

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Gula Darah

Gula darah atau glukosa darah merupakan jenis karbohidrat penting golongan monosakarida yang dimanfaatkan oleh tubuh sebagai sumber energi utama. Semua jenis sel dalam tubuh manusia memerlukan glukosa untuk memperoleh energi. Glukosa yang ada di dalam tubuh berperan penting sebagai prekursor untuk sintesis semua jenis karbohidrat lain seperti glikogen, ribosa, deoksiribosa, dan galaktosa (Putra dkk., 2015).

Konsumsi pangan sumber karbohidrat akan mempengaruhi pasokan gula darah dalam tubuh. Proses pencernaan karbohidrat yang masuk ke dalam tubuh akan dimulai di mulut oleh bantuan enzim amilase, berlanjut ke lambung dan usus oleh bantuan enzim sukrase, maltase, dan laktase, hingga akhirnya diserap oleh usus halus. Selanjutnya glukosa akan masuk ke dalam pembuluh darah untuk diedarkan ke seluruh tubuh sesuai kebutuhan, terutama sebagai pemasok energi (Tejasari, 2023).

Kadar gula darah merupakan banyak sedikitnya glukosa yang terkandung dalam darah. Hal ini sangat berkaitan erat dengan konsumsi pasokan gula yang masuk ke dalam tubuh. Jika pasokan gula sedikit, maka kadar gula darah akan rendah sehingga mengakibatkan kondisi tubuh menjadi lemas dan merangsang tubuh untuk menyampaikan sinyal lapar. Apabila pasokan gula dalam tubuh kurang atau bahkan tidak ada, maka hati akan melepas glikogen sebagai sumber energi (Lingga, 2012).

Kondisi tubuh untuk dapat mempertahankan kadar gula darah tetap seimbang disebut dengan homeostasis glukosa. Dalam kondisi yang normal, kadar gula darah dipertahankan pada rentang 80-100 mg/dl bagi orang dewasa dan rentang 80-90 mg/dl bagi anak-anak. Selanjutnya, kadar gula darah akan meningkat beberapa saat setelah makan (Lingga, 2012). Ketika tubuh mendapatkan pasokan makanan yang mengandung gula, maka akan dicerna dan diabsorpsi dalam duodenum dan jejunum proksimal. Setelah proses absorpsi tersebut selesai, pada umumnya akan terjadi peningkatan kadar gula darah untuk sementara waktu dan akhirnya kembali pada kadar semula (Putra dkk., 2015).

Keseimbangan kadar gula darah dalam tubuh dijaga oleh mekanisme kerja 2 jenis hormon metabolik yang dihasilkan oleh pankreas, yaitu insulin dan glukagon. Pada kondisi glukosa dalam darah tinggi (hiperglikemia), pankreas akan mensekresikan hormon insulin untuk memicu reaksi glikogenesis sehingga tubuh mampu menyimpan glukosa dalam bentuk glikogen. Sebaliknya, pada kondisi glukosa dalam darah rendah (hipoglikemia), maka pankreas akan menghasilkan hormon glukagon untuk memicu reaksi glikogenolisis, sehingga glikogen yang tersimpan di hati dapat dimanfaatkan kembali oleh tubuh menjadi glukosa (Tejasari, 2023).

B. Hiperglikemia

Hiperglikemia merupakan kondisi tubuh mengalami peningkatan kadar gula darah melebihi batas normal. Hiperglikemia puasa terjadi ketika kadar gula darah melebihi 130 mg/dl setelah puasa minimal 8 jam, sedangkan hiperglikemia

postprandial terjadi ketika kadar gula darah melebihi 180 mg/dl setelah makan. Berdasarkan pedoman *American Diabetes Association*, seseorang dikatakan dalam kondisi hiperglikemia apabila memiliki kadar gula darah antara 100-126 mg/dl (Sunarti, 2021).

Hiperglikemia dapat disebabkan oleh abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Hal ini dapat terjadi akibat adanya penurunan sekresi insulin, kerja insulin pada sel target (resistensi insulin), maupun keduanya. Kondisi hiperglikemia dapat menjadi salah satu tanda khas dari penyakit diabetes melitus (DM) (Azizah dkk., 2019).

Hiperglikemia pada diabetes mampu menyebabkan terjadinya disfungsi dan kegagalan beberapa organ dalam tubuh seperti mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah. Selain itu, hiperglikemia yang tidak terkontrol mampu menyebabkan tubuh mengalami hiperosmolaritas yang memicu proses diuresis osmotik dalam tubuh, sehingga menyebabkan cairan dan elektrolit intra sel akan keluar menuju ekstra sel. Kondisi ini akan menyebabkan tubuh mengalami dehidrasi akibat adanya perpindahan cairan sehingga menyebabkan terjadinya penurunan jumlah dan komposisi cairan pada sel (Susanti dkk., 2021).

Kondisi hiperglikemia mampu memberikan dampak yang buruk bagi tubuh, sebab kadar gula darah yang tinggi dalam tubuh akan meningkatkan radikal bebas di dalam sel. Jika jumlah radikal bebas dalam sel berlebihan, maka dapat bersifat toksik dan memicu terjadinya stres oksidatif sehingga terbentuk *Reactive Oxygen Species* (ROS). Oleh karena itu, para penderita diabetes memerlukan asupan antioksidan dalam jumlah yang lebih besar karena adanya

peningkatan radikal bebas akibat hiperglikemia (Pertiwi dkk., 2021). Adanya stres oksidatif mampu menginduksi apoptosis pada sel β pankreas dan penurunan sekresi insulin, sehingga kadar gula darah dalam tubuh akan tetap tinggi. Sebaliknya, hiperglikemia akan memicu akumulasi ROS sehingga memperparah kondisi stres oksidatif (Sunarti, 2021).

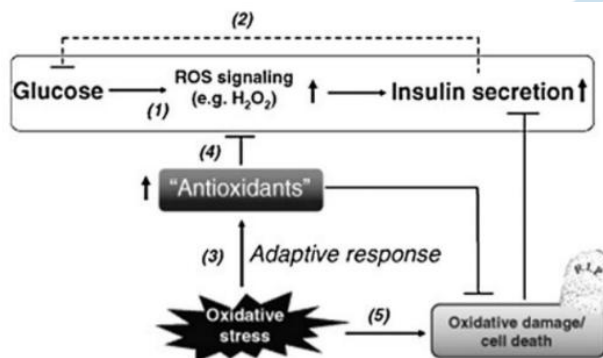
C. Stres Oksidatif

Stres oksidatif merupakan suatu kondisi ketika tubuh mengalami ketidakseimbangan antara radikal bebas (oksidan) dan antiradikal (antioksidan). Ketidakseimbangan ini menyebabkan radikal bebas tidak dapat diatasi lagi oleh tubuh. Hal ini dapat terjadi ketika rata-rata produksi oksigen reaktif (ROS) pada sel jauh melebihi kecepatan pemakaian dan konversi ke produk yang lebih stabil sehingga mampu menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel dan jaringan. Pemicu dari stres oksidatif adalah kurangnya antioksidan dan tingginya kadar radikal bebas dalam tubuh. Apabila sudah terjadi stres oksidatif, maka dapat menyebabkan kerusakan pada sel, jaringan, maupun organ tubuh (Nurkhasanah dkk., 2023).

Kondisi stres oksidatif menyebabkan gangguan di berbagai jalur metabolisme sel yang menunjukkan gambaran klinis dari kondisi diabetes. Produksi radikal bebas pada penderita diabetes melitus disebabkan karena adanya proses autooksidasi glukosa melebihi kemampuan antioksidan intrasel untuk menetralkannya sehingga hasil akhir yang terjadi dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel. Oleh karena itu, diperlukan senyawa antioksidan untuk

mampu menekan peningkatan produksi radikal bebas tersebut. Senyawa antioksidan, baik alami maupun sintetik, dinilai mampu mengontrol kadar gula darah sehingga mencegah terjadinya komplikasi lebih lanjut pada penyakit diabetes (Widaryanti dkk., 2021).

Kondisi hiperglikemia pada diabetes melitus mampu menginduksi kondisi stres oksidatif sehingga menghambat sekresi insulin pada sel β pankreas melalui aktivasi *uncoupling protein-2* (UCP-2). Selain itu, radikal bebas juga dapat menyebabkan apoptosis dan disfungsi sel β yang menyebabkan terjadinya penurunan insulin. Tingginya gula darah yang menginduksi stres oksidatif pada sel β pankreas ini menunjukkan bahwa produksi insulin secara signifikan akan menurun seiring terpapar kadar gula darah yang tinggi (Kurniawan dkk., 2021). Mekanisme stres oksidatif yang dapat menginduksi apoptosis sel β pankreas dan penurunan produksi insulin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Mekanisme Kerusakan Sel β Pankreas Akibat Stres Oksidatif (Pertwi dan Perdhana, 2023).

Mekanisme yang terbentuk yaitu pada proses metabolisme glukosa akan dihasilkan ROS sehingga kadar gula darah meningkat dan memicu pankreas untuk menghasilkan insulin. Hal ini menyebabkan glukosa dari darah masuk ke

dalam jaringan sehingga kadar glukosa dalam darah menurun. Pada dasarnya, kerusakan akibat radikal bebas dapat diatasi oleh antioksidan endogen (enzimatik) seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathione peroksidase. Apabila pembentukan radikal bebas berlangsung terus menerus, maka tubuh tidak akan mampu lagi melakukan proteksi sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian pada sel β pankreas yang berujung pada timbulnya gangguan respon sekresi insulin terhadap glukosa (Pertiwi dan Perdana, 2023).

D. ROS (*Reactive Oxygen Species*)

Reactive Oxygen Species (ROS) merupakan molekul kecil turunan oksigen sebagai produk intermediet pada proses redoks dan merupakan oksidan yang kuat (Samsu, 2018). ROS umumnya berada pada kadar yang kecil di dalam sel dan memiliki peran dalam proses *signaling* dan homeostasis. Apabila produksi ROS berlebihan dalam tubuh, tetapi tidak diimbangi dengan produksi antioksidan yang memadai, maka akan mengarah ke kondisi stres oksidatif. Hal ini akan berakibat pada patogenesis berbagai macam penyakit (Susilawati, 2021).

Molekul radikal bebas (ROS) memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan sehingga sifatnya sangat tidak stabil dan reaktif. Oleh karena itu, untuk memenuhi kekurangan elektron tersebut, radikal bebas akan menarik elektron dari makromolekul lain seperti lipid, protein, karbohidrat, dan asam nukleat. Hal ini mengakibatkan makromolekul tersebut akan terdegradasi sehingga menyebabkan kerusakan pada sel. Pada kondisi normal, ROS akan

diproduksi oleh makhluk hidup sebagai hasil metabolisme sel, tetapi dalam kondisi berlebihan maka akan menyebabkan kerugian pada komponen sel (Budiarti, 2019). Beberapa contoh ROS yang termasuk radikal bebas yaitu superoksida (O_2^-), hidroksil (HO), peroksil (RO_2^-), hidroperoksil (HRO_2^-), dan spesies nonradikal seperti hidrogen peroksida (H_2O_2) (Kurniawan dkk., 2021).

Sebagian besar ROS dapat dihasilkan dari 2 sumber yaitu endogen dan eksogen. ROS endogen berasal dari hasil metabolisme sel-sel normal, sedangkan ROS eksogen berasal dari luar tubuh seperti asap rokok, paparan ozon, hiperoksida, radiasi, dan ion logam berat (Akmalia dkk., 2020). Ada kalanya radikal bebas memiliki fungsi yang sangat penting bagi tubuh, yaitu untuk menjaga kesehatan tubuh ataupun membunuh bakteri. Namun, apabila jumlahnya melebihi kapasitas dari antioksidan di dalam sel, maka radikal bebas dapat berbalik untuk menyerang sel itu sendiri (Nurkhasanah dkk., 2023).

Kerusakan sel akibat paparan radikal bebas dapat terjadi melalui beberapa mekanisme. Pertama, radikal bebas mampu menyebabkan peroksidasi komponen lipid dari membran sel sehingga menyebabkan kerusakan pada membran dan organel sel. Kedua, radikal bebas dapat menyebabkan terjadinya mutasi pada DNA sehingga menimbulkan kematian sel. Ketiga, radikal bebas mampu berikatan dengan protein sehingga menyebabkan terbentuknya modifikasi protein teroksidasi. Kerusakan sel akibat aktivitas radikal bebas ini dapat menyebabkan timbulnya berbagai jenis penyakit degeneratif, salah satunya adalah diabetes (Pertiwi dan Perdhana, 2023).

E. Diabetes Melitus

Diabetes melitus merupakan penyakit kronis yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah melebihi batas normal (hiperglikemia). Hal ini dapat disebabkan karena adanya kelainan sekresi insulin, kerja insulin, ataupun gabungan keduanya (Anungputri dkk., 2023). Menurut data dari *International Diabetes Federation* (IDF) menunjukkan bahwa penderita diabetes melitus tidak menyadari bahwa dirinya menderita diabetes dan baru sadar ketika kondisi penyakit tersebut sudah berjalan lama dengan komplikasi yang terlihat jelas (Lestari dkk., 2021).

Penyakit diabetes melitus dapat dilihat berdasarkan beberapa gejala, diantaranya yaitu sering buang air kecil (poliuri), cepat merasa lapar (polifagi), sering merasa haus (polidipsi), dan berat badan yang menurun (Riamah, 2022). Kadar gula darah yang tinggi pada penderita diabetes melitus akan dikeluarkan melalui urin. Tubuh akan menyerap air sebanyak mungkin ke dalam urin untuk menurunkan konsentrasi urin yang dikeluarkan, sehingga produksi urin yang dihasilkan juga jauh lebih banyak. Kondisi ini mengakibatkan tubuh mengalami dehidrasi. Untuk mengatasi hal tersebut, maka tubuh akan memberikan sinyal rasa haus sehingga penderita diabetes melitus selalu merasa ingin minum air (Lestari dkk., 2021).

Penderita diabetes mengalami nafsu makan yang meningkat dikarenakan insulin yang bermasalah, sehingga kekurangan pasokan gula ke dalam sel-sel tubuh. Sel tubuh akan mengalami kondisi miskin gula sehingga otak memberikan sinyal rasa lapar untuk meningkatkan asupan makanan ke dalam

tubuh. Penderita diabetes juga mengalami penurunan berat badan karena tubuh sudah tidak mampu lagi menemukan energi yang cukup dari gula akibat kekurangan insulin. Oleh karena itu, tubuh akan menggunakan lemak dan protein yang ada untuk dipakai sebagai sumber energi (Lestari dkk., 2021).

Penyakit diabetes melitus dapat dikelompokkan ke dalam 4 kriteria, yaitu diabetes melitus tipe I, tipe II, gestasional, dan tipe lain. Diabetes melitus tipe I (*insulin dependent diabetes*) disebabkan karena kerusakan sel- β pankreas akibat autoimunitas maupun idiopatik sehingga terjadi penurunan produksi hormon insulin yang berfungsi untuk mengendalikan kadar gula darah. Akibatnya gula akan menumpuk dalam peredaran darah karena tidak dapat diserap ke dalam sel (Tandra, 2017).

Diabetes melitus tipe II (*non-insulin dependent diabetes*) disebabkan karena adanya resistensi atau defisiensi insulin. Diabetes ini terjadi ketika tubuh masih menghasilkan insulin tetapi tidak cukup dalam pemenuhannya atau karena tubuh sudah tidak peka atau resisten terhadap insulin, sehingga kerja dari hormon insulin sudah tidak optimal lagi dan mengakibatkan kadar gula darah tetap tinggi. Diabetes tipe ini umumnya terjadi pada pasien dalam kondisi badan gemuk dan mengalami obesitas (Tandra, 2017).

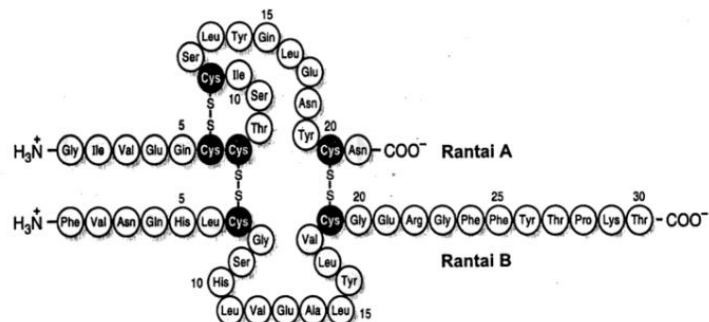
Diabetes melitus gestasional biasanya terjadi saat masa kehamilan yang disebabkan oleh pembentukan hormon wanita hamil yang menyebabkan terjadinya resistensi insulin. Biasanya setelah persalinan, kondisi kadar gula darah penderita diabetes tipe ini akan segera kembali normal. Diabetes melitus tipe lain dapat disebabkan karena kelainan genetik sel- β pankreas hingga

gangguan genetik atau akibat dari penyakit lain yang mempengaruhi kerja insulin (Tandra, 2017).

Kondisi hiperglikemia yang dialami oleh penderita diabetes cenderung menimbulkan efek buruk bagi kesehatan tubuh karena kadar glukosa darah yang tinggi mampu memicu pembentukan radikal bebas (Azizah dkk., 2019). Peningkatan jumlah radikal bebas dibandingkan jumlah antioksidan akan memicu terjadinya stres oksidatif sehingga menyebabkan kerusakan sel- β pankreas pada penderita diabetes (Aleydaputri dan Kuswanti, 2022). Kerusakan sel- β pankreas akan menyebabkan terhambatnya produksi hormon insulin yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah (Suarsana dkk., 2010).

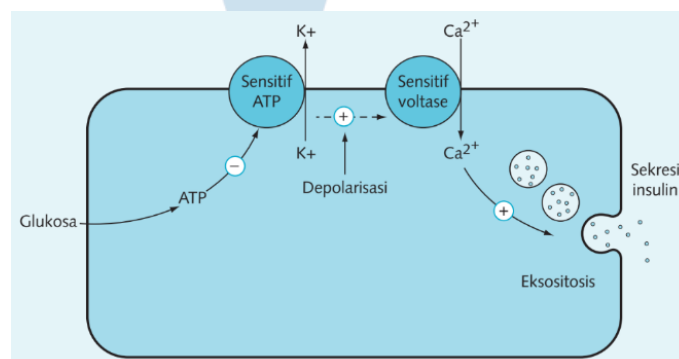
F. Insulin

Insulin merupakan hormon yang diproduksi oleh pankreas dan berfungsi untuk mengontrol jumlah glukosa dalam sirkulasi darah melalui penggunaan dan penyimpanan glukosa. Insulin disintesis oleh sel-sel β yang ada di pulau Langerhans pankreas (Hardianto, 2020). Insulin termasuk ke dalam salah satu hormon golongan polipeptida yang terdiri dari 51 rantai asam amino dalam bentuk molekul prekursor (proinsulin) dari produk gen insulin yang lebih besar (preproinsulin). Struktur proinsulin terdiri dari 2 rantai polipeptida, yaitu rantai A yang mengandung 21 asam amino serta rantai B yang mengandung 30 asam amino dan kedua rantai ini akan dihubungkan dengan jembatan disulfida (Shahab, 2017). Struktur prekursor insulin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Prekursor Insulin (Shahab, 2017).

Tubuh mensekresikan insulin akibat adanya rangsangan kadar glukosa dalam darah. Glukosa dan metabolit lain seperti asam amino dan trigliserida akan berdifusi ke dalam sel β pankreas, sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan produksi ATP. Kadar ATP yang tinggi akan menghambat kanal kalium (K^+) yang ada di membran sel β , sehingga menyebabkan terjadinya depolarisasi sel β . Kondisi ini menyebabkan saluran kalsium *voltage-sensitive* terbuka sehingga ion Ca^{2+} akan masuk dan terjadi peningkatan kalsium intraseluler yang menyebabkan terjadinya peningkatan produksi insulin oleh tubuh (Rudijanto dan Rosandi, 2019). Mekanisme sekresi insulin oleh glukosa dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Mekanisme Stimulasi Intraseluler Sekresi Insulin oleh Glukosa (Rudijanto dan Rosandi, 2019).

Target utama dari kerja insulin adalah sel-sel hati, otot, serta jaringan lemak yang merupakan organ utama penyimpanan energi. Prinsip kerja dari insulin pada sel target terjadi melalui 2 mekanisme. Pertama, insulin memiliki efek terhadap transpor zat-zat nutrisi dengan meningkatkan transpor glukosa, asam amino, dan asam lemak ke dalam sel. Kedua, insulin memodulasi jalur metabolisme sehingga mampu meningkatkan sintesis glikogen, protein, dan lemak (Shahab, 2017).

Insulin memiliki efek anabolik menyebabkan pembentukan molekul yang lebih besar. Beberapa efek utama dari kerja insulin yaitu insulin akan menstimulasi sintesis glikogen dalam otot rangka, hati, dan jaringan lemak dengan cara meningkatkan kerja enzim glikogen sintase dan menurunkan kerja enzim glikogen fosforilase. Insulin juga meningkatkan fosforilasi glukosa hati dan menurunkan defosforilasi glukosa. Selain itu, insulin juga akan meningkatkan proses metabolisme glukosa pada jalur glikolisis bersamaan dengan penurunan glukoneogenesis di hati (Shahab, 2017).

Insulin dapat dijadikan terapi utama bagi penderita diabetes melitus tipe I, tetapi juga diperlukan untuk beberapa penderita diabetes melitus tipe II. Insulin termasuk ke dalam protein sehingga mudah mengalami degradasi dalam saluran pencernaan apabila diberikan secara per oral. Oleh karena itu, biasanya insulin dapat diberikan secara intravena ataupun intramuskular, sesuai dengan indikasi penderita (Setiawan, 2021).

G. Tanaman Berenuk (*Crescentia cujete*)

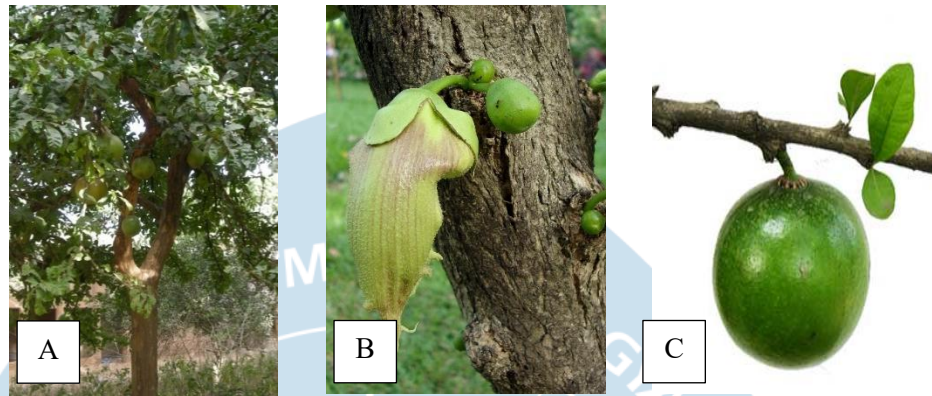
Berenuk (*Crescentia cujete* L.) atau dalam bahasa Inggris disebut *calabash tree* merupakan tanaman jenis dikotil berbunga yang dapat ditemukan di Indonesia, khususnya di Jawa Tengah dan Jawa Timur. Di Indonesia sendiri, tanaman ini sering disebut sebagai tanaman majapahit. Tanaman berenuk hidup dengan baik di dataran yang lembab pada wilayah sub-tropis/tropis, yakni pada ketinggian 0-1.800 mdpl (Yudiyanto dkk., 2021).

Tanaman berenuk merupakan tanaman yang berasal dari Amerika Utara, Karibia, Amerika Tengah, dan Amerika Selatan. Secara etimologi, nama genus *Crescentia* berasal dari nama Pietro Crescenti, seorang biarawan Italia dan juga penulis buku. Nama spesies *cujete* berasal dari nama daerah Brazil untuk menyebut labu tanaman tersebut (Stuart, 2023). Menurut Yudiyanto dkk. (2021), klasifikasi dari tanaman berenuk adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Bangsa : Bignoniales
 Suku : Bignoniaceae
 Marga : *Crescentia*
 Jenis : *Crescentia cujete* L.

Tanaman berenuk memiliki morfologi yaitu berakar tunggang, daun tunggal berbentuk bulat telur memanjang terbalik dengan ujung meruncing, batangnya berkayu dengan kulit beralur dan tidak berduri, serta berbunga tunggal. Tanaman ini memiliki cabang yang banyak dan melengkung dengan tinggi sekitar 4-5 meter. Buahnya berbentuk bulat bundar dengan diameter bisa mencapai 15-20 cm, berwarna hijau, halus, dan kulitnya keras. Pada bagian

daging buahnya terdapat biji berukuran kecil, pipih, dan berbentuk menyerupai hati (Atmodjo, 2019). Tanaman berenuk dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pohon Berenuk (A), Bunga Berenuk (B), dan Buah Berenuk (C) (Fern, 2014).

Tanaman berenuk sering dianggap sebagai tanaman yang beracun dan berbahaya, terutama ketika melihat bagian dalam buahnya yang hitam. Daging buah berenuk umumnya berwarna putih atau hitam, lengket, dan berbau kurang sedap. Hal inilah yang menyebabkan tanaman berenuk belum dimanfaatkan dengan baik oleh masyarakat, bahkan tanaman ini sering ditebang sehingga terancam punah (Atmodjo, 2019).

Beberapa publikasi menyebutkan bahwa biji dan daging buah berenuk beracun dan tidak dapat dimakan oleh manusia. Penelitian lain menunjukkan adanya kandungan hidrogen sianida (HCN) dengan nilai rata-rata sebesar 0,11 ppm pada sampel buah berenuk sehingga apabila dikonsumsi secara terus-menerus dapat menyebabkan keracunan (Stuart, 2023). Bagian daging buah berenuk dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Daging Buah Berenuk (Stuart, 2023).

Bagian tanaman berenuk yang paling sering dimanfaatkan adalah buah, kulit kayu, dan daun. Di India, bubur dari daging buah berenuk dijadikan obat oles dan sirup dari daging buahnya digunakan untuk obat disentri. Di Vietnam, daun berenuk dijadikan obat diuretik dan penurun tekanan darah, rebusan buahnya digunakan untuk mengobati diare, sakit perut, batuk, dan asma, lalu rebusan kulit kayunya digunakan untuk membersihkan luka. Di Filipina, tanaman berenuk merupakan tanaman yang populer untuk minuman kesehatan. Selain bagian buah, kulit kayu, dan daunnya, cangkang atau kulit buahnya juga dapat dimanfaatkan sebagai perabot rumah tangga (mangkok, gayung), ataupun dijadikan kerajinan seperti tas, bahkan dapat dijadikan sebagai alat musik (Stuart, 2023).

Di Indonesia, eksplorasi tentang tanaman berenuk masih sangat sedikit, padahal berenuk merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai obat (Krisna dkk., 2022). Berdasarkan penelitian Parvin dkk. (2015), menyatakan bahwa ekstrak daun berenuk berpotensi sebagai obat luka. Penelitian Samaniego dkk. (2018), menyebutkan bahwa sari buah berenuk memiliki potensi sebagai penurun kadar gula darah pada mencit diabetes yang diinduksi aloksan. Penelitian Mangela dkk. (2019), menyebutkan bahwa fraksi daun berenuk berpotensi sebagai obat diabetes. Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak

buah berenuk dapat digunakan sebagai terapi analgesik (Theodhora dkk., 2020) dan sari buah berenuk berpotensi sebagai obat diabetes (Sitanggang, 2022).

Potensi tanaman berenuk sebagai obat tradisional, terutama dalam mengatasi penyakit diabetes tidak terlepas dari kandungan senyawa metabolit sekunder pada bagian daun, kulit batang, maupun daging buah. Bagian daging buah berenuk mengandung senyawa bioaktif seperti saponin, flavonoid, fenol, alkaloid, dan tanin (Ridwanuloh dkk., 2021). Berdasarkan penelitian Mangela dkk. (2019), menyatakan bahwa kandungan flavonoid pada tanaman berenuk mampu bekerja sebagai insulin sekretagog sehingga mampu meminimalisir komplikasi pada penyakit diabetes. Flavonoid dan fenol mampu mencegah efek kerusakan pada sel β pankreas karena memiliki aktivitas antioksidan yang mampu menangkap radikal bebas dan memperbaiki kondisi jaringan yang rusak (Hendrikos dkk., 2014).

H. Sari Buah

Sari buah merupakan cairan jernih atau agak jernih, tidak mengalami proses fermentasi, serta diperoleh melalui hasil pengepresan buah-buahan yang telah matang dan masih segar. Umumnya kenampakan dari produk sari buah terlihat keruh akibat adanya proses ekstraksi dengan teknik menghancurkan daging buah dan air lalu dilanjutkan dengan proses penyaringan. Pengolahan menjadi produk sari buah bertujuan untuk meningkatkan daya simpan dan daya guna dari buah yang dipakai (Khalisa dkk., 2021). Sari buah banyak disukai

masyarakat karena praktis, enak, menyegarkan, dan bermanfaat bagi kesehatan (Ramlah dkk., 2021).

Pada umumnya sari buah dibuat dengan cara menghancurkan daging buah yang kemudian ditekan, selanjutnya disaring dan dilakukan pasteurisasi (jika diperlukan) agar dapat disimpan dalam jangka panjang. Proses pemurnian sari buah dapat dilakukan dengan cara penyaringan, pengendapan atau sentrifugasi dengan kecepatan tinggi sehingga dapat memisahkan sari buah dari serat-seratnya. Apabila sari buah tidak dilakukan pemurnian, maka akan terjadi pengendapan di bagian dasar botol (Apriyanto, 2022). Konsistensi yang cair pada sari buah menyebabkan zat-zat terlarut lebih mudah diserap oleh tubuh. Proses penghancuran daging buah menyebabkan dinding sel selulosa buah akan hancur dan larut sehingga dapat jauh lebih mudah dicerna oleh lambung dan saluran pencernaan (Wirakusumah dan Emma, 2013).

Berdasarkan Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM), menyatakan bahwa sari buah minimal 35% berasal dari buah segar, konsentrat sari buah, dan atau bubuk ekstrak buah. Produk sari buah dinilai baik kualitasnya jika memenuhi beberapa syarat, yaitu memiliki warna, rasa, dan bau yang normal, kandungan etanol tidak lebih dari 0,5%, kandungan karbondioksida tidak lebih dari 0,589%, dan pH minimal 2,5. Persyaratan cemaran logam berat seperti timbal (Pb) maksimal 0,03 mg/kg, arsen (As) maksimal 0,10 mg/kg, merkuri (Hg) maksimal 0,02 mg/kg, dan kadmium (Cd) maksimal 0,03 mg/kg. Persyaratan cemaran mikroba meliputi tidak adanya bakteri *Escherichia coli* dan

Salmonella, Angka Lempeng Total (ALT) maksimal 10^2 koloni/ml, dan Angka Kapang Khamir (AKK) maksimal 10^2 koloni/ml (BPOM RI, 2022).

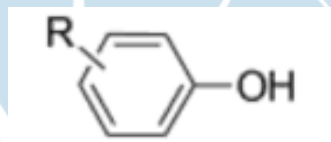
I. Senyawa Fitokimia

Senyawa fitokimia merupakan senyawa golongan metabolit sekunder pada tumbuhan yang dapat bermanfaat bagi kehidupan manusia. Metabolit sekunder umumnya tidak terlibat langsung dalam proses pertumbuhan, perkembangan, dan reproduksi tumbuhan. Namun, metabolit sekunder memiliki fungsi dalam pertahanan diri bagi tumbuhan dari beberapa faktor yang kurang menguntungkan seperti suhu, iklim, hama, dan serangan penyakit. Beberapa contoh senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan terpenoid (Kusbiantoro dan Purwaningrum, 2018).

Adanya kandungan senyawa metabolit sekunder dalam tumbuhan dapat diidentifikasi dengan metode analisis fitokimia, baik secara kualitatif maupun kuantitatif (Mustariani, 2023). Analisis fitokimia kualitatif merupakan metode analisis awal untuk melihat kandungan senyawa kimia yang ada pada tumbuhan sehingga mampu memberikan informasi antara senyawa yang terkandung dengan efek farmakologinya. Biasanya dilakukan dengan pereaksi warna yang bersifat polar sehingga mampu melarutkan sampel berdasarkan prinsip *like dissolve like* (Handayani dkk., 2020). Analisis fitokimia kuantitatif merupakan metode untuk mengetahui kadar senyawa kimia yang terkandung pada tanaman. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah metode spektrofotometri UV-Vis ataupun kromatografi (Mustariani, 2023).

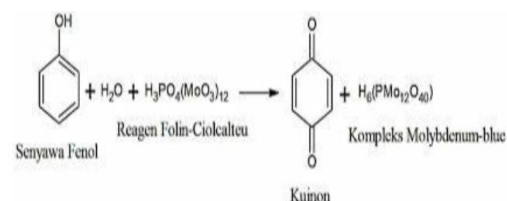
1. Fenol

Fenol merupakan senyawa yang memiliki gugus -OH melekat langsung pada cincin aromatik dengan rumus kimia (C_6H_5OH). Senyawa fenol berperan penting dalam menangkap senyawa radikal bebas pada gugus hidroksilnya (Supriatna dkk., 2019). Senyawa fenol juga memiliki sifat antibakteri sehingga biasanya dimanfaatkan oleh tumbuhan sebagai alat pertahanan diri dari serangan mikroba (Ernawita, 2022). Struktur kimia fenol dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Struktur Kimia Fenol (Mayefis dkk., 2023).

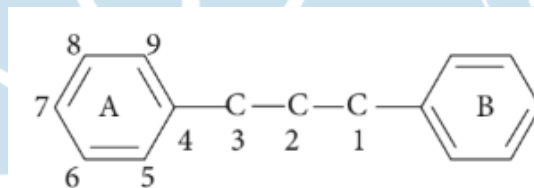
Analisis kualitatif senyawa golongan fenol dapat dilakukan dengan reagen *Folin Ciocalteu*. Teknik pengujian dengan reagen ini cukup sederhana. Prinsip uji ini yaitu akan terjadi reaksi oksidasi senyawa fenol oleh reagen *Folin Ciocalteu* pada kondisi basa sehingga mampu memberikan hasil berupa perubahan warna menjadi hijau kebiruan atau hijau kehitaman. Peningkatan intensitas warna yang dihasilkan akan sebanding dengan kandungan senyawa fenolik yang ada di dalam sampel (Novita dkk., 2020). Reaksi kimia senyawa fenol dengan reagen *Folin Ciocalteu* dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Reaksi Senyawa Fenol dengan Reagen *Folin Ciocalteu* (Novita dkk., 2020).

2. Flavonoid

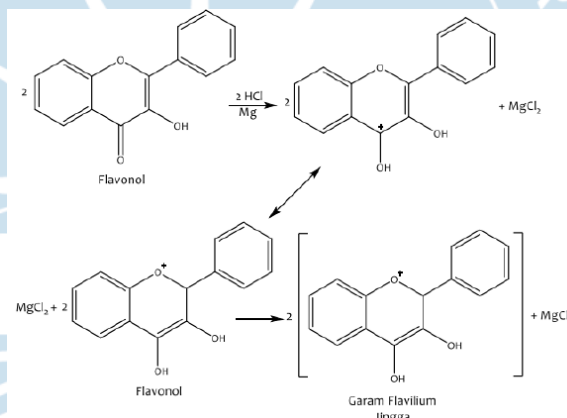
Flavonoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang hampir dapat ditemukan pada seluruh jaringan tumbuhan. Ciri khas senyawa ini yaitu memiliki pigmen merah, biru, dan ungu (Husna dkk., 2022). Flavonoid termasuk ke dalam senyawa polifenol yang dalam strukturnya memiliki 15 atom C dan terdiri dari dua cincin benzena (cincin aromatik A dan aromatik B) yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linear yang tersusun dari 3 atom C (C6-C3-C6) (Ariani dkk., 2022). Struktur kimia flavonoid dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Struktur Kimia Flavonoid (Estiasih dkk., 2017).

Flavonoid memiliki peran sebagai antioksidan yang mampu mencegah kerusakan pada komponen seluler yang timbul akibat adanya reaksi kimia pemicu radikal bebas. Flavonoid berperan sebagai antioksidan karena mampu mendonasikan atom hidrogennya melalui kemampuan mengkelat logam sehingga akan berada dalam bentuk glukosida (Sanjaya dkk., 2023). Selain itu, senyawa flavonoid dinilai memiliki aktivitas farmakologi yang sangat luas sebagai antivirus, antihiperqlikemia, antibakteri, antitrombogenik, neuro-protektif, hingga mampu mengatur ekspresi gen tertentu (Abadi dkk., 2024).

Analisis kualitatif senyawa golongan flavonoid dapat dilakukan dengan uji Wilstater. Prinsip uji Wilstater yaitu dengan adanya penambahan serbuk magnesium (Mg) dan larutan HCl 10%. Penambahan serbuk magnesium bertujuan agar gugus karbonil flavonoid berikatan dengan magnesium dan penambahan larutan HCl berfungsi untuk membentuk garam flavilium berwarna merah jingga (Nurjannah dkk., 2022). Hasil positif dari uji ini adalah perubahan warna menjadi jingga kemerahan (Krisna dkk., 2022). Reaksi flavonoid dengan penambahan Mg dan HCl dapat dilihat pada Gambar 9.

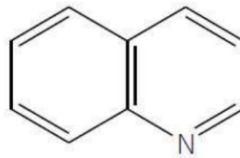


Gambar 9. Reaksi Flavonoid dengan Mg dan HCl (Nurjannah dkk., 2022).

3. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa bioaktif pada tanaman yang tidak larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik. Alkaloid termasuk ke dalam senyawa heterosiklik yang pada strukturnya memiliki unsur karbon, hidrogen, nitrogen, dan mengandung oksigen. Alkaloid dinilai memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi karena mampu mendonorkan atom

hidrogennya untuk menstabilkan reaksi radikal bebas (Purwayantie dkk., 2023). Struktur kimia alkaloid dapat dilihat pada Gambar 10.

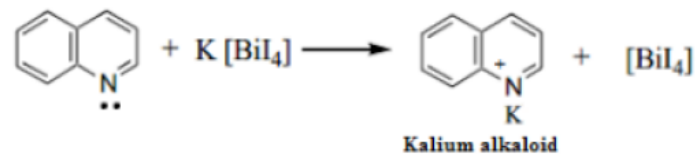


Gambar 10. Struktur Kimia Alkaloid (Purwayantie dkk., 2023).

Alkaloid pada umumnya berasa pahit dan bereaksi basa karena atom nitrogen pada strukturnya mampu memberikan pasangan elektron bebas. Fungsi senyawa alkaloid pada tanaman yaitu sebagai zat racun untuk melawan hewan herbivora maupun serangga, merupakan produk akhir reaksi detoksifikasi dalam proses metabolisme tanaman, dan penyedia unsur nitrogen bagi tanaman. Selain itu, alkaloid juga memiliki efek farmakologi seperti pemicu sistem saraf, antimikroba, pengurang rasa sakit, serta peningkat tekanan darah (Frafela, 2024).

Analisis kualitatif senyawa golongan alkaloid dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa pereaksi seperti reagen Dragendroff, reagen Mayer, dan reagen Wagner. Prinsip dari uji alkaloid adalah adanya pengendapan yang terjadi karena pembentukan kompleks kalium-alkaloid sehingga mengakibatkan atom nitrogen pada alkaloid memiliki pasangan elektron bebas dan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam (Wahjuni dkk., 2022). Hasil positif uji alkaloid dengan reagen Dragendroff ditunjukkan dengan perubahan warna atau terbentuknya endapan berwarna merah bata, dengan reagen Mayer ditunjukkan dengan perubahan atau terbentuknya endapan berwarna putih, dan dengan reagen Wagner ditunjukkan dengan

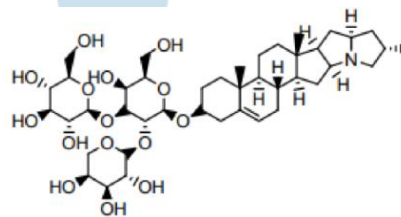
perubahan atau terbentuknya endapan berwarna jingga hingga coklat (Krisna dkk., 2022). Reaksi uji alkaloid dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Reaksi Uji Alkaloid (Nurjannah dkk., 2022).

4. Saponin

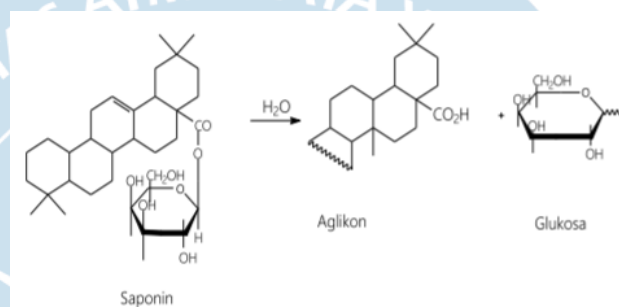
Saponin merupakan senyawa glikosida alami yang memiliki karakteristik mampu membentuk busa serta memiliki kandungan aglikon polisiklik yang berikatan dengan satu atau lebih gula. Saponin pada tumbuhan berperan sebagai penyimpan sisa metabolisme (karbohidrat) dan sebagai pelindung dari serangan hama (Rukmana dan Yudirachaman, 2024). Saponin juga berperan sebagai antioksidan alami yang mampu melindungi tubuh dari radikal bebas dan juga berperan dalam proses penyembuhan luka dengan memacu pembentukan kolagen (Herdiana dkk., 2024). Struktur kimia saponin dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Struktur Kimia Saponin (Noer dkk., 2017).

Analisis kualitatif senyawa golongan saponin dapat dilakukan dengan uji buih. Prinsip uji ini yaitu terbentuknya busa/buih yang stabil akibat adanya reaksi hidrolisis dari senyawa saponin menjadi struktur aglikon dan

glikonnya. Reaksi ini terjadi karena senyawa dengan gugus polar dan nonpolar bersifat aktif permukaan sehingga ketika dilakukan penggojogan dengan air akan menghasilkan busa (Supriningrum dkk., 2019). Reaksi positif uji ini ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil setelah penambahan HCl setinggi 1-2 cm selama ± 5 menit (Krisna dkk., 2022). Reaksi uji saponin dapat dilihat pada Gambar 13.

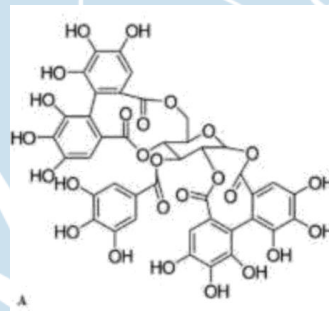


Gambar 13. Reaksi Uji Saponin (Manongko dkk., 2020).

5. Tanin

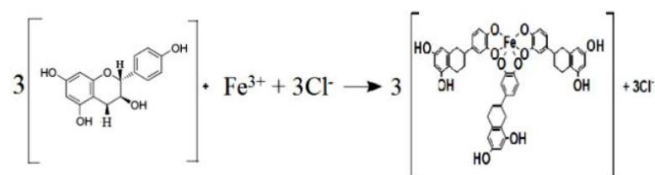
Tanin merupakan golongan senyawa fenolik non-flavonoid yang pada strukturnya memiliki inti polihidroksi fenol sehingga mampu mengikat, mengendapkan, dan menghambat sintesis protein. Pada tanaman, senyawa ini dapat ditemukan di bagian buah, daun, batang, serta kulit kayu. Fungsi senyawa ini bagi tanaman yaitu sebagai pelindung, terutama terhadap kerusakan, pelapukan, dehidrasi, dan juga serangan dari predator. Tanin juga memiliki aktivitas farmakologi yang luas, antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, antitumor, kardioprotektif, antidiabetes, hepatoprotektif, antimikroba, antivirus, antiinflamasi, hingga immunomodulasi (Abadi dkk., 2024).

Beberapa sifat umum dari senyawa tanin yaitu berwarna putih kekuningan sampai coklat kemerahan dan sering disebut dengan asam galat yang memiliki rumus kimiawi $C_{76}H_{52}O_{46}$. Tanin juga memiliki bau yang agak memusingkan (*faint*) dengan rasa sepat (*astringent taste*). Tanin mudah teroksidasi oleh enzim dan akan menjadi berwarna gelap apabila terkena udara dan cahaya (Firdaus, 2011). Struktur dasar tanin dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Struktur Dasar Tanin (Abadi dkk., 2024).

Prinsip uji tanin yaitu dengan adanya penambahan senyawa $FeCl_3$ yang mengakibatkan logam Fe akan bereaksi dengan salah satu gugus hidroksil pada senyawa tanin sehingga mampu menghasilkan senyawa yang lebih kompleks (Wahjuni dkk., 2022). Reaksi positif uji tanin ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi coklat kehijauan atau biru kehitaman (Ikalinus dkk., 2022). Reaksi tanin dengan senyawa $FeCl_3$ dapat dilihat pada Gambar 15.

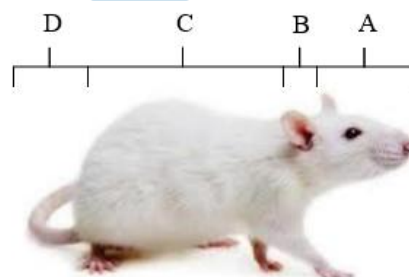


Gambar 15. Reaksi Tanin dengan Senyawa $FeCl_3$ (Nurjannah dkk., 2022).

J. Hewan Uji Mencit (*Mus musculus*)

Hewan uji merupakan hewan yang sengaja dipelihara untuk dijadikan hewan model pembelajaran dan pengembangan ilmu pengetahuan pada lingkup penelitian atau pengamatan laboratorium. Penggunaan hewan uji dalam penelitian biasanya dilakukan untuk menguji tingkat keamanan dan kelayakan suatu bahan obat, sebelum nantinya akan diujikan lebih lanjut secara klinis pada manusia. Oleh karena itu, hewan uji harus dalam kondisi yang sehat dan terbebas dari mikroorganisme patogen (Afrianti dkk., 2014). Beberapa contoh hewan uji yang digunakan dalam penelitian yaitu mencit, tikus, kelinci, anjing, kerbau, ikan, dan babi (Berata, 2023).

Mencit (*Mus musculus*) merupakan salah satu golongan hewan mamalia pengerat yang bersifat omnivorus dan nokturnal sehingga biasanya beraktivitas di sore dan malam hari. Mencit mempunyai berat sekitar 20-40 gram pada mencit jantan dewasa sedangkan mencit jantan betina sekitar 18-35 gram. Biasanya mencit yang digunakan dalam penelitian adalah mencit dengan galur *Swiss-Webster* (Afrianti dkk., 2014). Hewan mencit dapat dilihat pada Gambar 16.



Gambar 16. Hewan Mencit: Kepala (A), Leher (B), Badan (C), dan Ekor (D) (Berata, 2023).

Mencit jantan lebih banyak digunakan dalam penelitian dibandingkan mencit betina. Hal ini dikarenakan kondisi biologisnya jauh lebih stabil dibandingkan mencit betina, tidak dipengaruhi oleh siklus estrus, dan memiliki kemampuan metabolisme obat yang lebih cepat (Mangela dkk., 2019). Menurut Zapino dan Fitri (2022), klasifikasi dari hewan mencit adalah sebagai berikut:

Kerajaan : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mamalia
Bangsa : Rodentia
Suku : Muridae
Marga : *Mus*
Jenis : *Mus musculus*

Mencit sering digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian karena memiliki beberapa kelebihan. Kelebihan mencit sebagai hewan uji yaitu siklus hidupnya singkat, jumlah anak tiap kelahiran banyak, penanganannya mudah, serta fisiologi dan genetik yang mirip dengan manusia terutama pada sistem kardiovaskular dan pernapasannya. Namun, kekurangan penggunaan mencit sebagai hewan uji yaitu mudah stres dan cukup sensitif (Krisna dkk., 2022). Penggunaan mencit dalam penelitian juga harus memperhatikan keseragaman galur yang digunakan, umur (2-3 bulan), dan berat badan (20-30 g). Hal ini bertujuan untuk memperkecil adanya pengaruh faktor luar terhadap hewan uji yang digunakan sehingga respon hasil yang diperoleh lebih seragam (Lara dkk., 2021).

Penggunaan mencit sebagai hewan uji harus memperhatikan beberapa hal meliputi pemberian pakan dan minum, pengkondisian kandang, pengaturan suhu dan kelembapan lingkungan, proses aklimatisasi, dan teknik *handling*.

Pemberian pakan mencit pada umumnya berupa pelet AD II dengan kandungan karbohidrat sebesar 51%, protein 15%, lemak 7%, serat 8%, serta harus mencukupi kebutuhan vitamin A, vitamin D, asam linoleat, tiamin, riboflavin, pantotenat, vitamin B12, biotin, piridoksin, dan kolin. Pemberian pakan normal untuk hewan mencit adalah 1/10 Berat Badan atau sekitar 3-4 g/hewan/hari dan konsumsi air minum pada mencit berkisar 4-8 ml/hari (Upa dkk., 2017). Selain pakan, pemberian minum dalam jumlah *ad libitum* juga menjadi aspek penting agar hewan tidak dehidrasi dan stres (Mutiarahmi dkk., 2021).

Letak kandang juga menjadi perhatian, sebab kandang yang diletakkan di luar ruangan dan dekat dengan keramaian akan menyebabkan hewan menjadi stres akibat kebisingan, panas, ataupun polusi. Kandang yang diletakkan dalam ruangan juga harus dilengkapi sirkulasi udara yang baik serta sumber cahaya dengan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Suhu lingkungan pemeliharaan mencit diatur berkisar 18-26 °C dengan kelembapan relatif 40-70% (Agustina, 2015).

Ukuran kandang juga harus disesuaikan dengan jumlah dan bobot mencit yang digunakan untuk memperhatikan kebutuhan ruang gerak (Nugroho, 2018). Pemilihan alas kandang (*bedding*) juga harus dapat menyerap cairan dan bau, lunak, tidak tajam, murah, dan dapat diganti, seperti serbuk kayu ataupun sekam padi. Penggantian alas kandang dilakukan kurang lebih 2 kali dalam seminggu (Mutiarahmi dkk., 2021).

Sebelum dilakukan perlakuan, mencit harus terlebih dahulu dilakukan proses aklimatisasi kurang lebih selama 7 hari agar mencit dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru sehingga mencegah terjadinya stres pada mencit

karena perpindahan dari kandang sebelumnya (Melisa dkk., 2022). Teknik memegang (*handling*) mencit juga harus dilakukan dengan tepat saat pemberian sediaan uji, sebab pemegangan yang salah dapat menimbulkan akibat yang fatal serta kecelakaan kerja seperti tergigit. Teknik *handling* mencit yang benar yaitu mencit diambil pada bagian ekor kemudian ekor mencit sedikit ditarik dan kulit bagian belakang kepala dicubit dengan jari telunjuk, jari tengah, dan ibu jari, sedangkan ekor mencit dijepit dengan jari kelingking dan jari manis (Mutiarahmi dkk., 2021).

K. Rute Pemberian Obat

Rute pemberian obat merupakan jalur masuknya obat ke dalam tubuh yang ditentukan berdasarkan tujuan penggunaan obat sehingga diharapkan mampu memberikan efek terapi yang diinginkan. Rute pemberian obat dapat dibedakan menjadi 2 jenis kelompok utama, yaitu enteral dan parenteral. Enteral merupakan rute pemberian obat yang nantinya akan melalui saluran pencernaan hingga masuk ke dalam darah (misalnya secara oral dan sublingual). Parenteral merupakan rute pemberian obat yang absorpsinya buruk melalui saluran pencernaan sehingga diberikan langsung ke pembuluh darah ataupun jaringan (misalnya intravena, intramuskular, dan subkutan). Cara ini sangat cocok diberikan dalam pengobatan yang memerlukan efek kerja obat yang cepat (Dalle dkk., 2024).

Rute pemberian obat pada hewan mencit dapat dilakukan dengan beberapa cara seperti oral (po), subkutan, intravena (iv), intramuskular (im), dan

intraperitoneal (ip). Oral merupakan rute pemberian obat yang dilakukan melalui mulut dengan cara ditelan, selanjutnya masuk ke lambung dan diserap oleh usus halus. Kelebihan metode ini yaitu nyaman, lazim dilakukan, hemat biaya, dan mudah dilakukan. Kekurangan metode ini yaitu onset kerja dari obat yang lama, hanya dapat diberikan dalam kondisi pasien yang sadar, ketidaklarutan obat, sifat penyerapan obat bervariasi, dan obat bisa mengalami degradasi sebelum mencapai tempat penyerapan ke dalam aliran darah (Azizah dkk., 2024).

Pemberian obat secara oral pada mencit dilakukan dengan menggunakan sonde oral. Teknik injeksi menggunakan sonde oral dilakukan dengan cara sonde oral ditempelkan ke bagian langit-langit mulut atas mencit, kemudian perlahan-lahan dimasukkan sampai mengenai kerongkongan. Posisi sonde juga harus tegak lurus dengan mencit sehingga senyawa yang diinjeksikan dapat masuk secara maksimal (Stevani, 2016).

Rute subkutan merupakan rute pemberian obat pada jaringan subkutan atau adiposa di bawah permukaan kulit, biasanya lokasinya ada di punggung bagian atas. Kelebihan dari metode ini yaitu diberikan untuk obat yang sulit diserap atau tidak efektif apabila diberikan secara oral, rute obat lebih cepat dibandingkan oral, dan mudah diserap dalam waktu lama. Kekurangan metode ini yaitu dosisnya hanya sedikit, laju penyerapan obat sulit dikendalikan, dan dapat berpotensi menimbulkan komplikasi lokal seperti iritasi (Azizah dkk., 2024).

Rute intravena merupakan rute pemberian obat yang langsung diberikan ke sirkulasi sistemik dengan cara disuntikkan ke dalam pembuluh darah.

Kelebihan metode ini yaitu onset aksi obat yang cepat, dapat menghindari *first pass effect* oleh hati, dan sering diberikan untuk obat yang tidak dapat diberikan secara oral. Kekurangan metode ini yaitu risikonya besar, menyebabkan rasa sakit, membutuhkan keahlian lebih, dan obat yang telah disuntikkan dalam tubuh tidak dapat diambil kembali (Dalle dkk., 2024).

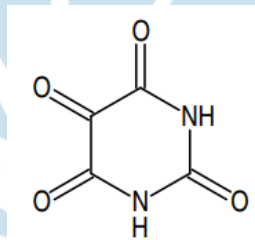
Rute intraperitoneal merupakan rute pemberian obat dengan cara penginjeksian ke dalam rongga perut (peritoneum). Kelebihan dari metode ini yaitu sering digunakan pada mencit dan hewan rodensia kecil, obat dapat langsung dihantarkan ke lokasi target, serta waktu paruh obat jauh lebih lama di dalam rongga peritoneum. Kekurangan dari metode ini yaitu dapat menyebabkan inflamasi lokal dan akut serta peradangan pada peritoneum (peritonitis) (Kusmardi dkk., 2024).

Ketika proses penyuntikan pada rute intraperitoneal, posisi kepala mencit harus lebih rendah dari abdomen. Jarum disuntikkan dari abdomen pada lokasi sedikit menepi dari garis tengah tubuh agar jarum tidak langsung mengenai organ kandung kemih. Lokasi penyuntikkan juga jangan terlalu tinggi agar jarum suntik tidak mengenai organ hati (Stevani, 2016).

Rute intramuskular merupakan rute pemberian obat dengan cara diinjeksikan ke dalam jaringan otot, salah satunya adalah otot paha posterior. Keuntungan metode ini yaitu dapat digunakan untuk mencapai aksi obat yang lama, serta dapat digunakan untuk dosis yang lebih tinggi. Kekurangan dari metode ini yaitu dapat menimbulkan nyeri dan pembengkakan di lokasi penyuntikkan (Azizah dkk., 2024).

L. Aloksan

Aloksan ($C_4H_2N_2O_4$) secara kimia dikenal sebagai 5,5-dihidroksil pyrimidine-2,4,6-trion merupakan senyawa organik turunan asam urat yang dapat menyebabkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemia) pada hewan uji. Aloksan mampu menyebabkan kerusakan sel pankreas secara selektif dengan mekanisme stres oskidatif. Aloksan juga mampu menyebabkan penurunan glikogen hepatic dalam kurun waktu 24-72 jam sehingga menyebabkan kerusakan sel pankreas dan penurunan kadar insulin dalam tubuh (Husna dkk., 2019). Struktur kimia aloksan dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar 17. Struktur Kimia Aloksan (Nugroho, 2016).

Dalam studi eksperimental, aloksan digunakan untuk menginduksi kondisi hiperglikemia pada hewan uji. Penggunaan aloksan untuk induksi diabetes melitus lebih sering digunakan karena harganya murah dan lebih mudah didapatkan. Namun, tingkat keberhasilan penggunaan aloksan kurang memuaskan karena dapat menimbulkan efek nefrotoksik dan hepatotoksik pada hewan coba, sehingga tingkat kematian jauh lebih tinggi. Selain itu, aloksan bersifat sangat tidak stabil sehingga harus segera digunakan setelah dilarutkan (Ighodaro, 2017). Aloksan dilarutkan terlebih dahulu dengan larutan NaCl fisiologis 0,9 % secepatnya sebelum diinjeksikan pada hewan uji karena larutan

aloksan yang masih segar akan berwarna merah muda, sedangkan apabila teroksidasi akan berubah menjadi tidak berwarna sehingga kemampuan aloksan dalam menginduksi kondisi diabetes melitus pada hewan uji juga akan berkurang (Hasim dkk., 2020).

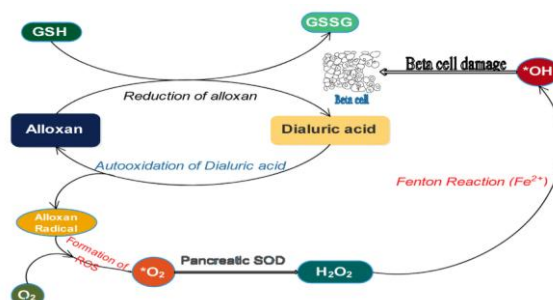
Aloksan pada hewan uji dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal, dan subkutan. Biasanya pemberian dosis aloksan secara intraperitoneal dan subkutan pada hewan uji adalah 2-3 kali dosis intravena (Handani dkk., 2015). Pemberian aloksan pada mencit secara intravena dapat dilakukan dengan dosis 40-45 mg/kg BB, sedangkan pemberian aloksan pada mencit secara intraperitoneal dapat dilakukan dengan dosis 50-200 mg/kg BB (Berata, 2023). Aloksan yang diberikan dengan dosis tunggal pada rentang dosis 170-200 mg/kg BB secara intraperitoneal dinilai lebih efektif, sedangkan dosis aloksan kurang dari 150 mg/kg BB dinilai kurang berhasil menghasilkan efek diabetagenik yang stabil pada hewan uji. Kemampuan aloksan dalam menimbulkan efek diabetes ini juga bergantung pada jalur induksi, dosis, senyawa, dan hewan uji yang digunakan (Ighodaro, 2017).

Dosis aloksan 150 mg/kg BB yang diinduksikan pada mencit putih mampu menyebabkan kerusakan sel- β pankreas yang ditunjukkan dengan banyaknya pengurangan jumlah sel- β pankreas normal, vakuolisasi, dan terjadinya pengecilan ukuran sel (Hendrikos dkk., 2014). Dosis aloksan 125 mg/kg BB secara intraperitoneal mampu memberikan efek peningkatan kadar glukosa darah dan kerusakan sel β pankreas tikus (Prameswari dan Widjakarko, 2014). Pemberian aloksan pada dosis 160 mg/kg BB mampu menghasilkan

kondisi diabetes yang stabil pada tikus selama 1 bulan. Namun, pemberian dosis aloksan 180 mg/kg BB mampu menghasilkan efek diabetes yang parah pada tikus, bahkan kerusakan ginjal dan berpotensi menyebabkan kematian (Husna dkk., 2019).

Aloksan mampu menginduksi kondisi diabetes melalui 2 patogenesis berbeda. Pertama, dengan cara penghambatan selektif sekresi insulin melalui penghambatan glukokinase sebagai detektor glukosa dalam sel β pankreas. Kedua, melalui pembentukan ROS sehingga menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel β pankreas. Aloksan bersifat toksik terhadap sel β pankreas penghasil insulin karena mampu terakumulasi secara spesifik melalui transporter glukosa yaitu GLUT 2 (Daulay dkk., 2023).

Aloksan menyebabkan kerusakan sel β pankreas dengan proses reaksi reduksi aloksan yang akan menghasilkan asam dialurat. Asam dialurat akan membentuk siklus reaksi redoks menghasilkan radikal bebas (ROS) berupa radikal superoksida yang selanjutnya mengalami dismutase menjadi hidrogen peroksida. ROS inilah yang menargetkan sel-sel pulau Langerhans pankreas (Madinah dkk., 2016). Pembentukan ROS melalui siklus redoks aloksan dapat dilihat pada Gambar 18.



Gambar 18. Mekanisme Pembentukan ROS Melalui Siklus Redoks Aloksan (Ighodaro dkk., 2017).

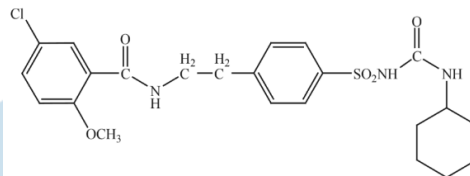
Aloksan juga menyebabkan terjadinya peningkatan kalsium sitosol pada sel β pankreas sehingga memicu terjadinya depolarisasi sel β pankreas. Depolarisasi membran sel β pankreas akibat aloksan ini mampu menyebabkan terjadinya kerusakan substansi esensial hingga terjadinya nekrosis pada sel β pankreas. Kondisi ini akan menyebabkan berkurangnya granula-granula pembawa insulin pada pankreas sehingga produksi insulin akan berkurang dan mengakibatkan kadar glukosa darah akan meningkat (Madinah dkk., 2016).

M. Glibenklamid

Penanganan pasien diabetes melitus dapat dilakukan dengan obat-obat hipoglikemik oral yang tepat dan sangat bergantung pada tingkat keparahan penyakit dan kondisi pasien. Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat hipoglikemik oral dapat dibagi ke dalam 3 golongan. Pertama adalah golongan sulfonilurea dan glinide, yaitu obat yang digunakan untuk mensekresikan insulin. Kedua adalah golongan biguanide dan tiazolidindion, yaitu obat yang digunakan untuk meningkatkan sensitivitas sel terhadap insulin sehingga insulin dapat dimanfaatkan lebih efektif. Ketiga adalah golongan "*starch-blocker*", yaitu obat yang digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia dengan berperan sebagai inhibitor katabolisme karbohidrat (Rohman, 2015).

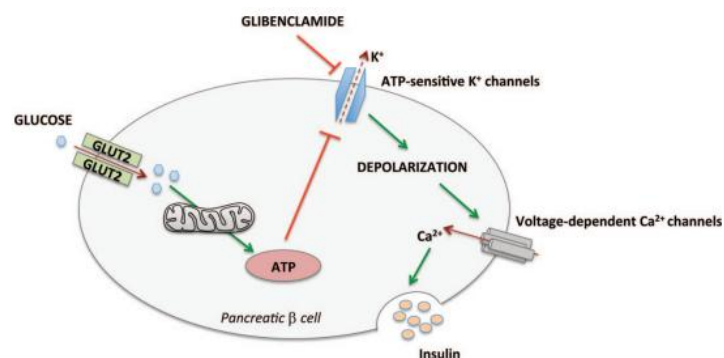
Glibenklamid atau gliburida merupakan obat antidiabetik oral golongan sulfonilurea generasi kedua yang mampu memberikan efek terapeutik dalam menurunkan kadar glukosa darah. Glibenklamid mampu merangsang kelenjar pankreas untuk mensekresikan insulin. Obat golongan ini bekerja dengan

menstimulasi pelepasan insulin dan meningkatkan sekresi insulin akibat adanya rangsangan dari glukosa (Akuba dkk., 2022). Struktur kimia dari glibenklamid dapat dilihat pada Gambar 19.



Gambar 19. Struktur Kimia Glibenklamid (Rohman, 2015).

Mekanisme kerja glibenklamid yaitu dengan merangsang sekresi insulin melalui mekanisme penutupan kanal kalium yang sensitif terhadap ATP di sel β pankreas, yaitu reseptor 1 sulfonilurea (SUR1). Hal ini berakibat pada meningkatnya konsentrasi ion intraseluler dan ion kalsium. Dengan SUR1 yang tertutup maka mengakibatkan potensial membran menjadi kurang negatif dan mengakibatkan terjadinya depolarisasi sel yang menyebabkan kanal kalsium terbuka. Oleh karena itu, ion kalsium akan masuk ke dalam sel β pankreas, terjadi peningkatan ion kalsium intraseluler, dan akan menstimulasi pelepasan granula-granula yang berisi insulin sehingga mampu menurunkan kadar glukosa darah (Irawan dkk., 2022). Mekanisme kerja glibenklamid dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Mekanisme Kerja Glibenklamid (Pasello dkk., 2013).

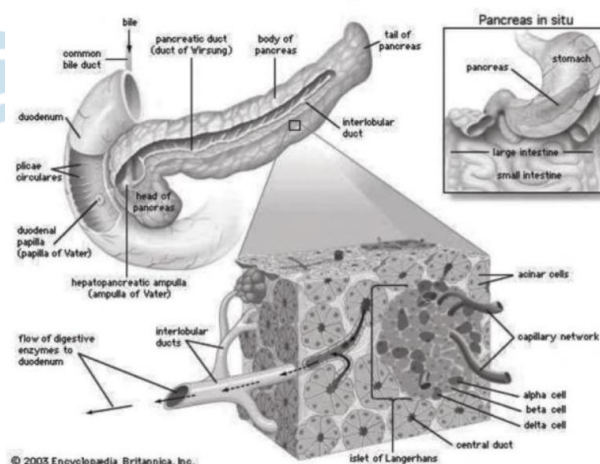
Glibenklamid umumnya digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah yang terinduksi oleh aloksan. Obat ini mampu menunjukkan efek yang optimal, tetapi lebih kecil pada pemberian glibenklamid dosis tunggal (Irawan dkk., 2022). Glibenklamid sering digunakan sebagai kontrol positif karena memiliki efek hipoglikemik yang kuat pada dosis yang rendah, mampu diabsorpsi dengan cepat dan baik sehingga dapat diberikan secara peroral, dan mampu tersebar ke seluruh cairan ekstra sel (Azis dan Rajab, 2021). Namun, penggunaan glibenklamid memiliki efek samping berupa kondisi hipoglikemia. Biasanya pasien akan mengalami beberapa ciri seperti wajah yang pucat, muncul keringat, rasa lemas, dan jantung berdebar (Fahmi dkk., 2023).

Glibenklamid memiliki sifat tidak larut dalam air sehingga perlu disuspensikan dengan zat pensuspensi yaitu Na-CMC. Na-CMC (*Sodium-Carboxymethyl Cellulose*) merupakan turunan selulosa linier bersifat *biodegradable* dengan karakteristik tidak berwarna, tidak berbau, tidak beracun, yang berbentuk butiran atau bubuk yang dapat larut dalam air tetapi tidak dapat larut dalam larutan organik (Indriani dkk., 2021). Na-CMC sering digunakan sebagai bahan pengental, penstabil emulsi atau suspensi, dan bahan pengikat. Alasan pemilihan Na-CMC sebagai pelarut untuk glibenklamid dikarenakan mencit tidak memiliki enzim selulase pada sistem pencernaannya, sehingga penggunaan Na-CMC tidak berpengaruh pada kadar glukosa darah. Selain itu, Na-CMC juga bersifat inert sehingga tidak bereaksi dengan glibenklamid (Hikmah dkk., 2016).

N. Pankreas

Pankreas merupakan organ kelenjar penting tubuh yang tersusun atas kelenjar eksokrin dan endokrin. Kelenjar eksokrin pankreas terdiri atas kelenjar asiner, sedangkan kelenjar endokrin pankreas tersusun atas pulau Langerhans yang tersebar di sepanjang kelenjar eksokrin. Bagian eksokrin ini berfungsi untuk mensekresikan ion-ion, enzim, dan proenzim, sedangkan bagian endokrin berfungsi untuk mensekresikan hormon seperti insulin, glukagon, dan pankreas polipeptida (Nesti dan Baidlowi, 2017).

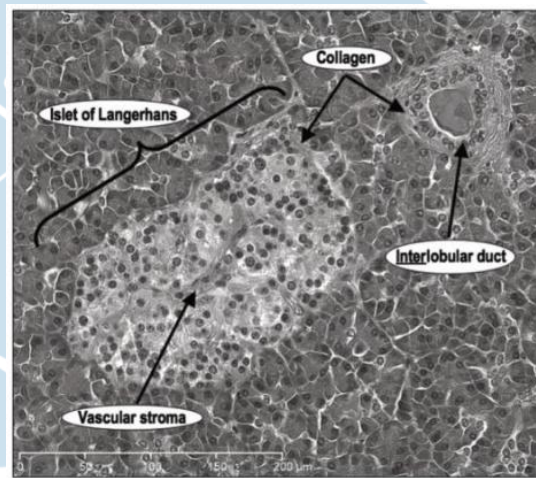
Pankreas tersusun dari 3 bagian yaitu kepala, badan, dan ekor. Kepala pankreas merupakan bagian yang paling lebar, badan pankreas merupakan bagian yang letaknya di belakang lambung, dan ekor pankreas merupakan bagian runcing di sebelah kiri yang hampir menyentuh limpa (Hidayat, 2021). Struktur anatomi pankreas dapat dilihat pada Gambar 21.



Gambar 21. Struktur Anatomi Pankreas (Sari dan Anitasari, 2018).

Pulau Langerhans pankreas merupakan bagian endokrin yang letaknya tersebar di seluruh pankreas. Pulau Langerhans nampak seperti kelompok sel berbentuk bulat, berwarna pucat, dikelilingi serabut halus, tidak memiliki

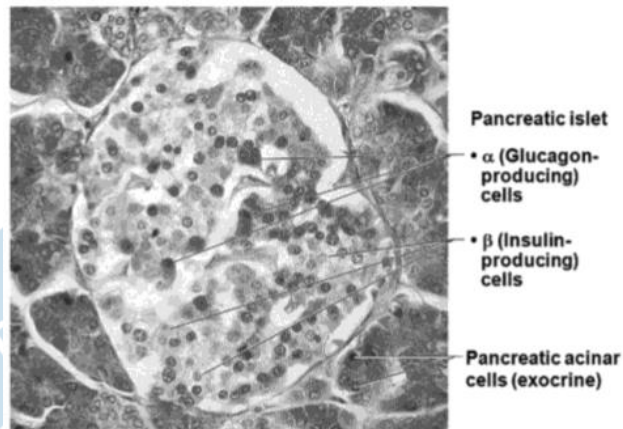
saluran, dan memiliki banyak pembuluh darah untuk menyalurkan hormon kelenjar pankreas. Jaringan retikuler tipis juga ditemukan di sekitar pulau Langerhans dan memisahkan dengan bagian eksokrin pankreas yang berdekatan (Nesti dan Baidlowi, 2017). Struktur pulau Langerhans pankreas secara mikroskopik dapat dilihat pada Gambar 22.



Gambar 22. Struktur Mikroskopik Pulau Langerhans Pankreas (Sari dan Anitasari, 2018).

Pulau Langerhans pankreas tersusun atas 4 macam sel, yaitu sel- α , sel- β , sel- δ , dan sel PP (polipeptida pankreas). Sel α merupakan jenis sel yang paling besar, menyusun sekitar 20% dari populasi sel di pulau Langerhans, letaknya ada di bagian tepi, dan berfungsi untuk memproduksi glukagon. Sel β merupakan jenis sel yang ukurannya lebih kecil tetapi menyusun sekitar 70% dari pulau Langerhans pankreas, letaknya ada di bagian sentral, dan berfungsi untuk memproduksi insulin. Sel δ merupakan jenis sel yang menyusun sekitar 10% dari pulau Langerhans dan berfungsi untuk memproduksi somatostatin. Sel PP merupakan bagian paling kecil dari sel pulau Langerhans yang berfungsi untuk

memproduksi polipeptida pankreas (Shahab, 2017). Struktur mikroskopik sel-sel penyusun pulau Langerhans pankreas dapat dilihat pada Gambar 23.



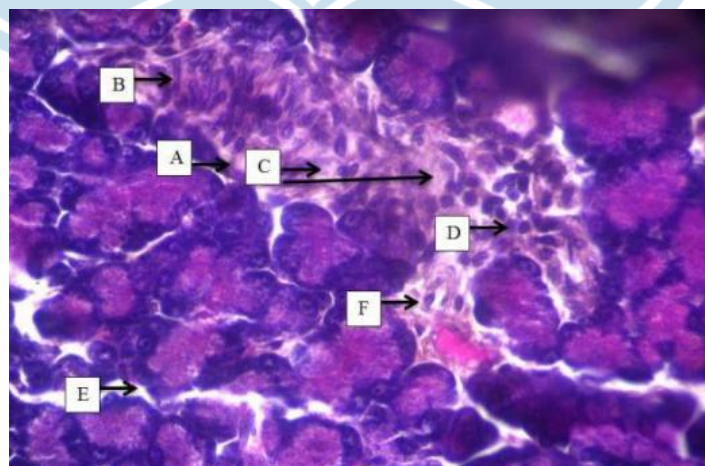
Gambar 23. Struktur Mikroskopik Sel Penyusun Pulau Langerhans Pankreas (Sari dan Anitasari, 2018).

Sel-sel pulau Langerhans terhubung satu sama lain melalui ikatan *gap junction* sehingga sekresi hormon dapat berlangsung secara sinkron. Beberapa hormon yang dihasilkan oleh pankreas yaitu insulin dan glukagon yang mana keduanya bekerja secara antagonis karena disekresikan dalam kondisi yang berlawanan. Oleh karena itu, keseimbangan kerja antara insulin dan glukagon mampu mempertahankan homeostasis glukosa dalam tubuh. Insulin berperan dalam mengontrol kadar glukosa darah dengan cara meningkatkan *uptake* glukosa dari darah ke dalam jaringan. Glukagon berperan sebagai penyeimbang dan menjaga agar konsentrasi glukosa tetap normal di dalam darah (Nesti dan Baidlowi, 2017).

Kondisi diabetes mampu menyebabkan perubahan kondisi pada pulau Langerhans pankreas, terutama menimbulkan kerusakan pada sel β pankreas. Perubahan ini dapat dilihat secara kuantitatif dan kualitatif. Secara kuantitatif dapat dilihat berdasarkan pengurangan jumlah atau ukuran sel, sedangkan secara kualitatif

dapat dilihat berdasarkan adanya sel yang mengalami nekrosis, degenerasi, dan amyloidosis (Suarsana dkk., 2010).

Kerusakan sel β pankreas dapat disebabkan oleh faktor seperti senyawa diabetogenik, salah satunya adalah aloksan yang bersifat toksik bagi sel pankreas (Suarsana dkk., 2010). Gambaran kondisi pankreas yang diinduksi senyawa aloksan adalah infiltrasi sel-sel mononuklear ke dalam pulau Langerhans akibat proses inflamasi (Azizah dkk., 2019). Senyawa aloksan mampu menyebabkan nekrosis dan degenerasi sel β pankreas hingga 40-50% (Jorns dkk., 1997). Berdasarkan penelitian Anungputri dkk. (2023), menyatakan bahwa kerusakan sel β pankreas pada mencit yang diinduksi aloksan dosis 100 mg/kg BB ditunjukkan dengan bentuk, ukuran, serta masa pulau Langerhans yang berkurang, sel β yang mengalami nekrosis (kematian sel), atrofi (pengecilan ukuran sel), dan fibrinosis (kerusakan jaringan sel). Berdasarkan penelitian Walean dkk. (2020), kondisi kerusakan pankreas tikus hiperglikemia akibat injeksi aloksan dapat dilihat pada Gambar 24.



Gambar 24. Kondisi Pankreas Tikus Hiperglikemia Akibat Induksi Aloksan pada Perbesaran 400x di Bawah Mikroskop.

Keterangan:

A = Pulau Langerhans mengalami penyusutan.

B = Inti sel mengalami penyusutan.

C = Sitoplasma yang memudar.
D = Piknosis.
E = Deskuamasi sel asinar.
F = Deskuamasi pulau Langerhans.

O. Hipotesis

1. H₀: Pemberian sari buah berenuk (*C. cujete*) mampu menurunkan kadar gula darah mencit dan memperbaiki kondisi pankreas mencit yang diinduksi aloksan.
H₁: Pemberian sari buah berenuk (*C. cujete*) tidak mampu menurunkan kadar gula darah mencit dan memperbaiki kondisi pankreas mencit yang diinduksi aloksan.
2. H₀: Pemberian sari buah berenuk (*C. cujete*) dosis terendah 5 ml/kg BB berpotensi menurunkan kadar gula darah dan memperbaiki kondisi pankreas mencit yang diinduksi aloksan.
H₁: Pemberian sari buah berenuk (*C. cujete*) dosis terendah 5 ml/kg BB tidak berpotensi menurunkan kadar gula darah dan memperbaiki kondisi pankreas mencit yang diinduksi aloksan.