

**EFEK TERAPI EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN  
(*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) TERHADAP  
KERUSAKAN HISTOLOGI HATI, GINJAL DAN PANKREAS  
TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

THE THERAPEUTIC EFFECT OF ETHANOLIC EXTRACT  
OF BREADFRUIT LEAVES (*Artocarpus altilis* (Parkinson)  
Fosberg) ON HISTOLOGICAL LIVER, KIDNEY AND  
PANCREATIC DAMAGE IN ALLOXAN-INDUCED RATS

**HESTY SETIAWATI**



**SEKOLAH PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2019**

**EFEK TERAPI EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN  
(*Artocarpus altilis*(Parkinson) Fosberg) TERHADAP  
KERUSAKAN HISTOLOGI HATI, GINJAL DAN PANKREAS  
TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Magister Farmasi

Disusun dan diajukan oleh

**HESTY SETIAWATI**

Kepada

**SEKOLAH PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2019**

## TESIS

**EFEK TERAPI EKSTRAK ETANOL DAUN SUKUN (*Artocarpus altilis*  
(Parkinson) Fosberg) TERHADAP KERUSAKAN HISTOLOGI HATI, GINJAL  
DAN PANKREAS TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

**Disusun dan diajukan oleh**

**HESTY SETIAWATI**

**Nomor Pokok N012171011**

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis  
pada tanggal 1 Agustus 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

**Menyetujui**

**Komisi Penasihat,**

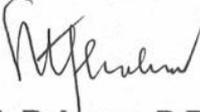
  
**Yulia Yusrini Djabir, M.Si, MBM.Sc, Ph.D, Apt.**  **Subehan, M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.**

**Ketua**

**Anggota**

**Ketua Program Studi  
Magister Ilmu Farmasi**

**Dekan Fakultas Farmasi  
Universitas Hasanuddin**

  
**Dr. Latifah Rahman, D.E.S.S., Apt.**

  
**Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.**

## **PERNYATAAN KEASLIAN TESIS**

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Hesty Setiawati  
Nomor mahasiswa : N012171011  
Program Studi : Farmasi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar benar-benar merupakan hasil saya karya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut

Makassar, 1 Agustus 2019  
Yang menyatakan

Hesty Setiawati

## PRAKATA



Puji syukur kehadiran Allah SWT karena atas berkat nikmat ihsan, iman dan islam sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “Efek Terapi Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Kerusakan Histologi Hati, Ginjal dan Pankreas pada Tikus yang Diinduksi Aloksan”. Tesis ini disusun dalam rangka menyelesaikan tugas akhir untuk menyelesaikan studi di Sekolah Pascasarjana Program Studi Farmasi Peminatan Herbal Medisin Universitas Hasanuddin Makassar.

Dalam penyusunan tesis ini, penulis banyak mendapatkan arahan, bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak, untuk itu penulis ingin mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.
2. Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS., Apt. selaku Ketua Program Pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar.
3. Yulia Yusrini Djabir., M.Si., MBM.Sc., Ph.D., Apt sebagai komisi penasehat I yang telah banyak memberikan masukan, arahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan tesis ini.
4. Subehan, M.Pharm. Sc.,Ph.D.,Apt. sebagai Komisi Penasehat II yang juga yang telah banyak memberikan masukan, arahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan tesis ini.

5. Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt., Dr. Hj. Latifah Rahman, DESS., Apt., dan Prof. Dr.rer.nat. Marianti A. Manggau., Apt sebagai komisi penguji yang juga telah banyak memberikan masukan, arahan dan bimbingan kepada penulis dalam penyusunan tesis ini.
6. Seluruh dosen dan staf Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar serta laboran/asisten di laboratorium yang telah membantu dalam proses perkuliahan maupun penelitian.
7. Suami tercinta, Hendra Stevani, S. Si., M.Kes., Apt yang telah memberikan motivasi, doa dan dukungannya dalam mendampingi penulis selama melakukan penelitian.
8. Anak soleh Habibi Ahmad Hafizh, anak soleha Hasya Abiyathulhana dan anak soleha Hanifa Aisyah Humairo yang rela berbagi perhatian saat penulis melakukan penelitian.
9. Kedua Orang Tua tercinta H. Abdul Waris dan Hj. Fatmawati yang senantiasa memberikan kasih sayang yang tak ternilai dan selalu menghadirkan ananda dalam setiap do'anya.
10. Seluruh rekan - rekan Program Pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin Makassar Angkatan 2017 dan seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang selalu memberikan bantuan, dorongan serta kritikan yang sangat membangun kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa penyusunan tesis ini jauh dari sempurna, Oleh karena itu penulis mengharapkan masukan berupa kritik dan saran yang sifatnya membangun demi kesempurnaan tesis ini.

Semoga Allah Swt memberikan balasan atas semua kebaikan yang telah Bapak/Ibu/Saudara berikan dan semoga tesis ini bermanfaat untuk ilmu pengetahuan terkhusus dalam bidang herbal medisn. Terimakasih.

Makassar, 1 Agustus 2019

Hesty Setiawati

## ABSTRAK

**HESTY SETIAWATI.** Efek Terapi Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*(Parkinson) Fosberg) terhadap Kerusakan Histologi Hati, Ginjal dan Pankreas pada Tikus yang Diinduksi Aloksan (dibimbing oleh Yulia Yusrini Djabir dan Subehan).

Aloksan merupakan senyawa kimia yang dapat menginduksi kerusakan pankreas dan organ lain akibat produksi radikal bebas. Daun sukun diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang dapat melindungi organ dari kerusakan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi efek terapi ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) melalui pengukuran parameter biomarker SGPT dan kreatinin serta analisis histopatologi hati, ginjal dan pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan.

Ekstrak daun sukun dibuat dengan cara maserasi menggunakan etanol 70%, kemudian dibuat suspensi untuk memudahkan pemberian per oral. Tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok, kelompok I tidak diberikan perlakuan, kelompok II diinjeksi aloksan secara intra peritoneal tanpa ekstrak, kelompok III, IV dan V diinjeksi aloksan secara intra peritoneal, tiga hari kemudian diikuti dengan pemberian ekstrak dosis 100 mg/kg BB (kelompok III), 200 mg/kg (kelompok IV) dan 400 mg/kg BB (kelompok V). Pemberian ekstrak dilakukan selama 14 hari dan diukur kadar SGPT dan kreatinin kemudian dilakukan pemeriksaan histologi pada hati, ginjal dan pankreas tikus.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan signifikan kadar SGPT setelah pemberian ekstrak 200 mg/kg dan 400 mg/kg, tetapi penurunan kadar kreatinin tidak signifikan dibandingkan kelompok yang tidak diberikan ekstrak. Gambaran histologi hati, ginjal serta pankreas pada tikus yang diberikan ekstrak 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB terlihat lebih baik dibandingkan kontrol negatif. Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbaikan derajat kerusakan hati, ginjal dan pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan dengan pemberian ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) dibandingkan dengan tikus tanpa pemberian ekstrak.

Kata Kunci : Daun Sukun, Hati, Ginjal, Pankreas, Aloksan

## ABSTRACT

**HESTY SETIAWATI.** The Therapeutic Effect of Ethanolic Extract of Breadfruit Leaves (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) against Liver, Kidney and Pancreatic Histological Damage in Aloxan-Induced Rats (supervised by Yulia Yusrini Djabir and Subehan).

Alloxan is a chemical compound that can cause damage to the pancreas and other organs due to the production of free radicals. Breadfruit leaves have antioxidant activity that can protect organs from damage. The purpose of this study was to examine the effect of ethanol extract of breadfruit leaves (*Artocarpus altilis*(Parkinson) Fosberg) through measurement of biomarkers of SGPT and creatinine parameters and histopathological analysis of liver, kidney and pancreatic in alloxan-induced rats.

Breadfruit leaf extract made by maceration using 70% ethanol, then made a suspension to facilitate oral administration. Rats were grouped into 5 groups. Group I was not injected with alloxan. Group II was injected with alloxan intra peritoneal without extract treatment. Group III was injected intra with alloxan intra peritoneal, and three days later were treated with extract at dose of 100 mg/kg (group III), 200 mg/kg (group IV) and 400 mg/kg (group V). The extract treatment was carried out for 14 days before measuring the levels of SGPT and creatinine. Lastly, the histopathological examination of the liver, kidneys and pancreatic of the rats was performed.

The results showed that there was a significant decrease in SGPT levels of rats treated with extract especially at the dose of 400 mg/kg, but the decrease in creatinine levels was not significant. The histopathological features of liver and pancreatic in rats given extracts of 200 mg/kg and 400 mg/kg BW looked less damaged than the negative controls. It is concluded that damage to the liver, kidney and pancreatic due to alloxan was improved by the administration of ethanolic extract of breadfruit leaves (*Artocarpus altilis*) compared to rats that did not receive extract treatment.

Keywords: Leaves of Breadfruit, Liver, Kidney, Pancreatic, Aloksan

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN PENGAJUAN TESIS	ii
HALAMAN PENGESAHAN TESIS	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	iv
PRAKATA	v
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
A. Tanaman Sukun	6
B. Ekstraksi	12
C. Aloksan	17

D. Histologi hati dan toksisitas aloksan	22
E. Histologi ginjal dan toksisitas aloksan	26
F. Histologi Pankreas dan toksisitas aloksan	30
G. Kerangka Teori	38
H. Kerangka Konsep	39
I. Hipotesis	40
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	<b>41</b>
A. Rancangan Penelitian	41
B. Lokasi dan Waktu	41
C. Populasi dan Sampel	41
D. Alat dan Bahan	42
E. Prosedur Kerja	42
1. Penyiapan Sampel	42
2. Penyiapan sediaan uji	42
F. Prosedur Pengumpulan Data	45
1. Perlakuan terhadap hewan uji	45
2. Pengambilan organ pankreas, hati dan ginjal	47
3. Pembuatan preparat histopatologi pankreas, hati dan ginjal	47
G. Analisis Data	52
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	<b>53</b>
A. Hasil pengukuran kadar SGPT	53
B. Hasil pengukuran kadar kreatinin	57

C. Hasil pemeriksaan histopatologi	61
BAB V PENUTUP	74
A. Kesimpulan	74
B. Saran	75
DAFTAR PUSTAKA	76
LAMPIRAN	82

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>		<b>Halaman</b>
1.	Prosedure <i>tissue processor</i> dan pengaturan waktu	48
2.	Tahap Pewarnaan Mayer's Hematoxyllin Eosin	49
3.	Skor penilaian kerusakan pankreas	50
4.	Skor penilaian kerusakan glomerulus ginjal	51
5.	Skor penilaian kerusakan tubulus ginjal	51
6.	Skor penilaian kerusakan histopatologi hepatosit	52
7.	Hasil pengukuran kadar rata-rata SGPT tikus yang diinduksi aloksan	54
8.	Hasil pengukuran kadar rata-rata kreatinin tikus yang diinduksi aloksan	58
9.	Skor kerusakan hati pada tikus yang diinduksi aloksan	61
10.	Skor kerusakan ginjal pada tikus yang diinduksi aloksan	61
11.	Skor kerusakan pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan	62
12.	Volume pemberian ekstrak etanol daun sukun pada tikus	90
13.	Volume pemberian induksi aloksan pada tikus	92

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>		<b>Halaman</b>
1.	<i>Artocarpus altilis</i>	7
2.	Daun sukun yang berwarna kuning	7
3.	Fase respon glukosa darah terhadap dosis diabetogenik aloksan	20
4.	Anatomi hati	23
5.	Hepatosit <sup>24</sup>	
6.	Anatomi ginjal	27
7.	Korteks renalis	28
8.	Pankreas dan pulau langerhans	31
9.	Pembesaran pankreas 20x dengan pewarnaan H&E	32
10.	Histogram pengukuran kadar rata-rata SGPT dengan Standar Error Mean (SEM)	56
11.	Histogram pengukuran kadar rata-rata kreatinin dengan Standar Error Mean (SEM)	60
12.	Hepatosit normal pada tikus kelompok I	62
13.	Hepatosit dengan degenerasi lemak dan Degenerasi hidropik pada kelompok II	63
14.	Hepatosit dengan nekrosis pada kelompok II	63
15.	Hepatosit dengan degenerasi hidropik skor 2 pada kelompok III	64

16.	Jaringan ginjal tikus pada kelompok normal	66
17.	Jaringan ginjal tikus dengan degenerasi lemak dan degenerasi hidropik skor 1 pada kelompok II	66
18.	Jaringan ginjal tikus dengan degenerasi hidropik skor 3 pada kelompok III	67
19.	Jaringan ginjal tikus dengan degenerasi tubulus skor 2 pada kelompok IV	67
20.	Jaringan ginjal tikus dengan peradangan skor 1 pada kelompok V	68
21.	Jaringan pankreas tikus normal pada kelompok I	70
22.	Jaringan pankreas tikus dengan peradangan skor 2 pada kelompok II	70
23.	Jaringan pankreas tikus dengan peradangan skor 2 pada kelompok III	71
24.	Jaringan pankreas tikus dengan peradangan dan degenerasi skor 2 pada kelompok IV	71

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1.	Surat keterangan determinasi daun sukun ( <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg)	82
2.	Rekomendasi persetujuan etik	83
3.	Skema kerja pembuatan ekstrak etanol daun Sukun ( <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg)	84
4.	Skema kerja penelitian	85
5.	Skema kerja pembuatan preparat histopatologi	86
6.	Perhitungan konsentrasi ekstrak etanol daun sukun ( <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg)	87
7.	Perhitungan dosis aloksan	91
8.	Perhitungan jumlah tikus yang digunakan dalam penelitian	93
9.	Pengukuran kadar SGPT tikus yang diinduksi aloksan	94
10.	Analisis statistik kadar SGPT tikus yang diinduksi	95
11	Pengukuran kadar kreatinin tikus yang diinduksi Aloksan	109
12.	Analisis statistik kadar kreatinin tikus yang diinduksi aloksan	110
13.	Dokumentasi penelitian	124
14.	Dokumentasi pembuatan sediaan jaringan histopatologi	128

## DAFTAR ARTI DAN LAMBANG SINGKATAN

---

<b>Lambang/Singkatan</b>	<b>Arti dan keterangan</b>
ADP	Adenosine diphosphate
ATP	Adenosine triphosphate
Anova	Analysis of variance, analisis varian
BB	Bobot badan
CAT	Catalase
CoA	Coenzim A
DNA	Deoxyribonucleic acid, asam deoksiribonukleat
DM	Diabetes mellitus
FFA	Free fatty acid
GSH-Px	Glutathione peroxidase
GLUT 2	Glukosa Transporter 2
MDA	Malondealdehid
NAFLD	Non alcoholic fatty liver disease
NASH	Non alcoholic steatohepatitis
ROS	Reactive Oxygen Species
SOD	Superoxide dismutase

---

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Aloksan (2,4,5,6-tetraoxypyrimidine; 2,4,5,6-pyrimidinetetrone) adalah bentuk pirimidin yang teroksidasi dalam bentuk hidrat aloksan yang dapat menyebabkan kerusakan selektif pulau beta pankreas yang memproduksi insulin (Rohilla dan Ali, 2012). Selain itu, aloksan juga menyebabkan akumulasi glikogen dalam tubulus ginjal distal (lesi Ebstein-Armanni) yang dilaporkan muncul pada ginjal tikus diabetes yang diinduksi aloksan dan tikus dengan hiperglikemia yang berkepanjangan (Terayama, 2017). Induksi aloksan dapat menyebabkan keadaan diabetes pada hewan percobaan dan pada dosis aloksan tertentu akan menyebabkan kerusakan jaringan di hati (Etuk, 2010).

Aloksan adalah molekul kecil yang menyerupai glukosa dapat mengikat transporter glukosa *GLUT2* sehingga masuk dalam sel beta pankreas, hepatosit, sel tubulus ginjal dan sel epitel usus halus. Aloksan menghasilkan superoksida dan radikal hidroksil, dan secara cepat menginduksi nekrosis (kematian sel). Selain itu menyebabkan menyempitkan pada mitokondria, kadang-kadang pada selaput luar (Lenzen, 2008). Aloksan menghasilkan *Reactive Oxygen Species (ROS)* radikal dan superoksida melalui reaksi dengan dua gugus -SH pada

pengikatan gula glukokinase yang menghasilkan pembentukan ikatan disulfida dan inaktivasi enzim yang menyebabkan penurunan aktivitas enzim antioksidan *SOD*, *CAT* dan *GSH-Px* (Rohila dan Ali, 2012; Lucchesi *et al*, 2013).

Berdasarkan fakta-fakta ini, terapi antioksidan atau dalam kombinasi dengan strategi farmakologis lainnya muncul sebagai pengobatan paling masuk akal dari berbagai penyakit yang terkait dengan *ROS*. Salah satu tanaman yang diduga memiliki kemampuan antioksidan adalah sukun. Tanaman sukun termasuk dalam family *Moraceae* yang merupakan tanaman tropis yang menghasilkan buah dari bulan Maret hingga Juni dan dari bulan juli hingga september (Motley, 2009). Sukun dikenal sebagai tanaman yang kaya akan pati, sekitar 50 species tersebar luas di daerah tropis dan subtropis (Jones *et al*, 2011). Daun sukun yang menguning dibuat menjadi teh dan dikonsumsi untuk mengurangi tekanan darah dan asma di daerah India Barat. Teh tersebut juga dikatakan dapat mengontrol diabetes (Ragone, 2006).

Daun sukun mengandung tannin, fenol , glikosida, saponin, steroid, terpenoid dan antrakuinon. Komponen fenol meliputi flavonoid, stillbenoids, arylbenzofurans and jacalin (Jagtap *et al*, 2010). Komponen tersebut telah terbukti mempunyai aktivitas antioksidan yang dapat mereduksi radikal bebas (Mu'nisa *et al*, 2011). Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun sukun nempel memiliki aktivitas antioksidan (Riasari, 2014). Hasil pengujian aktivitas antioksidan

menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun sukun kuning nempel memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik dengan nilai  $IC_{50}$  dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan fraksi air. Senyawa fenol golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan adalah flavanon (Riasari *et al*, 2015). Wahyuddin *et al*, ekstrak daun sukun 10% dapat menurunkan kadar asam lemak bebas (FFA) pada mencit yang obesitas sehingga dapat dipertimbangkan sebagai pencegahan pada resistensi insulin (Wahyuddin *et al*, 2017). Selain itu penelitian lain menunjukkan ekstrak etanol daun sukun dapat menurunkan kadar glukosa dan malondialdehid (MDA) pada mencit yang diinduksikan aloksan (Mu'nisa *et al*, 2012). Penelitian lain menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) memiliki efek dalam menurunkan kadar gula darah dan kolesterol pada tikus putih jantan hiperkolesteromia- diabetes dengan dosis 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB (Tandi *et al*, 2017). Hal ini sejalan dengan penelitian Merliana dan Islamiyati (2017) bahwa dosis 400 mg/kg BB lebih efektif dalam menurunkan glukosa darah dan mengalami penurunan secara signifikan.

Ekstrak Daun sukun mengandung senyawa yang berpotensi menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat (Leng *et al*, 2018). Akan tetapi penelitian yang menunjukkan kemampuan daun sukun dalam memperbaiki kerusakan organ yang disebabkan oleh radikal bebas yang diinduksi oleh aloksan belum ada. Oleh karena itu melalui penelitian ini akan dibuktikan kemampuan ekstrak etanol daun sukun kuning nempel

dalam memperbaiki kerusakan histologi pankreas, hati dan ginjal yang diinduksi aloksan.

### **B. Rumusan Masalah**

1. Bagaimana efek terapi ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) terhadap kadar SGPT dan kreatinin sebagai biomarker fungsi hati dan ginjal pada tikus yang diinduksi aloksan?
2. Bagaimana efek terapi ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) terhadap kerusakan histologi hati, ginjal dan pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Untuk mengevaluasi efek terapi ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) terhadap kadar SGPT dan kreatinin sebagai biomarker fungsi hati dan ginjal pada tikus yang diinduksi aloksan?
2. Untuk mengevaluasi efek terapi ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) terhadap kerusakan histologi hati, ginjal dan pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan.

#### **D. Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Memberikan kontribusi terhadap pengembangan ilmu pengetahuan terkait kerusakan histologi pankreas, ginjal dan hati pada tikus yang diinduksi aloksan.
2. Sebagai sumber informasi ilmiah tentang manfaat daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) dalam memperbaiki histologi pankreas, ginjal dan hati.
3. Sebagai informasi kepada masyarakat tentang pemanfaatan sukun sebagai antioksidan.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Tanaman Sukun (*Artocarpus altilis*)

##### 1. Sistematika Tanaman

Berikut adalah sistematika tanaman Sukun (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991) :

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Urticales

Family : Moraceae

Genus : *Artocarpus*

Species : *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg

##### 2. Nama Lain

*Artocarpus communis*, *Artocarpus communis* Forst, breadfruit, *Artocarpus incisa* L. f., *Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg (Bappenas, 2008).



Gambar 1. *Artocarpus altilis* (Sirkarwar *et al*, 2014)



Gambar 2. Daun sukun yang berwarna kuning (dokumentasi pribadi)

### **3. Morfologi Tanaman**

#### **a. Pohon**

Secara umum, pohon sukun sangat besar, hijau sepanjang tahun yang bisa mencapai ketinggian 15 hingga 20 meter. Pohonnya terdiri dari kulit kayu yang halus dan berwarna terang, dan batangnya besar dengan diameter 1,2 m, sesekali tumbuh hingga ketinggian 4 m sebelum bercabang. Kayunya berwarna emas, tetapi ketika kontak dengan udara, berubah menjadi warna yang lebih gelap. Lateks dapat dilihat di semua bagian pohon dengan tekstur seperti susu (Ragone, 2006).

#### **b. Daun**

Daunnya tebal dan kasar dengan warna hijau gelap di sisi punggung, yang sering tampak mengkilap. Bagian bawah kusam dengan pelepah yang tinggi. Daunnya bervariasi dalam ukuran dan bentuk bahkan pada pohon yang sama. Di ujung cabang, daun dilihat sebagai kelompok. Mahkota berbentuk kerucut ketika pohon muda atau tumbuh di bawah kondisi teduh dan menjadi bulat dan tidak teratur ketika berubah lebih tua. Bilah umumnya halus, hijau tua mengkilap dengan hijau atau vena kuning-hijau dan banyak rambut putih hingga putih kemerahan di pelepah dan vena (Ragone, 2006).

### **c. Bunga**

Pohon sukun menghasilkan banyak bunga kecil. Sukun adalah monoecious yang berarti bunga betina dan jantan tumbuh di tanaman yang sama. Kumpulan duri yang 5 berdiameter cm dan 45 cm ditemukan pada bunga jantan sedangkan bunga betina berbentuk bulat panjang, hijau, berduri berukuran panjang sekitar 6,35 cm. Bunga mengalami penyerbukan silang dengan serbuk sari tepung kecil yang disebarkan oleh angin dan serangga. Begitu bunga jantan dan betina disatukan akan tumbuh menjadi buah yang berdaging dan dapat dimakan (Ragone, 2006).

### **d. Buah**

Buah sukun memiliki struktur yang sangat spesifik. Dalam buah, bagian tengahnya mengandung banyak tabung dan getah. Getahnya dengan cepat berubah warna setelah dipotong karena aktivitas enzim oksidatif. Buahnya bervariasi dalam ukuran, bentuk dan tekstur permukaan. Sebagian besar berbentuk bulat dan lonjong mulai dari 9-20 cm, lebih dari 30 cm dan biasanya beratnya sekitar 0,25-6 kg. Buah dibentuk oleh pembesaran seluruh bunga betina. Buah matang dari bunga betina ini berbentuk bulat dan berdiameter 4 hingga 8 inci. Buah yang matang memiliki kulit kuning atau kuning-coklat dengan tekstur lembut dan manis.

Warna sukun biasanya ringan berwarna hijau, hijau kekuningan atau kuning pada saat matang (Ragone, 2006).

#### **e. Biji**

Sukun tersedia dengan biji dan juga tanpa biji. Jenis sukun berbiji terdapat di Pasifik barat daya, sedangkan jenis sukun yang tidak ada biji adalah umum di Kepulauan Mikronesia dan kepulauan Polinesia Timur. Semua sukun varietas di tempat lain terutama di wilayah tropis adalah dari jenis tanpa biji. Biji berwarna coklat, mengkilap, bulat atau bulat telur dan bentuknya tidak beraturan. Bijinya hanya sedikit atau tidak memiliki endosperma, tidak memiliki periode dormansi dan dapat berkecambah dengan segera. Karena dapat berkecambah segera, maka tidak dapat dikeringkan atau disimpan. Pohon yang tumbuh dengan bantuan biji dapat menghasilkan buah dalam jangka waktu 6-10 tahun atau lebih cepat. Sebaliknya, pohon yang diperbanyak secara asexual dapat mulai menghasilkan buah dalam waktu 3-6 tahun. (Ragone, 2006).

#### **4. Kegunaan**

Pengembangan buah sukun dapat digunakan sebagai alternatif sumber makanan pokok. Daun sukun digunakan sebagai obat alternatif, seperti obat hepatitis, jantung, ginjal, tekanan darah tinggi, diabetes, serta dapat digunakan sebagai bahan ramuan obat penyembuh kulit yang

bengkak atau gatal-gatal, karena mengandung fenol, kuersetin, dan champorol (Ermin *et al*,1991).

## **5. Kandungan Kimia**

Genus *Artocarpus* dapat menghasilkan sejumlah besar metabolit sekunder yang biasanya kaya akan fenilpropanoid seperti flavonoid dan flavon. Genus *Artocarpus* juga menghasilkan senyawa fenolik termasuk flavonoid, stilbenoid, dan arilbenzofuron. Lebih dari 130 senyawa diidentifikasi dari pohon *Artocarpus altilis*, lebih dari 70 di antaranya berasal dari jalur fenilpropanoid. Banyak senyawa yang terisolasi menunjukkan aktivitas biologis seperti menghambat agregasi trombosit, aktivitas anti-bakteri, sifat anti-jamur, penghambatan sel-sel leukemia dan sebagai agen anti-tumor (Handa *et al.*, 2008). Komposisi nutrisi dari biji memiliki air, protein, karbohidrat, lemak, kalsium, fosfor, zat besi, niasin, tiamin dan vitamin C (Rahul, 2013).

## **6. Data Keamanan**

*Artocarpus altilis* digunakan dalam pengobatan tradisional, telah teruji dan digunakan untuk mengobati berbagai penyakit sampai saat ini. Tradisi-tradisi ini telah berhasil memberikan contoh penggunaan sumber daya alam dalam menyembuhkan banyak penyakit kompleks. Dari hasil penelitian toksisitas akut dengan dosis 2000mg/kgBB disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) aman untuk digunakan

sebagai bahan fungsional atau sebagai nutraceutical (Sairam dan Urooj, 2014).

## **B. Ekstraksi**

Ekstraksi atau penyarian adalah proses pemisahan senyawa dari matriks atau simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Hanani Endang, 2014). Tujuan dari suatu ekstraksi adalah :

1. Memperoleh suatu bahan aktif yang tidak diketahui,
2. Memperoleh bahan aktif yang diketahui,
3. Memperoleh semua metabolit sekunder dari suatu bagian tanaman dengan spesies tertentu,
4. Mengidentifikasi semua metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu makhluk hidup sebagai penanda kimia atau kajian metabolisme (Kumoro, 2015)

Jadi, ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan cara ekstraksi tanaman obat dengan ukuran partikel tertentu dengan menggunakan medium pengestraksi (menstruum) yang tertentu pula. Dalam pembuatan ekstrak, hal berikut harus jelas dan diperhatikan :

1. Jumlah simplisia yang akan diekstraksi.
2. Derajat kehalusan simplisia. Hal ini penting agar ekstraksi dapat berlangsung maksimal mungkin. Kehalusan menyangkut luas permukaan yang berkontak dengan pelarut untuk ekstraksi.

3. Jenis pelarut yang akan digunakan. Hal ini menyangkut keamanan karena pelarut yang digunakan untuk keperluan farmasi sangat terbatas jumlahnya. Selain itu, pelarut akan menentukan efisiensi proses penarikan zat berkhasiat dari tanaman obat.
4. Suhu/suhu penyari akan menentukan jumlah dan kecepatan penyarian.
5. Lama waktu penyarian.
6. Proses ekstraksi. Adakalanya proses ekstraksi harus terlindung dari cahaya karena kemungkinan akan ada komponen ekstrak yang peka terhadap cahaya (Agoes, 2009).

Beberapa metode ekstraksi yang umum digunakan adalah

#### **1. Maserasi**

Maserasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan merendam dalam pelarut pada suhu kamar sehingga kerusakan atau degradasi metabolit dapat diminimalisasi. Pada maserasi, terjadi proses keseimbangan antara larutan di luar dan di dalam sel sehingga diperlukan penggantian pelarut secara berulang. Kinetik adalah cara ekstraksi, seperti maserasi yang dilakukan dengan pengadukan, sedangkan digesti adalah cara maserasi yang dilakukan pada suhu yang lebih tinggi dari suhu kamar, yaitu 40°-60° C (Hanani, 2014).

#### **2. Perkolasi**

Perkolasi adalah cara ekstraksi simplisia dengan menggunakan pelarut yang selalu baru, dengan mengalirkan pelarut melalui simplisia hingga

senyawa tersari sempurna. Cara ini memerlukan waktu yang lebih lama dan pelarut yang lebih banyak. Untuk meyakinkan perkolasi sudah sempurna, perkolat dapat diuji adanya metabolit dengan pereasi spesifik sesuai (Hanani, 2014).

### **3. Refluks**

Refluks adalah cara ekstraksi dengan pelarut pada suhu titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Untuk penyarian lebih baik atau sempurna, refluks umumnya dilakukan berulang-ulang (3-6 kali) terhadap residu pertama. Cara ini memungkinkan terjadinya penguraian senyawa yang tidak tahan panas (Hanani, 2014).

### **4. Soxhletasi**

Soxhletasi adalah cara ekstraksi menggunakan pelarut organik pada suhu didih dengan alat soxhlet. Pada soxhletasi, simplisia dan ekstrak berada pada labu berbeda. Pemanasan mengakibatkan pelarut menguap, dan uap masuk ke labu pendingin. Hasil kondensasi jatuh pada bagian simplisia sehingga ekstraksi berlangsung secara terus menerus dengan jumlah pelarut konstan. Ekstraksi ini dikenal sebagai ekstraksi sinambung (Hanani, 2014).

### **5. Infusa**

Infusa adalah cara ekstraksi dengan menggunakan pelarut air, pada suhu 96° – 98° C selama 15 – 20 menit (dihitung setelah suhu mencapai

96° C). Bejana infusa tercelup dalam tangas air. Cara ini sesuai untuk simplisia yang bersifat lunak, seperti bunga dan daun (Hanani, 2014).

## **6. Dekok**

Dekok adalah cara ekstraksi yang mirip dengan infusa, hanya saja waktu ekstraksinya lebih lama yaitu 30 menit dan suhunya mencapai titik didih air (Hanani, 2014).

## **7. Destilasi (penyulingan)**

Destilasi merupakan cara ekstraksi untuk menarik atau menyari senyawa yang ikut menguap dengan air sebagai pelarut. Pada proses pendinginan, senyawa dan uap air akan terkondensasi dan terpisah menjadi destilat air dan senyawa yang diekstraksi. Cara ini umum digunakan untuk menyari minyak atsiri dari tumbuhan (Hanani, 2014).

## **8. Gelombang Ultrasonik (ultrasound assisted extraction/USE)**

Teknik ekstraksi ini merupakan salah satu ekstraksi non konvensional yang dilakukan dengan bantuan gelombang ultrasonik dengan frekuensi antara 20-2000 kHz sehingga permeabilitas dinding sel meningkat dan membangkitkan kavitasi sehingga isi sel keluar. Frekuensi getaran mempengaruhi hasil ekstraksi (Kumoro, 2015; Hanani, 2015). Dengan mekanisme kompresi dan ekspansi gelombang ultrasonik bergerak. Langkah ekspansi menarik molekul-molekul pelarut, sedangkan langkah kompresi menekan molekul pelarut untuk bergerak menjauh. Langkah ekspansi menghasilkan gelembung-gelembung dalam cairan pelarut sehingga menyebabkan penurunan tekanan. Proses ini menghasilkan

fenomena yang disebut kavitasi yang berarti pembentukan, pertumbuhan dan pemecahan gelembung. Pada tempat-tempat yang dekat dengan batas partikel padatan, celah antar gelembung pecah secara asimetrik dan menghasilkan cairan pelarut seperti jet yang sangat cepat. Lucutan jet pelarut inilah yang berperan dalam penetrasi pelarut pada permukaan partikel bagian tanaman yang diekstraksi. Ekstraksi dengan ultrasonik memiliki kelebihan dalam mengeluarkan senyawa organik dan anorganik dari matriks bagian tanaman dengan mekanisme yang diperkirakan melalui terjadinya intensifikasi perpindahan massa dan percepatan pelarut dalam mengakses senyawa bahan aktif yang terkandung dalam sel-sel bagian tanaman (Kumoro, 2015).

Ekstraksi ultrasonik melibatkan dua fenomena fisik yaitu (a) difusi melalui dinding sel bagian tanaman dan (b) pengeluaran isi sel oleh pelarut setelah dinding sel pecah. Faktor-faktor efektivitas dan efisiensi ekstraksi berbentuk gelombang elektrosonik diantaranya adalah kadar air sampel, derajat penggilingan, ukuran partikel sampel dan jenis pelarut. Sedangkan suhu, tekanan, frekuensi gelombang ultrasonik dan waktu berperan dalam mengatur aktivitas ultrasonik yang digunakan. Ekstraksi ultrasonik telah banyak diterapkan untuk meningkatkan efisiensi tetapi harus dipasang di tempat yang sesuai (Kumoro, 2015).

### C. Aloksan

Aloksan (2,4,5,6-etraoxypyrimidine; 2,4,5,6-pyrimidinetetrone) adalah turunan pirimidin teroksigenasi dalam bentuk hidrat aloksan dalam larutan air. Awalnya Brugnatelli mengisolasi Aloksan pada tahun 1818 dan namanya diberikan oleh Wohler dan Liebig pada tahun 1838. Senyawa ini ditemukan oleh von Liebig dan Wohler pada tahun 1828 dan telah dianggap sebagai salah satu senyawa organik tertua yang ada. Nama aloksan muncul dari penggabungan dua kata, yaitu, allantoin dan asam oxaluric. Allantoin adalah produk asam urat yang diekskresikan oleh janin dalam allantois dan asam oksalurat telah diturunkan dari asam oksalat dan urea yang ditemukan dalam urin. Selain itu, model aloksan induksi diabetes adalah yang pertama dilakukan pada kelinci oleh Dunn, Sheehan dan McLetchie pada tahun 1943 (Rohila dan Ali, 2012).

Aloksan awalnya dibuat oleh oksidasi asam urat oleh asam nitrat. Aloksan monohidrat secara simultan dibuat dengan oksidasi asam barbiturat oleh kromium trioksida. Selain itu, aloksan telah dianggap sebagai zat pengoksidasi kuat yang membentuk hemiasetal dengan produk reaksi yang berkurang, asam dialuric, di mana gugus karbonil direduksi menjadi gugus hidroksil, yang disebut aloksantin. Obat ini telah tercatat menyebabkan diabetogenik ketika diberikan secara parenteral, yaitu secara intravena, intraperitoneal, atau subkutan. Selain itu, dosis aloksan yang diperlukan untuk menginduksi diabetes tergantung pada

spesies hewan, rute pemberian dan status gizi. Selain itu, aloksan telah terbukti tidak beracun bagi sel beta manusia, bahkan dalam dosis sangat tinggi, alasannya dikaitkan dengan mekanisme pengambilan glukosa yang berbeda pada manusia dan tikus (Rohila dan Ali, 2012).

Aloksan telah digunakan untuk menginduksi diabetes eksperimental karena penghancuran selektif beta-pankreas pulau penghasil insulin. Aloksan menginduksi respon glukosa darah multiphasic ketika disuntikkan ke hewan percobaan, yaitu disertai dengan perubahan kebalikan yang sesuai dalam konsentrasi insulin plasma diikuti oleh perubahan sel beta menyebabkan kematian sel nekrotik (Rohila dan Ali, 2012).

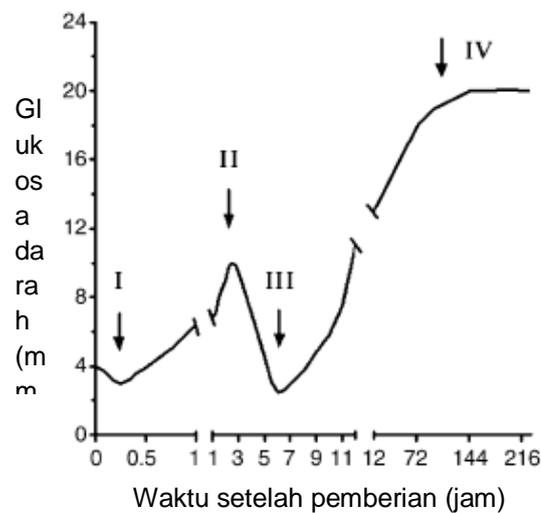
Fase pertama yang terlihat dalam menit-menit pertama setelah injeksi aloksan adalah fase hipoglikemik transien yang berlangsung maksimal selama 30 menit. Respon hipoglikemik yang rendah dicatat sebagai hasil stimulasi sementara dari sekresi insulin yang ditandai oleh peningkatan jumlah konsentrasi insulin plasma. Mekanisme yang mendasari hiperinsulinemia sementara ini dapat dikaitkan dengan peningkatan ketersediaan *ATP* sementara karena penghambatan glukosa fosforilasi melalui penghambatan glukokinase (Rohila dan Ali, 2012).

Fase 2 muncul satu jam setelah pemberian aloksan menyebabkan peningkatan konsentrasi glukosa darah sehingga plasma konsentrasi insulin tercatat menurun pada saat yang bersamaan. Ini adalah fase hiperglikemik pertama setelah kontak pertama beta pankreas sel dengan toksin (Lenzen, 2008). Fase hiperglikemik ini berlangsung selama 2-4 jam

yang disertai oleh penurunan konsentrasi insulin plasma. Perubahan ini merupakan hasil dari penghambatan sekresi insulin dari sel beta pankreas yang dikaitkan dengan induksi karena toksisitas sel beta (Rohila dan Ali, 2012).

Fase ketiga yaitu fase hipoglikemik yang dicatat 4-8 jam setelah injeksi aloksan, yang berlangsung selama beberapa jam (Lenzen, 2008). Kelebihan sirkulasi insulin terjadi sebagai akibat dari granula sekretori yang diinduksi aloksan dan ruptur sel membran mengakibatkan hipoglikemia transisional yang parah. Selain itu, organel subselular lainnya juga pecah yang mencakup cisternae retikulum endoplasma kasar dan kompleks golgi. Apalagi bagian luar dan dalam membran mitokondria kehilangan integritas struktural dalam fase khusus ini (Mythili, 2004). Perubahan-perubahan ini bersifat ireversibel dan sangat karakteristik untuk kematian sel nekrotik pulau pankreas.

Tahap terakhir dan ke 4 dari respon glukosa darah adalah fase hiperglikemik diabetes permanen akhir selama degranulasi lengkap dan hilangnya integritas sel beta dalam waktu 24-48 jam setelah pemberian aloksan (Lenzen, 2008; Mythili, 2004). Sel dan endokrin lainnya serta parenkim ekstrapankreatik tetap utuh yang memberikan bukti aksi toksik selektif dari aloksan sehingga aloksan digunakan untuk menginduksi diabetes yang bergantung pada insulin seperti diabetes tipe 1. Sindrom dan semua fitur morfologis penghancuran sel beta adalah karakteristik untuk nekrotik kematian sel (Lenzen, 2008; Peschke E, 2000).



Gambar 3. Fase respon glukosa darah terhadap dosis diabetogenik aloksan (Lenzen, 2008)

Aloksan secara selektif menghambat sekresi insulin oleh induksi glukosa melalui penghambatan spesifik glukokinase, deteksi gula oleh sel beta dan menginduksi pembentukan ROS sehingga menyebabkan nekrosis sel-sel beta secara selektif yang akhirnya menimbulkan kondisi diabetes yang tergantung pada insulin (Lenzen, 2008).

Pada sel beta pankreas akan terjadi proses reduksi dengan adanya agen pereduksi seperti berkurang glutathione (*GSH*), sistein, askorbat dan kelompok sulfhidril terikat protein (-SH) (Lenzen, 2008). Aloksan bereaksi dengan dua gugus -SH di pada pengikatan gula glukokinase yang menghasilkan pembentukan ikatan disulfida dan inaktivasi enzim. Dengan berkurangnya aloksan, asam dialurikyang terbentuk kemudian dioksidasi kembali menjadi aloksan membentuk siklus redoks untuk menghasilkan ROS dan radikal superoksida (Rohila dan Ali, 2012).

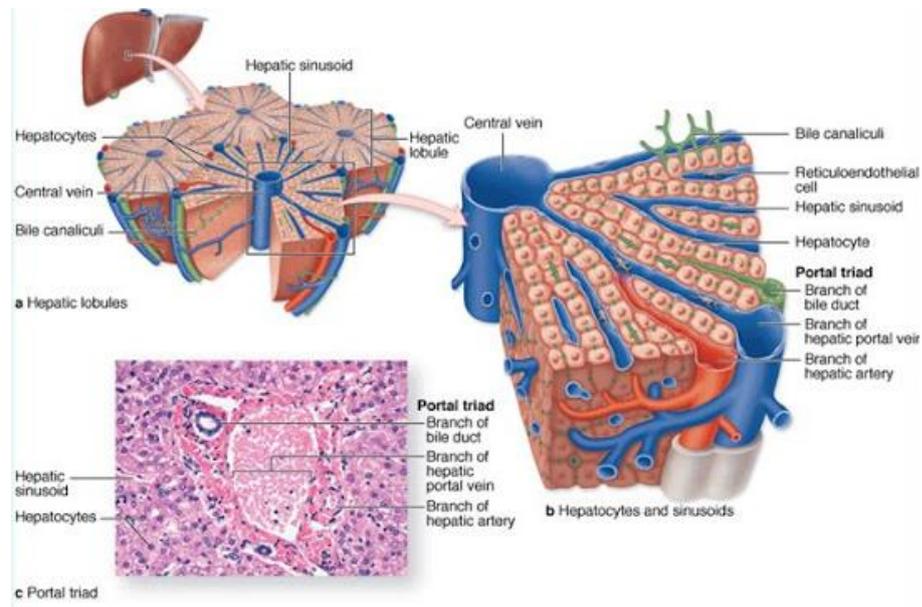
Mekanisme lain yang telah dilaporkan adalah efek *ROS* pada *DNA* pulau pankreas. Fragmentasi *DNA* terjadi dalam sel beta yang terpapar aloksan yang menyebabkan kerusakan *DNA*, yang menstimulasi poli *ADP*-ribosilasi, suatu proses yang berperan dalam perbaikan *DNA*. Antioksidan seperti superoksida dismutase, katalase dan non pemulung enzimatis radikal hidroksil telah ditemukan untuk melindungi terhadap toksisitas aloksan. Selain itu, gangguan pada homeostasis kalsium intraseluler juga telah dilaporkan merupakan suatu langkah penting dalam aksi diabetogenik aloksan. Telah dicatat bahwa aloksan meningkatkan konsentrasi  $\text{Ca}^{2+}$  sitosolik bebas dalam sel beta pulau pankreas. Masuknya kalsium dihasilkan dari kemampuan aloksan untuk mendepolarisasi sel beta pankreas yang selanjutnya membuka tegangan bergantung saluran kalsium dan meningkatkan masuknya kalsium ke dalam sel pankreas. Peningkatan konsentrasi Ion  $\text{Ca}^{2+}$  selanjutnya berkontribusi pada pelepasan insulin dengan *ROS* telah dicatat pada akhirnya menyebabkan kerusakan sel beta pulau pankreas (Etuk , 2010; Lenzen, 2008; Szkudelski, 2001).

Pemberian aloksan secara intraperitoneal dengan dosis 150 mg/kg BB atau dibawah dosis tersebut menunjukkan diabetogenik yang buruk dan *reversibel* setelah induksi (Szkudelski, 2001). Untuk pemberian dosis yang lebih tinggi digunakan antara dosis 170 mg dan 200 mg per kg BB (Katsumata *et al*, 1993).

#### **D. Histologi Hati dan Toksisitas Aloksan**

Hati adalah organ interna paling besar, pada orang dewasa rata-rata seberat 1,5 kg atau 2 % berat tubuh. Organ ini terletak di kuadran kanan atas abdomen tepat dibawah diafragma, hati memiliki lobus mayor kiri dan kanan dengan dua lobus inferior yang lebih kecil, sebagian besar dilapisi kapsul tipis dan mesotelium peritoneum visera. Kapsul ini menebal di hilum(atau porta hepatis)pada sisi inferior, tempat aliran darah ganda dari vena portahepar dan arteri hepar memasuki organ dan tempat vena hepar, limfatik dan duktus keluar (Mescher, 2017).

Fungsi pencernaan adalah menghasilkan empedu, suatu substansi kompleks yang diperlukan untuk emulsifikasi, hidrolisis dan penyerapan lemak pada duodenum. Hati juga merupakan antarmuka (interface) antara sistem pencernaan dan darah, sebagian besar organ tempat mengolah nutrisi yang diserap pada usus halus sebelum didistribusikan ke seluruh tubuh. Sekitar 75 % darah yang masuk ke dalam hati adalah darah yang kaya-nutrisi (namun miskin O<sub>2</sub>) dari vena porta yang berasal dari lambung, usus halus dan limpa; 25 % sisanya berasal dari arteri hepar dan memasok O<sub>2</sub> ke organ (Mescher, 2017).

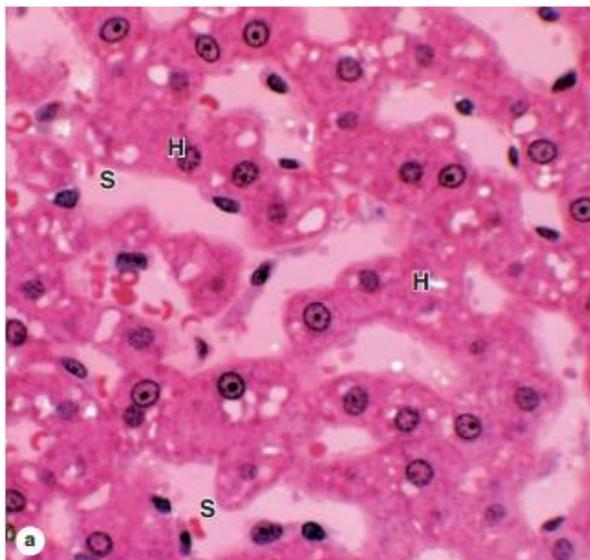


Gambar 4. Anatomi Hati (Mescher, 2017)

Hepatosit (Yunani, hepar, hati), sel utama organ ini, termasuk diantara sel yang paling banyak fungsinya dalam tubuh. Selain fungsi eksokrin untuk sekresi komponen empedu, hepatosit dan sel hati lainnya mengolah kandungan dalam darah, dengan banyak fungsi spesifik:

1. Sintesis dan sekresi endokrin protein plasma ke dalam darah, meliputi albumin, fibrinogen, apolipoprotein, transferin dan banyak lainnya.
2. Konversi asam amino menjadi glukosa (glukoneogenesis)
3. Pemecahan (detoksifikasi) dan konjugasi toksin yang tercerna, termasuk banyak obat.
4. Deaminasi asam amino, menghasilkan urea yang dikeluarkan darah di ginjal.
5. Penyimpanan glukosa pada granul glikogen dan trigliserida pada tetes lipid kecil;

6. Penyimpanan vitamin A (pada sel stelata hepar) dan vitamin larut lemak lainnya;
7. Pembuangan eritrosit yang tidak berguna lagi (oleh makrofag khusus atau sel kupffer);
8. Penyimpanan besi dalam bentuk kompleks protein feritin (Mescher, 2017).



Gambar 5. Hepatosit (H) adalah sel epitel poligonal, yang terbentuk percabangan, pelat tidak beraturan dipisahkan oleh sinusoid vena (S) dengan pewarnaan H&E , perbesaran 400x.

*Non Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD)* ditandai dengan adanya steatosis hati yang tidak disebabkan oleh asupan alkohol. Ketika diperiksa secara histologi pada spesimen biopsi hati terdapat akumulasi lemak yang berlebihan yang didominasi oleh trigliserida pada hepatosit. Dalam beberapa kasus, *NAFLD* dapat berkembang dari steatosis ke steatohepatitis (dengan bukti peradangan dan cedera sel), sirosis (fibrosis

hati), dan akhirnya gagal hati. Dalam menilai tingkat keparahan penyakit dan resiko menjadi sirosis, maka *NAFLD* dibagi menjadi dua kategori yaitu perlemakan hati non alkoholik (*NAFL*) dan steatohepatitis non alkoholik (*NASH*) (Bhatt dan Smith, 2015).

Penelitian yang dilakukan oleh Hosberg, aloksan menginduksi degenerasi fatty liver pada tikus yang berpengaruh terhadap lemak pada sel hati. Aloksan dengan dosis 250 mg/kg disuntikkan 48 jam sebelum dikorbankan, menghasilkan perubahan *fatty liver* pada tikus. Mikrosom yang diisolasi dari hati mengalami peningkatan jumlah asam lemak (Hosberg, 1975).

Lucchesil *et al* meneliti mekanisme penyakit hati kronis yang diinduksi oleh aloksan menyebabkan diabetes melitus memicu stress oksidatif di hati dengan dosis 42 mg/KgBB. Tikus dari kelompok yang diinduksi menunjukkan kadar glukosa darah, glukosa urin, dan hemoglobin glikosilasi yang tinggi, dengan kadar insulin plasma yang secara signifikan lebih rendah dari tikus kontrol. Tikus yang diinduksi diabetes juga menunjukkan peningkatan konsentrasi radikal bebas *lipid hydroperoxides* dalam jaringan hati dibandingkan dengan tikus kontrol setelah satu, tiga dan enam bulan perlakuan. Sebaliknya, aktivitas antioksidan dari enzim *SOD*, *CAT* dan *GSH-Px* berkurang secara signifikan pada semua perlakuan (Lucchesi *et al*, 2013).

Penelitian lain mengevaluasi efek jangka panjang dari hati tikus diabetes yang diinduksi aloksan memicu perubahan morfologis dan

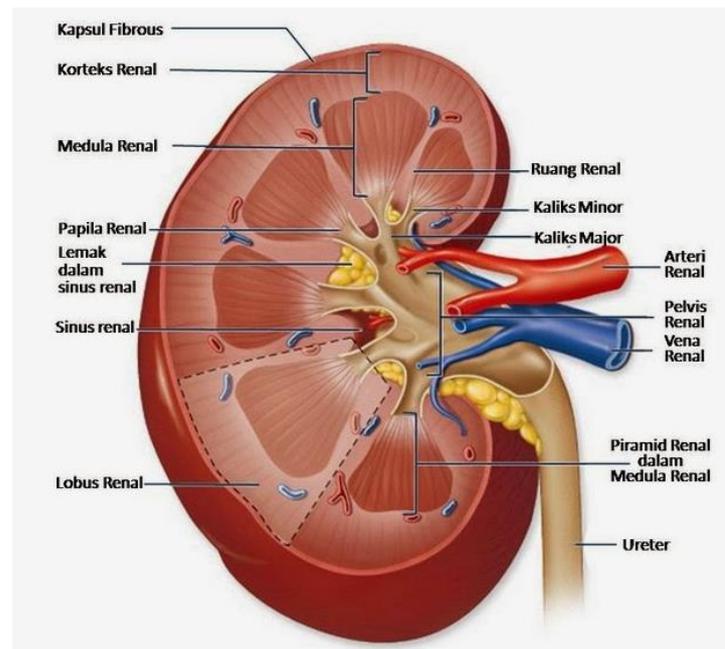
ultrastruktur hati yang sangat mirip dengan penyakit manusia, mulai dari steatosis hingga steatohepatitis dan fibrosis hati (Lucchesi *et al*, 2015).

Untuk mengevaluasi penyakit hati maka digunakan enzim hati yang sering kali digunakan untuk memberikan informasi tentang kelainan primer pasien berasal dari hepatitis atau kolestatik (Hall dan Cash, 2012). Salah satu pemeriksaan klinis yang digunakan untuk mengetahui adanya kerusakan pada hati adalah Serum Glutamat Pyruvate Transaminase (SGPT) (Wibowo, 2007). SGPT hanya ditemukan di hati dan diproduksi dalam hepatosit serta sangat spesifik untuk kerusakan hati. Ketika hepatosit rusak disebabkan oleh hiperglikemik, enzim GPT yang berada dalam hepatosit akan keluar dan masuk ke dalam darah dan terjadi peningkatan kadar (Cahyono, 2009). Batas normal SGPT pada tikus putih adalah 17,5 – 30,2 U/L sedangkan pada manusia berkisar 0 – 35 U/L (Gad, 2007).

### **E. Histologi Ginjal dan Toksisitas Aloksan**

Ginjal memiliki panjang kira-kira 12 cm, lebar 6 cm dan tebal 2,5 cm pada orang dewasa, setiap ginjal memiliki bagian medial yang cekung, hilus, tempat masuknya syaraf, keluarnya ureter, dan keluar masuk pembuluh darah dan limfa, dan permukaan lateral yang cembung, keduanya dibungkus kapsul fibrosa yang tipis. Di dalam hilus, ujung atas ureter melebar sebagai pelvis renalis dan bercabang menjadi dua atau tigakaliks mayor. Cabang lebih kecil, kaliks minor, muncul dari setiap

kaliks mayor. Cabang lebih kecil, kaliks minor muncul dari setiap kaliks mayor. Daerah sekitar pelvis renalis dan kaliks mengandung jaringan adiposa.

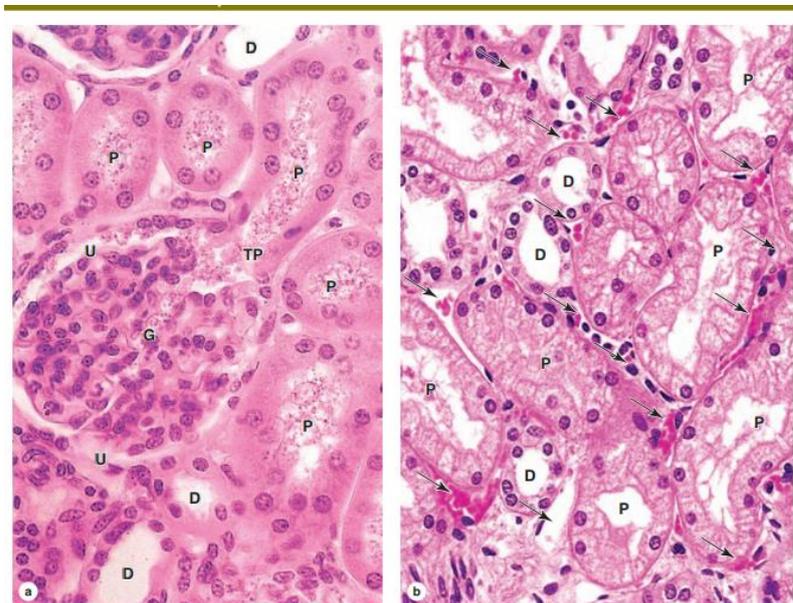


Gambar 6. Anatomi Ginjal (Mescher, 2017)

Semua fungsi utama ginjal adalah pembuangan limbah metabolik dan kelebihan air dan elektrolit dari darah dilakukan oleh berbagai sel epitel khusus nefron dan sistem koligens. Fungsi ginjal mencakup tiga aktivitas spesifik :

1. Filtrasi yaitu proses masuknya air dan bahan terlarut dalam darah meninggalkan celah vaskular dan memasuki lumen nefron.

2. Sekresi tubular yaitu proses perpindahan substansi dari sel epitel tubulus ke dalam lumen, biasanya terjadi setelah penyerapan substansi dari interstisium sekitar dan kapiler.
3. Reabsorpsi tubular yaitu proses perpindahan substansi dari lumen tubular menembus epitel ke dalam intrsitium dan kapiler sekitar (Mescher, 2017).



Gambar 7. Korteks renalis: tubulus kontortus proksimalis dan distalis (pewarnaan H&E dengan perbesaran 400x)

Aloksan diketahui menginduksi perubahan ginjal diabetik serta menyebabkan perubahan nefrotoksik. Evan *et al* (1984) melakukan percobaan terhadap tikus yang diinduksi oleh Aloksan dengan dosis 40mg/kg BB selama 9 minggu. Hasilnya menunjukkan adanya proliferasi mesangial dan penebalan membran dasar glomerulus fokal serta kelainan endotel kapiler glomerulus dan fusi proses kaki epitel visceral. Perubahan

endotel terdiri dari area fokus yang menunjukkan pengurangan ukuran fenestrae endotel. Semua perubahan glomerular diperbaiki dengan pengobatan insulin (Evan *et al*, 1984).

Efek nefrotoksik dari aloksan telah terjadi sebelum hewan uji mengalami diabetes. Perubahan ginjal termasuk pembengkakan yang luas dan degenerasi sel tubular, nekrosis sel tubular, pelebaran tubulus, dan infiltrat seluler yang menyerupai granuloma di interstitium terjadi mulai hari ketiga hingga hari keempat belas setelah pemberian aloksan. Kerusakan ginjal dapat menyebabkan uremia dan kematian. Dalam penelitian ini, perubahan histologis yang diamati pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan mirip dengan yang ada pada laporan sebelumnya, dan dapat disebabkan oleh nefrotoksisitas aloksan. Namun, mineralisasi parah tidak ditemukan pada tikus dengan nefrotoksisitas yang diinduksi aloksan (Zhang *et al*, 2016).

Fungsi ginjal secara keseluruhan didasarkan oleh fungsi nefron dan gangguan fungsinya disebabkan oleh menurunnya kerja nefron. Beberapa pemeriksaan laboratorium telah dikembangkan untuk mengevaluasi fungsi ginjal, salah satu diantaranya adalah pemeriksaan kadar kreatinin (Edmund, 2010; Kara, 2012; Toussint, 2012; Verdiansyah, 2016).

Kreatinin merupakan hasil pemecahan kreatin fosfat otot yang diproduksi oleh tubuh secara konstan tergantung massa otot. Kadar kreatinin berhubungan dengan massa otot dan menggambarkan perubahan kreatinin dan fungsi ginjal (Edmund, 2010; Kara, 2012). *The*

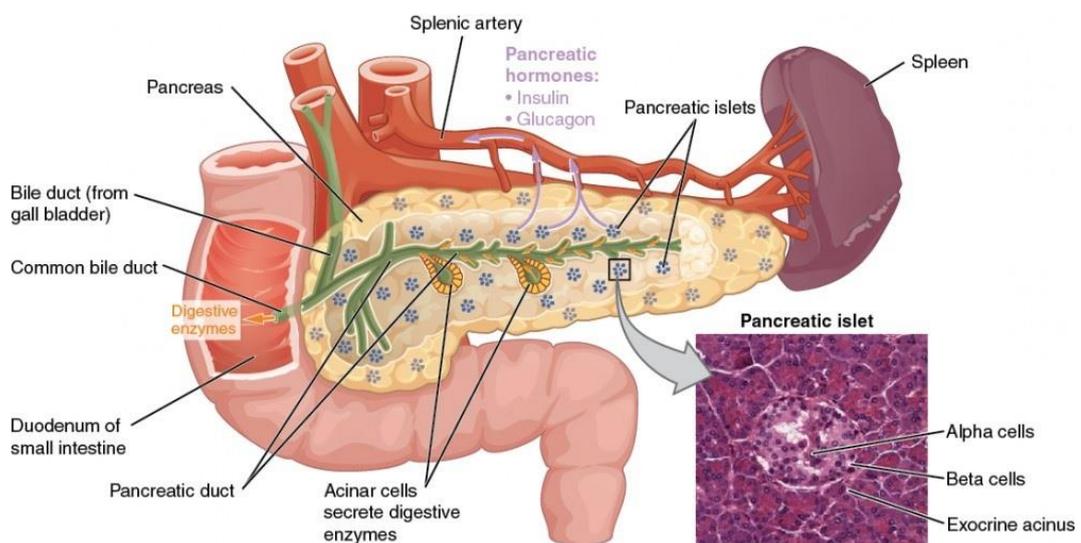
*National Kidney Disease Education* merekomendasikan penggunaan serum kreatinin untuk mengukur kemampuan filtrasi glomerulus (Miller *et al*, 2005). Kadar kreatinin yang dipergunakan dalam persamaan perhitungan memberikan pengukuran fungsi ginjal yang lebih baik, karena pengukuran klirens kreatinin memberikan informasi mengenai GFR. Kreatinin merupakan zat yang ideal untuk mengukur fungsi ginjal karena merupakan produk hasil metabolisme tubuh yang diproduksi secara konstan, difiltrasi oleh ginjal, tidak direabsorpsi, dan disekresikan oleh tubulus proksimal. Kreatinin serum laki-laki lebih tinggi daripada perempuan karena massa otot yang lebih besar pada laki-laki (Edmund, 2010; Frank, 2010).

Nilai rujukan kadar kreatinin menggunakan metode Jaffe untuk pria dewasa adalah 0,9 – 1,3 mg/dl dan wanita dewasa adalah 0,6 – 1,1 mg/dl (Edmund, 2010). Sedangkan untuk hewan uji tikus putih nilai rujukannya antara 0,20 – 0,80 mg/dl (Malole dan Pramono, 1989).

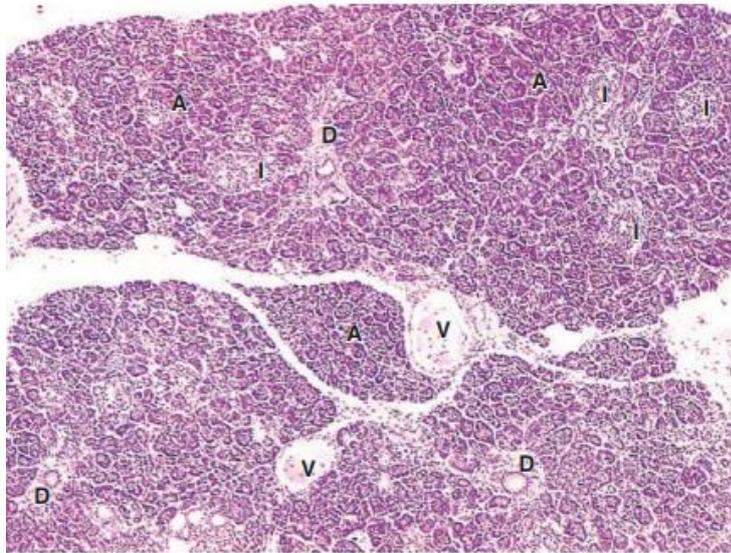
## **F. Histologi Pankreas dan Toksisitas Aloksan**

Pankreas adalah campuran kelenjar eksokrin-endokrin yang menghasilkan enzim dan hormon pencernaan, merupakan pemanjangan organ retroperitoneal, dengan bagian capit besar dekat duodenum dan corpus lebih kecil dan cauda yang memanjang ke kiri. Pankreas mempunyai kapsul jaringan ikat tipis, tempat keluarnya septa yang

menutupi pembuluh darah yang lebih besar dan duktus, dan memisahkan perenkim menjadi lobuli. Asini sklerotik dikelilingi oleh lamina basal yang hanya disokong oleh sarang halus serat retikular dengan jaringan kaya kapiler. Fungsi endokrin pankreas terutama melibatkan sel-sel yang lebih kecil, tetapi menyerupai sel-sel enteroendokrin yang terletak pada kelompok-kelompok berbagai ukuran disebut pulau pankreas (pulau langerhans) (Mescher, 2017).



Gambar 8. Pankreas dan pulau langerhans (Mescher, 2017).



Gambar 9. Pembesaran pankreas 20x dengan pewarnaan H&E

Pulau langerhans (*pancreatic islets*) adalah massa sel endokrin bulat atau lonjong padat yang terbenam dalam jaringan eksokrin asinar pankreas. Sebagian besar pulau berdiameter 100-200  $\mu\text{m}$  dan mengandung ratusan sel, tetapi ada juga yang hanya terdiri atas beberapa sel saja. Pankreas mempunyai lebih dari satu juta pulau, sebagian besar berada di bagian ekor pankreas yang sempit tetapi pulau tersebut hanya merupakan 1-2% volume total kelenjar itu. Kapsul retikular tipis mengelilingi setiap pulau, memisahkannya dari jaringan asinar didekatnya. Pulau langerhans mempunyai asal embrio yang sama dengan jaringan asinar pankreas; penumbuhan epitelial ke bawah dari endoderm usus yang berkembang (Mescher, 2017).

Sel-sel pulau terbentuk poligonal atau bulat, lebih kecil dan terpulas lebih lemah daripada sel-sel asinar di sekitarnya yang tersusun dalam korda dipisahkan oleh kapiler-kapiler berfenestra (Mescher, 2017).

Pemberian aloksan menyebabkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas yang membuat kadar glukosa darah meningkat dan terjadilah insulin dependent diabetes mellitus pada hewan percobaan. Aloksan merusak sel  $\beta$  pankreas dengan cara mengaktifkan oksigen reaktif (*ROS*) yang diawali dengan reaksi reduksi aloksan. Aloksan memiliki aktivitas yang tinggi terhadap senyawa seluler yang mengandung gugus  $-SH$ , sistein dan senyawa sulfhidril terikat protein. Hasil dari proses reduksi aloksan adalah asam dialurat, yang direoksidasi menjadi aloksan kembali dan membentuk siklus reaksi redoks yang menghasilkan radikal superoksida. Radikal superoksida akan mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida secara spontan. Salah satu target dari *ROS* adalah *DNA* di sel-sel pulau langerhans pankreas. Aloksan juga dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel  $\beta$  pankreas yang mengakibatkan depolarisasi sel  $\beta$  pankreas. Selain itu, aloksan juga diduga berperan dalam penghambatan glukokinase yang berperan dalam proses glikolisis dalam proses metabolisme energi (Szkudelski, 2001).

### **G. Kerusakan jaringan oleh radikal bebas**

Sel dapat beradaptasi ketika terjadi stres fisiologis atau rangsangan patologis untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya atau mencapai kondisi baru. Namun bila adaptasi berlebihan maka akan terjadi jejas (cedera/luka) sel yang bisa bersifat reversibel (kembali ke kondisi stabil

semula) atau irreversibel apabila stress yang dialami bersifat berat sehingga menyebabkan kematian sel (nekrosis) (Kumar *et al*, 2007).

Nekrosis (khususnya nekrosis koagulatif) terjadi setelah suplai darah hilang atau setelah terpajan toksin dan ditandai dengan pemebngkakan sel, denaturasi protein dan kerusakan organel. Jalur lintas kematian sel tersebut dapat menyebabkan disfungsi berat jaringan (Kumar *et al*, 2007).

Salah satu bentuk stres yang dapat menyebabkan jejas sel adalah bahan kimia. Semua bahan kimia dapat menyebabkan jejas apabila jumlahnya banyak sehingga merusak keseimbangan lingkungan osmotik dan menyebabkan kematian. Jejas yang terjadi akibat bahan kimia salah satunya adalah jejas sel yang diinduksi radikal bebas terutama oleh spesies oksigen di aktivasi. Radikal bebas merupakan spesies kimiawi dengan satu elektron tak berpasangan di orbital terluar yang tidak stabil dan mudah bereaksi dengan zat kimia anorganik atau organik. Radikal bebas menyerang dan mendegradasi asam nukleat dan berbagai molekul membran serta menginisiasi reaksi autokatalitik. Molekul yang bereaksi dengan radikal bebas akan diubah menjadi radikal bebas sehingga rantai kerusakan semakin banyak (Kumar *et al*, 2007).

Radikal bebas dapat dibentuk dalam sel oleh

1. Reaksi redoks (reduksi-oksidasi) yang terjadi selama proses fisiologis normal.

2. Nitrit oksida (NO) yang merupakan mediator kimiawi penting yang secara normal disintesis oleh berbagai tipe sel yang dapat berperan sebagai radikal bebas atau dapat diubah menjadi spesies nitrit yang sangat reaktif.
3. Penyerapan energi radian (misalnya, sinar ultraviolet, sinar X). Radiasi pengion dapat menghidrolisis air menjadi gugus hidroksil (OH) dan radikal bebas hidrogen (H).
4. Metabolisme enzimatik zat kimia eksogen (misalnya karbon tetraklorida) (Kumar *et al*, 2007).

Reaksi yang paling relevan dengan jejas sel yang diperantarai oleh radikal bebas yaitu:

1. Peroksidasi lipid membran. Ikatan ganda pada lemak tak jenuh (*polyunsaturated lipid*) membran mudah terkena dengan serangan radikal bebas berasal dari oksigen. Interaksi radikal lemak menghasilkan peroksida yang tidak stabil dan reaktif, terjadi reaksi rantai autokatalitik.
2. Fragmentasi DNA. Reaksi radikal bebas dengan timin pada DNA mitokondria dan nuklear menimbulkan rusaknya untai tunggal. Kerusakan DNA tersebut telah memberikan implikasi pada pembunuhan sel dan perubahan sel menjadi ganas.
3. Ikatan silang protein. Radikal bebas mencetuskan ikatan silang protein yang diperantarai sulfhidril, menyebabkan peningkatan kecepatan degradasi atau hilangnya aktivitas enzimatik. Radikal

bebas juga secara langsung menyebabkan fragmentasi polipeptida (Kumar *et al*, 2007).

Radikal bebas merupakan bagian normal respirasi dan aktivitas selular rutin lainnya seperti pertahanan mikroba. Sifatnya yang tidak stabil dan umumnya rusak secara spontan, seperti superoksida sangat cepat rusak oleh dengan adanya air yang masuk ke dalam oksigen dan hidrogen peroksida. Selain itu sel membentuk beberapa sistem enzim dan nonenzimatik untuk menonaktifkan radikal bebas (Kumar *et al*, 2007).

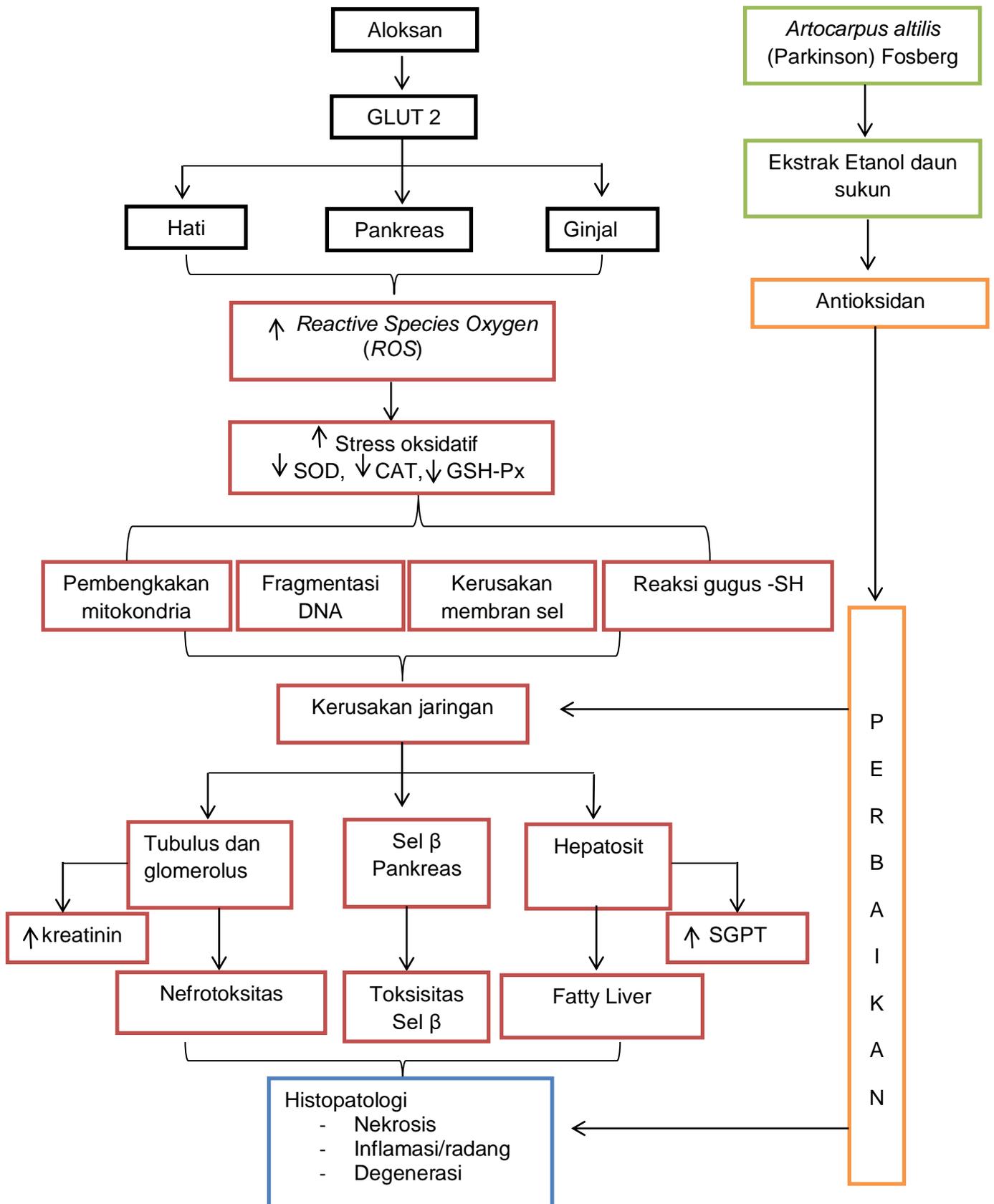
Inflamasi adalah suatu respon protektif yang ditujukan untuk menghilangkan penyebab awal jejas sel serta membuang sel dan jaringan nekrotik yang diakibatkan oleh kerusakan asal. Inflamasi berfungsi sebagai pertahanan dengan mengencerkan, menghancurkan dan menetralkan agen berbahaya (misalnya mikroba dan toksin). Inflamasi terkait erat dengan proses perbaikan, penggantian jaringan yang rusak dengan regenerasi sel parenkim dan pengisian setiap defek yang tersisa dengan jaringan parut fibrosa. Meskipun inflamasi membantu penyembuhan luka tetapi respon radang juga merupakan dasar terjadinya reaksi anafilaktik yang berbahaya karena sebagai pencetus penyakit kronik tertentu seperti arthritis rheumatoid dan aterosklerosis (Kumar *et al*, 2007).

Jejas reversibel meliputi perubahan membran plasma, perubahan mitokondrial, dilatasi retikulum endoplasma dan perubahan nuklear. Perubahan morfologik yang berkaitan dengan jejas reversibel yang dapat

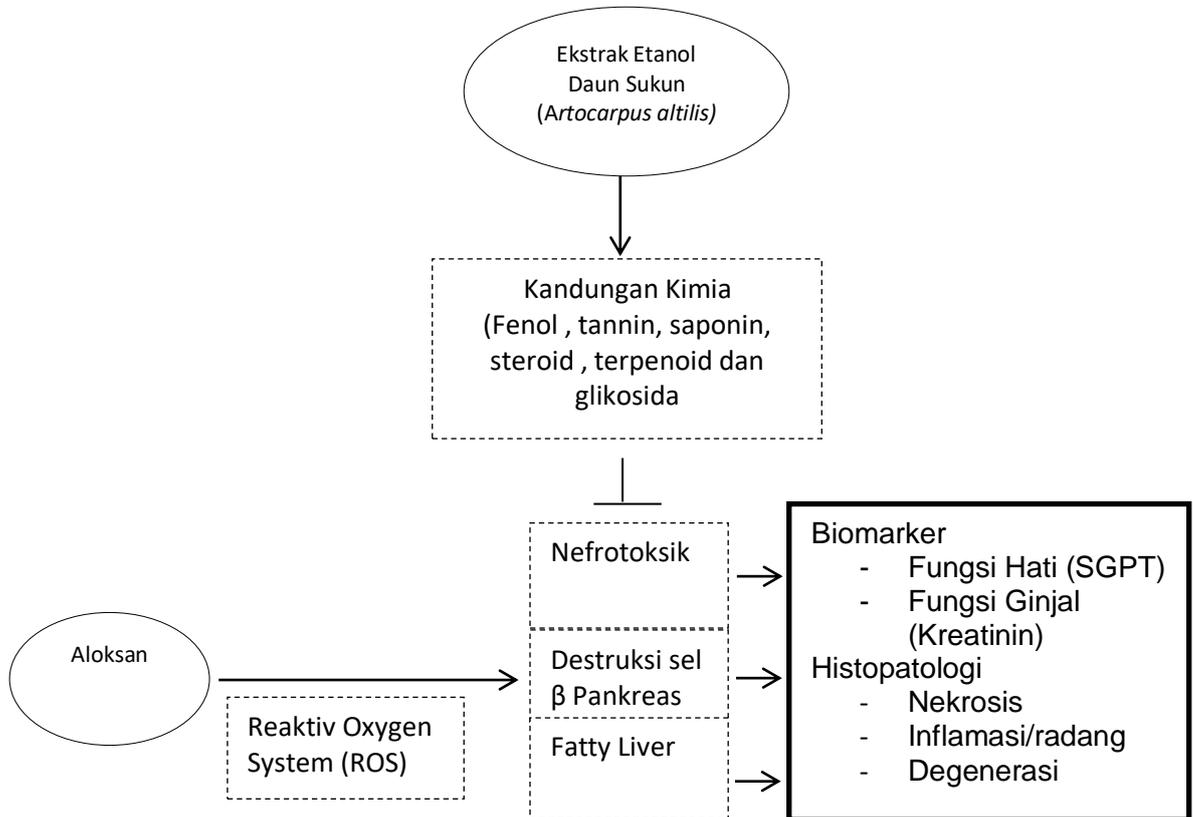
dikenali dengan mikroskop cahaya yaitu pembengkakan sel dan degenerasi lemak (perlemakan) (Kumar *et al*, 2007).

Pembengkakan sel adalah manifestasi yang terjadi dari hampir semua bentuk jejas sel karena sel tidak mampu mempertahankan homeostatik ionik dan cairan. Pembengkakan sel dapat menjadi perubahan morfologik yang sulit diamati dengan mikroskop cahaya dan mungkin lebih tampak pada tingkat seluruh organ. Bila semua sel pada organ terkena, terdapat warna kepuatan, peningkatan turgor dan penambahan berat badan. Secara mikroskopik bisa tampak vakuola kecil, jernih di dalam sitoplasma. Vakuola menggambarkan segemen retikulum endoplasma yang berdistensi dan menekuk. Pola jejas nonletal, ireversibel tersebut kadang-kadang disebut dengan perubahan hidropik atau degenerasi vakuolar yaitu pembengkakan sel bersifat reversibel (Kumar *et al*, 2007).

### H. Kerangka Teori



## I. Kerangka Konsep



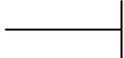
Keterangan :

 : Variabel bebas

 : Variabel terikat

 : Variabel antara

 : Menyebabkan

 : Mencegah

## **J. Hipotesis**

Ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) dapat memperbaiki kerusakan hati, ginjal dan pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, G. 2009. *Teknologi Bahan Alam (Serial Farmasi Industri-2)* Ed. Revisi. Institut Teknologi Bandung. Bandung
- Agunbiade, O. S., Ojezele, O. M., Ojezele, J. O., & Ajayi, A. Y. (2012). Hypoglycaemic activity of *Commelina africana* and *Ageratum conyzoides* in relation to their mineral composition. *African health sciences*, 12(2), 198-203.
- Bappenas. 2008. Program Nasional Bagi Anak Indonesia Kelompok Kesehatan. *Bappenas*. [terhubung berkala]. <http://www.bappenas.go.id>. [21 Februari 2011].
- Bhatt, H. B., Smith, R. J. 2015. Fatty Liver disease in Diabetes Mellitus. *HepatoBiliary Surgery and Nutrition*, Vol 4, No 2 April 2015.
- Cahyono, BSB. 2009. *Hepatitis A*. Yogyakarta: Kanisius.
- Duda, S.C. L.A. Marghitas, D. Dezmirean, M. Duda, R. Mărgăoan, O. Bobiș, Changes in major bioactive compounds with antioxidant activity of *Agastache foeniculum*, *Lavandula angustifolia*, *Melissa officinalis* and *Nepeta cataria*: Effect of harvest time and plant species. *Ind Crops Prod.*, Vol. , p. 499–507 (2015)
- Edmund, L. 2010. Kidney function tests. *Clinical chemistry and molecular diagnosis*. 4th ed. America: Elsevier; P.797-831.
- Ermin, T., Atmodjo, D., Winarno, Soemantri, A. G. 1991. *Penatalaksanaan kegawatan neonatus*. Semarang: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro hal: 46-90.
- Etuk, E. U. 2010. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric Biol J N Am*;1:130-4.
- Evan ,A.P , Mong, S. A., Connors, B. A., Aronoff, G. R. Luft, F. C . 1984. The Effect of Alloxan, and Alloxan Induced Diabetes on The Kidney. *The Anatomical Record*. Volume 208. Issue 1.
- Frank, C. 2010. *Biomarkers of impaired renal function*. Wolters kluwer health. 525-537.
- Gad, S. C. 2007. *Animal Models in Toxicology*. Second Edition. CRC Press, Boca Raton.
- Gounden, V., Jialal, I. 2019. *Renal function test*. Stat Pearls Publishing LLC. 03 April 2019.

- Gilman, A.G. 2007. *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*, Ed. 10, Vol.2. EGC.
- Gufron, M. 2001. Gambaran Struktur Histologi Hepar dan Ren Mencit setelah Pemberian Perlakuan Infus Akar Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) dengan dosis bertingkat. *Jurnal Kedokteran*.
- Hall, P., Cash, J. 2011. What is the real function of the liver “ Function tests”. *Ulster Med J* 2012; 81 (1): 30-36.
- Hanani, Endang, 2014. *Analisis Fitokimia*. EGC. Jakarta.
- Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Gennaro, L. 2008. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. *International centre for science and high technology*. [Online] 2008. Available from: [http://agritech.tnau.ac.in/horticulture/extraction\\_techniques%20medicinal\\_plants.pdf](http://agritech.tnau.ac.in/horticulture/extraction_techniques%20medicinal_plants.pdf) [Accessed 3rd February 2014].
- Horberg, J. 1975. Alloxan Induced Fatty Liver Degeneration in Rat:Its Effect on the Microsomal Lipids. *Experimental and Molecular Pathology* 22, 20-28.
- Jones, A.M.P., Ragone, D., Tavana, N.G., Bernotas, D.W., and Murch, S.J. 2011. Beyond the Bounty: Breadfruit (*Artocarpus altilis*) for food security and novel food in the 21st Century. *Ethnobotany Journal*. 9: 131- 132.
- Kara, A. 2012. Renal function. *Clinical chemistry*. 6th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer.
- Katsumata, K., Katsumata, Y., Ozawa, T. 1993. Potentiating Effect of Combined usage of three sulfonilurea drugs on the occurrence of alloxan diabetes in Rats. *Hormone and Metabolic Research*. 25(02): 125-126.
- Kumar, V., Cotran, R.Z., Robbins, S.L. 2007. *Buku Ajar Patologi Edisi 7*. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Kumoro A.C. 2015. *Tekhnologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*. Plantaxia. Yogyakarta.
- Lenzen, S. 2008. The mechanisms of alloxanand streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*.;51:216-26.
- Leng, L. Y et al. 2018. Antioxidant and Total Phenolic Content of Breadfruit (*Artocarpus altilis*) Leaves. *MATEC Web of Conferensces* 150.

- Lucchesi, A. N., De Freitas, N. T., Cassetari, L. L., Marques, S.F.G., Spadella, C. T. 2013. Diabetes mellitus triggers oxidative stress in the liver of alloxan-treated rats: a mechanism for diabetic chronic liver disease. *Acta Cirurgica Brasileira*, vol. 28, no. 7, p. 502–508.
- Lucchesi, A. N., Cassetri, L. L., Spadella, C. T. 2015. Alloxan-Induced Diabetes Causes Morphological and Ultrastructural Changes in Rat Liver that Resemble the Natural History of Chronic Fatty Liver Disease in Humans. *Journal of Diabetes Research*.
- Malole, M.B.M., Pramono, C.S.U. 1989. *Pengantar Hewan-hewan Percobaan di Laboratorium*. Pusat Antara Universitas Bioteknologi IPB.
- Maulida, A., Ilyas, S., & Hutahaean, S. (2013). Pengaruh Pemberian Vitamin C Dan E Terhadap Gambaran Histologis Hepar Mencit (*Mus musculus* L.) Yang Dipajankan Monosodium Glutamat (MSG). *Saintia Biologi*, 1(2), 15-20.
- Merliana, A., Islamiyati, R. 2017. Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) pada tikus Diabetes Tipe II yang diinduksi Fruktosa. Prosiding HEFA (Health Events For All)
- Mescher, A. L. 2017. *Histologi Dasar JUNQUIERA Teks dan Atlas*. Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Miller, G et al., 2005. Creatinin measurement. *Arch Pathol Lab Med*;129: 297-304.
- Mordue, D. G. F., Monroy, M. L., Regina. C. A., Dinarello and L. D. Sibley. 2001. Acute Toxoplasmosis Leads to Lethal Overproduction of Th, cytokines. *J Immunol*. 167:4574-4584.
- Motley, T. J. 2014. Breadfruit origins, diversity and human facilitated distribution.[online] Available from: <http://herbarium.millersville.edu/325/Zerega-2005.pdf> [Accessed 21th january 2014]
- Mu'nisa, A., Muflihunna., A. F., Arshal. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sukun Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Malondialdehida (MDA) pada Mencit (*Mus musculus*). Penelitian disajikan (Oral) dalam Simposium Nasional Kimia Bahan Bahan Alam ke-XX. Universitas Islam Negeri . Jakarta.
- Peschke, E., Ebelt, H., Bromme, H. J., Peschke, D. 2000. Classical and new diabetogenscomparison of their effects on isolated rat pancreatic islets in vitro. *Cell Mol Life Sci*;57:158-64.

- Rahul, B. S. 2013. General methods of isolation and separation of plant constituents. [Online] Available from: <http://www.slideshare.net/rahulbs89/extraction-of-plant-constituents> [Accessed 3rd February 2014].
- Ragone, D. 2006. *Artocarpus altilis* (Breadfruit). 13 Juni 2010. *Permanent agricultural resources*. <http://agroforestry.net/tti/A.althilis-breadfruit.pdf>
- Riasari, H. 2014. Aktivitas antioksidan dari Variasi usia hijau segar, hijau fermentasi, kuning nempel, kuning jatuh dan jatuh kering daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg). *Seminar Nasional SIMNAS KBA2014 UPI*. Oral Persentasi.
- Riasari, H., Zainuddin, A., Handayani, D. Y. 2015. Karakterisasi senyawa fenol dari fraksi terpilih daun sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) Kuning Nempel Sebagai Antioksidan. *JSTFI Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Technology*. Vol. IV. No. 2. Juli 2015.
- Rohilla, A., Ali, S. 2012. Alloxan Induced Diabetes: Mechanisme and Effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*. ISSN: 2229-3701. Vol.3(2) Apr-Jun. Departement of Pharmaceutical Sciences, Shri Gopi Chand Group Of Institutions, Baghpat Uttar Pradesh, India.
- Ronald, A. S. 2004. *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan Laboratorium*. Gramedia Pustaka Utama.
- Sairam, S., Urooj, A. 2014. Safety Evaluation of *Artocarpus altilis* as Pharmaceutical Agen in Wistar Rats. *Journal of Toxicology*. Volume 2014. Hindawi Publishing Corporation.
- Sari, D.O., Suhartono, E. dan Akbar, I.Z. 2010. Korelasi antara Kadar Glukosa Darah dengan Kadar Kalsium Tulang pada Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperglikemia. *YARSI Medical Journal*, 18(2), 114-120.
- Sikarwar, M. S., Hui, B.J., Subramaniam, K., Valeisamy, B.D., Yean, L.K., and Balaji, K. 2014. A Review on *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg breadfruit. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 4 (08), pp. 091-097.
- Stevani, H. 2016. *Praktikum Farmakologi*. Jakarta: BPPSDMK
- Sumarny, R., Parodi, D., dan Darmono. 2006. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kering Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoria*. Rosc.) per Oral terhadap Beberapa Gangguan Ginjal pada Tikus Putih Jantan. *Majalah Farmasi Indonesia* 17(1): 19-24.

- Syamsuhidayat, S.S dan Hutapea, J. R. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia* Edisi Kedua. Jakarta. Departemen Kesehatan RI.
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol Res* ;50:536-46.
- Tandi, J., Rizky, M., Mariani, R., Alan., F. 2017. Uji Ekstraks Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* ( Parkinson Ex F.A. Zorn) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Kolesterol Total dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) Hiperkolesteromia-Diabetes. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. Vol 1 No. 8.
- Terayama, Y., Yasushi K, Tetsuro , M , Kiyokazu, O. 2017. Acute alloxan renal toxicity in the rat initially causes degeneration of thick ascending limbs of Henle. *J Toxicol Pathol* 2017; 30: 7–13.
- Toussaint, N. Screening for early chronic kidney diseases. *The CARI guidelines*. Australia: Saunder; 2012. p 78-79.
- Utami, E.2009. Hepatoprotektor(Penjaga Hati). <http://utamieka.wordpress.com/author/utamieka/> Diakses tanggal 17 April 2011.
- Verdiansah. 2016. Pemeriksaan Fungsi Ginjal. *CKD-237*. Vol.43 no.2.
- Wahyuddin, Massi, M.N., Natzir, R., Alam, G., Bukhari, A. S. 2017. Effect of Sukun Leaf Extract (*Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg) Insulin Resistance in Obese Rats (*Rattus norvegicus*): A Study of Free Fatty Acid (FFA) Levels. *Pakistan Journal of Nutrition* .Volume 16 (7): 521-524.
- Wahyuni, Enggar, Kumorowati, Pitriani, Suardi, Sukri, Yunus, M. 2012. *Buku Panduan Kerja Laboratorium Patologi*. Balai Besar Veteriner Maros. Edisi 2. Hal 1-21).
- Wibowo, W.A. 2007. Pengaruh pemberian perasan buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap kadar SGOT dan SGPT pada tikus putih (*Rattus novergicus*) diet tinggi lemak. *Disertasi*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Yunaldi, R.F., Saraswati, T.R., Yuniwanti, E.Y.W. 2018. Profile of SGPT and SGOT on Male Rats (*Rattus novergicus*) Hyperglycemic after Giving Insulin Leaf Extract (*Tithonia diversifolia*). *Biosaintifika Journal of Biology & Biology Education*.

Zhang, H., Zdolsek, J.M., Brunk, U.T. 2016. Alloxan cytotoxicity involves lysosomal damage. *APMIS*;100:309-16.

Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tanaman sukun  
(*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg)



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS NEGERI MAKASSAR  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
LABORATORIUM BIOLOGI

Alamat : Kampus UNM Parang Tambung Jl. Dg. Tata Raya Telp (0411) 840610 Makassar

29 Juli 2019

No : 096/SKAP/LAB.BIOLOGI/VII/2019  
Lamp : -  
Hal : Hasil Identifikasi Tanaman

Kepada Yth.  
**Hesty Setiawati (N012171011)**  
Program Studi S2 Farmasi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Dengan Hormat,

Bersama ini, kami sampaikan hasil identifikasi Tanaman Pohon Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg) yang saudara kirimkan. Identifikasi dilakukan oleh staf peneliti laboratorium Botani Jurusan Biologi FMIPA UNM dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Urticales  
Famili : Moraceae  
Genus : *Artocarpus*  
Spesies : *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg

Kunci determinasi : 1b – 2b – 11a – Grop X – 1b – 2b – 4b – 5b – 6b – 7b – 8b – 9a – Fam. Moraceae – *Artocarpus*

Sumber pustaka :

1. <http://plantamor.com/species/info/artocarpus/altilis>
2. <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=ARAL7>
3. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/1822>
4. <https://www.gbif.org/species/2984573>
5. <https://www.worldwidefruits.com/artocarpus-altilis-breadfruit.html>
6. Cullen, James. 2006. Practical Plant Identification Including A Key To Native And Cultivated Flowering Plants in North Temperate Regions. Cambridge University Press, New York.

Demikian untuk diketahui dan dipergunakan sebagaimana mestinya.



## Lampiran 2. Rekomendasi persetujuan etik


**KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI**  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
**RSPTN UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**RSUP Dr. WAHIDIN SUDIROHUSODO MAKASSAR**  
**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN**  
 Sekretariat : Lantai 3 Gedung Laboratorium Terpadu  
 JL.PERINTIS KEMERDEKAAN KAMPUS TAMALANREA KM.10 MAKASSAR 90245.  
 Contact Person: dr. Agussalim Bukhari, M.Med,Ph.D, Sp.GK, TELP. 081225704670 e-mail: agussalimbukhari@hsu.ac.id

---

**REKOMENDASI PERSETUJUAN ETIK**  
 Nomor : 496/UN4.6.4.5.31/PP36/2019

Tanggal: 10 Juli 2019

Dengan ini Menyatakan bahwa Protokol dan Dokumen yang Berhubungan Dengan Protokol berikut ini telah mendapatkan Persetujuan Etik :

No Protokol	UH19050277	No Sponsor	
Peneliti Utama	Hesty Setiawati	Protokol	
Judul Peneliti	Elek Terapi Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sukan Terhadap Kerusakan Histopatologi Pankreas, Hati dan Ginjal Pada Tikus Yang Diinduksi Aloksan	Sponsor	
No Versi Protokol	2	Tanggal Versi	4 Juli 2019
No Versi PSP		Tanggal Veesi	
Tempat Penelitian	Laboratorium Fakultas Farmasi dan Pusat Kegiatan Penelitian Universitas Hasanuddin Makassar		
Jenis Review	<input type="checkbox"/> Exempted <input checked="" type="checkbox"/> Expedited <input type="checkbox"/> Fullboard Tanggal	Masa Berlaku 10 Juli 2019 sampai 10 Juli 2020	Frekuensi review lanjutan
Wakil Ketua Komisi Etik Penelitian	Nama Prof.Dr.dr. Suryani As'ad, M.Sc.,Sp.GK (K)	Tanda tangan	
Sekretaris Komisi Etik Penelitian	Nama dr. Agussalim Bukhari, M.Med.,Ph.D.,Sp.GK (K)	Tanda tangan	

Kewajiban Peneliti Utama:

- Menyerahkan Amandemen Protokol untuk persetujuan sebelum di implementasikan
- Menyerahkan Laporan SAE ke Komisi Etik dalam 24 jam dan dilengkapi dalam 7 hari dan Laporan SAR dalam 72 jam setelah Peneliti Utama menerima laporan.
- Menyerahkan Laporan Kemajuan (progress report) setiap 6 bulan untuk penelitian resiko tinggi dan setiap setahun untuk penelitian resiko rendah
- Menyerahkan laporan akhir setelah Penelitian berakhir
- Melaporkan penyimpangan dari protokol yang disetujui (protocol deviation / violation)
- Mematuhi semua peraturan yang ditetapkan

### Lampiran 13. Dokumentasi Penelitian



Proses Pengeringan Simplisia daun sukun



Penimbangan simplisia kering



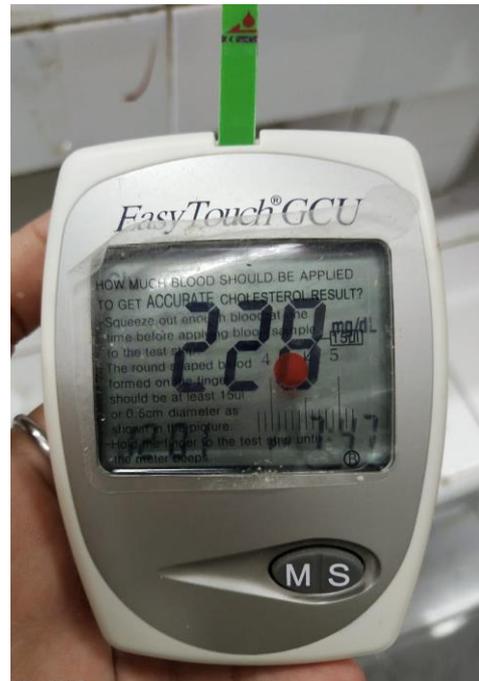
Proses penyaringan dengan vakum



Penguapan ekstrak cair dengan rotary evaporator



Penimbangan bobot badan tikus



Pengukuran glukosa darah



Pengambilan darah tikus melalui vena ekor



Induksi aloksan secara i.p



Tikus kelompok normal dan negatif



Pemberian glukosa 5% secara p.o



Pembedahan organ tikus

## Lampiran 14 . Dokumentasi Pembuatan Sediaan Jaringan Histopatologi



*Tissue processor*



Proses pembekuan sampel dengan paraffin



Pemotongan sampel dengan mikrotom



Pelekatan pada objek gelas



Pemanasan objek gelas



Proses pewarnaan dengan Mayer;s Hematoxylin