

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Pengumpulan Tanaman

Pada penelitian ini digunakan *Persea americana* Mill yang diperoleh dari perkebunan Manoko, Lembang, sebanyak 800 gram daun alpukat dan 800 gram biji alpukat. Dipilih tanaman tersebut karena mudah diperoleh serta memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan. Bagian tanaman yang digunakan adalah daun dan bijinya karena bagian ini relatif lebih mudah diperoleh, selain itu pada bagian daun dan biji ini memiliki kandungan kimia yang memiliki aktivitas farmakologi yang baik. Pada tahap awal dilakukan determinasi tanaman yang dilakukan di Herbarium Bandung, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung, yang bertujuan untuk memastikan bahwa tanaman tersebut benar tanaman daun alpukat dan biji alpukat, sehingga dapat diketahui kebenaran identitas botani simplisia yang digunakan dalam penelitian. Hasil determinasi dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

#### 5.2 Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia daun alpukat dan biji alpukat tersebut dibersihkan dengan cara dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang menempel di simplisia tersebut, kemudian disortasi basah dan dikeringkan pada oven dengan suhu 50°-60°C. Pengeringan tersebut bertujuan untuk mengurangi kadar air pada daun alpukat dan biji alpukat tersebut, sehingga proses pembusukan dapat terhambat dan mendapatkan simplisia yang tidak

mudah rusak dan dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Tetapi jika pengeringan dilakukan pada suhu terlalu tinggi dapat merusak komponen zat aktif. Dengan dilakukannya pengeringan maka akan mengurangi adanya air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat merupakan media pertumbuhan mikroba, jamur, dan kapang.

Simplisia yang sudah dikeringkan kemudian diserbukkan menggunakan *blender*. Proses penghalusan ini dilakukan agar memperkecil ukuran partikel dan memperbesar luas permukaan sehingga pada saat dilakukan proses ekstraksi, luas permukaan yang besar akan membuat pelarut masuk ke dalam simplisia dan dapat menarik semua zat aktif yang ada didalamnya secara maksimal. Dari hasil pengeringan didapat daun alpukat 800 gram, dan biji alpukat kering 800 gram kemudian dilakukan pengepakan dan penyimpanan didalam plastik yang kedap udara dan kering.

### **5.3 Ekstraksi**

Tahap selanjutnya yaitu proses ekstraksi. Ekstraksi ini bertujuan untuk penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (DepKes RI, 2000:1). Simplisia dari daun alpukat dan biji alpukat diekstraksi dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% masing-masing sebanyak 14 L untuk daun alpukat dan 6 L untuk biji alpukat dengan pergantian pelarut setiap 24 jam sekali secara terus-menerus sampai 3 hari. Pelarut etanol digunakan karena etanol dengan konsentrasi 96% tersebut dapat lebih mudah berpenetrasi kedalam sel serta mempunyai kemampuan

ekstraksi yang lebih baik dibandingkan dengan etanol konsentrasi rendah. Etanol dipilih karena bersifat universal yang mampu menarik semua jenis zat aktif, baik bersifat polar, semi polar dan non polar serta absorpsinya baik dan kadar toksisitasnya relatif rendah terhadap makhluk hidup (Depkes RI, 1986). Etanol hasil ekstraksi mudah diuapkan dengan rotary evaporator sehingga tidak membutuhkan waktu lama untuk mendapatkan konsistensi ekstrak yang diinginkan.

Kemudian ekstrak cair tersebut disaring dan filtratnya dipisahkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C dimana merupakan suhu dibawah titik didih etanol bertujuan agar pemanasan dibawah titik didih pelarut dapat melindungi senyawa yang terkandung dalam pelarut. Didapat ekstrak kental masing-masing sebanyak 60,0281 gram untuk daun alpukat dan 94,6201 gram untuk biji alpukat dengan randemen ekstrak daun alpukat 7,5% dan biji alpukat 11,5%.

#### **5.4 Hasil Pemeriksaan Karakteristik Awal Simplisia**

Parameter kadar air dilakukan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam bahan (Depkes, 2000). Penetapan batas minimal kandungan air bertujuan untuk menjaga kualitas simplisia dari pertumbuhan mikroba atau jamur selama proses penyimpanan. Hasil penetapan kadar air pada simplisia daun alpukat dan biji alpukat diperoleh sebesar 5,096% dan 5,88%, dimana batasan kadar air simplisia yang digunakan dalam sediaan

obat yaitu kurang dari 10%. Sehingga simplisia daun alpukat dan biji alpukat ini memenuhi persyaratan untuk digunakan dalam sediaan pada penelitian ini.

### 5.5 Penapisan Fitokimia Simplisia

Penapisan fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia tersebut dimana dapat dijadikan sebagai parameter mutu yang erat kaitannya dengan efek farmakologis. Hasil penapisan fitokimia tersebut dapat dilihat pada **tabel V.1**

**Tabel V.1 Hasil Penapisan Fitokimia (daun alpukat dan biji alpukat)**

Senyawa	Identifikasi Simplisia	
	Daun Alpukat	Biji Alpukat
Polifenolat	+	+
Flavonoid	+	+
Tannin dan Polifenol	+	+
Kuinon	-	-
Monoterpen dan Sesquiterpen	+	+
Triterpenoid dan Steroid	-	-
Saponin	+	-
Alkaloid	+	+

**Keterangan:**

(+) = terdeteksi                      (-) = tidak terdeteksi

Dari **tabel V.1** penapisan fitokimia bahwa hasil penapisan pada simplisia menunjukkan hasil yang sama dengan hasil pustaka yang dirujuk (Larasati, 2012) daun alpukat positif terdapat polifenolat, flavonoid, tanin dan polifenol, monoterpen dan sesquiterpen, saponin, dan alkaloid. Sedangkan yang terkandung positif dalam biji alpukat sesuai dengan pustaka (Anggraeni, 2006) yaitu polifenolat, flavonoid, tanin dan polifenol, kuinon, monoterpen dan sesquiterpen,

dan alkaloid. Sehingga diartikan kandungan senyawa yang terdapat dalam daun dan biji alpukat tersebut benar keberadaannya.

## 5.6 Pengujian Aktivitas Antihiperqlikemia

Pada penelitian ini digunakan hewan uji yaitu mencit putih jantan galur *Swiss Webster*. Hewan mencit ini dipilih dalam pengujian karena mencit mempunyai kemampuan dan keunggulan sebagai objek penelitian, karena mudah diberi perlakuan, mudah diternakkan, mudah didapat dan harganya relatif murah. Mencit yang digunakan yaitu galur *Swiss Webster* karena merupakan mencit SPF (*Spesific Pathogen Free*) yang artinya mencit tersebut sudah memenuhi persyaratan bebas dari penyakit yang dapat ditularkan pada manusia.

Dalam pengujian aktivitas antihiperqlikemia dilakukan dengan menggunakan metode induksi aloksan. Aloksan digunakan sebagai diabetogen dalam penelitian ini dikarenakan aloksan didalam tubuh mengalami metabolisme oksidasi reduksi menghasilkan radikal bebas dan radikal aloksan (Szkudelski, 2001). Radikal ini mengakibatkan kerusakan sel  $\beta$  pankreas sehingga terjadi insulin dependent diabetes melitus atau disebut juga aloksan diabetes pada hewan percobaan. Dimana mekanisme kerjanya tidak stabil dan selektif toksik terhadap hati dan ginjal, tetapi dalam dosis tertentu menyebabkan destruktif selektif pada sel  $\beta$  pankreas. Aloksan bersifat toksik dan selektif terhadap sel  $\beta$  pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT2 (Etuk, 2010).

Pengujian dilakukan dengan metode induksi aloksan terhadap 6 kelompok mencit. Kelompok I kontrol negatif, kelompok II kontrol positif, kelompok III sediaan biji I, kelompok IV sediaan daun, kelompok V kombinasi daun dan biji, kelompok VI pembanding. Pembanding yang digunakan adalah glibenklamid, karena glibenklamid mempunyai mekanisme kerja merangsang sekresi hormon insulin dari granul-granul sel  $\beta$  Langerhans pankreas. Selain itu, glibenklamid merupakan salah satu golongan obat yang kuat, yang banyak digunakan di dunia medis serta merupakan produk obat inovator. Perlakuan pertama mencit sebelum induksi dipuasakan terlebih dahulu selama 18 jam, ini bertujuan untuk menghindari adanya kemungkinan interaksi ekstrak dan makanan dan gangguan adsorpsi. Induksi aloksan dilakukan terhadap semua kelompok kecuali kelompok kontrol negatif, dilakukan secara intravena di suntikan melalui ekor mencit. Induksi aloksan dilakukan selama 3 hari kemudian dilihat kadar glukosanya naik atau tidak, tetapi setelah dicek kadar glukosanya dalam pemberian setelah 3 hari tidak memberikan efek terhadap mencit sehingga induksi gagal dan dilakukan induksi kembali kemudian dilihat lagi pada hari ke 7. Pengecekan dilakukan pada hari ke 7 dan kadar glukosa darah pada mencit meningkat dari kadar normalnya. Setelah naik setiap kelompok langsung diberikan sediaan uji. Hasil pengamatan berupa rata-rata kadar glukosa darah, dapat dilihat pada tabel V.2.

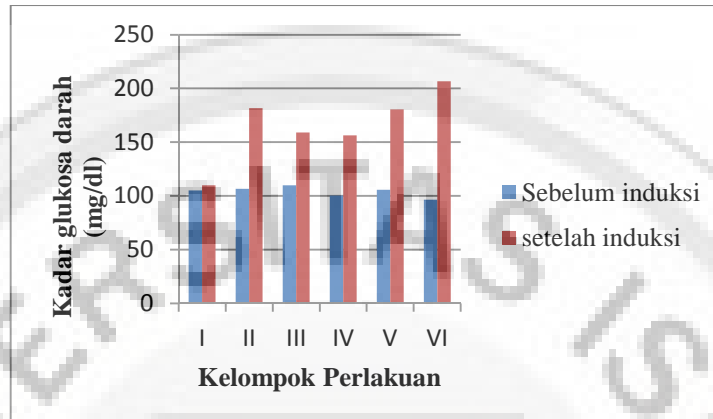
**Tabel V.2 Rata-rata kadar glukosa darah sebelum dan setelah induksi aloksan dan setelah diberi sediaan uji**

Kelompok	Sebelum induksi (t0) (mg/dl) ± SD	Setelah Induksi (t7) (mg/dl) ± SD	setelah diberi sediaan uji (t14) (mg/dl) ± SD
Kontrol Negatif	105 ± 11.519	110 ± 9.487	109.6 ± 9.607
Kontrol Positif	106.6 ± 11.519	181.6 ± 19.191	217.6 ± 38.875
Ekstrak Biji	109.8 ± 6.261	159 ± 16.046	87.8 ± 8.197
Ekstrak Daun	100.2 ± 6.300	156.2 ± 30.203	86.4 ± 6.387
Kombinasi	105.6 ± 7.232	180.4 ± 24.440	75.6 ± 4.827
Pembanding	96.6 ± 8.961	206.6 ± 60.343	73.6 ± 12.661

Berdasarkan tabel diatas perbandingan rata-rata kadar glukosa darah, kelompok sebelum dan sesudah diberi aloksan terdapat perbedaan kecuali kelompok kontrol negatif. Setelah diberi sediaan uji pada t14 terdapat perbedaan yang signifikan dimana terjadinya penurunan kadar glukosa darah. Kelompok kontrol positif rata-rata kadar glukosa darahnya tinggi dibandingkan sediaan uji. Kelompok uji I, II, III, dan pembanding mengalami penurunan kadar glukosa darah. Bisa dilihat pada tabel rata-rata kadar glukosa yang paling rendah ada dikelompok pembanding dan yang mendekati penurunannya terhadap pembanding adalah kelompok uji III yaitu kombinasi, artinya kelompok uji III yaitu kombinasi mempunyai efek farmakologi yang lebih baik dibandingkan sediaan tunggal yaitu daun dan biji alpukat. Hal ini dapat diartikan secara klinis kandungan senyawa yang terkandung dalam tanaman tersebut memberikan efek yang baik terhadap aktivitas efek antihiperlikemia. Senyawa yang mampu menurunkan kadar glukosa ini adalah tanin, mempunyai kemampuan sebagai astringen dapat mengendapkan atau mempresipitasikan protein selaput lendir dipermukaan usus halus dan membentuk suatu lapisan yang melindungi usus,

sehingga menghambat absorpsi glukosa dan laju peningkatan glukosa darah tidak terlalu tinggi (Anggraeni, 2006). Lebih jelasnya dapat dilihat grafik V.1 dan V.2

**Gambar V.1 Grafik rata-rata kadar glukosa darah sebelum dan setelah induksi aloksan**



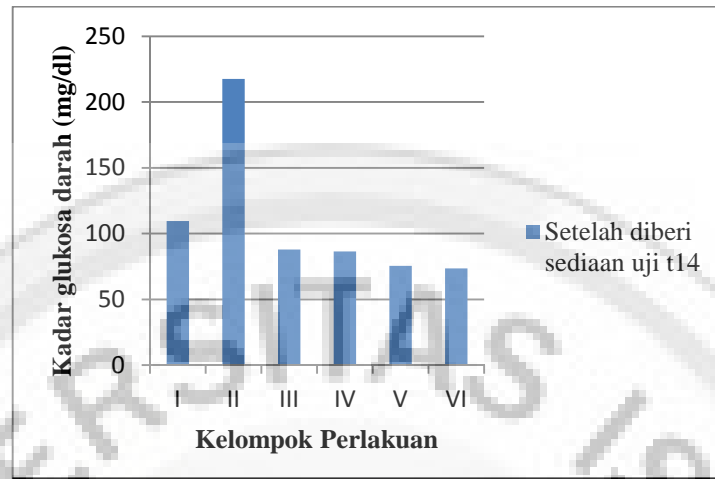
**Keterangan**

- I : Kelompok negatif
- II : Kelompok positif
- III : Ekstrak etanol biji alpukat (uji 1)
- IV : Ekstrak etanol daun alpukat (uji 2)
- V : Kombinasi (uji 3)
- VI : Pembanding

Berdasarkan grafik V.1 dapat dilihat setiap kelompok sebelum induksi dan setelah induksi aloksan terdapat perbedaan kecuali kelompok kontrol negatif, dimana setelah pemberian aloksan terjadi peningkatan kadar glukosa darah yang signifikan. Peningkatan yang paling tinggi terdapat dikelompok pembanding. Untuk grafik setelah diberi sediaan uji dapat dilihat **grafik V.2**



**Gambar V.2 Grafik rata-rata kadar glukosa darah setelah diberi sediaan uji (t14)**



**Keterangan**

- I** : Kelompok negatif
- II** : Kelompok positif
- III** : Ekstrak etanol biji alpukat (uji 1)
- IV** : Ekstrak etanol daun alpukat (uji 2)
- V** : Kombinasi (uji 3)
- VI** : Pembeding

Berdasarkan **grafik V.2** dapat dilihat setelah pemberian sediaan uji dan dirata-ratakan kelompok kontrol positif paling tinggi kadar glukosa darahnya, hal ini dibenarkan karena kontrol positif digunakan sebagai pembeding apakah pemberian induksi aloksan berhasil atau tidak. Pada kelompok uji I dan uji II setelah dilihat dari grafik kadar glukosa darahnya hampir mempunyai nilai rata-rata yang sama. Setelah dilihat dari grafik uji III (kombinasi) dan pembeding (glibenklamid) mempunyai rata-rata kadar glukosa darah yang sama, yaitu hampir mendekati kadar glukosa darahnya. Dapat diartikan bahwa sediaan kombinasi hampir mempunyai efek yang sama dengan pembeding yang digunakan dalam penelitian ini tetapi secara klinis penurunan kadar glukosa darah lebih tinggi pada kelompok pembeding dan sediaan kombinasi lebih baik dibandingkan sediaan

tunggal daun dan biji. Untuk lebih jelasnya penurunan kadar glukosa darah setelah diberi induksi aloksan dan setelah diberi sediaan uji bisa dilihat di tabel V.4. Nilai presentase kesetaraan penurunan kadar glukosa darah sediaan uji terhadap pembanding dihitung menggunakan rumus :

$$\frac{\text{Rata – rata kadar glukosa darah setelah diberi sediaan uji}}{\text{Rata – rata pembanding}} \times 100\%$$

**Tabel V.4 Presentase kadar glukosa darah sediaan uji terhadap Pembanding**

Kelompok	Presentase Glukosa Darah
Ekstrak biji	53,33%
Ekstrak daun	52,33%
Kombinasi	78,80%

Berdasarkan **tabel V.4** dapat dilihat bahwa presentase kesetaraan penurunan kadar glukosa darah uji I, II, dan III terhadap pembanding pada kelompok uji 3 yaitu kombinasi mempunyai penurunan presentase yang lebih tinggi. Sehingga uji III mempunyai efek yang lebih baik dibandingkan dengan sediaan tunggal biji dan daun.

Sebelum dilakukan uji statistik dilakukan terlebih dahulu uji normalitas, hasil statistik menunjukkan terdistribusi normal, untuk lebih jelasnya terlampir di **Lampiran 2**. Hasil menunjukkan bahwa berdasarkan analisa t-dependent diperoleh hasil untuk perlakuan antara sebelum induksi aloksan t0 dan setelah induksi aloksan t7 menunjukkan signifikan, ada perbedaan sebelum induksi aloksan dan setelah induksi aloksan kecuali kelompok negatif karena tidak diberi perlakuan apapun, untuk jelasnya dapat dilihat pada **Lampiran 3**. Analisa statistika menggunakan metode Anova dilanjut dengan Dunnet digunakan untuk melihat perbedaan kelompok pembanding, kontrol positif, kontrol negatif

terhadap sediaan uji. Analisa statistik pembandingan terhadap sediaan uji dengan metode Anova menunjukkan  $\text{sig}.0.250 > 0.05$  tidak signifikan artinya tidak ada perbedaan antara kelompok pembandingan dengan sediaan uji, untuk analisa Dunnet kelompok uji biji, uji daun, dan kombinasi terhadap pembandingan menunjukkan  $p > 0,05$  artinya tidak signifikan. Dapat disimpulkan berdasarkan analisa statistika kelompok pembandingan yang digunakan pada penelitian ini mempunyai efek farmakologi yang hampir sama dengan sediaan uji untuk lebih jelasnya dapat dilihat di **Lampiran 4**. Analisa Anova kelompok kontrol positif terhadap sediaan uji menunjukkan  $\text{sig}.0.000 < 0.05$  signifikan artinya ada perbedaan antara kelompok kontrol positif dengan sediaan uji, untuk analisa Dunnet uji biji, uji daun, dan kombinasi terhadap kontrol positif menunjukkan  $p < 0,05$  artinya signifikan ada perbedaan antara kelompok kontrol positif dengan sediaan uji, lebih jelasnya dapat dilihat pada **Lampiran 4**. Analisa Anova kontrol negatif terhadap sediaan uji menunjukkan  $\text{sig} 0.001 < 0.05$  signifikan, artinya ada perbedaan antara kelompok kontrol negatif dengan sediaan uji, untuk analisa Dunnet uji biji, uji daun dan kombinasi terhadap kontrol negatif menunjukkan  $p < 0,05$  artinya ada perbedaan kontrol negatif terhadap sediaan uji.. Agar lebih jelas hasilnya dapat dilihat pada **Lampiran 4**. Analisa statistika Anova dilanjut dengan Tukey digunakan untuk melihat perbedaan antar kelompok sediaan biji, daun, dan kombinasi. Analisa Anova menunjukkan antara kelompok uji biji, daun, dan kombinasi menunjukkan  $\text{sig}.0.025 < 0.05$  signifikan artinya ada perbedaan antara kelompok biji, daun, dan kombinasi. Untuk analisa Tukey kelompok uji biji dengan uji daun menunjukkan  $\text{sig}.0.940 > 0.05$  tidak signifikan artinya tidak ada perbedaan antara kelompok uji

biji dan uji daun. Kelompok uji daun dan uji kombinasi menunjukkan  $\text{sig.}0.058 > 0.05$  tidak signifikan artinya tidak ada perbedaan antara kelompok uji daun dan uji kombinasi. Kelompok uji biji dan uji kombinasi menunjukkan  $\text{sig.}0.032 < 0.05$  signifikan artinya ada perbedaan antara uji biji dan uji kombinasi. Untuk lebih jelas hasilnya dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

