

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Thespesia populnea* (L.) Soland Ex Correa
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT TERINDUKSI
ALOKSAN DAN PROFIL KLT FRAKSI AKTIF**



SKRIPSI

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Strata I pada Program Studi Pendidikan Kimia
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Bengkulu**

Oleh :

**WINDA YANI
NPM. A1F010019**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN KIMIA
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS BENGKULU
2014**

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Thespesia populnea* (L.) Soland Ex Correa
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT TERINDUKSI
ALOKSAN DAN PROFIL KLT FRAKSI AKTIF**

SKRIPSI

Oleh :

WINDA YANI
NPM. A1F010019

Disahkan Oleh:

FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN

Dekan FKIP,

Ketua Jurusan PMIPA,

Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M. Pd

Dra. Diah Aryulina, M.A., Ph.D

NIP. 19611207-1986011-001

NIP. 19620718-1987022-001

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Thespesia populnea* (L.) Soland Ex Correa
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT TERINDUKSI
ALOKSAN DAN PROFIL KLT FRAKSI AKTIF**

SKRIPSI

Oleh :

WINDA YANI

A1F010019

**Telah dipertahankan di depan Tim Penguji Program Studi Kimia
Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Bengkulu**

Dilaksanakan pada:

Hari, Tanggal : Kamis, 6 Maret 2014
Pukul : 10.00 WIB –12.00 WIB
Tempat : Ruang Dosen Program Studi Pendidikan Kimia
Dekanat FKIP Universitas Bengkulu

Skrripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Dosen Pembimbing

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping

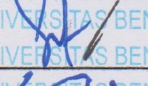
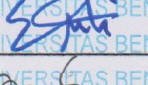
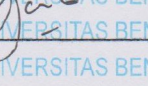
Dr. AGUS SUNDARYONO, M.Si.

SURA MENDA GINTING, M.Sc.

NIP. 19600806 198703 1 005

NIP. 19810131 200501 2 003

Skrripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh Tim Penguji :

Penguji	Nama	Tanda Tangan	Tanggal
Penguji I	Dr. Agus Sundaryono, M. Si NIP. 19600806 198703 1 005		14/3 2014
Penguji II	Sura Menda Ginting, M. Sc NIP. 19810131 200501 2 003		17/3 2014
Penguji III	Elvinawati, M.Si NIP. 19781010 200312 2 001		19/3 2014
Penguji IV	I Nyoman Candra, M. Sc NIP. 19830729 200604 1 001		6-03-2014

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

Motto :

1. *Orang pandai dan beradab tidak akan diam di kampung halaman, tinggalkan negerimu, merantauilah ke negeri orang, merantauilah kau akan dapat pengganti dari kerabat dan kawan, manisnya hidup terasa setelah lelah berjuang.*
2. *Lihatlah orang dibawahmu, karena hal tersebut lebih memungkinkan untuk tidak mengabaikan nikmat Allah atasmu (HR. Bukhori- Muslim).*

Persembahan :

Dengan mengucapkan syukur Alhamdulillahirobbil' alamin, Skripsi ini kupersembahkan untuk:

1. *Kedua orang tuaku Ayah (Wiatma) dan Ibuku di surga (Yusliani) yang sangat aku sayangi yang senantiasa memberikan doa tulus dalam hidupku.*
2. *Keluargaku Datuk (Abdul Kader), Nenek (Rahma Mawarni), BiK nia dan BiK Azi tercinta yang amat tulus memberikan bekal ku dalam menuntut ilmu.*
3. *Keluargaku tersayang yang menjadi motivasiku dalam menuntut ilmu Nenek, Teh Wiwik, A' Aci, Faiz, Weni dan Dona.*
4. *Richad Lady yang telah memberikan dukungan dan mengisi keriangian hati.*
5. *Teman seperjuangan KOB A Ois, Tri UP, Fany, Hany dan Theo.*
6. *Seluruh teman-teman Kechepul tercinta*
7. *Almamaterku Universitas Bengkulu.*

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : **Winda Yani**
NPM : A1F010019
Prodi : Pendidikan Kimia
Fakultas : Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Perguruan Tinggi : Universitas Bengkulu

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya ilmiah yang disusun berdasarkan prosedur penelitian/ pengembangan yang saya lakukan sendiri dan bukan merupakan duplikasi skripsi/ karya ilmiah orang lain.

Demikian pernyataan keaslian skripsi ini saya buat agar dapat dipergunakan sebagai mana mestinya.

Bengkulu, Maret 2014

Yang menyatakan,



WINDA YANI

**PENGARUH EKSTRAK DAUN *Thespesia populnea* (L.) Soland Ex Correa
TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT TERINDUKSI
ALOKSAN DAN PROFIL KLT FRAKSI AKTIF**

Winda Yani^{*}, Sura Menda Ginting, Agus Sundaryono

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex Correa terhadap kadar glukosa darah mencit terinduksi aloksan dan mengetahui profil KLT fraksi aktif. Kondisi hiperglikemik dilakukan dengan menginduksi aloksan 130 mg/kg BB pada mencit. Kelompok P0 sebagai kontrol normal diberi pakan standar. Kelompok P1 sebagai kontrol negatif diberi aloksan. Kelompok P2 dan P3 masing-masing diberi perlakuan aloksan dan ekstrak kasar *Thespesia populnea* (L.) Soland ex Correa dengan dosis berturut-turut 56 mg/kg BB dan 84 mg/kg BB secara peroral. Kelompok P4 diberi perlakuan aloksan dan glibenklamid 2,5 mg/kg BB. Untuk mengetahui fraksi aktif daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex Correa dalam menurunkan kadar glukosa darah, kelompok K1 diberi aloksan dan fraksi n-heksana, kelompok K2 diberi aloksan dan fraksi etilasetat, kelompok K3 diberi aloksan dan fraksi etanol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex Correa dosis 84 mg/kg BB tidak berbeda nyata dengan glibenklamid 2,5 mg/kg BB dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit. Sedangkan untuk fraksi etanol, etilasetat, dan n-heksana penurunan kadar glukosa darah yang paling aktif adalah fraksi etil asetat, sehingga dapat disimpulkan ekstrak kasar *Thespesia populnea* (L.) Soland ex Correa berpotensi menurunkan kadar kadar glukosa darah total dalam darah dan fraksi aktif yang dapat menurunkan kadar kadar glukosa darah adalah fraksi etil asetat. Profil KLT fraksi etil asetat menunjukkan bahwa terdapat 6 komponen dengan nilai Rf berturut-turut 0,22; 0,32; 0,54; 0,68; 0,71 dan 0,88. Kemungkinan komponennya mengandung senyawa berturut-turut fenolik diikuti saponin, tannin, alkaloid, flavonoid dan terpenoid.

Kata kunci : *Thespesia populnea* (L.) Soland ex Correa, Aloksan, KLT

- = Penulis, email : windascout@yahoo.co.id

**THE EFFECT OF TUBER EXTRACT OF *Thespesia populnea* (L.)
Soland Ex Correa LEAF ON BLOOD SUGAR LEVELS OF RAT
INDUCIBLE ALLOXAN AND PROFILE OF ACTIVE FRACTION**

Winda Yani^{*}, Sura Menda Ginting, Agus Sundaryono

ABSTRACT

This study was conducted to determine the effect of extract *Thespesia populnea* (L.) Soland ex Correa leaf on blood glucose levels of alloxan -induced mice and determined the TLC profile of active fraction. Hyperglycemic conditions was induced alloxan of 130 mg/kg body weight (b.w.) in rat. P0 group as normal control group was fed with standard food. P1 group as the negative control group was fed with alloxan. P2 and P3 group were induced with alloxan and fed with crude extract of *Thespesia populnea* (L.) Soland ex Correa leaf with 56 mg/ kg b.w. and 84 mg/ kg b.w of doses. P4 group was induced with alloxan and glibenclamide 2.5 mg/ kg b.w. To determined the active fraction of *Thespesia populnea* (L.) Soland ex Correa leaf in lowering blood glucose levels, K1 group was given alloxan and n-hexane fraction, K2 group given alloxan and ethylacetate fractions, K3 group given alloxan and ethanol fraction. The results showed that the extract *Thespesia populnea* (L.) Soland ex Correa leaf dose of 84 mg / kg b.w. did not differ significantly with glibenclamide 2.5 mg/ kg b.w. in lowering blood glucose levels. Out of there fractions (ethylacetate, ethanol and n-hexane), ethylacetate fraction showed the most significant result in lowering blood glucose levels. TLC profiles of ethyl acetate fraction showed that there were six components with Rf values 0.22; 0.32; 0.54; 0.68; 0.71 and 0.88. Possible components contain phenolic compounds followed by saponins, tannins, alkaloids, flavonoids and terpenoids.

Keywords: *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa, alloxan, TLC

* = Corresponding author, email : windascout@yahoo.co.id

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena dengan segala limpahan rahmatNya, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penelitian ini, sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi pada Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu. Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan doa yang seluas-luasnya ke hadapan Allah SWT, yng mana dengan izin dan ridhoNya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul : PENGARUH EKSTRAK DAUN *Thespesia Populnea* (L.) Soland ex Correa TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT TERINDUKSI ALOKSAN Dan PROFIL KLT FRAKSI AKTIF.

Penulis menyadari penulisan skripsi ini, masih banyak kekurangannya. Hal ini tentunya karena keterbatasan waktu dan kemampuan yang dimiliki. Dengan itu penulis berterima kasih sekiranya ada kritikan, saran yang membangun dan bermanfaat bagi penyempurnaan skripsi ini.

Selama penyelesaian penulisan skripsi ini, penulis sangat memperoleh bantuan dari orang-orang terdekat dan rekan-rekan penulis. Oleh karena itu sudah selayaknya penulis mengucapkan terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada yang terhormat :

1. Bapak Prof. Dr. Rambat Nur Sasongko, M.Pd. selaku Dekan Fakulatas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu, yang telah memberikan kesempatan, kepercayaan dan dorongan dalam kedisiplinan dan kejujuran ilmiah.
2. Ibu Dra. Diah Aryulina, M. A., Ph. D sebagai ketua jurusan PMIPA.
3. Ibu Dewi Handayani, M.Si dan Ibu Elvinawati, M. Si sebagai ketua dan sekretaris Progran Studi Pendidikan Kimia.
4. Bapak Dr. Agus Sudaryono, M.Si. selaku dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan waktu, ilmu, motivasi, semangat, perhatian dan saran untuk membimbing penulis.

5. Ibu Sura Menda Ginting, M.Sc. selaku dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan waktu, ilmu, bantuan, masukan dan saran untuk membimbing penulis.
6. Bapak dan Ibu dosen pada Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu, yang telah memberi bimbingan dan berbagai ilmu kepada penulis.

Semoga segala bimbingan, pengarahan, petunjuk maupun dukungan baik moril maupun materil yang telah diberikan kepada penulis akan mendapatkan balasan dari Allah SWT. Aamiin.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan yang memerlukan perbaikan dan penyempurnaan, namun penulis berharap kiranya skripsi ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan.

Bengkulu, Maret 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN	iv
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
ABSTRAK	vi
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Ruang Lingkup Penelitian	3
1.4 Keaslian Penelitian	4
1.5 Tujuan Penelitian	4
1.6 Manfaat	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Studi Pustaka	5
2.2 Landasan Teori	6
2.2.1 Tanaman <i>Thespesia populnea</i> (L.) Soland ex. Correa	6
2.2.2 Metabolit Sekunder	7
a. Flavonoid	8
b. Alkaloid	9
c. Tanin	9
d. Terpenoid	10

e. Saponin	10
f. Fenolik	11
2.2.3 Diabetes Mellitus	11
2.2.4 Aloksan	15
2.2.5 Glibenklamid	17
2.3 Metode Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder	19
2.3.1 Ekstraksi	19
2.3.2 Kromatografi Lapis Tipis	22
2.3.3 Kromatografi Kolom	23
 BAB III METODE PENELITIAN	25
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.2 Alat dan Bahan	25
3.2.1 Alat	25
3.2.2 Bahan	25
3.3 Prosedur Kerja	26
3.3.1 Persiapan Sampel	26
3.3.2 Pembuatan Ekstrak	26
3.3.3 Pembuatan Aloksan	27
3.3.4 Pembuatan Suspensi Glibenklamid	27
3.3.5 Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder	27
a. Uji Alkaloid	27
b. Uji Flavonoid	27
c. Uji Tanin	28
d. Uji Saponin	28
e. Uji Steroid dan Terpenoid	28
f. Uji Senyawa Fenolik	28
3.3.6 Persiapan dan Pemeliharaan Mencit	29
3.3.7 Konversi Dosis	29
a. Dosis Aloksan	29
b. Dosis Ekstrak <i>Thespesia populnea</i> (L.)	

<i>Soland. Ex Correa</i>	30
c. Dosis Glibenklamid	31
3.3.8 Pengelompokan Hewan Uji dan Pemberian Perlakuan	31
3.3.9 Cara Pemberian Perlakuan	33
3.3.10 Pengambilan Darah dan Penentuan Kadar Glukosa Darah	33
3.3.11 Pemisahan Komponen Kimia dengan KLT dan Kromatografi	34
3.4 Teknik Pengumpulan Data	34
3.5 Analisis Data	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1 Uji Fitokimia Daun <i>Thespesia populnea (L.) Soland. Ex Correa</i>	35
4.2 Uji Bioassay Ekstrak Kasar Senyawa Aktif <i>Thespesia populnea (L.) Soland. Ex Correa</i>	35
4.3 Uji Bioassay Fraksi Etanol, Etil Asetat, dan n-heksana dari Ekstrak Daun <i>Thespesia populnea (L.) Soland. Ex Correa</i> Terhadap Mencit Jantan	39
4.4 Pemisahan Senyawa Kimia dengan KLT dan Kromatografi Kolom	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	45
A. Kesimpulan	45
B. Saran	45

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman <i>Thespesia populnea</i> (L.) Soland. Ex Correa	7
Gambar 2. Struktur flavonoid (Sugrani, 2009)	8
Gambar 3. Struktur alkaloid (Sumardjo, 2009)	9
Gambar 4. Struktur Tanin (Mustarichie, 2011)	9
Gambar 5. Struktur Terpenoid (Sirait, 2007)	10
Gambar 6. Struktur Saponin(Mustarichie, 2011)	10
Gambar 7. Struktur Fenol (Mustarichie, 2011)	11
Gambar 8. Skema hubungan antara DM dan radikal bebas	12
Gambar 9. Struktur Aloksan (Szkudelski, 2001)	16
Gambar 10. Struktur Glibenklamid (Baroroh, 2011).....	17
Gambar 11. Mekanisme pelepasan insulin (Setiawan, 2005)	18
Gambar 12. Grafik pengaruh ekstrak kasar terhadap KGD mencit.....	36
Gambar 13. Stuktur Dasar Flavonoid dan Peredaman radikal bebas Oleh flavonoid.....	37
Gambar 14. Pembentukan Kompleks logam pada flavonoid.....	38
Gambar 15. Peredaman radikal bebas oleh alkaloid.....	38
Gambar 16. Pemisahan Fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat	39
Gambar 17. Pemisahan Fraksi etil asetat dan fraksi etanol	39
Gambar 18. Grafik pengaruh pemberian fraksi terhadap KGD mencit.....	41
Gambar 19. Profil KLT fraksi aktif menggunakan n-heksana : etil asetat	43
Gambar 20. Profil KLT fraksi aktif menggunakan etil asetat : etanol	43

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Perlakuan Uji Bioassay Ekstrak kasar <i>Thespesia populnea</i> (L.) <i>Soland. Ex Correa</i>	32
Tabel 2. Perlakuan Uji Bioassay fraksi ekstrak <i>Thespesia populnea</i> (L.) <i>Soland. Ex Correa</i>	32
Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Daun <i>Thespesia populnea</i> (L.) <i>Soland. Ex Correa</i> segar	35
Tabel 4. Uji Fitokimia Hasil Fraksinasi	40

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal dengan negara yang kaya akan sumber daya alam yang melimpah. Salah satu pemanfaatan kekayaan alam ini dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional. Suku Serawai yang berada di Kabupaten Kaur dan Kabupaten Seluma, Provinsi Bengkulu masih menggunakan tumbuhan sebagai bahan obat tradisional yang diketahui dan dipercaya masyarakat mempunyai khasiat obat. Salah satunya adalah tanaman Baru Laut yang dalam bahasa latinnya adalah *Thespesia populnea (L.) Soland ex. Correa*.

Berdasarkan informasi dari masyarakat suku Serawai, salah satu khasiat dari tanaman *Thespesia populnea (L.) Soland ex. Correa* adalah diabetes mellitus (DM). Mereka mengonsumsi air rebusan daun *Thespesia populnea (L.) Soland ex. Correa* sebagai obat, namun belum ada kajian ilmiah mengenai penggunaan tanaman tersebut sebagai antidiabetes.

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu penyakit kronis yang terjadi apabila pankreas tidak dapat memproduksi insulin yang mencukupi atau tubuh tidak dapat memanfaatkan insulin yang dihasilkan oleh pankreas secara efektif. Hal ini mengakibatkan peningkatan konsentrasi glukosa di dalam darah atau sering dikenal hiperglikemia. DM dapat diklasifikasikan menjadi 3 tipe utama yaitu Diabetes Tipe 1, Diabetes Tipe 2 dan Diabetes Gestational (Anonim, 2011).

Berdasarkan penelitian Patil, *et al* (2012) akar dan bunga tanaman *Thespesia populnea (L.) Soland ex. Correa* memiliki kandungan aktif flavonoid, terpenoid, tanin, saponin dan glikosida yang dapat digunakan sebagai anti inflamasi, nosiseptik dan artritik. Diduga kandungan flavonoid tanaman tersebut tersebar merata di seluruh bagian tanaman meski dengan kadar yang berbeda-beda. Menurut Abdelmoaty (2010) flavonoid diduga berperan secara signifikan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan

mampu meregenerasi sel-sel β -pankreas yang rusak sehingga defisiensi insulin dapat diatasi. Selain itu, Flavonoid yang terkandung di dalam tumbuhan diduga juga dapat memperbaiki sensitifitas reseptor insulin. Sehingga adanya flavonoid memberikan efek yang menguntungkan pada keadaan diabetes melitus.

Untuk memisahkan flavonoid dari daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut yang bersifat polar yaitu etanol. Etanol memiliki sifat kepolaran yang sama dengan flavonoid. Selain itu etanol bersifat netral serta mempunyai absorpsi yang baik. Dengan penggunaan etanol diharapkan flavonoid akan terbawa masuk ke dalam ekstrak etanol, dengan demikian akan diperoleh senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol daun yang mempunyai aktifitas farmakologi sebagai obat anti hiperglikemik (Kusumadewi, 2008).

Pemisahan senyawa aktif dalam ekstrak biasanya dilakukan dengan kromatografi. Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran diantara dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Kromatografi terbagi menjadi kromatografi kertas, kromatografi lapis tipis, kromatografi kolom, kromatografi gas, dan lain-lain. Kromatografi lapis tipis dalam pelaksanaannya lebih mudah dibandingkan dengan bentuk kromatografi yang lain, kecuali kromatografi kertas. Namun, kromatografi kertas memberikan data pemisahan yang kurang akurat jika dibandingkan dengan KLT. (Harborne, 1996). Oleh karena itu untuk mengetahui pemisahan komponen dalam ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa digunakan kromatografi lapis tipis.

Pada penelitian eksperimental, hewan percobaan yang sering digunakan adalah mencit. Mencit mempunyai kemampuan metabolik yang relatif cepat sehingga lebih sensitif bila digunakan dalam penelitian yang berhubungan dengan metabolik tubuh. Penggunaan mencit sebagai hewan uji karena mencit mempunyai karakteristik fisiologis yang sama dengan manusia, siklus hidup yang relatif pendek dan mudah dalam penanganan.

Mencit yang digunakan berjenis kelamin jantan karena sedikit terpengaruh oleh perubahan hormonal dan tidak memiliki siklus estrus seperti siklus menstruasi pada wanita (Kram, 2001).

Mengingat potensinya yang besar sebagai antidiabetes namun masih kurangnya informasi ilmiah penggunaan daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. ex. *Correa* sebagai antidiabetes, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. ex *Correa* terhadap kadar glukosa darah pada mencit jantan, sehingga diperoleh informasi mengenai potensi daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. ex *Correa* dalam pengobatan diabetes melitus. Untuk mengetahui kandungan fraksi aktif daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. ex *Correa* dan mengetahui pemisahan komponen senyawa aktif yang diindikasikan dalam antidiabetes dilakukan profil kromatografi lapis tipis.

1.2 Rumusan Masalah

- Bagaimana pengaruh ekstrak kasar daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. ex *Correa* terhadap kadar glukosa darah mencit jantan yang dikondisikan hiperglikemik?
- Bagaimana pengaruh fraksi daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. ex *Correa* terhadap kadar glukosa darah mencit jantan yang dikondisikan hiperglikemik?
- Bagaimana profil kromatografi lapis tipis fraksi aktif tumbuhan *Thespesia populnea* (L.) Soland. ex *Correa*?

1.3 Ruang Lingkup Penelitian

- Uji pengaruh ekstrak etanol daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. ex *Correa* dilakukan pada mencit jantan.
- Mencit jantan dikondisikan hiperglikemik dengan perlakuan pemberian larutan Aloksan.
- Teknik pemisahan komponen *Thespesia populnea* (L.) Soland. ex *Correa* dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis pada fraksi aktif.

1.4 Keaslian Penelitian

Penelitian mengenai pengaruh Pengaruh Ekstrak Daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan dan Profil KLT Fraksi Aktif belum pernah dilakukan dan belum ditemukan dalam publikasi ilmiah.

1.5 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini yaitu :

- a. Mengetahui pengaruh ekstrak kasar daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa terhadap kadar glukosa darah mencit jantan yang dikondisikan hiperglikemik.
- b. Mengetahui pengaruh fraksi daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa terhadap kadar glukosa darah mencit jantan yang dikondisikan hiperglikemik.
- c. Mengetahui profil kromatografi lapis tipis fraksi aktif tumbuhan *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa.

1.6 Manfaat

- a. Bagi Peneliti

Penelitian ini dapat menambah pengalaman, wawasan, pengetahuan dan keterampilan sesuai bidang ilmu yang ditekuni.

- b. Bagi Masyarakat

Dapat memberikan informasi kepada masyarakat bahwa tanaman *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa dapat dijadikan obat alami yang menurunkan kadar glukosa darah.

- c. Bagi Pengembangan Ilmu Pengetahuan

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan bukti ilmiah dalam pemanfaatan tanaman *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa sebagai obat anti diabetes dan dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai anti diabetes dari bahan alam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Studi Pustaka

Penelitian Ramadhani (2009) menyatakan bahwa kandungan flavonoid dalam daun sukun dapat memperbaiki sel-sel beta pulau Langerhans oleh fraksi aktif flavonoid sehingga berpotensi menurunkan kadar gula darah. Telah dilakukan penelitian pula oleh Salem (2009) bahwa propolis memiliki efek antihiperglikemik karena memiliki senyawa aktif flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan sehingga dapat melindungi kerusakan sel-sel pankreas dari radikal bebas, selain itu alkaloid dan tanin dalam propolis dapat menghambat absorpsi glukosa di usus. Pada penelitian Priosoeryanto, *et al* (2009) bahwa kandungan flavonoid pada daun Mimba memiliki kemampuan antihiperglikemik. Penelitian lain yang mendukung, dilakukan oleh Purnama (2013) juga menjelaskan bahwa *Hydnophytum sp* sangat signifikan dapat menurunkan kadar gula darah Mencit jantan diabetes diinduksi aloksan. Hasil dari identifikasi menunjukkan bahwa di dalam umbi tumbuhan *Hydnophytum sp* diduga mengandung senyawa golongan flavonoid tipe flavonol glikosida.

Menurut Gustina (2012) Ekstraksi daun sukun sebagai antidiabetes efektif menggunakan pelarut etanol, karena etanol mampu mengekstrak flavonoid secara optimal. Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar karena memiliki gugus gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Oleh karena itu, pelarut etanol digunakan untuk mengekstrak flavonoid dalam tumbuhan. Selanjutnya Basha (2013) melakukan penelitian ekstrak antidiabetik *Psidium guajava* yang diekstraksi dengan pelarut n-heksana, etil asetat, etanol dan petroleum eter. Ekstrak etanol *Psidium guajava* memberikan hasil yang lebih potensial antihiperglikemik daripada pelarut lain untuk diabetes tipe 2.

Sehubungan dengan antihiperglikemik, Cetto (2001) melakukan penelitian efek hipoglikemik daun *Cecropia obtusifolia* 15 mg/kg BB pada mencit jantan terinduksi Aloksan memperoleh hasil yang serupa dengan pemberian glibenklamid 3 mg/kg BB. Hasil serupa juga diperoleh oleh penelitian Priyambodo (2010) menunjukkan bahwa perlakuan dengan ekstrak daun kemangi dosis 400 mg/kgBB dan 800 mg/kg BB memberikan pengaruh yang sangat signifikan terhadap penurunan kadar glukosa darah Mencit jantan sebesar 57,925 mg/dL dan 80,05 mg/dL yang diinduksi Aloksan. Zat aktif dalam kemangi diduga berperan membantu perbaikan sel dan meningkatkan sekresi insulin.

2.2 Landasan Teori

2.2.1 Tanaman *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa

Thespesia populnea (L.) Soland ex. Correa merupakan tanaman tropis yang hidup di daerah pesisir pantai. Semak sampai pohon berukuran sedang dengan mahkota yang rapat. Daun berseling, tunggal, helaian daun membundar, mendelta, membundar telur atau melonjong. Perbungaan merupakan bunga aksiler yang soliter, besar, warna kuning muda dengan ungu tua di tengah. Bunga berwarna kuning mekar pada sekitar jam 10 pagi dan menjadi oranye-kemerahan di siang hari, kemudian memudar menjadi merah muda dan tidak gugur selama beberapa hari.

Buah berbentuk kapsul membundar. Perbanyakan secara alami dilakukan dengan biji. Kombinasi akar dan bunga tanaman *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa dapat mengobati peradangan (anti inflamasi) dan anti rematik (artritik) karena mengandung senyawa metabolit sekunder aktif seperti flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, triterpenoid, glikosida dan asam amino (Patil, *et al*, 2012).



Gambar 1. Tanaman *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa

Taksonomi tanaman *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Family	: Malvaceae
Ordo	: Malvales
Genus	: Thespesia
Spesies	: <i>Thespesia populnea</i> (L.) Soland. Ex Correa

(Orwa, 2012)

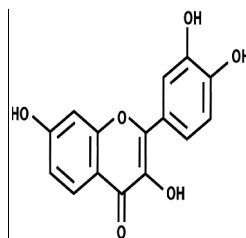
2.2.2 Metabolit Sekunder

Senyawa metabolit adalah suatu senyawa produk hasil metabolisme. Metabolit adalah senyawa organik yang digunakan dalam reaksi kimia yang terjadi di setiap sel organisme hidup. Proses ini dikenal sebagai metabolisme, senyawa metabolit bertanggung jawab dalam memproses bahan makanan dan bahan kimia lainnya menjadi energi dan bahan-bahan yang dibutuhkan untuk kesehatan, pertumbuhan dan reproduksi. Metabolisme juga bertanggung jawab untuk menghilangkan zat beracun dari tubuh. Senyawa metabolit terbagi menjadi dua yaitu senyawa metabolit primer dan senyawa metabolit sekunder. Metabolit primer adalah substansi yang dihasilkan oleh organisme melalui metabolisme dasar, digunakan untuk

pertumbuhan dan perkembangan organisme yang bersangkutan. Metabolit sekunder adalah senyawa-senyawa hasil biosintetik turunan dari metabolit primer yang umumnya diproduksi oleh organisme yang berguna untuk pertahanan diri dari lingkungan maupun dari serangan organisme lain. Sedangkan Senyawa metabolit sekunder ini antara lain senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, terpenoid dan tanin (Riyani, 2013).

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan fenolik alam yang berpotensi sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Senyawa-senyawa ini dapat ditemukan pada batang, daun, bunga dan buah. Struktur flavonoid adalah sebagai berikut :



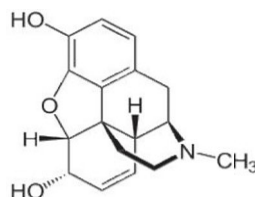
Gambar 2. Struktur Flavonoid (Sugrani, 2009)

Flavonoid pada umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida. Gugus gula bersenyawa pada satu atau lebih grup hidroksil fenolik. Kegunaan flavonoid bagi tumbuhan adalah untuk menarik serangga, yang membantu proses penyerbukan dan untuk menarik perhatian binatang yang membantu penyebaran biji.

Kegunaan Flavonoid bagi tumbuhan adalah untuk membantu proses penyerbukan dan untuk menarik perhatian binatang yang membantu penyebaran biji, sedangkan bagi manusia sebagai stimulan pada jantung, Flavon terhidroksilasi bekerja sebagai diuretik dan sebagai antioksidan pada lemak (Sirait, 2007).

b. Alkaloid

Senyawa alkaloid merupakan senyawa organik terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar dalam berbagai jenis tumbuhan. Secara organoleptik, daun-daunan yang berasa sepat dan pahit biasanya mengandung alkaloid. Selain daun-daunan, senyawa alkaloid dapat ditemukan pada akar, biji, ranting dan kuit kayu.

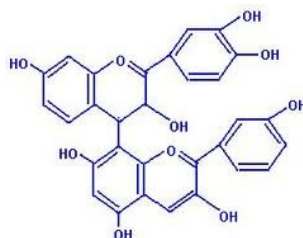


Gambar 3. Struktur alkaloid (Lenny, 2006)

Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Lenny, 2006).

c. Tanin

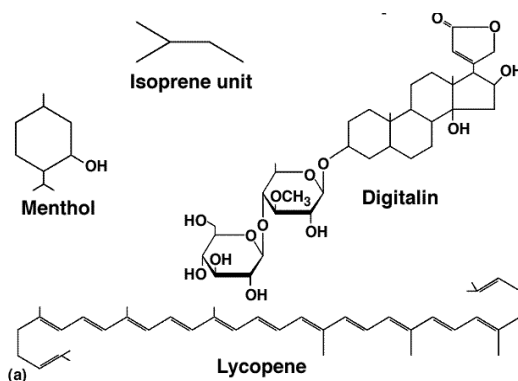
Tanin merupakan suatu senyawa fenol yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa karboksil. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Kedua jenis tanin ini terdapat dalam tumbuhan, tetapi yang paling dominan terdapat dalam tanaman adalah tanin terkondensasi. (Paendong, 2012).



Gambar 4. Struktur Tanin (Mustarichie, 2011)

d. Terpenoid

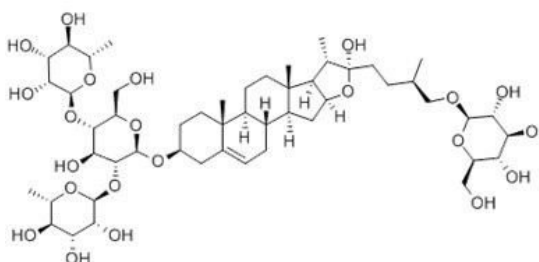
Terpenoid adalah senyawa alam yang terbentuk dengan proses biosintesis, terdistribusi luas dalam dunia tumbuhan dan hewan. Terpenoid pada umumnya merupakan senyawa yang larut dalam lipid. Senyawa ini berada pada sitoplasma sel tumbuhan (Sirait, 2007).



Gambar 5. Struktur Terpenoid (Sirait, 2007)

e. Saponin

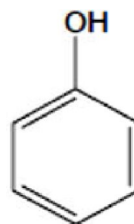
Saponin mempunyai bagian utama berupa turunan triterpen dengan sedikit steroid. Residu gula dihubungkan oleh gugus-OH biasanya C3-OH dari aglikon (monodesmoside saponin) dan jarang dengan 2 gugus OH atau satu gugus OH dan satu gugus karboksil. Saponin dapat diketahui dengan penambahan air. Timbulnya busa menunjukkan adanya glikosida yang mampu membentuk buih dalam air. Senyawa glikosida terhidrolisis menjadi glukosa dan aglikon (Mustarichie, 2011).



Gambar 6. Struktur Saponin (Mustarichie, 2011)

f. Fenolik

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik. Senyawa fenolik terdiri dari sebuah cincin fenol tersubstitusi.



Gambar 7. Struktur Fenol (Mustarichie, 2011)

Banyaknya variasi gugus yang mungkin tersubstitusi pada kerangka fenol menyebabkan kelompok fenolik memiliki banyak sekali anggota. Terdapat lebih dari 8.000 jenis senyawa yang termasuk dalam golongan senyawa fenolik. Asam sinamat dan asam kafeat biasanya mewakili kelompok besar dari turunan senyawa fenilpropan yang mempunyai tingkat oksidasi tinggi (Mustarichie, 2011).

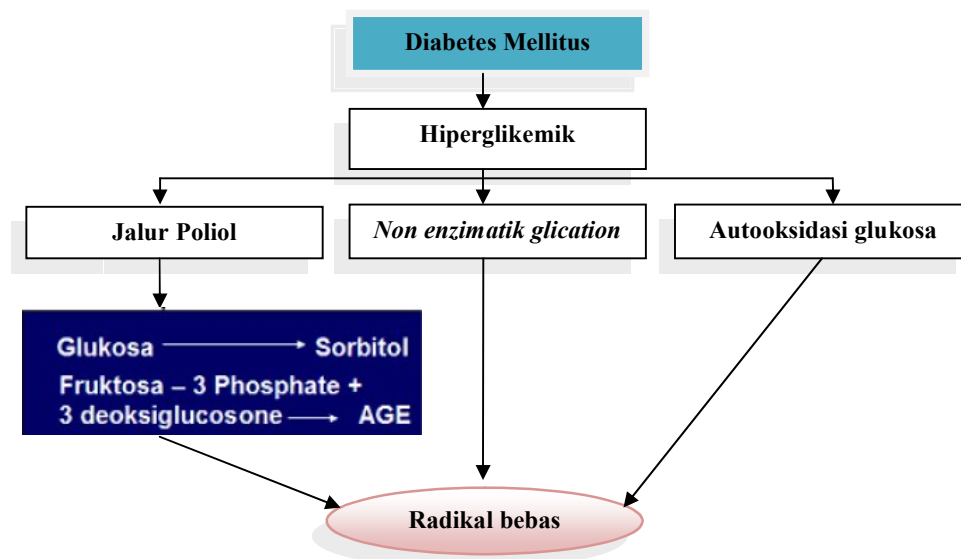
Senyawa metabolit sekunder merupakan komponen aktif dalam tumbuhan yang banyak dimanfaatkan di bidang kedokteran atau farmakologi dan pertanian. Salah satu khasiat dari metabolit sekunder digunakan sebagai antihiperglikemik atau anti diabetes mellitus.

2.2.3 Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) atau yang juga dikenal juga sebagai penyakit kencing manis adalah penyakit kronik yang disebabkan oleh ketidakmampuan organ pankreas untuk memproduksi hormon insulin dalam jumlah yang cukup, atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang telah dihasilkan oleh pankreas secara efektif. Pada penderita DM yang tidak terkontrol, akan terjadi peningkatan kadar glukosa (gula) darah yang disebut hiperglikemia. DM dibagi menjadi tiga jenis, yaitu:

- a. DM tipe 1 yang disebabkan oleh kurangnya produksi insulin oleh pankreas.
- b. DM tipe 2 yang disebabkan oleh resistensi insulin, sehingga penggunaan insulin oleh tubuh menjadi tidak efektif.
- c. Diabetes gestasional, adalah hiperglikemia yang pertama kali ditemukan saat kehamilan

Keadaan hiperglikemik pada diabetes mellitus disebabkan oleh gangguan sekresi insulin disertai gangguan metabolisme glukosa, lemak dan protein. Kelainan metabolisme pada diabetes mellitus menyebabkan peningkatan konsentrasi radikal bebas dalam tubuh. Produksi radikal bebas pada keadaan hiperglikemik ini dapat terjadi melalui 3 jalur yakni aktivasi jalur poliol, *nonenzymatic glycation* dan autooksidasi glukosa.



Gambar 8. Skema hubungan antara DM dan radikal bebas

Pada jalur poliol, glukosa diubah menjadi sorbitol dengan bantuan enzim aldose reduktase. Selain itu, pada jalur poliol juga terjadi pembentukan *advanced glycosylation end products* (AGE) dari fruktosa-3 phosphate dan 3-deoksiglucosone yang mana jika AGE tersebut berikatan dengan reseptor AGE akan terbentuk radikal bebas.

Keberadaan radikal bebas dalam tubuh dapat menyebabkan kerusakan dari sel-sel tubuh. Untuk mengatasi keadaan ini maka dibutuhkan antioksidan yang berfungsi untuk melawan efek radikal bebas. Pada keadaan DM, jumlah antioksidan endogen yang dihasilkan tidak seimbang dengan peningkatan jumlah radikal bebas sehingga dibutuhkan adanya antioksidan dari luar (Setiawan, 2005).

Gejala DM meliputi poliuria (banyak berkemih), polidipsia (rasa haus sehingga jadi banyak minum), polifagia (banyak makan karena perasaan lapar terus-menerus), penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan sebabnya serta kadar glukosa darah lebih dari 200 mg/dL. Pencegahan DM pada orang-orang yang berisiko pada prinsipnya adalah dengan mengubah gaya hidup yang meliputi olah raga, penurunan berat badan, tidak merokok dan pengaturan pola makan.

Berdasarkan analisis terhadap sekelompok orang dengan perubahan gaya hidup intensif, pencegahan diabetes paling berhubungan dengan penurunan berat badan. Menurut penelitian, penurunan berat badan 5%-10% dapat mencegah atau memperlambat munculnya DM tipe 2. Dianjurkan pula melakukan pola makan yang sehat, yakni terdiri dari karbohidrat kompleks, mengandung sedikit lemak jenuh dan tinggi serat. Asupan kalori ditujukan untuk mencapai berat badan ideal. Penanggulangan DM bisa dilakukan dengan diet, asupan makanan yang terkontrol, tidak merokok dan bisa mengkonsumsi obat sintetik oral yang dapat mengontrol insulin di dalam tubuh (Regina 2012).

Diagnosis diabetes ditandai dari berbagai gejala sebagai berikut

- a. Memiliki gejala diabetes (sering buang air kecil, rasa haus yang tidak lazim, penurunan berat badan tanpa sebab) dan kadar gula darah 200 mg/dL atau lebih tinggi setiap saat sepanjang hari atau ketika berpuasa.
- b. Kadar gula darah 126 mg/dL atau lebih tinggi setelah berpuasa 8 jam.

Diagnosa diabetes ditetapkan berdasarkan nilai rujukan kadar glukosa dalam darah. Nilai rujukan glukosa darah adalah sebagai berikut:

a. Dewasa

Kadar glukosa dalam serum dan plasma adalah 140 mg/dL, sedangkan dalam darah lengkap sampai dengan 120 mg/dL. Pada lansia, kadar glukosa darah dalam serum dan plasma sampai dengan 160 mg/dL. Untuk darah lengkap, kadar glukosa darah sampai dengan 140 mg/dL.

b. Glukosa darah puasa

Pada orang dewasa, kadar glukosa dalam serum dan plasma saat berpuasa adalah 70 – 100 mg/dL, sedangkan dalam darah lengkap kadar glukosa darah 60 – 100 mg/dL. Pada lansia, kadar glukosa darah dalam serum dan plasma sampai dengan 70 – 120 mg/dL.

c. Glukosa darah post prandial

Pada orang dewasa, kadar glukosa darah dalam serum dan plasma adalah 140 mg/dL, sedangkan dalam darah lengkap sampai dengan 120 mg/dL. Pada lansia, kadar glukosa darah dalam serum dan plasma sampai dengan 160 mg/dL, untuk darah lengkap kadar glukosa darah sampai dengan 140 mg/dL.

Apabila kadar glukosa plasma atau serum sewaktu (kapan saja, tanpa mempertimbangkan makan terakhir) sebesar ≥ 200 mg/dL, kadar glukosa plasma/ serum puasa yang mencapai > 126 mg/dL dan glukosa plasma/serum 2 jam setelah makan (post prandial) ≥ 200 mg/dL biasanya menjadi indikasi terjadinya diabetes mellitus (DM) (Anonim, 2011).

Percobaan mengenai diabetes mellitus dengan menggunakan hewan percobaan didasarkan pada patogenesis penyakit tersebut pada manusia. Penelitian menggunakan hewan percobaan yang dibuat secara

patologis menderita diabetes mellitus. Hewan percobaan diabetes mellitus tipe 1 dan 2 dapat dibuat melalui beberapa cara yaitu pankreatomi; induksi senyawa kimia (diabetogenik) misalnya dengan Aloksan, aloksan asam dehidroaskorbat, asam dialurat, asam ksanturenat, induksi virus, ataupun secara genetika (Nugroho, 2006).

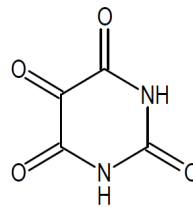
2.2.4 Aloksan

Patogenesis pada DM tipe 1 yaitu kerusakan spesifik pada sel β Langerhans yang mengakibatkan terjadinya penurunan drastis pada sekresi insulin. Senyawa toksin seperti aloksan, asam urat, asam dehidroaskorbat, asam dialurat, asam ksanturenat dapat mengakibatkan kerusakan sel β Langerhans. Oleh karena itu, senyawa-senyawa tersebut dapat digunakan untuk membuat hewan uji DM tipe 1 (Nugroho, 2006).

Aloksan (2,4,5,6-tetraoksipirimidin-5,6-dioksiurasil) merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil. Waktu paro pada suhu 37°C dan pH netral adalah 1,5 menit dan bisa lebih lama pada suhu yang lebih rendah. Sebagai diabetogenik, 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.

Aloksan secara cepat dapat mencapai pankreas, aksinya diawali oleh pengambilan yang cepat oleh sel β Langerhans. Pembentukan oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut. Pembentukan oksigen reaktif diawali dengan proses reduksi aloksan dalam sel β Langerhans. Hasil dari proses reduksi aloksan adalah asam dialurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan, menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida. Radikal superoksida dapat membebaskan ion ferri dari ferinitin, dan mereduksi menjadi ion ferro. Selain itu, ion ferri juga dapat direduksi oleh radikal aloksan. Radikal superoksida mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida, berjalan spontan dan kemungkinan dikatalisis oleh superoksida dismutase. Salah satu target dari oksigen

reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas. Kerusakan DNA tersebut menstimulasi *poly ADP-ribosylation*, proses yang terlibat pada *DNA repair*. Adanya ion ferro dan hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksi yang sangat reaktif.



Gambar 9. Struktur Aloksan (Szkudelski, 2001)

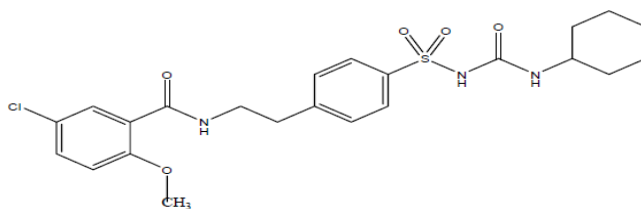
Faktor lain selain pembentukan oksigen reaktif adalah gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler. Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel β Langerhans pankreas. Efek tersebut diikuti oleh beberapa kejadian : influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, dan eliminasinya yang terbatas dari sitoplasma. Influks kalsium akibat aloksan tersebut mengakibatkan depolarisasi sel β Langerhans, lebih lanjut membuka kanal kalsium tergantung voltase dan semakin menambah masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain kedua faktor tersebut di atas, aloksan juga diduga berperan dalam penghambatan glukokinase dalam proses metabolisme energi (Szkudelski, 2001).

Dalam pengobatan diabetes mellitus sintesis yang dikenal berdasarkan cara kerjanya diantaranya glibenklamid, repaglinida, metformin, miglitol, dan thiazolidindion. Dalam penelitian ini digunakan obat antidiabetes sintesis glibenklamid sebagai pembanding aktivitas antidiabetes dengan ekstrak *Thespesia populnea Soland Ex. Correa*.

2.2.5 Glibenklamid

Glibenklamid adalah obat anti diabetes oral golongan sulfonilurea. Glibenklamid menyebabkan hipoglikemia dengan cara menstimulasi pelepasan insulin dari sel β pankreas. Pemberian akut golongan ini ke pasien DM tipe 2 meningkatkan pelepasan insulin dari pankreas dan dapat meningkatkan kadar insulin (Gilman, 2007).

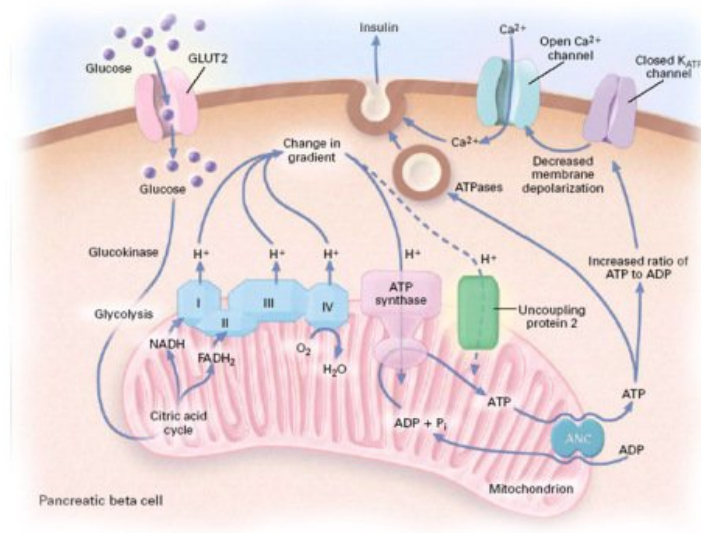
Glibenklamid efektif dengan pemberian dosis tunggal dan dapat diberikan per oral. Studi menggunakan glibenklamid yang dilabel radioaktif menunjukkan bahwa, glibenklamid diserap sangat baik (84 - 90%). Glibenklamid mulai bekerja dengan kadar insulin serum mulai meningkat pada 15-60 menit setelah pemberian dosis tunggal.



Gambar 10. Struktur Glibenklamid (Baroroh, 2011)

Glibenklamid tidak diakumulasi di dalam tubuh, walaupun dalam pemberian berulang. Obat ini hanya berperan sebagai pengendali diabetes, bukan penyembuh. Obat ini hanya faktor pendukung dalam pengelolaan diabetes, faktor utamanya adalah pengendalian diet (pola makan) dan olah raga. Mekanisme glibenklamid adalah merangsang sekresi insulin dari sel-sel β -Langerhans, menurunkan keluaran glukosa dari hati dan meningkatkan sensitivitas sel-sel sasaran perifer terhadap insulin.

Sulfonilurea menyebabkan kepekaan sel-sel beta bagi kadar glukosa darah diperbesar melalui pengaruhnya atas protein transpor glukosa. Pelepasan insulin diregulasi oleh adanya glukosa, keberadaan asam amino dan beberapa hormon gastrointestinal (glukagon, sekretin, gastrin, *glucose-dependent insulin-releasing peptide*/GIP, dan *cholecystokinin*/CCK).



Gambar 11. Mekanisme pelepasan insulin (Setiawan, 2005)

Secara molekuler proses pelepasan insulin dari sel beta pankreas diawali uptake glukosa oleh sel beta pankreas yang dimediasi oleh glukosa transporter *GLUT2*. Kemudian glukosa akan mengalami glikolisis dan *citric acid cycle* dengan bantuan enzim glukokinase, sehingga melepaskan NADH dan FADH₂ di dalam mitokondria, yang akan mendonorkan elektronnya pada *mitochondrial electrone-transport chain*.

Tahap selanjutnya akan terjadi pengeluaran proton oleh kompleks I, III, dan IV yang akan menyebabkan perubahan gradien elektrokimia pada sel beta pankreas. Perubahan gradien yang terlalu tinggi akan memicu pemasukan kembali proton ke dalam mitokondria melalui ATP sintetase dan uncoupling protein 2. Jalur ATP sintetase akan menyebabkan diproduksi ATP dengan adanya ADP dan fosfat inorganik, sedangkan jalur *uncoupling* protein 2 akan menghasilkan pelepasan energi berupa panas. Peningkatan ATP dan ADP akan menghambat *ATP-sensitive K⁺ channel* sehingga kanal akan tertutup dan terjadi penurunan depolarisasi dari membran plasma. Depolarisasi

membran mengakibatkan terbukanya kanal Ca^{2+} , sehingga terjadi transport Ca^{2+} dari luar sel ke dalam sel (peningkatan kadar Ca^{2+} intraseluler). Pada akhirnya konsentrasi Ca^{2+} intrasel yang tinggi akan memicu pelepasan insulin dari sel beta pankreas. Golongan obat antidiabetes peroral memiliki mekanisme kerja pada jalur ini, yaitu dengan hambatan secara langsung pada kanal K^+ sensitif ATP. Ada beberapa cara untuk memisahkan dan mengisolasi senyawa metabolit sekunder, salah satunya adalah dengan cara ekstraksi dan Kromatografi Lapis Tipis.

2.3 Metode Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder

2.3.1 Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan kandungan senyawa kimia dari jaringan tumbuhan ataupun hewan dengan menggunakan pelarut tertentu. Prinsip metode ekstraksi ini adalah didasarkan pada distribusi zat terlarut dengan perbandingan tertentu antara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Batasannya adalah zat terlarut dapat ditransfer pada jumlah yang berbeda dalam kedua fase pelarut (Khopkar, 2002).

Ekstrak adalah sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang ditetapkan. Ada beberapa metode ekstraksi yaitu :

a. Cara dingin

1) Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakkan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Remaserasi berarti melakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

2) Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai terjadi penyaringan sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur kamar. Proses perkolasi terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penampungan ekstrak), terus-menerus sampai diperoleh ekstrak.

b. Cara Panas

1) Digesti

Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinu pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur kamar yaitu pada 40 – 50°C.

2) Infus

Infus adalah ekstraksi menggunakan pelarut air pada temperatur penangas air selama 15 menit.

3) Sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi untuk bahan yang tahan pemanasan dengan cara meletakkan bahan yang akan diekstraksi dalam sebuah kantung ekstraksi di dalam sebuah alat ekstraksi dari gelas yang bekerja kontinu (Simanjuntak, 2008).

Bahan simplisia berupa serbuk kasar disatukan dengan bahan pengestraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Waktu maserasi pada umumnya 5 hari. Setelah waktu tersebut, artinya keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan yang masuk kedalam cairan telah tercapai. Dengan pengocokan diharapkan keseimbangan konsentrasi bahan ekstraksi lebih cepat dalam cairan. Keuntungan maserasi adalah cara kerja dan peralatan yang digunakan relatif sederhana (Simanjuntak, 2008).

Dasar penyiapan bahan yang akan diekstrak dan pelarut sebagai berikut:

a. Selektivitas

Pelarut hanya boleh melarutkan ekstrak yang diinginkan, bukan komponen-komponen lain dari bahan ekstraksi. Dalam praktek, terutama pada ekstraksi bahan-bahan alami, sering juga bahan lain (misalnya lemak, resin) ikut dibebaskan bersama-sama dengan ekstrak yang diinginkan. Dalam hal itu larutan ekstrak tercemar yang diperoleh harus dibersihkan, yaitu misalnya diekstraksi lagi dengan menggunakan pelarut kedua.

b. Kelarutan

Pelarut sedapat mungkin memiliki kemampuan melarutkan ekstrak yang besar (kebutuhan pelarut lebih sedikit).

c. Kemampuan tidak saling bercampur

Pada ekstraksi cair-cair, pelarut tidak boleh (atau hanya secara terbatas) larut dalam bahan ekstraksi.

d. Kerapatan

Terutama pada ekstraksi cair-cair, sedapat mungkin terdapat perbedaan kerapatan yang besar antara pelarut dan bahan ekstraksi. Hal ini dimaksudkan agar kedua fase dapat dengan mudah dipisahkan kembali setelah pencampuran (pemisahan dengan gaya berat). Bila beda kerapatannya kecil, seringkali pemisahan harus dilakukan dengan menggunakan gaya sentrifugal (misalnya dalam ekstraktor sentrifugal).

e. Reaktivitas

Pada umumnya pelarut tidak boleh menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen-komponen bahan ekstraksi. Dalam hal-hal tertentu diperlukan adanya reaksi kimia (misalnya pembentukan garam) untuk mendapatkan selektivitas yang tinggi. Ekstraksi juga disertai dengan reaksi kimia. Dalam hal ini bahan yang akan dipisahkan berada dalam bentuk larutan.

f. Titik didih

Karena ekstrak dan pelarut biasanya harus dipisahkan dengan cara penguapan, destilasi atau rektifikasi, maka titik didih kedua bahan itu tidak boleh terlalu dekat, dan keduanya tidak membentuk azeotrop. Ditinjau dari segi ekonomi, akan menguntungkan jika pada proses ekstraksi titik didih pelarut tidak terlalu tinggi (seperti halnya dengan panas penguapan yang rendah) (Rahayu, 2009).

2.3.2 Kromatografi Lapis Tipis

Pemisahan dengan kromatografi didasarkan pada kesetimbangan komponen-komponen campuran di antara fasa gerak (fasa mobil) dan fasa diam (fasa stasioner). Kesetimbangan ini dapat dijelaskan secara kuantitatif dengan istilah *koefisien partisi* (Hendayana, 1994).

Kromatografi digunakan untuk memisahkan substansi campuran menjadi komponen-komponennya. Pelaksanaan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan sebuah lapis tipis silika atau alumina yang seragam pada sebuah lempeng gelas atau logam atau plastik yang keras. Gel silika merupakan fase diam. Fasa diam untuk KLT seringkali mengandung substansi yang dapat berpendar dalam sinar UV (Masroh, 2010).

Adsorben yang paling banyak digunakan dalam kromatografi lapis tipis adalah silika gel dan aluminium oksida. Silika gel umumnya mengandung zat tambahan kalsium sulfat untuk mempertinggi daya lekatnya. Zat ini digunakan sebagai adsorben universal untuk kromatografi netral, asam dan basa. Kromatografi lapis tipis sekarang digunakan secara universal dan karena kecepatannya dan kebutuhan akan senyawa yang sangat kecil merupakan prosedur analitik yang ideal untuk laboratorium apotik (Roth, *et al*, 1988).

Data yang diperoleh dari KLT adalah nilai R_f yang berguna untuk identifikasi senyawa. Nilai R_f untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan nilai R_f dari senyawa standar. Nilai R_f dapat didefinisikan sebagai jarak yang ditempuh oleh senyawa dari titik asal dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik asal. Oleh karena itu bilangan R_f selalu lebih kecil dari 1,0.

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis menggunakan harga R_f . Harga R_f didefinisikan sebagai berikut:

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

KLT digunakan untuk memantau kemajuan reaksi dan untuk mengenali komponen tertentu, teknik ini sering dilakukan dengan lempeng gelas atau plastik yang dilapisi oleh fase diam dan fase gerak adalah pelarut. Campuran yang akan dianalisis ditetaskan pada dasar lempengan dan pelarut akan bergerak naik oleh gaya kapiler. Jarak tempuh ke atas lempengan merupakan cerminan polaritas senyawa. Peningkatan polaritas pelarut akan menurunkan interaksi senyawa dengan fase diam sehingga memungkinkan senyawa dalam fase gerak bergerak lebih jauh pada lempeng (Bresnick, 2004).

2.3.3 Kromatografi Kolom

Pada dasarnya semua cara kromatografi menggunakan dua fasa yaitu fasa diam (*stationary*) dan yang lain fasa bergerak (*mobile*), pemisahan-pemisahan tergantung pada gerakan relatif dari dua fasa ini. Cara-cara kromatografi dapat digolongkan dengan sifat-sifat dari fasa diam yang dapat berupa zat padat atau zat cair.

Pada prinsipnya kromatografi kolom adalah suatu teknik pemisahan yang didasarkan pada peristiwa adsorpsi. Sampel yang biasanya berupa larutan pekat diletakkan pada ujung atas kolom.

Eluen atau pelarut dialirkan secara kontinyu ke dalam kolom. Dengan adanya gravitasi atau karena bantuan tekanan maka eluen pelarut akan melewati kolom dan proses pemisahan akan terjadi. Fase gerak yang paling cocok untuk pemisahan harus ditentukan melalui cara kromatografi lapis tipis terlebih dahulu. Kecepatan pergerakan suatu komponen tergantung pada kemampuannya untuk tertahan atau terhambat oleh penyerap di dalam kolom. Jadi suatu senyawa yang diserap lemah akan bergerak lebih cepat daripada yang diserap kuat (Sastrohamidjojo, 2002).

Kolom dengan fase terbalik bergerak dalam arah berlawanan: fase diam mempunyai afinitas lebih besar terhadap senyawa tak polar sehingga makin tak polar fase gerak, makin cepat senyawa melintasi kolom (Bresnick, 2004). Alat yang digunakan dalam kromatografi kolom berbentuk pipa kaca vertikal (kolom) yang diisi dengan serbuk alumina aktif atau sejenisnya. Zat yang akan dipisahkan atau dianalisis dituangkan dari atas kolom, kemudian secara perlahan diikuti dengan menuangkan pelarut melalui kolom tersebut. Cara ini dikenal dengan sebutan *elusi*. Zat yang mengelusi (pelarut) disebut *eluen*. Kecepatan komponen pelarut melewati alumina bergantung pada daya serap alumina terhadap komponen itu. Makin kuat daya serap alumina terhadap komponen itu, makin lambat komponen itu lewat melalui kolom (Hadiat, 2004).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2013 sampai Januari 2014. Pembuatan ekstrak dan isolasi daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa dilakukan di Laboratorium Basic Science FMIPA, Uji Fitokimia dilakukan di Laboratorium Pendidikan Kimia dan Uji pengaruh ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa (*Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa) dilaksanakan di Kebun Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca analitik, botol timbang, Gelas Kimia, Corong Pisah, Gelas Ukur, Erlenmeyer, corong, batang pengaduk, kertas saring, aluminium foil, *rotary evaporator*, *hot plate*, pisau, timbangan mencit, nampan, botol semprot, oven pemanas, tabung reaksi, pipet tetes, kandang mencit, botol minuman, ram kawat, sekam padi, alat *gavage*, gunting, glukosa meter model Multisure, Plat Kromatografi Lapis Tipis, pipet mikro, UV Box, oven pemanas, kromatografi kolom, sarung tangan, dan kamera.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa, etanol, n-heksana, etil asetat, mencit jantan berumur 2-3 bulan dengan berat 25-39 gram dan sehat, pakan mencit, HCl pekat, pita Mg, aquades, Pereaksi Mayer, Reagen Wagner, pereaksi Dragendroff, FeCl₃ 1%, CH₃COOH glasial, H₂SO₄ pekat, Aloksan, Karboksimetil selulosa (CMC), glibenklamid, akuades, silica gel dan pereaksi nihidrin.

3.3 Prosedur Kerja

3.3.1 Persiapan Sampel

Sampel tanaman *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa diambil dari daerah suku Serawai Kaur. Daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa dibersihkan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa cahaya matahari langsung. Tujuan dikeringkan adalah agar kadar air yang ada pada daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa berkurang sehingga memudahkan pada saat ekstraksi. Pengeringan tanpa menggunakan sinar matahari langsung bertujuan agar senyawa yang terkandung tidak mengalami kerusakan. Kemudian daun dihaluskan dengan blender, sehingga diperoleh sampel berupa serbuk daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa .

3.3.2 Pembuatan Ekstrak

Serbuk daun sebanyak 1000 gram dimaserasi dalam pelarut etanol kemudian dilakukan pengocokan secara berkala selama 10 hari dalam wadah tertutup dan terlindung dari sinar matahari. Filtrat disaring dan ampas yang diperoleh dimaserasi kembali (remaserasi) dengan pelarut dan perlakuan yang sama. Filtrat yang dihasilkan ditampung dan dipekatkan dengan *rotary* evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat. Proses evaporasi dilakukan pada suhu 40°C - 50°C.

Ekstrak etanol pekat yang telah diperoleh kemudian difraksinasi menggunakan pelarut dengan kepolaran bertingkat yaitu etanol : n-heksana (1:1) dan etanol : etil asetat (1:1). Ekstrak etanol pekat dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksana, lalu dikocok hingga tercampur, kemudian didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan. Fraksi n-heksana dipisahkan, sedangkan fraksi etanol difraksinasi kembali hingga bening. Kemudian fraksi etanol difraksinasi dengan pelarut etil asetat hingga terbentuk fraksi etanol dan fraksi etil asetat. Fraksi yang telah terpisah dipanaskan dengan *hot plate* untuk menguapkan kandungan pelarut. Selanjutnya dilakukan uji

fitokimia untuk ketiga fraksi tersebut. Dilanjutkan pemberian perlakuan terhadap mencit untuk menentukan fraksi aktif yang selanjutnya diidentifikasi dengan KLT dan kromatografi kolom.

3.3.3 Pembuatan Aloksan

Aloksan 50 mg dilarutkan dalam aquades hingga 30 mL (Purnama, 2013). Fungsi aloksan untuk menginduksi kondisi hiperglikemik hewan uji. Aloksan diinduksi ke mencit secara intraperitoneal.

3.3.4 Pembuatan Suspensi Glibenklamid

Sebanyak 0,5 g CMC ditaburkan dalam lumpang yang berisi aquades panas 10 ml. Diamkan 15 menit hingga diperoleh massa yang transparan, lalu digerus hingga terbentuk gel. Sebanyak 20 mg glibenklamid digerus dan ditambahkan larutan CMC sedikit demi sedikit sambil digerus dan diencerkan dengan sedikit air. Kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 100 ml dan tambahkan aquades hingga tanda batas (Lumban, 2008). Fungsi glibenklamid dalam penelitian ini adalah obat standar sebagai pembanding penurun kadar glukosa darah.

3.3.5 Uji Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder

a. Uji Alkaloid

Sampel diletakkan dalam gelas kimia, ditambahkan 5 ml HCl 2M, diaduk dan disaring. Filtrat kemudian ditambahkan satu atau dua tetes pereaksi mayer. Endapan putih atau krem menunjukkan uji positif alkaloid (Lenny, 2006).

b. Uji Flavonoid

Sebanyak 4 gram sampel dididihkan di dalam gelas kimia yang berisi 30 ml etanol teknis 96% dengan menggunakan

penangas air. Kemudian dilakukan penyaringan dalam keadaan panas. Filtrat dipekatkan sampai setengahnya setelah itu ditambahkan 1 tetes HCl pekat 6 M dan pita magnesium sepanjang 2 cm yang dipotong halus seperti serbuk magnesium dan jika terbentuk warna merah bata, berarti di dalam ekstrak tersebut positif mengandung flavonoid (Lenny, 2006).

c. Uji Tanin

20 gram sampel dilarutkan dengan 20 ml air lalu ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 5%. Warna hijau tua menunjukkan uji positif tanin (Lenny, 2006).

d. Uji Saponin

Sebanyak 2 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 20 ml akuades yang mendidih, kemudian disaring. Filtrat dikocok selama 15 menit. Terbentuknya lapisan busa setinggi 2 cm mengindikasikan adanya saponin (Lenny, 2006).

e. Uji Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 0,5 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 10 ml akuades yang mendidih, kemudian disaring. Filtrat diuapkan sampai semua pelarut menguap. Kemudian ditambahkan 2 ml CH_3COOH glasial dan 3 ml H_2SO_4 pekat untuk membentuk lapisan. Terbentuknya warna biru sampai hijau menunjukkan steroid positif. Warna merah kecoklata sampai ungu menunjukkan terpenoid positif (Lenny, 2006).

f. Uji Senyawa Fenolik

Sampel dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian ditetesi larutan FeCl_3 1%. Uji positif menunjukkan warna larutan menjadi hijau, biru, merah atau hitam (Lenny, 2006).

3.3.6 Persiapan dan Pemeliharaan Mencit

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Mencit jantan yang berumur 7-8 minggu dengan berat 20 g – 34 g sebanyak 25 ekor yang didatangkan dari Universitas Andalas, Padang. Kandang mencit dibuat dengan menggunakan nampan plastik yang diberi sekam padi sebagai alas dan bagian atas kandang ditutup dengan ram kawat.

Mencit dipelihara dalam kandang dan diberi penerangan selama 12 jam perhari (PK 18.00 – 06.00 WIB) pada suhu ruang selama pemeliharaan rata-rata sekitar 25°C dengan kelembaban relatif rata-rata 80% dan diberi pakan harian dan minuman. Kandang Mencit disusun pada rak yang tersedia di dalam Kebun Biologi, FKIP Universitas Bengkulu.

3.3.7 Konversi Dosis

a. Dosis Aloksan

Menurut penelitian Qomariyah (2011) dosis efektif aloksan yang dapat menyebabkan hiperglikemik untuk tikus adalah dosis 130 mg/kg BB. Nilai konversi dari *R. Norvegicus* ke Mencit adalah 0,14. Jadi dosis untuk mencit adalah $0,14 \times 130 \text{ mg/kg BB} = 18,2 \text{ mg/kg BB}$ atau untuk *Mencit* dengan berat badan 30 g yaitu :

$$\frac{30 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 18,2 \text{ mg/kg BB} = 0,546 \text{ mg Aloksan}$$

Aloksan sebanyak 50 mg dilarutkan dalam aquades hingga 30 mL. Dalam 1 mL larutan aloksan mengandung $\frac{50 \text{ mg}}{30 \text{ ml}} = 1,67 \text{ mg /ml}$ aloksan. Dosis pemberian aloksan adalah 0,546 mg/30 g berat mencit yaitu :

$$\text{Dosis} = \frac{0,546 \text{ mg}}{1,67 \text{ mg/ml}} = 0,32 \text{ ml}$$

Aloksan diberikan pada kelompok perlakuan P1, P2, P3, P4, K1, K2 dan K3 hingga kondisi hiperglikemik.

b. Dosis Ekstrak *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa

Belum diketahui literatur yang menyatakan dosis penggunaan ekstrak (*Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa). Pada penelitian ini konsentrasi senyawa metabolit sekunder pada tanaman *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa pun belum diketahui. Oleh karena itu dosis ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa berpatokan pada penelitian Yulinasti (2013) dan Lokaria (2012) variasi dosis yang diberikan adalah 56 mg/kg BB dan 84 mg/kgBB dengan mengkonversikan rata-rata berat badan mencit adalah 30 g. Dosis efektif untuk mencit adalah sebagai berikut :

$$\frac{30 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 56 \text{ mg/kg BB} = 1,7 \text{ mg ekstrak } \textit{Thespesia populnea} \text{ (L.) Soland. Ex Correa}$$

$$\frac{30 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 84 \text{ mg/kg BB} = 2,5 \text{ mg ekstrak } \textit{Thespesia populnea} \text{ (L.) Soland. Ex Correa}$$

Ekstrak *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa sebanyak 400 mg dilarutkan dalam akuades hingga 10 mL, sehingga dalam 1 mL larutan ekstrak *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa mengandung :

$$\frac{400 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = 40 \text{ mg/ml ekstrak } \textit{Thespesia populnea} \text{ (L.) Soland. Ex Correa}$$

Dosis pemberian ekstrak untuk dosis pada P2 dan P3 adalah :

$$\text{Dosis P2} = \frac{1,7 \text{ mg}}{40 \text{ mg/ml}} = 0,04 \text{ ml/ 30 g BB}$$

$$\text{Dosis P3} = \frac{2,5 \text{ mg}}{40 \text{ mg/ml}} = 0,06 \text{ ml/ 30 g BB}$$

c. Dosis Glibenklamid

Dosis Glibenklamid yang digunakan adalah 2,5 mg/kg BB. Nilai konversi dari *R. Norvegicus* ke Mencit adalah 0,14. Jadi dosis untuk mencit adalah $0,14 \times 2,5 \text{ mg/kg BB} = 0,35 \text{ mg/kg BB}$ atau untuk *Mencit* dengan berat badan 30 g yaitu :

$$\frac{30 \text{ g}}{1000 \frac{\text{g}}{\text{kg}}} \times 0,35 \text{ mg/kg BB} = 0,0105 \text{ mg glibenklamid}$$

Glibenklamid diberikan pada kelompok perlakuan P4. Glibenklamid 20 mg dilarutkan dalam 10 ml natrium CMC 0,5% dan penambahan akuades hingga 100 mL. Dalam 1 mL suspensi glibenklamid mengandung $\frac{20 \text{ mg}}{100 \text{ ml}} = 0,2 \text{ mg/ml}$ glibenklamid. Dosis pemberian glibenklamid untuk 0,0105 mg/30 g berat mencit yaitu :

$$\text{Dosis} = \frac{0,0105 \text{ mg}}{0,2 \text{ mg/ml}} = 0,0525 \text{ ml}$$

3.3.8 Pengelompokkan Hewan Uji dan Pemberian Perlakuan

Penelitian ini memerlukan 25 ekor mencit yang masing-masing terdiri dari 5 kelompok dan masing-masing terdiri atas 5 ekor mencit. Perlakuan yang dilakukan adalah sebagai berikut :

- P0 : kelompok kontrol, tidak diberi larutan Aloksan.
- P1 : kelompok perlakuan 1, diberi larutan Aloksan
- P2 : kelompok perlakuan 2, diberi larutan Aloksan dan ekstrak *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa dengan dosis 56 mg/kg BB.

- P3 : kelompok perlakuan 3, diberi larutan Aloksan dan ekstrak *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa dengan dosis 84 mg/kg BB.
- P4 : kelompok perlakuan 4, diberi larutan Aloksan dan obat standar glibenklamid.

Tabel 1. Perlakuan Uji Bioassay Ekstrak *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa

Kelompok mencit	Perlakuan			
	Aquades	Dosis Aloksan (hari ke-1)	Dosis Ekstrak <i>Thespesia populnea</i> (L.) Soland ex. Correa (hari ke-5)	Dosis Glibenklamid (hari ke-5)
P0	√	-	-	-
P1		√		
P2		√	√	
P3		√	√	
P4		√		√

9 ekor untuk uji aktifitas ekstrak *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa yang telah difraksinasi, terdiri dari 3 kelompok dan masing-masing terdiri atas 3 ekor dan diberikan perlakuan dengan dosis 84 mg/kg BB sebagai berikut:

Tabel 2. Perlakuan Uji Bioassay Fraksi Ekstrak *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex Correa

Kelompok mencit	Perlakuan			
	Aloksan 130 mg/kg BB	Fraksi n-heksana	Fraksi etil asetat	Fraksi etanol
K1	√	√	-	-
K2	√	-	√	-
K3	√	-	-	√

Semua mencit dari kelompok percobaan diberi aloksan 130 mg/kg berat badan setiap 2 hari sekali untuk menaikkan kadar glukosa darahnya. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-1 , 3 , 5 , 8 dan 11. Pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke -3 dan hari ke-5 dimaksudkan untuk mengetahui apakah kadar glukosa darah sudah naik. Pada hari ke-3 semua hewan uji belum mengalami kenaikan kadar glukosa darah, sehingga aloksan diberikan kembali. Pada hari ke-5 semua mencit dengan perlakuan aloksan sudah mencapai hiperglikemik. Selanjutnya dilakukan pemberian sediaan uji pada hari ke-6 hingga hari ke-7. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-8 ternyata belum menunjukkan penurunan yang signifikan, sehingga pemberian sediaan uji pada hewan coba dilakukan kembali pada hari ke-9 sampai dengan hari ke-10. Pada hari ke-11 pengukuran kembali kadar glukosa darah dan terlihat pada perlakuan glibenklamid kadar glukosa darah mencit sudah normal.

3.3.9 Cara Pemberian Perlakuan

Pemberian ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex *Correa* terhadap kelompok perlakuan P1, P2, P3, dan P4 adalah dengan menggunakan alat gavage, metoda pemberian ekstrak dengan memasukkan ekstrak daun *Thespesia populnea* (L.) Soland. Ex *Correa* ke dalam lambung Mencit.

3.3.10 Pengambilan Darah dan Penentuan Kadar Glukosa Darah

Pengambilan darah pada mencit dilakukan terhadap seluruh kelompok penelitian. Pengambilan darah dilakukan dengan pemotongan ujung ekor mencit. Ujung ekor mencit dipotong sedikit, lalu darah yang keluar kemudian diambil dengan cara diteteskan pada strip tetes yang telah dimasukkan dalam glukotest. Hasil pengukuran kadar glukosa darah mencit dapat langsung diketahui melalui pembacaan pada alat glukotest merk *Multisure*.

3.3.11 Pemisahan Komponen Kimia dengan KLT dan Kromatografi Kolom

Pada pemisahan dengan KLT preparatif digunakan plat dengan ukuran 10 x 2 cm. Fraksi aktif ditotolkan sepanjang plat pada jarak 0,5 cm dari garis bawah dan 0,5 cm dari garis tepi. Selanjutnya dikering anginkan dan ditotolkan kembali sampai dirasa sudah cukup. Hasil penotolan pada plat dielusi dengan menggunakan eluen n-heksana : etil asetat dengan perbandingan yang divariasikan (10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10) dan etil asetat : etanol dengan perbandingan yang sama pula. Eluen yang mampu memisahkan senyawa terbanyak digunakan dalam kromatografi kolom. Pemisahan ekstrak *Thespesia populnea* (L.) Soland ex. Correa yang dimasukkan ke dalam kromatografi kolom menggunakan fraksi aktif sebanyak 1 g. Sebelum sampel dimasukkan terlebih dahulu letakkan kertas saring di atas silica gel. Tujuan pemberian kertas saring ini agar tidak terbentuk lubang seperti sumur pada bagian tengah silica gel. Eluat yang keluar dari kolom ditampung dalam botol vial.

3.4 Teknik Pengumpulan Data

Teknik Pengumpulan data dilakukan dengan mengukur kadar glukosa darah mencit dengan menggunakan alat glukotest. Hasil pengukuran dikonversikan pada lembar tabel konversi dengan satuan mg/dL.

3.5 Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil uji kuantitatif pada penelitian kemudian dianalisis dengan One Way Anova, Uji Duncan dan Uji T-test menggunakan software SPSS Statistics 17.0