

**EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL RIMPANG PACING
(*Costus speciosus*) DALAM MENURUNKAN KADAR GLUKOSA DARAH
DAN KOLESTEROL MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

(Tesis)

**Oleh:
ANA TRIANA MAIYAH**



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

ABSTRAK

EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL RIMPANG PACING (*Costus speciosus*) DALAM MENURUNKAN KADAR GLUKOSA DARAH DAN KOLESTEROL MENCIT JANTAN (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Oleh

Ana Triana Maiyah

Pada tahun 2015, jumlah penderita Diabetes mellitus (DM) Indonesia menduduki peringkat ketujuh di dunia. Saat ini, pengobatan DM memiliki efek samping yang tidak diinginkan yang menyebabkan terjadinya peningkatan penggunaan obat antidiabetes baru berupa tanaman obat. Di India, *Costus speciosus* digunakan sebagai tanaman antidiabetes. Kemampuan *C. speciosus* sebagai obat diabetes disebabkan oleh kandungan diosgenin yang terdapat di dalamnya. Di Indonesia tanaman *C. speciosus* dikenal sebagai pacing. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol rimpang pacing terhadap kadar glukosa darah dan kolesterol mencit jantan yang diinduksi aloksan dan dampak yang ditimbulkannya terhadap kerusakan hati dan pankreas mencit. Disain yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 6 kelompok perlakuan, masing-masing terdiri dari 5 ulangan, Kelompok I adalah kelompok kontrol tidak diberi perlakuan apapun. Kelompok II adalah kelompok kontrol diabetes yaitu hewan yang diberi induksan aloksan. Kelompok III, IV, dan V adalah kelompok perlakuan hewan yang diberi induksan aloksan dan kemudian diberi ekstrak etanol rimpang pacing dengan dosis 10 mg/100 gram BB/hari, 20 mg/100 gram BB/hari dan 30 mg/100 gram BB/hari. Kelompok VI adalah kelompok perlakuan hewan yang diberi induksan aloksan dan kemudian diberi larutan metformin dengan dosis 19,5 mg/100 gram BB/hari. Metformin adalah obat anti diabetes oral untuk penderita DM tipe 2 yang direkomendasikan dokter. Data dianalisis dengan *One Way Anova*, Uji Fisher pada α 5%, dan Uji *Kruskal Wallis*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa diosgenin dari ekstrak etanol rimpang pacing mampu menurunkan kadar glukosa dan kolesterol darah secara signifikan serta mampu memperbaiki jaringan hati dan memberikan efek protektif terhadap organ pankreas mencit bahkan pada dosis 10 mg/gram BB/hari.

Kata Kunci: Pacing (*C. speciosus*), diosgenin, glukosa darah, mencit (*Mus musculus*)

ABSTRACT

EFFECTIVENESS OF ETHANOL EXTRACT RHIZOMES PACING (*Costus speciosus*) IN LOWERING BLOOD GLUCOSE LEVELS AND CHOLESTEROL MALE MICE (*Mus musculus*) INDUCED BY ALLOXAN

By

Ana Triana Maiyah

Diabetes is increasing at an alarming rate in Indonesia as there are approximately 10 million diabetic patients in Indonesia and rank 7th in the world. Recently, antidiabetic agents of plant origin such as *Costus speciosus* have gained attention of scientist due to unwanted side effects with other pharmacologic antidiabetic drugs. *C.speciosus* is indigenous plant in Indonesia, commonly known as “pacing” and has shown antidiabetic properties. Keeping this in view, the present study was designed to study the ameliorative effects of *C. speciosus* on blood glucose, cholesterol, pancrease and liver in alloxan induced diabetic mice. Experimental mice were divided into six groups with five replicates and identified as follows: normal or control negative (group I), diabetic untreated or control positive (group II), diabetic treated with ethanolic extract of *C.speciosus* (group III,IV,V) and diabetic treated with reference drug metformin (group VI). Mice in all groups were intoxicated with alloxan to induce diabetes except group I which acted as negative control. Mice in the group III, IV and V were treated with ethanolic extract of *C. speciosus* at a dose rate of 10,20 and 30 mg/100g bw/day respectively while mice in group VI were treated with metformin at a dose rate of 19.5mg/100g bw/day. Mice treated with ethanolic extract of *C. speciosus* showed significant lower level ($P<0.05$) of blood glucose and cholesterol and also significantly reduced ($P<0.05$) macroscopic and microscopic pathological lesions in pancrease and liver. The result of this study highlight that ethanolic extract of *C. speciosus* could ameliorate negative effects of diabetes on the histologic structure of pancrease, liver, even in small doses than 10 mg/100 bw/days

Keywords: Pacing (*C. Speciosus*), blood glucose, mice (*Mus musculus*)

**EFEKTIVITAS EKSTRAK PEKAT RIMPANG PACING
(*Costus speciosus*) DALAM MENURUNKAN KADAR GLUKOSA DARAH
DAN KOLESTEROL MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)
YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh

ANA TRIANA MAIYAH

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
MAGISTER SAINS

Pada

**Program Studi Magister Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan alam
Universitas Lampung**



**PROGRAM PASCASARJANA MAGISTER BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

Judul Tesis

**: EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL
RIMPANG PACING (*Costus speciosus*)
DALAM MENURUNKAN KADAR GLUKOSA
DARAH DAN KOLESTEROL MENCIT
JANTAN (*Mus musculus*) YANG
DIINDUKSI ALOKSAN**

Nama Mahasiswa

: Ana Triana Maiyah

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1427021002

Program Studi

: Magister Biologi

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Endang Linirin Widhiastuti, Ph.D.

NIP 19610611 198603 2 001

Dr. Sutyarso, M.Biomed.

NIP 19570424 198703 1 001

2. Ketua Program Studi Magister Biologi

Dr. Sumardi, M.Si.

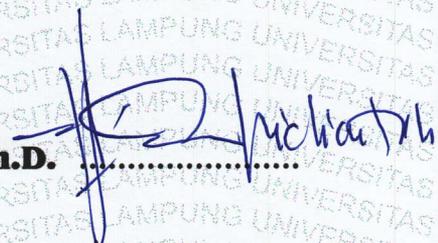
NIP 19650325 199102 1 003

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

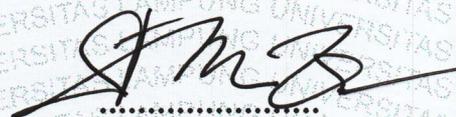
Ketua

: Endang Linirin Widiastuti, Ph.D.



Sekretaris

: Dr. Sutyarso, M.Biomed.



Penguji

Bukan Pembimbing

: Dr. G. Nugroho Susanto, M.Sc.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

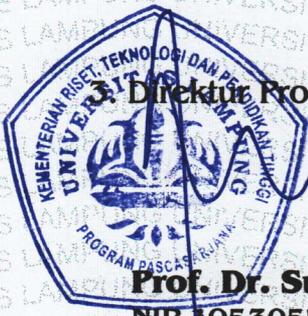


Prof. Warsito, S.Si., DEA., Ph.D.

NIP 19710212 199512 1 001

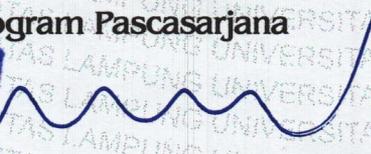


3. Direktur Program Pascasarjana



Prof. Dr. Sudjarwo, M.S.

NIP 19530528 198103 1 002



Tanggal Lulus Ujian Tesis : 7 April 2016

PERNYATAAN KEASLIAN HASIL KARYA

Saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Ana Triana Maiyah

NPM : 1427021002

Dengan ini menyatakan bahwa apa yang tertulis dalam karya ilmiah ini adalah hasil karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini tidak berisi material yang telah dipublikasikan sebelumnya atau dengan kata lain bukan hasil plagiat karya orang lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dan dapat dipertanggungjawabkan. Apabila dikemudian hari terdapat kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 20 April 2016
Pembuat pernyataan



Ana Triana Maiyah
NPM. 1427021002

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 20 Desember 1975 yang merupakan anak ketiga pasangan Hi Harun Nasai SH (alm) dan Ibu Siti Arkiah. Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-kanak di TK Trisula 1 Bandar Lampung pada tahun. Sekolah Dasar diselesaikan di SD Negeri 2 Teladan, Rawa Laut Bandar Lampung pada tahun 1989. Sekolah Menengah Pertama di selesaikan di SMP Negeri 2 Bandar Lampung pada tahun 1991. Sekolah Menengah Atas di selesaikan di SMA Negeri 2 Bandar Lampung pada tahun 1994. Sarjana Pendidikan Biologi Fakultas Pendidikan dan Ilmu Pengetahuan Universitas Lampung diselesaikan pada tahun 1998. Saat ini Penulis bekerja sebagai PNS di SMA Negeri 2 Kalianda sejak tahun 2000. Penulis menikah dengan Rudi Topan pada tahun 2002 dan dikaruniai 2 orang putra bernama Muhammad Reifan Al Fatih dan Muhammad Khafi Rafanka.

Pada tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Program Studi Magister Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung, Bandar Lampung.

MOTTO

*“If you are hardworking and honest, then money and respect
are bound to follow you”*

dr. Sajid Umar, D.V.M. Ph.D.

*Don't judge me until you know me, don't underestimate me
until you challenge me, don't talk about me until you talk to me*

dr. Altaf Choudary

PERSEMBAHAN

*Ku persembahkan karya ini sebagai cinta kasihku, tanda baktiku, serta rasa terimakasihku
yang terdalam kepada
Suamiku Rudi Topan,
anak-anakku Muhammad Reisan Al Fatih dan Muhammad Khafi Rafanika,
Ibuku dan almarhum ayah Ai. Harun SA*

SANWACANA

Alhamdulillah puji syukur kehadiran ALLAH SWT yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang karena atas rahmat dan karunia-Nya, penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul **“Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Pacing (*Costus speciosus*) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah dan Kolesterol Mencit Jantan (*Mus musculus*) yang Diinduksi Aloksan”**. Ucapan terimakasih dan penghargaan yang sebesar-besarnya penulis tujukan kepada semua yang telah membantu sejak memulai kegiatan sampai terselesaikannya tesis ini, ucapan tulus penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Endang Linirin Widiastuti, Ph.D, selaku pembimbing I dan selaku pembimbing akademik yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, semangat, ilmu, arahan, ide, saran, dan kritik dengan penuh kesabaran selama penulisan tesis ini.
2. Bapak Dr. Sutyarso, M.Biomed, selaku pembimbing II yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, semangat, ilmu, arahan, ide, saran, dan kritik dengan penuh kesabaran selama penulisan tesis ini.
3. Bapak Dr. G. Nugroho M.Sc, selaku pembahas, atas saran, kritik, ilmu serta dukungan yang telah diberikan sehingga tesis ini terselesaikan.

4. Bapak Dr. Sumardi, M.Si, selaku ketua program studi magister biologi FMIPA Universitas Lampung, atas dukungan, saran, kritik, serta masukan yang telah diberikan sehingga saya dapat menyelesaikan pendidikan ini.
5. Bapak Prof. Dr. Ir. Sudjarwo, M.S., selaku Direktur Program Pascasarjana Universitas Lampung.
6. Bapak Prof. Warsito, S.Si., D.E.A., Ph.D, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung
7. Suamiku, TB Rudi Topan dan anak-anakku, Fatih dan Rafa, atas dukungan tiada henti dalam setiap kondisi.
8. My best friend, dr. Sajid Umar D.V.M., Ph.D, from National Veterinary School of Toulouse France for support, sharing and helping to get some articles for my research as well as to publish my article in international journal.
9. Bunda dan almarhum ayah, atas doa dan harapannya agar penulis melanjutkan pendidikan yang lebih tinggi.
10. Bapak dan Ibu dosen, staf beserta laboran Jurusan Biologi FMIPA Unila atas ilmu dan pengalaman yang telah diberikan kepada penulis
11. drh Joko Susilo, drh. Joko Siswanto, mas Bayu, dan mbak heni dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Lampung Regional III, atas bantuannya dalam histopatologi.
12. Mahmud Rudini S.Pd. dan Ria Laila, atas kerjasamanya yang kompak sebagai partner selama melakukan penelitian.
13. Ayuk Atin dan Bang Hersa, Ayuk Ida, dan Adikku Emmy atas doa dan dukungannya yang tulus kepada penulis

14. Drs. Khoiruddin, selaku Kepala SMAN 2 Kalianda, Herwansyah S.Pd, selaku Waka Kurikulum atas izin yang diberikan kepada penulis hingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan dan menjalani penelitian tanpa hambatan.
15. Sahabat-sahabatku di tempat mengajar, SMAN 2 Kalianda, sist Amy, sist Yeti, Jeng Sri, Bu Nelva, Bu Ris, Bu Nana, Noni dll yang sangat mendukung penulis dalam menempuh pendidikan di Program Studi Magister Biologi.
16. Teman-teman seangkatan pada Magister Biologi 2014 FMIPA Universitas Lampung, Rudi, Indah, Ajeng, dan Firdaus yang tergabung dalam coral reefs group, serta Bu Eko, Mbak Pit, Mbak Hesti, Bu April, Ratih, Fahrul, dan Gardis atas kebersamaan selama menempuh pendidikan di semester-semester awal.
17. Semua pihak yang telah banyak membantu dalam proses perkuliahan, yang tidak dapat dituliskan satu-persatu di tesis ini.
18. Almamater tercinta Universitas Lampung

Penulis berharap semoga Allah SWT membalas kebaikan yang telah mereka berikan. Dan semoga tesis ini bermanfaat bagi kita semua. Amin Ya Rabbal Alamin.

Kalianda, April 2016
Penulis

Ana Triana Maayah

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang dan Masalah	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Kerangka Pemikiran	5
D. Hipotesis	6
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. <i>Diabetes Mellitus</i>	7
1. <i>Diabetes Mellitus</i> Tipe 1	8
2. <i>Diabetes Mellitus</i> Tipe 2	9
3. <i>Gestational Diabetes Mellitus</i> (GDM)	12
4. Komplikasi <i>Diabetes Mellitus</i>	12
5. Kriteria Diagnosis <i>Diabetes Mellitus</i>	13
B. Pacing (<i>Costus speciosus</i>)	13
1. Klasifikasi Tumbuhan	13
2. Deskripsi Tumbuhan	14
3. Kandungan Kimia Rimpang Pacing (<i>Costus speciosus</i>)	16
4. Kegunaan Rimpang Pacing (<i>Costus speciosus</i>)	17
C. Diosgenin dan Pengaruhnya terhadap Diabetes	18
D. Mencit (<i>Mus musculus</i>)	20
E. Hati	23

F. Pankreas	24
G. <i>Metformin Hydrochloride</i> Tablet	25
H. <i>Alloxan monohidrat</i>	26

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian	28
B. Alat dan Bahan	28
1. Alat-alat Penelitian	28
2. Bahan-bahan Penelitian	29
C. Metode Penelitian	30
D. Pelaksanaan Penelitian	31
1. Ekstraksi Diosgenin dari Etanol Rimpang Pacing	31
2. Hewan Uji	34
3. Induksi Aloksan	34
4. Dosis Pemberian Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing.....	35
5. Kadar Glukosa Darah dan Kolesterol Total	36
6. Berat Badan Mencit	37
7. Preparat Histopatologi	37
E. Analisis Data	38

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi dan Identifikasi Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing	40
B. Peran Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing terhadap Perubahan Berat Badan Mencit	41
C. Peran Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Mencit.....	43
D. Peran Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing dalam Menurunkan Kadar Kolestrol Darah Mencit	45
E. Peran Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing terhadap Jaringan Hati Mencit	48
1. Perubahan Seluler Degenerasi Melemak Hepatosit.....	50
2. Perubahan Seluler Nekrosis Hepatosit.....	56
3. Perubahan Seluler Hemoragi Hepatosit.....	60

4. Perubahan Seluler Radang Hepatosit.....	63
F. Peran Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing terhadap Jaringan Pankreas Mencit	68

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan	78
B. Saran	78

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Data Biologis Mencit di Laboratorium	22
Tabel 2. Bahan Dasar Pakan Mencit	34
Tabel 3. Skor Penilaian Derajat Kerusakan Histopatologi	38
Tabel 4. Rata-rata Selisih Berat Badan Mencit	42
Tabel 5. Rata-rata Kadar Glukosa Darah Mencit	43
Tabel 6. Rata-rata Kadar Kolesterol Darah Mencit	46
Tabel 7. Perubahan Seluler Hepatosit Mencit	48
Tabel 8. Perubahan Seluler Pankreas Mencit	69

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema Respon Pankreas Terhadap Insulin Dalam Tubuh Normal Dan Penderita Diabetes	8
Gambar 2. Pacing (<i>Costus speciosus</i>)	13
Gambar 3. Struktur Molekul Diosgenin	16
Gambar 4. Mencit (<i>Mus musculus</i>)	21
Gambar 5. Jaringan Hati Normal	24
Gambar 6. Jaringan Pankreas Normal	25
Gambar 7. Struktur <i>Metformin Hydrochloride</i>	26
Gambar 8. Struktur <i>Alloxan Monohidrat</i>	27
Gambar 9. Alur Ekstraksi Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing (<i>Costus speciosus</i>)	33
Gambar 10. Alur Penelitian	39
Gambar 11. Kristal Diosgenin	40
Gambar 12. Hasil Uji Kualitatif Diosgenin	40
Gambar 13. Perubahan Rata-rata Berat Badan Mencit (g) pada Tiap Kelompok Perlakuan	41
Gambar 14. Histopatologi Hati Kelompok Kontrol	48
Gambar 15. Perubahan Seluler Degenerasi Melemak Hepatosit	50

Gambar 16. Degenerasi Melemak yang terjadi Pada Kelompok Kontrol (A), Kelompok Kontrol Diabetes (B), Kelompok Perlakuan Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing Dosis 10 mg(C), 20 mg (D), 30 mg (E) dan Kelompok Perlakuan Metformin (F)	52
Gambar 17. Perubahan Seluler Nekrosis Hepatosit	57
Gambar 18. Perubahan Seluler Pada Kelompok Kontrol Diabetes	57
Gambar 19. Perubahan Seluler Nekrosis yang terjadi pada Kelompok Kontrol Diabetes	58
Gambar 20. Perubahan Seluler Nekrosis yang terjadi Pada Kelompok Perlakuan Pemberian diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing Dosis 10 mg (A), 20 mg (B), 30 mg (C) dan metformin (D)	59
Gambar 21. Perubahan Seluler Hemoragi Hepatosit	60
Gambar 22. Perubahan Seluler Hemoragi pada Kontrol Diabetes (A dan B)	61
Gambar 23. Perubahan Seluler Hemoragi pada Perlakuan Pemberian Diosgenin dari Ekstrak Rimpang Pacing Dosis 20 mg (A), 30 (B), Kelompok Perlakuan Metformin Perbesaran 400 X (C) dan Perbesaran 100 X (D)	62
Gambar 24. Perubahan Seluler Radang Hepatosit	63
Gambar 25. Sel-sel radang (RD) disekitar Vena Sentralis (A) dan pada Parenkim Hati (B) pada Kelompok Kontrol Diabetes	64
Gambar 26. Regenerasi Seluler Hepatosit pada Perlakuan Pemberian Diosgenin yang Diambil dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing Dosis 10 Mg, pada Perbesaran 100 X (A) Dan 400 X (B) ...	65
Gambar 27. Sel-sel Radang (RD) pada Kelompok Perlakuan Metformin (A) dan Sel-sel Radang pada Kelompok Perlakuan Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing Dosis 20 mg	67
Gambar 28. Perubahan Seluler Pankreas Mencit	69
Gambar 29. Perubahan seluler pada pankreas kelompok kontrol (A), kelompok kontrol diabetes (B), kelompok diosgenin dari ekstrak etanol rimpang pacing dosis 10 mg(C), dosis 20 mg (D), 30 mg (E) dan kelompok metformin (F)	71

Gambar 30. Perubahan Berlemak / <i>Fatty Change</i> (FC) pada Pankreas Kelompok Kontrol Diabetes	74
Gambar 31. Perubahan Seluler pada Pankreas Kelompok Pemberian Metformin	74
Gambar 32. Kerusakan pada pulau Langerhans pankreas kelompok perlakuan pemberian metformin berupa Perubahan Berlemak (A) dan sel-sel Radang (B)	75

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang dan Masalah

Data Kementerian Kesehatan RI pada tahun 2013 menunjukkan bahwa proporsi penyebab kematian di Indonesia pada orang-orang yang berusia kurang dari 70 tahun yaitu akibat penyakit kardiovaskular yang menjadi penyebab terbesar (39%), diikuti oleh kanker (27%), penyakit pernafasan kronis, pencernaan kronis dan penyakit tidak menular lainnya (30%) dan diabetes (4%). Data kematian pada penderita *diabetes mellitus* di Indonesia sebesar 74,3 % berasal dari pasien *diabetes mellitus* yang tidak bergantung pada insulin (DMT2) dan 25,7 % selebihnya merupakan penderita *diabetes mellitus* yang bergantung pada insulin (DMT1) (Kementerian Kesehatan RI, 2013). Kematian pada penderita diabetes tertinggi disebabkan oleh hiperglikemia, yang diikuti dengan hipertensi, hiperkolesterol, penyakit jantung dan stroke, yang semuanya merupakan akibat dari naiknya kadar gula darah (IDF, 2015).

Pada tahun 2013, Indonesia memiliki sekitar 8,5 juta penderita diabetes yang merupakan ke-4 jumlah terbanyak di Asia dan nomor-7 di dunia. Tahun 2015 penderita diabetes Indonesia telah mencapai 10 juta walaupun masih menduduki peringkat ke-4 terbanyak di Asia dengan rentang usia penderita diabetes sekitar 20-79 tahun (IDF, 2015).

Hiperglikemia pada penderita diabetes diakibatkan oleh pengaturan homeostasis glukosa yang tidak berjalan sempurna. *Hiperglikemia* ini jarang berdiri sendiri, hampir selalu didampingi oleh beberapa kelainan lain seperti *hipertensi*, *dislipidemia*, *obesitas*, *hiperkolesterol*, penyakit jantung dan stroke, *retinopathy* penyebab *kebutaan*, *nefropathy* penyebab utama gagal ginjal dan *ulserasi* yang menyebabkan kaki terpaksa diamputasi. Fenomena ini secara klinis dikenal sebagai *sindroma resistensi insulin* yang menjadi pusat perhatian secara global karena diabetes berperan dalam terbentuknya berbagai penyakit degeneratif ini (IDF, 2015).

Saat ini, pengobatan diabetes diutamakan untuk mengurangi *hiperglikemia*. Namun, karena efek samping yang tidak diinginkan menjadikannya sebagai hambatan utama sehingga menyebabkan adanya peningkatan akan permintaan untuk agen antidiabetes baru. Eksplorasi untuk menemukan antidiabetes baru yang diharapkan tidak memiliki efek samping dilakukan salah satunya dengan eksplorasi tanaman obat. Tanaman obat dianggap merupakan sumber yang belum banyak dijelajahi sebagai obat antidiabetes yang ampuh (Ghosh *et al*, 2014).

Bhogaonkar *et al* (2012) mengatakan bahwa masih banyak tanaman yang tidak diketahui dan kurang dikenal namun digunakan masyarakat dalam praktek pengobatan misalnya yang dilakukan oleh beberapa suku di India, salah satunya adalah *Costus speciosus* yang disebutkan dalam literatur *Ayurvedic* (Ilmu pengobatan tradisional India) sebagai tanaman antidiabetes. Kemampuan *C.speciosus* sebagai obat diabetes disebabkan oleh kandungan diosgenin yang terdapat di dalamnya. Pawar (2014) mengatakan diosgenin berhasil diisolasi dari

rim pang *C. speciosus* sebesar 3,37%. Revathy *et al* (2014) menyebutkan jika *C. speciosus* merupakan sumber diosgenin yang digunakan dalam banyak obat-obatan manusia.

Mc Anuff *et al* (2005) mengatakan diosgenin yang terkandung di dalam *Bitter Yam* (*Dioscorea polygonoides*) secara signifikan menurunkan glukosa plasma pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin dibandingkan dengan kontrol tikus diabet. Basch *et al* (2007) mengatakan bahwa diosgenin yang terkandung dalam *fenugreek* (*Trigonella foenum-graecum*) memiliki peran penting dalam pengendalian penyakit metabolik seperti *diabetes mellitus* dan obesitas. Uemura *et al* (2010) mengatakan diosgenin yang terkandung dalam *fenugreek* (*Trigonella foenum-graecum*) dapat menurunkan ukuran sel adiposit pada tikus obesitas *diabetes mellitus* dan menunjukkan diferensiasi peningkatan sel adiposit yang mengarah pada menurunnya akumulasi adiposit lipid. Ghosh *et al* (2014) mengatakan bahwa diosgenin yang berasal tanaman *fenugreek* (*Trigonella foenum graecum*, *Leguminosea*), memiliki properties antidiabetes. Suplementasi diosgenin menghasilkan efek *hipoglikemik* yang bekerja dengan meningkatkan pemanfaatan glukosa perifer, mengkoreksi gangguan glikolisis hati dan membatasi pembentukan *glukoneogenik* yang bekerja mirip dengan hormon insulin.

Di Indonesia tanaman *C. speciosus* dikenal sebagai *pacing* yang ditanam penduduk sebagai tanaman hias atau tumbuh liar ditempat tempat lembab dengan sedikit naungan. Tanaman ini dikenal berkhasiat sebagai obat luar yaitu luka gigitan ular atau gigitan serangga, obat demam, disentri, dan radang selaput lendir

mata serta sebagai antifertilitas (Wijayakusuma *et al*, 2014). Diosgenin pada *C. speciosus* yang terdapat di Indonesia berhasil diisolasi oleh Wunas *et al* pada tahun 1983 dan diperoleh diosgenin dalam rimpangnya sebesar 3,03%. Tujuan isolasi diogenin pada saat itu adalah untuk memperoleh diosgenin sebagai antifertilitas namun khasiat diosgenin pada pancing sebagai antidiabetes dan antikolesterol belum banyak diketahui masyarakat Indonesia.

Penderita diabetes saat ini banyak yang menggunakan metformin untuk menurunkan glukosa darahnya. *Metformin hydrochloride* adalah obat antihiperqlikemia oral yang digunakan untuk mengobati DMT2. Metformin dapat membantu mengontrol jumlah glukosa darah dan meningkatkan respons tubuh terhadap insulin. Metformin tersedia dalam obat generik yang diresepkan dokter pertama kali pada pasien yang didiagnosa menderita DMT2 (HJL, 2016).

B. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui efek ekstrak etanol rimpang pancing (*C. speciosus*) terhadap glukosa darah dan kolesterol pada mencit jantan (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan.
2. Untuk mengetahui dampak yang ditimbulkan dari pemberian ekstrak etanol rimpang pancing terhadap kerusakan sel hati dan pankreas mencit.

C. Kerangka Pemikiran

Diabetes melitus tipe 2 disebabkan oleh terjadinya resistensi insulin perifer dan akibat berkurangnya sekresi insulin. Resistensi insulin merupakan ciri yang ditunjukkan dengan menurunnya sensitivitas metabolisme insulin. Terjadinya DMT2 disebabkan oleh kegagalan jaringan target insulin seperti otot dan jaringan adiposa untuk merespon insulin yang akhirnya mengarah kepada disfungsi sel β pankreas dan hiperglikemia. Mekanisme penyebab terjadinya resistensi ini, diduga karena adanya obesitas sentral sebagai faktor predisposisi dalam kaitannya dengan sekret sel adiposa yang dapat merusak toleransi glukosa. Obesitas sentral menyebabkan meningkatnya metabolisme yang kemudian menyebabkan sel normal pankreas merespon dengan meningkatkan kerja sel β . Stimulasi terus-menerus dari sel β pankreas untuk meningkatkan *gluco/lipotoksisitas* menyebabkan akumulasi protein secara berlipat pada *retikulum endoplasma* (RE) sehingga menyebabkan RE mengalami stress, sel-sel dalam hati dan pankreas mengalami kerusakan bahkan kematian, dan akhirnya menyebabkan disfungsi sel β pankreas.

Diosgenin adalah sapogenin steroid yang merupakan hidrolisat dari dioscin yang dapat ditemukan dari berbagai tumbuhan. Diosgenin yang ditemukan dari tumbuhan *Trigonella foenum-graecum* diduga mampu menyebabkan homeostasis glukosa dan mempengaruhi kontrol sistemik glukosa dengan kemampuannya memanfaatkan glukosa seluler berlebih melalui kegiatan peningkatan kerja enzim *lipogenik glikolitik* dalam ginjal. Diosgenin dari *T. foenum-graecum* mampu melindungi sel β pankreas dari kematian dan kerusakan, menurunkan α amilase dan maltase, yang menyebabkan penurunan tingkat glukosa darah. Perubahan

enzim yang dilakukan oleh diosgenin berpotensi menghambat metabolisme lipid dan penyerapannya sehingga dapat meningkatkan kepekaan pankreas terhadap insulin, dengan demikian mampu meningkatkan sekresi insulin pankreas.

Diosgenin yang ditemukan dari *Dioscorea polygenoides* menunjukkan sifat hipoglikemik dalam percobaan sehingga bermanfaat dalam pengobatan DMT2.

Diosgenin dari *Dioscorea bulbifera* mampu menghambat aktivitas α amilase dan α glukosidase dalam pengobatan DMT2.

Pacing mengandung diosgenin terutama dalam rimpangnya. Penelitian di India menunjukkan jika diosgenin yang ditemukan pada pacing memiliki aktivitas antihiperqlikemia dan antikolesterol. Dalam jurnal penelitian India, dikatakan jika pacing dapat digunakan dalam pengobatan DMT2. Tanaman pacing juga banyak terdapat di Indonesia dan juga memiliki kandungan diosgenin di dalamnya.

Dengan demikian pacing dari Indonesia juga dapat menurunkan kadar gula darah dan kolesterol dan diharapkan dapat digunakan dalam pengobatan DMT2

D. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian adalah:

1. Pemberian ekstrak etanol rimpang pacing dapat menurunkan kadar glukosa dan kolesterol darah mencit yang telah diinduksi aloksan.
2. Diosgenin yang terkandung dalam ekstrak etanol rimpang pacing efektif dalam memperbaiki kerusakan sel hati dan pankreas.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *Diabetes Melitus*

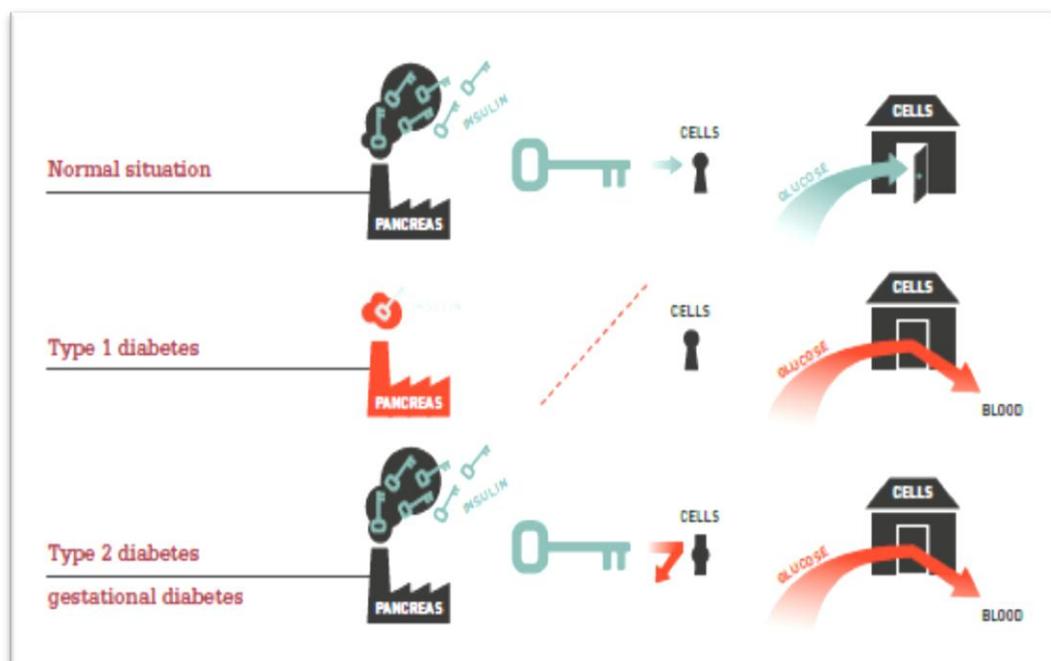
Diabetes melitus adalah penyakit kronis yang terjadi ketika tubuh tidak dapat memproduksi cukup insulin atau tidak dapat menggunakan secara efektif. Insulin bertindak sebagai kunci yang memungkinkan sel-sel tubuh mengambil glukosa dan menggunakannya sebagai energi. Hormon insulin diproduksi di pankreas yang memungkinkan glukosa dari makanan untuk memasuki sel-sel tubuh di mana ia diubah menjadi energi yang dibutuhkan oleh otot dan jaringan agar berfungsi (IDF, 2013).

Seseorang dengan diabetes tidak dapat menyerap glukosa benar, dan glukosa tetap beredar di darah (kondisi yang dikenal sebagai *hiperglikemia*) akibatnya jaringan-jaringan tubuh rusak dari waktu ke waktu. Kerusakan ini dapat menyebabkan jaringan dan berbagai organ menjadi nonaktif sehingga menyebabkan komplikasi kesehatan yang mengancam jiwa. Diabetes dapat memprovokasi kerusakan pada mata, ginjal, kaki dan hati, yang jika tidak diobati akan mengakibatkan kematian dini. Hal ini berkaitan dengan adanya peningkatan glukosa di dalam darah pasien (IDF, 2013).

Sebagai hasil dari sejumlah besar penelitian ilmiah dalam memahami terjadinya DM, terdapat tiga bentuk utama dari penyakit ini yang telah diidentifikasi; tipe 1,

tipe 2, dan *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM). Setiap individu akan mengalami peningkatan kadar glukosa darah, yang merupakan ciri dari penyakit diabetes. Namun, etiologi untuk setiap klasifikasi diabetes secara fisiologis berbeda (De Silvieira, 2011).

Perbedaan antara individu normal dengan penderita tipe 1 dan 2 diabetes dalam merespon insulin dan pengaturan gula darah dapat dilihat dari skema dibawah ini.



Gambar 1. Skema respon pankreas terhadap insulin dalam tubuh normal dan penderita diabetes (Sumber: IDF, 2013)

1. *Diabetes melitus tipe 1*

Diabetes melitus tipe 1, diabetes anak-anak (bahasa Inggris: *childhood-onset diabetes, juvenile diabetes, insulin-dependent diabetes mellitus*) adalah diabetes yang terjadi karena berkurangnya rasio insulin dalam sirkulasi darah akibat hilangnya sel β penghasil insulin pada pankreas. Kondisi ini sebagian besar merupakan konsekuensi dari penghancuran sel-sel β pankreas oleh limfosit T atau

sel T individu itu sendiri. Serangan autoimun ini secara sistematis akan menghancurkan sel-sel β pankreas, akibatnya pankreas tidak dapat menghasilkan insulin secara normal untuk penyerapan glukosa ke jaringan dari aliran darah. Penyebab lain berkurangnya produksi insulin adalah mutasi pada genom mitokondria dalam sel β pankreas (De Silvieira, 2011).

Penderita DMT1 hanya dapat bertahan hidup dari suntikan insulin sepanjang hidupnya. DMT1 dapat diderita oleh anak-anak maupun orang dewasa. Sampai saat ini DMT1 tidak dapat dicegah dan tidak dapat disembuhkan, bahkan dengan diet dan olahraga. Kebanyakan penderita DMT1 memiliki kesehatan dan berat badan yang baik saat sebelum penyakit ini mulai dideritanya. Selain itu, sensitivitas maupun respons tubuh terhadap insulin umumnya normal pada penderita diabetes tipe ini, terutama pada tahap awal (De Silvieira, 2011).

Data mortalitas penderita diabetes di Indonesia pada tahun 2009 menunjukkan jika terdapat penderita DMT1 di Indonesia sebanyak 25,7 % dari seluruh kasus diabetes yang terjadi pada tahun tersebut (Kementrian Kesehatan RI, 2012). Pada tingkat dunia, orang dewasa penderita DMT1 terdapat sekitar 5% dari seluruh kasus diabetes yang didiagnosa terjadi (IDF, 2013).

2. Diabetes melitus tipe 2

Diabetes melitus tipe 2 (bahasa Inggris: *adult-onset diabetes, obesity-related diabetes, non-insulin-dependent diabetes mellitus*) adalah diabetes yang disebabkan oleh ketidakpekaan terhadap insulin atau sekresi insulin relatif rendah yang bukan merupakan hasil dari kerusakan pada pankreas. DMT2 merupakan kasus paling umum dari penderita DMT2 pada populasi manusia dan juga dikenal

sebagai *onset dewasa*, karena ketidakpekaan insulin ini cenderung berkembang lambat di sepanjang hidup penderitanya (IDF, 2013).

Diabetes melitus tipe 2 disebabkan oleh terjadinya resistensi insulin perifer dan berkurangnya sekresi insulin. Resistensi insulin merupakan ciri telah menurunnya sensitivitas metabolisme insulin akibat terhambatnya produksi glukosa hati atau pembuangan glukosa tergantung insulin. Terjadinya DMT2 disebabkan oleh kegagalan jaringan target insulin seperti otot dan jaringan adiposa untuk merespon insulin yang akhirnya mengarah kepada disfungsi sel β pankreas dan hiperglikemia.

DMT2 biasanya terjadi pada orang dewasa, tetapi dapat terjadi juga pada anak-anak dan remaja. Pada penderita DMT2, tubuh mampu memproduksi insulin tetapi tidak cukup baik atau tubuh tidak mampu untuk merespon insulin (juga dikenal sebagai *resistensi insulin*), yang kemudian akan mengarah kepada terjadinya penumpukan glukosa dalam darah. Banyak orang dengan DMT2 di tubuhnya tidak menyadari kehadiran penyakit mereka untuk jangka waktu yang lama karena munculnya gejala membutuhkan waktu bertahun-tahun untuk dapat dideteksi hingga terjadinya kerusakan tubuh oleh kelebihan glukosa darah.

Mereka sering baru bisa didiagnosis hanya bila komplikasi diabetes telah berkembang.

Meskipun penyebab pasti terjadinya DMT2 masih belum diketahui, ada beberapa penting faktor yang menimbulkan risiko terjadinya DMT2 yaitu, obesitas, pola makan yang buruk, aktivitas fisik, usia tua, riwayat keluarga diabetes, etnis dan

kadar glukosa darah tinggi selama kehamilan yang dapat mempengaruhi anak yang belum lahir (IDF, 2013).

Berbeda dengan orang-orang dengan DMT1 mayoritas dari mereka dengan DMT2 biasanya tidak memerlukan dosis harian insulin untuk bertahan hidup. Penderita DMT2 mampu mengelola kondisi mereka melalui diet sehat dan meningkatkan aktivitas fisik atau obat oral. Namun, jika mereka tidak dapat mengatur kadar glukosa darah mereka, maka mungkin insulin akan diresepkan dalam pengobatan. Jumlah penderita DMT2 berkembang pesat di seluruh dunia. Kenaikan ini terkait dengan pembangunan ekonomi, pertumbuhan populasi, peningkatan urbanisasi, perubahan pola makan, berkurangnya aktivitas fisik, dan perubahan gaya hidup lainnya (IDF, 2013).

DMT2 juga dapat disebabkan oleh *dislipidemia*, *lipodistrofi*, dan sindrom resistensi insulin. Pada tahap awal kelainan yang muncul adalah berkurangnya sensitifitas terhadap insulin, yang ditandai dengan meningkatnya kadar insulin di dalam darah. *Hiperglikemia* dapat diatasi dengan obat antidiabetes yang dapat meningkatkan sensitifitas terhadap insulin atau mengurangi produksi glukosa dari hepar, namun semakin parah penyakit, sekresi insulin pun semakin berkurang, dan terapi dengan insulin kadang dibutuhkan. Mekanisme penyebab terjadinya resistensi ini, diduga karena adanya obesitas sentral sebagai faktor predisposisi terjadinya resistensi terhadap insulin, dalam kaitan dengan pengeluaran dari sel adipokines yang dapat merusak toleransi glukosa. Obesitas menjadi faktor penyebab sekitar 90% dari pasien diabetes dunia yang didiagnosis sebagai

penderita DMT2, selain faktor sejarah adanya penderita diabetes dalam keluarga (De Silvieira, 2011).

3. *Gestational Diabetes Mellitus (GDM)*

Wanita yang memiliki resistensi insulin dengan glukosa darah tinggi selama kehamilan dikatakan memiliki *gestasional diabetes melitus* (GDM). Kondisi ini muncul karena adanya tindakan insulin yang diblokir, mungkin oleh hormon yang dihasilkan oleh plasenta. GDM berisiko untuk bayi, namun tidak separah bagi mereka yang memiliki ibu penderita DMT1 atau DMT2 sebelum kehamilan. Meskipun demikian, diabetes kehamilan yang tidak terkontrol dapat memiliki konsekuensi serius bagi ibu dan bayinya (IDF, 2013).

4. *Komplikasi Diabetes Mellitus*

Pada ketiga jenis diabetes, jika insulin tidak menyampaikan sinyal dengan baik, maka glukosa tidak dapat disimpan sebagai glikogen dalam hati dan jaringan otot. Hal ini menyebabkan ketidakmampuan untuk sel, seperti otot, untuk mengangkut glukosa melintasi membran plasma dan ke dalam sitoplasma. Jika transportasi ini tidak bisa terjadi, sel harus resor untuk memetabolisme asam lemak untuk memproduksi ATP sehingga mengakibatkan peningkatan produksi keton secara abnormal. Sistem kemih tidak dapat menyaring/menyerap air dan glukosa dengan benar sehingga menyebabkan gejala *glikosuria* dan *poliuria*. *Glikosuria* mengakibatkan kelebihan glukosa dalam urin dan *poliuria* menyebabkan meningkatnya produksi urine. Akibatnya komplikasi jantung dan peredaran darah dapat timbul, serta *neurologis* maupun gangguan penglihatan dan pendengaran. Disfungsi molekul terlihat pada DMT1 dan DMT2 yang dapat diperiksa masing-

masing dari perspektif utama yaitu adanya indikasi penurunan produksi insulin dan ketidakpekaan reseptor terhadap insulin (De Silvieira, 2011).

5. Kriteria Diagnosis *Diabetes Mellitus*

Pada manusia kadar glukosa darah penderita diabetes berada pada level yang melebihi batas normal yaitu ≥ 126 mg/dL untuk kadar glukosa darah puasa dan ≥ 200 mg/dL untuk kadar glukosa darah sewaktu (IDF, 2015).

Adapun kriteria diabetes menurut Kementerian Kesehatan tahun 2013 adalah apabila: nilai Glukosa Darah Sewaktu (GDS) >200 mg/dL, nilai Glukosa Darah Puasa (DGP) >126 mg/dL. Toleransi Glukosa Darah Terganggu (TGT) 140-199 mg/dL, Glukosa Darah Puasa Terganggu (GDPT) 100-125 mg/dL, di atas 200 mg/dL didiagnosa menderita diabetes dan di atas 300 mg/dL mengarah ke ketoasidosis.

B. Pacing (*Costus speciosus*)

1. Klasifikasi Tumbuhan

Devisi : *Spermatophyta*
 Subdevisi : *Angiospermae*
 Kelas : *Monocotyledonae*
 Bangsa : *Zingiberales*
 Suku : *Zingiberaceae*
 Marga : *Costus*
 Jenis : *Costus speciosus*



Gambar 2. Pacing (*Costus speciosus*)

Sinonim

Costus sericeous Bl., *Costus laureiri* Horan, *Amomum arboreum* Lour, *Amomum hirsutum* Lamk., *Banksia speciosa* Koenig.

Nama Daerah

Tepung tawar, Galoba utan (Melayu), Tabar-tabar, Totar (Batak), Sitawar (Minangkabau), Tabar-tabar, Tawar-tawar, Kalacim, Kalacing (Bangka), Pacing, Pacing tawar (Sunda), Poncangpancing, Pacing tawa (Jawa), Bunto binto (Madura), Palai batang, Lingkuas intalun (Minahasa), Galoba utan (Manado), Tampung tawara, Tapung tawara (Makasar), Tepu tawa (Bugis), Tehe tepu, Tubu-tubu (Ambon), Uga-uga (Ternate), Muri-muri, Tebe pusa (Seram), Zhang liu tou (Cina) (Wijayakusuma *et al*, 2014).

Di wilayah India, pacing dikenal dengan nama *Keukand*, *Keu Kust* (Hindi), *Pakarmula* (Gujrati), *Penva*, *Pushkarmula* (Marathi), *Kustha* (Sansekerta) dan *Kostam* (Tamil) (Verma *et al*, 2012). *Costus speciosus* dikenal sebagai *Kemuka* dalam bahasa Sansekerta, *Pushpamoola* di Kannada dan *Kashmeeramu* di Telugu, India (Bhogaonkar *et al*, 2012).

2. Deskripsi Tumbuhan

Wijayakusuma *et al* (2014) menjelaskan jika tumbuhan *Costus speciosus* berupa herba tahunan, tegak, tingginya dapat mencapai 0,5 sampai 4 meter. Batangnya banyak mengandung air, mudah dipatahkan, dari luar kasar dan dari dalam licin dan mengkilat. Batang tertutup oleh pelepah daun, berwarna hijau keunguan. Daunnya merupakan daun tunggal, berwarna hijau, berbentuk lonjong sampai lanset memanjang, tersusun secara spiral melingkari batang. Ujung daun

meruncing, tepi rata, pangkal daun tumpul, panjang 11-28 cm dan lebarnya 8-11 cm. Permukaan daun bagian bawah berbulu lembut, sedangkan permukaan atas beralur. Tangkai daun pendek. Perbungaan berbentuk bulir besar yang terletak pada ujung batang. Bunganya berwarna putih atau kuning. Daun pelindung bulat telur dengan ujung runcing. Mahkota berbentuk tabung, panjang lebih kurang 1 cm dan diameter sekitar 5 mm. Benang sari sepanjang 6 cm, ujungnya runcing, berwarna hijau. Putik tersembul di atas kepala sari, warnanya putih. Buahnya buah kotak berbentuk bulat telur, berwarna merah. Biji keras, kecil, diameter lebih kurang 2 mm, berwarna hitam. Akar serabut berwarna putih atau kuning kotor. Rimpang mengandung pati. Tumbuh liar di tempat yang lembab dengan sedikit naungan atau tumbuh liar di bawah tumbuh-tumbuhan yang tinggi seperti di hutan primer, hutan sekunder dan hutan jati pada dataran rendah sampai ketinggian 1050 meter di atas permukaan laut. Banyak ditemukan dipulau Jawa.

Bhogaonkar *et al* (2012) mengatakan jika ada lebih dari 100 spesies dari *Costus*. Spesies yang berbeda dari *Costus* bervariasi dalam hal warna bunga. Beberapa varietas dengan bunga dan *bracts* terlihat seperti kerucut kompak, sementara yang lain berbentuk seperti nanas atau *crepe* yang lembut keluar dari kerucut hijau. Beberapa daun muda terdapat di permukaan abaksial, sementara pada bagian lain tampak halus dan keunguan.

Sekitar tujuh spesies dari genus *Costus Linn* yang diketahui terdapat di India antara lain adalah *C. barbatus*, *C. chartaceus*, *C. cuspidatus*, *C. giganteus*, *C. osae*, *C. igneus*, *C. spectabilis*. Habitat *C. speciosus* tumbuh ditempat yang subur, kaya organik, lembab, dan teduh. Iklim tropis dengan kelembaban tinggi dan suhu minimum 13°C yang terbaik untuk budidaya. *Crepe jahe* tumbuh dari akar

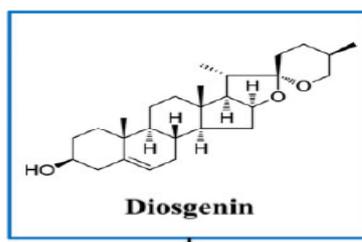
berdaging tebal yang disebut "rimpang". Sebuah rimpang tunggal akan menghasilkan tunas baru dan meningkat menjadi rumpun selebar 3 kaki pada tahun kedua di bawah kondisi yang ideal. *Costus* bereproduksi vegetatif dengan rimpang, pembagian batang, dan stek batang. *Costus* juga dapat berkembangbiak melalui biji (Bhogaonkar *et al*, 2012).

3. Kandungan Kimia Rimpang Pacing (*Costus speciosus*)

Pemeriksaan kandungan kimia rimpang sembilan jenis *Costus* yaitu *Costus speciosus* Bogor, *C. speciosus* Jawa, *C. speciosus* Australia, *C. malortianus*, *C. rumphianus*, *C. villisissinus*, *C. discolor*, *C. speciosus* New Guinea, *C. afer* umur tiga tahun delapan bulan yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Industri Bogor menunjukkan adanya diosgenin (Wunas *et al*, 1983).

Rimpang *C. speciosus* adalah sumber utama diosgenin sebesar 3,37% (Pawar, 2014). Rimpang *C. speciosus* juga mengandung *tigogenin*, *saponin*, *keton alifatik hidroksil*, *triterpen*, *pati lendir*, *oxa-asam*, *asam lemak*, *asam absisik*, dan *kortikosteroid* (Rajesh *et al*, 2012). Saraf *et al* (2009) berhasil mengekstrak rimpang *C. speciosus* dan menemukan kehadiran beberapa *alkaloid*, *flavanoid*, *cardiac glycosides*, *saponins*, *sterols* dan *tannin* selain senyawa utama diosgenin.

Adapun struktur senyawa diosgenin adalah sebagai berikut:



Gambar 3. Struktur Molekul Diosgenin (Sumber: Patel *et al*, 2012)

4. Kegunaan Rimpang *Costus speciosus*

Di Indonesia seluruh bagian tumbuhan digunakan sebagai obat luar untuk luka akibat digigit ular atau digigit serangga dan digunakan juga sebagai obat disentri. Daun digunakan sebagai obat radang selaput lendir mata. Daun yang masih muda juga digunakan untuk menyuburkan rambut. Batang digunakan sebagai obat demam (Wijayakusuma *et al*, 2014).

Rimpang *C. speciosus* memiliki sifat antifertilitas, *anticholinestrase*, antiinflamasi, *antipiretik* dan kegiatan *antihelminthic*. Minyak essential dari rimpang menunjukkan aktivitas antimikroba. Saponin steroid dan sapogenins dari rimpang *C. speciosus* menunjukkan aktivitas antijamur (Rani *et al*, 2012).

Dalam *Ayurveda (Ilmu pengobatan tradisional di India)*, rimpang pahit dari *C. speciosus* digunakan sebagai obat cacing, ekspektoran, tonik dan berguna dalam mengurangi rasa terbakar, sembelit, kusta, asma, bronkitis, anemia dan penyakit kulit lainnya. Rimpang *C. speciosus* memiliki sifat hepatoprotektor. Pasta rimpang digunakan untuk mengobati bisul dan juga untuk membuat hormon seksual dan kontrasepsi. Daun digunakan untuk kudis dan penyakit perut. Batang yang digiling menjadi pasta dan digunakan untuk mengobati lecet. Rimpang juga digunakan untuk mengobati gigitan ular, zat diuretik, dan bersifat antiseptik dan juga digunakan untuk membuat *vata* dan *kapha* dan untuk menghaluskan kulit. (Rani *et al*, 2012).

C. Diosgenin dan Pengaruhnya terhadap Diabetes

Ada beberapa laporan yang menunjukkan bahwa sumber diosgenin seperti biji kacang-kacangan dan umbi-umbian berkontribusi sebagai antidiabetes dalam model eksperimental (Raju *et al*, 2001, Basch *et al*, 2003, McAnnuf *et al*, 2008, Rajesh *et al*, 2009, Uemura *et al*, 2010, Hamden *et al*, 2012, dan Revathy *et al*, 2014). Diosgenin adalah hidrolisat dari dioscin ditemukan di rimpang ubi (*Dioscorea sp.*) dan beberapa tumbuhan lain dalam bentuk *glucoside*. Sapogenin steroid ini ditemukan di berbagai tanaman seperti *Dioscorea nipponoca* Makino, *Smilax china* Linn, *Smilax bockii* Warb, *Solanum incanum*, *Solanum xantho-carpum*, *Costus speciosus* dan *Trigonella foenum graecum*. Diosgenin merupakan fitokimia biologis aktif yang bertanggung jawab untuk berbagai jenis tindakan fungsional seperti prekursor untuk sintesis steroid dan kontrasepsi. Selain itu diosgenin juga digunakan dalam bentuk obat-obatan untuk pengobatan penyakit seperti *leukemia*, *hiperkolesterolemia*, sindrom *klimakterik* dan kanker (Patel *et al*, 2012).

Raju *et al* (2001) dalam penelitiannya menjelaskan jika diosgenin yang terdapat dalam *Trigonella foenum-graecum* menyebabkan homeostasis glukosa pada tikus yang diinduksi aloksan. Adanya kontrol sistemik glukosa yang baik tersebut merupakan pengaruh dari diosgenin yang mampu memanfaatkan glukosa seluler secara berlebih melalui kegiatan peningkatan kerja enzim lipogenik glikolitik dalam ginjal hewan percobaan. Diosgenin yang terdapat dalam *Trigonella foenum-graecum* berpotensi mengerahkan efek terapeutik melalui modulasi

sekresi insulin dan mampu menginduksi *hiperinsulinemia* dalam mengendalikan DM pada hewan percobaan.

Mc Anuff *et al* (2005) menjelaskan terdapat pengaruh diosgenin yang diperoleh dari *Dioscorea polygenoides* pada disakaridase usus dan beberapa enzim pada ginjal tikus DM yang diselidiki selama 3 minggu, menunjukkan jika suplementasi diosgenin secara signifikan menurunkan aktivitas laktase dan maltase dan juga menurunkan aktivitas transaminase secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Diosgenin menunjukkan sifat *hipoglikemik*, yang bermanfaat dalam pengobatan DM dengan mengurangi aktifitasenzim disakaridase usus. Pengaruh diosgenin terhadap glukosa darah puasa pada enzim amilase dan ATP-ase dari usus pada tikus DM yang diinduksi streptozotocin telah dipelajari dan diperoleh hasil yaitu terjadinya peningkatan yang signifikan dalam aktivitas α amilase di wilayah proksimal mukosa usus halus tikus DM yang diobati dengan diosgenin.

Rajesh *et al* (2009) dalam penelitiannya menggunakan *Costus speciosus* dengan dosis 200 mg/kg berat badan, mengatakan jika ekstrak *C. speciosus* dalam aquades dan ekstrak *C. speciosus* dalam metanol secara signifikan menurunkan kadar gula darah dari 387 mg/ml menjadi 120 mg/ml dan dari 303 mg/ml menjadi 161 mg/ml dalam waktu 240 menit pada tikus yang diinduksi *Streptozotocin*.

Hamden *et al* (2012) dalam penelitiannya menggunakan *Trigonella* sebagai terapi penyembuhan pada tikus DM memperlihatkan temuan jika pemberian *Trigonella* membantu melindungi sel β pankreas dari kematian dan kerusakan, selain itu pemberian suplemen *Trigonella* secara signifikan menurunkan α amilase dan

maltase pada dosis masing-masing 36% dan 52%, yang menyebabkan penurunan tingkat glukosa darah sebesar 46%. Pemberian *Trigonella* pada tikus DM menyebabkan perubahan enzim yang berpotensi menghambat metabolisme lipid dan penyerapannya. Kandungan utama dari *Trigonella* adalah *diosgenin*.

Revathy *et al* (2014) dalam penelitiannya menggunakan ekstrak etanol *C. speciosus* dengan dosis 200 mg/kg berat badan pada tikus albino yang diinduksi aloksan selama 14 hari secara oral, menyebabkan terjadinya penurunan kadar gula darah dibandingkan dengan kontrol DM. Kadar gula darah pada kontrol DM sebesar $262,3 \pm 17,7$ mg/ml sedangkan pada tikus yang diberikan ekstrak etanol *C. speciosus* sebesar $109 \pm 7,3$ mg/ml setara dengan pemberian *glibenclamide* 2,5 mg/kg berat badan yaitu sebesar $101 \pm 6,2$ mg/ml.

D. Mencit (*Mus musculus*)

Mencit atau *Mus musculus* adalah tikus rumah yang biasa dipelihara, bersifat penakut, fotofobik, cenderung berkumpul dengan sesamanya, mempunyai kecenderungan untuk bersembunyi, lebih aktif pada malam hari, cukup sensitif terhadap pengaruh senyawa asing dan memiliki suhu tubuh normal $37,4$ °C. Kesamaan anatomi dan proses metabolisme senyawa uji antara mencit dengan manusia, memungkinkan digunakannya mencit sebagai hewan uji di laboratorium. Publikasi data biologis mencit sudah banyak diketahui dan dapat dijadikan sebagai acuan penelitian (Kusumawati, 2004).

Sistem taksonomi mencit sebagai berikut:

Kingdom : *Animalia*
Filum : *Chordata*
Sub filum : *Vertebrata*
Kelas : *Mammalia*
Ordo : *Rodentia*
Subordo : *Myomorpha*
Familia : *Muridae*
Sub familia : *Murinae*
Genus : *Mus*
Species : *Mus musculus*



Gambar 4. Mencit (*Mus musculus*)

Berbeda dengan hewan lainnya, mencit tidak memiliki kelenjar keringat. Jantung terdiri dari empat ruang dengan dinding atrium yang tipis dan dinding ventrikel yang lebih tebal. Peningkatan temperatur tubuh tidak mempengaruhi tekanan darah. Sedangkan frekuensi jantung, *cardiac output* berkaitan dengan ukuran tubuhnya. Hewan ini memiliki karakter yang lebih aktif pada malam hari daripada siang hari. Adapun data biologis mencit adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Data Biologis Mencit di Laboratorium

Berat badan jantan (gram)	20-40
Berat badan betina (gram)	18-35
Lama hidup (tahun)	1-3
Temperatur tubuh (°C)	36,5
Kebutuhan air	Ad libitum
Kebutuhan makanan (g/hari)	4-5
Pubertas (hari)	28-49
Lama kebuntingan ((hari)	17-21
Tekanan darah	
Sistolik (mmHg)	133-160
Diastolik(mmHg)	102-110
Frekuensi respirasi (per menit)	163
Tidal volume	0,18 (0,09-0,38)
Sistolik (mmHg)	133-160
Diastolik(mmHg)	102-110
Hematologi	
Eritrosit (RBC) (x 10 ⁶ /mm ³)	6,86-11,7
Hemoglobin (g/dl)	10,7-11,5
MCV (μ ³)	47,0-52,0
MCH (μg)	11,7-12,7
MCHC (%)	22,3-31,2
Hematokrit (PVC) (%)	33,1-49,9
Leukosit (WBC) (x 10 ³ /mm ³)	12,1-15,9
Neutrofil (x 10 ³ /mm ³)	1,87-2,46
Eosinofil (x 10 ³ /mm ³)	0,29-0,41
Basofil (x 10 ³ /mm ³)	0,06-0,10
Limfosit (x 10 ³ /mm ³)	8,70-12,4
Monosit (x 10 ³ /mm ³)	0,30-0,55
Glukosa (mg/dl)	62,8-176
BUN (mg/dl)	13,9-28,3
Kreatinine (mg/dl)	0,30-1,00
Bilirubin (mg/dl)	0,10-0,90
Kolesterol (mg/dl)	26,0-82,4
Total protein (g/dl)	4,00-8,62
Albumin (g/dl)	2,52-4,84
SGOT (IU/l)	23,2-48,4

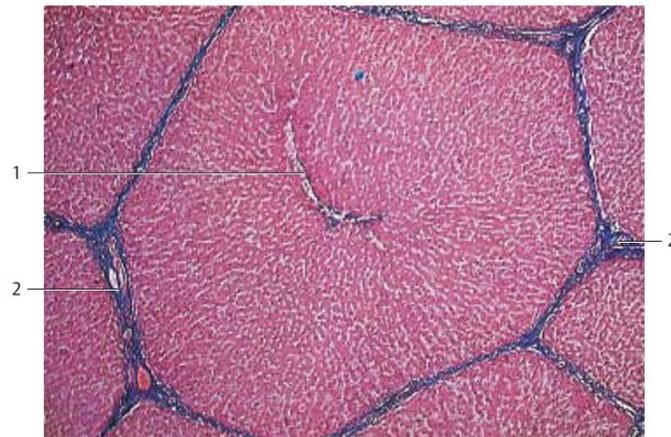
(Sumber: Kusumawati, 2004)

E. Hati

Hati berperan dalam proses detoksifikasi bahan sisa metabolisme zat makanan, obat dan zat toksik yang masuk ke dalam tubuh. Organ hati sangat mudah terserang oleh efek toksik dari obat-obatan dan bahan kimia karena menerima suplai darah sekitar 7 % dari vena porta . Vena porta membawa darah yang mengandung zat makanan yang diabsorpsi dari usus dan organ tertentu menuju hati sehingga sering dan mudah kontak dengan zat kimia dalam jumlah besar dan hati merupakan jalur sekresi dan ekskresi untuk kebanyakan obat (Silverthorn, 2014).

Sekitar 70% area permukaan setiap sel hati berhadapan dengan sinusoid yang berfungsi memaksimalkan pertukaran antara darah dan sel. Sel Hati disebut juga hepatosit. Hepatosit hati tersusun mengisi unit heksagonal iraguler yang disebut lobulus. Sinusoid merupakan pembuluh darah yang bercabang disekitar sel sel hati. Di sepanjang tepi tiap lobulus berhubungan dengan vena porta hepatica dan arteri hepatica (Silverthorn, 2014).

Sel hati atau hepatosit berbentuk poligonal dengan inti bulat atau sedikit lonjong dan memiliki kromatin yang padat. Sel hati berinti ganda banyak ditemukan. Ciri yang tampak pada jaringan hati adalah adanya vena sentralis yang terletak ditengah tengah lobulus. Pada sebelah luar vena sentralis terdapat deretan hepatosit yang tersusun mirip jari-jari mengarah ke jaringan interlobular, dan diantara hepatosit tampak sinusoid hati yang bermuara ke vena sentral (Wonodirekso, 2013).



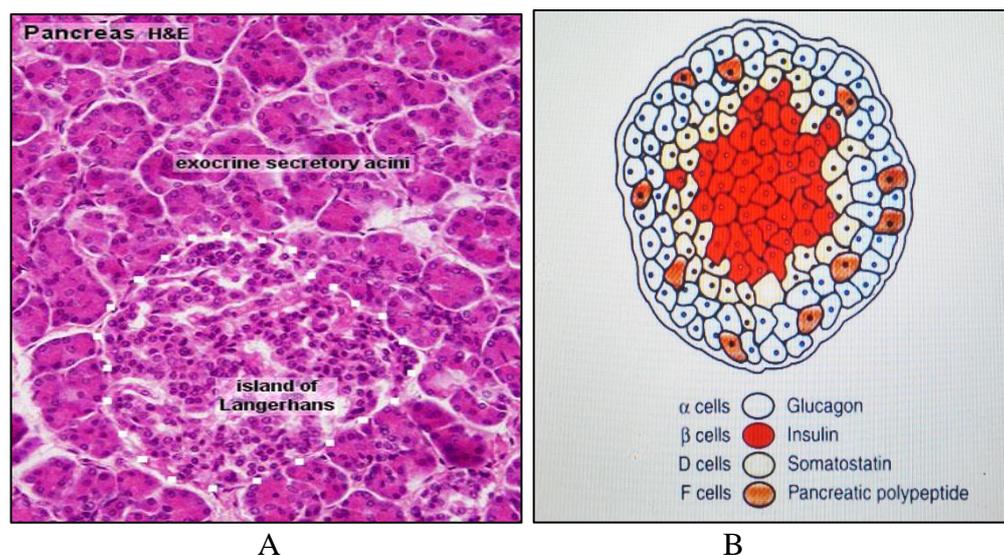
Gambar 5. Jaringan Hati Normal. (1) sinusoid, (2) sel kupffer (makrofag),
(Sumber: Kuehnel, 2003)

F. Pankreas

Pankreas memainkan peran kunci dalam metabolisme karbohidrat, protein dan lipid. Pankreas tersusun atas bagian eksokrin dan endokrin. Bagian eksokrin pankreas memiliki pars terminalis berupa asinus. Di dalam asinus sering dijumpai sel sentroasiner yang membatasi lumen asinus. Sel ini merupakan awal dinding duktus interkalaris, yaitu saluran keluar kelenjar yang terkecil. Pada bagian endokrin disebut juga pulau-pulau Langerhans yang terdiri atas kelompok sel yang pada pewarnaan HE terpulas lebih pucat daripada sel asinus di sekitarnya. Sel pulau Langerhans itu juga lebih kecil daripada sel asinus. Pada umumnya, bentuknya kelihatan bulat dan dindingnya tidak mudah dilihat. Diantara sel-sel itu terdapat pembuluh kapiler darah. Kelompok sel ini pun tidak mempunyai jaringan ikat yang jelas. (Wonodirekso, 2013).

Fungsi endokrin pankreas berada dalam pulau Langerhans, kelompok sel mikroskopis kecil dalam jaringan eksokrin dan merupakan 1-3% dari massa total

pankreas. Pulau Langerhans pankreas terdiri empat jenis utama dari sel: penghasil insulin yaitu sel β , mensekresi glukagon yaitu sel α , mensekresi somatostatin yaitu sel D, serta mensekresi polipeptida pankreas yaitu sel F. Dengan pulasan HE sulit untuk membedakan sel-sel α , β , D maupun sel F yang ada di dalam pulau-pulau Langerhans (Geneser, 1992).



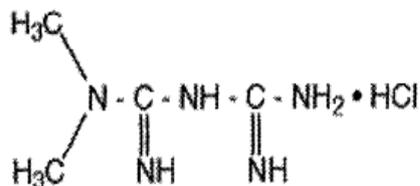
Gambar 6. A. Jaringan Pankreas Normal (Sumber: Wonodirekso, 2013) dan B. Sel-sel pulau Langerhans Pankreas (Sumber: Cunningham, 1992)

G. *Metformin Hydrochloride Tablet*

Metformin hydrochloride adalah obat antihiperlikemik oral yang digunakan dalam pengelolaan diabetes tipe 2 yang dapat meningkatkan toleransi glukosa pada pasien diabetes. Metformin dapat menurunkan produksi glukosa hati, mengurangi penyerapan glukosa usus, dan meningkatkan sensitivitas insulin dengan meningkatkan penyerapan dan pemanfaatan glukosa perifer. Metformin tidak menyebabkan hipoglikemia pada pasien dengan diabetes tipe 2 dan tidak menyebabkan hiperinsulinemia. Dengan terapi metformin, sekresi insulin tetap tidak berubah. Metformin tersedia dalam obat generik yang diresepkan dokter

pertama kali pada pasien yang didiagnosa menderita DM tipe 2 (HJL, 2016).

Struktur metformin seperti pada gambar 7.

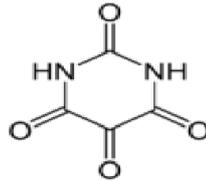


Gambar 7. Struktur *Metformin Hydrochloride* (Sumber: HJL, 2016)

H. *Aloksan Monohidrat*

Salah satu metode yang paling ampuh untuk menginduksi diabetes mellitus secara eksperimental dengan induksi kimia yaitu dengan menggunakan aloksan. Rohilla dan Shahjad (2012) menjelaskan bahwa aloksan (2,4,5,6-tetraoxypyrimidine; 2,4,5,6-pyrimidinetetrone) adalah pirimidin oksigen derivatif yang hadir sebagai larutan aloksan hidrat. Aloksan telah digunakan untuk menginduksi eksperimen diabetes karena menyebabkan kehancuran selektif dari sel β pankreas yang memproduksi insulin. Aloksan menginduksi respon glukosa darah multifase saat disuntikkan kepada hewan percobaan, yang disertai dengan perubahan konsentrasi insulin plasma dan diikuti perubahan ultrastruktur sel β secara berurutan hingga akhirnya menyebabkan kematian sel nekrotik. Karena induksi aloksan menghasilkan kerusakan sel β dan dengan demikian mengarah ke DM tipe I bukan tipe II. Namun dengan pemilihan dosis yang tepat, aloksan dapat digunakan sebagai induksan diabetes pada kedua tipe (Etuk, 2010). Selanjutnya Etuk (2010) dalam penelitiannya menjelaskan agar tidak menghasilkan kerusakan mutlak pada sel β pankreas, tetapi cukup untuk membuat kekurangan insulin pada hewan

percobaan maka dosis eksperimental aloksan yang dapat digunakan adalah 65 mg/kg pada tikus jika induksi secara intravena, tapi ketika dilakukan secara intraperitoneal atau subkutan maka dosis efektif yang digunakan harus lebih tinggi. Struktur metformin seperti pada gambar 8.



Gambar 8. Struktur *alloxan monohidrat* (Sumber: Rohilla dan Shahjad, 2012)

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Pembuatan ekstrak etanol rimpang pacing dan identifikasi diosgenin dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik Universitas Lampung pada bulan Oktober 2015. Tahap perlakuan dilakukan di Laboratorium Biologi Molekuler dan pengambilan organ dilakukan di Laboratorium Zoologi Universitas Lampung pada bulan November 2015. Pembuatan dan pengamatan histopatologi dilaksanakan di Laboratorium Biologi Molekuler Universitas Lampung dan Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Lampung Regional III pada bulan Desember 2015.

B. Alat dan Bahan

1. Alat-alat Penelitian

Alat-alat penelitian yang diperlukan antara lain: untuk perlakuan berupa 30 buah kandang hewan dan tempat minum mencit, 2 buah *gavage/sonde mencit* untuk memberikan ekstrak etanol rimpang Pacing dan larutan *metformin* ke mencit secara oral, alat uji glukosa dan kolesterol darah *Nesco[®] multicheck* berikut strip uji glukosa darah sebanyak 120 buah dan 90 buah strip uji kolesterol darah, 1 buah thermometer dan hygrometer untuk mengetahui suhu dan kelembaban ruang kandang, spidol marker untuk menandakan ulangan, timbangan digital untuk

mengukur berat badan mencit dan berat organ mencit, serta 1 buah jarum untuk mengambil darah mencit. Adapun proses pembuatan ekstrak etanol rimpang Pacing dibutuhkan: beaker glass 500 ml, gelas ukur 500 ml, pisau, staining jar, penggiling/blender, oven, batang pengaduk, sarung tangan, *tissue*, lap, peralatan refluks, rotary evaporator, peralatan partisi, peralatan penyaringan, dan timbangan. Untuk membuat histopatologi diperlukan: peralatan bedah dan perlengkapannya, mikrotom dan perlengkapannya, sarung tangan, mikroskop dan kamera, objek dan *cover glass*, *tissue cassette*, pisau *scalpel*, oven, mangkuk *stainles steel*, pembakar *bunsen*, dan tabung film 60 buah.

2. Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan penelitian yang diperlukan antara lain: sebagai sampel penelitian menggunakan 30 ekor mencit jantan (*Mus musculus*) yang berasal dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner (BPPV) Lampung yang berusia \pm 4 bulan dengan berat awal 30 - 40 gram. Adapun ekstrak etanol yang diujikan berasal dari rimpang pacing diperoleh dari daerah Kalianda, Lampung Selatan yang telah berusia lebih dari 4 tahun. Sebagai pembanding digunakan tablet *metformin* yang dibeli di Apotek *Enggal* Bandar Lampung. Induksan diabetes menggunakan bubuk *alloxan monohidrat* (*Sigma-Aldrich*) yang diperoleh dari P.T. *Sawittoku Chemical Laboratories* Makasar.

Bahan yang digunakan untuk perawatan mencit adalah: pakan mencit berupa pellet yang berasal dari pellet unggas dan diberikan secara *adlibitum*, air minum, dan serbuk kayu alas kandang mencit. Bahan yang diperlukan untuk pembuatan ekstrak etanol rimpang Pacing adalah: pelarut *etanol* 85%, *benzen*, aquades,

larutan *etanol* 50%, pelarut *benzen-metanol* dan *asam sulfat pekat* untuk uji kualitas *diosgenin* yang terkandung dalam larutan pacing. Untuk proses dehidrasi saat pembuatan histopatologi jaringan bahan yang diperlukan antara lain: *etanol* 70%, *etanol* 80%, *etanol* 90 %, *etanol absolute*, *xylol*, dan parafin cair. Sedangkan untuk pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) bahan yang diperlukan antara lain: *xylol*, *ethanol absolute*, *etanol* 90%, *etanol* 80%, air keran, larutan *hematoksilin*, larutan *scott*, larutan *eosin* dan cairan perekat.

C. Metode Penelitian

Disain yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan menggunakan 6 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 5 ulangan, dengan perlakuan sebagai berikut:

- a. Kelompok I adalah kelompok kontrol netral yang tidak diberi perlakuan apapun
- b. Kelompok II adalah kelompok kontrol negatif yaitu hewan yang diberi induksan aloksan tetapi tidak diberi perlakuan ekstrak etanol rimpang pacing, sebagai kontrol diabetes
- c. Kelompok III adalah kelompok perlakuan hewan yang diberi induksan aloksan dan kemudian diberi ekstrak etanol rimpang pacing dengan dosis 10 mg/100 gram BB/hari
- d. Kelompok IV adalah kelompok perlakuan hewan yang diberi induksan aloksan dan kemudian diberi ekstrak etanol rimpang pacing dengan dosis 20 mg/100 gram BB/hari

- e. Kelompok V adalah kelompok perlakuan hewan yang diberi induksan aloksan dan kemudian diberi ekstrak etanol rimpang pacing dengan dosis 30 mg/100 gram BB/hari
- f. Kelompok VI adalah kelompok perlakuan hewan yang diberi induksan aloksan dan kemudian diberi larutan metformin dengan dosis 19,5 mg/100 gram BB/hari. Larutan metformin dibuat dari tablet metformin yang dilarutkan kedalam air. Metformin adalah anti diabetes oral dan merupakan obat pilihan pertama yang tersedia dalam kategori obat generik untuk penderita DM tipe 2 yang direkomendasikan dokter.

D. Pelaksanaan Penelitian

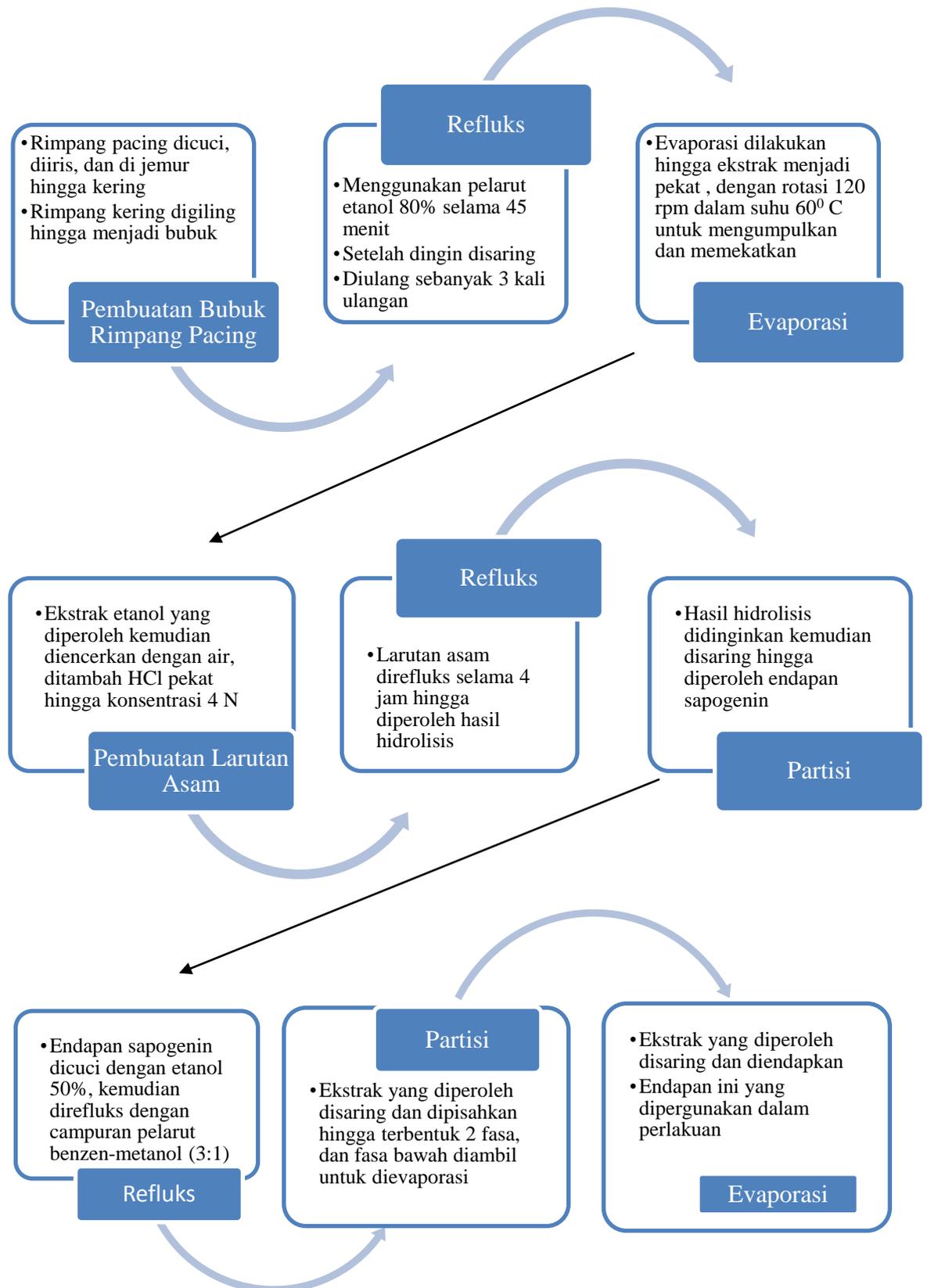
1. Ekstraksi Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing

Rimpang Pacing diambil dari tanaman yang telah berusia diatas 4 tahun, kemudian di cuci, dipotong-potong, dikeringkan, kemudian digiling hingga menjadi bubuk. Bubuk Pacing ditimbang sebanyak 200 gram pada setiap kali proses dalam refluks. Ekstraksi rimpang kering dilakukan dengan metode refluks dengan pelarut etanol 85% selama 45 menit dengan ditambahkan batu didih kedalamnya hingga mencapai suhu 70° C. Setelah dingin disaring. Cara ekstraksi ini dilakukan tiga kali berturut-turut untuk setiap 200 gram bubuk Pacing. Semua ekstrak kemudian dikumpulkan dan dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak etanol yang etanol dikocok dengan benzen untuk menghilangkan lemak kemudian dipartisi selama satu malam dan kemudian diambil ekstrak etanolnya, dipisahkan dari larutan benzen. Ekstrak etanol ini kemudian diencerkan dengan aquades, ditambahkan larutan asam klorida etanol

sampai diperoleh larutan 4N. Larutan asam ini direfluks selama 4 jam untuk menghidrolisa saponin menjadi sapogenin. Hasil hidrolisa ini kemudian dipartisi selama 2-3 jam kemudian didinginkan dan disaring. Endapan sapogenin yang diperoleh kemudian dicuci dengan larutan etanol 50%, direfluks dengan campuran pelarut benzen-metanol (3:1). Ekstrak yang diperoleh kemudian dipartisi selama 2-3 jam kemudian didinginkan dan disaring, kemudian dievaporasi dalam *rotary evaporator* (Wunas *et al*, 1983). Ekstrak etanol yang diperoleh akan menghasilkan endapan, endapan tersebut yang diambil dan akan digunakan dalam perlakuan penelitian.

Uji kualitatif diosgenin dalam endapan yang digunakan untuk perlakuan dilakukan dengan cara uji warna menggunakan asam sulfat pekat yang akan memberikan warna jingga jika positif mengandung diosgenin (Rahman, 2013).

Alur pembuatan ekstrak etanol pancing sebagai berikut:



Gambar 9. Alur Ekstraksi Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing (*Costus speciosus*).

2. Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah mencit jantan (*Mus musculus*) dengan berat sekitar 30-40 gram umur 3-4 bulan. Sebelum tahap perlakuan seluruh hewan diaklimatisasi selama satu minggu. 30 ekor mencit jantan tersebut ditempatkan kedalam masing-masing kandang berukuran 28 cm x 30 cm x 13 cm dan ditutupi kawat pada bagian atasnya dan dipelihara dalam laboratorium. Keadaan hewan selama aklimatisasi dan perlakuan dikontrol pada suhu lingkungan yang tetap. Makanan dan minuman mencit diberikan secara *ad libitum* (sampai kenyang atau secukupnya). Adapun bahan dasar pakan mencit yang digunakan yaitu *comfeed BR II* yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Bahan Dasar Pakan Mencit.

No	Bahan Dasar
1	Jagung
2	Bekatul
3	Bungkil kedelai
4	Tepung daging
5	Garam
6	Vitamin Mineral

3. Induksi Aloksan

Pada penelitian ini dilaksanakan penginduksian aloksan untuk menciptakan keadaan hiperglikemik pada mencit. Aloksan merupakan suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana, yang berfungsi merusak sel β pankreas sehingga menurunkan produksi insulin. Aloksan mampu menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria ini mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel (Rohilla dan Shahjad, 2012)

Aloksan yang didapat dalam bentuk serbuk 10 gram yang kemudian dilarutkan dengan aquades sebanyak 1 liter. Dalam perlakuan ini hewan uji disuntikkan aloksan sebanyak 0,65 ml/100 gram BB yang diinjeksikan secara intravena pada ekor mencit (Etuk, 2010).

Pembuatan mencit menjadi kondisi DM dimulai dengan memuaskan mencit selama 18 jam, selanjutnya mencit diukur kadar glukosa darah dan berat badannya. Dua jam berikutnya setelah luka mengering, mencit disuntik aloksan, kemudian diberi makan dan dibiarkan dikandang. Pemberian aloksan dilakukan sebanyak 1 kali dan untuk melihat pengaruhnya dilakukan optimasi larutan selama 48 jam (Etuk, 2010). Kriteria terjadinya DM pada mencit apabila diperoleh kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dL (Etuk, 2010). Jika didapati mencit tidak mengalami *hiperglikemia* maka dilakukan injeksi ulang.

4. Dosis Pemberian Diosgenin dari Ekstrak Etanol Rimpang Pacing

Diosgenin yang diperoleh dari ekstraksi etanol rimpang Pacing yang diperoleh dalam bentuk endapan untuk menggunakannya dilarutkan ke dalam *oil* terlebih dahulu. Pemberian diosgenin dari ekstrak etanol rimpang Pacing diberikan menggunakan *gavage/sonde* mencit secara oral. Dosis utama adalah 20 mg/100 gram BB/ hari yang diperoleh berdasarkan penelitian Revathy *et al* (2014) jika pemberian ekstrak Pacing pada tikus albino dengan dosis 200 mg/kg BB/hari selama 14 hari dapat menurunkan kolesterol dan berdasarkan penelitian Rajesh *et al* (2009) jika pemberian ekstrak pacing pada tikus albino Wistar dengan dosis 200 mg/kg BB/hari selama 14 hari dapat menurunkan kadar gula darah. Sedangkan dosis 10 mg/100 gram BB/hari dan 20 mg/100 gram BB/hari adalah

untuk membandingkan hasil yang diperoleh dengan dosis utama. Perbandingan pemberian *metformin* dilakukan untuk uji efektivitas ekstrak etanol rimpang pacing dalam mengendalikan diabetes tipe 2, dengan dosis *metformin* sebesar 19,5 mg/100 gram BB/hari berdasarkan penelitian Tibrani (2009). *Metformin* adalah obat diabetes tipe dua yang direkomendasikan dokter saat pasien pertamakali teridentifikasi menderita diabetes dengan ciri penderita awal adalah gemuk. Obat ini tersedia dalam bentuk obat generik.

5. Kadar Glukosa Darah dan Kolesterol Total

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan sebanyak 4 kali pada tiap-tiap perlakuan. Awal pengukuran bertujuan untuk mengetahui kadar glukosa awal sebelum induksi DM dengan aloksan, untuk kemudian disebutkan sebagai hari ke 1.

Pengukuran kedua dilakukan setelah 2 hari setelah injeksi aloksan untuk mengetahui keberhasilan terjadinya induksi DM pada tiap sampel yang untuk kemudian disebut sebagai hari ke 4. Pengukuran ketiga dilakukan setelah perlakuan selama 7 hari yaitu setelah sebelumnya dipuasakan semalam untuk mengetahui perubahan kadar glukosa darah dari perlakuan yang diberikan, untuk kemudian disebutkan sebagai hari ke 7. Pengukuran keempat dilakukan setelah perlakuan selama 14 hari setelah sebelumnya dipuasakan semalam untuk mengetahui keberhasilan dari perlakuan yang diberikan, untuk kemudian disebut sebagai hari ke 14. Adapun pengukuran kolesterol dilakukan sebanyak 3 kali yaitu pada hari ke 4, ke 7 dan ke 14. Kolesterol darah diperiksa pada hari ke 14 bersamaan dengan pemeriksaan glukosa darah. Pengambilan darah dilakukan dari pembuluh vena ekor. Darah yang diambil kemudian diuji kadar glukosa darah dan kolesterolnya menggunakan *Nesco[®] multicheck*.

6. Berat Badan Mencit

Pengukuran berat badan mencit dilakukan dengan menimbang mencit menggunakan timbangan digital sebanyak 4 kali, yaitu pertama kali sebelum diinduksi aloksan untuk mengukur dosis aloksan yang akan diinjeksikan. Penimbangan kedua setelah 48 jam diinjeksi aloksan untuk mengetahui pengaruh induksi aloksan terhadap berat badan mencit, dan penimbangan ketiga dan keempat dilakukan pada hari ke 7 dan hari ke 14 perlakuan, sebelum dilakukan anestesi eter. Seluruh berat badan yang diperoleh adalah berat badan setelah sebelumnya dipuasakan selama 18 jam.

7. Preparat Histopatologi

Pankreas dan hati dari masing-masing hewan percobaan diambil, di bawah anestesi eter. Seluruh organ tersebut kemudian ditempatkan dalam larutan formalin 10%, dan segera diproses dengan teknik parafin dan pewarnaan dengan teknik staining. Infiltrasi zat warna menggunakan *Haematoxilin Eosin* (HE), dan setelah parafin dikeluarkan, preparat dikeringkan, ditetesi dengan *entelan* dan ditutup dengan *cover glass* kemudian diamati di bawah mikroskop.

Pengamatan preparat histologi hati dan pankreas dilakukan dengan menggunakan mikroskop merk *Nikon Eclipse 200* dengan pembesaran lensa objektif 10x, 40x dan okuler 10x. Pengamatan histopatologi hati dan dilakukan pada lima lapangan pandang yang berbeda dari tiap preparat kemudian penilaian berupa skoring berdasarkan perubahan seluler yang terjadi pada sel hati dan pankreas mencit untuk setiap lapangan pandang. Perubahan seluler yang diamati seperti pada Tabel

3.

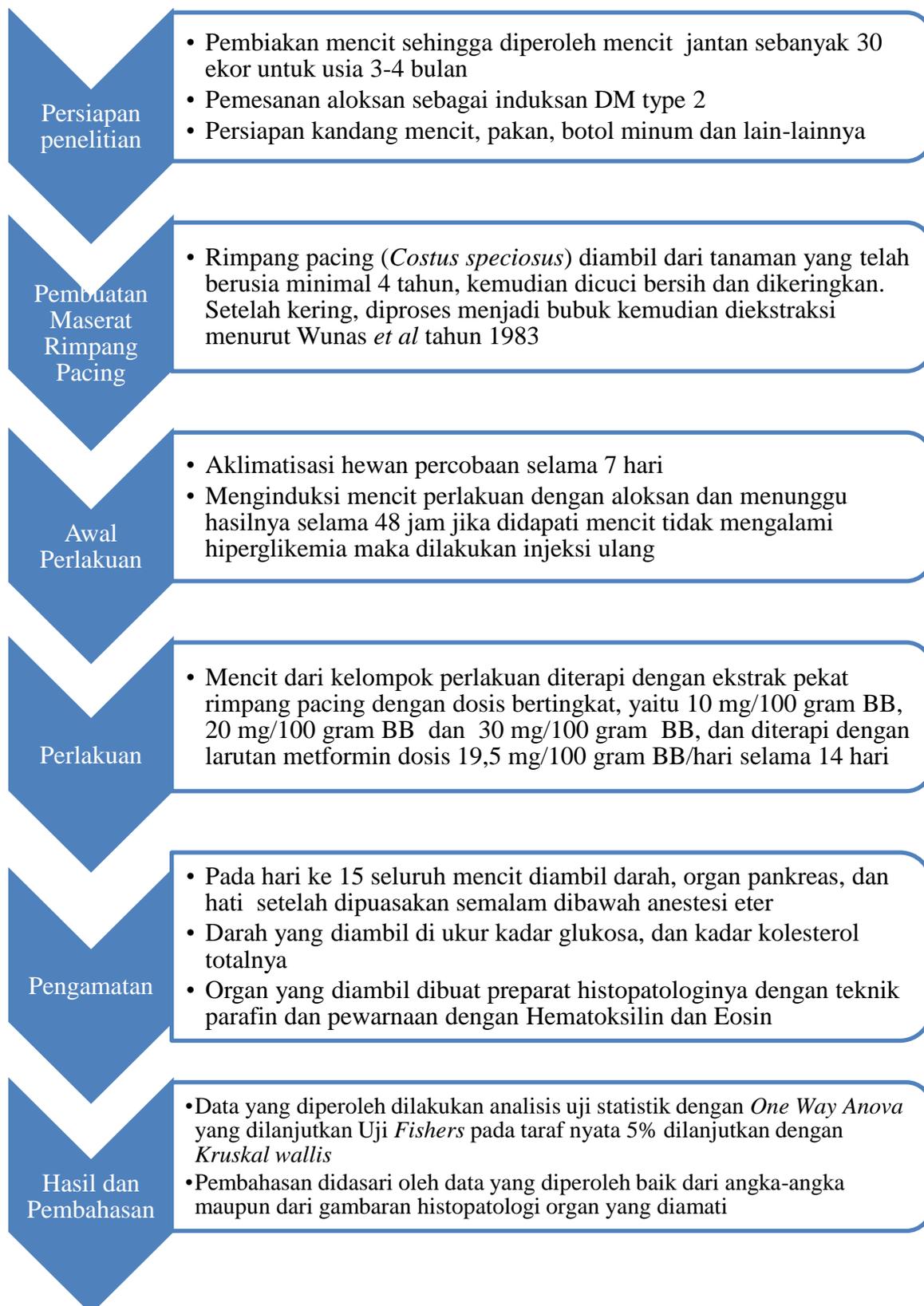
Tabel 3. Skor Penilaian Derajat Kerusakan Histopatologi.

Tingkat perubahan	Keterangan	Skor
Normal	Tidak ada kerusakan	0
Derajat I Ringan (mild)	Memiliki kriteria kerusakan sel pankreas/hati mencapai 1-10%	1
Derajat II Sedang (moderate)	Memiliki kerusakan sel pankreas/hati mencapai 10-30%	2
Derajat III Berat (severe)	Memiliki kriteria kerusakan sel pankreas/hati > 30%	3

Sumber: Neuschwander-Tetri *et al* (2003), Hubscher (2006) dan Geenen *et al* (2010)

E. Analisis Data

Data hasil pengukuran kadar glukosa darah, kolesterol darah, dan berat badan mencit dianalisis dengan *One Way Anova* yang kemudian di lanjutkan dengan *Uji Fishers* pada taraf nyata 5% dengan menggunakan *minitab16*. Sedangkan analisis histopatologi hati dan pankreas dilanjutkan dengan *Kruskal-Wallis*.



Gambar 10. Alur Penelitian.

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil simpulan sebagai berikut:

1. Diosgenin dari ekstrak etanol rimpang pacing mampu menurunkan kadar glukosa darah dan kolesterol mencit.
2. Diosgenin dari ekstrak etanol rimpang pacing mampu melindungi jaringan hati mencit.
3. Diosgenin dari ekstrak etanol rimpang pacing memiliki efek protektif terhadap sel-sel pulau Langerhans.

B. SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efektivitas kerja diosgenin dari ekstrak etanol rimpang pacing dengan mengukur kadar SOD, *katalase*, *glutathione peroxidase* (GPx) dan *glutathione* dari organ hati serta aktivitas PPAR γ dari pankreas

DAFTAR PUSTAKA

- AML (American Medical Laboratory). 2016. *Mouse Hematology(Internet)* (diunduh 4 Februari 2016). Tersedia pada: <http://en.aml-vet.com/animal-species/mouse/hematology>.
- Basch, E., C. Ulbricht, G. Kuo, P. Szapary, M. Smith. 2003. *Therapeutic Applications of Fenugreek, Fenugreek Review*. Alternative Medicine Review volume 8/1
- Bavarva, JH. & AVRL Narasimhacharya. 2008. *Antihyperglycemic and Hypolipidemic Effects of Costus speciosus in Alloxan Induced Diabetic Rats*. Phytotherapy Research. Res. 22. 620-626.
- Bhogaonkar, PY., VD. Devarkar, SK. Lande. 2012. *Physical Characterization of Costus speciosus (Koenig ex Retz.) Smith-A Well Known Ayurvedic Drug Plant*. Life Sciences Leaflets 11:1-9
- Cayen MN and D. Dvornik. 2015. *Effect of Diosgenin on Lipid Metabolism in Rats*. Journal of Lipid Research Volume 80: 162-174.
- Cunningham, JG. 2007. *Textbook of Veterinary Physiology Fourth Edition*. Saunders Elsevier. www.Elilib4vet.com.
- De Silveira, D. 2011. *Biochemical and Molecular Mechanisms of Diabetes Mellitus*. CHEM 4420.
- Etuk, E.U. 2010. *Animal Models for Studying Diabetes Mellitus*. Agriculture and Biology Journal of north America. Vol 1(2): 130-134
- Geneen, Van, Smits MM, Schreuder TC, van der Peet DL, Bloemena E, Mulder CJ. 2010. *Nonalcoholic Fatty Liver Disease is Related to Nonalcoholic Fatty Pancreas Disease*. PubMed Pancreas Journal Nov;39(8): 1185-1190
- Geneser, F. 1992. *Color Atlas of Histology*. PT Binarupa Aksara. Jakarta.
- Ghosh, S., P. More, A. Derle, AB. Patil, P. Markad, A. Asok, N, Kumbhar, ML. Shaikh, B. Ramanamurthy, VS. Shinde, DD. Dhavale, BA. Chopade. 2014. *Diosgenin from Dioscorea bulbifera: Novel Hit for Treatment of Type II Diabetes Mellitus with Inhibitory Activity against α -Amylase and α -Glucosidase*. Journal Plos One Volume 9

- Hamden, K., K. Mnafigui, Z. Amri, A. Aloulou, A. Elfeki, 2012. *Inhibition of Key Digestive Enzymes related to Diabetes and Hyperlipidemia and Protection of Liver-kidney Functions by Trigonelline in Diabetic Rats*. Scientia Pharmaceutica Research Article Volume 81:233-246
- Hubscher, SG. 2006. *Histological Assessment of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease*. Histopathology journal 49: 450-465
- HJL (Hexpharm Jaya laboratories), 2016. *Produk Generik Metformin (Internet)*. Diunduh 13 Maret 2016. Tersedia pada: www.hexapharmjaya.com.
- IDF (Internasional Diabetes Federation). 2015. *Diabetes Atlas 7th Edition revision 2015*. (diunduh 4 Februari 2016). Tersedia pada: www.diabetesatlas.org.
- Kementerian Kesehatan RI, 2013. (Internet). (diunduh 4 Februari 2016). Tersedia pada: www.depkes.go.id. Pusdatin
- Kuehnel W. 2003. *Color Atlas of Cytology, Histology, and Microscopic Anatomy* 4th edition. Thieme Basic Science. New York USA.
- Kumar, V., Abbas AK., Aster JC. 2013. *Robbins Basic Pathology Ninth Edition*. Elseviers Saunders. Philadhelpia.
- Kusumawati D. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Kwon, CS., K. Sohn, SH. Kim, JH. Kim, KH. Son, JS. Lee, JK. Lim, JS. Kim. 2015. *Anti-obesity Effect of Dioscorea nipponica makino with lipase-inhibitory Activity in Rodents*. Taylor and Francis Publiser Bioscience, Biotechnology and Biochimestry: 1451-1456
- McAnuff., MA, FO Omoruyi, EY St A Morrison, HN Asemota. 2005. *Changes in Some Liver Enzymes in Streptozotocin-induced Diabetic Rats Fed Sapogenin Extract from Bitter yam (Dioscorea polygenoides) or Commercial Diosgenin*. West Indian med J:54(2):97-101
- Naidu, PB., P. Ponmurugan, MS. Begum, K. Mohan, B. Meriga, RR. Naik. 2014. *Diosgenin Reorganizes Hyperglycemia and Distorted Tissue lipid Profile in High Fat Diet-Streptozotocin Induced Diabetic Rats*. Departement of Biochemistry, KS Rangasamy Collage of Art.
- Neuschwander-Tetri BA, Chadwell SH. 2003. *Non-Alcoholic Steatohepatitis: Summary of An AASLD Single Topic Conference*. Hepatology Journal 37: 1202-1219

- Patel, K., M. Gadewar, V. Tahilyani, DK. Patel. 2012. *A Review on Pharmacological and Analytical Aspects of Diosgenin: a Consider Report*. Springer Nat. Prod. Bioprospect 2: 46-52
- Pawar VA & PR Pawar. 2014. *Costus speciosus: An Important Medicinal Plant*. International Journal of Science and Research Volume 3: 28-33
- Rahman A. 2013. *Percobaan Isolasi Diosgenin dari Akar Rimpang Segar*. ADLN-Airlangga Digital Library Network
- Rajesh, MS., MS. Harish, RJ. Sathyaprakash, AR. Shetty, TN. Shivananda, 2009. *Antihyperglycemic activity of the various extracts of costus speciosus rhizomes*. Journal of Natural Remedies Vol.9/2:235-241
- Raju, J., D. Gupta, AR. Rao, PK. Yadava, NZ. Baquer. 2001. *Trigonella foenum graecum (fenugreek) Seed Power Improves Glucose Homeostasis in Alloxan Diabetic Rat Tissues by Reversing the Altered Glycolytic, Gluconeogenic and Lipogenic Enzymes*. Molecular and cellular Biochemistry 224: 45-51
- Rani, AS., G. Sulakshana, S. Patnaik, 2012. *Costus speciosus, an Antidiabetic Plant-Review*. Volume (3): 52-53
- Revalthy, J., SS. Abdullah, PS. Kumar. 2014. *Antidiabetic Effect of Custus speciosus Rhizome Extract in Alloxan Induced Albino Rats*. Journal of Chemistry and Biochemistry Vol.2 No. 1:13-22
- Rohilla, A. and Shahjad A. 2012. *Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effect*. International journal of research in Pharmaceutical and biomedical Sciences. Vol.3 (2): 819-823
- Saraf, A. 2009. *Phytochemical and Antimicrobial Studies of Medicinal Plant Costus speciosus (Koen.)*. E-journal of Chemistry, 7:405-413
- Silverthorn, DU. 2014. *Fisiologi Manusia Sebuah Pendekatan Terintegrasi Edisi 6*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta
- Tharahaswari, M, NJ. Reddy, R. Kumar, KC. Varshney, M Kannan, SS. Rani. 2014. *Trigonelline and diosgenin attenuate ER stress, oxidative stress-mediated Damage in Pancreas and Enhance Adipose Tissue PPAR γ Activity in Type 2 Diabetic Rats*. Mol Cell Biochem. 396: 161-174
- Thomas C. 1988. *Histopatologi Buku Teks dan Atlas untuk Pelajaran Patologi Umum dan Khusus Edisi 10*. EGC Penerbit Buku Kedokteran. Jakarta.
- Tibrani, M. 2009. *Kadar Insulin Plasma mencit yang Dikondisikan Diabetes Mellitus setelah Pemberian Ekstrak Air Daun Nimba*. Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, B:112-119

- Uemura, T., S. Hirai, N. Mizoguchi, T. Goto, JY. Lee, K. Taketani, Y. Nakano, J. Shono, S. Hoshino, N. Tsuge, T. Narukami, N. Takahashi. T. Kawada. 2010. *Diosgenin present in Fenugreek Improves Glucose Metabolism by Promoting Adipocyte Differentiation and Inhibiting Inflammation in Adipose Tissues*. Research Article Mol. Nutr. Food Res 54: 1596-1608
- Verma, N & RL Khosa. 2012. *Development of Standarization Parameters of Costus speciosus Rhizomes with Special Reference to its Pharmacognostical and HPTCL Studies*. Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine: 276-283
- Vijayakumar, M. Varachan, S. Singh, R. Raj Chhipa and MK. Bhat, 2014. *The Hypoglycemic Activity of Fenugreek Seed Extract is Mediated Trough The Simulation of an Insulin Signalling Pathway*. British Journal of Farmacology vol 146 (1).
- Wijayakusuma, H., AS. Wiriawan, T. Yaputra, 2014. *Tanaman Pacing Costus speciosus (Koenig) J.E Smith*. (diunduh 4 September 2015). Tersedia pada: www.petanihebat.com
- Wonodirekso, S., M Martoprawiro, S. Koesparto, I. Guritnoko. 2013. *Penuntun Praktikum Histologi. Edisi 2*. PT Dian Rakyat Jakarta.
- Wunas, J., K. Padmawinata, S. Kisaman, 1983. *Penentuan Kadar Diosgenin dalam Rimpang Costus dengan Cara Densitometri dan Spektrofotometri*. Detail Penelitian Obat Bahan Alam