

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi Wani (*Mangifera caesia*)

Wani merupakan salah satu tanaman buah tropika yang berkerabat dekat dengan mangga (van Steenis, 1978) dan biasanya tumbuh di Bali, Lampung, Aceh, maupun Kalimantan. Wani (Bahasa Bali), di daerah lain dinamai kemang (Sunda dan Jawa), binje (Aceh), bienglu (Lampung) (Mukherji, 1985), atau palung-wanyi (Kalimantan) (Purnomo, 1987). Wani menyebar secara alami di Sumatera, Kalimantan dan Semenanjung Malaya. Sebagian pakar meyakini Kalimantan adalah lokasi asal-usulnya, kemudian dibawa dan dibudidayakan orang di Bali, Filipina, dan Thailand, serta sebagian di Jawa (Kostermans dan Bompard, 1993). Umumnya wani tumbuh di dataran-dataran rendah kawasan tropik basah, di bawah ketinggian 400 m dpl. dan sangat jarang mencapai 800 m dpl. Wani memerlukan persebaran curah hujan yang merata sepanjang tahun dan tumbuh baik di daerah pinggiran sungai yang secara berkala tergenang air (Wardiyono, 2008).

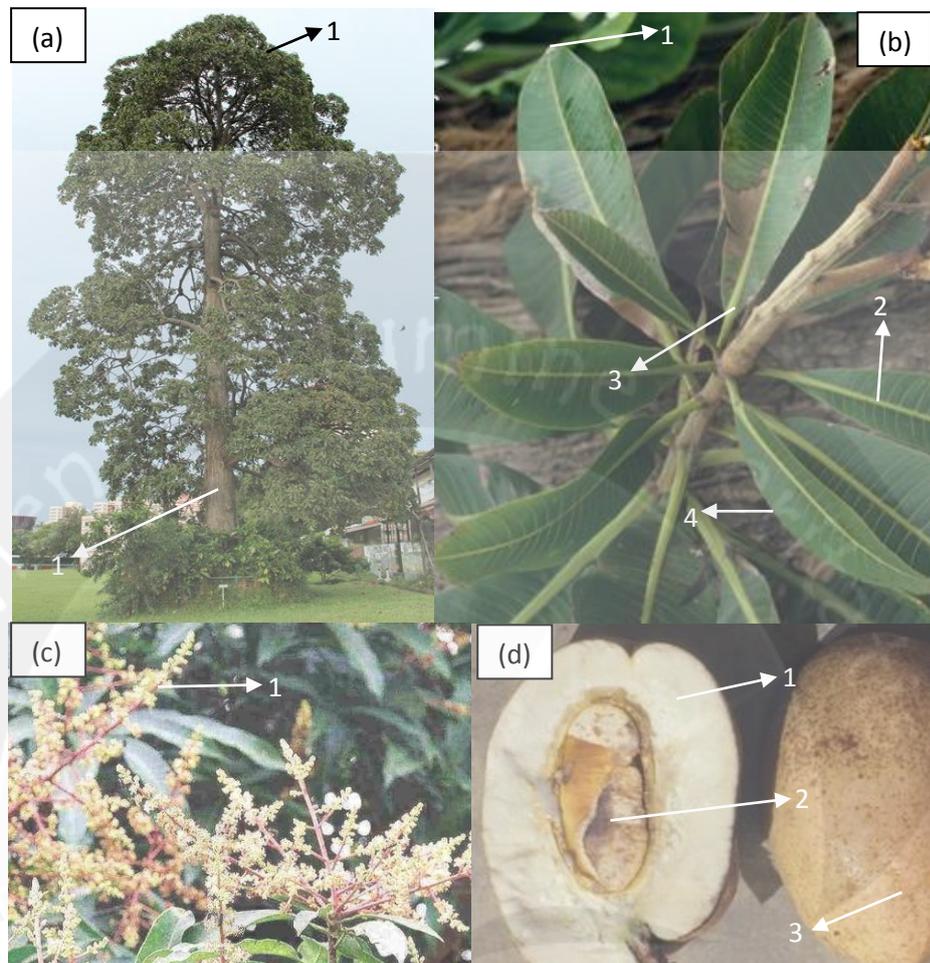
Tanaman wani berbentuk pohon, tinggi tanaman mencapai 30-40 m dan diameter batang antara 50-120 cm. Buahnya berbentuk lonjong, dengan ukuran panjang 12-20 cm dan lebar 6-12 cm. Kulit buahnya tipis berwarna kekuningan hingga coklat. Daging buah putih susu, berserat, berbau, dan rasanya asam manis. Biji berbentuk bulat lonjong dengan kulit tipis (Wardiyono, 2008). Bentuk buah dan biji dapat dilihat pada Gambar 1 (d). Citarasa wani disukai karena rasanya manis, enak dengan aroma khas, dan

daging buahnya tebal. Jenisnya banyak dengan ciri khas masing-masing sehingga tersedia berbagai alternatif pilihan bagi konsumen (Rai dkk., 2008).

Tajuk pohon wani berbentuk kubah dengan percabangan yang rapat, dapat dilihat pada Gambar 1 (a). Kulit batang coklat keabu-abuan, dan mengandung getah yang dapat menyebabkan iritasi. Daun jorong sampai lanset, panjang 7 - 30 cm dan lebar 3 - 10 cm, sering kali mengumpul di ujung-ujung percabangan. Bentuk daun dari wani dapat dilihat pada Gambar 1 (b). Perbungaan mulai di ujung-ujung cabang atau ranting, panjang 15 - 40 cm, bunga banyak, merah muda pucat dan berbau harum, 5 merus, benang sari fertil 1, staminodium 4 menyerupai gigi-gigi, diskus sempit menyerupai tangkai, bakal buah bulat miring. Perbungaan wani dapat dilihat pada Gambar 1 (c). Buah batu berbentuk bulat telur terbalik sampai lonjong, panjang 12 - 20 cm dan lebar 6 - 12 cm, kulit tipis kekuningan atau coklat pucat; daging buah keputihan, lunak, berair dan berserat, beraroma tajam, rasanya agak asam sampai manis. Biji jorong sampai lanset, monoembrionik (Wardiyono, 2008).

Kedudukan taksonomi wani menurut Mukherji (1985) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Sapindales
Famili	: Anacardiaceae
Genus	: <i>Mangifera</i>
Spesies	: <i>Mangifera caesia</i>



Gambar 1. (a) Bentuk Tajuk Pohon Wani (*Mangifera caesia*) (Sumber: Anonim, 2008); (b) Bentuk Daun Wani (Sumber: Anonim, 2008); (c) Perbungaan Wani (Sumber: Anonim a, 2009) (d) Bentuk Buah Wani (Sumber: Anonim, 2008)

Keterangan Gambar:

- (a) 1. Daun Wani
- (a) 2. Batang Pohon Wani
- (b) 1. Ujung Daun Wani
- (b) 2. Tulang Daun Wani
- (b) 3. Pangkal Daun Wani
- (b) 4. Tepi Daun Wani

- (c) 1. Bunga Wani
- (d) 1. Daging Buah Wani
- (d) 2. Biji Buah Wani
- (d) 3. Kulit Buah Wani

Sentra produksi wani di Bali terkonsentrasi pada 6 kecamatan, yaitu Kecamatan Sawan dan Kecamatan Sukasada di Kabupaten Buleleng, Kecamatan Pupuan dan Kecamatan Selemadeg di Kabupaten Tabanan, Kecamatan Dawan di Kabupaten Klungkung, dan Kecamatan Bebandem di

Kabupaten Karangasem. Buah wani Bali dihasilkan secara alami di kebun campuran, pekarangan, dan areal sekitar hutan) tanpa pemeliharaan secara memadai, sehingga kuantitas dan kualitas buahnya rendah (Rai dkk., 2008).

Buah yang telah masak rasanya manis asam dan dimakan sebagai buah segar ataupun dibuat jus, sedangkan buah yang belum masak dapat dirujuk. Buah wani di Bali dan Kalimantan Timur mempunyai rasa yang manis dan tanpa serat sehingga banyak disukai orang dan harganya-pun cukup tinggi. Buah wani juga dimanfaatkan sebagai rempah untuk bahan pembuatan sambal bersama-sama dengan ikan. Kayunya dapat dimanfaatkan sebagai bahan bangunan. Masyarakat Sunda mengkonsumsi daun mudanya sebagai lalap sayuran (Wardiyono, 2008).

Daging buah yang matang dijadikan asinan dan diawetkan dalam garam, dan disimpan dalam botol untuk membuat sambal jika tidak sedang musim buah. Masyarakat Hulu Tabalong, Kalimantan Selatan dan sekitarnya memanfaatkan akar dari tumbuhan wani sebagai obat diabetes. Akar dari tumbuhan wani direndam di dalam air mendidih kemudian air rendamannya diminum (Anonim, 2001). Keaktifan akar tumbuhan wani ini diduga karena akar tumbuhan ini mengandung komponen metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan lain-lain (Mustikasari dan Ariyani, 2008).

Wani termasuk tumbuhan dari genus *Mangifera* (mangga-mangga) dan merupakan bagian dari famili Anacardiaceae. Famili Anacardiaceae terdiri dari 82 genus dan banyak mengandung senyawa triterpen. Beberapa

senyawa triterpen dilaporkan aktif sebagai antiinflamasi, antikanker, antileukimia, antimalaria, dan anti-HIV (Salminen dkk., 2008).

B. Komponen Fitokimia Wani (*Mangifera caesia*)

1. Tanin

Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Tanin merupakan komponen zat organik yang sangat kompleks, terdiri dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal, mengendapkan protein dari larutannya dan bersenyawa dengan protein tersebut (Desmiaty dkk., 2008).

Tanin merupakan senyawa umum yang terdapat dalam tumbuhan berpembuluh, memiliki gugus fenol, memiliki rasa sepat dan mampu menyamak kulit karena kemampuannya menyambung silang protein. Jika bereaksi dengan protein membentuk kopolimer mantap yang tak larut dalam air. Tanin secara kimia dikelompokkan menjadi dua golongan yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Tanin terkondensasi atau flavolan secara biosintesis dapat dianggap terbentuk dengan cara kondensasi katekin tunggal yang membentuk senyawa dimer dan kemudian oligomer yang lebih tinggi. Tanin terhidrolisis mengandung ikatan ester yang dapat terhidrolisis jika dididihkan dalam asam klorida encer (Harborne, 1987; Sirait, 2007).

Dalimartha (2005) menyebutkan bahwa tanin diketahui dapat memacu metabolisme glukosa dan lemak, sehingga timbunan kedua

sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari. Tanin mempunyai aktivitas antioksidan dan menghambat pertumbuhan tumor. Senyawa ini juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis. Tanin juga berfungsi sebagai *astringent* atau pengkhat yang dapat mengkerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan glukosa darah tidak terlalu tinggi.

2. Saponin

Saponin adalah glikosida triterpen yang merupakan senyawa aktif permukaan dan bersifat seperti sabun yang jika dikocok kuat akan menimbulkan busa. Saponin konsentrasi rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah pada tikus. Pada umumnya saponin bereaksi netral (larut dalam air), beberapa ada yang bereaksi asam (sukar larut dalam air), dan sebagian kecil ada yang bereaksi basa (Harborne, 1987; Sirait, 2007).

C. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) yang biasa dikenal kencing manis diartikan sebagai suatu penyakit kronis yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel-sel beta Langerhans kelenjar pankreas, atau disebabkan oleh kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (Departemen Kesehatan RI, 2006).

Penyebab DM adalah kekurangan hormon insulin, yang berfungsi memanfaatkan glukosa sebagai sumber energi dan mensintesis lemak. Akibatnya ialah glukosa bertumpuk di dalam darah (hiperglikemia) dan akhirnya diekskresikan lewat kemih tanpa digunakan, oleh karena itu, produksi kemih sangat meningkat dan pasien harus sering kencing, merasa amat haus, berat badan menurun dan merasa lelah (Tan dan Rahardja, 2002).

Klasifikasi diabetes yang utama ada dua, yaitu, diabetes tipe 1 dan tipe 2. Diabetes tipe 1 merupakan diabetes yang jarang atau sedikit populasinya, diperkirakan kurang dari 5-10% dari keseluruhan populasi penderita diabetes. Diabetes tipe ini disebabkan kerusakan sel-sel β pulau Langerhans yang disebabkan oleh reaksi autoimun (Ditjen Bina Farmasi dan Alkes, 2005).

Pada pulau Langerhans kelenjar pankreas terdapat beberapa tipe sel, yaitu sel β , sel α dan sel σ . Sel-sel β memproduksi insulin, sel-sel α memproduksi glukagon, sedangkan sel-sel σ memproduksi hormon somatostatin. Serangan autoimun secara selektif menghancurkan sel-sel β . Destruksi otoimun dari sel-sel β pulau Langerhans kelenjar pankreas langsung mengakibatkan defisiensi sekresi insulin. Defisiensi insulin inilah yang menyebabkan gangguan metabolisme yang menyertai diabetes tipe 1. Selain defisiensi insulin, fungsi sel-sel α kelenjar pankreas pada penderita diabetes tipe 1 juga menjadi tidak normal (Ditjen Bina Farmasi dan Alkes, 2005).

Penderita diabetes tipe 1 ditemukan sekresi glukagon yang berlebihan oleh sel-sel α pulau Langerhans. Secara normal, hiperglikemia akan

menurunkan sekresi glukagon, tapi hal ini tidak terjadi pada penderita diabetes tipe 1, sekresi glukagon akan tetap tinggi walaupun dalam keadaan hiperglikemia, hal ini memperparah kondisi hiperglikemia. Salah satu manifestasi dari keadaan ini adalah cepatnya penderita diabetes tipe 1 mengalami ketoasidosis diabetik apabila tidak mendapatkan terapi insulin (Ditjen Bina Farmasi dan Alkes, 2005).

Diabetes tipe 2 merupakan tipe diabetes yang lebih umum, lebih banyak penderitanya dibandingkan dengan diabetes tipe 1, terutama terjadi pada orang dewasa tetapi kadang-kadang juga terjadi pada remaja. Penyebab dari diabetes tipe 2 karena sel-sel sasaran insulin gagal atau tak mampu merespon insulin secara normal, keadaan ini disebut resistensi insulin. selain resistensi insulin, pada penderita diabetes tipe 2 dapat juga timbul gangguan sekresi insulin dan produksi glukosa hepatic yang berlebihan. Namun, tidak terjadi perusakan sel-sel β langerhans secara autoimun sebagaimana terjadi pada diabetes tipe 1. Dengan demikian, defisiensi fungsi insulin pada penderita diabetes tipe 2 hanya bersifat relatif, tidak absolut (Ditjen Bina Farmasi dan Alkes, 2005).

Obesitas yang pada umumnya menyebabkan gangguan pada kerja insulin, merupakan faktor risiko yang biasa terjadi pada diabetes tipe ini, dan sebagian besar pasien dengan diabetes tipe 2 bertubuh gemuk. Selain terjadi penurunan kepekaan jaringan pada insulin, yang telah terbukti terjadi pada sebagian besar dengan pasien diabetes tipe 2 terlepas pada berat badan, terjadi pula suatu defisiensi jaringan terhadap insulin maupun kerusakan respon sel α

terhadap glukosa dapat lebih diperparah dengan meningkatnya hiperglikemia, dan kedua kerusakan tersebut dapat diperbaiki melalui manuver-manuver teurapetik yang mengurangi hiperglikemia tersebut (Ditjen Bina Farmasi dan Alkes, 2005).

Gejala dan tanda penyakit diabetes mellitus dapat digolongkan menjadi gejala akut dan gejala kronik.

1. Gejala Akut Penyakit Diabetes Mellitus

Gejala yang disebutkan dibawah ini adalah gejala yang umum timbul yaitu polifagia (banyak makan), polidipsia (banyak minum) dan poliuria (banyak kencing). Selain gejala tersebut, gejala lain yang sering timbul adalah nafsu makan mulai berkurang, berat badan turun dengan cepat, mudah lelah dan mual.

2. Gejala Kronik Penyakit Diabetes Mellitus

Gejala kronik yang sering timbul adalah kesemutan, kulit terasa panas atau seperti tertusuk-tusuk jarum, kram, capek, mudah mengantuk, mata kabur, gatal di sekitar kemaluan terutama wanita, gigi mudah goyah dan kemampuan seksual menurun, bahkan impoten dan ibu hamil sering mengalami gangguan/kematian janin dalam kandungan dengan bayi berat lahir lebih dan 4 kg

Karakteristik pada penderita dapat dilakukan dengan pemeriksaan pada kelompok dengan salah satu faktor terjadinya diabetes adalah usia lebih dari 45 tahun, memiliki berat badan lebih dari berat badan relatif (BBR) > 110 % dan berat badan ideal (BBI) atau Index Massa Tubuh (IMT) > 23

kg/m², tekanan darah tinggi atau hipertensi (>140/90 mmHg), riwayat penyakit diabetes karena faktor keturunan, riwayat abortus yang berulang dan melahirkan bayi cacat atau berat badan bayi lahir lebih dari 4000 gram, kolesterol HDL < 35 mg/dl atau kadar trigliserida > 250 mg/dl (PERKENI, 2002). Resiko diabetes mellitus dapat terjadi pada usia lebih dari 40 tahun, obesitas/kegemukan, hipertensi, adanya hisipidemia (gangguan pada lemak) (Sukarji, 2002). Kadar glukosa darah sewaktu dan puasa penderita diabetes dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kadar Glukosa Darah Sewaktu dan Puasa sebagai Patokan Penyaring dan Diagnosis Diabetes Melitus (DM)

		Bukan DM	Belum pasti DM	DM
Kadar glukosa darah sewaktu (mg/dl)	Plasma vena	<100	100-199	>200
	Darah kapiler	<90	90-199	>200
Kadar glukosa darah puasa (mg/dl)	Plasma vena	<100	100-125	>126
	Darah kapiler	<90	90-99	>100

(Sumber: DiPiro dkk., 2005)

D. Mekanisme Kerja Senyawa Aktif pada Tumbuhan untuk Menurunkan Kadar Gula Darah (Suryowinoto, 2005)

Beberapa mekanisme kerja senyawa aktif pada tumbuhan yang dapat menurunkan kadar gula darah adalah sebagai berikut:

1. Mempunyai kemampuan sebagai *astringen* yaitu dapat mempresipitasikan protein selaput lendir usus dan membentuk suatu lapisan yang melindungi usus, sehingga menghambat asupan glukosa sehingga laju peningkatan glukosa darah tidak terlalu tinggi. Beberapa tanaman yang termasuk dalam kelompok ini adalah: alpukat (*Persia americana* Mill.), buncis (*Phaseolus vulgaris*), jagung (*Zea may* L.), jambu biji (*Psidium guajava*

L.), lamtoro atau kemlandingan (*Lecaena glauca sensu Bth.*), mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.), dan salam (*Eugenia polyantha* Wight.).

2. Mempercepat keluarnya glukosa dari sirkulasi, dengan cara mempercepat peredaran darah yang erat kaitannya dengan kerja jantung dan dengan cara mempercepat filtrasi dan ekskresi ginjal sehingga produksi urin meningkat, laju ekskresi glukosa melalui ginjal meningkat sehingga kadar glukosa dalam darah menurun. Beberapa tanaman yang termasuk dalam kelompok ini adalah bawang putih (*Allium sativum* L.), daun sendok (*Plantago mayor* L.), duwet atau jamblang (*Eugenia cumini* L.), keji beling (*Strobilanthus crispus* L), kumis kucing (*Orthosiphon aristatus* L.), dan labu parang (*Cucurbita moschata* L.).
3. Mempercepat keluarnya glukosa melalui peningkatan metabolisme atau memasukkan ke dalam deposit lemak. Proses ini melibatkan pankreas untuk memproduksi insulin. Beberapa tanaman yang termasuk kelompok ini adalah: lidah buaya (*Aloe vera* L.), brotowali (*Tinospora crispa* L.), pare (*Momordica charantia* L.), dan sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees). Hasil penelitian ekstrak kasar buncis (*Phaseolus vulgaris*) memberikan efek hipoglisemik pada kelinci diabetes yang diinduksi aloksan mampu menurunkan kadar glukosa darah sampai 30%. Hasil penelitian pada tikus menunjukkan bahwa ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) 0,5, 1, dan 1,5 g/kg bb dapat menghambat kenaikan kadar glukosa darah.

E. Definisi dan Macam-Macam Ekstraksi

Menurut Departemen Kesehatan RI (2006), ekstraksi adalah proses penarikan kandungan kimia yang dapat larut dari suatu serbuk simplisia, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Beberapa metode yang banyak digunakan untuk ekstraksi bahan alam antara lain:

1. Maserasi

Maserasi adalah proses ekstraksi simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu ruangan. Prosedurnya dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut yang sesuai dalam wadah tertutup. Pengadukan dilakukan dapat meningkatkan kecepatan ekstraksi. Kelemahan dari maserasi adalah prosesnya membutuhkan waktu yang cukup lama. Ekstraksi secara menyeluruh juga dapat menghabiskan sejumlah besar volume pelarut yang dapat berpotensi hilangnya metabolit. Beberapa senyawa juga tidak terekstraksi secara efisien jika kurang terlarut pada suhu kamar (27°C). Ekstraksi secara maserasi dilakukan pada suhu kamar (27°C), sehingga tidak menyebabkan degradasi metabolit yang tidak tahan panas (Departemen Kesehatan RI, 2006).

2. Perkolasi

Perkolasi merupakan proses mengekstraksi senyawa terlarut dari jaringan selular simplisia dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada suhu ruangan. Perkolasi cukup

sesuai, baik untuk ekstraksi pendahuluan maupun dalam jumlah besar (Departemen Kesehatan RI, 2006).

3. Soxhlet

Metode ekstraksi *soxhlet* adalah metode ekstraksi dengan prinsip pemanasan dan perendaman sampel. Hal itu menyebabkan terjadinya pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel. Dengan demikian, metabolit sekunder yang ada di dalam sitoplasma akan terlarut ke dalam pelarut organik. Larutan itu kemudian menguap ke atas dan melewati pendingin udara yang akan mengembunkan uap tersebut menjadi tetesan yang akan terkumpul kembali. Bila larutan melewati batas lubang pipa samping soxhlet maka akan terjadi sirkulasi. Sirkulasi yang berulang itulah yang menghasilkan ekstrak yang baik (Departemen Kesehatan RI, 2006).

4. Refluks

Ekstraksi dengan cara ini pada dasarnya adalah ekstraksi berkesinambungan. Bahan yang akan diekstraksi direndam dengan cairan penyari dalam labu alas bulat yang dilengkapi dengan alat pendingin tegak, lalu dipanaskan sampai mendidih. Cairan penyari akan menguap, uap tersebut akan diembunkan dengan pendingin tegak dan akan kembali menyari zat aktif dalam simplisia tersebut. Ekstraksi ini biasanya dilakukan 3 kali dan setiap kali diekstraksi selama 4 jam (Departemen Kesehatan RI, 2006).

5. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada suhu yang lebih tinggi dari suhu ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada suhu 40-50°C (Departemen Kesehatan RI, 2006).

6. Infusa

Infusa adalah ekstraksi dengan pelarut air pada suhu penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih), suhu terukur (96-98°C) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Departemen Kesehatan RI, 2006).

7. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan suhu sampai titik didih air, yaitu pada suhu 90-100°C selama 30 menit (Departemen Kesehatan RI, 2006).

F. Definisi dan Macam-Macam Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang paling cocok, di luar pengaruh cahaya matahari langsung (Departemen Kesehatan RI, 1979).

Ekstrak berdasarkan sifatnya dapat dibagi menjadi:

1. Ekstrak encer, sediaan yang masih dapat dituang
2. Ekstrak kental, sediaan yang tidak dapat dituang dan memiliki kadar air sampai 30%
3. Ekstrak kering, sediaan yang berbentuk serbuk, dibuat dari ekstrak tumbuhan yang diperoleh dari penguapan bahan pelarut

4. Ekstrak cair, mengandung simplisia nabati yang mengandung etanol sebagai bahan pengawet

G. Cairan Penyari atau Pelarut

Farmakope Indonesia menetapkan bahwa sebagai cairan penyari yang aman digunakan adalah air, etanol, etanol-air atau eter (Kementrian Kesehatan RI, 1986). Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria berikut :

1. Selektivitas
2. Kemudahan bekerja dan proses dengan cairan tersebut
3. Ekonomis
4. Ramah lingkungan
5. Keamanan (Kementrian Kesehatan RI, 2000).

Etanol merupakan golongan alkohol dengan jumlah atom karbon dua dan mempunyai nilai kepolaran 0,68 (Ashurst, 1995). Keuntungan penggunaan etanol sebagai pelarut adalah mempunyai titik didih yang rendah sehingga lebih mudah menguap, oleh karena itu, jumlah etanol yang tertinggal di dalam ekstrak sangat sedikit.

Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, mikrobia sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit. Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin,

kumarin, antrakinon, flavonoid, steroid, damar dan klorofil, dengan demikian zat pengganggu yang terlarut hanya sedikit (Kementrian Kesehatan RI, 1986).

Etanol tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Keuntungan lain dari etanol mampu mengendapkan albumin dan menghambat kerja enzim. Etanol (70%) sangat efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengganggu hanya skala kecil yang turun kedalam cairan pengekstraksi (Kementrian Kesehatan RI, 1986).

H. Metode Pengujian Aktivitas Antidiabetes

Uji antidiabetes dapat dilakukan dengan dua metode sebagai berikut:

1. Metode uji toleransi glukosa

Prinsip metode ini yaitu hewan yang telah dipuasakan $\pm 20-24$ jam diberikan larutan glukosa peroral setengah jam sesudah pemberian sediaan obat yang diuji. Awal percobaan sebelum pemberian obat, dilakukan pengambilan cuplikan darah masing-masing hewan uji untuk dihitung kadar glukosa darah awal, kemudian glukosa darah dihitung kembali pada waktu-waktu tertentu (Kelompok Kerja Ilmiah, 1993).

2. Metode uji diabetes dengan induksi *streptozotocin*

Prinsip dari metode ini yaitu induksi diabetes dilakukan pada mencit yang diberi suntikan *streptozotocin*. Penyuntikan dilakukan secara intraperitoneal. Perkembangan hiperglikemia diperiksa tiap hari. Pemberian obat antidiabetik secara oral dapat menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan mencit positif (Kelompok Kerja Ilmiah, 1993).

I. Deskripsi Mencit (*Mus musculus*) Galur Swiss-Webster

Mencit merupakan hewan yang paling banyak digunakan sebagai hewan model laboratorium dengan kisaran penggunaan antara 40-80%. Menurut Moriwaki dkk. (1994), mencit banyak digunakan sebagai hewan laboratorium (khususnya digunakan dalam penelitian biologi), karena memiliki keunggulan-keunggulan seperti siklus hidup relatif pendek, jumlah anak per kelahiran banyak, variasi sifat-sifatnya tinggi, mudah ditangani, serta sifat produksi dan karakteristik reproduksinya mirip hewan lain, seperti sapi, kambing, domba, dan babi. Menurut Malole dan Pramono (1989), berbagai keunggulan mencit seperti: cepat berkembang biak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya tinggi dan sifat anatomis dan fisiologisnya terkarakterisasi dengan baik.

Galur mencit yang ada saat ini merupakan turunan dari mencit liar hasil dari budidaya selektif. Mencit liar bulunya berwarna keabuan dengan warna perut sedikit pucat, mata berwarna hitam dan kulit berpigmen. Berat badan umumnya bervariasi dan pada umur empat minggu berat badannya mencapai 10-18 g. Mencit laboratorium mempunyai berat badan yang relatif sama dengan mencit liar, dan umumnya berwarna putih dengan jumlah galur yang banyak dan berat badan yang berbeda-beda (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Penampakan mencit laboratorium dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Mencit (*Mus musculus*) galur *Swiss Webster* (Sumber: Anonim, 2007)

Menurut Arrington (1972), kedudukan taksonomi dari mencit adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Sub-Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Sub-Ordo	: Myoimorphia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Mus</i>
Spesies	: <i>Mus musculus</i>

Mencit dapat hidup mencapai umur 1-3 tahun tetapi terdapat perbedaan usia dari berbagai galur terutama berdasarkan kepekaan terhadap lingkungan dan penyakit. Selama hidupnya, hewan ini beranak selama 7-18 bulan dan menghasilkan anak rata-rata 6-10 anak/kelahiran dengan tingkat kesuburan sangat tinggi yaitu dapat menghasilkan kurang lebih satu juta keturunan dalam kurun waktu kurang lebih 425 hari dengan rata-rata jumlah anak 8 ekor per kelahiran. Mencit bila diperlakukan dengan baik akan memudahkan penanganan, sebaliknya perlakuan yang kasar akan menimbulkan sifat agresif bahkan dapat menggigit pada kondisi tertentu. Mencit betina yang sedang menyusui anak akan mempertahankan sarangnya

dan bila anaknya dipegang dengan tangan yang kotor, induknya akan menggigit dan memakan anak tersebut (Malole dan Pramono, 1989).

Zat-zat yang dibutuhkan mencit untuk pertumbuhan hampir sama dengan manusia yaitu karbohidrat yang terdiri dari pati, selulosa, gula, minyak atau lemak terutama linoleat dan linolenat, protein terutama asam amino esensial, mineral-mineral mikro, vitamin-vitamin baik yang larut dalam air maupun larut dalam lemak (Muchtadi, 1989). Tingkat energi dalam ransum menentukan banyaknya ransum yang dikonsumsi. Ransum yang tinggi kandungan energinya harus diimbangi dengan protein, mineral dan vitamin yang cukup untuk ternak, tidak mengalami defisiensi protein vitamin dan mineral (Mujiasih, 1999).

Mencit membutuhkan makanan berkadar protein 22%. Untuk kondisi di Indonesia kebutuhan protein tersebut dapat dipenuhi dari makanan ayam pedaging dengan kadar protein 19%. Seekor mencit dewasa membutuhkan lima gram makanan dan 15 ml air minum bervariasi menurut temperatur kandang, kelembaban, kualitas makanan, kesehatan dan kadar air dalam makanan (Malole dan Pramono, 1989). Menurut Smith dan Mangkuwidjojo (1988) seekor mencit dewasa dapat mengkonsumsi ransum 3-5 g/hari, dengan komposisi ransum adalah protein 17%, lemak 5%, serat kasar 5%, abu 4-5%, juga harus mengandung vitamin A, vitamin D, alfa-tokoferol, piridoksin dan inositol.

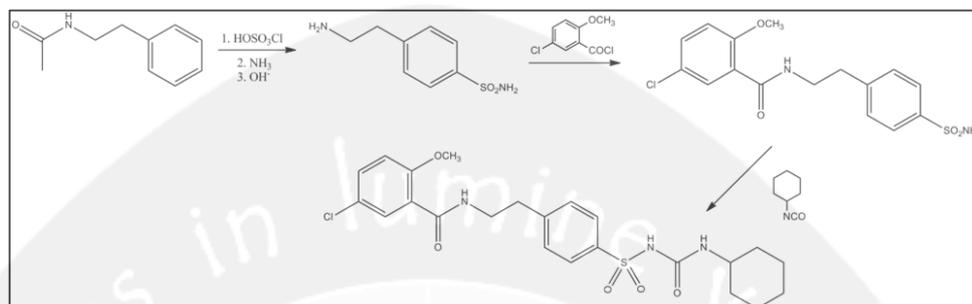
J. Glibenklamid

Sulfonilurea dikenal memiliki dua generasi, generasi 1 terdiri dari tolbutamid, tolazamid, asethoheksimid dan kloropropamid, generasi 2 yang memiliki potensi hipoglikemik lebih besar antara lain gliburid (glibenklamid), glipizid, gliklazid, dan glimepirid. Gliburid (glibenklamid) potensinya 200 kali lebih kuat dari talbutamid, masa paruhnya sekitar 4 jam, metabolismenya di hepar, pada pemberian dosis tunggal hanya 25% metabolismenya diekskresi melalui urin, sisanya melalui empedu. Mekanisme kerja golongan obat ini sering disebut *insulin secretagogues*, kerjanya merangsang sekresi insulin dari granul sel-sel β -langerhans pankreas (Suherman, 2007).

Glibenklamid hanya bermanfaat pada penderita diabetes dewasa yang pankreasnya masih mampu memproduksi insulin. Penggunaan per oral glibenklamida diabsorpsi sebagian secara cepat dan tersebar ke seluruh cairan ekstra sel, sebagian besar terikat dengan protein plasma. Glibenklamid diekskresikan bersama feses dan sebagai metabolit bersama urin. Dosis glibenklamid 5 mg, dosis total 15 mg/hari, dosis tunggal maksimal 10 mg (Ikatan Apoteker Indonesia, 2010). Waktu mencapai konsentrasi maksimal dalam darah (T max) glibenklamid adalah 3 jam (Prashanth dkk., 2011).

Sintesis glibenklamid berasal dari *N-acetyl* turunan β -phenethylamine yang bereaksi dengan *chlorosulfonic acid* dan membentuk *para sulfonyl chloride derivative*. Senyawa tersebut mengalami ammonolysis dan katalisasi oleh basa untuk menghilangkan acetamid. Kemudian, terasilasi dengan *2-methoxy-5-chlorobenzoic acid chloride* untuk memberikan *amide intermediate*. Senyawa yang terbentuk bereaksi dengan *cyclohexyl isocyanate*

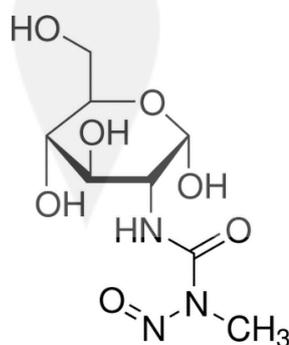
dan menghasilkan sulfonilurea glibenklamid (Hsi, 2006). Reaksi pembentukan (sintesis) glibenklamid dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Sintesis Glibenklamid (Sumber: Hsi, 2006)

K. *Streptozotocin* (STZ)

Streptozotocin memiliki rumus kimia (2-deoxy-2(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose)) dengan struktur kimia yang dapat dilihat pada Gambar 4. *Streptozotocin* disintesis oleh *Streptomyces acrhomogenes* (Szkudelski, 2001) dan sering digunakan sebagai induksi *insulin-dependent* dan *non-insulin-dependent diabetes mellitus* karena selektif merusak sel β pankreas (Pathak dkk., 2008). *Streptozotocin* masuk ke sel β pankreas melalui *glucose transporter* (GLUT2) dan akan menyebabkan alkilasi DNA. Alkilasi atau masuknya gugus metil dari STZ ke dalam molekul DNA ini akan menyebabkan kerusakan fragmentasi DNA (Elsner dkk., 2000).



Gambar 4. Struktur Kimia *Streptozotocin* (Sumber: Anonim, 2013)

Streptozotocin masuk ke dalam sel β pankreas melalui GLUT2 dan menyebabkan alkilasi DNA (Pathak dkk., 2008). Kerusakan DNA yang diinduksi STZ akan mengaktifkan *poly ADP-ribosylation*. Proses ini akan mengurangi NAD⁺, selanjutnya dapat mengurangi ATP dan pada akhirnya menghambat sekresi dan menurunkan sintesis insulin (Szkudelski, 2001). STZ dalam mekanisme kerjanya lebih lanjut membebaskan sejumlah NO yang menghambat aktivitas *aconitase* dan berperan dalam kerusakan DNA (Pathak dkk., 2008).

Injeksi STZ dengan dosis yang tepat pada mencit jantan dewasa dapat menyebabkan kerusakan sel β pankreas dan menginduksi DM dalam 2-4 hari (Akbarzadeh dkk., 2007). Diagnosis DM dapat ditegakkan apabila dalam 2-4 hari *post* induksi STZ kadar glukosa darah sewaktu dalam plasma ≥ 200 mg/dL (Gustaviani, 2007). Kemampuan diabetogenik STZ melalui mekanisme perusakan sel β pankreas.

L. Hipotesis

1. Ekstrak daun wani mampu menurunkan kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) jantan galur *Swiss-Webster* yang diinduksi *streptozotocin*.
2. Ekstrak etanol daun wani dengan dosis 250 mg/kgBB menurunkan kadar gula darah paling baik.