

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Pengumpulan Tanaman

Pada penelitian ini digunakan daun mangga arumanis (*Mangifera indica* L. “arumanis”) yang diperoleh dari perkebunan di Indramayu, sebanyak 2,3 kg daun mangga. Dipilih tanaman tersebut karena mudah diperoleh serta memiliki berbagai manfaat untuk kesehatan. Bagian tanaman yang digunakan adalah daunnya karena bagian ini relatif lebih mudah diperoleh, selain itu pada bagian daun ini memiliki kandungan kimia yang memiliki aktivitas farmakologi yang baik. Pada tahap awal dilakukan determinasi tanaman yang dilakukan di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung, yang bertujuan untuk memastikan bahwa tanaman tersebut benar tanaman daun mangga arumanis, sehingga dapat diketahui kebenaran identitas botani simplisia yang digunakan dalam penelitian. Dari hasil determinasi yang diperoleh, menyatakan bahwa benar tanaman yang digunakan adalah tanaman mangga arumanis (*Mangifera indica* L. “arumanis”) yang termasuk famili Anacardiaceae. Hasil determinasi dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

5.2. Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia daun mangga tersebut dibersihkan dengan cara dicuci kemudian disortasi basah dan dikeringkan pada oven dengan suhu 50°-60°C. Pengeringan tersebut bertujuan untuk mengurangi kadar air, sehingga proses

pembusukan dapat terhambat dan mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga 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 penggilingan. 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 daun mangga 2,3 kg berat daun mangga segar menghasilkan berat kering sebanyak 2,05 kg simplisia yang 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). Ekstraksi simplisia dilakukan dengan ekstraksi sinambung dengan alat soxhlet. Metode ini dipilih karena lebih efektif dan efisien dibanding metode lain. proses penarikan senyawanya yang maksimal karena serbuk simplisia disari oleh cairan penyari yang murni sehingga dapat menyari zat aktif lebih banyak. Penyarian dapat

diteruskan sesuai dengan keperluan tanpa menambah volume cairan penyari. Cairan penyari yang diperlukan lebih sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat.

Simplisia dari daun mangga sebanyak 100 gram diekstraksi dengan pelarut etanol 95% sebanyak 600 mL. Etanol 95% digunakan sebagai pelarut karena dapat bersifat semipolar sehingga dapat menarik senyawa yang diinginkan yaitu flavonoid. Selain itu etanol dengan kadar diatas 20% dapat menghambat pertumbuhan kapang dan bakteri. Ekstraksi dilakukan sekitar 11-12 jam hingga cairan tidak berwarna. Kemudian ekstrak cair yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 50°C, dimana merupakan suhu dibawah titik didih etanol yang bertujuan agar pemanasan dibawah titik didih pelarut dapat melindungi senyawa yang terkandung dalam pelarut. Penguapan kemudian dilanjutkan dengan menggunakan penangas air hingga diperoleh ekstrak kental. Didapat ekstrak kental 93,162 gram dengan rendemen ekstrak 13,309%. Perhitungan rendemen ekstrak tersebut dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

5.4. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Awal Simplisia dan Ekstrak

Pemeriksaan karakteristik awal simplisia dan ekstrak meliputi parameter spesifik dan parameter non spesifik. Penentuan parameter non spesifik meliputi bobot jenis dan kadar air. Parameter bobot jenis bertujuan untuk memberikan batasan tentang besarnya massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair hingga ekstrak kental yang masih dapat dihitung dan juga berkaitan dengan kontaminasi dan kemurnian ekstrak (Depkes RI, 2000). Bobot

jenis yang diperoleh dari ekstrak daun mangga adalah 1,052. Perhitungan parameter bobot jenis ekstrak daun mangga dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

Parameter kadar air dilakukan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air dalam bahan (Depkes RI, 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 mangga diperoleh sebesar 7,6%, dimana batasan kadar air simplisia yang digunakan dalam sediaan obat yaitu kurang dari 10%. Sehingga simplisia daun mangga ini memenuhi persyaratan untuk digunakan dalam sediaan pada penelitian ini. Perhitungan kadar air tersebut dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

Tabel V.1 Hasil parameter non spesifik (daun mangga)

Parameter Non Spesifik	Daun Mangga
Bobot Jenis	1,052
Kadar Air	7,6%

Selanjutnya dilakukan penentuan parameter spesifik yang meliputi kadar sari larut air dan larut etanol. Pemeriksaan kadar sari dilakukan untuk mengetahui jumlah zat dalam simplisia yang dapat terekstraksi dalam pelarut tertentu (Depkes RI, 2000). Pemeriksaan kadar sari larut air bertujuan untuk mengetahui jumlah zat yang terkandung dalam simplisia yang dapat larut dalam air, sedangkan pemeriksaan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui jumlah zat yang terkandung dalam simplisia yang dapat larut dalam etanol. Dari penelitian diperoleh, nilai kadar sari larut etanol lebih besar dari pada nilai kadar sari larut

air. Hal ini menunjukkan bahwa zat yang terlarut dalam etanol lebih besar dari pada zat yang terlarut dalam air. Perhitungan kadar sari tersebut dapat dilihat pada

Lampiran 5.

Tabel V.2 Hasil parameter spesifik (daun mangga)

Parameter Spesifik	Daun Mangga
Kadar Sari Larut Air	15,155%
Kadar Sari Larut Etanol	19,545%

5.5. Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak

Penapisan fitokimia ini dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam simplisia dan ekstrak tersebut dimana dapat dijadikan sebagai parameter mutu yang erat kaitannya dengan efek farmakologis. Hasil penapisan fitokimia tersebut dapat dilihat pada **Tabel V.3**.

Tabel V.3 Hasil penapisan fitokimia (daun mangga)

Golongan Senyawa	Identifikasi	
	Simplisia	Ekstrak
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	-	-
Tanin	+	+
Kuinon	+	+
Steroid dan Triterpenoid	+	+
Polifenol	+	+
Monoterpen dan Sesquiterpen	+	+

Keterangan:

(+) = terdeteksi

(-) = tidak terdeteksi

Berdasarkan literatur (Morsi dkk, 2010) diketahui bahwa daun mangga mengandung tanin, fenol dan flavonoid. Ternyata dilihat dari hasilnya

menunjukkan bahwa baik simplisia maupun ekstrak daun mangga positif mengandung tanin, fenol dan flavonoid.

5.6. Pengujian Aktivitas Antidiabetes

Pada penelitian ini digunakan hewan uji yaitu mencit *Swiss Webster* jantan. Dipilihnya hewan mencit dalam pengujian karena mencit mempunyai kemampuan dan keunggulan sebagai objek penelitian, karena mudah diberi perlakuan, mudah diternakkan, mudah didapat dan harganya relatif murah. Digunakannya mencit galur *Swiss Webster* karena merupakan mencit SPF (*Specific Pathogen Free*) yang artinya mencit tersebut sudah memenuhi persyaratan bebas dari penyakit yang dapat ditularkan pada manusia. Pemilihan jenis kelamin jantan lebih didasarkan pada pertimbangan bahwa mencit jantan tidak memiliki hormon estrogen, apabila ada hanya dalam jumlah yang relatif sedikit serta kondisi hormonal pada jantan lebih stabil jika dibandingkan dengan mencit betina, karena pada mencit betina mengalami perubahan kondisi hormonal pada masa-masa tertentu seperti masa siklus estrus, masa kehamilan dan menyusui yang dapat mempengaruhi kondisi psikologis hewan uji tersebut. Selain itu tingkat stress pada mencit betina lebih tinggi dibandingkan dengan mencit jantan yang mungkin dapat mengganggu pada saat pengujian. Mencit yang akan diuji diaklimasi terlebih dahulu selama 1 minggu untuk menyesuaikan diri terhadap lingkungan karena dikhawatirkan mencit tersebut akan stres akibat lingkungan yang berbeda dan mempengaruhi pengukuran kadar glukosa darah.

Dalam pengujian aktivitas antidiabetes dilakukan dengan menggunakan metode Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO). Metode ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan kelompok uji dalam mengembalikan ke keadaan homeostasis setelah kadar glukosa darah meningkat. Penelitian aktivitas antidiabetes dari ekstrak etanol daun mangga telah dilakukan pada 30 ekor mencit yang dikelompokkan menjadi 6 kelompok secara acak dan setiap kelompok terdiri atas 5 ekor mencit. Sebelum diberi perlakuan mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam dengan tujuan untuk mendapatkan kadar glukosa darah puasa, sehingga bisa terlihat apakah mencit yang digunakan memiliki kadar glukosa yang normal atau tidak. Peningkatan kadar glukosa darah bisa disebabkan dari makanan yang banyak mengandung gula.

Pada kelompok I merupakan kelompok kontrol negatif (tidak diinduksi, diberi aquadest), kelompok II merupakan kelompok kontrol positif (diinduksi diabetes, diberi suspensi CMC 0.5% b/v), kelompok III merupakan kelompok pembanding (diinduksi diabetes, diberi suspensi glibenklamid 1,3 mg/kg BB) secara peroral, kelompok IV merupakan kelompok yaitu uji I (diinduksi diabetes, diberi ekstrak daun mangga 2,1 mg/20g BB), kelompok V merupakan uji II (diinduksi diabetes, diberi ekstrak daun mangga 4,2 mg/20g BB), dan kelompok VI merupakan uji III (diinduksi diabetes, diberi ekstrak daun mangga 8,4 mg/20g BB). Dosis ini ditetapkan berdasarkan dosis dari penelitian sebelumnya yang telah dikonversikan ke mencit.

Hewan uji yang telah dikelompokkan secara acak diambil cuplikan darahnya (T_0) untuk penentuan kadar glukosa darah awal. Kemudian semua kelompok

perlakuan diberi sediaan uji (pembawa, pembanding, atau ekstrak uji) secara oral sesuai kelompoknya. Setelah 30 menit kemudian, semua kelompok perlakuan kecuali kontrol negatif diinduksi larutan glukosa 3,9 g/kg BB mencit secara oral. Pemberian glukosa secara oral atau intraperitoneal dapat memicu kenaikan insulin plasma yang lebih besar dibandingkan dengan pemberian secara intravena, hal ini dipengaruhi oleh adanya hormon-hormon pencernaan dalam metabolisme glukosa. Kemudian pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada menit 30, 60, 90, 120, 150, dan 180 setelah pemberian larutan glukosa menggunakan alat glukometer (EasyTouch® GCU). Pengujian dilakukan selama 3 jam dengan tujuan untuk mengetahui dan melihat efek penurunan kadar glukosa darah dengan selang waktu 30 menit, diharapkan absorpsi glukosa darah ke dalam jaringan dapat teramati dengan baik. Data yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan ANOVA dengan uji lanjutan LSD untuk menentukan kelompok mana yang memberikan nilai berbeda secara bermakna dengan kelompok lain.

Tabel V.4 Hasil rata-rata pengukuran kadar glukosa darah

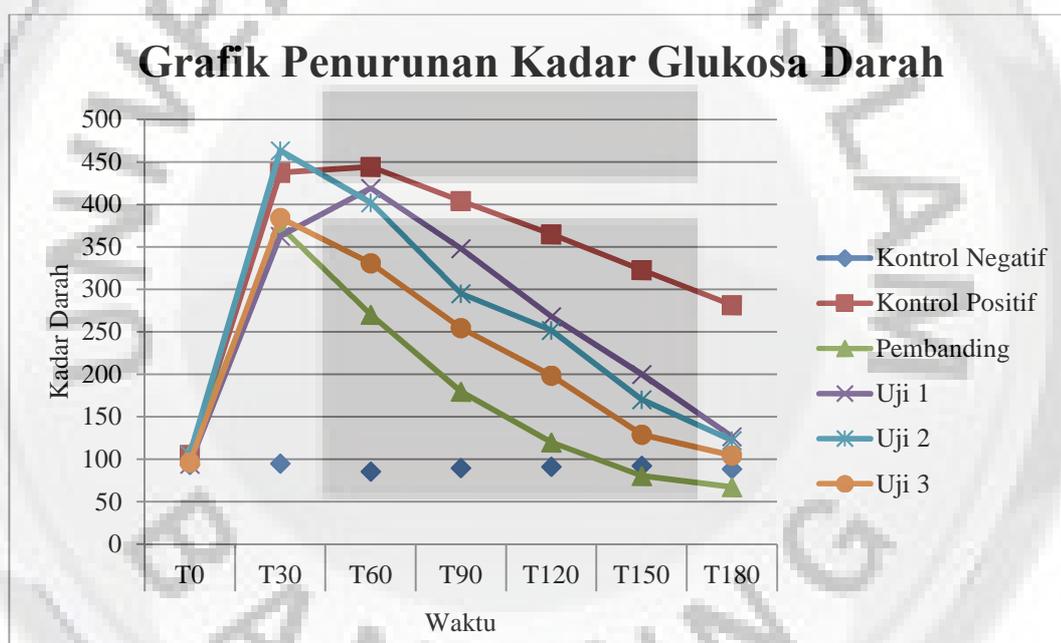
Kelompok	Rata-rata kadar glukosa						
	T0	T30	T60	T90	T120	T150	T180
Kontrol Negatif	93,40 ± 12,137	95,00 ± 14,142*	85,80 ± 5,167*	90,00 ± 11,000*	91,20 ± 11,212*	92,60 ± 9,209*	88,60 ± 14,571
Kontrol Positif	105,2 ± 28,839	437,40 ± 142,297	444,40 ± 99,390	404,00 ± 91,332	364,80 ± 80,217	322,80 ± 84,801	281,40 ± 103,742
Pembanding	106,60 ± 11,327	374,00 ± 111,095	270,20 ± 142,784*	179,60 ± 86,867*	119,80 ± 38,797*	80,60 ± 10,738*	67,20 ± 4,764
Uji 1	94,20 ± 4,324	362,60 ± 104,982	419,00 ± 171,228	348,20 ± 148,650	267,80 ± 129,575	200,00 ± 78,195*	126,60 ± 41,819
Uji 2	105,20 ± 13,918	463,40 ± 125,568	402,20 ± 101,206	295,00 ± 93,808	252,00 ± 93,960*	170,20 ± 52,561*	122,00 ± 23,875
Uji 3	96,20 ± 12,194	384,00 ± 125,425	330,80 ± 102,519	254,60 ± 72,335*	198,60 ± 69,400*	128,80 ± 31,324*	104,40 ± 17,544

Keterangan:

* Berbeda bermakna terhadap kontrol positif ($p < 0,05$)

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat bahwa pada T0 untuk semua kelompok memiliki kadar glukosa darah < 176 mg/dl. Pada T30 untuk semua

kelompok kecuali kontrol negatif mengalami peningkatan kadar glukosa darah yang cukup tinggi yaitu >176 mg/dl. Hasil pengukuran rata-rata glukosa darah mencit sebelum perlakuan (pemberian sediaan) yaitu pada T0 menunjukkan tidak berbeda bermakna secara statistik ($P=0,579$) artinya keadaan kadar glukosa darah semua kelompok mencit pada perlakuan awal berada pada kondisi yang sama. Hal ini juga dibuktikan dengan perolehan kadar glukosa darah pada T0 yang masuk pada rentang normal yaitu antara 61-132 mg/dl.



Gambar V.1 Grafik hasil rata-rata pengukuran kadar glukosa darah

Gambar diatas menunjukkan bahwa peningkatan kadar glukosa darah maksimal dicapai pada T30. Pada kelompok uji 2 terjadi peningkatan kadar glukosa darah yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok lain. Peningkatan kadar glukosa darah dapat memicu pelepasan insulin oleh sel beta pankreas untuk menjaga homeostasis tubuh dengan cara merubah glukosa menjadi glikogen. Kemudian terjadi penurunan kadar glukosa darah pada T60, T90, T120,

T150 dan T180, kecuali pada kontrol positif kadar glukosa darah turun pada T90. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi eliminasi glukosa pada hewan percobaan akibat pengaruh dari pemberian sediaan uji. Pembanding yang digunakan adalah glibenklamid. Pemilihan pembanding ini didasarkan pada kesamaan mekanisme kerja dengan sediaan uji (ekstrak daun mangga) yaitu merangsang sekresi hormon insulin dari granula sel-sel β Langerhans pankreas.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa glibenklamid mampu menurunkan kadar glukosa darah pada menit 60, 90, 120, 150 dan kadar glukosa darah kembali normal pada menit ke 180. Secara statistik juga adanya perbedaan signifikan antara pembanding dengan kontrol positif yang ditunjukkan pada menit ke 60, 90, 120, 150 dan 180 dengan persen kepercayaan 95%. Hal ini menunjukkan bahwa pembanding yang digunakan menimbulkan efek dalam menurunkan kadar glukosa darah, sekaligus juga menunjukkan bahwa metode tersebut valid dan prosedur yang dilakukan telah dikerjakan dengan benar.

Pada penentuan pengaruh ekstrak daun mangga dengan dosis 2,1 mg/20g BB mencit, 4,2 mg/20g BB mencit dan 8,4 mg/20g BB mencit terhadap penurunan kadar glukosa darah menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna antara kelompok uji dengan kelompok kontrol positif pada menit ke 60. Namun menurut hasil uji LSD ($P = 0,05$) menunjukkan bahwa pada menit ke 90, 120, 150, dan 180 terjadi perbedaan bermakna antara kelompok uji dengan kelompok kontrol positif ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun mangga berada dalam keadaan maksimal dalam plasma darah pada menit ke 90

dan memiliki efek dalam menurunkan kadar glukosa darah ke keadaan normal kembali pada menit ke 180.

Jika dilihat dari rata-rata penurunan kadar glukosa darah pada kelompok uji 2 dan uji 3 menunjukkan bahwa pada menit ke 60 sediaan sudah dapat menurunkan kadar glukosa darah lebih besar jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, sedangkan pada kelompok uji 1 sediaan baru dapat menurunkan kadar glukosa darah pada menit ke 90. Hal ini membuktikan bahwa masing - masing kelompok uji memiliki efek dalam menurunkan kadar glukosa darah jika dibandingkan dengan kontrol positif.

Dari ketiga sediaan uji yang dapat menurunkan kadar glukosa darah lebih besar adalah uji 3 dengan dosis 8,4 mg/20g BB mencit. Hal ini dapat terlihat dari hasil rata-rata penurunan kadar glukosa darah dimana uji 3 mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga 104,4 mg/dl dibandingkan dengan uji 1 dan uji 2 yang hanya dapat menurunkan kadar glukosa darah hingga 126,6 mg/dl dan 122 mg/dl. Hal ini dapat membuktikan bahwa dosis efektif daun mangga dalam menurunkan kadar glukosa darah adalah uji 3 dengan dosis 8,4 mg/20g BB mencit. Hal ini juga membuktikan bahwa dengan adanya peningkatan dosis maka akan berpengaruh pula pada peningkatan efek antidiabetes yang dihasilkan. Jika dosis 8,4 mg/20g BB mencit dibandingkan dengan pembanding glibenklamid menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna, hal ini dapat dilihat dari nilai ($P > 0,05$). Sehingga antara pembanding glibenklamid dengan ekstrak daun mangga menunjukkan tidak adanya perbedaan dalam menurunkan kadar glukosa darah.