

## **BAB I. PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolisme kronis yang ditandai peningkatan glukosa darah, yang disebabkan karena adanya ketidakseimbangan antara suplai dan kebutuhan untuk dapat memfasilitasi masuknya glukosa dalam sel agar dapat digunakan untuk metabolisme pertumbuhan sel (Izzati dan Nirmala, 2015). Pada tahun 2015, Indonesia menempati peringkat ketujuh dunia untuk prevalensi penderita diabetes tertinggi di dunia menduduki peringkat kedua setelah Sri Lanka untuk presentasi kematian tertinggi akibat diabetes (WHO, 2016). Hasil prevalensi orang dengan diabetes berdasarkan diagnosis dokter di Indonesia dibandingkan dengan tahun 2013 terjadi peningkatan sebesar 2% pada penduduk umur  $\geq 15$  tahun dan peningkatan sebesar 1,5% pada prevalensi DM semua umur di tahun 2018 (Kemenkes, 2018).

Sumatera Barat memiliki prevalensi total DM sebanyak 1,6% pada tahun 2018, dimana Sumatera Barat berada di urutan ke 21 dari 34 provinsi di Indonesia (Kemenkes, 2018). Menurut data Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Barat tahun 2018, jumlah kasus DM di Sumatera Barat tahun 2018 berjumlah 44.280 kasus, dengan jumlah kasus tertinggi berada di wilayah Kota Padang berjumlah 12.231 kasus. Data dari Dinas Kesehatan Kota Padang tahun 2018, jumlah penderita diabetes mellitus di Kota Padang yakni sebanyak 60.854 orang dengan jumlah pengunjung Puskesmas berkisar 33.439 orang (Dinkes Padang, 2017)

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit kronik yang bersifat kompleks dimana terjadi kelainan metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak serta berkembangnya komplikasi makrovaskuler dan neurologis. Diabetes Melitus dapat mengakibatkan berubahnya profil lipid dalam darah, yang dihubungkan dengan peningkatan resiko penyakit kardiovaskular. Diabetes Melitus ditandai oleh peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) (Bastaki, 2005). Dalam keadaan hiperglikemia, kapasitas sekresi insulin menjadi lemah sehingga produksi insulin semakin berkurang. Menurut World Health Organization (WHO) dalam kondisi hiperglikemia kadar gula darah memiliki rentang nilai antara 100-126 mg/dL dan termasuk kedalam keadaan toleransi abnormal glukosa (PERKENI,2015).

Meskipun diabetes kini dapat dikontrol secara klinis dengan menggunakan injeksi insulin, tetapi penanganan ini tidak bersifat menyembuhkan dan memberikan rasa tidak nyaman pada saat pemakaian serta dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan sejumlah komplikasi klinis. WHO merekomendasikan penggunaan obat tradisional, dari tumbuhan obat untuk pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan, dan pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker. WHO juga mendukung upaya dalam peningkatan keamanan dan khasiat dari obat tradisional (WHO, 2003).

Obat tradisional berasal dari berbagai tanaman obat berkhasiat yang dapat digunakan untuk mengatasi berbagai macam penyakit. Tanaman-tanaman yang diduga berkhasiat untuk pengobatan, sebenarnya telah digunakan secara tradisional (Subroto, 2006). Beberapa tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai

obat diabetes yaitu buah pare (Setiawi, 2012), daun manga (Sharma dkk, 2013) dan daun pepaya (Yola dkk, 2019).

Secara empiris pepaya banyak digunakan sebagai diuretic (akar & daun), anthelmintic (biji&daun), dan untuk menyembuhkan penyakit akibat empedu (buah), serta dyspepsia dan kelainan pencernaan lainnya (Gill, 2015). Disamping sebagai tumbuhan yang dikonsumsi manusia maupun hewan, tumbuhan pepaya juga memiliki khasiat yang beragam diantaranya ekstrak air epikarp pepaya berefek terhadap penyembuhan luka dan biji pepaya berefek terhadap penurunan kadar kolesterol dan kadar gula darah (Anuar, dkk. 2008).

Pada penelitian (Yola dkk, 2019) pada tikus putih jantan diberikan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan dosis 200mg/kgBB, dan serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.) 200mg/kgBB, hasil penelitian menunjukkan adanya penurunan kadar gula darah pada ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan dosis 200mg/kgBB, adanya penurunan kadar gula darah pada ekstrak daun pepaya, bahwa daun pepaya (*Carica papaya* L.) mengandung senyawa metabolit sekunder, alkaloid, triterpenoid, steroid, flavonoid, saponin, dan tanin.

Dari uraian diatas peneliti tertarik untuk melakukan penelitian berjudul efek antihiperglikemia dan fraksi *n*-butanol daun pepaya dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit putih jantan yang diinduksi aloksan.

### **1.1 Rumusan Masalah**

1. Apakah fraksi *n*-butanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) memberikan efek dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi dengan aloksan?

2. Apakah variasi dosis fraksi *n*-butanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) memberikan efek dalam menurunkan kadar glukosa dalam darah?
3. Apakah lama pemberian fraksi *n*-butanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) memberikan efek dalam menurunkan kadar glukosa didalam darah?

### **1.2. Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengetahui efek fraksi *n*-butanol daun pepaya ( *Carica papaya* L.) dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit yang telah diinduksi aloksan.
2. Untuk mengetahui efek variasi dosis fraksi *n*-butanol daun pepaya ( *Carica papaya* L.) dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi aloksan.
3. Untuk mengetahui efek lama pemberian fraksi *n*-butanol daun pepaya ( *Carica papaya* L.) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi dengan aloksan.

### **1.3. Manfaat Penelitian**

1. Penelitian ini dapat membuktikan efek daun pepaya (*Carica papaya* L.) dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yang diinduksi dengan aloksan, sehingga dapat menjadikan alternatif dalam pengobatan penyakit diabetes melitus
2. Penelitian ini dapat membuktikan pengaruh variasi dosis fraksi *n*-butanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi aloksan.

3. Penelitian ini dapat membuktikan pengaruh lama pemberian fraksi *n*-butanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi dengan aloksan.

## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Tinjauan Botani Daun Papaya (*Carica papaya* L.)

#### 2.1.1. Klasifikasi Tanaman Papaya (*Carica papaya* L.)



**Gambar 1.** Tanaman Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Berdasarkan tata nama ( sistematika ) botani tumbuhan daun pepaya (*Carica papaya* L.) dapat diklasifikan sebagai berikut (Yogiraj V, 2014)

Kingdom : plantae

Divisi : spermatophyte

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Brassicales

Famili : Caricaceae

Genus : *Carica*

Spesies : *Carica papaya* L.

#### 2.1.2. Nama Dahak dan Penyebarannya

Tumbuhan *Carica papaya* L, yang bisa disebut dengan nama pepaya. Nama pepaya dalam bahasa Indonesia diambil dari bahasa Belanda “papaja” dan pada masa diambil dari Arawak”papaya”. Dalam bahasa jawa disebut “kates” dan bahasa sunda disebut “gedang”. Nama daerah lain dari pepaya yaitu peute, betik,

ralempaya, punti kayu (Sumatra), pisang malaka, bandas, manjan (Kalimantan), kalajawa, padu (Nusa Tenggara), kapalay, kalikih, unti jawa ( Sulawesi). Pepaya dalam (Inggris) yaitu papaya dan ,dalam bahasa pepaya (Cina) yaitu fan mu gua (Herbie, 2015).

### **2.1.3. Morfologi Tanaman Daun Pepaya**

Bentuk dan susunan tubuh bagian luar tanaman pepaya termasuk tumbuhan yang umur sampai berbunganya dikelompokkan sebagai tanaman buah-buahan semusim, namun dapat tumbuh lebih dari 1 tahun. Pada sistem perakarannya memiliki akar tunggang dan akar-akar cabang yang tumbuh mendatar ke semua arah pada kedalaman 1 meter atau lebih, menyebar sekitar 60-150 cm atau lebih dari pusat batang tanaman (Suprpti, 2005). Batang tanaman pepaya berbentuk bulat lurus, di bagian tengahnya berongga, dan tidak berkayu. Ruas-ruas batang merupakan tempat melekatnya tangkai daun yang panjang, yang memiliki bentuk bulat, dan berlubang. Daun pepaya bertulang menjari dengan warna permukaan atas hijau-tua, sedangkan warna permukaan bagian bawah hijau-muda (Suprpti, 2005).

### **2.1.4. Manfaat Tanaman Daun Pepaya**

Daun papaya mengandung senyawa alkaloid. Flavonoid, glikosida, dan tanin (Mahatiny dkk, 2014). Selain itu pada daun juga akar mengandung polifenol (Depkes, 2000). Daun papaya diketahui berkhasiat sebagai anti kanker, antioksidan, antidiabetes, antifertilitas, antiinflamasi, anthemintika, antibakteri, antimalaria, dan untuk pengobatan demam berdarah (Rahayu dan Tjitraresmi, 2016). Daun papaya juga papaya juga dapat dimanfaatkan sebagai analgetik ( untuk

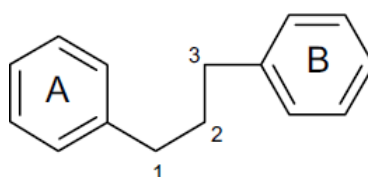
mengurangi atau menghilangkan nyeri tanpa menghilangkan kesadaran), juga mengandung carposide yang berguna sebagai obat cacing (Raina, 2011).

## 2.2. Tinjauan Kimia Tumbuhan

Berdasarkan penelitian (Mahatiny dkk, 2014) , flavonoid, saponin dan tanin merupakan kandungan dari daun pepaya.

### 1. Flavonoid

#### a. Monografi

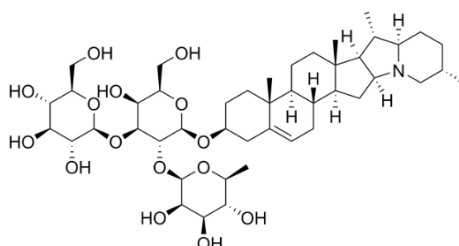


**Gambar 2.** Struktur Umum Flavonoid (Harnoner, 1987)

Flavonoid merupakan senyawa polar yang mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol dan aseton. Mekanisme antibakteri yang dimiliki flavonoid ialah dengan 8 membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut sehingga dapat merusak membran sel dari bakteri diikuti dengan keluarnya senyawa interseluler. Selain itu, mekanisme lain yang dimiliki flavonoid adalah menghambat metabolisme energi dengan menghambat penggunaan oksigen oleh bakteri dan menghambat motilitas bakteri (Hartini & Mursyida, 2019).

### 2. Saponin

#### a. Monografi



**Gambar 3.** Struktur Umum Saponin (Harbone, 1987)



Saponin merupakan senyawa aktif yang menimbulkan busa jika dikocok. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri dengan mengganggu permeabilitas membran sel bakteri sehingga mengakibatkan rusaknya membran sel dan menyebabkan keluarnya protein, asam nukleat dan nukleotida dari dalam sel bakteri sehingga mengakibatkan bakteri menjadi lisis (Hartini & Mursyida, 2019). Saponin memproduksi cytokines seperti interleukin dan interferons akan bereaksi dengan antigen (benda-benda asing) yang masuk ke dalam tubuh (Tizard, 1998).

### 3. Tanin

Tanin adalah sejenis kandungan tanaman bersifat fenol yang memiliki rasa sepat. Tanin ini larut, setidaknya sampai batas tertentu, dalam pelarut organik yang polar, tetapi tidak larut dalam pelarut organik non polar seperti benzena. Kadar tannin yang tinggi mungkin mempunyai arti pertahanan bagi tanaman yaitu membantu mengusir hewan pemangsa tanaman. Beberapa tannin terbukti mempunyai aktivitas antioksidan, menghambat pertumbuhan tumor, dan menghambat enzim seperti reverse transkriptase dan DNA topoisomerase (Robinson, 1995).

### 2.3. Tinjauan Farmakologi

Pada penelitian (Yola dkk, 2018) ekstrak daun pepaya pada dosis 200 mg/200 grBB memiliki efek hipoglikemik yang mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan wistar yang diinduksi aloksan. Adanya penurunan kadar glukosa darah daun pepaya (*Carica papaya* L.) diperkirakan karena kandungan dari beberapa senyawa metabolit sekunder diantaranya senyawa flavanoid dan saponin.

## **2.4. Tinjauan Farmasetik**

Pemanfaatan daun pepaya (*Carica papaya* L.) dimasyarakat untuk mengurangi rasa nyeri dapat dilakukan dengan cara merebus 1-2 lembar daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang masih muda direbus dengan air sebanyak 100 ml, hingga mendidih dan diminum 2 kali sehari setiap pagi dan sore hari. Jika rasa nyeri tidak dirasakan lagi konsumsi air rebusan daun pepaya (*Carica papaya* L.) dapat dihentikan (Siti dkk, 2016). Dan sudah ada produk yang beredar dipasaran yang mengandung sari daun pepaya seperti sidomuncul sari daun pepaya digunakan sebagai obat untuk membantu nafsu makan.

## **2.5. Diabetes Melitus**

### **2.5.1. Definisi**

Diabetes melitus merupakan penyakit gangguan metabolisme yang ditandai peningkatan glukosa darah, disebabkan karena ketidakseimbangan antara suplai dan kebutuhan insulin. Berkurang atau tidak adanya insulin menjadikan glukosa tertahan di dalam darah, sementara sel menjadi kekurangan glukosa yang sangat dibutuhkan dalam kelangsungan dan fungsi sel (Tarwoto, dkk., 2011). Diabetes melitus merupakan gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin atau penurunan sensitivitas insulin, atau keduanya dan menyebabkan komplikasi kronis mikrovaskular, dan neuropati (Sukandar, dkk, 2008).

### **2.5.2. Klasifikasi DM**

#### **1. Diabetes Melitus Tipe 1**

Diabetes melitus tipe-1 adalah penyakit kronis yang ditandai dengan ketidakmampuan tubuh untuk menghasilkan atau memproduksi insulin yang diakibatkan oleh rusaknya sel- $\beta$  pada pankreas. Diabetes mellitus tipe-1 disebut dengan kondisi autoimun oleh karena sistem imun pada tubuh menyerang sel-sel dalam pankreas yang dikira bias membahayakan tubuh. Reaksi autoimunitas tersebut dapat dipicu oleh adanya infeksi pada tubuh. Diabetes mellitus tipe-1 sering terjadi pada anak-anak tetapi penyakit ini dapat berkembang pada orang dewasa (Kerner and Brukel, 2014).

#### **2. Diabetes Melitus tipe-2**

Diabetes melitus tipe-2 adalah penyakit gangguan metabolik yang ditandai oleh kenaikan gula darah akibat penurunan sekresi insulin oleh sel- $\beta$  pankreas atau gangguan insulin “resistensi insulin” (Departemen Kesehatan, 2005). Pasien yang menderita diabetes tipe-2 adalah jika tubuhnya masih dapat memproduksi insulin, namun insulin yang dihasilkan tidak cukup atau sel lemak dan otot tubuh menjadi kebal terhadap insulin (ADA, 2010)

#### **3. Diabetes Melitus Gestational**

Diabetes mellitus gestational adalah intoleransi glukosa pada waktu kehamilan, pada wanita normal atau yang mempunyai gangguan toleransi glukosa setelah terminasi kehamilan. Diabetes mellitus gestational terjadi disekitar 5-7% dari semua kasus pada kehamilan (Kerner and Brucket, 2014)

#### **4. Diabetes Karena Malnutrisi**

Diabetes tipe ini dapat ditegakkan jika terjadi gejala, yaitu malnutrisi, malabsorpsi makanan sehingga memerlukan insulin untuk regulasi DM dan

menaikkan berat badan, terjadi pada usia antara 15-40 tahun (Tarwoto, dkk., 2011). Sebagian pasien mengalami nyeri perut yang menjalar ke daerah punggung (pola jalaran nyeri ini mirip dengan pola jalaran nyeri akibat pankreatitis) (Arisman, 2011).

#### 5. Diabetes Sekunder

Yaitu DM yang berhubungan dengan keadaan tertentu, misalnya pankreas (pankreatitis, neoplasma, trauma/pancreatectomy), endokrinopati (akromegali, Cushing's syndrome, pheochromocytoma, hyperthyroidism), obat-obatan atau zat kimia (glukokortikoid, hormon tiroid, dilantin, nicotinic acid), penyakit infeksi seperti kongenital rubella, infeksi cytomegalovirus, serta syndrome genetic diabetes seperti Syndrome Down (Tarwoto, dkk., 2011).

#### 2.5.3. Patofisiologi Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus adalah suatu penyakit dimana kadar glukosa dalam darah tinggi karena tubuh tidak dapat melepaskan atau menggunakan insulin secara cukup sehingga mengakibatkan terjadinya penumpukan gula dalam darah yang menyebabkan terjadinya hiperglikemia. Secara normal glukosa bersirkulasi dalam jumlah tertentu dalam darah. Glukosa dibentuk dalam hati dari makanan yang dikonsumsi ke dalam tubuh. Insulin merupakan hormon yang diproduksi oleh pankreas yang berfungsi untuk memfasilitasi atau mengendalikan kadar glukosa dalam darah untuk mengatur produksi dan penyimpanannya.

Defisiensi insulin ini menyebabkan penggunaan glukosa dalam tubuh menurun yang akan menyebabkan kadar glukosa dalam plasma tinggi atau hiperglikemia. Keadaan hiperglikemia ini akan menyebabkan terjadinya glukosuria dikarenakan glukosa gagal diserap oleh ginjal ke dalam sirkulasi darah dimana

keadaan ini akan menyebabkan gejala umum diabetes mellitus yaitu polyuris, polydipsia, dan, polyphagia (Kerner Brucket, 2014, Ozougwa, 2013)

#### **2.5.4. Manifestasi**

Pada penderita DM biasanya terjadi peningkatan frekuensi buang air kecil (poliuria), meningkatkan rasa haus (polidipsia), meningkatnya rasa lapar (polipagia), penurunan berat badan, kelainan pada mata atau penglihatan kabur, kelemahan dan keletihan tanpa gejala (Tarwoto, dkk.,2011).

Penderita DM tipe 1 biasanya memiliki tubuh yang kurus dengan hasil tes antibodi bernilai 50-80% (WHO 1994). Sedangkan pasien DM tipe II sering asimtomatik dan munculnya komplikasi sering mengindikasikan bahwa pasien telah menderita DM selama bertahun-tahun yang diikuti kondisi neuropati (Sukandar, dkk.,2008).

#### **2.5.5. Diagnosis**

Diagnosis DM harus didasarkan atas pemeriksaan kadar glukosa darah, tidak dapat ditegakan hanya atas dasar adanya glukosuria. Dalam menentukan diagnosis DM , wajib diperhatikan asal bahan darah yang diambil dan cara pemeriksaan yang dipakai. Untuk diagnosis DM, pemeriksaan yang dianjurkan adalah pemeriksaan glukosa dengan cara enzimatik dengan bahan darah kapiler (Perkeni, 1998).

Pemeriksaan kadar glukosa darah ada berbagai cara yang biasa dilakukan untuk memeriksa kadar glukosa darah (Soelistijo dkk., 2019).

##### **1). Tes Glukosa Darah Puasa**

Tes glukosa darah puasa mengukur kadar glukosa darah setelah tidak mengkonsumsi apapun kecuali air selama 16 jam. Tes ini biasanya dilakukan pagi

hari sebelum sarapan. Hasil pemeriksaan kadar gula darah puasa dikategorikan hiperglikemia apabila hasilnya 101-126 mg/dl., normal apabila menunjukkan 71-100 mg/dl, dan hipoglikemia apabila hasilnya 0-70 mg/dl.

#### 2). Tes Glukosa Darah Sewaktu

Kadar glukosa darah sewaktu disebut juga kadar glukosa darah acak atau kasual. Tes glukosa darah sewaktu dapat dilakukan kapan saja, kadar glukosa darah dikatakan normal jika tidak lebih dari 200 mg/dl.

#### 3). Uji toleransi glukosa oral

Tes toleransi glukosa oral merupakan pemeriksaan yang lebih sensitive dari pada tes toleransi intravena dengan beban 75 gram glukosa. TTGO dilakukan dengan pemberian larutan karbohidrat sederhana.

#### 4). Uji HbA1C

Pemeriksaan hemoglobin terglikasi (HbA1c) yang disebut glikohemoglobin atau disingkat A1C merupakan cara yang digunakan untuk menilai efek perubahan terapi 8-12 minggu sebelumnya. Pemeriksaan A1C dianjurkan dilakukan setiap 3 bulan minimal 2 kali dalam setahun

### **2.5.6. Terapi Diabetes Melitus**

Penatalaksanaan DM dengan Terapi non farmakologis meliputi perubahan gaya hidup dengan meningkatkan aktivitas jasmani, mengatur asupan makanan atau manajemen diet, serta terapi farmakologis berupa pemberian obat antidiabetes oral dan atau pemberian hormone insulin. Terapi farmakologis dipilih apabila terapi non farmakologis telah dilakukan tetapi tidak dapat mengendalikan kadar glukosa darah (Tarwoto, dkk.,2011).

Terapi Farmakologis yang dapat digunakan sebagai terapi diabetes melitus yaitu:

1. Pemberian hormon insulin

Tujuan pemberian insulin yaitu menurunkan tekanan gula darah dengan meningkatkan transport glukosa ke dalam sel dan menghambat konversi glikogen dan asam amino menjadi glukosa (Tarwoto,dkk.,2011).

2. Obat golongan sulfonilurea

Mekanisme kerja sulfonilurea adalah menstimulasi pelepasan insulin dari sel  $\beta$ -pankreas dan meningkatkan sekresi insulin akibat rangsangan glukosa. Dikenal dua generasi sulfonil urea. Generasi pertama terdiri dari tolbutamid,tolazamide, aseohexamid, dan klorpropamid. Generasi kedua memiliki potensi hipoglikemik yang lebih besar, yaitu glibenklamid, glipizid, gliklazid, dan glimepirit (Tjay dan Rahardja, 2007).

3. Binguanid

Binguanid bekerja dengan menghambat produksi glukosa di hepar dan meningkatkan sensitivitas sel otot insulin. Contoh obat golongan biguanid yaitu metformin (Tarwoto,dkk., 2011).

4. Tiazolidindion

Tiazolidindion memicu perubahan proses transkrip genetik dalam inti sel otot yang membuat sel lebih sensitif terhadap insulin. Tiazolidindion juga menghambat hepar memproduksi glukosa. Obat

yang termasuk kedalam golongan ini adalah pioglitazon, rosiglitazon, dan glitazon (Tarwoto,dkk., 2011).

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

Yang termasuk golongan ini yaitu akarbose dan miglitol (derivate piperdintriol), bekerja dengan menurunkan absorpsi karbohidrat dengan menghambat enzim  $\alpha$ -glukosidase pada usus (Tarwoto, dkk., 2011).

### 2.6. Metode Uji AntiDiabetes

#### 2.6.1. Metode Uji Toleransi Glukosa Oral

Prinsip uji toleransi glukosa oral yaitu, hewan uji dipuasakan selama 16-20 jam dan tetap diberi minum, kemudian diambil cuplikan darah sebagai kadar glukosa awal dan dilanjutkan dengan diberikan sediaan obat secara oral. Hewan uji diberikan larutan glukosa secara oral. Pengambilan cuplikan darah diulangi pada waktu-waktu yang telah ditentukan (Etuk, 2010).

#### 2.6.2. Metode Uji Dengan Merusak Pankreas

Metode ini dilakukan dengan pemberian zat diabetogenik yang dapat merusak pankreas hewan uji sehingga tidak dapat menghasilkan hormon insulin dan memiliki kondisi sama seperti penderita diabetes mellitus. Prinsip metode ini yaitu dengan memberikan zat diabetogenik seperti alloksan secara parental. Pemberian zat uji dilakukan tujuh hari setelah pemberian alloksan (Etuk, 2010).

### 2.7. Metode Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

#### 2.7.1. Metode Enzimatis

Pada metode ini menggunakan enzim-enzim yang bekerja secara spesifik pada glukosa, sehingga hasil yang didapat relatif lebih tepat dibanding metode



lainnya. Enzim yang paling sering digunakan pada analisa glukosa secara enzimatis yaitu heksokinase dan glucose oxidase. Pada metode dengan enzim heksokinase, glucose-6-fosfat yang berasal dari glukosa dan ATP dari heksokinase akan dioksidasi oleh NAD. Reaksi ini dikatalis dengan adanya glucose-6-fosfat dehidrogenasi sehingga akan membentuk NADH yang dapat dianalisa dengan spektrofotometer. Pada metode dengan enzim glucose oxidase, glukosa dioksidasi oleh glucose oxidase membentuk glukonolakton dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida selanjutnya teroksidasi oleh peroksidase membentuk senyawa yang dapat dianalisa dengan spektrofotometer (Duxbury, 2004).

#### **2.7.2. Prinsip Kerja Glukometer**

Glukometer merupakan alat kesehatan yang digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah. Glukometer banyak digunakan di rumah sakit, klinik, ruang gawat darurat, serta penggunaan di rumah. Glukometer memberikan analisa kadar glukosa darah secara cepat, sehingga dapat segera dilakukan manajemen kondisi hipoglikemik atau hiperglikemik yang dialami pasien. Glukometer terdiri dari dua bagian yaitu bagian reaksi enzimatis dan detektor. Bagian enzimatis berada pada strip atau kuvet dalam kondisi terdehidrasi. Glukosa dalam sampel darah akan menghidrasi kemudian bereaksi dengan enzim dan menghasilkan senyawa yang dapat terdeteksi. Hingga saat ini terdapat tiga reaksi enzimatis yang biasa digunakan pada glukometer antara lain glucose oxidase, glucose dehydrogenase, dan hexokinase. (Toyushkina, 2009).

## **2.8. Model Diabetes Mellitus Pada Hewan Percobaan**

### **2.8.1. Aloksan**

Aloksan (2,4,5,6-tetrakis primidin-5,6-dioksida) merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil. Waktu paruh pada suhu 37 C dan pH netral adalah 1,5 menit dan bisa lebih lama pada suhu yang lebih rendah. Sebagai diabetagonik, aloksan dapat digunakan secara intravena (pembuluh darah vena), intraperitoneal (rongga perut) dan subkutan (jaringan konektif kulit). Dosis intravena yang digunakan biasanya 65 mg/kg bb, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2-3 kalinya (Yani,2014).

Aloksan mempunyai efek patofisiologis berupa selektif dalam menurunkan sekresi insulin yang diinduksi oleh glukosa melalui kemampuannya untuk menghambat sensor glukosa sel beta sehingga terjadi kerusakan sel beta pankreas yang merupakan akibat radikal hidroksil hasil reaksi aloksan dengan tiol intraseluler (glutathione) sehingga dapat menimbulkan nekrosis sel beta pankreas sehingga terjadi insulin dependent aloksan diabetes.

### **2.8.2. Deksametason**

Deksametason termasuk dalam golongan obat kortikosteroid dengan aktivitas glukokortikoid dan mineralkortikoid. Aktivitas deksametason sebagai glukokortikoid mempunyai efek immunosupresan dan anti-inflamasi. Sebagai immunosupresan deksametason bekerja menurunkan respon imun tubuh terhadap stimulasi rangsangan. Sedangkan peran deksametason sebagai antiinflamasi yaitu dengan mencegah atau menekan respon jaringan terhadap proses inflamasi dan menghambat akumulasi sel yang mengalami inflamasi, termasuk makrofag dan leukosit pada tempat inflamasi. Efek samping dari glukokortikoid adalah lipolisis, glikogenolisis di perifer dan di hepar.

Keadaan ini dapat pula merupakan salah satu penyebab bertambahnya sintesis glukosa yang mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia). Pada kasus *Cushing's Syndrom*, kelebihan glukokortikoid menimbulkan banyak masalah seperti resistensi insulin, diabetes, osteoporosis, sepsis dan penyakit kardiovaskuler. Resistensi insulin terjadi karena kelebihan hormon glukokortikoid endogen yang mengganggu ikatan insulin dengan reseptornya sehingga tidak terbentuk sinyal subseluler insulin yang mengakibatkan hambatan perpindahan GLUT-4 dari sitoplasma ke membran plasma (GLUT-4 tidak aktif). GLUT-4 yang tidak aktif tidak dapat menjalankan fungsinya untuk membawa glukosa dari aliran darah ke dalam sel untuk diubah menjadi energi yang mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar insulin dan glukosa dalam darah. (Goodman & Gillman, 2008).

## **2.9. Tinjauan Umum**

### **2.9.1. Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan senyawa kimia dari tumbuhan, hewan dan lain-lain dengan menggunakan pelarut tertentu. Teknik umum yang digunakan dalam proses ekstraksi adalah dengan cara mesarasi, sokletasi, perkolasi dan perebusan. Sedangkan ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau hewani dengan menggunakan pelarut yang cocok, kemudian semua atau hampir semua pelarut. Diuapkan dan massa atau serbuk tersisa diperlukan sedemikian rupa sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Harbone, 1987).

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut dapat dibedakan atas 2 cara yaitu (Depkes RI, 2000) :

## 1. Cara Dingin

### a. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi sederhana dengan cara merendam bahan alam atau tumbuhan dalam pelarut dan waktu tertentu dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu kamar. Secara teknologi termasuk ekstraksi dengan prinsip metode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan. Maserasi kinetik berarti dilakukan pengadukan yang kontinu. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya. Maserasi ini bertujuan untuk menarik zat-zat berkhasiat dari simplisia, baik simplisia dengan zat yang berkhasiat yang tidak tahan pemanasan maupun yang tahan pemanasan. Menurut Djamal (1990), keunggulan dari maserasi adalah teknik pengerjaannya sederhana dan dapat digunakan untuk semua jenis sampel baik basah maupun kering dan juga sampel yang bersifat termostabil.

### b. Perkolasi

Perkolasi adalah proses ekstraksi dengan cara melewati pelarut secara lambat pada simplisia dalam suatu alat percolator pada suhu kamar. Proses ini terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap meserasi antara tahap perkolasi sebenarnya (penetesan atau penampungan ekstrak) terus-menerus sampai diperoleh ekstrak atau perkolat yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

## 2. Cara Panas

### a. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada suhu 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.

### b. Sokletasi

Sokletasi adalah 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.

### c. Digestasi

Digestasi adalah meserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu lebih tinggi dari suhu kamar yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40°-50°C. Cara ini dilakukan untuk simplisia yang ada pada suhu kamar tidak terekstrak dengan baik.

### d. Dekokta

Dekokta adalah suatu proses ekstraksi yang hampir sama dengan infusa, tetapi dekokta dipanaskan selama 30 menit sampai 90°C. Cara ini dapat dilakukan untuk simplisia yang tidak mengandung minyak atsiri atau simplisia yang mengandung bahan yang tahan terhadap pemanasan

### e. Infusa

Infusa adalah sediaan cair yang dibuat dengan ekstraksi simplisia nabati dengan air pada suhu 90°C selama waktu tertentu (15-20 menit).

### **2.9.2. Fraksinasi**

Fraksinasi merupakan tahap kedua dari proses pemurnian senyawa. Fraksinasi adalah teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia ekstrak berdasarkan kepolaran. Pada proses fraksinasi digunakan dua pelarut yang tidak tercampur dan memiliki tingkat kepolaran yang berbeda (Padmawinata,1997).

Umumnya senyawa bahan alam dapat dibedakan atas 3 kelompok berdasarkan kepolarannya. Senyawa-senyawa yang terdapat didalam ekstrak akan terpisah menurut kepolarannya. Senyawa yang bersifat non polar akan tertarik oleh pelarut non polar seperti n-heksana, senyawa semi polar (golongan alkaloid dan terperoid) akan tertarik oleh pelarut yang semi polar seperti etil asetat dan senyawa yang polar ( golongan flavonoid dan glikosida) akan tertarik oleh pelarut seperti methanol dan butanol.

Tujuan umum fraksinasi adalah untuk menyederhanakan komposisi dan homogenitas sifat zat sehingga lebih mudah dimurnikan atau diisolasi menjadi senyawa tunggal atau zat murni. Untuk proses fraksinasi berdasarkan tingkat kepolarannya umumnya digunakan pelarut secara berurutan yaitu dari non polar hingga pelarut polar. Proses ekstraksi yang akan dilakukan ditentukan dari kestabilan senyawa yang akan diisolasi (Harbone, 2006).

### **BAB III. METODE PENELITIAN**

#### **3.1. Waktu dan Tempat**

Penelitian ini telah dilakukan (Januari – Juni 2023) di Fakultas Farmasi Universitas Perintis Indonesia (UPERTIS) Padang.

#### **3.2. Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat gelas (*Pyrex*), kandang tikus, botol air, alat wadah hewan, kapas, tisu, tabung reaksi, spuit injeksi (3 mL, Terumo), sonde oral, *rotary evaporator* IKA<sup>RV</sup> 10 Basic, timbangan analitik (*Precisa*®), timbangan tikus triple balance (*OHAUS*®), wadah meserasi, Erlemeyer (*Pyrex*®), krus porselen, botol semprot, sarung tangan, pipet tetes, pipet takar (*Pyrex*®), pipet mikro (*Eppendorf*®), labu ukur 25mL, 50mL, 100mL (*Pyrex*®), corong, batang pengaduk, botol kaca, jarum suntik, alat digital *Sinoheart*® dan strip glukosa darah.

##### **3.2.2. Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan adalah makanan dan minuman mencit, daun pepaya (*Carica papaya L.*), n-heksan (Merck), etil asetat (Merck), n-butanol (Merck) dan sebagai cairan penyari, glibenklamid, aloksan, aquadest, natrium carboxy methyl cellulose (Na-CMC) (Sigma), asam sulfat ( $H_2SO_4$ ) (Merck),  $FeCl_3$  (Merck), serbuk Mg (Merck), Reagen Mayer (kalium iodida dan merkuri klorida), HCl (Merck).

### **3.3. Metode Penelitian**

#### **3.3.1. Pengambilan sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah daun pepaya (*carica papaya* L.) yang diambil di daerah Lubuk Tempurung, Padang.

#### **3.3.2. Identifikasi sampel**

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

#### **3.3.3. Ekstraksi daun pepaya**

Daun tumbuhan pepaya diambil 6 kg sebanyak dicuci bersih, kemudian dikeringkan diudara terbuka pada suhu ruangan dan tidak terkena cahaya matahari langsung. Setelah kering, daun pepaya dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk (simplisia). Kemudian simplisia daun pepaya diekstraksi secara maserasi dengan menggunakan etanol 70% (1:10) dilakukan pengadukan secara kontinyu (2x24 jam). Setelah 5 hari ekstrak tersebut dipisahkan dengan menggunakan kertas saring, lalu dilakukan remaserasi dan maserat hasil pemisahan dikumpulkan. Selanjutnya maserat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak etanol kental (Departemen Kesehatan RI, 2000).

#### **3.3.4. Fraksi daun pepaya**

Ekstrak kental daun pepaya dilanjutkan fraksinasi, fraksinasi dilakukan terhadap dua pelarut berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda. Pertama dilakukan fraksinasi dengan pelarut *n*-heksana yang bersifat non polar, dengan penambahan *n*-heksana dan air sama banyak kemudian dikocok dan dibiarkan hingga terbentuk lapisan yang terdiri dari fraksi *n*-heksan dan air, fraksi tersebut lalu dipisahkan. Fraksinasi pelarut *n*-heksan dilakukan berulang-ulang sampai



terekstrak sempurna. Fraksinasi dilanjutkan dengan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar dengan cara fraksi air sisa *n*-heksan diambil dan ditambah dengan etil asetat kemudian dikocok dan dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan yang terdiri dari fraksi etil asetat dan fraksi air. Kemudian fraksi air difraksinasi dengan *n*-butanol dilakukan dengan beberapa kali pengulangan sehingga diperoleh fraksi *n*-butanol dan fraksi air. Masing-masing fraksi diuapkan dengan rotari Hasil fraksi diambil dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan fraksi kental etil asetat.

### **3.4. Karakterisasi Fraksi Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)**

#### **3.4.1. Pemeriksaan Organoleptis**

Pemeriksaan dilakukan dengan pengamatan visual yang meliputi warna, bentuk, bau dan rasa.

#### **3.4.2. Penentuan Rendemen**

Penentuan rendemen dapat dilakukan dengan cara :

1. Rendemen ekstrak =  $\frac{A \text{ (g)}}{B \text{ (g)}} \times 100\%$
2. Rendemen fraksi =  $\frac{\text{Berat fraksi yang diperoleh}}{\text{Berat ekstrak yang digunakan}} \times 100\%$

Keterangan :

A = Berat ekstrak yang diperoleh (g)

B = Berat sampel awal (g)

#### **3.4.3. Penentuan Susut Pengeringan**

Krus porselen dan tutupnya dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 30 menit dan biarkan dingin, lalu timbang beratnya. Fraksi sebanyak 1 - 2 gram dimasukkan kedalam krus tersebut dan ditimbang kembali. Kemudian krus digoyang perlahan agar fraksi merata dan masukkan kembali ke dalam oven, buka

tutupnya dan biarkan tutup tetap berada di dalam oven. Krus yang berisi fraksi dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu krus dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang. Perlakuan diatas diulang 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 + Fraksi Sebelum Pengeringan

C = Berat Krus + Fraksi Setelah Pengeringan

#### **3.4.4. Pemeriksaan Kadar Abu**

Krus porselen ditara terlebih dahulu dan timbang. Fraksi sebanyak 1 gram masukkan dalam krus tersebut dan ditimbang. Kemudian pijarkan secara perlahan-lahan dalam furnes pada suhu 600°C selama 2 jam, dinginkan dalam desikator dan timbang.

$$\% \text{Kadar Abu} = \frac{w_2 - w_1}{w_1} \times 100\%$$

Ket:

W= berat krus kosong

W1=berat fraksi awal

W2= berat krus+fraksi sesudah pemijaran

#### **3.4.5. Uji Fitokimia**

Fraksi daun pepaya dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform, dikocok, dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan, lapisan air dan kloroform.

**a. Uji Flavonoid (Metode Sianidin Test)**

Lapisan air diteteskan 1-2 tetes pada plat tetes, ditambahkan sedikit serbuk Mg dan setetes  $\text{HCl}_{(p)}$ , terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid.

**b. Uji Saponin**

Lapisan air dikocok kuat-kuat dalam tabung reaksi, terbentuknya busa yang permanen ( $\pm 15$  menit) menunjukkan adanya saponin.

**c. Uji Terpenoid dan Steroid (Metode Simes)**

Lapisan kloroform disaring menggunakan pipet tetes yang didalamnya telah terdapat kapas yang dilapisi dengan norit, filtrat diteteskan pada plat tetes lalu biarkan mengering. Residu ditambahkan asam asetat anhidrat, tambahkan asam sulfat pekat, terbentuknya warna merah berarti menunjukkan adanya terpenoid, sedangkan bila terbentuk warna biru-ungu menunjukkan adanya steroid.

**d. Uji Alkaloid (Metode Culvenore-Fitzgerald)**

Ambil sedikit lapisan kloroform difiltrasi dengan norit, diambil 2-3 tetes filtrate dan biarkan mengering pada plat tetes, setelah kering ditambahkan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (Pereaksi Lieberman-Bouchard), terbentuknya warna biru atau hijau menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoid.

**e. Uji Fenolik**

Lapisan air diteteskan 1-2 tetes pada plat, kemudian tambahkan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , terbentuknya warna hijau kehitaman menandakan adanya kandungan fenolik.

### **3.5. Perlakuan pada hewan**

#### **3.5.1. Persiapan Hewan Percobaan**

Hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan (*Mus musculus L*) sebanyak 30 ekor. Umur mencit yang digunakan berkisar antara 2-3 bulan dengan berat badan  $\pm 20$  gram. Sebelum perlakuan hewan percobaan di aklimatisasi selama 7 hari. Hewan yang digunakan untuk penelitian adalah hewan yang belum pernah diperlakukan terhadap obat dinyatakan sehat dengan kriteria tidak cacat secara fisik dan secara visual memperlihatkan perilaku yang normal.

#### **3.5.2. Dosis yang direncanakan**

Dosis yang diberikan pada hewan percobaan adalah 100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB, 300 mg/KgBB.

#### **3.5.3. Penginduksian Diabetes Melitus**

Hewan coba dibuat hiperglikemia dengan pemberian zat diabetagononik yaitu aloksan dengan dosis 150 mg/kg bb secara intraperitoneal sekali sehari, dimana sebelum penginduksian, mencit dipuasakan selama 16 jam namun tetap diberi minum dan diperiksa kadar glukosa awalnya. Pada hari ke-3 setelah penginduksian, kadar glukosa darah puasa di cek sebagai kadar glukosa hiperglikemia (Dewi, 2016).

#### **3.5.4. Penyiapan Suspensi Fraksi Daun Pepaya**

Suspensi Na.CMC 0,5% dibuat dengan cara menimbang 0,25 gram Na.CMC ditaburkan di atas air panas sebanyak 20 kalinya di dalam lumpang panas, biarkan selama 15 menit dan digerus hingga membentuk masa homogen. Kemudian timbang fraksi sesuai dengan konsentrasi yang direncanakan, tambahkan suspensi Na.CMC yang telah dibuat lalu digerus hingga homogen. Setelah tersuspensi dengan baik cukupkan volumenya dengan penambahan

aquadest hingga 50 ml.

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis } \left( \frac{\text{mg}}{\text{KgBB}} \right) \times \text{Berat badan } \left( \frac{\text{g}}{\text{BB}} \right)}{\text{VAO (mL)}}$$

Untuk mencit 20 g :

$$\begin{aligned}\text{VAO} &= 1\% \times \text{BB} \\ &= 1\% \times 20 \text{ g BB} \\ &= 0,2 \text{ mL}\end{aligned}$$

Dosis : 100 mg

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis } \left( \frac{\text{mg}}{\text{KgBb}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}} \\ &= \frac{\frac{100 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}} \\ &= 10 \text{ mg/mL} \\ &= 100 \text{ mg/10 mL} \\ &= 1000 \text{ mg/100 mL} \\ &= 1,0 \text{ g/100 mL} = 1,0 \%\end{aligned}$$

Dosis : 200 mg

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi} &= \frac{\text{Dosis } \left( \frac{\text{mg}}{\text{KgBb}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}} \\ &= \frac{\frac{200 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}} \\ &= 20 \text{ mg/mL} \\ &= 200 \text{ mg/10 mL} \\ &= 2000 \text{ mg/100 mL} \\ &= 2,0 \text{ g/100 mL} = 2,0 \%\end{aligned}$$

Dosis 300 mg

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{Dosis } \left( \frac{\text{mg}}{\text{KgBb}} \right) \times \text{berat badan (grBB)}}{\text{VAO (mL)}}$$

$$= \frac{\frac{300 \text{ mg}}{1000 \text{ g}} \times 20 \text{ g}}{0,2 \text{ mL}}$$

$$= 30 \text{ mg/mL}$$

$$= 300 \text{ mg/10 mL}$$

$$= 3000 \text{ mg/100 mg}$$

$$= 3,0 \text{ g /100 mL} = 3,0 \%$$

### 3.6. Pembuatan Sediaan Uji dan Pembanding

#### 3.6.1. Pembuatan Larutan Glibenklamid sebagai Pembanding

Sebagai pembanding digunakan glibenklamid dengan dosis pada manusia 5 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 :

$$5 \text{ mg} \times 0,0026 = 0,013 \text{ mg/20 g BB}$$

- Sediaan stok yang mau dibuat 70 ml

$$= \frac{70 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} \times 0,013 = 9,1 \text{ mg}$$

- Tablet glibenklamid yang diambil

-ambil 20 tablet

-hitung rata-rata 1 tablet

- Maka berat serbuk glibenklamid yang diambil

$$= \frac{0,1693 \text{ gram}}{5 \text{ mg}} \times 9,1 \text{ mg}$$

$$= 0,308 \text{ gram}$$

$$= 308 \text{ mg}$$

- Gerus 20 tablet timbang 308 mg lalu suspensi menggunakan NaCMC 0,5% sampai 70 ml

### 3.6.2. Pembuatan larutan aloksan

Hewan coba dibuat hiperglikemia dengan pemberian zat diabetagonik yaitu aloksan dengan dosis 150 mg/kg bb secara intraperitoneal sekali sehari, dimana sebelum penginduksian, mencit dipuasakan selama 16 jam namun tetap diberikan minum dan diperiksa kadar glukosa awalnya. Pada hari ke 4 setelah penginduksian, kadar glukosa darah puasa dicek sebagai kadar glukosa hiperglikemia.

Diinduksi aloksan 150 mg/kg bb = 3mg/20 g bb

VAO = 1% b mencit

= 1% x 20gr

= 0,2 ml

Konsentrasi =  $\frac{3 \text{ mg} / 20 \text{ gram} \times 20 \text{ g bb}}{0,2 \text{ ml}}$

= 15 mg/ml

= 1500 mg/100 ml

= 1,5 g/ 100 ml

= 1,5%

### 3.7. Tahap Pengujian

1. Hewan percobaan (mencit) diaklimatisasi selama 7 hari sebelum diberi perlakuan.
2. Hewan percobaan dibagi atas 6 kelompok, masing-masing terdiri dari 5 ekor hewan percobaan dengan pembagian kelompok sebagai berikut :

Kelompok I : Kontrol negatif diberi pembawa yaitu suspensi Na.CMC 0,5%.

Kelompok II : Kontrol positif, kelompok yang diberikan penginduksian aloksan 150 mg/kg BB.

- Kelompok III : Induksi aloksan + suspensi fraksi *n*-butanol daun pepaya dengan dosis 100 mg/Kg BB.
- Kelompok IV : Induksi aloksan + suspensi fraksi *n*-butanol daun pepaya dengan dosis 200 mg/Kg BB.
- Kelompok V : Induksi aloksan + suspensi fraksi *n*-butanol daun pepaya dengan dosis 300 mg/Kg BB.
- Kelompok VI : Induksi aloksan + diberi suspensi glibenklamid dengan dosis 0,013 mg/20g BB.

3. Berat badan hewan percobaan ditimbang, kemudian hewan percobaan dipuasakan selama 16 jam dan diperiksa kadar glukosa darah puasanya.
4. Kemudian hewan percobaan diinduksi dengan aloksan dosis 150 mg/Kg BB secara intraperitoneal (kecuali untuk kontrol negatif) diberikan sekali sehari selama 3 hari.
5. Sediaan diuji diberikan secara per oral pada hewan percobaan dengan volume pemberian 1% dari berat badan. Pemberian sediaan diuji dilakukan sebanyak 1 kali, dimulai pada hari ke-1 (setelah hewan percobaan diabetes) sampai hari ke-14.
6. Kemudian lakukan pengukuran glukosa darah dilakukan pada, hari ke-7, hari ke-14 dengan menggunakan alat *sinocare*®. Pengambilan darah dilakukan pada pembuluh darah ekor hewan percobaan.

### **3.8. Pengukuran Kadar Glukosa Darah**

Pengukuran dilakukan dengan alat digital Easy Touch® GCU. Alat dikalibrasi dahulu dengan nomor kode yang disesuaikan dengan tes strip yang akan digunakan. Tes strip diselipkan pada tempat khusus pada alat, kemudian



pada layar akan muncul gambar tetesan darah yang menandakan alat siap digunakan. Darah mencit diambil melalui vena ekor (*vena coccygeal*). Ekor mencit didisinfektan dengan alkohol swab kemudian baru disayat, tetesan darah pertama dibuang tetesan berikutnya diserapkan pada strip glukosa darah sampai terdengar bunyi, setelah itu pendarahan pada ekor mencit dihentikan. Dalam beberapa detik pada layar akan tertera kadar glukosa darah dalam mg/dL. Uji dilakukan pada setiap mencit semua kelompok.

### **3.9. Analisis Data**

Analisis data yang diperoleh dari pengukuran kadar gula darah dianalisis secara statistik dengan metode Two Way ANOVA untuk mengetahui adanyaperbedaan antar perlakuan. Sebelumnya dilakukan uji normalitas dan homogenitasterhadap data yang diperoleh. Apabila data normal dan homogen, maka dapat dilakukan uji lanjut ANOVA. Apabila ada perbedaan antar kelompok perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui adanya kelompok perlakuan lainnya. Untuk data yang tidak homogen maka akan dilakukan uji non parametric Kruskal-Wallis Test dan dilanjutkan dengan uji Mann - Whitney Test dengan taraf kepercayaan  $p < 0,05$ .