dapat menghasilkan atau menggunakan insulin secara cukup. Sekresi hormone ini distimulasi pula oleh peningkatan beberapa asam amino, termasuk arginine dan leusin. Penggunaan insulin berdampak pada metabolisme seluler dimulai ketika insulin berikatan dengan reseptor protein pada membran sel. Ikatan ini menyebabkan aktivasi reseptor, yang akan mengikat gugus fosfat pada enzim intraseluler.

#### **2.5 Tinjauan tentang pankreas**

Pankreas terletak pada rongga abdomen, memiliki permukaan yang membentuk lobulasi, berwarna putih keabuan hingga kemerahan (Frandsen 1992). Organ ini merupakan kelenjar majemuk yang terdiri atas jaringan eksokrin yang menghasilkan enzim-enzim pankreas (amylase, peptidase, dan lipase), dan jaringan endokrin yang menghasilkan hormone-hormon (insulin, glukagen, dan somatostatin).

Fungsi endokrin pankreas terdapat pada sekelompok sel yang ditemukan oleh Langerhans, sehingga sekelompok sel tersebut dinamakan sebagai pulau Langerhans. Pada tikus dewasa, pankreas berisi kira-kira 1-2% pulau-pulau Langerhans dengan diameter antara 100-200 (Boorman&Beth2009).

## **2.6 Tinjauan tentang diabetes mellitus yang diinduksi Streptozotosin (STZ)**

Streptozotosin (STZ) merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi hewan coba seperti tikus agar hewan coba tersebut mengalami hiperglikemik. Streptozotosin (STZ) dengan dosis sesuai akan secara selektif merusak sel-sel beta pulau Langerhans, pemberian obat-obat yang menghambat sekresi insulin dan dengan pemberian antibody antiinsulin (Widyastuti 2000; Ganong 2003). Penggunaan STZ lebih baik dalam mengurangi produk insulin karena dapat bekerja secara selektif merusak sel-sel beta pulau Langerhans, sehingga akan terjadi peningkatan kadar gula dalam darah (hiperglikemia) dan intoleransi glukosa yang merupakan manifestasi dari defisiensi insulin (Maylina 2005).

## **2.7 Tanaman Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*)**

Kersen (*Muntingia calabura L.*) adalah tanaman tahunan yang dapat mencapai ketinggian 10 meter. Batang tanaman berkayu, tegak bulat dengan percabangan simpodial. Kersen memiliki beberapa bagian seperti daun, batang, bunga dan buah. Daun kersen mengandung flavonoid, tanin, glikosida, saponin, steroid, polifenol, dan minyak esensial, (Naim, 2004). Kandungan tersebut yang membuat daun kersen memiliki potensi antioksidan dan aktivitas antibakteri yang dapat

dikaitkan dengan tingginya kandungan senyawa fenolik (Angga Dwi Prasetyo,2014). Kandungan yang sangat bagus untuk menghambat gula darah adalah senyawa flavonoid dan polifenol. Klasifikasi tanaman ini adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae(Tumbuhan)

Divisi : Magnoliophyta(Tumbuhan berbunga)

Kelas : Magnoliopsida(berkeping dua/dikotil)

Ordo : Malvales

Famili : Muntingiaceae

Genus : Muntingia

Spesies : Muntingia calabura L.

Kunci determinasi :



Gambar 2.1 Daun kersen (*Muntingia calabura* L)

### 2.7.1 Definisi Tanaman

Daun tanaman ini tunggal, berseling, bulat telur bentuk lanset, panjang 6-10 cm, ujung dan pangkal runcing, tepinya bergerigi, berbulu, sistem pertulangan menyirip, tidak simetris, hijau, mudah layu. Bunganya berisi 1-3-5 kuntum, terletak di ketiak agak di sebelah atas tumbuhnya daun, bertangkai panjang, berkelamin dua dan berbilang 5, kelopak berbagi dalam, tajuk meruncing bentuk benang, berambut

halus, mahkota bertepi rata, bundar telur terbalik dan putih tipis. Benang sari berjumlah banyak, 10 sampai lebih dari 100 helai. Bunga yang mekar menonjol keluar, ke atas helai-helai daun, namun setelah menjadi buah menggantung ke bawah, tersembunyi di bawah helai daun. Umumnya hanya satu-dua bunga yang menjadi buah dalam tiap berkasnya. Tanaman ini biasanya tumbuh dengan ukuran kecil namun kadang juga bisa berukuran besar bahkan ada yang bisa mencapai tinggi hingga 12 meter. Daunnya selalu hijau terus menerus, berbunga dan berbuah sepanjang tahun. Cabang-cabang mendatar, menggantung di ujungnya. membentuk naungan yang rindang. Ranting-ranting berambut halus bercampur dengan rambut kelenjar demikian pula daunnya. Buah memiliki diameter hingga 1,5 cm berbentuk seperti ceri jika matang maka akan berwarna merah dan berasa manis. Sedangkan bijinya berbentuk bulat, kecil, putih kekuningan, tiap buah mengandung ratusan biji, dan pada akarnya tunggang. (Materia Medika Batu, 2016).

#### 2.7.2 Kandungan Tanaman

Hasil analisis fitokimia yang telah dilakukan, maka senyawa yang diisolasi daun kersen adalah senyawa flavonoid karena hasil uji terhadap flavonoid menunjukkan hasil yang positif. Ekstraksi dilakukan dengan pelarut n-heksana, kloroform, etanol, dan metanol. Masing-masing ekstrak yang diperoleh kemudian diuji terhadap flavonoid yaitu dengan mereaksikan ekstrak tersebut dengan HCl pekat dan serbuk Mg. Ekstrak n-heksana dan ekstrak kloroform menunjukkan hasil yang negatif terhadap flavonoid karena tidak menghasilkan warna merah sedangkan ekstrak etanol dan metanol terhadap flavonoid dengan HCl dan serbuk Mg

menghasilkan warna merah (Supartono, 2012). Selain flavonoid ekstrak daun kersen mempunyai kandungan metabolite sekunder antara lain alkaloid, steroid, dan saponin. Keberadaan metabolit sekunder tersebut menunjukkan bahwa daun kersen mempunyai efek farmakologis dan berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan obat-obatan.(Setyowati,.et.,al 2016)

Tabel 2.1. Hasil kandungan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*).

No.	Kandungan Kimia	Hasil	Keterangan
1.	Flavonoid	Jingga,merah, dan kuning (+)	(+) jika terbentuk warna merah, kuning atau jingga.
2.	Alkaloid	Endapan coklat (+)	(+) jika terbentuk endapan coklat muda sampai kuning.
3.	Steroid	Hijau (+)	(+) jika terbentuk warna hijau sampai biru.
4.	Saponin	Terbentuknya busa > 10 menit (+)	(+) jika terbentuk busa stabil selama $\pm$ 10 menit.

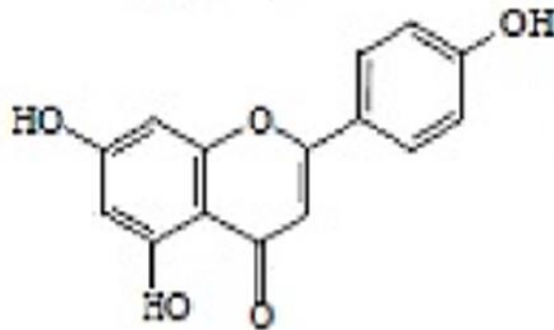
Flavonoid umumnya terdapat dalam tumbuhan, terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon. Flavonoid dapat berfungsi sebagai antimikrobia, antivirus, antioksidan, antihipertensi, merangsang pembentukan estrogen, dan mengobati gangguan fungsi hati (Binawati dan Amilah, 2013).

Golongan flavonoid mempunyai ciri adanya cincin piran yang menghubungkan rantai tiga karbon dengan salah satu dari cincin benzena (Robinson, 1995). Flavonoid merupakan senyawa fenol yang dapat berubah bila ditambahkan senyawa yang bersifat basa atau amonia. Flavonoid di alam merupakan senyawa yang larut dalam air. Ikatan flavonoid dengan gula menyebabkan banyaknya bentuk



kombinasi yang dapat terjadi di dalam tumbuhan, sehingga flavonoid pada tumbuhan jarang ditemukan dalam keadaan tunggal (Harbone, 1987).

Flavonoid mempunyai aktivitas antibakteri karena flavonoid mempunyai kemampuan berinteraksi dengan DNA bakteri dan menghambat fungsi membran sitoplasma bakteri dengan mengurangi fluiditas dari membran dalam dan membran luar sel bakteri. Akhirnya terjadi kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri dan membran sel tidak berfungsi lagi sebagaimana mestinya, termasuk untuk melakukan perlekatan dengan substrat. Hasil interaksi tersebut menyebabkan terjadinya kerusakan permeabilitas dinding sel bakteri, mikrosom dan lisosom. Ion hidroksil secara kimia menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi, sehingga menimbulkan efek toksis terhadap sel bakteri (Sudirman, 2014). Struktur umum flavonoid dapat dilihat pada Gambar 2.3



Gambar 2.2 Struktur flavonoid (Sudirman, 2014)

## 2.8 Ekstraksi

Ekstraksi adalah metode pemisahan senyawa dari campurannya dengan menggunakan pelarut atau metode penarikan kandungan senyawa kimia metabolit

sekunder dari bagian tumbuhan dengan menggunakan pelarut-pelarut yang sesuai. Dalam pemilihan pelarut pengestraksi berlaku prinsip polar loves polar dan non polar loves non polar, artinya bila kita akan mengekstraksi senyawa non polar, harus digunakan pelarut non polar dan bila kita akan mengekstraksi senyawa polar harus digunakan pelarut polar. Contoh pelarut polar adalah air, metanol, dan etanol, pelarut semi polar misalnya aseton, dan etil asetat, serta pelarut non polar yang umum digunakan adalah normal heksana, eter minyak tanah, kloroform, dan diklorometana. Dalam pustaka-pustaka sering dinyatakan ekstraksi dengan benzena atau kloroform atau karbon tetraklorida sebagai pelarut non polar, tetapi kini benzena, kloroform, dan karbon tetraklorida mulai ditinggalkan karena sifat hepatotoksiknya yang tinggi.

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibagi menjadi dua yaitu ekstraksi cara dingin dan ekstraksi cara panas.

### 2.8.1 Ekstrak cara dingin

#### 1. Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes,2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar

kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut. Pelarut yang mengalir ke dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan larut sesuai dengan kelarutannya (Lenny, 2006).

## 2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (exhaustive extraction) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

### 2.8.2 Ekstraksi cara panas

#### 1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

#### 2. Ekstraksi kontinyu dengan alat Soxhlet

Ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

### 3. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan (kamar), yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

### 4. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit).

### 5. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama ( $\geq 30$  menit) dan temperatur sampai titik didih air.

### 6. Pressurized Hot Water Extraction (PHWE)

PHWE adalah ekstraksi menggunakan pelarut air dengan temperatur tinggi dan pada kondisi tekanan yang terkendali sehingga dapat menarik komponen organik atau non-polar.

#### 2.8.3 Parameter Uji Kandungan Kimia Ekstrak (23)

Salah satu metode yang digunakan untuk mengetahui parameter uji kandungan kimia ekstrak adalah kromatografi lapis tipis (KLT). Pola kromatogram mempunyai tujuan untuk memberikan gambaran awal komponen kandungan kimia berdasarkan pola

kromatogram kemudian dibandingkan dengan data baku yang ditetapkan terlebih dahulu.

## **2.9 Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan prosedur pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari kandungan yang lain. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar dan senyawa non polar akan masuk ke pelarut non polar. Metode fraksinasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan kromatografi kolom. Kolom diisi dengan penyerap padat sebagai fase tetap dan dialiri dengan pelarut sebagai fase gerak. Cuplikan yang akan difraksi dimasukkan ke dalam kolom dan dialiri fase gerak yang akan membentuk jalur-jalur serapan dari senyawa. Bila pelarut dibiarkan mengalir melalui kolom, ia akan mengangkut senyawa-senyawa yang merupakan komponen-komponen dari campuran. Pemisahan komponen suatu campuran tergantung pada tingkat kepolaran dari fase gerak dan senyawa yang terkandung dalam campuran tersebut.(Sastrohamidjodjo, H., 2002)

## **2.10 Kromatografi**

Beberapa metode kromatografi memberikan cara pemisahan paling kuat di laboratorium kimia. Gagasan dasarnya sederhana untuk dipahami caranya beragam, mulai dari cara sederhana sampai yang agak rumit dari segi kerja dan peralatan, tetapi metode ini dapat dipakai untuk setiap jenis senyawa, karena pemanfaatannya yang leluasa, dipakai secara luas untuk pemisahan analitik dan preparatif. Hampir setiap

campuran kimia, mulai dari bobot molekul rendah sampai tinggi dapat dipisahkan menjadi komponen-komponennya dengan beberapa metode kromatografi. Jenis pemisahan, apakah analitik atau preparatif, tidak ditentukan oleh ukuran cuplikan, dan kromatografi preparatif hanya dilakukan jika diperlukan fraksi murni dari campuran.

#### **2.10.1 Kromatografi Lapis Tipis (Thin Layer Chromatography)**

KLT merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan adsorben (fase stasioner) berupa lapisan tipis seragam yang disalutkan pada permukaan bidang datar berupa lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Pengembangan kromatografi terjadi ketika fase gerak tertapis melewati adsorben. Pelarut organik yang sering digunakan sebagai fase gerak adalah parafin cair, petroelum eter, sikloheksana, karbon tetraklorida, benzena, toluena, kloroform, dietil eter, etil asetat, aseton, n-propanol, etanol, asetonitril, methanol, air. Sedangkan fase diam yang digunakan adalah silika gel G, silika gel S, silika gel GF atau GF254, alumina dan selulosa (Deinstrop, Elke H,2007).

#### **2.10.2 Identifikasi Senyawa Golongan Flavonoid**

Sunyoto dkk mengidentifikasi flavonoid rimpang lengkuas merah menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika GF 254 dan fase gerak etil asetat : methanol : air (4 : 1 : 5). Koirewoa dkk (2012) melakukan isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dalam daun beluntas. Isolasi dilakukan dengan cara ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96% p.a selama 7 hari dan partisi menggunakan pelarut n-heksana yang menghasilkan ekstrak kental



daun beluntas. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dengan Kromatografi Lapis Tipis menggunakan eluen n-butanol : asam asetat : air (BAA) (4:1:5).

Eluen-eluen yang digunakan untuk memisahkan senyawa flavonoid adalah butane : asam asetat : air (3:1:1) (Marliana,dkk.,2005) menghasilkan bercak biru, metanol-kloroform (1:39) dan (1:9) (Milyasari, 2011) menghasilkan bercak lembayung gelap, fase gerak petroleum eter-etil asetat (5:1) menghasilkan bercak coklat-merah, dan fase gerak kloroform-metanol-air (9,7:0,2:0,1) (Fitriani, 2011) menghasilkan bercak kuning setelah disemprot penampak bercak amonia.

Pradana (2014) telah melakukan identifikasi flavonoid pada ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (ten.) steenis). Pemisahan senyawa flavonoid dipisahkan dengan KLT diperoleh eluen terbaik yaitu BAA (4:1:5) dihasilkan 6 spot dengan nilai (Rf) 0,3 hijau muda, 0,65 hijau 0,69 merah muda, 0,81 merah, 0,9 hijau tua 0,94 hijau tua. Windono (2012) dari fraksi etil asetat rimpang lempuyang gajah (*Zingiber zerumbet* SM) pemisahan senyawanya menggunakan KLT dengan fase gerak campuran butanol-asam asetat-air (4:1:5) menghasilkan nilai Rf 0,87 yang diasumsikan senyawa flavonoid karena menunjukkan warna merah pada uji sianidin dan berflourosensi kuning setelah dilakukan hidrolisis. Senyawa yang diduga adalah flavonol dengan C-3 tersubstitusi gula dengan gugus OH bebas pada C-4', C-5 dan C-7.

Tabel. 2.2 Sifat Berbagai Golongan Flavonoid (Markham, K.R.,)

Golongan Flavonoid	Penyebaran	Ciri khas
Antosianin	Pigmen bunga merah marak, merah, merah senduduk, dan biru; juga dalam daun dan jaringan lainnya.	Larut dalam air, $\lambda_{maks}$ 515-545 nm, bergerak dengan BAA pada kertas.
Proantosianidin	Terutama tanwarna, dalam galih dan daun tumbuhan berkayu	Menghasilkan antosianidin (warna dapat diekstraksi dengan amil alkohol) bila jaringan dipanaskan dalam HCl 2M selama setengah jam.
Flavonol	Terutama ko-pigmen tanwarna dalam bunga sianik dan asianik; tersebar luas dalam daun	Setelah hidrolisis, berupa bercak kuning murup pada kromatogram Forestal bila disinari dengan sinar UV ; maksimal spektrum pada 350 – 386 nm.
Flavon	Seperti flavonol.	Setelah dihidrolisis, berupa bercak coklat redup pada kromatogram Forestal ; maksimal spektrum 330 – 350 nm.
Glikoflavon	Seperti flavonol.	Mengandung gula yang terikat melalui ikatan C-C; bergerak dengan pengembang air, tidak seperti flavon biasa.
Biflavonil	Tanwarna; hampir seluruhnya terbatas pada gimnospermae.	Pada kromatogram BAA berupa bercak redup dengan RF tinggi.
Khalkon dan Auron	Pigmen bunga kuning, kadang-kadang terdapat juga dalam jaringan lain.	Dengan amoniak berwarna merah (perubahan warna dapat diamati insitu), maksimal spektrum 370 – 410 nm.
Flavonon	Tanwarna; dalam daun dan buah (terutama dalam citrus).	Berwarna merah kuat dengan Mg/HCl; kadangkadang sangat pahit.
Isoflavon	Tanwarna; sering kali dalam akar; hanya terdapat dalam satu suku, Leguminosae	Bergerak pada kertas dengan pengembang air; tak ada uji warna khas.

### 2.11 Tinjauan Tentang Hewan Uji

Mencit adalah anggota Muridae (tikus – tikusan) yang memiliki berat badan 20 – 30 g, hidung runcing, badan kecil 6 – 10 cm, telinga tegak, besar untuk ukuran binatang 15 mm atau kurang, dan biasanya termasuk rodensia pemanjat, kadang – kadang menggali lubang. (Info Kesehatan, Direktorat Pengembangan Sekolah Luar Biasa). Aktivitas nocturnal yaitu aktivitas kawin dan mencari makan dilakukan pada malam hari. Penglihatan buruk karena retina sedikit cones dan tidak dapat melihat warna, namun penciumannya baik. Merupakan hewan soliter dan sosial. Dua sifat yang membedakan mencit dari hewan percobaan lain adalah mencit tidak mudah muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esophagus bermuara ke dalam lambung dan tidak memiliki kantung empedu.



Gambar 2.3 Mencit Putih (*Mus musculus*)

Klasifikasi mencit menurut Departemen Kesehatan adalah:

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Sub Filum : Vertebrata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Sub Ordo : Myormopha

Famili : Muridae

Sub Famili : Murinae

Genus : Mus

Spesies : Mus musculus

Tabel 2.3 Sifat Biologis Mencit (*Mus musculus*)

Masa beranak	Sepanjang tahun
Hamil	19-20 hari
Jumlah sekali lahir	4-12 (biasanya 6-8)
Lama hidup	2-3 tahun
Dikatakan dewasa setelah berumur	35 hari
Masa laktasi	21 hari
Frekuensi kelahiran / tahun	4
Suhu tubuh	37,9 – 39,2 °C
Berat badan dewasa	20-40 gr jantan 18-35 gr betina
Konsumsi pakan / hari	5 g ( umur 8 minggu )
Konsumsi air minum / hari	6,7 mL ( umur 8 minggu )
Berat lahir	0,5 – 1,0 gr
Volume darah	7,5 % BB
Ekskresi urin/ hari	0,617-2,206 mL/hari
Tekanan darah	130-160 sistol, 80 diastol dengan anestesi
Kecepatan respirasi	140 – 180/ menit, turun menjadi 80 dengan anestesi naik sampai 230 dalam stress
Denyut jantung	600 – 650/ menit, turun menjadi 80 dengan anestesi, naik sampai 230 dalam stress
Kolesterol serum	26,0 – 82,4 mg/ 100 mL
Volume darah	75-80 mL/ kg
Sel darah merah	7,7 – 12,5 x 10 <sup>6</sup> / mm <sup>3</sup>
Sel darah putih	6,0 – 12,6 x 10 <sup>3</sup> / mm <sup>3</sup>
Protein plasma	4,0 – 6,8 g/ 100 mL

Sumber : Lucia, 2011 : 13

Salah satu persyaratan agar mencit dapat digunakan untuk uji farmakologi adalah sehat. Mencit dikatakan sehat apabila selama masa adaptasi lingkungan 1 – 2 minggu maka bobot badan mencit tidak boleh berkurang 10%.

Bulu mencit sehat tampak bersih, halus, dan mengkilat. Bola mata tampak kemerahan dan jernih, hidung dan mulut tidak berlendir atau mengeluarkan air liur terus – menerus. Konsistensi fesesnya normal dan padat, tidak cair atau diare. Hewan tampak aktif dan selalu bergerak ingin tahu (Lucia, 2011 : 13 ).

Kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut, kriteria inklusi: mencit jenis, jenis kelamin jantan, umur 6-8 minggu, berat badan antara 15 gram s.d. 20 gram, warna bulu putih tikus aktif dan kriteria eksklusi: tikus yang tidak mau makan dan tikus yang mengalami penurunan keadaan fisik atau mati (Mawarwati dkk., 2012)

Hewan coba diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7-14 hari. Aklimatisasi bertujuan untuk menghilangkan stress akibat transportasi, serta untuk mengkondisikan hewan dengan suasana lab. Pada waktu aklimatisasi, temperatur dan kelembaban harus diperhatikan. Temperatur yang cocok untuk aklimatisasi adalah temperatur kamar dengan kelembaban 40-60% (Anggraini,2013).

Binatang percobaan biasanya memberikan hasil dengan deviasi yang lebih besar dibandingkan dengan percobaan *in vitro*, karena adanya variasi biologis. Maka untuk mencegah supaya variasi tersebut minimal, binatang-binatang yang mempunyai spesies, dan strain yang sama, usia yang sama, jenis kelamin yang sama, dipelihara pada kondisi yang sama pula. Binatang percobaan harus diberi makan sesuai dengan makanan standar untuknya dan diberi minuman *ad libitum*. Lebih lanjut untuk

mengurangi variasi biologis, binatang harus dipuaskan semalam sebelum percobaan dimulai. Dalam periode ini binatang hanya diperbolehkan *minuet ad libitum*. Dosis obat yang diberikan pada hewan dinyatakan dalam mg atau g per g bobot tubuh hewan. Karena itu perlu diketahui berat dari tiap-tiap hewan yang akan digunakan dalam percobaan.

Dicari Dik	20 g Mencit	200 g tikus	400 g marmot	1,5 kg Kelinci	2,0 kg kucing	4,0 kg kera	12,0 kg anjing	70,0 kg manusia
20 g mencit	1,0	7,0	12,29	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
200 g Tikus	0,14	1,0	1,74	3,0	4,2	9,2	17,8	56,0
400g marmot	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
1,5 kg kelinci	0,04	0,25	0,44	1,0	1,06	2,4	4,5	14,2
2,0 kg kucing	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
4,0 kg Kera	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
12,0 kg anjing	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
70,0 kg manusia	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,013	0,16	0,32	1,0

Tabel 2.4 Konversi Dosis Hewan Coba (Pharmacometrics, 1964).

### 2.11.1 Pengambilan Darah

Pada umumnya pengambilan darah terlalu banyak pada hewan kecil dapat menyebabkan syok hipovolemik, stres dan bahkan menyebabkan kematian. Tetapi bila dilakukan pengambilan sedikit darah tapi sering juga dapat menyebabkan anemia. Pada umumnya pengambilan darah dilakukan sekitar 10% dari total volume

darah dalam tubuh dan dalam selang waktu 2-4 minggu atau sekitar 1% dengan interval 24 jam. Total darah yang diambil 7,5% dari bobot badan. Pengambilan darah dapat dilakukan pada lokasi tertentu dari tubuh yaitu : vena lateral dari ekor, sinus orbitalis mata, vena saphena (kaki), langsung dari jantung (Dini M.I, 2016).

## **2.12 Kerangka Teori**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas partisi etil asetat ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) pada penurunan gula darah yang pendekatannya meliputi penurunan kadar gula darah atau diabetes mellitus oleh ekstrak daun kersen setelah diberi perlakuan diet tinggi lemak. Daun kersen dipilih dalam penelitian ini karena mengandung berbagai senyawa bioaktif yaitu senyawa flavonoid, saponin, triterpen, steroid, dan tannin. Kandungan terbesar dari daun kersen adalah flavonoid. Sebelumnya daun kersen nantinya akan diekstraksi dan isolasi untuk di peroleh isolate daun kersen. Daun kersen diekstraksi dengan metode maserasi dengan penambahan etanol 70% sebagai pelarutnya dengan perbandingan 1:7, untuk memisahkan fase air dengan fase ekstraknya dan di saring sehingga menghasilkan endapan dan filtrat. Kemudian hasil filtrat daun kersen tersebut di kentalkan dengan menggunakan waterbath. Setelah diperoleh ekstrak daun kersen kental dianalisis isolat daun kersen menggunakan metode skrining, KLT dan fraksi yang bertujuan mengidentifikasi kandungan dalam isolate ekstrak daun kersen tersebut. Setelah diketahui senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid memiliki sifat antioksidan, antiinflamasi, dan antidiabetes yang dapat menghambat kenaikan gula dalam darah. Senyawa yang telah diidentifikasi tersebut diujikan pada hewan uji

untuk mengetahui isolat senyawa flavonoid dalam menurunkan kadar gula darah serta aktivitas senyawa flavonoid untuk memperbaiki sel pankreas yang rusak akibat gangguan metabolisme glukosa dalam.

Metode pengujian terapinya dilakukan dengan menggunakan hewan coba yaitu mencit dan masa percobaan selama 28 hari. Pada minggu pertama hewan uji diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari. Tikus yang telah diadaptasikan selanjutnya dikelompokkan melalui metode randomisasi menjadi 6 kelompok percobaan. Kelompok 1 sebagai kontrol negatif (-) atau kelompok yang tidak diberi glukosa atau gula. Kelompok 2 sebagai kontrol positif (-) atau kelompok yang hanya diberikan gula dan STZ selama waktu percobaan. Kelompok 3 gula dan diinduksi STZ pada minggu ke-2 kemudian diberikan obat anti diabetes (metformin) dengan dosis tertentu. Kelompok 4, 5 dan 6 sebagai kelompok perlakuan yaitu setelah diberikan gula dan induksi STZ pada minggu ke-2 kemudian diterapi oleh ekstrak daun kersen dengan 3 dosis yang berbeda yaitu 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB dan 400 mg/Kg BB hewan coba. Setelah itu dilakukan pengecekan dan dibandingkan keefektifan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan.

### **2.13 Hipotesis**

H1 = Adanya potensi partisi etil asetat daun kersen terhadap kadar gula darah pada mencit yang mengalami hiperglikemia atau diabetes mellitus

H0 = Tidak adanya potensi partisi etil asetat daun kersen terhadap kadar gula darah pada mencit yang mengalami hiperglikemia atau diabetes mellitus.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan tujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dalam menurunkan kadar glukosa serta memperbaiki jaringan beta pankreas yang rusak akibat komplikasi diabetes mellitus pada mencit. Tahap penelitian ini meliputi tahap persiapan, tahap pelaksanaan dan tahap akhir. Tahap awal yang perlu dilakukan adalah menentukan metode pembuatan, merancang prosedur beserta alat dan bahan. Tahap pelaksanaan meliputi determinasi daun kersen, proses pembuatan ekstraksi daun kersen, perlakuan hewan coba, pengujian kadar glukosa darah, dan pengujian histology pankreas. Tahap akhir berupa analisis data dari hasil yang telah didapat.

#### **3.2 Populasi dan Sampel Penelitian**

Populasi adalah keseluruhan subjek penelitian. Apabila seorang ingin meneliti suatu elemen yang ada dalam wilayah penelitian, maka penelitiannya merupakan penelitian populasi. Sedangkan sampel adalah sebagian atau wakil populasi yang diteliti.

##### **3.2.1 Populasi Penelitian**

Populasi dalam penelitian ini adalah ekstrak daun kersen

### 3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah fraksi etil asetat daun kersen yang diberikan pada mencit sebagai penghambat antidiabetes.

## 3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

### 3.3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian potensi partisi etil asetat ekstrak daun kersen sebagai anti diabetes dan penurunan kadar gula darah yang diuji secara *in-vivo* dilakukan di Laboratorium Farmakologi Putra Indonesia Malang

### 3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilaksanakan mulai dari penyusunan proposal dimulai dari bulan Desember 2016 hingga Juni 2017

## 3.4 Definisi Operasional Variabel

Pada penelitian ini terdapat dua variabel, yaitu variabel bebas dan variable terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah isolat daun kersen dan variabel terikat dalam penelitian ini adalah penurunan kadar gula darah total serta histologi jaringan pankreas pada mencit

No.	Variabel	Definisi Operasional	Indikator	Alat Ukur	Hasil Pengukuran
1	Partisi etil asetat ekstrak daun kersen	- Hasil perolehan partisi etil asetat ekstrak daun kersen dengan menggunakan metode maserasi dan evaporator	- Rendemen - Bobot jenis	- Timbangan analitik	Nominal

		- Karakterisasi dari partisi etil asetat ekstrak daun kersen	- Penampak noda	- Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	Ordinal
2	Aktivitas partisi etil asetat ekstrak daun kersen sebagai penurun kadar gula atau diabetes mellitus	Kadar gula darah awal dibanding dengan kadar gula darah setelah pemberian STZ dan setelah pemberian partisi etil asetat ekstrak daun kersen	$\geq 200$ mg/dL	<i>Easy touch</i> gula darah	Rasio

### 3.5 Pengumpulan Data

Pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan melalui langkah kerja sebagai berikut :

#### 3.5.1 Alat

Alat-alat dalam penelitian ini antara lain alat-alat gelas (erlenmeyer, beaker glass, spatula dan batang pengaduk), oven, blender, pengayak 30 mesh, alat infundasi, sentrifuge, HPLC, Glukometer “On-call plus”, spektrofotometri UV-Visible dan Infra merah. Alat-alat yang digunakan untuk pemeliharaan sampel tikus dan pemberian perlakuan yaitu perangkat sonde, kandang individu, wadah air minum, timbangan digital.

#### 3.5.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kersen (*Muntingia calabura L.*) sebagai bahan utama. Sedangkan untuk (kontrol positif) metformin, pellet, aquades (kontrol negatif) , mencit putih jantan, etanol 70%,

Serbuk Mg dan HCl pekat, dan STZ (untuk pemicu penyakit diabetes pada mencit), pakan mencit, tes kit, sekam padi.

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan umur 2-3 bulan dengan berat badan 20 gram. Mencit dijadikan 6 Kelompok yang diambil secara acak, masing-masing terdiri dari 3 ekor mencit, dimasukkan kandang sesuai kelompok perlakuan

### 3.5.3 Penyiapan Simplisia

1. Daun kersen (*Muntingia calabura L.*) yang masih segar dan tua dipilih mana yang layak untuk digunakan
2. kemudian dicuci dengan air mengalir sampai bersih lalu tiriskan,
3. kemudian diranjang-ranjang dan dikeringkan dengan cara diletakkan ditempat terbuka dengan sirkulasi udara yang baik dan tidak terkena sinar matahari secara langsung dengan ditutup menggunakan kain hitam atau dapat dikeringkan dengan oven suhu 60°C selama 1x24jam.
4. Selanjutnya daun kersen (*Muntingia calabura L.*) di pilih kembali setelah mengalami proses pengeringan
5. kemudian dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan nomer ayak 30 mesh sampai diperoleh serbuk halus dan disimpan dalam wadah tertutup rapat.

### 3.5.4 Pembuatan Ekstrak

1. Ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) diperoleh dengan cara maserasi yaitu ambil sebanyak 1000 g serbuk simplisia ditambah dengan pelarut etanol 70% sebanyak 7 L.

2. Maserasi dilakukan selama 7 hari dalam ruang yang terlindung dari cahaya matahari dan dilakukan pengadukan secara berkala.
3. Setelah itu ekstrak yang diperoleh disaring dengan menggunakan kertas saring.
4. Selanjutnya ekstrak diuapkan dengan waterbath pada temperatur 50°C hingga diperoleh ekstrak kental.

#### 3.5.5 Identifikasi Skrining Fitokimia Flavonoid

1. Identifikasi flavonoid dengan cara pengambilan ekstrak daun kersen sebanyak 3ml
2. Kemudian Filtratnya ditambah serbuk Mg 0,1 gram + 2 tetes HCl pekat.
3. Diamkan sampai terbentuknya warna merah pada lapisan etanol menunjukkan adanya flavonoid.

#### 3.5.6 Fraksinasi dan Pemantauan Fraksi Fraksinasi

1. ekstrak dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (ECC) menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda dan tidak saling bercampur.
2. Sebanyak 7,17 gram ekstrak kental dilarutkan dalam air dan diekstraksi cair-cair dengan pelarut n-heksana (1:1) sampai terekstraksi sempurna dan diperoleh lapisan air dan lapisan n-heksana.
3. Lapisan air difraksinasi kembali dengan pelarut etil asetat (1:1) sampai terekstraksi sempurna dan menghasilkan lapisan air dan lapisan etil asetat.

4. Setelah itu lapisan air, lapisan n-heksana dan lapisan etil asetat yang terkumpul dipisahkan dengan rotary evaporator dan diuapkan diatas penangas air
5. Setelah itu di timbang dan di hitung rendemennya dari masing-masing fraksi.

### 3.5.7 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Setelah itu pengujian dengan Kromatografi Lapis Tipis. Fase diam yang digunakan dalam skrining ini adalah Silika gel GF254 ukuran 20x20 cm<sup>2</sup> yang kemudian dipotong sesuai kebutuhan 2x8 cm, sedangkan fase gerak dan penampakan noda yang digunakan sebagai berikut

Cara metode Kromatografi Lapis Tipis :

1. Ambil silika gel GF254 dan di ukur dengan ukuran 20 x 20 cm, kemudian di potong dengan ukuran 2 x 8 cm
2. Setelah itu di panaskan menggunakan oven dengan suhu 110 °C dan di amkan selama 15 atau 30 menit.
3. Sambil menunggu silika gel siap, buat eluen dengan memakai 3 eluen yaitu butanol : asam asetat : aquades, dengan perbandingan 4:1:5
4. Eluen tersebut dicampur jadi satu dalam chamber dan tutup, tunggu sampai eluen tersebut siap.
5. Setelah semua sudah siap dari silika gel dan eluen, lalu kita lakukan penotolan pada titik penotolan di silika gel yang sudah di tentukan dengan menggunakan pipa kapiler sebanyak 10 kali penotolan

6. Setelah itu masukkan silica gel tersebut pada chamber yang sudah di isi eluen dan di tutup.
7. Diamkan dan tunggu beberapa saat sampai batas yang sudah di tentukan.
8. Setelah sudah ada bercak noda sampai batas tersebut, lalu angkat dan di angina-anginkan sebentar
9. Lalu silica gel tersebut di beri semprotan sitoborat pada bercak noda dan lalu di amati pada sinar UV jika positif flavonoid akan menimbulkan warna jingga pada bercak noda.

#### 3.5.8 Pembuatan Larutan Induksi

1. Siapkan alat dan bahan, bahan yang di butuhkan Na sitrat, STZ, aquadest dan asam phospat
2. Larutkan Na sitrat dengan 50 ml aquadest sampai benar-benar larut, setelah itu masukkan STZ dan di larutkan
3. Larutan tadi di tambahkan asam phospat sampai pHnya 4,5
4. Jika larutan tersebut pHnya sudah 4,5, maka larutan tersebut siap untuk di induksikan ke mencit

#### 3.5.9 Perlakuan Hewan Coba

1. Hewan coba yang digunakan adalah mencit sebanyak 18 ekor usia 2-3 bulan dengan berat  $\pm$  20 gram.
2. Hewan coba dikelompokkan menjadi 6 kelompok perlakuan. Sedangkan 3 kelompok sesuai perlakuan metode ekstraksi daun kersen dengan

konsentrasi A, B, C dan 1 kelompok control (+), 1 lagi kelompok control (-) dengan setiap kelompok terdiri dari 3 ekor mencit.

3. Semua kelompok diaklimatisasi terlebih dahulu selama 1 minggu dalam kondisi adaptasi. Percobaan dilakukan selama 28 hari,
4. Lalu berat badan mencit ditimbang setiap 3 hari sekali dan kadar glukosa darah mencit dianalisis setiap minggu.
5. Masing- masing kelompok diberi perlakuan yang berbeda-beda. Kelompok mencit kontrol normal diberi pakan dan minuman standar secara terus-menerus selama 3 minggu. Kelompok mencit kontrol positif (induksi STZ) pada minggu pertama diberi pakan dan minuman standar, selanjutnya diberi pakan dan minum gula dan diinduksi STZ sampai minggu ke 3. Kelompok terapi (induksi STZ + Metformin) pada minggu pertama diberi pakan dan minuman standar, selanjutnya minggu ke 2 diberi pakan, minum gula dan diinduksi STZ, minggu ke 3 mencit diberi obat metformin sampai 1 minggu. Kelompok terapi (induksi STZ + Fraksi daun kersen 10 %) pada minggu pertama diberi pakan dan minuman standar, selanjutnya minggu ke 2 diberi pakan, minum gula dan diinduksi STZ, minggu ke 3 mencit diberi perlakuan fraksi etil asetat ekstrak daun kersen selama 1 minggu secara terus-menerus 3 x 1 hari dengan dosis 10%. Kelompok terapi (induksi STZ + fraksi daun kersen 20%) pada minggu pertama diberi pakan dan minuman standar, selanjutnya minggu ke 2 diberi pakan, minum gula dan diinduksi STZ, minggu ke 3 mencit diberi perlakuan fraksi etil asetat ekstrak daun kersen selama 1 minggu



secara terus-menerus 3 x1 hari dengan dosis 20%. Kelompok terapi (induksi STZ + Fraksi daun kersen 40%) pada minggu pertama diberi pakan dan minuman standar, selanjutnya minggu ke 2 diberi pakan, minum gula dan diinduksi STZ, minggu ke 3 mencit diberi perlakuan dengan fraksi etil asetat ekstrak daun kersen selama 1 minggu secara terus-menerus 3 x 1 hari dengan dosis 40%.

6. Setelah dipuasakan 16 jam, mencit diambil darahnya untuk mengetahui kadar glukosa awal dan sesudah di induksi STZ secara intraperitoneal, kemudian diinjeksi metformin dan perlakuan dosis dengan fraksi etil asetat ekstrak daun kersen sesuai dosis 10%, 20% dan 40%.

#### 3.5.10 Pengujian Kadar Glukosa Darah Metode Glukometer

1. Sampel darah diambil dari ekor mencit. Sebelum pengambilan darah, mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam.
2. Bagian ekor disterilkan dengan alkohol 70% kemudian ditusuk dari ujung menggunakan *jarum* yang dibersihkan dengan alkohol.
3. Setelah tusuk, ekor diurut-urut sehingga darah keluar dan diteteskan dalam *glucometer stick*  $\pm 1\mu\text{l}$  lalu didiamkan selama 10 detik.
4. Kadar glukosa darah diukur menggunakan alat *Glucometer "On-Call Plus" Blood Glucose Monitoring System*.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Hasil Determinasi**

Pada penelitian ini digunakan daun kersen sebagai bagian tanaman yang akan diteliti. Daun kersen diambil dari kebun di daerah Desa Tlogosari, Kab. Malang. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan sebagai bahan baku simplisia adalah spesies *Muntingia calabura L.* Hasil diterminasi sesuai dengan penelitian tentang determinasi tanaman yang dilakukan di Herbarium Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung (ITB). (Nurhasanah, Nenden. 2012)

#### **4.2 Simplisia Daun Kersen (*Muntingia calabura L*)**

Daun kersen di keringkan dan di blender hingga menjadi serbuk, dan dari hasil pembuatan diperoleh 1000 gr serbuk daun kersen, warna hijau dengan aroma khas bau daun kersen.

#### **4.3 Hasil Ekstraksi**

Serbuk simplisia daun kersen di ekstrak dengan menggunakan metode maserasi, dengan memakai perbandingan 1:7 selama 7 hari, dan menghasilkan 2500 mL ekstrak cair setelah itu di waterbath dengan suhu 50°C untuk menghasilkan ekstrak kental 113,254 gram. Organoleptis ekstrak berwarna hijau kecoklatan dan beraroma khas daun kersen. Rendemen ekstrak diperoleh 11,3254% dan berat jenis 5% sebesar 1,0774 b/b. Perhitungan rendemen dan bobot jenis ekstrak kental daun

kersen, terlampir pada Lampiran. Penentuan rendemen dan berat jenis ini sesuai dengan hasil rendemen dan bobot jenis dari ekstrak etanol daun kersen sebesar 10,4560% dan bobot jenis 1,0765 b/b pada penelitian sebelumnya (Redhamahsya. 2011). Hal ini menunjukkan tidak beda jauh dengan hasil rendemen pada penelitian ini sebesar 11,3254% dan bobot jenis 1,0774 b/b.

#### **4.4 Hasil Uji Fraksi Etil Asetat**

Fraksinasi dilakukan bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung dalam ekstrak berdasarkan tingkat polaritasnya. Fraksinasi yang dilakukan yaitu menerapkan prinsip distribusi senyawa dalam dua pelarut yang berbeda tingkat polaritasnya yang tidak saling bercampur. Fraksinasi ini menggunakan tiga pelarut diantaranya pelarut polar yaitu air, pelarut semipolar yaitu etil asetat, dan pelarut nonpolar yaitu n-heksana. Dari hasil fraksinasi ini diharapkan senyawa-senyawa metabolit dalam ekstrak dapat terpisah sesuai tingkat polaritasnya sehingga diperoleh senyawa metabolit yang polar, semipolar, dan nonpolar. Pertama ekstrak kental diambil sebanyak 7,17 gram diekstraksi cair-cair lalu fraksikan menggunakan n-heksan : air (1:1), sampai air terpisah dengan n-heksan, hasil fraksi ini di sebut fraksi n-heksan, lalu air yang terpisah tadi di fraksikan dengan etil asetat dengan perbandingan (1:1), di tunggu sampai air tersebut terpisah dengan etil asetat, larutan ini di sebut dengan fraksi etil asetat. Dari hasil ini di dapatkan rendemen Fraksi n-heksan 1,191% b/b, Fraksi Etil Asetat 4,402% b/b, dan Fraksi air 2,487% b/b. Penentuan rendemen ini sesuai dengan hasil fraksi n-heksan 1,067% b/b, fraksi etil asetat 2,567% b/b, dan fraksi air 1,543% b/b pada penelitian sebelumnya

(Nivethetha, M., 2009). Hal ini menunjukkan tidak beda jauh dengan hasil rendemen pada penelitian ini, dan dari hasil rendemen menunjukkan bahwa zat lebih banyak yang terambil pada fraksi etil asetat, hal itu menunjukkan bahwa senyawa yang tertarik pada proses fraksinasi adalah senyawa-senyawa yang bersifat polar dan semipolar.

#### **4.5 Hasil Uji Skrining**

Dari ekstrak daun kersen dan fraksi-fraksi daun kersen di lakukan uji identifikasi yaitu uji skrining, uji skrining ini bertujuan untuk mengetahui senyawa flavonoid yang terdapat di dalam ekstrak dan fraksi-fraksi tersebut. Untuk skrining senyawa flavonoid ini, di sediakan 4 tabung reaksi yang masing-masing tabung reaksi diisi ekstrak daun kersen, fraksi air, fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat secukupnya, lalu masing-masing tabung di tambahkan serbuk Mg dan HCl pekat 2 tetes, lalu digoyang-goyangkan akan terjadi reaksi perubahan warna, jika positif flavonoid pada ekstrak akan berubah warna menjadi merah atau jingga, pada fraksi-fraksi akan berubah warna menjadi kuning hingga merah. Hasil skrining yang didapat ekstrak kental daun kersen berubah warna menjadi merah bata dan berbusa, fraksi etil asetat berubah warna menjadi merah pekat, fraksi n-heksan membentuk lingkaran seperti cincin berwarna kuning, dan fraksi air berubah warna menjadi kuning. Penentuan skrining ini dilihat dari hasil warna yang menyatakan adanya senyawa flavonoid jika larutan berubah warna merah, jingga dan kuning pada penelitian sebelumnya (Farnsworth, N. R, 1966).

Pada ekstrak kental di dapatkan hasil merah bata dan berbusa, busa yang muncul tersebut menandakan ada senyawa saponin juga di dalamnya jadi menimbulkan buih atau busa. Warna merah yang dihasilkan menandakan adanya flavonoid akibat dari reduksi pada gugus hidroksil oleh asam klorida p n ekat dan magnesium (Robinson, T. 2007).

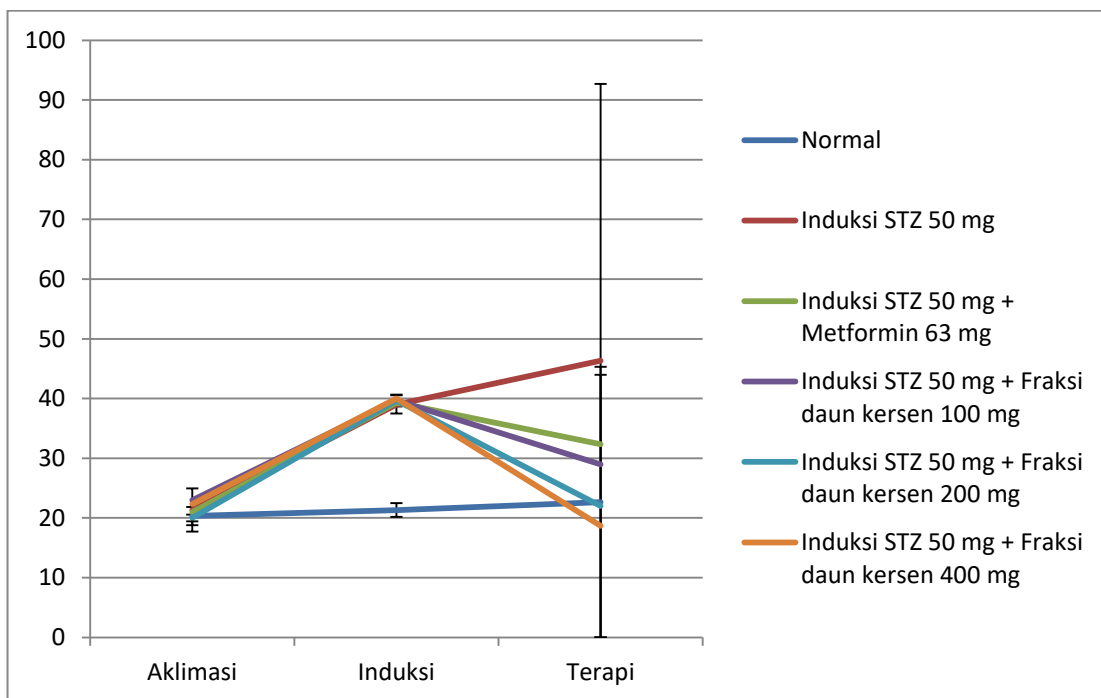
#### **4.6 Hasil Kromatografi Lapis Tipis**

Pada penelitian ini bertujuan untuk lebih memastikan senyawa flavonoid pada ekstrak daun kersen ini. Silica gel yang sudah di potong sesuai dengan ukuran lalu di oven selama 15 menit dengan suhu 110°C, dan dengan perbandingan eluen 4:1:5 dan di semprotkan sitroborat lalu di lihat di sinar UV, terlihat penampang noda berwarna kuning kehijauan 1 noda, itu berarti ekstrak daun kersen ini memiliki 1 jenis senyawa flavonoid dan jaraknya 1,9 sehingga didapat nilai Rf 0,3 penentuan KLT dan Rf dilihat dari hasil Rf 0,3 dan penampak noda berwarna hijau muda atau hijau kekuningan pada penelitian sebelumnya (Pradana 2014 ). Noda hasil KLT disajikan pada Lampiran 4.

#### **4.7 Hasil Kadar Gula Darah pada Mencit**

Mencit yang akan di teliti, di bagi atas 6 kelompok kontrol yaitu kontrol normal, induksi STZ 50mg, induksi STZ 50 mg + metformin, induksi STZ 50 mg + fraksi 100 mg, 200 mg dan 400 mg, dengan masing-masing kelompok diisi 3 ekor mencit, setelah itu semua mencit terlebih dahulu di akliminitasi selama 1 minggu dan di cek kadar gula darah serta berat badannya, kemudian selain kontrol normal di

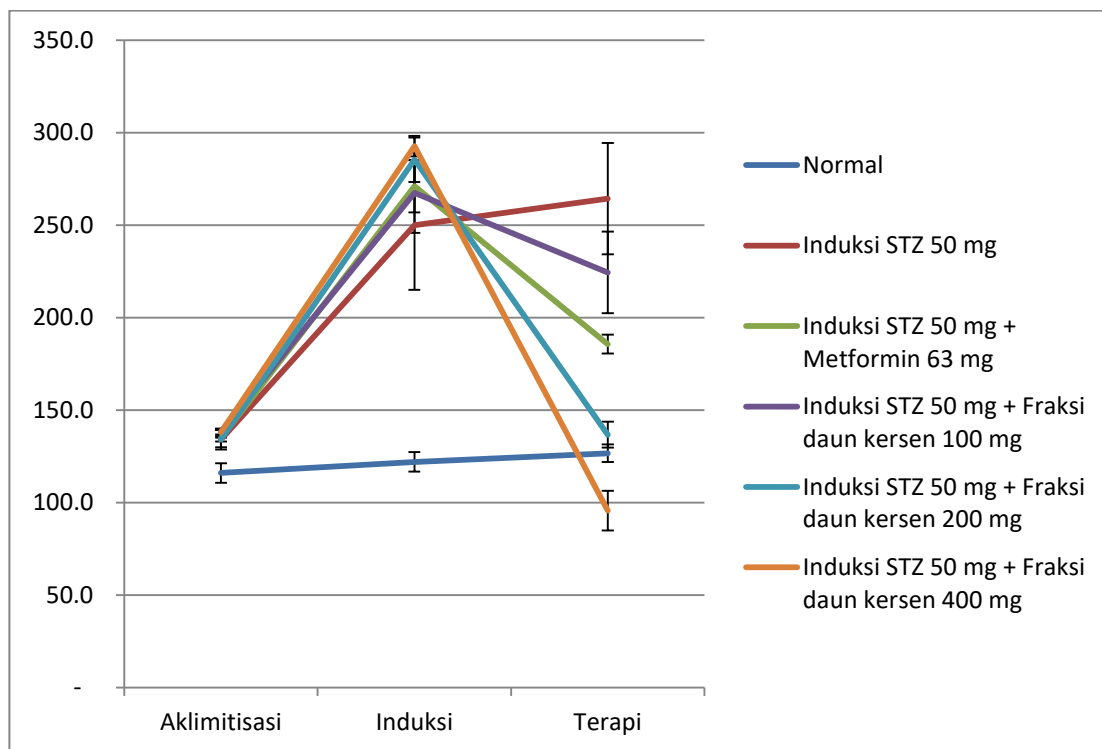
induksi dengan STZ 50 mg selama 1 minggu, dan minggu berikutnya disebut minggu terapi, 5 kelompok mencit yang sudah di induksi STZ tadi lalu di beri terapi yang berbeda di setiap kelompoknya yaitu terapi metformin, fraksi dengan dosis 100 mg, 200 mg dan 400 mg, disajikan pada gambar 4.1.



Gambar.4.1 Grafik nilai rata-rata berat badan mencit pada waktu aklimitisasi, induksi dan terapi

Berdasarkan Gambar 4.1 dapat terlihat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol normal dan kelompok yang lain. Pada saat akliminitasi semua kelompok tidak ada perubahan yang signifikan, pada saat induksi kenaikan berat badan mencit sangat signifikan pada 5 kelompok selain kelompok normal. Pada saat terapi terjadi penurunan pada kelompok metformin, serta fraksi 100 mg, 200 mg dan 400 mg, tetapi penurunan yang mendekati normal adalah pada kelompok induksi STZ + fraksi 200 mg. Kenaikan dan penurunan berat badan pada mencit yang terkena diabetes karena adanya mekanisme

karbohidrat pada tubuh, Sehingga karbohidrat akan diserap dan dipecah dalam bentuk monosakarida, terutama glukosa. Penyerapan glukosa menyebabkan peningkatan kadar gula darah dan meningkatkan sekresi insulin (Linder, 2000). Salah satu teori menyatakan bahwa jaringan lemak juga merupakan suatu jaringan “endokrin” aktif yang dapat berhubungan dengan hati dan otot (dua jaringan sasaran insulin) melalui pelepasan zat perantara yang nantinya mempengaruhi kerja insulin dan tingginya penumpukan jaringan lemak tersebut dapat berakhir dengan timbulnya resistensi insulin. Resistensi insulin yang terjadi pada berat badan tubuh yang bertambah kemudian mengakibatkan penurunan kerja insulin pada jaringan sasaran sehingga menyebabkan glukosa sulit memasuki sel. Keadaan ini berakhir kepada peningkatan kadar glukosa dalam darah (Clare-salzler MJ, 2007)



Gambar.4.2 Grafik nilai rata-rata pemeriksaan kadar gula darah (mg/dl) pada waktu aklimitisasi, induksi dan terapi

Menurut Butler (2005), Nilai kadar gula darah mencit normal putih jantan sebesar 60-150 mg/dl. Menurut (Szkudelski T. 2001) reaksi STZ terhadap sel- $\beta$  pankreas disertai dengan perubahan karakteristik pada insulin darah dan konsentrasi glukosa yang menyebabkan hiperglikemia dan menurunnya level insulin dalam darah. STZ mempengaruhi oksidasi glukosa dan menurunkan biosintesis dan sekresi insulin. STZ masuk ke sel- $\beta$  pankreas melalui transporter glukosa GLUT2 menyebabkan menurunnya ekspresi dari GLUT2. Hal ini mengakibatkan penurunnya sensitifitas reseptor insulin perifer sehingga berdampak pada meningkatnya resistensi insulin dan meningkatkan kadar glukosa darah.

Berdasarkan hasil penelitian pada Gambar 4.2 menunjukkan bahwa kelompok normal, induksi STZ 50 mg, induksi STZ 50 mg + metformin, induksi STZ 50 mg + fraksi etil asetat 100 mg, induksi STZ 50 mg + fraksi etil asetat 200 mg dan induksi STZ 50 mg + fraksi etil asetat 400 mg pada waktu akliminasi menunjukkan kadar gula darah pada kondisi normal. Pada kondisi induksi menunjukkan pengukuran kadar gula darah pada kelompok normal tidak terjadi kenaikan kadar gula darah, karena kelompok normal hanya diberikan aquades. Kondisi ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa nilai kadar gula darah normal pada mencit putih jantan sebesar 60-150 mg/dl (Butler, 2005). Namun kelompok induksi STZ, induksi STZ + metformin 63 mg, induksi STZ + fraksi 100 mg, induksi STZ + fraksi 200 mg, dan induksi STZ + fraksi 400 mg menunjukkan kenaikan kadar gula darah yang tinggi sehingga menunjukkan indikasi terjadinya diabetes mellitus. Pada penelitian sebelumnya mencit yang diinduksi STZ 50 mg telah berhasil meningkatkan kadar



glukosa darah menjadi diabetes (Kusumowati 2004). Pengukuran pada minggu terapi menunjukkan kelompok normal terjadi kenaikan kadar gula darah namun masih dalam batas normal. Kelompok induksi STZ 50 mg menunjukkan kenaikan kadar gula darah yang signifikan. Kelompok induksi STZ 50 mg + metformin 63 mg penurunan kadar gula darah yang belum signifikan.

Jika dilihat dari persentase penurunan (kontrol positif 5% : kontrol induksi STZ + Metformin 31% : kontrol induksi STZ + fraksi 100 mg 16% : kontrol induksi STZ + fraksi 200 mg 52% : kontrol induksi STZ + fraksi 400 mg 67%) tabel dan perhitungan dapat dilihat di Lampiran 6, dari hasil persentase ini dapat dilihat perbandingan kontrol metformin dengan perlakuan dosis fraksi etil asetat, maka kontrol fraksi etil asetat 100 mg dosisnya tidak efektif untuk penurunan kadar gula darah karena masih lebih baik penurunan metformin, sedangkan kontrol fraksi etil asetat 200 mg dosisnya jauh lebih efektif untuk penurunan kadar gula darah di bandingkan metformin, namun pada kontrol fraksi etil asetat 400 mg dosisnya terlalu besar sehingga mengalami penurunan yang sangat drastis sampai mengalami hipoglikemik. Dosis optimalnya seharusnya jika dilihat dari persentase dibandingkan dengan dosis metformin yang sebenarnya adalah fraksi etil asetat 400 mg, namun dalam penelitian ini memakai metformin hanya 63 mg jadi dosis yang mendekati adalah fraksi etil asetat 200 mg. Maka dari semua data tersebut yang paling mendekati normal dan paling efektif dalam penurunan kadar gula darah di bandingkan kelompok yang lain dan kelompok metformin 63 mg adalah kelompok induksi STZ 50 mg + fraksi 200 mg. Menurut penelitian sebelumnya yang

menggunakan ekstrak daun kersen dan pengobatan metformin dapat menurunkan kadar gula darah pada mencit dari 289 mg/ dl ke 198 mg/dl dan pada pemberian terapi ekstrak daun kersen 250 mg penurunan gula darah dari 288 mg/dl ke 140 mg/dl (Erna Apriyanti, 2016) di bandingkan menggunakan fraksi etil asetat daun kersen memakai dosis 200 mg dapat menurunkan 52%, jadi jauh lebih efektif fraksi etil asetat daun kersen dibandingkan dengan ekstrak daun.

Penurunan kadar glukosa darah pada mencit kelompok perlakuan diabetes dengan terapi metformin dapat disebabkan oleh adanya mekanisme spesifik metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah. Mekanisme metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah meliputi stimulasi glikolisis langsung pada jaringan perifer dengan peningkatan pengeluaran glukosa dari darah, mengurangi glukoneogenesis hati, memperlambat absorpsi glukosa dari darah, pengurangan kadar glukagon dalam plasma dan meningkatkan pengikatan insulin pada reseptor insulin. Mekanisme kerja metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah tidak bergantung atas adanya sel  $\beta$  pankreas yang berfungsi (Katzung, B.G. 2007). sedangkan flavonoid pada ekstrak etanol daun kersen memiliki mekanisme kerja menghambat kerja dari GLUT2 ( Glucose Transporter 2), suatu protein transporter glukosa yang terdapat pada membran usus. GLUT2 (Glucose Transporter 2) merupakan pengangkut glukosa dari saluran cerna masuk kedalam darah sehingga apabila GLUT2 (Glucose Tansporter 2) dihambat, glukosa yang masuk kedalam darah berkurang dan tidak terjadi penumpukan glukosa dalam darah sehingga terjadi peningkatan kadar gula dalam darah yang sejalan dengan penelitian yang dilakukan

oleh Heru Susanto (2013). Jadi fraksi etil asetat daun kersen hampir sama dengan mekanisme kerja metformin dalam menghambat kadar gula darah dalam tubuh.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan dari hasil penelitian ini dosis optimalnya seharusnya jika dilihat dari persentase dibandingkan dengan dosis metformin yang sebenarnya adalah fraksi etil asetat 400 mg, namun dalam penelitian ini memakai metformin hanya 63 mg jadi dosis yang mendekati adalah fraksi etil asetat 200 mg. Maka dari semua data tersebut yang paling mendekati normal dan paling efektif dalam penurunan kadar gula darah di bandingkan kelompok yang lain dan kelompok metformin 63 mg adalah kelompok induksi STZ 50 mg + fraksi 200 mg.

#### **5.2 Saran**

Saran untuk penelitian ini, perlu dikembangkan lagi dalam penelitian selanjutnya yaitu ke histologi pewarnaan HE untuk lebih memperkuat hasil penelitian ini dan membuktikan dapat menurunkan kadar gula darah pada jaringan pankreas.

## DAFTAR RUJUKAN

- Bennett, P, 2008 ; Sujaya, I Nyoman, 2009. *Epidemiology of Type 2 Diabetes Millitus*
- Clare-salzler MJ, Crawford JM, Kumar V. Pankreas. Dalam: Hartanto H, Darmaniah N, Wulandari N,. Buku Ajar Patologi Robbins. Edisi ke-7. Jakarta: EGC; 2007
- Farnsworth, N. R, 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plant ,J.Pharm Science,55
- Heydari Iraj, Radi Vida, Razmjou Sara & Amiri Afsaneh, 2009, Chronic Complications of Diabetes Mellitus in Newly Diagnosed Patients, International Journal of Diabetes Mellitus.
- Hongdiyanto A., Yamlean P. & Supriati H. S., 2013, Evaluasi Kerasionalan Pengobatan Diabetes Mellitus Tipe 2 Pada Pasien Rawat Inap di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado Tahun 2013.
- Katzung, B.G. 2007. Pancreatic Hormones and Antidiabetic Drugs. In: Basic and Clinical Pharmacology 10<sup>th</sup>
- Mudaliar, et.al,2001; Andul-Ghani dan Defronzo, 2010; Choi dan Kim, 2010; Wang, et.al, 2013, *Insulin Therapy in Type 2 Diabetes Endocrinology Metabolic. Clinical North America.*
- Nivethetha, M., 2009. Effects of Muntingia calabura L. on isoproterenolinduced myocardial infarction. Singapore Med J Vol 50

- Raghavan V. A., Kline G. A., Corenblum B. 2009, *Glucose-6 Phosphatase Deficiency*.
- Redhamahsya. 2011. Standardisasi Simplisia Dan Ekstrak Etanol Daun Kersen (Muntingia calabura L). Universitas Jenderal Ahmad Yani.
- Robinson, T. 2007. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Terjemahan Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. ITB, Bandung.
- Sastrohamidjodjo, H., 2002, Kromatografi, Penerbit Liberty, Yogyakarta
- Szkudelski T. 2001 The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol*.
- Tjokroprawiro A., 1986. Diabetes Melitus Aspek Klinik dan Epidemiologi, Airlangga University Press, Surabaya.
- Waji, Resi A. dan Andis S. 2009. Flavonoid (Quercetin). Makassar: Universitas Hasanuddin.

## LAMPIRAN 1

### DETERMINASI



Lampiran 1.1



Lampiran 1.2

## LAMPIRAN 2

### SIMPLISIA DAN EKSTRAKSI



Lampiran 2.1 Gambar Proses penimbangan



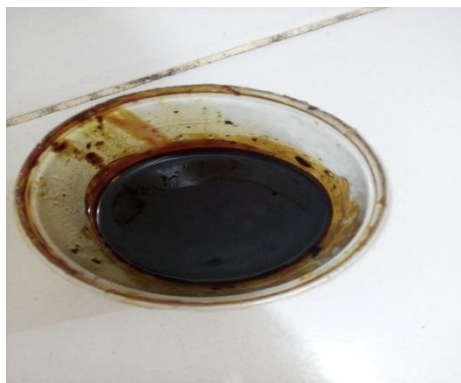
Lampiran 2.2 Proses pengeringan atau oven



Lampiran 2.3 Proses penyerbukan



Lampiran 2.4 Serbuk simplisia



Lampiran 2.5 Ekstrak daun kersen



### LAMPIRAN 3

#### SKRINING



Lampiran 3.1 Skrining ekstrak kental



Lampiran 3.2 Skrining fraksi air



Lampiran 3.3 Skrining fraksi etil asetat

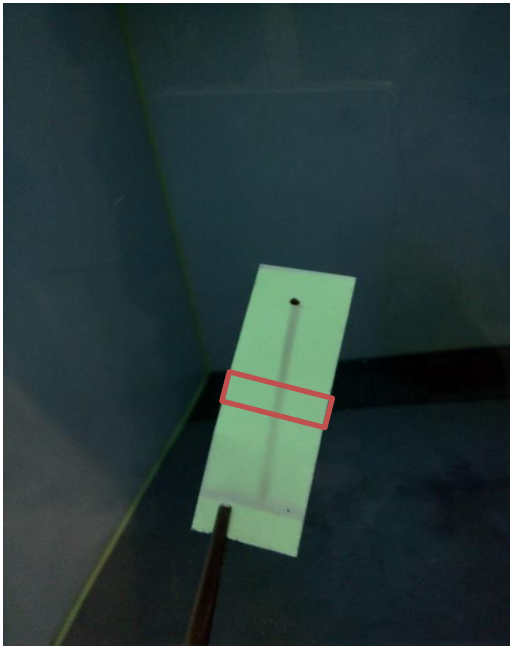


Lampiran 3.4 Skrining fraksi n-heksan

Ekstrak Kental	Merah Bata dan berbusa	+
Fraksi n-heksan	Terbentuk lingkaran kuning seperti cincin	+
Fraksi Etil Asetat	Merah Pekat	+
Fraksi air	Kuning	+

## LAMPIRAN 4

### KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS



Lampiran 4.1 Hasil KLT

## LAMPIRAN 5

### KADAR GULA DARAH

Tabel 5.1 Rata-rata Berat Badan Mencit

Waktu	kel normal	kel Induksi STZ 50 mg	kel Induksi STZ 50 mg + metformin	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 10%	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 20%	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 40%
Aklimitisasi	20.3333	21.3333333	21	23	20	22.3333
Induksi	21.3333	39	39.3333333	39.6667	39.6667	40
Terapi	22.6667	46.3333333	32.3333333	29	22	18.6667

Tabel 5.2 Rata-rata SD (*standart deviation*) berat badan mencit

Waktu	kel normal	kel Induksi STZ 50 mg	kel Induksi STZ 50 mg + metformin	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 10%	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 20%	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 40%
Aklimitisasi	1.527525	3.605551275	0.577350269	0.57735	0.57735	0
Induksi	1.154701	1.527525232	2.516611478	1	1	0.57735
Terapi	22.66667	46.3333333	32.3333333	29	22	18.66667

Tabel 5.3 Rata-rata kadar gula darah mencit

Waktu	kel normal	kel Induksi STZ 50 mg	kel Induksi STZ 50 mg + metformin	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 10%	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 20%	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 40%
Aklimitisasi	116.0	134.0	134.7	138.3	134.0	138.0
Induksi	122.0	250.0	271.0	267.3	285.3	292.7
Terapi	126.7	264.3	185.7	224.3	136.7	95.7

Tabel 5.4 Rata-rata SD (*standart deviation*) pada kada gula darah

Waktu	kel normal	kel Induksi STZ 50 mg	kel Induksi STZ 50 mg + metformin	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 10%	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 20%	kel Induksi STZ 50 mg + Fraksi 40%
Aklimitisasi	5.29	5.29	4.73	1.53	1.00	2.00
Induksi	5.29	35.00	14.18	21.55	12.01	5.51
Terapi	4.73	30.11	5.13	22.05	7.02	10.69

## LAMPIRAN 6

### PERHITUNGAN

#### 1. Rancangan dosis dan penyiapan larutan STZ

Dosis 50 mg/kg BB tikus

BB tikus 20 kg

50 mg = 1000g BB

X = 20 g

$$\frac{g}{1000 g} \times 50 \text{ mg} = 1 \text{ mg stz}/20\text{g BB mencit}$$

Jadi untuk berat badan 20 g dibutuhkan 1 mg STZ

$$\frac{1\text{mg}}{2 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,5 \text{ ml stz}/20\text{g BB mencit}$$

#### 2. Perhitungan Rendemen Simplisia

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

$$\frac{113,254}{1000} \times 100\% = 11,3254 \%$$

Jadi Rendemen ekstrak kental daun kersen = 11,3254%

#### 3. Perhitungan Bobot Jenis (BJ)

Di umpamakan A Pikno kosong = 16,1079

Diumpamakan B Pikno + aquadest = 39,7280

Diumpamakan C pikno + ekstrak

1. Pikno +ekstrak = 41,569

2. Pikno + ekstrak = 41,558

3. Pikno + ekstrak = 41,551

$$BJ1 = \frac{\text{Massa zat}}{\text{Massa air}} = \frac{C-A}{B-A} = \frac{41,569-16,1079}{39,7280-16,1079} = \frac{25,4611}{23,6201} = 1,0779$$

$$BJ2 = \frac{\text{Massa zat}}{\text{Massa air}} = \frac{C-A}{B-A} = \frac{41,558-16,1079}{39,7280-16,1079} = \frac{25,4501}{23,6201} = 1,0774$$

$$BJ3 = \frac{\text{Massa zat}}{\text{Massa air}} = \frac{C-A}{B-A} = \frac{41,551-16,1079}{39,7280-16,1079} = \frac{25,4431}{23,6201} = 1,0771$$

$$\text{Rata - rata bobot jenis} = \frac{1,0779+1,0774+1,0771}{3} = 1,0774 \text{ b/b}$$

#### 4. Rendemen Fraksi

**Perhitungan :**

$$\text{Rendemen fraksi n-heksan} = \frac{1,349}{113,254} \times 100\% = 1,191 \%$$

$$\text{Rendemen fraksi etil asetat} = \frac{4,986}{113,254} \times 100\% = 4,402 \%$$

$$\text{Rendemen fraksi air} = \frac{2,817}{113,254} \times 100\% = 2,487 \%$$

#### 5. Kromatografi Lapis Tipis

Perhitungan :

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh senyawa yang terlarut}}{\text{Jarak tempuh pelarut}}$$

$$R_f = \frac{1,9}{6,5} = 0,3$$

#### 6. Perhitungan Metformin

Dosis 63 mg/kg BB tikus

BB tikus 20 mg

63 mg = 1000g BB

$$X = 20 \text{ mg}$$

$$\frac{20}{1000 \text{ g}} \times 63 \text{ mg} = 1,26 \text{ mg stz/20g BB mencit}$$

Jadi untuk berat badan 20 g dibutuhkan 1 mg STZ

$$\frac{1,26 \text{ mg}}{2 \text{ mg}} \times 1 \text{ ml} = 0,6 \text{ ml stz/20g BB mencit}$$

#### 7. Presentase penurunan

$$\text{Kontrol Positif} = \frac{250-264,3}{250} \times 100\% = 5\%$$

$$\text{Kontrol Metformin} = \frac{271-185,7}{271} \times 100\% = 31\%$$

$$\text{Kontrol Fraksi 100 mg} = \frac{267,3-224,3}{267,3} \times 100\% = 16\%$$

$$\text{Kontrol Fraksi 200 mg} = \frac{285,3-136,7}{285,3} \times 100\% = 52\%$$

$$\text{Kontrol Fraksi 400 mg} = \frac{292-95}{292} \times 100\% = 67\%$$

Kontrol	Presentase
Positif	5%
Metformin	31%
Fraksi Etil Asetat 100 mg	16%
Fraksi Etil Asetat 200 mg	52%
Fraksi Etil Asetat 400 mg	67%