

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK DAUN
SIRIH HUTAN (*Piper aduncum* L.) PADA MENCIT
PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI
DEKSAMETASON**

SKRIPSI



Oleh :

AUFA YUMNI
NIM : 2020112023

**PROGRAM STUDI S1 FARRMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS PERINTIS INDONESIA
PADANG
2024**

ABSTRAK

Tanaman sirih hutan dapat berfungsi sebagai obat dan kaya akan kandungan kimia dan khasiatnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit putih jantan yang diinduksi deksametason. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dengan mencit putih jantan sebagai hewan uji berjumlah 30 ekor, dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok pembanding (Metformin dosis 500 mg/KgBB), kelompok perlakuan secara peroral dosis 25 mg/KgBB, dosis 50 mg/KgBB, dan dosis 100 mg/KgBB. Masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor mencit. Pemeriksaan kadar glukosa darah dilakukan 10 hari setelah diinduksi deksametason 5 mg/ml dan setelah pemberian ekstrak daun sirih hutan pada hari ke-7, 14, dan 21. Pengukuran kadar glukosa darah menggunakan alat glukometer Sinocare. Data hasil penelitian dianalisis ANOVA satu arah dan dua arah dengan program SPSS 25 dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Dapat disimpulkan bahwa dosis 100 mg/KgBB adalah yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah terhadap lama pemberian 21 hari, sedangkan dosis 25 mg/KgBB dan 50 mg/KgBB tidak berbeda nyata nilai rata-ratanya. Pada hasil uji ANOVA dua arah, masing-masing dosis ekstrak memiliki perbedaan yang signifikan, yaitu $p < 0,05$. Dengan variasi dosis 100 mg/KgBB lebih efektif menurunkan kadar glukosa darah terhadap variasi dosis dan lama pemberian.

Kata Kunci: Antidiabetes, daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.), deksametason

ABSTRACT

The forest betel plant serves as a medicine and is rich in its chemical and medicinal properties. The study aims to identify extract of forest betel leaves (*Piper aduncum* L) in lowering blood glucose levels in males induced by dexamethasone. The study employed experimental methods with 30 animal testing the white male, divide into 6 groups of negative control, positive control, control groups (Metformin 500 mg/KgBB), treatment groups peroral dose 25 mg/KgBB, dose 50 mg/KgBB, and dose 100 mg/KgBB. Each group has 5 head of mice. The guardian of the glucose level of fasting is 10 days after induced dexamethasone and after the removal of the forest betel leaf on 7, 14, dan 21. Blood glucose levels are measured using sinocare devices. Research data analyzed by ANOVA is one-way and two-way with a SPSS 25 program and continues the Duncan test. It can be concluded that a dose of 100 mg/KgBB is the most effective in lowering blood glucose levels in the blood against the 21-day giving of old , while doses 25 mg/KgBB and 50 mg/KgBB have average values that are not significantly different. In the two way ANOVA test, each extract had a significant difference : $p < 0,05$. With a variation of a dose of 100 mg/KgBB is more effective in lowering blood glucose levels to variations of doses and older giving.

Keywords: Antidiabetic, forest betel leaves (*Piper aduncum* L.), dexamethasone

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit kronis berupa gangguan metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah yang melebihi batas normal (Kemenkes RI, 2020). Pada awal abad ini, Indonesia dengan jumlah penduduk melebihi 250 juta jiwa menjadi negara dengan jumlah penderita DM nomor 4 terbanyak di dunia (Dharma, 2018). Pada tahun 2021 International Diabetes Federation (IDF) melaporkan bahwa 537 juta orang dewasa (20-79 tahun) hidup dengan diabetes di seluruh dunia. Diperkirakan jumlah ini akan terus meningkat pada tahun 2030 menjadi 643 juta (1 dari 9 orang dewasa) dan pada tahun 2045 sebanyak 784 juta (1 dari 8 orang dewasa).

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia kronis akibat kerusakan / defisiensi sekresi insulin, kerusakan respon terhadap hormon insulin atau pun keduanya (IDF, 2021). Penyakit Diabetes mellitus digolongkan menjadi diabetes tipe 1, diabetes tipe 2, diabetes gastrointestinal, dan diabetes karena penyakit lain. DM tipe 1 (insulin dependent DM) diderita oleh 5-10% pasien DM, umumnya disebabkan oleh reaksi autoimun yang menyebabkan kerusakan sel β pankreas sehingga terjadi defisiensi insulin. Pada DM tipe 2 (noninsulin dependent DM) diderita oleh 90-95% pasien DM, diakibatkan oleh penurunan bertahap sekresi insulin. Pada diabetes gastrointestinal sering menyerang ibu hamil pada trimester kedua atau pun ketiga (Wu *et al.*, 2014).

Diabetes mellitus 2 menjadi yang paling banyak terjadi, menempati 90% - 95% dari total kasus diabetes. Ini karena diabetes tipe 2 lebih cenderung

berhubungan dengan gaya hidup dan pola makan seseorang (WHO, 2016). Saat ini terjadi peningkatan jumlah penderita DM tipe 2 pada usia remaja dan dewasa muda, disebabkan oleh obesitas dan gaya hidup tidak sehat (Lascar *et al*, 2018). Dahulu pasien diabetes 2 terjadi pada rentang usia pertengahan atau lebih dari 40 tahun, tapi sekarang menyentuh usia di bawah 40 tahun. Untuk itu perlu adanya kesadaran dan pengetahuan yang baik mengenai pencegahan DM tipe 2 dan komplikasinya terutama pada remaja, karena diabetes mellitus tidak memandang usia penderitanya.

Pada pasien diabetes mellitus, kadar gula darah puasanya ≥ 126 mg/dL dan kadar gula darah sewaktu serta 2 jam setelah makan yaitu ≥ 200 mg/dL (Dipiro *et al.*, 2020). Penyakit diabetes mellitus tidak dapat disembuhkan tetapi dapat dikelola sehingga kadar gula darahnya dapat terkontrol. Menurut PERKENI (2021), penatalaksanaan yang biasa dilakukan pada pasien DM ialah terapi non farmakologi, seperti mengatur pola makan, olahraga, mengkonsumsi bahan-bahan herbal. Terapi farmakologi berupa pemberian obat hipoglikemik oral atau agen antihiperlikemik dan insulin.

Namun penatalaksanaan farmakologi memiliki efek samping yang tidak diinginkan, seperti hipoglikemia dan reaksi alergi oleh terapi insulin. Golongan obat sulfonilurea dapat menyebabkan gejala saluran cerna, sakit kepala, gangguan fungsi ginjal atau hati pada usia lanjut. Obat golongan biguanida menyebabkan mual, muntah, anoreksia, diare. Golongan tiozolidindin menyebabkan udem, faringitis, sinusitis. Golongan penghambat α glukosidase bisa menyebabkan kembung dan flatulen (Dharma, 2016). Oleh karena itu, terapi non farmakologi

dengan menggunakan tanaman herbal sebagai alternatif pengobatan untuk mengontrol kadar gula darah.

Penggunaan tumbuhan sebagai pengobatan herbal saat ini cenderung meningkat, karena ketersediaan dari tumbuhan obat itu sendiri dan sifatnya yang lebih aman dibandingkan dengan obat-obatan modern yang relatif lebih mahal dan dianggap memiliki efek samping yang membahayakan (Ansari *et al*, 2022). Pemilihan tanaman herba sebagai pengobatan alternatif penyakit DM untuk menurunkan konsentrasi glukosa darah adalah dengan sedikit atau tanpa efek samping yang ditimbulkan. Indonesia sendiri merupakan salah satu negara dengan keanekaragaman hayati yang cukup tinggi. Terdapat sekitar 30.000 spesies tumbuhan ada di hutan tropis dan dari jumlah tersebut, sekitar 9.600 spesies yang belum diketahui manfaatnya. Salah satu keanekaragaman hayati yang belum banyak dimanfaatkan, yaitu tanaman sirih hutan (*Piper aduncum* L).

Sirih hutan atau sirihan (*Piper aduncum* L) tergolong famili Piparaceae dan merupakan tanaman endemik dari pulau Papua dan Maluku. Tanaman sirih hutan memiliki kemiripan bentuk daun dan bunga dengan tanaman sirih, tetapi sirih hutan tidak merambat. Tanaman sirih hutan dapat berfungsi sebagai obat dan kaya akan kandungan kimia dan khasiatnya. Daun sirih hutan memiliki senyawa metabolit sekunder, berupa flavonoid, saponin, tannin, kuinon, triterpenoid/steroid, alkaloid (Insanu dkk, 2017 ; Taylor, 2006).

Sebelumnya, pada penelitian Sitinjak dkk (2016), menyatakan ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dapat mempengaruhi penurunan kadar gula darah pada tikus Wistar yang diinduksi aloksan. Pada daun sirih hutan terdapat aktivitas antidiabetes, berupa flavonoid, alkaloid, dan steroid. Senyawa flavonoid dapat

meningkatkan penggunaan glukosa di dalam jaringan dengan cara meningkatkan fosforilasi tirosin kinase pada substrat reseptor insulin dan peningkatan aktivitas enzim P1-3 kinase yang akan membentuk dan mentranslokasikan protein GLUT-4 ke dinding sel sehingga kadar glukosa darah menurun (Nugroho, 2012). Senyawa alkaloid dapat meningkatkan translokasi GLUT4, meningkatkan sekresi insulin melalui regenerasi sel β pankreas dan sekresi insulin yang distimulasi glukosa dari pada sekresi insulin basal (Kumar *et al*, 2019). Alkaloid juga meningkatkan translokasi GLUT4 di jaringan adiposa dan otot rangka melalui aktivasi jalur AMPK (Bribi N, 2018 ; Li D *et al*, 2017).

Penelitian mengenai kandungan dan khasiat dari daun sirih hutan sebagai antidiabetes sudah pernah dilakukan namun masih sangat terbatas. Daun sirih hutan memiliki banyak kandungan senyawa aktif, namun belum banyak yang mengoptimalkan pemanfaatannya. Meskipun sudah ada yang meneliti mengenai aktivitas ekstrak daun sirih hutan sebagai antidiabetes, tetapi dengan penginduksi yang berbeda yaitu aloksan. Pada penelitian yang akan dilakukan, digunakan sampel ekstrak daun sirih hutan dengan penginduksi deksametason. Deksametason bekerja dengan mengganggu ikatan insulin dan reseptornya sehingga tidak terbentuknya sinyal insulin subseluler insulin yang menyebabkan GLUT4 menjadi tidak aktif sehingga tidak bisa membawa glukosa darah ke dalam sel untuk diubah menjadi energi sehingga terjadi peningkatan glukosa dalam darah dan kadar insulin (Goodman & Gilman, 2008).

Glukokortikoid juga merangsang pembentukan glukosa melalui peningkatan sekresi hormon glukagon, glukagon akan merangsang pembentukan glukosa dan dan peningkatan glukoneogenesis di hati dan otot (Hanim R dkk, 2016).

Hal inilah yang melatarbelakangi penulis untuk meneliti dengan judul uji aktivitas antidiabetes ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) pada mencit putih jantan yang diinduksi deksametason.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) memiliki aktivitas penurunan kadar glukosa darah pada mencit putih jantan yang diinduksi deksametason?
2. Apakah variasi dosis ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) memberikan aktivitas yang berbeda dalam penurunan kadar glukosa darah pada mencit putih jantan yang diinduksi deksametason?
3. Apakah lama pemberian ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) memberikan aktivitas yang berbeda dalam penurunan kadar glukosa darah pada mencit putih jantan yang diinduksi deksametason?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui adanya aktivitas ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit putih jantan yang diinduksi deksametason.
2. Untuk mengetahui variasi dosis terbaik ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) dalam menurunkan kadar glukosa mencit putih jantan yang diinduksi deksametason.
3. Untuk mengetahui pengaruh lama pemberian ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit putih jantan yang diinduksi deksametason.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai khasiat dan kandungan senyawa dari daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) sebagai obat yang memiliki aktivitas antidiabetes kepada masyarakat
2. Dalam pengembangan ilmu pengetahuan tentang daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) sebagai obat fitofarmaka
3. Dapat memaksimalkan pemanfaatan daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) bagi penderita diabetes mellitus di Indonesia
4. Dapat menambah pengetahuan dan pengalaman bagi peneliti sendiri.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tanaman Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum* L.)

2.1.1 Klasifikasi Tumbuhan Plantamor (2023)

Berdasarkan tata nama (sistemika) botani tumbuhan daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Plantae
Subkingdom : Tracheobionta
Superdivisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Subkelas : Magnoliidae
Ordo : Piperales
Famili : Piperaceae
Genus : Piper
Spesies : *Piper aduncum* L.



Gambar 1. Tanaman Daun Sirih Hutan (Plantamor, 2023)

2.1.2 Morfologi Tumbuhan

Daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) memiliki ciri batang berkayu dan bulat memanjang, panjang. Daun berbentuk oval, pangkal membulat dan ujung runcing, tepi daun rata setiap buku, permukaan dan tangkai daun berbulu halus, tulang daun yang menyirip dengan silinder 5-10 mm, panjang daun 10-14 cm dan lebar 5-6 cm dan memiliki warna hijau muda. Buah yang memanjang dengan bulir 12-14 cm dan bertangkai pendek, masih muda berwarna kuning kehijauan, setelah tua berwarna hitam. Sirih hutan memiliki bunga majemuk, berkelamin satu atau dua, memiliki daun pelindung yang bertangkai 0,5-1,25 mm dan melengkung (Guzman dan Sienomsma, 1999).

Sirih hutan merupakan tanaman perdu yang memiliki tinggi mencapai 2-8 meter. Memiliki bunga dengan benang sari yang berukuran pendek, kepala sari kecil, bakal buah duduk, kepala putik berjumlah dua sampai tiga dan berwarna putih kekuningan (Guzman dan Sienomsma, 1999).

2.1.3 Manfaat Tumbuhan

Dari penelitian Sitinjak *dkk* (2016), ekstrak daun sirih hutan bisa digunakan sebagai antidiabetes, karena mampu menurunkan kadar gula darah pada tikus wistar. Tumbuhan sirih hutan (*Piper aduncum* L) dikenal masyarakat mempunyai banyak khasiat, seperti penyembuhan luka, menghentikan muntah, mengurangi mual, melancarkan pencernaan, antiseptik, membunuh bakteri, virus dan jamur. (Okunade *et al*, 1997 ; Morandim *et al*, 2005 ; Thao *et al*, 2016). Sirih hutan juga dimanfaatkan sebagai larvasida nyamuk *Aedes aegypti* L. (Sudrajat *dkk*, 2011). Tumbuhan sirih hutan bermanfaat untuk obat sakit mata merah. Cara meramunya adalah dengan cara memotong batang tumbuhan sirih hutan tersebut sampai

keluar airnya kemudian diteteskan pada mata yang sakit, 3 tetes tiap pagi dan sore hari (Kinho, 2011).

2.1.4 Tinjauan Kimia Tumbuhan

Tumbuhan sirih hutan (*Piper aduncum* L) mengandung senyawa-senyawa kimia, berupa flavonoid, kuinon, flavonon, kromena, benzoid, alkaloid, fenilpropanoid, monoterpene, seskuiterpene, dan tannin (Taylor, 2006). Daun sirih hutan memiliki senyawa metabolit sekunder, berupa flavonoid, saponin, tannin, kuinon, triterpenoid/steroid (Insanu dkk, 2017). Dari penelitian Mariani dkk (2023), pada ekstrak daun dan buah sirih hutan terdapat kandungan flavonoid, steroid/triterpenoid, tannin galat dan fenol.

Pada penelitian yang dilakukan Orjala (1991), ditemukan senyawa baru dihidrokalkon pada tanaman sirih hutan, seperti adunktin A, adunktin B, adunktin C, tokoferol, kariofilena epoksida, humulena epoksida, piperadunsin A, adunktin D, adunktin E, trans-fitol, piperadunsin B, piperadunsin C, asbogenin, sakuranetin, asam androdendroat metil ester, adunkamida, feniletilamida dan turunan amida lainnya. Menurut da Silva Negreiros & Miqueloni (2015), ekstrak dari tanaman sirih hutan (*Piper aduncum* L.) mengandung senyawa kimia organik, yaitu dillapiole hingga 84-85%.

2.1.5 Tinjauan Farmakologi

Dari hasil penelitian yang dilakukan oleh Sitinjak dkk (2016), menyatakan bahwa ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dengan dosis 25 mg/kgBB tikus, 50 mg/kgBB dan 100 mg/kg BB yang diinduksi aloksan dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus wistar (*Rattus norvegicus*). Daun sirih hutan bermanfaat sebagai antiinflamasi karena terdapat kandungan senyawa dillapiole

(Parise-Filho *et al*, 2011). Ekstrak daun sirih hutan pada konsentrasi 50 g/L air terhadap hama kutu putih (*Paracoccus marginatus*) menyebabkan kematian 95% (Nuryanto, 2011). Ekstrak daun sirih hutan pada perlakuan 75 g/L air mampu mengendalikan hama imago walang sengit (*Laptocorisa acuta*) (Karsidi, 2013).

2.2 Diabetes Mellitus

2.2.1 Definisi

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit menahun yang ditandai dengan kadar glukosa darah (gula darah) melebihi normal yaitu kadar gula darah sewaktu sama atau lebih dari 200 mg/dl, dan kadar gula darah puasa di atas atau sama dengan 126 mg/dl (Misnadiarly, 2006). Diabetes mellitus adalah penyakit kronis serius yang terjadi baik pada saat pankreas tidak menghasilkan insulin yang cukup atau saat tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya (WHO, 2016). DM dikenal sebagai silent killer karena sering tidak disadari oleh penderitanya dan pada saat diketahui sudah terjadi komplikasi (Kemenkes RI, 2020).

2.2.2 Epidemiologi Diabetes Melitus

Pada tahun 2021, *International Diabetes Federation* menyebutkan bahwa sebanyak 537 juta orang dewasa (20-79 tahun) hidup dengan diabetes di seluruh dunia. Diperkirakan jumlah ini akan terus meningkat pada tahun 2030 menjadi 643 juta (1 dari 9 orang dewasa) dan hingga tahun 2045 sebanyak 784 juta (1 dari 8 orang dewasa). Prevelensi diabetes mellitus di Indonesia berdasarkan diagnosis dokter pada umur ≥ 15 tahun sebesar 2% (RISKESDAS, 2018). Angka tersebut menunjukkan adanya peningkatan dibandingkan prevalensi diabetes mellitus pada hasil Riskesdas pada tahun 2013 sebesar 1,5%. Sedangkan prevalensi diabetes

mellitus menurut hasil pemeriksaan gula darah meningkat dari 6,9% pada tahun 2013 menjadi 8,5% pada tahun 2018.

Pada wilayah Asia Tenggara menempati peringkat ke-3 dengan prevalensi sebesar 11,3% dengan Indonesia yang berada pada peringkat ke-7 dari 10 negara dengan jumlah penderita diabetes mellitus terbanyak, yaitu sebesar 10,7 juta (Kemenkes RI, 2020).

2.2.3 Klasifikasi Diabetes Mellitus

a. Diabetes Mellitus tipe-1

Diabetes tipe 1 adalah penyakit metabolik yang menyebabkan tubuh kurang dalam memproduksi insulin atau pun terhenti karena kerusakan pada sel β pankreas, baik oleh proses autoimun maupun idiopatik. Diabetes mellitus tipe 1 sebagian besar disebabkan oleh proses autoimun, dan sebagian kecil nonautoimun. Diabetes mellitus tipe 1 sering terjadi pada masa anak-anak, namun sering terlihat setelah yang bersangkutan dewasa (Kerner and Brückel, 2014). Menurut Fox (2013), diabetes tipe 1 disebut diabetes ketergantungan insulin karena penderita akan terus membutuhkan suntikan insulin.

b. Diabetes Mellitus tipe-2

Diabetes mellitus tipe 2 ditandai dengan resistensi insulin dan defisiensi insulin relatif. Resistensi insulin ditandai dengan peningkatan lipolisis dan produksi asam lemak bebas, peningkatan produksi glukosa hepatic, dan penurunan pengambilan glukosa pada otot skelet. Disfungsi sel β pankreas menyebabkan gangguan pada pengontrolan glukosa darah (Sukandar dkk, 2008). Pada diabetes mellitus tipe 2, tubuh akan menolak efek dari insulin

atau bahkan tidak memproduksi insulin yang cukup untuk mempertahankan tingkat glukosa yang normal (Kerner and Brückel, 2014). Diabetes mellitus tipe 2 terjadi karena berbagai penyebab, mulai dari resistensi insulin yang disertai defisiensi insulin relatif sampai dengan yang dominan efek sekresi insulin yang disertai resistensi insulin (Perkeni, 2015).

c. Diabetes Mellitus Gestational (DMG)

Diabetes mellitus gestational adalah keadaan yang terjadi pada wanita yang sebelumnya belum pernah didiagnosa diabetes, kemudian mengalami peningkatan kadar glukosa darah pada masa kehamilannya (Adli, 2021). Kerner and Brückel (2014) menyebutkan bahwa kasus diabetes mellitus gestational terjadi sekitar 5-7% dari banyaknya kasus yang terjadi pada masa kehamilan.

d. Diabetes Mellitus Terkait Malnutrisi

Menurut Arisman (2011), diabetes digolongkan tipe ini jika terjadi gejala-gejala, seperti malnutrisi, malabsorpsi makanan sehingga diperlukan insulin untuk regulasi DM dan untuk kenaikan berat badan, umumnya terjadi pada rentang usia 15-40 tahun. Diabetes mellitus karena kekurangan gizi berbeda dengan jenis diabetes yang lain serta cara pengobatannya dapat diperbaiki dengan cara mengkaji diabetes terkait malnutrisi tersebut.

e. Diabetes Mellitus Tipe Lain

Menurut Kerner and Brückel (2014), kelainan genetik pada saat kerja insulin, kelainan pada sel β , infeksi, endocrinopathies, karena obat atau zat kimia, penyakit pankreas, ataupun sindrom penyakit lain, dapat menjadi penyebab diabetes tipe ini.

2.2.4 Patofisiologi Diabetes Mellitus

Pada diabetes tipe 1, terdeteksi defisiensi insulin absolut (Taylor, 2013). Pada diabetes tipe 1 sel β pankreas telah dihancurkan oleh proses autoimun sehingga tidak dapat memproduksi insulin. Ketidakmampuan melepaskan atau menggunakan insulin secara cukup karena kadar glukosa di dalam darah tinggi menyebabkan penumpukan gula dalam darah sehingga terjadi hiperglikemia. Pada saat hiperglikemia, glukosa yang sudah disaring tidak dapat diserap kembali oleh ginjal dan akan menyebabkan glukosuria, yaitu keadaan ketika urine mengandung gula. Keadaan ini juga menyebabkan gejala lain, seperti kondisi diuresis osmotik. Kehilangan cairan dalam jumlah berlebih dapat menyebabkan peningkatan buang air kecil (polyuria) dan haus (polydipsia). (Lestari, dkk, 2021).

Diabetes II karena kekurangan insulin dapat menyebabkan terganggunya metabolisme protein dan lemak sehingga terjadi penurunan pada berat badan. Saat kekurangan insulin protein yang berlebih dalam darah tidak disimpan di dalam jaringan. Semua aspek metabolisme akan meningkat jika insulin tidak ada, umumnya terjadi di antara waktu makan, saat sekresi insulin minimal, dan saat akan terjadinya sekresi insulin, metabolisme lemak akan meningkat secara signifikan. Dibutuhkan peningkatan jumlah insulin yang disekresikan oleh sel β pankreas untuk mengatasi resistensi insulin dan pembentukan glukosa dalam darah. Jika sel β tidak mampu memenuhi kebutuhan insulin, maka akan terjadi peningkatan kadar glukosa dan diabetes tipe II akan berkembang. (Lestari, dkk, 2021).

2.2.5 Gejala Diabetes Mellitus

Gejala khas yang sering timbul dan sering dikeluhkan penderita DM adalah trias poli (polyuria, polydipsia, dan polyphagia), lemas, polyneuritis, hiperglikemia, dan penurunan berat badan yang tidak diketahui penyebabnya. Gejala lain penderita DM ialah lemas, kesemutan di tangan dan kaki, gatal, mudah terkena infeksi bakteri atau jamur, penyembuhan luka yang lama, dan mata kabur. Pada beberapa kasus, penderita DM tidak menunjukkan gejala (asimtomatik). (ADA, 2019).

2.2.6 Diagnosa Diabetes Mellitus

Menurut Pedoman American Diabetes Association (ADA) 2011 dan Konsensus Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (Perkeni) 2011, kriteria dalam mendiagnonis diabetes mellitus adalah sebagai berikut :

1. Kadar HbA1c $\geq 6,5\%$, yaitu rata-rata jumlah hemoglobin A1c yang berikatan dengan gula darah selama 3 bulan
2. Glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dL dengan gejala klasik penyerta
3. Glukosa 2 jam setelah makan (post prandial), yaitu ≥ 200 mg/dL
4. Glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dL bila terdapat keluhan klasik diabetes mellitus, seperti banyak kencing (poliuria), banyak minum (polidipsia), banyak makan (polifagia), serta berat badan menurun yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya.

Kriteria diagnosis diabetes mellitus menurut Konsesnsus PERKENI tahun 2019, dibagi menjadi 4 kategori, yaitu :

- a. Hasil pemeriksaan kadar gula darah dalam plasma puasa ≥ 126 mg/dL, puasa merupakan keadaan dimana tidak ada asupan kalori dalam waktu minimal 8 jam.
- b. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah plasma ≥ 200 mg/dL. Hasil didapatkan dengan Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) selama 2 jam dengan 75 gram glukosa.
- c. Hasil pemeriksaan kadar gula darah sewaktu ≥ 200 mg/dL disertai keluhan klasik diabetes mellitus.
- d. Hasil pemeriksaan Hemoglobin Glikat menggunakan system terstandarisasi *National Glycohaemoglobin Standarization Program* (NGSP) adalah $\geq 6,5\%$ (Soelistio *et al.*, 2019).

Pemeriksaan terhadap diabetes mellitus yang dapat dilakukan, antara lain :

1. Pemeriksaan Penunjang (Penyaring)

Menurut Departemen Kesehatan (2014), pemeriksaan penyaring ditujukan untuk penderita yang tidak menunjukkan gejala namun mempunyai resiko DM. Pemeriksaan ini bertujuan untuk mendiagnosa pasien DM, TGT (Toleransi Glukosa Terganggu), serta GDPT (Glukosa Darah, Puasa Terganggu), sehingga bisa ditangani dengan cepat dan tepat. Pemeriksaan penunjang ini dapat dilakukan dengan pemeriksaan terhadap kadar glukosa darah sewaktu atau kadar glukosa darah puasa, jika hasilnya positif maka perlu dikonfirmasi dengan melakukan pemeriksaan glukosa plasma puasa atau dengan melakukan tes toleransi glukosa oral (TTGO) standar.

2. Kadar Glukosa Darah Puasa

Menurut Depkes (2008), pemeriksaan gula darah yang dilakukan setelah 8-10 jam pasien berpuasa. Kadar glukosa darah puasa normal manusia pada pagi hari adalah kisaran 80-115 mg/dL, Jika melewati batas normal tersebut maka dapat didiagnosa sebagai gejala awal penyakit diabetes mellitus.

3. Glukosa Urine

Pemeriksaan glukosa urin dilakukan untuk melihat kadar glukosa urin agar mengetahui tingkat keparahan dari penyakit diabetes mellitus (Aziz, 2016). Glukosa umumnya tidak ditemukan di dalam urin karena proses filtrasi ginjal yang akan mereabsorpsi kembali glukosa ke dalam pembuluh darah. Jika melewati ambang batas toleransi ginjal terhadap glukosa, yaitu 160-180 mg/dL, maka glukosa akan dieksresikan ke dalam urin sehingga menyebabkan glukosuria karena ginjal tidak dapat menampung kelebihan dari kadar glukosa tersebut (Arbi dkk, 2015).

2.2.7 Komplikasi Diabetes Mellitus

Menurut PERKENI (2019), ada 2 komplikasi yang dapat timbul pada penderita diabetes mellitus yaitu komplikasi akut dan komplikasi kronik.

1. Akut

Komplikasi akut dapat terjadi karena ketidakseimbangan kadar glukosa darah, antara lain: hipoglikemia (glukosa darah yang terlalu rendah), ketoasidosis diabetik (terdapat banyak asam di dalam darah) dan sindrom HHNK (Koma Hiperглиkemik Hiperosmoler Nonketotik). Menurut Damayanti (2015), hipoglikemia terjadi karena peningkatan insulin dalam darah sehingga kadar glukosa dalam darah menurun yang diakibatkan terapi insulin yang adekuat.

2. Kronis

Komplikasi kronis dilihat secara makrovaskular dan mikrovaskular.

- Komplikasi Makrovaskular

Komplikasi makrovaskular yang umum berkembang pada penderita DM ialah trombotik otak (pembekuan darah pada sebagian otak, stroke, gagal jantung kongestif, dan penyakit jantung koroner (Sudoyono, 2009).

Komplikasi makrovaskular dapat terjadi pada penderita DM tipe 1, namun umumnya lebih sering terjadi pada penderita DM 2 yang menderita hipertensi, dyslipidemia dan obesitas (Damayanti, 2015).

- Komplikasi Mikrovaskular

Komplikasi mikrovaskular yang umum terjadi pada penderita DM tipe 1, seperti diabetik retinopati (kebutaan), neuropati, nefropati (yang berujung gagal ginjal) dan amputasi

3. Melibatkan Kelainan Struktur dalam Membran Pembuluh Darah Kecil dan Kapiler

Selain komplikasi akut dan kronis, juga terdapat kelainan pada pembuluh darah, hal ini menyebabkan terjadinya penebalan pembuluh darah dan mengakibatkan penurunan perfusi jaringan. Damayanti (2015), menyebutkan komplikasi ini terjadi di retina sehingga terjadi retinopati diabetik dan nefropati diabetik di ginjal.

2.2.8 Terapi Diabetes Mellitus

Menurut PERKENI (2019), Penatalaksanaan pada penderita diabetes mellitus dibedakan menjadi dua, yaitu terapi farmakologis dan terapi non farmakologi. Penatalaksanaan diabetes mellitus dengan terapi non farmakologi

dapat berupa pemberian edukasi, terapi nutrisi medis (TNM), latihan jasmani atau olahraga. Pemilihan terapi farmakologi untuk pasien diabetes tipe 2 memerlukan pertimbangan yang sesuai dengan kondisi pasien, seperti lamanya pasien menderita diabetes, riwayat pengobatan sebelumnya, kadar Hb1AC, adanya komorbid dan jenisnya (Declori, 2019).

Terapi farmakologis yang dapat dilakukan sebagai terapi diabetes mellitus, yaitu :

a. Pemberian Hormon Insulin

Pemberian insulin bertujuan untuk mengontrol kadar basal dan post prandial, karena pada pasien DM 2 sekresi insulin basal (puasa) dan prandial (setelah makan) terganggu.

Klasifikasi insulin menurut PERKENI (2019), yaitu :

1. Insulin kerja cepat (*rapid acting insulin*)
2. Insulin kerja pendek (*short acting insulin*)
3. Insulin kerja menengah (*intermediate acting insulin*)
4. Insulin kerja panjang (*long acting insulin*)
5. Insulin campuran tetap, kerja pendek, dan menengah (*premixed insulin*)

b. Obat Golongan Sulfonylurea

Efek utama dari obat golongan ini meningkatkan sekresi insulin oleh sel β pankreas. Obat golongan sulfonylurea memiliki efek samping utama yaitu hipoglikemia dan peningkatan berat badan. Pasien dengan risiko tinggi hipoglikemia (orang tua, gangguan fungsi, hati, dan ginjal) sebaiknya berhati-hati dalam menggunakan obat golongan ini (PERKENI, 2019). Generasi pertama sulfonylurea terdiri dari tolbutamid, tolazamid, aseohexamid, dan

klorpropamid. Generasi keduanya, yaitu glibenklamid, glipizid, glikazid, dan glikuidon. Glimepiride merupakan golongan ketiga dari sulfonilurea.

Sulfonilurea generasi pertama jarang digunakan, karena memiliki efek hipoglikemi yang kuat. Sedangkan sulfonilurea generasi kedua dan ketiga memiliki proses metabolisme yang cepat dan waktu paruh yang pendek yaitu 3-5 jam. Sulfonilurea golongan 2 seperti glibenklamid, dapat menurunkan kadar gula darah dengan cara meningkatkan kalsium intraseluler dalam sel β pankreas sehingga menstimulasi produksi insulin. Untuk penderita diabetes tipe 2 dengan gangguan fungsi hati dan ginjal yang tidak terlalu berat dapat diberikan glikuidon, karena mempunyai efek hipoglikemi sedang (Declori, 2019).

c. Binguanid

Cara kerja binguanid adalah dengan menghambat produksi glukosa di hepar dan meningkatkan sensitivitas sel otot insulin. Metformin merupakan obat anti diabetik golongan binguanid yang mempunyai efek utama mengurangi produksi glukosa hati (glukoneogenesis) dan memperbaiki glukosa pada jaringan perifer. Metformin tidak menyebabkan efek samping hipoglikemia (Sanchez-Rangel & Inzucchi, 2017).

d. Tiazolidindion

Efek utama tiazolidindion (TZD) adalah menurunkan resistensi insulin dengan jumlah protein glukosa sehingga glukosa di perifer meningkat (PERKENI, 2015). Obat yang termasuk golongan ini diantaranya pioglitazone (Soelistijodkk, 2019).

e. Penghambat α -glukosidase

Akarbose dan miglitol (derivate piperdintriol) adalah yang termasuk golongan ini, bekerja dengan menurunkan absorpsi karbohidrat dan menghambat enzim α -glukosidase pada usus. Efek samping obat golongan ini berupa gejala gastrointestinal, seperti meteorismus, flatulence, diare, kontraindikasi pada penyakit sirosis hati, obstruksi saluran cerna, dan *irritable bowel syndrome* (Declori, 2019).

2.3 Metode Uji Antidiabetes

2.3.1 Metode Uji Toleransi Glukosa Oral

Prinsip dari metode uji ini ialah hewan uji dipuasakan selama 16-20 jam dengan tetap diberi minum, cuplikan darahnya kemudian diambil sebagai kadar glukosa awal dan dilanjutkan dengan diberikan sediaan obat secara oral. Pemberiaan larutan glukosa dilakukan secara oral pada hewan uji. Pengambilan cuplikan darah dilakukan berulang-ulang pada waktu yang ditentukan (Etuk, 2010).

2.3.2 Metode Uji dengan Merusak Pankreas

Prinsip dari metode ini ialah pankreas hewan uji dirusak dengan pemberian zat diabetogenik, seperti aloksan dan deksametason. Deksametason menghambat proliferasi sel, menginduksi terjadinya apoptosis dan dapat menyebabkan nekrosis pada sel pankreas, sehingga tidak dapat menghasilkan hormon insulin dan memiliki kondisi yang sama seperti penderita diabetes mellitus. Pemberian zat uji dilakukan setelah 7 hari pemberian deksametason (Etuk, 2010).

2.4 Metode Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

1. Metode Enzimatis

Pada metode ini, enzim yang digunakan ialah yang bekerja secara spesifik pada glukosa untuk mendapatkan hasil yang relatif tepat dibandingkan dengan metode lainnya. Enzim yang umum digunakan ialah heksokinase dan glucose oxidase. Metode dengan enzim heksokinase akan terjadi proses oksidasi glucose-6-fosfat yang berasal dari glukosa dan ATP dari heksokinase oleh NAD. Reaksi ini dikatalis untuk membentuk NADH yang dapat dianalisa dengan spektrofotometer. Sedangkan pada metode enzim glucose oxidase, glucose oxidase akan mengoksidasi glukosa untuk membentuk glukonolakton dan hydrogen peroksida. Kemudian hidrogen peroksida teroksidasi oleh peroksidase membentuk senyawa yang akan dianalisa dengan spektrofotometer (Duxbury, 2004).

2. Metode Oksidasi – reduksi

Metode ini merupakan pengukuran kadar glukosa darah dengan sifat sebagai zat pereduksi pada larutan alkali panas. Metode ini tidak spesifik karena terdapat zat-zat yang bukan glukosa di dalamnya dan bersifat mereduksi.

3. Metode Kondensasi

Pada metode ini, pengukuran kadar glukosa dibantu dengan senyawa jenis amin aromatik, yaitu o-toluidin, asam p-aminobenzoat, m-aminofenol dan asam p-aminosalisilat yang di dalam larutan asam panas bereaksi dengan glukosa. Hasil dari reaksi dengan o-toluidin akan lebih cepat dan spesifik dibandingkan jenis senyawa aromatic lainnya. (Dubowski, 2008).

2.5 Model Diabetes Mellitus pada Hewan Percobaan

2.5.1 Aloksan

Aloksan merupakan senyawa kimia yang dimanfaatkan untuk menginduksi hewan peneliti agar didapatkan dengan cepat keadaan diabetes eksperimental (hiperlikemik) pada hewan tersebut. Pemberian aloksan dapat dilakukan secara interperitoneal, intravena, atau pun subkutan pada hewan percobaan. Proses kerja aloksan diawali dengan ambilan aloksan yang kemudian masuk ke dalam sel-sel β pankreas dan sifat diabetogenik dari aloksan akan ditentukan dari kecepatan ambilan aloksan tersebut yang dapat terjadi pada hati dan jaringan lainnya.

Aloksan dapat merusak sel β pankreas dengan cara menghasilkan radikal hidroksil dan menghambat mobilisasi ion kalsium di dalam dan di luar sel yang mengakibatkan kerusakan sel β pancreas sehingga terjadi penurunan sensitivitas reseptor sel terhadap insulin dan produksi insulin berkurang (Im Walde *et al.*, 2002).

2.5.2 Deksametason

Deksametason merupakan golongan obat kortikosteroid yang memiliki aktivitas glukokortikoid dan mineralokortikoid. Aktivitas glukokortikoid pada deksametason memiliki efek immunosupresan dan antiinflamasi. Deksametason sebagai immunosupresan bekerja terhadap stimulasi rangsangan dengan menurunkan respon imun tubuh rangsangan. Sedangkan deksametason sebagai antiinflamasi, yaitu dengan menekan dan mencegah respon jaringan terhadap proses inflamasi dan akumulasi sel yang mengalami inflamasi dihambat, termasuk leukosit dan makrofag.

Pada kasus *Cushing's Syndrom*, masalah seperti diabetes, resistensi insulin, osteoporosis, sepsis dan penyakit kardiovaskular ditimbulkan karena kelebihan glukokortikoid. Karena kelebihan glukokortikoid endogen yang mengganggu ikatan insulin dengan reseptornya menyebabkan tidak terbentuknya sinyal subseluler insulin yang menghambat perpindahan GLUT-4 dari sitoplasma ke membrane plasma (GLUT-4 tidak aktif) sehingga terjadi resistensi insulin. GLUT-4 yang tidak aktif, tidak akan menjalankan fungsinya yaitu membawa glukosa dari aliran darah ke dalam sel untuk diubah menjadi energi sehingga terjadi peningkatan glukosa dalam darah dan kadar insulin (Goodman & Gillman, 2008). Mekanisme dari deksametson dalam menginduksi resistensi insulin perifer, meliputi penghambatan translokasi GLUT4 (Dimitriadis *et al.*, 1997), peningkatan aktivitas lipoprotein lipase dalam jaringan adipose (Ong *et al.*, 1992), dan gangguan vasodilatasi yang bergantung pada endothelium (Luchi *et al.*, 2003).

Glukokortikoid juga merangsang pembentukan glukosa melalui peningkatan sekresi hormon glukagon, glukagon akan merangsang pembentukan glukosa dari simpanannya yang terdapat di hati dan otot. Hormon glukagon menurunkan pengambilan dan penggunaan glukosa, sehingga mengakibatkan peningkatan kadar glukosa dalam darah (Nugroho, 2012).

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penatalaksanaan penelitian ini dilakukan dalam waktu \pm 6 bulan (Juli-Desember) 2023 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS) PADANG.

3.2 Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Hewan uji yang dipakai ialah mencit putih jantan dengan umur 2-3 bulan dan berat 20-30 gram. Penelitian ini dilakukan dengan melakukan ekstraksi pada daun sirih hutan menggunakan etanol 70% dengan metode maserasi. Hasil ekstrak yang didapat diberikan pada mencit yang telah mengalami hiperglikemia dengan penginduksi deksametason. Selanjutnya diamati penurunan kadar glukosa darah mencit tersebut dengan metformin sebagai pembanding.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Alat yang digunakan adalah kandang hewan, inkubator, timbangan analitik (Precisa®), timbangan tikus triple balance (OHAUSE®), blender, tabung reaksi, rak tabung reaksi, gelas ukur (Pyrex), pipet tetes, botol reagen gelap, *rotary evaporator* IKA^{RV} 10 basic, aluminium foil, jarum suntik, plat tetes, oven, krus porselen, desikator, penangas air, batang pengaduk, corong kaca, sarung tangan, masker, cawan penguap, lumpang, stamfer, spuit injeksi 1 ml, Terumo), spatel, sudip, beaker glass, Erlenmeyer (Pyrex®), alat digital Easy Touch® GCU, strip glukosa darah, freezer, kapas, labu ukur, dan sentrifugator rotaror 12 hole zenithlab LC-04S.

3.3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah makanan mencit, daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*), etanol 70%, metformin, aquades, penginduksi deksametason, glukosa, kapas, larutan Na CMC, serbuk Mg (Merck), HCl (Merck), strip glukosa (Easy Touch).

3.4 Hewan Percobaan

Penelitian ini menggunakan mencit putih jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram sebanyak 30 ekor.

3.5 Metode Penelitian

3.5.1 Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*) segar yang diambil di Lubuk Minturun, Kecamatan Koto Tengah, Kota Padang, Sumatera Barat.

3.5.2 Identifikasi Sampel

Identifikasi sampel dilakukan di Herbarium ANDA Jurusan Biologi FMIPA Universitas Andalas (UNAND) Padang Sumatera Barat.

3.5.3 Ekstraksi Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum L.*)

Daun tumbuhan sirih hutan diambil sebanyak 2 kg dicuci bersih dengan air yang mengalir, kemudian dikeringkan di udara terbuka pada suhu ruangan dan tidak terpapar cahaya matahari langsung. Setelah daunnya kering, selanjutnya haluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk (simplisia). Sebanyak 250 g simplisia daun sirih hutan dimasukkan dalam botol maserasi dan ditambahkan etanol 70 % (1:10) sampai terendam dan tersari secara sempurna, dibiarkan di tempat gelap sambil diaduk sesekali. Setelah 3 hari ekstrak tersebut

disaring dengan menggunakan kapas, lalu dilakukan remaserasi sampai 3x dan maserat dikumpulkan. Selanjutnya maserat diuapkan dengan menggunakan rotary evaporator sampai ekstrak etanol kental didapatkan (Departemen Kesehatan RI, 2000).

3.6 Evaluasi Ekstrak Daun Sirih Hutan (*Piper aduncum L.*)

3.6.1 Organoleptis

Pengamatan yang dilakukan, meliputi warna, bentuk, bau, dan rasa.

3.6.2 Penentuan Rendeman Ekstrak

Penentuan rendemen dapat dilakukan dengan cara :

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berak sampel segar}} \times 100 \%$$

3.6.3 Uji Fitokimia

Ekstrak kental daun sirih hutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform, lalu dikocok dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan, yaitu lapisan air dan kloroform.

a. Uji Flvonoid

Lapisan air diteteskan pada plat tetes sebanyak 1-2 tetes, tambahkan sedikit serbuk Mg dan setetes HCL_(p), terbentuknya warna merah menandakan adanya senyawa flavonoid.

b. Uji Saponin

Tabung reaksi berisi lapisan air dikocok dengan kuat, kemudian jika terbentuk busa permanen (\pm 15 menit) menunjukkan adanya saponin.

c. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode Simes)

Lapisan kloroform diambil dan disaring dengan pipet tetes yang sudah diisi kapas dan norit pada ujungnya. Pada plat tetes filtrate diteteskan dan dibiarkan mengering. Residu ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Adanya senyawa terpenoid ditandai dengan terbentuknya warna merah. Sedangkan steroid ditandai dengan terbentuknya warna biru-ungu.

d. Uji Alkaloid (Metode Culvenore-Fitzgerald)

Lapisan kloroform diambil sedikit dan ditambahkan 10 ml kloroform amoniak 0.05 N, aduk perlahan, kemudian tambahkan beberapa tetes $H_2SO_4 2N$ dan dikocok perlahan hingga memisah. Tambahkan beberapa tetes pereaksi mayer pada lapisan asam. Reaksi positif alkaloid ditandai dengan munculnya kabut putih hingga gumpalan putih.

e. Uji Fenolik

Teteskan 1-2 tetes lapisan air pada plat tetes kemudian ditambahkan pereaksi $FeCl_3$. Reaksi positif gugus fenol ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman.

3.6.4 Penentuan Susut Pengerinan

Panaskan krus porselen dan tutupnya dalam oven pada suhu $105\text{ }^\circ\text{C}$ selama 30 menit dan dibiarkan dingin, lalu ditimbang beratnya. Masukkan ekstrak ke dalam krus tersebut hingga beratnya mencapai 1 gram di luar berat krus dan penutup yang sebelumnya telah diketahui. Krus digoyang perlahan agar ekstrak merata lalu dimasukkan kembali ke dalam oven dengan tutup krusnya dibuka dan tetap di dalam oven. Krus berisi ekstrak dipanaskan dalam oven dengan suhu 105°C selama 1 jam setelah krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator,

lalu ditimbang. Lakukan pengulangan perlakuan di atas hingga diperoleh berat yang konstan.

Hitung susut pengeringan dengan rumus :

$$\text{Susut Pengeringan} = \frac{(B-A)-(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat krus kosong

B = Berat krus ditambah bubuk sebelum pengeringan

C = Berat krus ditambah bubuk setelah pengeringan

3.6.5 Penentuan Kadar Abu

Timbanglah 2 gram ekstrak yang dimasukkan dalam krus porselen yang telah dipijarkan dan ditara, lalu ekstrak diratakan, pijarkan secara perlahan sampai terbentuk arang. Krus dimasukkan dalam furnes dengan suhu 600°C selama 8 jam. Selanjutnya dinginkan dalam desikator dan timbang berat abu. Kadar abu dihitung terhadap berat sampel awal dalam persen (Departemen Kesehatan RI, 2000).

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{(C-A)}{(B-A)} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat krus kosong (g)

B = Berat krus ditambah ekstrak sebelum pemijaran (g)

C = Berat krus ditambah ekstrak setelah pemijaran (g)

3.7 Perlakuan pada Hewan

3.7.1 Persiapan Hewan Percobaan

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit putih jantan dengan berat antara 20-30 gram. Sebelum digunakan hewan percobaan diaklimatisasi selama ±

1 minggu dengan diberi makan dan minum yang cukup. Hewan yang dinyatakan sehat digunakan dalam penelitian yaitu hewan yang selama pemeliharaan perubahan bobot hewan tidak melebihi 10%.

3.7.2 Dosis yang direncanakan

Dosis ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum L.*) yang akan diuji adalah 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB. Berdasarkan penelitian Sitinjak, dkk (2016) diketahui bahwa dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB mampu menurunkan kadar gula darah pada tikus wistar yang diinduksi oleh aloksan.

Penginduksi dengan deksametason yang mampu meningkatkan kadar gula dalam darah dengan dosis 5 mg/ml. Dan sebagai pembanding menggunakan metformin dengan dosis pada manusia yang dikonversikan ke mencit untuk setiap 20 gram BB.

3.8 Pembuatan Sediaan Uji

3.8.1 Larutan Na CMC 0,5%

Serbuk Na-CMC ditimbang sebanyak 0,5 g, lalu ditaburkan di atas air suling panas 10 ml (20 kalinya). Di dalam lumpang dibiarkan mengembang selama 15 menit, kemudian digerus hingga menjadi massa yang homogen lalu diencerkan dengan aquadest dalam labu ukur hingga 100 ml.

3.8.2 Penyiapan dan Pembuatan Deksametason Penginduksi Hiperglikemia

Berdasarkan uji pendahuluan, penginduksi yang digunakan adalah konsentrasi sediaan deksametason yang mampu menimbulkan keadaan resistensi insulin yaitu 5 mg/ml.

Dikonversikan dari dosis manusia ke dosis mencit

$$5 \text{ mg} \times 0,026 = 0,013 \text{ mg} / 20 \text{ gBB}$$

$$5 \text{ mg} / 25 \text{ ml}$$

$$0,2 \text{ mg} / 1 \text{ ml}$$

$$0,120 \text{ mg} / 0,6 \text{ ml}$$

$$0,120 \text{ mg} \times 50 \rightarrow 6 \text{ mg} / \text{kgBB}$$

3.8.3 Pembuatan Suspensi Ekstrak Daun Sirih Hutan

Ekstrak daun sirih hutan ditimbang sesuai dengan dosis yang direncanakan 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB. Na CMC ditimbang sebanyak 50 mg yang ditaburkan ke dalam lumpang berisi air suling panas sebanyak 10 ml, tutup dan dibiarkan selama 15 menit hingga diperoleh masa yang transparan, digerus lalu masukkan ekstrak yang sudah ditimbang untuk dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, gerus hingga homogen dan diencerkan dengan air suling hingga 100 ml.

Konsentrasi ekstrak yang dibuat dengan rumus :

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kgBB}} \right) \times \text{Berat badan (gBB)}}{\text{VAO (ml)}}$$

Volume pemberian obat (VAO) ekstrak daun sirih hutan untuk mencit 20 g :

$$\text{VAO} = 1\% \text{ dari Bobot Badan Mencit}$$

$$= 1\% \text{ dari } 20 \text{ g BB mencit}$$

$$= 0,2 \text{ mL}$$

Dosis 25 mg/kg BB untuk 1 ekor mencit dengan berat badan 20 gram adalah :

$$= \frac{25 \text{ mg}}{1000 \text{ gBB}} \times 20 \text{ g} = 0,5 \text{ mg} / 20 \text{ gBB}$$

Konsentrasi yang dibuat untuk dosis 0,5 mg / 20 gBB adalah :

$$\begin{aligned}
\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kgBB}} \right) \times \text{Berat badan (gBB)}}{\text{VAO (ml)}} \\
&= \frac{\left(\frac{0,5 \text{ mg}}{20 \text{ g}} \right) \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}} \\
&= 2,5 \text{ mg/ml} \\
&= 25 \text{ mg/10 ml} \\
&= 0,25 \text{ g/100 ml} \\
&= 0,25 \%
\end{aligned}$$

Dosis 50 mg/kg BB untuk 1 ekor mencit dengan berat badan 20 gram adalah :

$$= \frac{50 \text{ mg}}{1000 \text{ gBB}} \times 20 \text{ g} = 1 \text{ mg} / 20 \text{ gBB}$$

Konsentrasi yang dibuat untuk dosis 1 mg / 20 gBB adalah :

$$\begin{aligned}
\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kgBB}} \right) \times \text{Berat badan (gBB)}}{\text{VAO (ml)}} \\
&= \frac{\left(\frac{1 \text{ mg}}{20 \text{ g}} \right) \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}} \\
&= 5 \text{ mg/ml} \\
&= 50 \text{ mg/10 ml} \\
&= 500 \text{ mg/100 ml} \\
&= 0,5 \text{ g/100 ml} \\
&= 0,5 \%
\end{aligned}$$

Dosis 100 mg/kg BB untuk 1 ekor mencit dengan berat badan 20 gram adalah :

$$= \frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ gBB}} \times 20 \text{ g} = 2 \text{ mg} / 20 \text{ gBB}$$

Konsentrasi yang dibuat untuk dosis 2 mg / 20 gBB adalah :

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis} \left(\frac{\text{mg}}{\text{kgBB}} \right) \times \text{Berat badan (gBB)}}{\text{VAO (ml)}}$$

$$= \frac{\frac{2 \text{ mg}}{20 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}}$$

$$= 10 \text{ mg/ml}$$

$$= 100 \text{ mg/10 ml}$$

$$= 0,1 \text{ g/100 ml}$$

$$= 0,1 \%$$

3.8.4 Penyiapan dan Pembuatan Sediaan Suspensi Pembanding

Sebagai pembanding digunakan metformin dengan mekanisme kerja memperbaiki sensitivitas hepar dan jaringan perifer terhadap insulin tanpa mempengaruhi sekresi insulin. Metformin dengan dosis pada manusia 500 mg/kg BB yang dikonversikan ke mencit yaitu dosis untuk setiap 20 gram BB mencit setara dengan 0,0026 kali dosis manusia, sehingga dosis yang digunakan adalah

$$\text{Dosis manusia} = 500 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis mencit} = 500 \text{ mg} \times 0,0026$$

$$= 1,3 \text{ mg/20 g BB}$$

Pembuatan Sediaan

Pengambilan metformin pada tablet 500 mg, dengan cara :

- Ambil 20 tablet
- Kemudian digerus
- Timbang berat serbuk tablet
- Kemudian hitung berat serbuk untuk 1 tablet

$$= \frac{\text{berat serbuk 20 tablet}}{\text{jumlah tablet}}$$

$$= \frac{11,62 \text{ g}}{20 \text{ g}}$$

$$= 0,581 \text{ g}$$

$$= 581 \text{ mg}$$

Berat tablet metformin yang akan diambil untuk mendapatkan metformin sebanyak 650 mg

$$= (650 \text{ mg}/500 \text{ mg}) \times \text{Berat serbuk 1 tablet}$$

$$= (650 \text{ mg}/500 \text{ mg}) \times 581 \text{ gram}$$

$$= 755,3 \text{ mg}$$

$$= 0,7553 \text{ g} \rightarrow \text{dibuat suspensi ad volume 100 ml}$$

VAO = 1 % dari BB mencit

$$= 1 \% 20 \text{ gBB}$$

$$= 0,2 \text{ ml}$$

3.9 Prosedur Pengujian

1. Hewan percobaan (mencit) diaklimatisasasi selama 1 minggu sebelum diberi perlakuan.
2. Hewan percobaan dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 5 ekor hewan percobaan. Pembagian kelompok hewan uji sebagai berikut :

Tabel 1. Pengelompokan Hewan Uji

Kelompok	Dosis
Kelompok I (Kontrol Negatif)	(NaCMC 0,5%)
Kelompok II (Kontrol Positif)	Induksi deksametason 5 mg/ml + glukosa 10%
Kelompok III (Pembeding)	Induksi deksametason + larutan pembeding metformin 1,3 mg
Kelompok IV (Dosis I)	Induksi deksametason + glukosa 10% + larutan ekstrak daun sirih hutan 20 mg/kgBB
Kelompok V (Dosis II)	Induksi deksametason + glukosa 10% + larutan ekstrak daun sirih hutan 50 mg/kgBB
Kelompok VI (Dosis III)	Induksi deksametason + glukosa 10% + larutan ekstrak daun sirih hutan 100 mg/kgBB

3. Timbang berat badan hewan uji, kemudian dipuasakan selama 16 jam dan diperiksa kadar glukosa darah puasanya
4. Hewan percobaan diinjeksi dengan deksametason 5 mg/ml secara subkutan (s.c) selama 10 hari. Setelah 10 hari pemberian induksi dan dilakukan pengukuran kadar glukosa darah hewan uji yang telah dipuasakan. Setelah penginduksian hewan uji diberikan glukosa 10% pada hari ke 10 secara per oral
5. Sediaan uji diberikan secara per oral pada hewan uji dengan volume pemberian 1% dari berat badan. Dilakukan 1 kali sehari pemberian sediaan

uji, dimulai pada hari ke-1 (setelah hewan uji dikatakan diabetes) sampai hari ke-21.

6. Pengukuran glukosa darah dilaksanakan pada hari ke-7, 14 dan 21 dengan memakai alat *Sinocare*. Pengambilan darah pada hewan uji dilakukan pada pembuluh darah ekor hewan uji tersebut.

3.10 Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Pengukuran ini dilakukan dengan menggunakan alat digital *sinocare*. Terdapat tempat untuk menyelipkan tes strip, kemudian akan muncul gambar tetesan darah pada layar yang menandakan alat siap digunakan. Darah hewan uji diambil melalui vena ekor. Ekor hewan uji disinfektan dengan menggunakan etanol 70% yang kemudian disayat, tetesan darah pertama dibuang dan darah selanjutnya diteteskan pada strip glukosa darah sampai terdengar bunyi. Kadar glukosa darah dalam mg/dL akan tertera dalam beberapa detik. Uji dilakukan pada semua mencit dalam kelompok. Setelah penelitian, hewan uji dikorbankan dengan cara anastesi dan dikubur.

3.11 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengukuran kadar gula darah dianalisis secara statistic dengan metode One Way ANOVA dan Two Way ANOVA untuk mengetahui ada tidaknya suatu perbedaan antar perlakuan. Sebelumnya dilakukan uji normalitas dan homogenitas terhadap data yang diperoleh. Apabila data normal dan homogen, maka dapat dilakukan uji ANOVA. Apabila terdapat perbedaan antar perlakuan kelompok, maka dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui adanya kelompok perlakuan lainnya. Digunakan software statistic SPSS 25.0 for windows evaluation, tujuannya untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan hasil dan konsentrasi yang diuji.

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka didapatkan hasil sebagai berikut :

- Berdasarkan hasil identifikasi sampel tumbuhan Sirih hutan yang diidentifikasi di Hebarium Universitas Andalas menyatakan bahwa sampel yang digunakan pada penelitian ini spesies (*Piper aduncum* L.) dari family *Piparaceae* (Lampiran 5, Gambar 14).
- Hasil pemeriksaan organoleptis ekstrak daun sirih hutan yang telah dilakukan didapatkan hasil berbentuk cairan kental, berwarna hijau kehitaman, bau khas daun sirih hutan, dan rasa yang pahit (Lampiran 7, Tabel 2)
- Dari 250 g simplisia didapatkan ekstrak kental sebanyak 41,07 gram dengan persentase rendemen 16,43%. (Lampiran 7, Tabel 3)
- Hasil persentase susut pengeringan ekstrak daun sirih hutan ialah 5,99 % (Lampiran 7, Tabel 4)
- Hasil persentase kadar abu ekstrak daun sirih hutan, yaitu 3,91 % (Lampiran 7, Tabel 5)
- Pada pemeriksaan uji fitokimia terhadap ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) didapatkan ekstrak daun sirih hutan mengandung senyawa kimia flavonoid, alkaloid, steroid, dan fenolik (Lampiran 7, Tabel 6)
- Kadar glukosa darah rata-rata kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok metformin, dosis 25 mg/KgBB, dosis 50 mg/KgBB dan dosis 100

mg/KgBB secara berurutan pada hari sebelum induksi, yaitu; 82; 89,6; 77,6; 79,6; 89,8; 92,4 mg/dL. Setelah diinduksi deksametason, yaitu : 90,2; 140,4; 150,6; 141,2; 142,8; 143,8 mg/dL. Pada hari ke-7, yaitu : 92,2; 148,2; 105,2; 140; 133,8; 125,4 mg/dL Pada hari ke-14, yaitu : 92,2; 150,2; 100,8; 135; 130,8; 113,2 mg/dL. Dan Pada hari ke-21, yaitu : 93,6; 153,8; 94,6; 125,4; 118,4; 97 mg/dL (Lampiran 8, Tabel 7)

- Hasil persentase penurunan kadar glukosa darah kelompok metformin, dosis 25 mg/KgBB, dosis 50 mg/KgBB, dan dosis 100 mg/KgBB dari hari ke-7, 14, dan 21 secara berurutan yaitu, pada kelompok metformin ialah 30,15 %; 33,07 %; 37,18 %. Pada kelompok dosis 25 mg/KgBB, yaitu 0,85 %; 4,39 %; 11,19 %. Pada kelompok dosis 50 mg/KgBB, yaitu 6,30 %; 8,40 %; 17,09 %. Dan pada kelompok dosis 100 mg/KgBB, yaitu 12,79 %; 21,28 %; 32,55 % (Lampiran 8, Tabel 8)

4.2 Pembahasan

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) untuk melihat pengaruh dari ekstrak daun sirih hutan terhadap kadar glukosa darah pada mencit putih jantan yang hiperglikemia dan melihat pengaruh lama waktu pemberian ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) terhadap aktivitasnya dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang dibuat hiperglikemia. Sampel daun sirih hutan diambil di daerah Lubuk Minturun, Kecamatan Koto Tangah, Kota Padang, Sumatera Barat.

Hasil identifikasi tanaman sirih hutan yang telah dilakukan oleh Hebarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Andalas, diperoleh hasil bahwa sampel daun sirih hutan termasuk spesies (*Piper*

aduncum L.) dari family *Piparaceae*. Hasil identifikasi tanaman ini dilakukan untuk mengetahui identitas sampel dari tanaman yang digunakan dalam penelitian, yaitu sirih hutan (*Piper aduncum* L.).

Ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) diperoleh dengan menggunakan metode maserasi. Metode maserasi ini merupakan metode dengan teknik pengerjaan yang sederhana dan dapat digunakan untuk semua jenis sampel baik basah atau pun kering serta sampel yang bersifat termostabil (Depkes RI, 2008). Sebelum proses ekstraksi, sampel segar disortasi basah dan kering terlebih dahulu untuk menghilangkan adanya bahan atau zat pengotor.

Sampel dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%, karena sampel yang digunakan adalah sampel kering. Etanol 70% bersifat universal yang dapat menarik senyawa polar, semipolar, dan non polar sehingga dapat melarutkan hampir semua metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak dan sesuai aturan yang berlaku bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air dan alkohol (etanol) (Departemen Kesehatan, 2000). Sampel kering direndam selama 3 hari dan diulangi sampai maserat jernih. Maserat hasil yang telah disaring dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan pelarutnya diuapkan dengan tujuan untuk mengurangi tekanan udara pada permukaan dan menurunkan titik didih pelarut tersebut sehingga diperoleh ekstrak kental daun sirih hutan sebanyak 41,07 gram.

Ekstrak kental daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) yang didapat kemudian dilakukan pemeriksaan organoleptis, ini salah satu parameter spesifik yang ditentukan dengan menggunakan panca indera bertujuan untuk pengenalan awal secara sederhana dan subjektif, meliputi warna, bentuk, bau, dan rasa. Hasil

ekstrak daun sirih hutan didapatkan berwarna hijau kehitaman, berbau khas, dan rasa yang pahit (Tabel 2).

Pada pemeriksaan rendemen dari sampel segar sebanyak 2 kg, didapatkan sampel yang telah disortasi kering sebanyak 250 gram. Dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 41,07 gram dengan rendemen sebesar 16,43 % (Tabel 3). Penentuan rendemen bertujuan untuk mengetahui jumlah atau kuantitas ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman sampel.

Hasil susut pengeringan ekstrak daun sirih hutan adalah 5,99 % (Tabel 4) sesuai dengan standar mutu <10%. Pemeriksaan susut pengeringan bertujuan untuk menunjukkan batas maksimum atau rentang senyawa yang hilang seperti air yang menguap dan etanol pada proses pengeringan (Depkes RI, 2008). Selanjutnya dilakukan uji kadar abu yang bertujuan untuk mengetahui dan mendapatkan gambaran kandungan mineral yang berasal dari awal sampai akhir terbentuknya ekstrak, dimana senyawa organik dan turunannya akan terdestruksi dan menguap sehingga meninggalkan unsur-unsur mineral dan senyawa anorganik (Depkes RI, 2008).

Hasil persentase kadar abu ekstrak daun sirih hutan yang diperoleh, yaitu 3,91 % (Tabel 5). Semakin rendah kadar abu maka semakin tinggi kemurniannya. Selanjutnya uji skrining fitokimia yang dilakukan untuk memberikan informasi kandungan kimia sebagai parameter mutu ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dalam kaitannya dengan efek farmakologis. Pada uji skrining fitokimia ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) terdapat kandungan senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, dan fenolik (Tabel 6).

Ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L) dibuat sediaan uji dalam bentuk suspensi, agar sediaan uji terdispersi pada saat perlakuan. Pensuspensi yang digunakan adalah Na.CMC 0,5%, karena bersifat inert sehingga tidak mempengaruhi zat aktif, menghasilkan suspensi yang stabil dengan tingkat kejernihan yang tinggi, resistensinya baik terhadap mikroba, dan pada konsentrasi ini telah menghasilkan suspensi yang baik.

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih jantan yang memenuhi syarat untuk digunakan dalam penelitian, yaitu sehat dan belum pernah mendapatkan perlakuan eksperimen. Alasan menggunakan mencit putih jantan, diantaranya mudah didapat, mudah dalam penanganannya, dan memiliki kemiripan fisiologis dengan manusia, mencit betina tidak bisa digunakan pada penelitian ini karena dikhawatirkan siklus hormonalnya dapat berpengaruh pada kadar glukosa darah yang akan diukur. Sebelum perlakuan, hewan percobaan diaklimatisasi selama 7 hari untuk menyeleksi hewan coba yang memenuhi standar penelitian. Hewan yang dipilih pada penelitian adalah yang berat badannya tidak lebih dari 10% dan sehat . Hewan yang memiliki perlakuan menyimpang akan dipisahkan agar tidak mempengaruhi kondisi hewan percobaan lainnya.

Pada penelitian ini, hewan uji terdiri dari 6 kelompok yang terbagi atas kontrol negatif dengan pemberian suspensi Na.CMC 0,5%, kontrol positif dengan penginduksian deksametason dan glukosa 10%, pembanding metformin 500 mg/KgBB, dosis 25 mg/KgBB, dosis 50 mg/KgBB, dan dosis 100 mg/KgBB. Pemberian sediaan uji menggunakan 3 variasi dosis tersebut, karena berdasarkan penelitian Sitinjak, dkk (2016) menyatakan bahwa dosis 25 mg/kgBB, 50

mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB mampu menurunkan kadar gula darah pada tikus wistar yang diinduksi oleh aloksan. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada awal sebelum induksi, hari ke-11 setelah induksi, hari ke-7, 14, dan 21 setelah pemberian sediaan uji pada mencit. Sediaan uji diberikan secara peroral karena pemberian obat secara peroral sudah umum digunakan dalam penelitian yang menggunakan hewan coba serta lebih aman karena tidak menggunakan jarum suntik yang runcing.

Sebelum dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah mencit, maka mencit akan dipuaskan selama 16 jam terlebih dahulu dengan tetap diberi minum yang bertujuan untuk menghindari peningkatan kadar glukosa darah akibat makanan yang masuk. Pemeriksaan kadar glukosa darah mencit sebelum penginduksian adalah sebagai tolak ukur kadar glukosa darah normal, dan pengukuran kadar glukosa darah setelah induksi dilakukan untuk melihat keberhasilan induksi. Sedangkan pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke-7, 14, dan 21 setelah pemberian sediaan uji dengan tujuan mengetahui pengaruh lamanya pemberiaan sediaan uji, yaitu ekstrak daun sirih hutan (diberikan tiap hari secara peroral) terhadap kadar glukosa darah mencit selama rentang 7 hari.

Penginduksi yang digunakan pada penelitian ini adalah deksametason secara *subcutan* (s.c). Deksametason merupakan salah satu contoh dari kelompok glukokortikoid sintetik, lazim dipakai untuk mengobati penyakit inflamasi, asma bronkial, eksim, urtikaria, dan penyakit alergi lainnya. Deksametason mengubah kapasitas transport glukosa ke dalam jaringan, karena penurunan *Insulin Responsive Substrat-1* (IRS-1) dan *Protein kinase B* (PKB) serta adanya penurunan aktivasi PKB yang distimulasi oleh insulin (Buren *et al*, 2002) (Hanim

R dkk, 2016). Glukokortikoid juga merangsang pembentukan glukosa melalui peningkatan sekresi hormon glukagon, karena glukagon merangsang pembentukan glukosa dan peningkatan glukoneogenesis di hepar dan otot. Hormon glukagon juga menurunkan pengambilan dan penggunaan glukosa, sehingga mengakibatkan peningkatan kadar glukosa dalam darah (Hanim R dkk, 2016).

Hewan coba diinduksi deksametason selama 10 hari kemudian dilanjutkan dengan pemberian larutan glukosa 10%. Pemberian larutan glukosa 10% bertujuan untuk memaksimalkan kenaikan glukosa darah pada mencit yang telah diinduksi deksametason. Dan juga agar tidak terjadi syok hipoglikemik hingga kematian pada hewan percobaan karena penghentian deksametason secara mendadak. Hiperglikemia pada hewan percobaan disebabkan karena pemakaian deksametason dosis tinggi atau jangka panjang yang dapat menurunkan oksidasi glukosa secara independen dari transport glukosa dan menurunkan penyerapan glukosa sehingga meningkatkan kadar glukosa darah yang menyebabkan peningkatan sekresi insulin dan lipolisis (Tappy et al, 1994).

Pengambilan sampel darah dilakukan pada vena ekor karena pengambilan darah dilakukan hampir setiap minggu dengan jumlah yang sedikit sehingga bagian vena ekor adalah yang paling efektif. Untuk alat pengukur glukosa darah digunakan alat Sinocare Safe Accu beserta strip test. Alat ini sangat sederhana dalam penggunaannya hanya membutuhkan sedikit darah (1-2 tetes) tanpa membunuh hewan percobaan. Metoda pengukuran kadar glukosa darah menggunakan alat glukometer. Alat glukometer umumnya menggunakan metode glukosaoksidase biosensor. Glukosa dalam bahan pemeriksaan darah kapiler akan

bereaksi dengan enzim glukosa-oksidadase yang ada pada strip tes. Reaksi enzimatik tersebut menghasilkan elektron yang akan ditangkap oleh elektroda yang ada pada glukometer. Banyaknya elektron yang ditangkap akan sebanding dengan kadar glukosa pada bahan pemeriksaan tersebut (Sacks, 2006).

Setelah dilakukan penginduksian deksametason dan glukosa 10% pada mencit, didapatkan hasil kadar glukosa darah dari kelompok kontrol positif, mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang menunjukkan hasil kadar glukosa darah stabil pada rentang kadar glukosa normal, dimana kadar glukosa darah normal adalah <126 mg/dL. Selanjutnya dilakukan pemberian sediaan uji pada kelompok III (Pembanding metformin), kelompok IV (Dosis 25 mg/KgBB), kelompok V (Dosis 50 mg/KgBB), dan kelompok VI (Dosis 100 mg/KgBB). Pemberian sediaan uji diberikan peroral 1x sehari selama 7 hari, lalu dilakukan pengukuran kadar gula darah mencit. Kemudian dilanjutkan pada hari ke -14 dan 21.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh hasil rata-rata kadar glukosa darah mencit untuk tiap perlakuan yang diukur kadar glukosa awal sebelum induksi, kadar glukosa darah setelah induksi, dan kadar glukosa darah setelah diberikan sediaan uji ekstrak daun sirih hutan pada hari ke-7, 14, dan 21. Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan kadar glukosa darah setelah diberikan penginduksi deksametason dan adanya penurunan kadar glukosa darah setelah diberikan ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.).

Berdasarkan tabel 7, rata-rata kadar glukosa darah sebelum induksi pada kelompok kontrol negatif, positif, kelompok pembanding, kelompok dosis 1 (25 mg/KgBB), dosis 2 (50 mg/KgBB) dan dosis 3 (100 mg/KgBB), yaitu 82 mg/dL,

89,6 mg/dL, 77,6 mg/dL, 79,6 mg/dL, 89,8 mg/dL, 92,4 mg/dL. Rata-rata kadar glukosa darah mencit setelah induksi pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok pembanding, kelompok dosis 1 (25 mg/KgBB), dosis 2 (50 mg/KgBB) dan dosis 3 (100 mg/KgBB) adalah 90,2 mg/dL, 140,4 mg/dL, 150,6 mg/dL, 141,2 mg/dL, 142,8 mg/dL, 143,8 mg/dL.

Rata-rata kadar glukosa darah mencit hari ke-7 setelah pemberian ekstrak pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok pembanding, kelompok dosis 1 (25 mg/KgBB), dosis 2 (50 mg/KgBB) dan dosis 3 (100 mg/KgBB) adalah 92,2 mg/dL, 148,2 mg/dL, 105,2 mg/dL, 140 mg/dL, 133,8 mg/dL, 125,4 mg/dL. Rata-rata kadar glukosa darah mencit hari ke-14 pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok pembanding, kelompok dosis 1 (25 mg/KgBB), dosis 2 (50 mg/KgBB) dan dosis 3 (100 mg/KgBB) adalah 92,2 mg/dL, 150,2 mg/dL, 100,8 mg/dL, 135 mg/dL, 130,8 mg/dL, 113,2 mg/dL. Rata-rata kadar glukosa darah mencit hari ke-21 pada kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok pembanding, kelompok dosis 1 (25 mg/KgBB), dosis 2 (50 mg/KgBB) dan dosis 3 (100 mg/KgBB) adalah 93,6 mg/dL, 153,8 mg/dL, 94,6 mg/dL, 125,4 mg/dL, 118,4 mg/dL, 97 mg/dL (Tabel 7).

Dari hasil yang telah dipaparkan, dapat dilihat bahwa semua dosis ekstrak daun sirih hutan yang diinduksikan pada hewan coba ternyata memberi efek mampu menurunkan kadar glukosa darah. Hal ini dapat dilihat penggambarannya pada tabel perubahan kadar glukosa darah. Persentase penurunan tiap masing-masing kelompok perlakuan dosis ekstrak dan kelompok pembanding secara berturut turut dari hari ke-7, 14, dan 21 didapatkan hasil penurunan kadar glukosa

darah untuk dosis 25 mg/KgBB, yaitu 0,85 %, 4,39 %, dan 11,19 %. Untuk dosis 50 mg/KgBB, yaitu yaitu 6,30 %, 8,40 %, dan 17,09 %. Untuk dosis 100 mg/KgBB, yaitu 12,79 %, 21,28 %, dan 32,55 %. Sedangkan untuk dosis pembanding metformin, yaitu 30,15 %, 33,07 %, dan 37,18 % (Tabel 8). Berdasarkan hasil persentase penurunan kadar glukosa darah dari ketiga dosis ekstrak, yang paling besar dalam penurunan kadar glukosa darah adalah dosis 3 (100 mg/KgBB), yaitu mencapai 32,55 % dan lebih mendekati efek pembanding dalam menurunkan kadar glukosa darah, yaitu 37,18 %. Oleh karena itu, ekstrak daun sirih hutan diduga memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit karena kandungan antidiabetes yang terdapat pada ekstrak daun sirih hutan, seperti flavonoid, alkaloid, dan steroid.

Hasil uji normalitas dan homogenitas Anova satu arah dinyatakan normal, yaitu $p > 0,05$. Dilihat hasil statistik analisa varian (ANOVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah hewan percobaan pada hari ke-7 terdapat perbedaan yang signifikan dan dinyatakan dengan $0,00 < 0,05$. Berdasarkan hasil statistik uji lanjut duncan^a dapat diketahui bahwa kadar glukosa darah pada kelompok dosis 25 mg/KgBB tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif yang berarti belum memberikan efek, kadar glukosa darah kelompok dosis 50 mg/KgBB tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 25 mg/KgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif, kelompok pembanding dan kelompok negatif, yang berarti telah memberikan efek tapi belum mendekati kadar glukosa darah normal. Kadar glukosa darah kelompok dosis 100 mg/KgBB tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 50 mg/KgBB tetapi berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif, kelompok dosis 25 mg/KgBB, kelompok pembanding dan kelompok

kontrol negatif, yang berarti telah memberikan efek terhadap penurunan kadar glukosa darah tapi belum terlalu efektif. Kadar glukosa darah kelompok pembanding berbeda nyata dengan semua kelompok perlakuan.

Hasil statistik analisa varian (ANOVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah hewan percobaan pada hari ke-14 terdapat perbedaan yang signifikan dan dinyatakan dengan $0,00 < 0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut duncan^a dan didapatkan hasil kadar glukosa darah pada kelompok dosis 25 mg/KgBB berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif, kelompok pembanding, kelompok dosis 100 mg/KgBB, dan kelompok negatif, tapi tidak berbeda nyata dengan kelompok dosis 50 mg/KgBB, yang menunjukkan bahwa dosis 25 mg/KgBB telah memberikan efek tetapi belum mendekati kadar glukosa darah normal. Sedangkan kadar glukosa darah kelompok dosis 50 mg/KgBB berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif, kelompok dosis 100 mg/KgBB, kelompok pembanding, dan kelompok negatif, yang menunjukkan bahwa dosis 50 mg/KgBB telah memberikan efek tapi belum mendekati kadar glukosa darah normal. Kadar glukosa darah kelompok dosis 100 mg/KgBB berbeda nyata dengan semua kelompok perlakuan, yang berarti dosis 100 mg/KgBB telah memberikan efek terhadap penurunan kadar glukosa darah, yaitu 113.20 mg/dL. Kadar glukosa darah kelompok pembanding tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, tapi berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif, kelompok dosis 25 mg/KgBB, 50 mg/KgBB, dan dosis 100 mg/KgBB, ini menunjukkan kelompok pembanding efektif dalam penurunan kadar glukosa darah.

Berdasarkan hasil statistik analisa varian (ANOVA) satu arah terhadap kadar glukosa darah hewan percobaan pada hari ke-21 terlihat perbedaan signifikan yang dinyatakan dengan $0,00 < 0,05$. Berdasarkan hasil statistik uji lanjut duncan^a menunjukkan kadar glukosa darah pada kelompok dosis 25 mg/KgBB dan kelompok dosis 50 mg/KgBB tidak berbeda nyata, tapi berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif, kelompok pembanding, dan kontrol negatif. Ini menunjukkan bahwa dosis 25 mg/KgBB dan 50 mg/KgBB telah memberikan efek penurunan kadar glukosa darah mendekati normal yaitu, 118,40 mg/dL dan 125,40 mg/dL. Sedangkan kelompok dosis 100 mg/KgBB berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif, kelompok dosis 25 mg/KgBB, dan dosis 50 mg/KgBB, tapi tidak berbeda nyata dengan kelompok pembanding dan kontrol negatif, yang artinya kelompok dosis 100 mg/KgBB adalah kelompok dosis paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa.

Hasil perhitungan statistik analisa varian (ANOVA) dua arah terlihat bahwa pemberian variasi dosis ekstrak daun sirih hutan pada hewan coba terhadap lama pemberian 7 hari, 14 hari, dan 21 hari mempengaruhi penurunan kadar glukosa darah dengan signifikan $0,00 < 0,05$, yang artinya variasi dosis ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) dan lama waktu pemberian ekstrak memiliki pengaruh terhadap aktivitasnya dalam menurunkan kadar glukosa darah. Dilanjutkan dengan uji lanjut duncan^a terhadap kadar glukosa darah setelah pemberian variasi dosis ekstrak daun sirih hutan selama 7 hari, 14 hari, dan 21 hari.

Hasil uji lanjut duncan^a terhadap pengaruh dosis dalam penurunan kadar glukosa darah menunjukkan masing-masing perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan, yaitu $0,00 < 0,05$. Hasil uji lanjut Duncan pengaruh lama waktu

terhadap penurunan kadar glukosa darah menunjukkan pada waktu pemberian ekstrak selama 7 hari dengan waktu pemberian ekstrak pada hari ke-14, dan pada hari ke-21 saling berbeda nyata, artinya lama pemberian akan menunjukkan perbedaan penurunan kadar glukosa darah sesuai lamanyanya. Semakin lama pemberian sediaan uji maka semakin besar pula penurunan kadar glukosa darah yang dihasilkan.

Berdasarkan hasil penelitian, dapat dinyatakan bahwa masing-masing kelompok dosis ekstrak daun sirih hutan memiliki aktivitas menurunkan kadar glukosa darah dengan variasi dosis 100 mg/KgBB lebih besar dan efektif dalam memberikan efek penurunan kadar glukosa darah. Sedangkan dosis 50 mg/KgBB dan dosis 25 mg/KgBB memiliki nilai rata-rata yang tidak terlalu berbeda. Hal ini disebabkan karena tingginya kadar atau jumlah kandungan zat yang mempunyai efek antihiperqlikemia atau yang berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah. Adanya pengaruh lama pemberian terhadap penurunan kadar glukosa darah pada mencit yang hiperqlikemia, dimana waktu yang paling efektif ada pada hari ke-21 karena semakin lama waktu pemberian sediaan uji, maka semakin memperlihatkan hasil penurunan kadar glukosa darah yang semakin besar.

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji aktivitas ekstrak daun sirih hutan (*Piper aduncum* L.) pada mencit putih jantan yang diinduksi deksametason diperoleh kesimpulan yaitu :

1. Pemberian ekstrak daun sirih hutan memiliki aktivitas menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang diinduksi deksametason secara bermakna $p < 0,05$.
2. Pada masing-masing kelompok perlakuan memiliki aktivitas berbeda yang signifikan menurunkan kadar glukosa darah, yaitu $p < 0,05$, dengan dosis 100 mg/KgBB lebih efektif.
3. Pemberian sediaan uji dosis 25 mg/KgBB, 50 mg/KgBB, dan 100 mg/KgBB terhadap lama waktu pemberian, menunjukkan hasil penurunan kadar glukosa darah yang berbeda signifikan, yaitu $p < 0,05$

5.2 Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk meneliti efek fraksinasi dan memakai penginduksi lain sebagai perbandingan hasil dari penelitian ini.

