

EFEK TERAPI EKSTRAK KASAR UMBI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) HATI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) HASIL INDUKSI ALOKSAN

SKRIPSI

Oleh:
UJI RAHAYU
NIM. 10630089

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2015

EFEK TERAPI EKSTRAK KASAR UMBI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) HATI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) HASIL INDUKSI ALOKSAN

SKRIPSI

**Oleh:
UJI RAHAYU
NIM. 10630089**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 15 Desember 2015**

Pembimbing I

Pembimbing II

**Diana Candra Dewi, M.Si
NIP. 19770720 200312 2 001**

**Ahmad Abtokhi, M.Pd
NIP. 19761003 200312 1 004**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia**

**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

EFEK TERAPI EKSTRAK KASAR UMBI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID (MDA) HATI TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) HASIL INDUKSI ALOKSAN

SKRIPSI

Oleh :
UJI RAHAYU
NIM. 10630089

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 15 Desember 2015**

Penguji Utama : A.Ghanaim Fasya, M.Si (.....)
NIP. 19820616 200604 1 002

Ketua Penguji : Rachmawati Ningsih, M.Si (.....)
NIP. 19810811 200801 2 010

Sekretaris Penguji : Diana Candra Dewi, M.Si (.....)
NIP. 19770720 200312 2 001

Anggota Penguji : Ahmad Abtokhi, M.Pd (.....)
NIP. 19761003 200312 1 004

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia**

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Uji Rahayu

NIM : 10630089

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Efek Terapi Ekstrak Kasar Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hasil Induksi Aloksan

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 6 Januari 2015

Yang membuat pernyataan,

Uji Rahayu

NIM. 10630089

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil‘alamin, segala puji tidak pernah berhenti penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang maha mengetahui dan maha mendengar. Sesungguhnya, seluruh alam semesta telah tercipta sebagai tanda kebesarannya dan patutlah bagi seorang hamba yang lemah untuk tunduk dan patuh pada tuhanNya. Oleh karena keagunganNya itulah penulis dapat menyusun skripsi yang berjudul **“Efek Terapi Ekstrak Kasar Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) Hati Tikus putih (*Rattus norvegicus*) Hasil Induksi Aloksan”** sebagai persyaratan dalam memperoleh gelar sarjana sains (S.Si) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan maksimal tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
3. Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Diana Candra Dewi, M.Si, Ahmad Abtokhi, M.Pd dan Hafidatul Hasanah, M.Si selaku dosen pembimbing penulis yang tidak lelah menuntun dan memberi arahan pada penulis

5. Segenap civitas jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya, sebagai pedoman dan bekal bagi penulis
6. Ayah, Ibu dan seluruh keluarga yang telah banyak memberikan kasih sayang, perhatian, nasihat, doa, dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin terbalaskan dan seluruh keluarga besar penulis
7. Teman-teman Jurusan Kimia 2010 yang selalu memberikan semangat, dukungan, dan semoga tetap selalu menjaga persahabatan dan kekompakan di saat kita dalam keadaan apapun dan bagaimanapun.
8. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu secara langsung maupun tidak langsung yang telah memberikan bantuan selama penyusunan laporan hasil penelitian ini.

Semoga amal perbuatan Bapak/Ibu/saudara serta semua pihak yang membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini diridloi oleh Allah SWT dan dicatat sebagai suatu kebaikan Bapak/Ibu/Saudara sekalian.

Akhirnya dengan penuh rasa syukur kehadiran Allah SWT, penulis mengharapkan skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan semua pihak pada umumnya.

Malang, 6 Januari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR PERSAMAAN	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan	7
1.4 Batasan Masalah	8
1.5 Manfaat Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	9
2.1.1 Deskripsi Tanaman Binahong	9
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Binahong	12
2.1.3 Manfaat dan Kandungan Kimia Tanaman Binahong	12
2.2 Diabetes Mellitus	15
2.3 Hati dan Diabetes Mellitus	16
2.3.1 Struktur dan Fungsi Hati	16
2.3.2 Pengaruh Diabetes Mellitus terhadap Hati	17
2.4 Radikal Bebas	18
2.4.1 Malondialdehid (MDA)	19
2.4.2 Pengujian Malondialdehid (MDA)	22
2.5 Hewan Coba dan Agen Diabetogenik	23
2.5.1 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Strain Wistar	23
2.5.2 Aloksan	26
2.6 Glukometer	31
2.7 Ekstraksi	33
2.8 Senyawa Aktif Ekstrak Umbi Binahong	34
2.8.1 Alkaloid	34
2.8.2 Flavonoid	36
2.8.3 Tannin	38
2.8.4 Saponin	39
2.8.5 Terpenoid	40
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	43
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	43
3.2.1 Alat	43

3.2.2	Bahan	44
3.3	Rancangan Penelitian	45
3.4	Tahapan Penelitian	46
3.5	Prosedur Penelitian	46
3.5.1	Preparasi Sampel	46
3.5.2	Penentuan Kadar Air	47
3.5.3	Ekstraksi Umbi Binahong	48
3.5.4	Uji Antidiabetes.....	49
3.5.4.1	Penyiapan Hewan Coba	49
3.5.4.2	Perlakuan Hewan Coba	49
3.5.4.3	Pembuatan Larutan Aloksan.....	50
3.5.4.4	Preparasi Tikus DM dan Kontrol.....	50
3.5.4.5	Terapi Tikus Diabetes dengan Ekstrak Umbi Binahong.....	51
3.5.4.6	Pengambilan Organ Hati	52
3.5.5	Pengukuran Kadar MDA.....	52
3.5.6	Uji Fitokimia dengan Reagen	53
3.5.6.1	Uji Alkaloid	53
3.5.6.2	Uji Flavonoid	53
3.5.6.3	Uji Tanin	53
3.5.6.4	Uji Saponin	54
3.5.6.5	Uji Terpenoid	54
3.5.7	Uji Senyawa Aktif dengan KLT.....	54
3.5.8	Analisis Data	57
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Preparasi Sampel	58
4.2	Analisis Kadar Air	59
4.3	Ekstraksi Umbi Binahong	60
4.4	Uji Antidiabetes pada Hewan Coba.....	62
4.5	Efek Paparan Aloksan dan Terapi Ekstrak Umbi Binahong terhadap Kadar MDA Hati	67
4.6	Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Umbi Binahong	79
4.6.1	Senyawa Alkaloid	80
4.6.2	Senyawa Flavonoid	82
4.6.3	Senyawa Tanin	82
4.6.4	Senyawa Saponin.....	84
4.6.5	Senyawa Terpenoid	84
4.7	Uji Senyawa Aktif dengan KLT	85
4.8	Pemanfaatan Umbi Binahong sebagai Obat Herbal dalam Perspektif Islam	89
 BAB V PENUTUP		
5.1	Kesimpulan	93
5.2	Saran.....	93
 DAFTAR PUSTAKA		94

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Hasil Analisis Senyawa Kimia pada Umbi Binahong	13
Tabel 2.2	Kadar Glukosa Darah Sewaktu dan Puasa sebagai Patokan Penyaring dan Diagnosis Diabetes Mellitus (DM)	15
Tabel 2.3	Data Biologi Tikus Putih <i>Rattus norvegicus</i> Strain Wistar	26
Tabel 3.1	Pembagian Hewan Coba	50
Tabel 4.1	Hasil Pengukuran Kadar MDA Rata-rata Tiap Kelompok Perlakuan	72
Tabel 4.2	Hasil Pengamatan Uji Fitokimia pada Umbi Binahong	80
Tabel 4.3	Hasil KLT Golongan Senyawa Alkaloid Menggunakan Reagen Dragendrof dengan Eluen Terbaik Diklorometan: Metanol (1:1)	86
Tabel 4.4	Hasil KLT Golongan Senyawa Flavonoid Menggunakan Penampak Uap Amoniak dengan Eluen Terbaik Etil Asetat: Metanol (9:1)	87
Tabel 4.5	Hasil KLT Golongan Senyawa Terpenoid Menggunakan Penampak Liberman Burchard dengan Eluen Terbaik Klorofom: Metanol (10:1).....	88

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Bagian Tanaman Binahong	12
Gambar 2.2	Grafik Kadar Glukosa darah Masing-masing Hewan Coba	14
Gambar 2.3	Histologi Hepar	17
Gambar 2.4	Struktur Malondialdehid (MDA).....	19
Gambar 2.5	Fase Terbentuknya Malondialdehid.....	21
Gambar 2.6	Reaksi Pembentukan Kompleks MDA-TBA	23
Gambar 2.7	Tikus Putih Galur Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>)	26
Gambar 2.8	Struktur Aloksan	27
Gambar 2.9	Ultrastruktur Sel β Pulau Langerhans Pankreas Tikus Percobaan	30
Gambar 2.10	Respon Kadar Glukosa pada Hewan Coba	31
Gambar 2.11	Alat Pengukur Kadar Glukosa Metode Strip	32
Gambar 2.12	Contoh Struktur Senyawa Alkaloid	34
Gambar 2.13	Hasil KLT Isolat Alkaloid Campuran Pelarut Etanol:Etil Asetat:N-Heksana (1:2:30).....	35
Gambar 2.14	Hasil KLT Ekstrak Kasar Alkaloid Campuran Pelarut Diklorometana : Methanol (1:1).....	36
Gambar 2.15	Contoh Struktur Senyawa Flavonoid	36
Gambar 2.16	Hasil KLT Ekstrak Senyawa Flavonoid Campuran Larutan Kloroform : Metanol (9:1).....	37
Gambar 2.17	Contoh Struktur Senyawa Tannin.....	38
Gambar 2.18	Reaksi Dugaan Senyawa Tannin Membentuk Senyawa Kompleks Berwarna Hijau Kehitaman	39
Gambar 2.19	Struktur Inti Senyawa Saponin	40
Gambar 2.20	Reaksi Dugaan Hidrolisis Saponin dalam Air	40
Gambar 2.21	Contoh Struktur Senyawa Triterpenoid	41
Gambar 2.22	Golongan Senyawa triterpenoid 2,3,19,23-tetrahidroksi-12- ene-24,28-dimetil ester	41
Gambar 2.23	Hasil KLT Ekstrak Senyawa Triterpenoid Campuran Pelarut Benzena: Kloroform : Diklorometana (3:1:1).....	42
Gambar 4.1	Mekanisme Aloksan dalam Sel β Pankreas Tikus.....	69
Gambar 4.2	Reaksi Pembentukan Kompleks MDA-TBA	71
Gambar 4.3	Diagram Batang Kadar Rata-Rata MDA pada Tiap Kelompok Perlakuan.....	72
Gambar 4.4	Reaksi Dugaan Peredaman Radikal Bebas oleh Enzim SOD	75
Gambar 4.5	Reaksi Dugaan Peredaman Hidrogen Peroksida oleh Enzim <i>Katalase</i>	75
Gambar 4.6	Reaksi Dugaan <i>Scavenging</i> Radikal Bebas oleh Senyawa Flavonoid	76
Gambar 4.7	Dugaan Proses Peredaman Radikal Bebas oleh Senyawa Alkaloid.....	77
Gambar 4.8	Dugaan Proses Peredaman Radikal Bebas oleh Senyawa Karotenoid	78
Gambar 4.9	Reaksi Dugaan Alkaloid dengan Reagen Mayer	81

Gambar 4.10	Reaksi Dugaan Alkaloid dengan Reagen Dragendroff	81
Gambar 4.11	Reaksi Dugaan Flavonoid dengan Serbuk Mg dan HCl Pekat.....	82
Gambar 4.12	Reaksi Dugaan Senyawa Tannin Membentuk Kompleks Berwarna Hijau Kehitaman	83
Gambar 4.13	Reaksi Dugaan Hidrolisis Saponin dalam Air.....	84



DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 3.1 Perhitungan Kadar Air	47
Persamaan 3.2 Perhitungan Faktor Koreksi	48
Persamaan 3.3 Rumus Federer	49



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Diagram Alir Alur Penelitian.....	104
Lampiran 2	Langkah Kerja.....	105
Lampiran 3	Pembuatan Larutan.....	114
Lampiran 4	Perhitungan Dosis	118
Lampiran 5	Perhitungan Kadar Air	122
Lampiran 6	Perhitungan Rendemen Ekstrak	124
Lampiran 7	Hasil Pengukuran Kadar Malondialdehid (MDA)	125
Lampiran 8	Sertifikat Keterangan Kelaikan Etik	132
Lampiran 9	Dokumentasi	133
Lampiran 10	Halaman Persembahan	137



ABSTRAK

Rahayu, U. 2015. Efek Terapi Ekstrak rasaK Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) pada Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hasil Induksi Aloksan. Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Diana Candra Dewi, M.Si; Pembimbing II: Ahmad Abtokhi, M.Pd; Konsultan: Hafidatul Hasanah, M.Si

Kata Kunci: umbi binahong, diabetes mellitus, malondialdehid, aloksan

Umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan tanaman yang dapat digunakan sebagai obat dalam berbagai penyakit generatif. Diabetes mellitus dapat menyebabkan terjadinya penumpukan asam lemak pada hati sehingga memicu terbentuknya radikal bebas seperti malondialdehid (MDA). Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui efek terapi ekstrak kasar umbi binahong dalam menurunkan kadar glukosa dan kadar MDA dalam hati hewan coba yang diinduksi aloksan dosis 32 mg/200 g BB hewan coba. Metode yang digunakan adalah ekstrak maserasi umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan menggunakan pelarut etanol 70 %. Hasil ekstrak selanjutnya digunakan untuk menentukan kandungan senyawa metabolit sekunder dalam umbi binahong. Selain itu ekstrak juga digunakan dalam uji antidiabetes serta efeknya terhadap penurunan kadar MDA. Hasil penelitian menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak kasar umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) berupa senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan terpenoid. Efek terapi terhadap hewan coba membuktikan bahwa senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak umbi binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah dan kadar MDA dalam organ hati hewan coba. Kadar MDA rata-rata dari tiga dosis yang digunakan (25, 50 dan 70 mg/Kg BB hewan coba) secara berturut turut adalah 5,625; 6,828 dan 7,156 mg/dL dan didapatkan dosis optimum terapi ekstrak umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) 25 mg/Kg BB hewan coba.

ABSTRACT

Rahayu, U. 2015. Therapeutic Effects of Crude Extract of Bulbs Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) on Levels of Malondialdehyde (MDA) in Liver Rats (*Rattus norvegicus*) Induction Results Alloxan. Thesis. Departement of Chemistry, Faculty of Science and Technology of the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Diana Candra Dewi, M.Si; Supervisor II: Ahmad Abtokhi, M.Pd; Consultant: Hafidatul Hasanah, M.Si

Key words: bulb binahong, diabetes mellitus, malondialdehyde, alloxan

Bulbs binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) is a plant that can be used as drugs in various generative diseases. Diabetes mellitus can lead to a buildup of fatty acids in the liver, triggering the formation of free radicals such as malondialdehyde (MDA). The purpose of this study is to determine the therapeutic effect of crude extract of the bulbs binahong in lowering glucose levels and levels of MDA in the liver of experimental animals induced alloxan dose of 32 mg/200 g BW experimental animals. The method used is an extract of the bulbs binahong maceration (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) by using ethanol 70 %. The extract is then used to determine the content of secondary metabolites in binahong bulbs. In addition, it is also used in the test extract antidiabetic and its effects on decreased levels of MDA. The result shows the existence of secondary metabolites in a crude extract of the bulbs binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) in the form of alkaloids, flavonoids, tannins, saponins and terpenoids. Therapeutic effects on experimental animals prove that the secondary metabolites in the bulbs extracts binahong can lower blood glucose levels and levels of MDA in the liver of experimental animals. MDA levels of the average of the three doses used (25, 50 and 70 mg/Kg BW experimental animals) in a row is 5.625; 6.828 and 7.156 mg/dL and obtained optimum dose therapy bulbs extracts binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) 25 mg/Kg BW experimental animals.

ملخص البحث

راهايو، أوجي. 2015. تأثير العلاج لمستخرج درنة العشر على المستوى المألونديالدهيد (م د ا) في كبد الفئران الأبيض (راتوس نورفيكيجوس) نتيجة من حقن الألوكسان. البحث العلمي. قسم الكيمياء كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة الاسلامية الحكومية مولنا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة الأولى : ديانا جانديرا ديوي الماجستير، المشرف الثاني : أحمد أبطاخي الماجستير، المششارة : حفيدة الحسنة الماجستير.

الكلمات الرئيسية: درنة العشر، مرض السكري، مألونديالدهيد، ألوكسان.

درنة العشر هي النبات التي تستخدمها الأدوية للأمراض التولدية وأحد منها. مرض السكري يمكن أن يؤدي إلى تراكم الأحماض الدهنية في الكبد حتى أن يؤثر على تكوين الجذور الحرة مثل مألونديالدهيد. الأهداف من هذا البحث لمعرفة تأثير العلاج لمستخرج درنة العشر في خفض مستويات السكر ومألونديالدهيد في كبد الفئران الأبيض الذي يحقن الألوكسان جرعة 32 ملغ/ 200 غ وزن جسمه. أما الطريقة فتستخدم هي استخراج النقع من درنة العشر باستخدام الإيثانول 70٪. ويستخدم تحصيل الإستخراج لتحديد محتويات المركبات الثانوية في درنة العشر ومضاد السكري وأثاره على خفض مستويات المألونديالدهيد. في هذا البحث يحصل أن يدل على محتوى المركبات الثانوية في مستخرج درنة العشر كما أنّ الكالونيد وفلافونويد و تانين و سافونين و تيرفونويد. تأثير العلاج على الفئران الأبيض يثبت أنّ المركبات الثانوية في مستخرج درنة العشر يستطيع أن يخفض مستويات المألونديالدهيد في كبده. مستويات المألونديالدهيد على مستوى ثلاثة جرعات المستخدمة وهي (25 و 50 و 70 ملغ/ كغ وزن الجسم من الفئران الأبيض) وعلى التوالي حوالي 5,625 و 6,828 و 7,156 ملغ/ ديسيلتر. وحصلت جرعة مرتفعة في مستخرج درنة العشر حوالي 25 ملغ/ كغ وزن الجسم من الفئران الأبيض.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan merupakan hal penting yang harus dijaga untuk menunjang keberlangsungan hidup manusia. Tubuh yang sehat menandakan semua jaringan dan organ yang berada didalam tubuh sehat. Makanan adalah salah satu faktor yang berpengaruh terhadap kesehatan manusia karena makanan adalah sumber energi bagi tubuh. Makanan yang tidak seimbang dapat menimbulkan berbagai macam penyakit. Salah satu penyakit tersebut adalah diabetes. Penyebab utama penyakit diabetes adalah pola makan yang tidak seimbang sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan kadar glukosa dalam tubuh (Nurlaili, 2010).

Berabad-abad yang lalu Allah telah memerintahkan kepada umatnya untuk mengkonsumsi makanan yang halal dan baik demi mencegah timbulnya berbagai macam penyakit yang dapat merugikan tubuh. Hal ini tercantum dalam al Qur'an surah al-baqarah ayat 168:

يَأْتِيهَا النَّاسُ كُلُّوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ مُّبِينٌ ﴿١٦٨﴾

“Wahai manusia! Makanlah dari (makanan) yang halal dan baik yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syetan. Sungguh, setan itu adalah musuh yang nyata bagimu” (Q.S al-baqarah: 168).

Ayat di atas menerangkan bahwa Allah telah memperbolehkan manusia untuk memakan segala yang ada di muka bumi, yaitu makanan yang halal, baik dan bermanfaat bagi dirinya sendiri serta tidak membahayakan bagi tubuh dan akal pikirannya (Syaikh, 2008). Adapun yang dimaksud dengan makanan yang

dihalalkan oleh Allah menurut tafsiran departemen agama RI (2006) adalah makanan yang berguna bagi tubuh, tidak merusak, tidak menjijikkan, enak, tidak kadaluarsa dan tidak bertentangan dengan perintah Allah.

Secara tidak langsung ayat di atas menganjurkan kepada umat manusia untuk menerapkan pola makan yang sehat dalam kehidupan sehari-hari agar terhindar dari penyakit yang merugikan. Pola makan sehat memiliki makna mengonsumsi *real food* seimbang sesuai dengan kebutuhan tubuh yang disesuaikan dengan kondisi masing-masing individu (Subroto, 2008). Oleh karena itu pola makan yang tidak sehat dapat diartikan sebagai mengonsumsi makanan yang kebanyakan tidak dibutuhkan oleh tubuh. Sebagaimana firmanNya dalam al Qur'an surat Abasa ayat 23-32:

كَلَّا لَمَّا يَقْضِ مَا أَمَرُهُ ﴿٢٣﴾ فَلْيَنْظُرِ الْإِنْسَانُ إِلَى طَعَامِهِ ۗ ﴿٢٤﴾ أَنَا صَبَبْنَا الْمَاءَ ﴿٢٥﴾ صَبًّا ﴿٢٦﴾ ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا ﴿٢٧﴾ فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ﴿٢٨﴾ وَعِنَبًا وَقَضْبًا ﴿٢٩﴾ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ﴿٣٠﴾ وَحَدَائِقَ غُلْبًا ﴿٣١﴾ وَفَيْكِهَةً وَآبًا ﴿٣٢﴾ مَتَعًا لَكُمْ ۗ وَلَا نَعْمِمْكُمْ ﴿٣٣﴾

“Maka hendaklah manusia itu memperhatikan makanannya. Sesungguhnya kami benar-benar mencurahkan air (dari langit), kemudian kami belah bumi dengan sebaik-baiknya. Lalu kami tumbuhkan biji-bijian di bumi itu, anggur, dan sayur-sayuran, zaitun dan pohon kurma, kebun-kebun yang lebat, dan buah-buahan serta rumput-rumputan, untuk kesenangan kalian dan untuk binatang-binatang ternak kalian” (Q.S. Abasa: 23-32).

Ayat di atas menjelaskan tentang aneka makanan yang diturunkan oleh Allah ke bumi untuk manusia demi mewujudkan keseimbangan dan manfaat dari makanan, sekaligus untuk mencegah penyakit yang disebabkan oleh kecendrungan mengonsumsi satu macam makanan saja (Nurlaili, 2010). Berlebih-lebihan dalam mengonsumsi makanan juga dapat berakibat buruk bagi

tubuh, sebagaimana dengan larangan Allah tentang mengkonsumsi makanan secara berlebihan dalam al Qur'an surat al a'raf ayat 31 berikut:

﴿ يَا بَنِي آدَمَ خُذُوا زِينَتَكُمْ عِنْدَ كُلِّ مَسْجِدٍ وَكُلُوا وَاشْرَبُوا وَلَا تُسْرِفُوا إِنَّهُ لَا يُحِبُّ الْمُسْرِفِينَ ﴾

“Wahai anak cucu adam! Pakailah pakaianmu yang bagus pada setiap (memasuki) masjid, makan dan minumlah, tetapi jangan berlebihan. Sungguh, Allah tidak menyukai orang yang berlebih-lebihan” (Q.S. Al a'raf: 31)

Karbohidrat merupakan senyawa yang paling banyak terkandung dalam makanan terutama makanan yang menjadi bahan pokok seperti nasi dan umbi-umbian. Glukosa merupakan bahan bakar karbohidrat pertama yang ditemukan dalam darah, glukosa diangkut dalam plasma menuju seluruh bagian tubuh. Pada beberapa daerah di tubuh, glukosa langsung digunakan sebagai sumber energi. Jika glukosa dalam tubuh berlebih maka insulin akan mengubah glukosa menjadi glikogen yang akan disimpan dalam hati serta otot. Jika proses tersebut tidak berlangsung seimbang yaitu ketika terjadi kenaikan gula darah tetapi terjadi penurunan kerja insulin maka kelebihan glukosa dalam tubuh akan menimbulkan penyakit yang dalam istilah medis disebut diabetes mellitus (Taylor, 2009).

Menurut konsensus pengelolaan diabetes mellitus (DM) berbagai penelitian epidemiologis di Indonesia didapatkan prevalensi DM sebesar 1,5-2,3 % pada penduduk usia dari 15 tahun, bahkan pada suatu penelitian epidemiologis di Manado didapatkan prevalensi DM 6,1 %. Penelitian yang dilakukan di Jakarta membuktikan adanya kenaikan prevalensi. Prevalensi DM pada daerah urban Jakarta meningkat dari 1,7 pada tahun 1982 menjadi 5,7 % pada tahun 1993, demikian pula prevalensi DM di Ujung Pandang (daerah urban), meningkat dari

1,5 % pada tahun 1981 menjadi 2,9 % pada tahun 1998. Berdasarkan pola pertumbuhan penduduk seperti ini, diperkirakan pada tahun 2020 nanti akan ada sejumlah 178 juta penduduk berusia 20 tahun dan dengan asumsi prevalensi DM sebesar 4 % akan didapatkan 7 juta pasien DM (Misnadiarly, 2006).

Diabetes mellitus merupakan penyakit degeneratif yang ditandai dengan kadar gula darah tinggi yang disebabkan oleh gangguan pada sekresi insulin di dalam tubuh (Krisnatuti dkk, 2014). Penyakit diabetes mellitus tidak terlepas dari adanya komplikasi, termasuk organ hati. Gangguan metabolisme lipid pada penderita diabetes mellitus menyebabkan adanya kelainan pada sel-sel hati. Pathogenesis kelainan pada sel hati ini muncul karena adanya resistensi insulin yang dihasilkan oleh lipolisis. Lipolisis ini akan meningkatkan sirkulasi asam lemak bebas yang kemudian diambil oleh hati. Asam lemak di hati ini akan menyebabkan pembentukan radikal bebas yang menyebabkan peroksidasi lipid (Tolmar dkk, 2006 dalam Nurlaili, 2010).

Komplikasi yang terjadi pada organ hati penderita diabetes dapat diobati dengan cara meredam bertambahnya kadar radikal bebas yang terdapat dalam organ hati. Pengobatan dapat dilakukan dengan menggunakan suntik insulin untuk mengurangi kadar glukosa darah dalam tubuh. Akan tetapi pengobatan dengan menggunakan suntik insulin ini harus mengeluarkan biaya yang sangat mahal serta masih belum terbukti kehalalannya. Pengobatan dengan menggunakan tanaman herbal merupakan alternatif dari penyakit ini, selain biaya yang dikeluarkan tidak besar, pengobatan herbal ini juga cukup efisien dibandingkan dengan obat berbahan kimia yang dapat menimbulkan efek samping serta jelas kehalalannya. Masyarakat meyakini bahwa pengobatan diabetes mellitus dengan

menggunakan tanaman herbal akan jauh lebih baik dan efektif, hal ini dikarenakan tanaman herbal merupakan tanaman yang tumbuh secara alami di muka bumi yang memiliki banyak manfaat, sebagaimana dengan firman Allah dalam al Quran surat as-Syuara' ayat 7:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam pasangan tumbuh-tumbuhan yang baik?”
(Q.S as-Syuara' ayat: 7)

Ayat di atas menjelaskan bahwa betapa besar kekuasaan Allah menciptakan sesuatu di bumi ini tidak ada yang sia-sia termasuk tanaman, salah satunya adalah tanaman binahong. Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah tanaman obat potensial yang dipercaya dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama asalnya adalah *Dheng shan chi*, dikenal dengan sebutan *Madeira Vine* (Manoi, 2009 dalam Fidzaro, 2010).

Penelitian sebelumnya menjelaskan adanya kandungan senyawa aktif dalam tanaman binahong yang dapat digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah pada penyakit diabetes mellitus. Kandungan senyawa saponin yang terdapat dalam ekstrak etanol 70 % daun binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi sukrosa dengan cara menghambat aktivitas enzim *alpha* glukooksidase (Makalalag dkk, 2013). Selain itu senyawa flavonoid yang dihasilkan dari ekstrak etanol 70 % umbi binahong juga dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi glukosa 50 % (Saleh dkk, 2012) dan juga dapat bertindak dalam menghambat peroksida lipid, karena

senyawa tersebut memiliki kemampuan menangkal radikal bebas (Shofia, 2013). Selain menangkal radikal bebas senyawa aktif yang terdapat dalam umbi binahong dapat meningkatkan aktifitas dari antioksidan primer SOD (*Superoksida Dismutase*) yang terdapat dalam tubuh (Nahari, 2014), dimana antioksidan tersebut bekerjasama dengan antioksidan sekunder (salah satunya senyawa flavonoid) dalam menangkal radikal bebas (Winarsi, 2007).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi umbi binahong dengan menggunakan pelarut etanol 70 %, karena pelarut ini diharapkan mampu mengikat senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik dan steroid (Saleh dkk, 2012). Pelarut etanol pada ekstrak daun binahong juga dapat mengikat senyawa metabolit sekunder lainnya seperti alkaloid, tanin, saponin dan triterpenoid (Rahmawati dkk, 2012). Hal ini dikarenakan senyawa yang diambil adalah senyawa yang bersifat polar, selain itu etanol juga merupakan pelarut yang sering digunakan untuk ekstrak bahan alam. Hal ini dikarenakan etanol dapat melarutkan senyawa organik lebih baik daripada air (Lukiati dkk, 2012).

Kandungan senyawa yang didapatkan dari hasil ekstrak umbi binahong ini diharapkan mampu menurunkan kadar radikal bebas dan kadar glukosa darah pada hewan uji yang telah diinduksi dengan senyawa diabetogenik yaitu aloksan dengan dosis 32 mg/200 g BB. Pemberian aloksan dapat meningkatkan kadar glukosa darah hewan coba tikus (Ratimanjari, 2013; Suarsana, 2010; Chougale *et al.*, 2007 dan Panjuantiningrum, 2009). Meningkatnya kadar glukosa darah ini dapat menyebabkan meningkatnya kadar radikal bebas dalam tubuh hewan uji.

Malondialdehid (MDA) merupakan salah satu radikal bebas yang merupakan produk dari oksidasi asam lemak tidak jenuh (Winarsi, 2007).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka pada penelitian ini akan dikaji kemampuan ekstrak kasar umbi binahong sebagai anti radikal bebas pada hewan uji coba diabetes mellitus yang kemudian dapat digunakan sebagai alternatif penyakit diabetes mellitus.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang dapat diambil dari latar belakang di atas adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak kasar umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap penurunan kadar malondialdehid (MDA) tikus diabetes mellitus hasil induksi aloksan?
2. Golongan senyawa apakah yang terkandung di dalam ekstrak kasar umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap penurunan kadar malondialdehid (MDA) tikus diabetes mellitus hasil induksi aloksan
2. Mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak kasar umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Parameter pada penelitian ini meliputi pengukuran kadar malondialdehid (MDA) pada organ tikus diabetes mellitus hasil induksi aloksan
2. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan dengan umur 2 bulan dan bobot badan antara 150-200 gram
3. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah etanol 70 %
4. Senyawa diabetogenik yang digunakan adalah aloksan dosis 32 mg/200 g BB hewan coba
5. Dosis untuk terapi ekstrak kasar umbi binahong pada hewan coba adalah 20, 50 dan 75 mg/Kg BB

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Sebagai aspek pengembangan ilmu untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak kasar umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap penurunan kadar MDA (*malondialdehid*) organ hati tikus hasil induksi aloksan
2. Sebagai alternatif alami masyarakat dalam mengobati diabetes mellitus yang disertai komplikasi

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Binahong

2.1.1 Deskripsi Tanaman Binahong

Allah berfirman dalam al Qur'an surat Ibrahim ayat 32:

اللَّهُ الَّذِي خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجَ بِهِ مِنْ الثَّمَرَاتِ رِزْقًا لَكُمْ ۗ وَسَخَّرَ لَكُمْ الْفُلْكَ لِتَجْرِيَ فِي الْبَحْرِ بِأَمْرِهِ ۗ وَسَخَّرَ لَكُمْ الْأَنْهَارَ ﴿٣٢﴾

“Allahlah yang telah menciptakan langit dan bumi dan menurunkan air hujan dari langit, kemudian Allah mengeluarkan dengan air hujan itu berbagai buah-buahan menjadi rizki untukumu, dan Dia telah menundukkan bahtera bagimu supaya bahtera itu berlayar di lautan dengan kehendakNya, dan Dia telah menundukkan bagimu sungai-sungai” (Q.S. Ibrahim: 32).

Allah menjelaskan berbagai macam nikmat yang telah diberikan kepada makhlukNya dengan menciptakan untuk mereka langit sebagai atap yang terjaga agar tidak jatuh dan bumi sebagai alasnya. Kemudian Allah menurunkan air dari langit, dan dengan air itu tumbuhlah berbagai macam jenis tumbuh-tumbuhan dengan buah-buahan dan tanaman yang beraneka macam warna, bentuk, rasa, aroma dan manfaatnya. Hal ini dijelaskan dengan firmanNya dalam al Qur'an surat Thaha ayat 53 yang artinya:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمْ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّىٰ ﴿٥٣﴾

“Dan Allah menurunkan air hujan dari langit, maka kami tumbuhkan dengan air hujan itu berbagai jenis tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam” (QS. Thaha: 53).

Kedua ayat di atas menerangkan bahwa tumbuhan diciptakan berbagai jenis dan bermacam-macam. Tidak dapat dipungkiri bahwa keanekaragaman tumbuhan adalah fenomena alam yang harus dikaji dan dipelajari lebih dalam untuk dimanfaatkan sepenuhnya bagi kesejahteraan manusia. Tumbuhan memiliki peranan yang penting dalam sistem ekologi, hal ini dilihat dari kemampuan dari tumbuhan untuk merubah energi dari matahari berupa cahaya menjadi energi kimia dan hal ini tidak dapat dilakukan oleh organisme lain. Perubahan tersebut hanya dapat dilakukan oleh tumbuhan melalui peristiwa fotosintesis, itupun hanya dilakukan oleh tumbuhan yang memiliki klorofil. Fenomena alam yang demikian merupakan tanda-tanda dari kekuasaan Allah SWT yang hanya dapat diketahui oleh orang-orang yang berakal (Rosyidi (2008) dalam Fidzaro (2010)).

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama asalnya adalah Dheng shan chi, di Inggris disebut *madeira vine*, sinonim *Boussingaultia gracilis* Miers, *Boussingaultia cordifolia*, *Boussingaultia basselloides*. Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) termasuk dalam famili *Basellaceae* merupakan salah satu tanaman obat yang mempunyai potensi besar ke depan untuk diteliti, karena dari tanaman ini masih banyak yang perlu digali sebagai bahan fitofarmaka. Tanaman ini berasal dari Cina dan menyebar ke Asia Tenggara. Di Indonesia tanaman ini dikenal sebagai gendola yang sering digunakan sebagai gapura yang melingkar di atas jalan taman. Tanaman merambat ini perlu dikembangkan dan diteliti lebih jauh. Terutama untuk mengungkapkan khasiat dari bahan aktif yang dikandungnya. Berbagai

pengalaman yang ditemui di masyarakat, binahong dapat dimanfaatkan untuk membantu proses penyembuhan penyakit-penyakit berat (Manoi, 2009 dalam Khunaifi, 2010).

Tanaman binahong berupa tumbuhan menjalar, berumur panjang (perennial), bisa mencapai panjang +/-5 m. Akar berbentuk rimpang, berdaging lunak. Batang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Daun tunggal, bertangkai sangat pendek (sessile), tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung (cordata), panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk (emarginatus), tepi rata, permukaan licin, bisa dimakan (Gambar 2.1). Bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5-1 cm, berbau harum. Perbanyak generatif (biji), namun lebih sering berkembang atau dikembangbiakan secara vegetatif melalui akar rimpangnya (Khunaifi, 2010).



Daun Binahong



Umbi Binahong



Akar Binahong



Bunga Binahong

Gambar 2.1 Bagian tanaman binahong (Anonim, 2013)

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Binahong

Klasifikasi tanaman binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. Menurut

Anonim (2013) adalah :

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Basellaceae
Genus	: <i>Anredera</i>
Spesies	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis

2.1.3 Manfaat dan Kandungan Kimia Tanaman Binahong

Manfaat tanaman ini sangat besar dalam dunia pengobatan, secara empiris binahong dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Dalam pengobatan, bagian tanaman yang digunakan dapat berasal dari akar, batang, daun, dan bunga maupun umbi yang menempel pada ketiak daun. Tanaman ini dikenal dengan sebutan *Madeira Vine* dipercaya memiliki kandungan antioksidan tinggi dan antivirus. Percobaan pada tikus yang disuntik dengan bahan ekstrak dari binahong dapat meningkatkan daya tahan tubuh, peningkatan agresivitas tikus dan tidak

mudah sakit. Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, reumatik, pemulihan pasca operasi, pemulihan pasca melahirkan, menyembuhkan segala luka dalam dan khitanan, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing-pusing, sakit perut, menurunkan panas tinggi, menyuburkan kandungan, maag, asam urat, keputihan, pembengkakan hati, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh (Manoi, 2009).

Astuti (2013) melakukan skrining fitokimia tanaman binahong berupa daun, batang, bunga dan umbi. Hasil uji menunjukkan bahwa pada umbi binahong terdapat senyawa bioaktif seperti fenol, flavonoid, saponin, terpenoid, steroid dan alkaloid sebagaimana dalam tabel 2.1.

Tabel 2.1 Hasil analisis senyawa kimia pada umbi binahong

Senyawa	Umbi	Pengamatan
Fenol	+	Endapan kemerahan
Flavonoid	+	Larutan warna pink-merah
Saponin	+	Busa permanen
Terpenoid	+	Warna coklat kemerahan, diantara permukaan
Steroid	+	Warna coklat kemerahan/ hijau - kebiruan pekat
Alkaloid	+	Kekeruhan dan endapan

Sumber: (Astuti, 2013)

Khunaifi (2010) telah melakukan ekstraksi maserasi 200 gram daun binahong dengan menggunakan pelarut etil asetat, didapatkan kandungan kimia berupa senyawa aktif alkaloid, polifenol dan flavonoid. Sedangkan ekstrak etanol daun binahong pada penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati dkk. (2005) menghasilkan senyawa yang lebih banyak diantaranya alkaloid, flavonoid, tanin

dan saponin. Selain itu hasil penelitian yang dilakukan oleh Saleh dkk. (2012) menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi binahong pada dosis 25 mg/Kg BB memperlihatkan efek hipoglikemik yang paling baik terhadap persentase penurunan kadar glukosa darah mencit yaitu sebesar 33,05 %.

Pradana dalam penelitiannya menyatakan bahwa ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah tikus yang diinduksi aloksan. Hal ini dapat dilihat kadar glukosa darah pada hari pertama pasca-induksi aloksan menunjukkan hewan coba mengalami hiperglikemia, kemudian kadar glukosa turun setelah dilakukan terapi ekstrak umbi binahong. Akan tetapi kadar glukosa darah tetap tinggi pada hari ke-14 dengan kadar glukosa lebih dari 135 mg/dL yang menandakan hewan coba masih mengalami hiperglikemia. Adapun rata-rata glukosa darah setelah terapi ekstrak etanol umbi binahong dengan dosis 25, 50 dan 75 mg/Kg BB berturut-turut sebesar 175,25 mg/dL, 261,5 mg/dL dan 136,5 mg/dL.



Gambar 2.2 Grafik kadar glukosa darah masing-masing kelompok hewan coba (Pradana, 2014)

2.2 Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus adalah istilah kedokteran untuk penyakit yang di Indonesia kita kenal dengan nama penyakit gula atau kencing manis. Istilah ini berasal dari bahasa Yunani. *Diabetes* artinya mengalir terus, *mellitus* berarti madu atau manis. Jadi, istilah ini menunjukkan tentang keadaan tubuh penderita, yaitu adanya cairan manis yang mengalir terus. Diabetes mellitus merupakan gejala yang timbul pada seseorang, ditandai dengan kadar glukosa darah yang melebihi nilai normal (hiperglikemia) akibat tubuh kekurangan insulin baik absolut maupun relatif. Penyakit ini bersifat menahun alias kronis. Pemeriksaan glukosa darah yang dianjurkan adalah pemeriksaan glukosa secara enzimatik dengan bahan darah plasma vena. Kadar glukosa darah sewaktu dan glukosa darah puasa sebagai patokan penyaring dapat dilihat pada tabel 2.2 (Dalimartha (2007)).

Tabel 2.2 Kadar glukosa darah sewaktu dan puasa sebagai patokan penyaring dan diagnosis diabetes mellitus (DM)

Kadar Glukosa Darah		Bukan DM	Belum Pasti DM	DM
Kadar glukosa darah 2 jam setelah minum glukosa 75 g (mg/dL)	Plasma vena	< 100	100-199	≥ 200
	Darah kapiler	< 90	90-199	≥ 200
Kadar glukosa darah puasa (mg/dL)	Plasma vena	< 100	100-125	≥ 126
	Darah kapiler	< 90	90-99	≥ 100

Sumber: (Dalimartha, 2007)

Penyakit diabetes yang sering disingkat DM ini bisa timbul secara mendadak pada anak-anak dan orang dewasa muda. Pada orang yang telah berumur, penyakit ini sering muncul tanpa gejala dan kerap baru diketahui bila yang bersangkutan melakukan pemeriksaan kesehatan rutin. Gejala yang ditimbulkannya adalah rasa haus, sering kencing, banyak makan tetapi berat badan menurun, gatal-gatal dan badan terasa lemah. Apabila penyakit ini

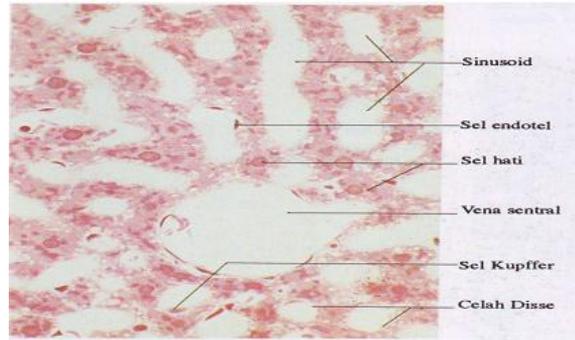
dibiarkan tidak terkontrol atau penderita tidak menyadari penyakitnya maka bertahap-tahap kemudian akan timbul berbagai komplikasi kronis yang berakibat fatal. Penyakit jantung, terganggunya fungsi ginjal, kebutaan, pembusukan kaki yang memerlukan amputasi, atau timbulnya impotensi yang sangat meresahkan adalah beberapa kemungkinan komplikasi tersebut (Dalimartha, 2007).

2.3 Hati dan Diabetes Mellitus

2.3.1 Struktur dan Fungsi Hati

Hati adalah organ viseral (dalam rongga abdomen) terbesar terletak di bawah kerangka iga. Pada kondisi hidup, hati berwarna tua karena kaya akan persediaan darah dan kaya nutrisi dari vena portal dan vena hepatika (Syarifuddin, 2009: 164). Hati terletak di bawah diafragma kanan dan dilindungi bagian bawah tulang iga kanan. Lobus kiri hati berada di dalam epigastrium, tidak dilindungi oleh tulang iga. Hati normal mempunyai struktur kenyal dengan permukaan yang licin (Chandrasoma, 2005). Hati merupakan kelenjar tubuh yang paling besar, beratnya antara 1000-1500 gram, kurang lebih 25 % berat badan orang dewasa dan merupakan pusat metabolisme tubuh dengan fungsi yang sangat kompleks (Nurlaili, 2010).

Fungsi metabolik yaitu metabolisme asimilasi karbohidrat, lemak, protein, vitamin, dan produksi energi. Seluruh monosakarida akan diubah menjadi glukosa. Pengaturan glukosa dalam darah terjadi di hati. Pembentukan asam lemak dan lipid serta pembentukan fosfolipid terjadi di hati. Metabolisme protein serta pembentukan albumin dan globulin juga terjadi di hati. (Syarifuddin, 2009).



Gambar 2.3 Histologi Hepar (Geneser, 2004 dalam Nurlaili, 2010)

2.3.2 Pengaruh Diabetes Mellitus terhadap Struktur dan Fungsi Hati

Penyakit hati mungkin timbul karena adanya diabetes mellitus atau diabetes mellitus yang timbul akibat penyakit hati. Keterkaitan antara diabetes mellitus dan penyakit hati memang tinggi antara 32-44 % (Sulaiman, 1997 dalam Nurlaili, 2010).

Penderita diabetes mudah mengalami hiperlipidemia (kadar lemak tinggi), sedangkan penderita penyakit hati yang lemaknya tinggi juga cenderung mengidap diabetes. Selain itu gula dan lemak bisa menyebabkan komplikasi pada jantung, otak, dan pembuluh darah. Penderita diabetes sering mempunyai trigliserida yang tinggi dan biasanya disertai dengan kolesterol HDL (*High Density Lipoprotein*) yang rendah. Ketoasidosis bisa mengacaukan kadar lemak dalam darah. Namun bila glukosa darah berangsur terkontrol dengan baik, keseimbangan lemak akan membaik kembali (Tandra, 2007 dalam Nurlaili, 2010).

Gangguan metabolisme lipid pada diabetes menyebabkan adanya kelainan pada sel-sel hati. Patogenesis kelainan pada sel hati ini muncul karena adanya resistensi insulin yang dihasilkan oleh lipolisis. Lipolisis ini akan meningkatkan sirkulasi asam lemak bebas yang kemudian diambil oleh hati. Asam lemak dihati ini

akan menyebabkan pembentukan radikal bebas yang menyebabkan peroksidasi lipid (Tolman dkk., 2006 dalam Nurlaili, 2010).

2.4 Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Untuk mengembalikan keseimbangannya maka radikal bebas berusaha mendapatkan elektron dari molekul lain atau melepas elektron yang tidak berpasangan tersebut. Radikal bebas dalam jumlah berlebih di dalam tubuh sangat berbahaya karena menyebabkan kerusakan sel, asam nukleat protein dan jaringan lemak. Radikal bebas terbentuk di dalam tubuh akibat produk sampingan proses metabolisme ataupun karena tubuh terpapar radikal bebas melalui pernapasan (Prapti dkk., 2006 dalam Fidzaro, 2010).

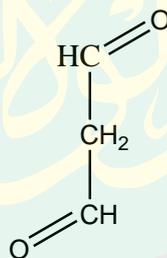
Radikal bebas bersifat sangat reaktif sehingga dapat menimbulkan perubahan kimiawi dan merusak berbagai komponen sel hidup seperti protein, lipid dan nukleotida. Pada protein, radikal bebas dapat menyebabkan fragmentasi sehingga mempercepat terjadinya proteolisis. Pada lipid dapat menyebabkan reaksi peroksidasi yang akan mencetus proses autokatalik dan pada nukleotida dapat menyebabkan terjadinya perubahan struktur DNA dan RNA sehingga terjadi mutasi atau sitotoksisitas.

Kerusakan sel oleh radikal bebas didahului oleh kerusakan membran sel dengan proses sebagai berikut: 1) Terjadi ikatan kovalen antara radikal bebas dengan komponen membran, sehingga terjadi perubahan struktur dari fungsi reseptor; 2) Oksidasi gugus tiol pada komponen membran oleh radikal bebas yang menyebabkan proses transport lintas membran terganggu; 3) Reaksi peroksidasi

lipid dan kolesterol membran yang mengandung asam lemak tidak jenuh majemuk (PUFA). Hasil peroksida lipid membran oleh radikal bebas berpengaruh langsung terhadap kerusakan membran sel antara lain struktur dan fungsi dalam keadaan yang lebih ekstrim yang akhirnya akan menyebabkan kematian sel (Gitawati, 1995 dalam Muhammad, 2009).

2.4.1 Malondialdehid (MDA)

Malondialdehid (MDA) merupakan produk ahir peroksida lipid di dalam tubuh. Senyawa ini memiliki tiga rantai karbon, dengan rumus molekul $C_3H_4O_2$. MDA juga merupakan produk yang dihasilkan oleh radikal bebas melalui reaksi ionisasi dalam tubuh dan produk samping biosintesis prostaglandin yang merupakan produk ahir oksidasi lipid membran (Winarsi, 2007). Struktur dari MDA dapat dilihat pada gambar 2.4.

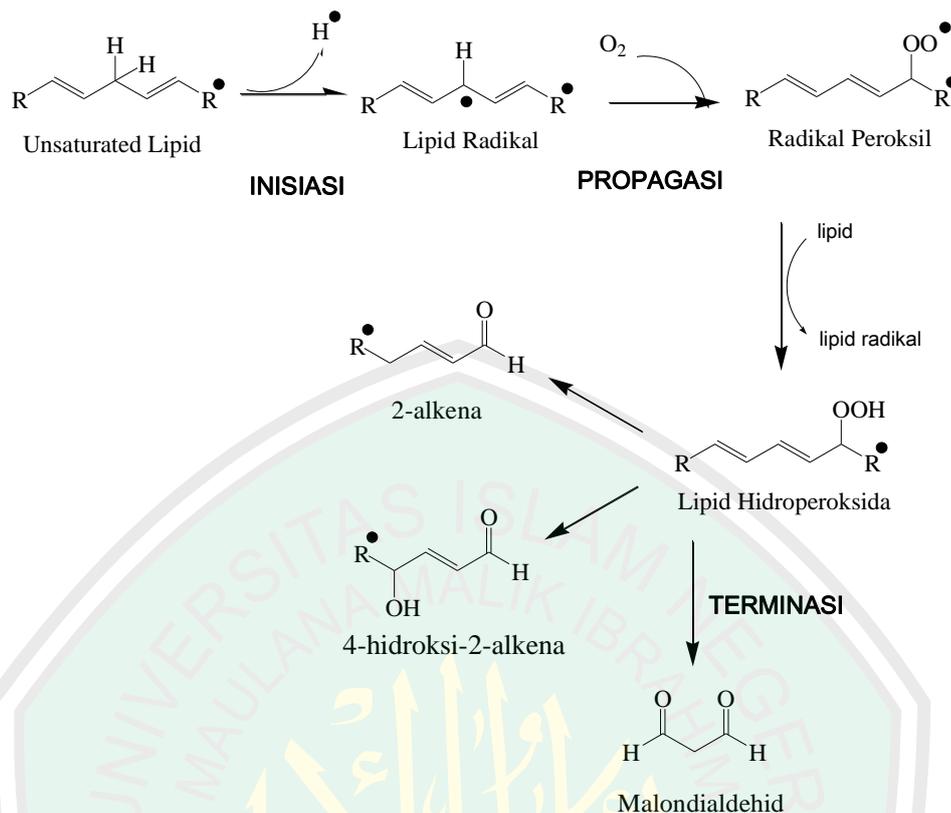


Gambar 2.4 Struktur malondialdehid

MDA dapat bereaksi dengan komponen nukleofilik atau elektrofilik. Aktivitas non-spesifiknya, MDA dapat berikatan dengan berbagai molekul biologis seperti protein, asam nukleat, dan aminofosfolipid secara kovalen. MDA dapat menghasilkan polimer dalam berbagai berat molekul dan polaritas. Efek negatif senyawa radikal maupun metabolit elektrofil ini dapat diredam oleh antioksidan, baik yang berupa zat gizi seperti vitamin A, C, E dan albumin, ataupun antioksidan non-gizi seperti flavonoid dan gingerol. Oleh karena itu,

tinggi rendahnya kadar MDA sangat bergantung pada status antioksidan dalam tubuh seseorang (Winarsi, 2007).

Pembentukan radikal bebas lemak dan peroksida lemak dianggap suatu ciri-ciri yang penting dalam cedera sel yang disebabkan oleh spesies oksigen reaktif. Jenis reaksi ini yang disebut auto oksidasi radikal bebas, memerlukan suatu inisiator (misalnya radikal hidroksil) agar reaksi berantai tersebut dapat berjalan. Seperti tahap reduksi satu elektron pada O_2 , auto oksidasi radikal bebas tidak terkena sawar kinetik dari restriksi spin. Peroksidasi biasanya dimulai dengan ekstraksi atom hidrogen yang mengandung satu elektron dari ikatan rangkap terkonjugasi dalam asam lemak. Pembentukan radikal hidroksil setempat dari hidrogen peroksida, yang diperantarai oleh Fe^{2+} , dapat mencetuskan reaksi tersebut. Hal ini diperbanyak oleh penambahan oksigen untuk membentuk radikal peroksil lemak dan peroksidasi lemak. Asam lemak utama yang mengalami peroksidasi lemak di dalam membran sel adalah asam lemak *polyunsaturated*. Akhirnya terjadi degradasi lemak dan terbentuk berbagai produk seperti malondialdehid (dari asam lemak dengan tiga atau lebih ikatan rangkap) serta etana dan pentana. Malondialdehid muncul di dalam darah dan urin dan digunakan sebagai indikator adanya kerusakan akibat radikal bebas (Marks dkk.,1996). Berikut ini mekanisme terbentuknya malondialdehid (Burcham, 1998):



Gambar 2.5 Fase terbentuknya malondialdehid (Burcham, 1998)

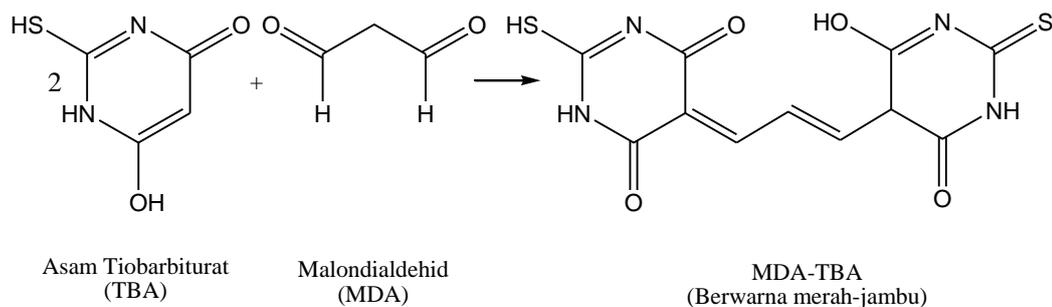
Mekanisme peroksidasi lipid diawali dengan fase inisiasi, yakni terjadi abstraksi ion H dari ikatan C-H lipid dengan paparan oksidan dan terbentuk *carbon centred lipid radical*. Kemudian diikuti dengan fase propagasi yang merupakan bagian yang kompleks dimana radikal lipid dengan cepat mengalami penggabungan dengan O₂ dan terbentuk radikal peroksid. Reaksi kedua fase ini membuat peningkatan jumlah yang dramatis sehubungan dengan adanya abstraksi ion H dari lipid oleh radikal peroksida membentuk lipid hidroperoksida. Penggabungan O₂ dengan lipid radikal yang baru terbentuk menambah jumlah peroksidasi membran lipid (Ummah, 2014).

2.4.2 Pengujian Malondialdehid (MDA)

Analisis MDA merupakan analisis radikal bebas secara tidak langsung dan mudah dalam menentukan jumlah radikal bebas yang terbentuk. Analisis radikal bebas secara langsung sangat sulit dilakukan, karena senyawa radikal sangat tidak stabil dan bersifat elektrofil, selain itu reaksinyapun berlangsung sangat cepat. Pengukuran MDA dapat dilakukan dengan pereaksi asam tiobarbiturat (*thiobarbituric acid*) dengan mekanisme reaksi penambahan nukleofilik membentuk senyawa MDA-TBA. Senyawa ini berwarna merah muda yang dapat diukur intensitasnya dengan menggunakan spektrofotometer (Bintang, 2010).

TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*) merupakan salah satu indikator peroksida lipid yang paling awal digunakan dalam penelitian dengan subyek manusia ataupun hewan percobaan. Pengukurannya menggunakan spektrofotometer atas dasar penyerapan warna yang terbentuk dari reaksi TBA dengan MDA (Winarsi, 2007). Prinsip analisis ini yaitu pemanasan akan menghidrolisis peroksida lipid, sehingga MDA yang terikat akan dibebaskan dan beraksi dengan TBA dalam suasana asam membentuk kompleks MDA-TBA yang berwarna merah, dan diukur pada panjang gelombang 532 nm (Bintang, 2010).

Analisa kadar radikal bebas ini dilakukan untuk mengukur kadar MDA organ hati dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Metode ini merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk mengukur keberadaan radikal bebas dan peroksidasi lipid, karena mempunyai kepekaan yang cukup tinggi dan biayanya cukup terjangkau (Bintang, 2010).



Gambar 2.6 Reaksi pembentukan kompleks MDA-TBA
(Conti dkk., 1991 dalam Putri, 2009)

2.5 Hewan Coba dan Agen Diabetogenik

2.5.1 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar

Tikus merupakan salah satu hewan darat berkaki empat yang telah diciptakan Allah beserta dengan manfaat yang dimilikinya. Sebagaimana dengan firman Allah yang terkandung dalam al Qur'an surat an Nur ayat 45.

قُلْ أَطِيعُوا اللَّهَ وَأَطِيعُوا الرَّسُولَ فَإِن تَوَلَّوْا فَإِنَّمَا عَلَيْهِ مَا حُمِّلَ وَعَلَيْكُمْ مَّا حُمِّلْتُمْ وَإِن تُطِيعُوهُ تَهْتَدُوا وَمَا عَلَى الرَّسُولِ إِلَّا الْبَلَّغُ الْمُبِينُ ﴿٤٥﴾

“(45) Dan Allah telah menciptakan semua jenis hewan dari air, maka sebagian dari hewan itu ada yang berjalan di atas perutnya dan sebagian berjalan dengan dua kaki sedang sebagian (yang lain) berjalan dengan empat kaki. Sesungguhnya Allah Maha Kuasa atas segala sesuatu. (46) Sesungguhnya Kami telah menurunkan ayat-ayat yang menjelaskan. Dan Allah menunjuki siapa yang dikehendaki-Nya kepada jalan yang lurus” (QS. an Nur: 45-46).

Ayat di atas menjelaskan bagaimana Allah menyebutkan kekuasaan-Nya yang Mahasempurna dan kerajaannya yang Mahaagung dengan menciptakan berbagai jenis makhluk dalam berbagai bentuk, rupa, warna dan gerak-gerik. Ayat di atas juga menggambarkan bagaimana cara hewan tersebut berjalan, ada yang berjalan di atas perutnya misalnya seperti ular dan sejenisnya. Ada juga yang berjalan dengan menggunakan dua kakinya seperti burung dan sejenisnya serta

ada pula yang berjalan dengan menggunakan empat kakinya seperti hewan ternak dan jenis hewan lainnya (Syaikh, 2008) seperti halnya tikus. Kemudian Allah menegaskan dalam ayat yang kedua bahwa pada semua yang diciptakanNya tersebut merupakan hikmah bagi yang memikirkannya.

Az-Zabidi (1997) dalam Fidzaro (2010) menyatakan bahwa Nabi Muhammad SAW bersabda:

عن أبي هريرة قال : قال رسول الله صلى الله عليه وسلم فقدت أمة من إسرائيل لا يدري ما فعلت ولا أراها إلا الفار ألا ترونها إذا وضع لها اللبن اللأبل لم تشربه واذ وضع لها اللبن الشاء شربته

Dari Abu Hurairah berkata bahwasanya Rasulullah bersabda: *“Satu kaum dari Bani Israil telah hilang lenyap tanpa diketahui sebab apa yang dikerjakan dan tidak terlihat kecuali (dalam bentuk) tikus. Tidakkah kamu lihat jika (tikus itu) diberi susu unta ia tidak meminumnya, tetapi jika diberi susu kambing ia meminumnya”* (HR. Bukhari dan Muslim).

Hadits tersebut menyatakan bahwa jika (tikus itu) diberi susu unta ia tidak meminumnya, tetapi jika diberi susu kambing ia meminumnya. Hal tersebut mengisyaratkan tentang sifat dari seekor tikus yang bisa memilih makanan yang lebih disukainya. Terbukti dengan pemberian pakan pada tikus tidaklah sembarangan, akan tetapi diberikan pakan yang biasa tikus itu makan atau kesukaannya. Misalkan diberikan pellet biasa dan pellet yang kandungan jagungnya lebih banyak, maka tikus akan cenderung memakan pellet yang kandungan jagungnya lebih banyak (Fidzaro, 2010).

Tikus merupakan spesies ideal untuk uji toksikologi karena berat badannya dapat mencapai 200-300 gram pada umur 2 bulan. Ukuran tikus yang lebih besar daripada mencit membuat tikus lebih disukai untuk berbagai penelitian. Dengan

ukuran itu menjadikan tikus lebih mudah dipegang, dikendalikan atau diambil darahnya dalam jumlah relatif besar. Organ-organ tikuspun relatif besar sehingga materi dapat diberikan melalui berbagai rute (Kusumawati, 2004).

Tikus dan mencit sering digunakan dalam penelitian di bidang kesehatan maupun biologi karena kemudahannya dalam berkembang biak dan waktu antar generasi yang pendek. Mencit memiliki keuntungan pada ukuran tubuhnya yang kecil dan dapat menjadi kerugian bila diperlukan pengamatan pada organ. Mencit memiliki laju metabolisme yang lebih tinggi dibandingkan tikus dan lebih sensitif terhadap penyimpangan kondisi lingkungan sehingga dapat mempengaruhi hasil penelitian (Gad, 2007 dalam Ariefin, 2013).

Tikus jantan lebih sering digunakan dalam pengujian karena metabolisme tikus jantan lebih stabil dibandingkan tikus betina yang dipengaruhi sistem hormonal (Suckow dkk., 2006). Sistem hormonal sangat berpengaruh terhadap sistem metabolisme tubuh. Selain itu OECD (2001) juga menyatakan bahwa tikus betina lebih sensitif terhadap efek toksik dibandingkan tikus jantan dalam uji toksik (Ariefin, 2013).

Menurut Boolation dan Stikes (1991) dalam Wuragil (2006), tikus yang biasa digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian adalah *Rattus norvegicus* Strain Wistar yang memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Phylum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodetina
Famili	: Muridae
Genus	: Rattus
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i> Strain Wistar



Gambar 2.7 Tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*)

Berikut adalah tabel data biologi tikus putih menurut Kusumawati (2004):

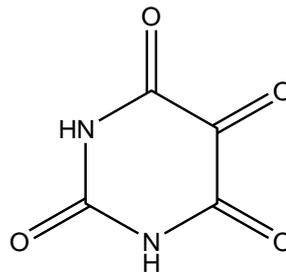
Tabel 2.3 Data biologi tikus putih *Rattus norvegicus* strain wistar

Data Biologi Hewan Coba Tikus	Keterangan
Berat Badan Tikus Jantan	300-400 g
Berat Badan Tikus Betina	250-300 g
Lama hidup (tahun)	2,5-3
Temperatur tubuh (derajat selesai)	37,5
Kebutuhan air (ml/100 g BB)	8-11
Kebutuhan makanan (g/100 g BB)	5
Frekuensi jantung (per menit)	330-480
Frekuensi respirasi (per menit)	66-114
SGPT (U/I)	17.5-30.2
Kadar glukosa darah (mg/dl)	50-135

Sumber: Kusumawati (2004)

2.5.2 Aloksan

Diabetes mellitus dapat disebabkan oleh banyak faktor. Faktor tersebut diantaranya faktor genetik, infeksi oleh kuman, faktor nutrisi, zat diabetogenik dan radikal bebas (stress oksidatif). Senyawa aloksan merupakan salah satu zat diabetogenik yang bersifat toksik, terutama terhadap sel β pankreas, dan apabila diberikan kepada hewan coba seperti tikus maka dapat menyebabkan hewan coba tikus menjadi diabetes (Prameswari, 2014). Struktur aloksan dapat dilihat pada gambar 2.8.



Gambar 2.8 Struktur aloksan

Mekanisme toksisitas aloksan diawali dengan masuknya aloksan kedalam sel-sel β pankreas dan kecepatan pengambilan akan menentukan sifat diabetogenik aloksan. Kerusakan sel-sel β terjadi melalui beberapa proses secara bersamaan, yaitu melalui oksidasi gugus sulfidril dan pembentukan radikal bebas. Mekanisme kerja aloksan menghasilkan kerusakan pada sel-sel β pankreas terutama menyerang senyawa-senyawa seluler yang mengandung gugus sulfidril, asam-asam amino sistein dan protein yang berikatan dengan SH (termasuk enzim yang mengandung gugus SH). Hasil dari reduksi aloksan adalah asam dialurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan, menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida. Reaksi antara aloksan dengan asam dialurat merupakan proses yang diperantarai oleh radikal aloksan intermediet ($HA\cdot$) dan pembentukan "compound 305". Radikal superoksida dapat membebaskan ion ferri dari ferinitin, dan mereduksi menjadi ion ferro. Selain itu, ion ferri juga dapat direduksi oleh radikal aloksan. Radikal superoksida mengalami dismutase menjadi hidrogen peroksida, berjalan spontan dan kemungkinan dikatalisis oleh superoksida dismutase. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas. Kerusakan DNA tersebut menstimulasi *poly ADP-rybosylation*, proses yang terlibat pada DNA repair.

Adanya ion ferro dan hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksi yang sangat reaktif melalui reaksi fenton (Nugroho, 2006).

Faktor lain pembentukan oksigen reaktif adalah gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler. Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel β Langerhans pankreas. Efek tersebut diikuti oleh beberapa kejadian yaitu influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, eliminasi yang terbatas dari sitoplasma. Influks kalsium akibat aloksan tersebut mengakibatkan depolarisasi sel β Langrhans, lebih lanjut membuka kanal kalsium tergantung voltase dan semakin menambah masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain dari kedua faktor di atas aloksan juga berperan dalam menghambat glukokinase dalam proses metabolisme energi (Nugroho, 2006).

Kerusakan pada sel β selanjutnya akan diikuti dengan turunnya sekresi hormon insulin yang menyebabkan reaksi glikogenesis dan transport glukosa dalam sel menjadi berkurang (Szkudelski, 2011). Sebaliknya reaksi glikogenolisis menjadi tidak terkendali, sehingga tikus menjadi hiperglikemia (Dyahnugra dan Widjanarko, 2015).

Agen diabetogenik yang digunakan pada hewan coba tikus selain aloksan adalah sukrosa. Sukrosa dapat menaikkan kadar gulosa darah pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) karena terjadinya penyerapan glukosa dalam tubuh sehingga masuk dalam darah yang disebabkan oleh sel β pankreas tidak dapat bekerja optimal karena glukosa yang dikonsumsi berlebihan (Kondoy dkk., 2013). Selain

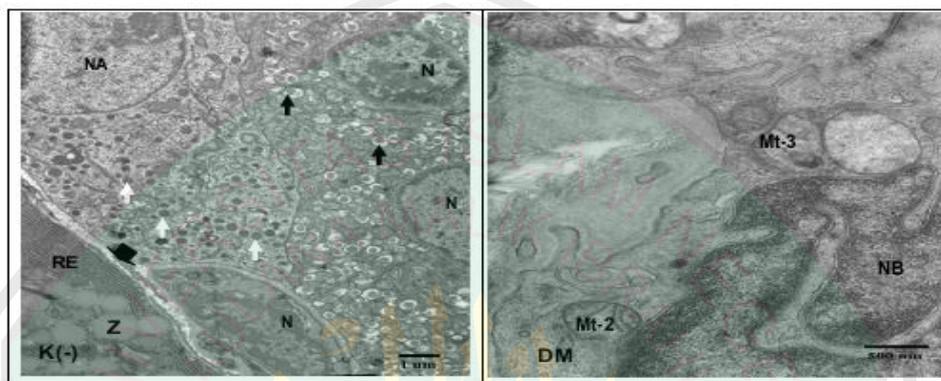
itu Salma dkk. (2013) juga menyatakan bahwa semua hewan coba tikus mengalami kenaikan kadar glukosa darah mencapai kadar tertinggi pada 30 menit setelah pemberian sukrosa sebesar 58,88 %.

Mekanisme kerja aloksan yang langsung merusak sel β pankreas menyebabkan aloksan sering digunakan dalam berbagai macam penelitian. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Padilah (2009) yang menginduksikan aloksan dosis 13 mg/200 g BB pada hewan coba tikus putih galur wistar. Hasil membuktikan bahwa hewan coba tersebut mengalami kenaikan kadar glukosa darah. Selain dari pengukuran kadar glukosa darah terlihat dari penampakan fisik hewan coba, yaitu dengan penurunan berat badan, polidipsia, polifagi dan poliuri. Selain itu keadaan kandang dari tikus menjadi lembab dan timbul bau yang tidak sedap.

Prameswari (2014) menyatakan induksi aloksan pada dosis 125 mg/Kg BB secara intraperitoneal mampu meningkatkan kadar glukosa darah dan kerusakan pada sel β pankreas tikus. Selain itu Candra (2012) juga menyatakan induksi aloksan dosis 125 mg/Kg BB dapat meningkatkan kadar glukosa darah tikus wistar mencapai angka ≥ 126 mg/dL. Arjadi dan Susatyo (2010) menambahkan kerusakan yang ditimbulkan oleh aloksan bersifat stabil dan dapat bertahan selama 5 minggu. Dan pada kontrol positif (induksi aloksan), menunjukkan peningkatan konstan yang membuktikan bahwa pemberian aloksan dengan dosis sebesar 70 mg/Kg BB intravena mampu meningkatkan kadar glukosa darah tikus putih secara stabil.

Sel β pankreas tikus yang diinduksi aloksan dosis 120 mg/Kg BB mengalami kerusakan dan dikarakterisasi dengan kondisi hiperglikemia.

Pengamatan ultrastruktur jaringan pankreas tikus positif DM terlihat ukuran, jumlah, maupun bentuk pulau Langerhans mengalami penurunan. Sekretori granula insulin berkurang, pertautan antara sel asinar dengan pulau Langerhans lepas, membran mitokondria bocor (rupture), mitokondria kehilangan struktur kristae dan inti sel β mengalami kariopiknotis.



Keterangan:

RE : retikulum endoplasma

NA : nukleus sel alpha

NB : nukleus sel beta

ND : nukelus sel delta

Z : zymogen

Kepala panah: batas sel

Asinar dengan pulau Langerhans

(K-) : kontrol negatif

Mt-1: mitokondria kehilangan krista

Mt-2: membran mitokondria bocor

Mt-3: mitokondria dengan cristae centralized

NB-1 : inti sel beta piknotis

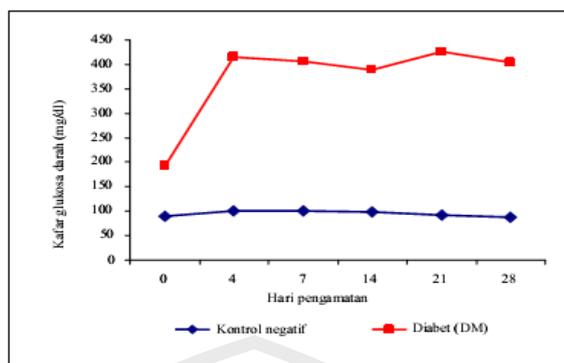
Panah hitam : granula sekretori insulin

Panah putih : granula sekretori glucagon

DM: kelompok positif diabetes mellitus

Gambar 2.9 Ultrastruktur sel beta pulau Langerhans pankreas tikus percobaan (Suarsana dkk., 2010)

Rusaknya sel β pankreas menyebabkan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah pada hewan coba. Perbedaan yang nyata dapat dilihat pada perbandingan kadar glukosa darah antara kontrol negatif tanpa diinduksi aloksan dengan kontrol diabetes yang diinduksi aloksan (Suarsana dkk., 2010). Perbedaan tersebut dapat dilihat pada gambar 2.10.



Gambar 2.10 Respon kadar glukosa pada hewan coba (Suarsana dkk., 2010)

Kadar glukosa darah naik sebesar 359,18 % dan berbeda nyata ($P < 0,05$) pada kelompok tikus positif diabetes (DM) dibandingkan dengan kelompok tikus kontrol negatif (K-) pada akhir percobaan (hari ke-28). Berbagai macam dosis aloksan yang digunakan pada sebuah eksperimen, seperti halnya Chaougale dkk., (2007) yang melakukan induksi aloksan pada hewan coba tikus dengan menggunakan berbagai macam dosis diantaranya 120, 140, 160 dan 180 mg/Kg BB. Hasil eksperimen menunjukkan bahwa dosis 160 mg/Kg BB merupakan dosis yang paling bagus digunakan untuk hewan coba dengan kenaikan glukosa darah sebesar 300-400 mg/dL.

2.6 Glukometer

Penggunaan alat glukometer merupakan salah satu contoh aplikasi pemeriksaan kadar glukosa yang akan bereaksi dengan glukosa darah (Roche, 2009). Dengan menggunakan alat glukometer, hanya dibutuhkan sejumlah kecil sampel darah (1-2 μL) yang diaplikasikan pada strip yang digunakan secara sekali pakai. (Larasati, 2012).

Prinsip kerja uji tes strip yaitu menggunakan enzim glukosa dan didasarkan pada teknologi biosensor yang spesifik untuk pengukuran kadar

glukosa. Tes strip mempunyai bagian yang dapat menarik darah utuh dari lokasi pengambilan/tetes darah ke dalam zona reaksi (Prasetyowati, 2008). Glukosa oksidase dalam zona reaksi kemudian mengoksidasi glukosa di dalam darah menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida. Reaksi yang terjadi yaitu (Hones dkk., 2008):



Dalam reaksi yang kedua, enzim peroksidase mengkatalisis reaksi oksidasi kromogen (Akseptor oksigen yang tidak berwarna), kemudian oleh hidrogen peroksidase membentuk suatu produk kromogen teroksidasi berwarna biru yang diukur dengan glukometer (Hones dkk., 2008). Selanjutnya intensitas arus elektron terukur oleh alat dan terbaca sebagai konsentrasi glukosa di dalam sampel darah (Prasetyowati, 2008).



Gluko Dr

Gambar 2.11 Alat pengukur kadar glukosa metode strip

Kelebihan metode ini yaitu pemeriksaan lebih ekonomis dan praktis digunakan dibanding dengan pemeriksaan laboratorium, mempunyai tingkat akurasi hasil yang tinggi atau mendekati hasil laboratorium, terpercaya serta mudah digunakan (Prasetyowati, 2008).

2.7 Ekstraksi

Ekstraksi adalah teknik pemisahan senyawa kimia yang dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut. Pelarut yang digunakan umumnya dalam bentuk cair. Siplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut, seperti serat, karbohidrat, protein, dan lain-lain. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Struktur kimia yang berbeda-beda akan mempengaruhi kelarutan dan stabilitas senyawa-senyawa tersebut terhadap pemanasan, udara, cahaya, logam berat, dan derajat keasaman. Dengan mengetahui senyawa aktif yang terkandung dalam simplisia, maka akan mempengaruhi pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat. Beberapa metode ekstraksi yang sering digunakan, diantaranya maserasi, perkolasi, dan infundasi. (Departemen kesehatan, 2006).

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut cair, dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan (suhu kamar). Maserasi juga disebut dengan istilah maserasi kinetik, yaitu dengan melakukan pengadukan secara terus-menerus. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan hasil maserasi pertama dan seterusnya (Departemen kesehatan, 2006). Keuntungan menggunakan metode maserasi yaitu murah dan mudah dilakukan. Dengan perendaman sampel tumbuhan akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan larut sesuai dengan kelarutannya

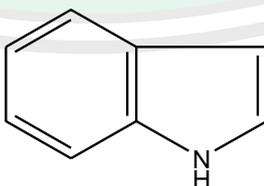
(Lenny, 2006).

Astuti (2013) melakukan ekstraksi maserasi terhadap umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan menggunakan pelarut etanol 70 %. Kemudian sampel dari ekstrak umbi binahong tersebut dikeringkan dengan evaporator sampai mengental (solid). Hasil yang didapatkan selanjutnya akan digunakan untuk pengujian dari umbi binahong tersebut. Selain itu Saleh dkk., (2012) juga melakukan ekstraksi umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan menggunakan pelarut etanol 70 % yang selanjutnya hasil ekstraksi digunakan sebagai uji hipoglikemik penurunan kadar glukosa darah mencit.

2.8 Senyawaan Aktif Ekstrak Umbi Binahong

2.8.1 Alkaloid

Kebanyakan alkaloid bersifat basa. Sifat tersebut bergantung pada adanya pasangan elektron pada nitrogen. Jika gugus fungsional yang berdekatan dengan nitrogen bersifat melepaskan elektron, sebagai contoh gugus alkil, maka ketersediaan elektron pada nitrogen naik dan senyawa lebih bersifat basa (Sastrohamidjojo, 1996).

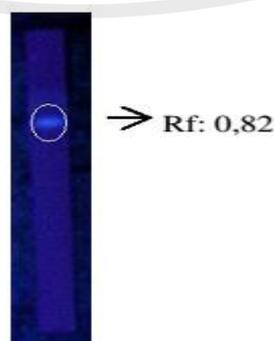


Gambar 2.12 Contoh struktur senyawa alkaloid (Robinson, 1995)

Pengujian adanya senyawa alkaloid dapat dilakukan dengan penambahan pereaksi Mayer, pereaksi Dragendrof dan Pereaksi Wagner. Lusiana (2009) melakukan penapisan fitokimia senyawa alkaloid terhadap menggunakan ketiga

pereaksi di atas, hasil uji positif senyawa alkaloid pada tumbuhan tersebut ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna putih pada pereaksi Dragendrof, warna coklat pada pereaksi Wagner dan warna merah dengan pereaksi Mayer. Astuti (2013) melakukan skrining fitokimia ekstrak etanol umbi binahong didapatkan kandungan senyawa alkaloid dengan terbentuknya endapan dan kekeruhan.

Pengujian alkaloid secara kromatografi dapat digunakan sejumlah pereaksi. Pereaksi yang umum yaitu pereaksi dragendrof, yang akan memberikan noda berwarna jingga untuk senyawa alkaloid (Sastrohamidjojo, 1996). Titis (2013) memisahkan senyawa alkaloid dari ekstrak daun binahong dengan menggunakan campuran pelarut etanol:etil asetat:n-heksana (1:2:30). Hasil KLT yang diperoleh menunjukkan senyawa alkaloid terpisah dengan Rf 0,65 dan 0,23 di bawah lampu UV λ_{365} . Berdasarkan hasil KLT tersebut diketahui noda yang terbentuk adalah noda berwarna biru yang menunjukkan senyawa alkaloid. Pada noda yang berwarna biru tersebut selanjutnya dilakukan pengerokan dan pengujian KLT kembali dengan pelarut yang sama. Hasil pengujian didapatkan noda tunggal berwarna biru dengan Rf 0,82. Seperti yang terlihat pada gambar 2.13.



Gambar 2.13 Hasil KLT isolat alkaloid campuran pelarut etanol:etil asetat:n-heksana (1:2:30)

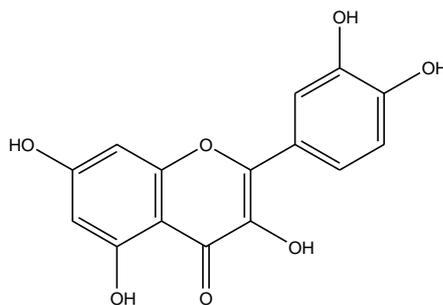
Hasil noda biru pada plat KLT juga dihasilkan dari campuran pelarut kloroform:n-heksana (2:1) dengan Rf 0,75 (Susilaningsih, 2007). Selain itu pemisahan senyawa alkaloid juga dapat dilakukan dengan menggunakan campuran pelarut diklorometana:methanol (1:1). Hasil yang diperoleh terlihat pada gambar 2.14 (Lusiana, 2009).



Gambar 2.14 Hasil KLT ekstrak kasar alkaloid campuran pelarut diklorometana:methanol (1:1)

2.8.2 Flavonoid

Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa $C_6-C_3-C_6$. Artinya, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida. Golongan terbesar flavonoid berciri mempunyai cincin piran yang menghubungkan rantai tiga-karbon dengan salah satu dari cincin benzena (Robinson, 1995).



Gambar 2.15 Contoh struktur senyawa flavonoid (Robinson, 1995)

Pengujian adanya flavonoid dapat dilakukan dengan penambahan logam Mg dan asam klorida pekat. Robinson (1985) menyatakan bahwa reduksi dengan menggunakan logam Mg dan asam klorida pekat dapat menghasilkan senyawa kompleks berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavononol dan xanton. Astuti (2013) melakukan identifikasi terhadap ekstrak etanol umbi binahong didapatkan kandungan senyawa flavonoid dengan terbentuknya warna pink-merah.

Pemisahan senyawa flavonoid dapat menggunakan campuran pelarut antara etil asetat dan metanol dengan perbandingan (9:1). Hasil pemisahan menunjukkan adanya noda-noda berwarna fluoresensi biru, kuning-hijau, ungu dan biru-ungu yang diamati di bawah lampu UV₂₅₄ nm (Adfa, 2007). Selain itu Sukadana (2010) juga melakukan pemisahan senyawa flavonoid dengan campuran larutan kloroform: metanol (3:2). Akbar (2010) juga melakukan pemisahan senyawa ekstrak etanol daun dandang gendis dengan menggunakan campuran pelarut yang sama kloroform:metanol (9:1). Hasil pemisahan menunjukkan adanya 4 noda di bawah sinar UV.

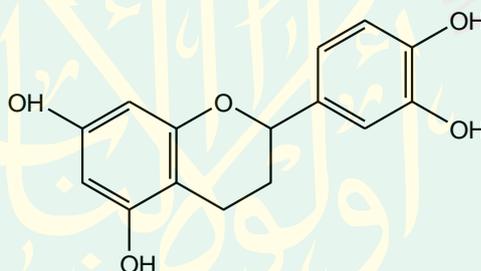


Gambar 2.16 Hasil KLT ekstrak senyawa flavonoid campuran larutan kloroform:metanol (9:1)

Asih (2009) melakukan pemisahan senyawa flavonoid dengan menggunakan berbagai macam campuran larutan. Hasil pemisahan didapatkan fase gerak terbaik campuran larutan n-heksan: kloroform: etil asetat (9:1:0,5).

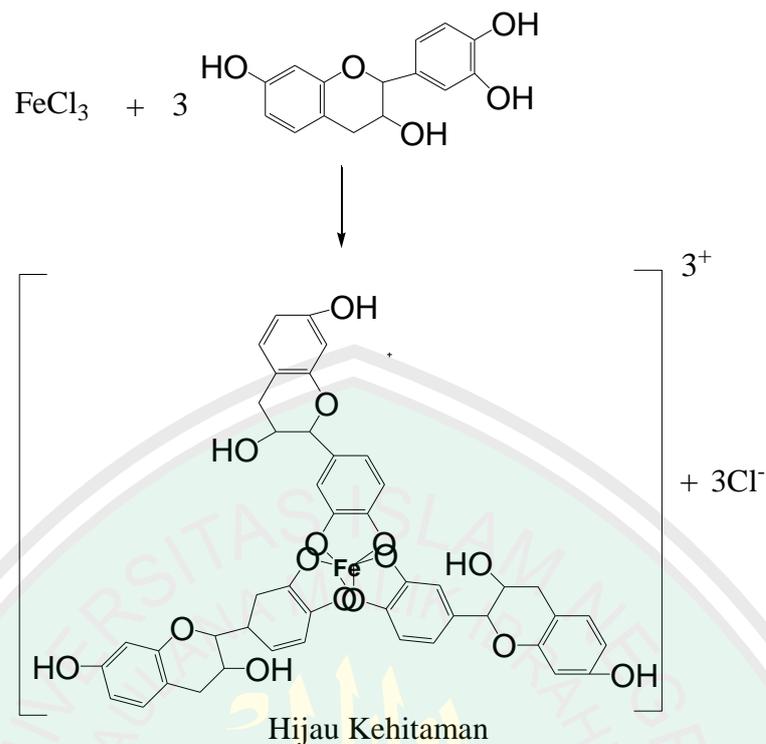
2.8.3 Tanin

Tannin merupakan golongan senyawa fenol yang terdapat pada daun, buah yang belum matang, merupakan golongan senyawa aktif tumbuhan yang termasuk golongan flavonoid, mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Secara kimiawi tannin dibagi menjadi dua yaitu tannin terkondensasi atau tannin katekin dan tannin terhidrolisis atau tannin galat (Robinson, 1995).



Gambar 2.17 Contoh struktur senyawa tannin (Robinson, 1995)

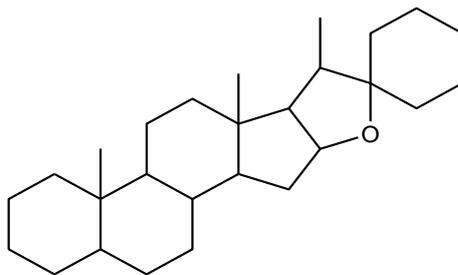
Identifikasi senyawa tanin dapat dilakukan dengan penambahan reagen FeCl_3 . Fitriani (2011) menyatakan perubahan warna yang terjadi dari warna kuning menjadi warna hijau kehitaman pada uji fitokimia ekstrak metanol daun sirih merah setelah penambahan reagen FeCl_3 menunjukkan adanya senyawa tanin. Berikut adalah dugaan reaksi senyawa tannin dengan reagen FeCl_3 :



Gambar 2.18 . Reaksi dugaan senyawa tannin membentuk senyawa kompleks berwarna hijau kehitaman (Sa'adah, 2010)

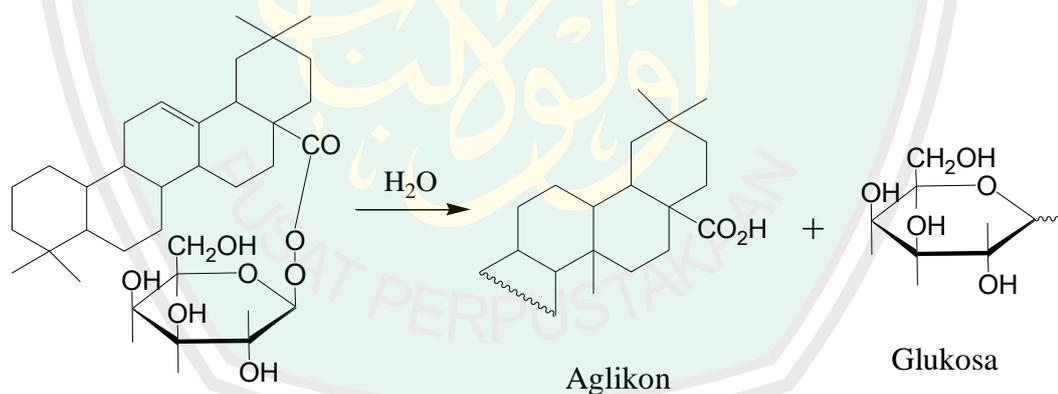
2.8.4 Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dengan menggunakan air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Dikenal dua macam jenis saponin yaitu glikosida triterpenoid alkohol dan glikosida struktur steroid tertentu yang mempunyai rantai samping spiroketal. Kedua jenis saponin ini larut dalam air dan etanol tetapi tidak larut dalam eter (Robinson, 1995). Makalalag (2013) menyatakan senyawa saponin memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar gula darah dengan cara menghambat aktivitas enzim alfa oksidase, yaitu enzim yang bertanggung jawab pada perubahan karbohidrat menjadi glukosa.



Gambar 2.19 Struktur inti senyawa saponin (Robinson, 1995)

Identifikasi senyawa saponin dapat menggunakan uji forth dengan penambahan asam klorida. Timbulnya busa pada uji tersebut menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lain (Marliana, 2005). Astuti (2013) melakukan identifikasi senyawa saponin pada ekstrak etanol umbi binahong mendapatkan kandungan senyawa saponin dengan adanya busa permanen. Berikut ini adalah reaksi dugaan hidrolisis senyawa saponin dalam air (Marliana, 2005):



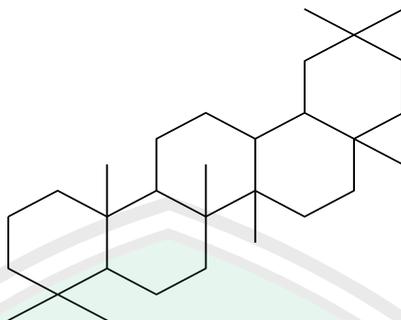
I-Arabinopiriosil-3 β -asetil oleanolat

Gambar 2.20 Reaksi dugaan hidrolisis saponin dalam air (Marliana, 2005)

2.8.5 Terpenoid

Kebanyakan senyawa terpenoid terdapat bebas dalam jaringan tanaman, tidak terikat dengan senyawa-senyawa lain, tetapi banyak diantara mereka yang

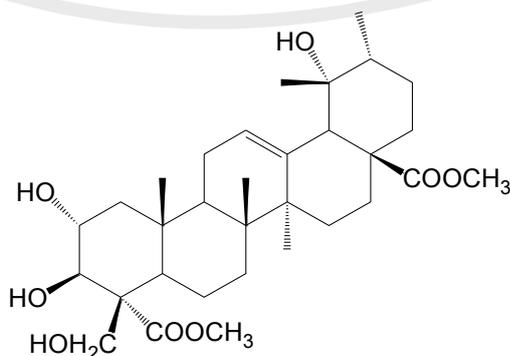
terdapat sebagai glikosida, ester dari asam organik dan dalam beberapa hal terikat dengan protein (Sastrohamidjojo, 1996).



Gambar 2.21 Contoh struktur senyawa triterpenoid

Berbagai macam aktivitas fisiologis yang menarik ditunjukkan oleh beberapa triterpenoid, dan senyawa ini merupakan komponen aktif dalam tumbuhan obat yang telah digunakan untuk penyakit diabetes, gangguan menstruasi, patukan ular, gangguan kulit, kerusakan hati, dan malaria (Robinson, 1995). Astuti (2013) melakukan skrining fitokimia pada ekstrak etanol umbi binahong mendapatkan kandungan senyawa terpenoid dengan adanya warna coklat kemerahan diantara dua permukaan.

Murdianto dkk. (2005) menduga senyawa triterpenoid yang terdapat dalam daun binahong adalah senyawa 2,3,19,23-tetrahidroksi-12-ene-24,28-dimetil ester.



Gambar 2.22 Golongan senyawa triterpenoid 2,3,19,23-tetrahidroksi-12-ene-24,28-dimetil ester

Analisis pemeriksaan golongan senyawa triterpenoid dapat menggunakan KLT dengan pengembang campuran pelarut benzene: kloroform: diklorometana (3:1:1). Hasil pemisahan menunjukkan adanya satu noda positif triterpenoid dengan fluoresensi berwarna biru kehijauan di bawah lampu UV₃₆₅ nm dengan penyemprotan reagen LB dan secara *visible* berwarna merah (Murdianto, 2013).



Gambar 2.23 Hasil KLT ekstrak senyawa triterpenoid campuran pelarut benzene: kloroform: diklorometana (3:1:1)

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian “Efek Terapi Ekstrak kasar Umbi Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) pada Hati Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Hasil Induksi Aloksan” akan dilaksanakan pada bulan Maret-Juli 2014 di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia dan Laboratorium Biosistemika Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Alat

Alat-alat yang diperlukan dalam penelitian ini diantaranya adalah alat-alat yang digunakan untuk ekstraksi maserasi dan penentuan kadar air adalah seperangkat alat gelas, ayakan 60 mesh, blender, oven, cawan porselin, neraca analitik, kertas saring whatman, *shaker*, penyaring *buchner*, *rotary evaporator*. Alat yang digunakan untuk uji fitokimia diantaranya seperangkat alat gelas, pipet tetes dan lemari asam.

Alat untuk perlakuan untuk melakukan uji antidiabetes meliputi alat-alat untuk dan pemeliharaan kandang tikus berupa kotak berukuran 20 x 30 x 40 cm, yang masing-masing berisi 5 ekor tikus yang diberi pakan dan minum, botol minum tikus, kawat dan tempat makan, *laboratory bottle* 100 mL dan *object glass*.

Alat untuk pengambilan darah antara lain: gunting steril, jarum pentul, kapas, spuit 1 mL. Alat untuk mengukur kadar glukosa antara lain *glucometer* dan pipet. Alat perlakuan pemberian ekstrak umbi binahong: vial 15 mL, manik-manik, spuit 1 mL dan sonde yang dipasang diujung spuit untuk memasukkan ekstrak umbi binahong dengan berbagai dosis langsung kedalam lambung tikus. Alat pembedahan tikus dan pengambilan bahan uji antara lain gunting, pinset, spuit 30 cc. Alat untuk pemeriksaan kadar MDA: vorteks, tip 200 μ l, tip 1000 μ l, pipet mikro, ependorf (*micro tube*), sentrifuge, spektrofotometer.

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) steenis). Bahan yang digunakan dalam ekstraksi maserasi dan uji fitokimia adalah etanol 70 %, reagen Dragendroff, reagen Mayer, methanol 50 %, logam Mg, HCl 2 %, HCl pekat, kloroform, asam asetat anhidrat, aquades, larutan FeCl₃ 1 %, H₂SO₄, dan HCl 1 N. Bahan yang digunakan untuk identifikasi golongan senyawa dengan KLT adalah aquades, kloroform (p.a), etanol (p.a), diklorometana (p.a), metanol (p.a), n-heksana (p.a), etil asetat (p.a), butanol (p.a), asam asetat (p.a), HCl (p.a), asam sulfat (p.a), aseton (p.a), Reagen Dragendrof, Reagen Lieberman Burchard, uap amoniak dan toluena.

Bahan yang digunakan untuk uji antidiabetes adalah tikus jenis *Rattus norvegicus* strain wistar jantan dengan berat badan awal 150-200 gr dalam kondisi sehat. Bahan yang digunakan untuk perlakuan diantaranya adalah aloksan, ekstrak umbi binahong, etanol 70 % dan CMC-Na 0,5 %. Bahan yang digunakan untuk pembedahan PBS-azida (*phosphate buffer*). Bahan yang digunakan untuk pengukuran kadar Malondialdehid diantaranya aquades, TCA (asam

trikloroasetat)+TBA (thiobarbiturat acid) 2 %, NaCl 0,9 %, PBS (*Phosphate Buffer Saline*) dan HCl 1N.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan penelitian eksperimental laboratorium. Sampel diambil dari bagian tanaman yaitu bagian (umbi), kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 60 °C selama 24 jam dan dihaluskan dalam bentuk serbuk menggunakan blender. Selanjutnya serbuk yang diperoleh dianalisis kadar airnya untuk kemudian diekstraksi maserasi secara bertahap dengan pelarut etanol 70 %. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak yang agak kental (dipastikan pelarut sudah terpisah dari ekstrak dengan cara mengalirkan gas N₂ sampai diperoleh berat ekstrak pekat yang konstan). Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk uji antidiabetes.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 4 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah 5 ekor kelompok kontrol nol/tanpa perlakuan (K0), 5 ekor kelompok control normal tidak diinduksi aloksan dan diberi CMC-Na 0,5% (1 mL/200 g BB) (KN) , 5 ekor kelompok kontrol diabetes diinduksi aloksan dengan dosis 32 mg/200 g BB dan diberi CMC-Na 0,5% (1 mL/200 g BB) (KD), 5 ekor kelompok tikus DM yang diterapi ekstrak umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dosis 25 mg/Kg BB (D1), 5 ekor kelompok tikus DM yang diterapi ekstrak umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dosis 50 mg/Kg BB (D2) dan 5 ekor kelompok tikus DM yang diterapi umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dosis 75 mg/Kg BB (D3)

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran kadar MDA selanjutnya diuji dengan menggunakan uji ANAVA (Analisis Variasi) dan dilakukan uji Duncan yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan yang nyata jika dibandingkan dengan kelompok K0 dan KD pada taraf nyata 0,05. Selain itu dilakukan uji fitokimia dari ekstrak kasar dari umbi binahong dengan reagen untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam tanaman binahong serta dilakukan identifikasi golongan senyawa aktif tersebut dengan menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Preparasi Sampel
2. Penentuan Kadar Air
3. Ekstraksi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.)
4. Uji Antidiabetes
5. Pengukuran Kadar MDA
6. Uji Fitokimia dengan Reagen
7. Identifikasi golongan senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis
8. Analisis data

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1. Preparasi Sampel

Umbi binahong ditimbang sebanyak 2500 g kemudian dicuci di bawah air keran yang mengalir, kemudian ditiriskan dan dikeringkan dengan oven pada suhu 60 °C selama 24 jam (Astuti, 2013). Dibuat serbuk dengan menggunakan blender,

yang bertujuan untuk lebih memperkecil ukuran partikel dan untuk memperoleh serbuk halus, diayak dengan ayakan 60 mesh. Kemudian serbuk yang diperoleh diekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70 % (Makalalag dkk, 2013).

3.5.2. Penentuan Kadar Air

Analisa kadar air dilakukan dengan metode *thermografi* yaitu metode gravimetri (analisa kuantitatif dengan menghitung dengan tepat jumlah berat sampel) melalui proses pemanasan. Cawan yang digunakan dipanaskan dahulu dalam oven pada suhu 100-105° C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya, kemudian cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit. Cawan tersebut selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Sampel ditimbang sebanyak 5 g dan dimasukkan ke dalam cawan yang telah diketahui beratnya, selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 100-105 °C selama sekitar 1 jam. Sampel kering didinginkan dalam desikator dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ± 20 menit pada suhu yang sama, didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam umbi binahong dihitung menggunakan rumus berikut (Sriwahyuni, 2010):

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\% \dots\dots\dots (3.1)$$

Keterangan :

a = berat konstan cawan kosong

b = berat cawan + sampel sebelum dikeringkan

c = berat konstan cawan + sampel setelah dikeringkan

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \% \text{ kadar air}} \dots\dots\dots (3.2)$$

% Kadar air terkoreksi = Kadar air – faktor koreksi

Setelah memperoleh nilai % kadar air terkoreksi pada serbuk umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), selanjutnya dilakukan pembレンダーan yang bertujuan untuk lebih memperkecil ukuran partikel dan untuk memperoleh serbuk halus dengan ukuran ≥ 60 mesh maka dilakukan pengayakan dengan ayakan 60 mesh. Kemudian serbuk halus tersebut diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %.

3.5.3. Ekstraksi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Umbi binahong sebanyak 500 gram dibagi menjadi 5 bagian masing-masing 100 gram kemudian masing-masing diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 70 % 1500 mL dengan cara maserasi selama 2 hari (setiap hari dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 3 jam, kemudian dilakukan penyaringan dengan menggunakan penyaring *Buchner* dan didapatkan filtrat 1. Selanjutnya ampas yang diperoleh diekstraksi kembali selama 2 hari menggunakan etanol 70 % 1500 mL (setiap hari dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 3 jam) dan dilakukan penyaringan dengan menggunakan penyaring *Buchner* sehingga didapatkan filtrat 2. Filtrat 1 dan 2 yang didapatkan kemudian digabungkan (Makalalag dkk, 2013).

Masing-masing ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 60 °C sampai mendapatkan ekstrak yang pekat dengan tekanan ± 800 atm dan rotor 5-7. Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji antidiabetes *in vivo* dalam tubuh tikus dan dilanjutkan

uji fitokimia dengan reagen serta pemisahan golongan senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (Makalalag dkk, 2013).

3.5.4. Uji Antidiabetes

3.5.4.1 Penyiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus (*Rattus Novergicus*) strain wistar jantan dengan berat badan awal 150-200 gr dan umur 2 bulan (Lukiati dkk, 2012) diaklimatisasi selama 2 minggu dalam kandang berukuran 20 x 30x 40 cm yang diberi alas serbuk kayu dan ayunan kawat sebagai penutup. Aklimatisasi bertujuan agar tikus beradaptasi dengan lingkungan baru dan meminimalisasi efek stres pada tikus yang dapat berpengaruh pada metabolismenya dan dapat mengganggu penelitian. Setiap tikus diberi makan dan minum serta ditimbang berat badannya secara rutin.

3.5.4.2 Perlakuan Hewan Coba

Penelitian dilakukan dengan enam kelompok perlakuan. Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan dihitung menggunakan rumus Federer (Felicia, 2009). Rumus Federer:

$$(n-1) (t-1) \geq 15$$

dengan $t =$ jumlah kelompok = 7

$n =$ jumlah pengulangan tiap sampel

$$(n-1) (7-1) \geq 15$$

$$(n-1) 6 \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15 \text{ maka, } n \geq 3,5 \geq 4 \dots\dots\dots (3.3)$$

Berdasarkan perhitungan tersebut maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah empat sediaan tikus untuk setiap kelompok perlakuan. Sehingga

jumlah minimal seluruh sampel yang digunakan adalah 24 ekor tikus. Pada setiap kelompok diberikan satu ekor tikus sehingga jumlah tikus yang digunakan (berjumlah 30 ekor tikus dan tikus-tikus tersebut dipelihara dalam *animal house* Laboratorium Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Ketentuan dari tiap-tiap kelompok adalah sebagai berikut:

Tabel 3.1 Pembagian hewan coba

No	Nama Kelompok	Perlakuan	Jumlah Tikus (ekor)
1.	Kontrol Nol (K0)	Tanpa perlakuan	5
2.	Kontrol Normal (KN)	Tidak diinduksi aloksan dan diberi CMC 0,5 % (1 mL/200 g BB tikus).	5
3.	Kontrol Diabetes (KD)	Diinduksi aloksan dosis 32 mg/200 g BB dan diberi CMC 0,5 % (1 mL/200 g BB tikus).	5
4.	Dosis 1 (D1)	Diinduksi aloksan, kemudian diberi ekstrak umbi binahong dosis 25 mg/Kg BB.	5
5.	Dosis 2 (D2)	Diinduksi aloksan, kemudian diberi ekstrak umbi binahong dosis 50 mg/Kg BB	5
6.	Dosis 3 (D3)	Diinduksi aloksan, kemudian diberi ekstrak umbi binahong dosis 75 mg/Kg BB.	5

3.5.4.3 Pembuatan Larutan Aloksan

Aloksan sebanyak 800 mg dilarutkan pada NaCl 0,9 % sampai volumenya 25 mL, selanjutnya divortex hingga homogen. Larutan aloksan stok selanjutnya digunakan untuk sekali injeksi dengan dosis yang volume pengambilannya disesuaikan dengan berat badan tikus. Digunakan dosis 32 mg/200 g BB sebanyak 2 kali yang dilakukan dengan rentang waktu 4 hari (Ratimanjari, 2011).

3.5.4.4 Preparasi Tikus Diabetes Mellitus (DM) dan Kontrol

Sebelum tikus diinduksi aloksan, hewan uji dipuasakan terlebih dahulu namun tetap diberikan minum. Ini dilakukan sesuai dengan protokol percobaan yang menyebutkan bahwa hewan uji yang dipuasakan selama 8-12 jam lebih rentan mengalami hiperglikemia dibanding hewan uji yang tidak dipuasakan

(Katsmata dkk, 1992 dalam Fitriani, 2011). Selama dipuasakan sekam dikeluarkan dari kandang agar tidak dimakan oleh hewan coba. Pertama, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa untuk mengetahui kadar glukosa darah hewan uji sebelum diinduksi aloksan. Kedua, larutan aloksan monohidrat diinduksi pada tikus kelompok KD, D1, D2 dan D3 dengan dosis 160 mg/Kg BB secara intraperitoneum dengan memposisikan tikus terlentang hingga terlihat bagian abdomennya. Pada bagian abdomennya tikus dioleskan alkohol 70 % agar tidak terjadi infeksi kemudian dicubit hingga terasa bagian ototnya (Shofia, 2013). Setelah penyuntikan, tikus diberi makan dan minum seperti biasa.

Pengukuran kadar glukosa darah puasa tikus dilakukan kembali pada hari ke-3 setelah induksi aloksan untuk memastikan bahwa tikus mengalami hiperglikemia permanen. Tikus dinyatakan DM jika kadar glukosa darah lebih dari 300 mg/dL (Lukiati dkk, 2012). Bila tikus belum mengalami diabetes maka dilakukan induksi aloksan kembali.

3.5.4.5 Terapi Tikus Diabetes dengan Ekstrak Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Tikus DM diterapi dengan ekstrak umbi binahong dengan dosis 25 mg/Kg, 50 mg/Kg dan 75 mg/Kg BB sebanyak 14 kali (14 hari berturut-turut) (Lukiati dkk, 2012). Untuk sediaan uji dosis 25 mg/Kg BB, ditimbang 350 mg CMC-Na 0,5 % kemudian ditaburkan pada aquades panas, lalu diaduk sampai CMC-Na 0,5 % mengembang, lalu ditambahkan 3,22 g ekstrak umbi binahong dan diaduk sampai homogen. Setelah itu, ditambah dengan aquades sampai volumenya 70 mL. Untuk sediaan uji dosis 50 mg/Kg BB, caranya sama seperti tersebut di atas, tetapi ekstraknya sebanyak 6,33 g sementara untuk sediaan uji dosis 75 mg/Kg BB, caranya juga sama seperti tersebut di atas, tetapi ekstraknya sebanyak 9,52 g.

Sedangkan untuk sediaan kelompok kontrol hanya suspensi CMC-Na 0,5 % tanpa ekstrak kasar umbi binahong. Selanjutnya dijadikan sebagai larutan stok. Saat akan menginjeksikan volume yang diambil disesuaikan dengan berat badan tikus DM yang akan diterapi (BB 200 g = 1 mL) (Studiawan dan Muldja, 2005).

3.5.4.6 Pengambilan Organ Hati

Setelah tikus diterapi, dilakukan pembiusan terhadap tikus dengan kloroform sampai mati. Skalpel dan alat bedah disiapkan untuk membantu mengambil organ hati. Setelah mati, tikus diletakkan pada nampan bedah dan ditata pada posisi ventral diatas. Diambil hati yang terletak dibawah kerangka iga. Hati diambil dan dicuci dengan PBS selama 5 menit (Shofia, 2013).

3.5.5. Pengukuran Kadar MDA

Hati sebanyak 200 mg ditimbang dan ditambahkan PBS (*Phosphate Buffer Saline*) kemudian digerus dengan mortar. Selanjutnya ditambahkan 1 mL NaCl 0,9 %. Kemudian homogenat dipindahkan ke dalam tabung mikro dan disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 10 menit dan diambil supernatannya (Zhijin dan Huang, 2013).

Diambil campuran TCA dan TBA 2 % sebanyak 400 μ L dan ditambahkan supernatan hati sebanyak 400 μ L, 1 mL aquades dan 200 μ L HCl 1 N. Pada setiap penambahan reagen, larutan dihomogenkan dengan vortex kecepatan 3000 rpm. Selanjutnya diinkubasi dengan suhu 95° C selama 15 menit (Zhijin dan Huang, 2013). Sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 532 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.5.6. Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia dengan reagen untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak kasar tanaman binahong. Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol 70 % dari umbi binahong dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan terpenoid (Indrayani dkk, 2006 dalam Muadifah, 2013)

3.5.6.1 Uji Alkaloid

Sebanyak 500 μ L ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian 0,5 mL HCl 2% dan larutan dibagi dalam tiga tabung. Tabung I ditambahkan 0,5 mL larutan asam asetat encer sebagai pembanding, tabung II ditambahkan 2-3 tetes reagen Dragendorff dan tabung III ditambahkan 2-3 tetes reagen Mayer. Jika tabung II terbentuk endapan jingga dan pada tabung III terbentuk endapan kekuning-kuningan, menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.6.2 Uji Flavonoid

Sebanyak 500 μ L ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 1-2 mL metanol panas 50%. Setelah itu ditambah logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk, menunjukkan adanya flavonoid.

3.5.6.3 Uji Tanin

Sebanyak 500 μ L ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dilarutkan dalam 1-2 mL air dan ditambahkan 2 tetes larutan FeCl_3 1 %, timbulnya warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin katekol.

3.5.6.4 Uji Saponin

Sebanyak 500 μ L ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air sambil dikocok selama 1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N, apabila busa yang terbentuk busa tetap stabil maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.5.6.5 Uji Terpenoid

Sebanyak 500 μ L ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, lalu ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat. Selanjutnya campuran ini ditetesi dengan 1-2 mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya terpenoid.

3.5.7 Uji Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis Analitik

Hasil pengujian fitokimia ekstrak umbi binahong 70 % dengan reagen yang positif yang ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada masing-masing golongan senyawa selanjutnya dilakukan uji senyawa aktif dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .

Plat KLT yang digunakan adalah plat silika gel dengan ukuran 60 mesh yang mampu berfluorosensi dibawah lampu UV pada panjang gelombang 254 nm (silika G₆₀F₂₅₄) (Merck). Plat KLT disiapkan dengan melapiskan diatas permukaan lapisan kaca ketebalan 250 μ m, dibuat ukuran 1 cm x 10 cm dengan pensil, penggaris dan cutter. Selanjutnya garis digambar dengan pensil pada bagian bawah plat (1 cm dari tepi bawah dan 0,5 cm dari tepi atas plat), lalu diberi

penandaan pada garis di bagian bawah plat untuk menunjukkan posisi awal totalan. Plat KLT silika gel GF₂₅₄ diaktifasi dengan cara dioven pada suhu 60 – 80 °C selama 1 jam untuk menghilangkan air yang terdapat pada plat KLT.

Adapun eluen pengembang dan reagen penguji/penyemprot masing-masing golongan senyawa adalah sebagai berikut:

1. **Golongan alkaloid:** digunakan eluen (fase gerak) etanol : etil asetat : n-heksana (1 : 2: 30) (Titis, 2013), kloroform : metanol (9,5 : 0,5) (Sriwahyuni, 2010), diklorometana : metanol (1 : 1) (Lusiana, 2009), kloroform : n-heksana = 2 : 1 (Susilaningsih, 2007), dan metanol : kloroform (2 : 8) (Aripin, 2007) dengan penampak noda Dragendroff yang memberikan perubahan warna menjadi jingga.
2. **Golongan flavonoid:** digunakan eluen campuran etil asetat dan metanol dengan perbandingan 9 : 1 (Adfa, 2007), butanol-asam asetat-air (4 : 1 : 5) (Hayati, 2010), *n*-heksana : kloroform : etil asetat (9 : 1 : 0,5) (Asih, 2009), Kloroform : Metanol (9 : 1) (Akbar, 2010) dan kloroform : metanol (3 : 2) (Sukadana, 2010), yang kemudian diuapi dengan uap amoniak akan berwarna biru kehijauan atau memberikan noda-noda dengan warna floresensi biru, kuning-hijau, ungu dan biru-ungu yang terpisah dengan baik setelah disinari menggunakan lampu UV 254 nm.
3. **Golongan terpenoid:** digunakan eluen *n*-heksana : etil asetat (1 : 1), dan kloroform : metanol (10 : 1) (Harborne, 1987), *n*-heksana dan etil asetat (2 : 8) (Hayati, 2010), kemudian menggunakan eluen atau fase benzena : kloroform : diklorometana (3 : 1: 1) (Murdianto, 2013), toluena : etil asetat (7 : 3)

(Fitriani, 2011) yang menunjukkan warna ungu dan merah keunguan dengan reagen penyemprot Lieberman Burchard.

a. Persiapan Fase Gerak (Eluen)

Setiap golongan memiliki campuran fase gerak yang berbeda. Setiap campuran fase gerak dimasukkan dalam *great chamber* lalu ditutup rapat dan dilakukan penjuhan selama 20–30 menit. Cara mengetahui eluen sudah jenuh atau belum dapat digunakan kertas saring untuk memeriksanya yaitu dengan membasahi kertas saring dengan uap eluen. Penjuhan ini dilakukan untuk menyamakan tekanan uap pada seluruh bagian bejana.

4. Penotolan Sampel

Ekstrak pekat umbi binahong dilarutkan dengan pelarutnya (dibuat konsentrasi 1.000.000 ppm atau 1 gr dalam 1 mL pelarutnya). Kemudian ditotolkan ekstrak sebanyak 1 μ L (1–10 total) pada jarak 1 cm dari tepi bawah plat dengan menggunakan pipa kapiler. Kemudian dikeringkan dengan *hair dryer*.

5. Pengembangan

Ekstrak umbi binahong yang telah ditotolkan pada plat selanjutnya dielusi dengan masing-masing fase gerak golongan senyawanya. Plat dimasukkan dalam *great chamber* yang berisi fase gerak yang telah jenuh, diletakkan setinggi 0,5 cm dari dasar plat, kemudian *great chamber* ditutup rapat hingga fase gerak mencapai jarak \pm 0,5 cm dari tepi atas plat. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan.

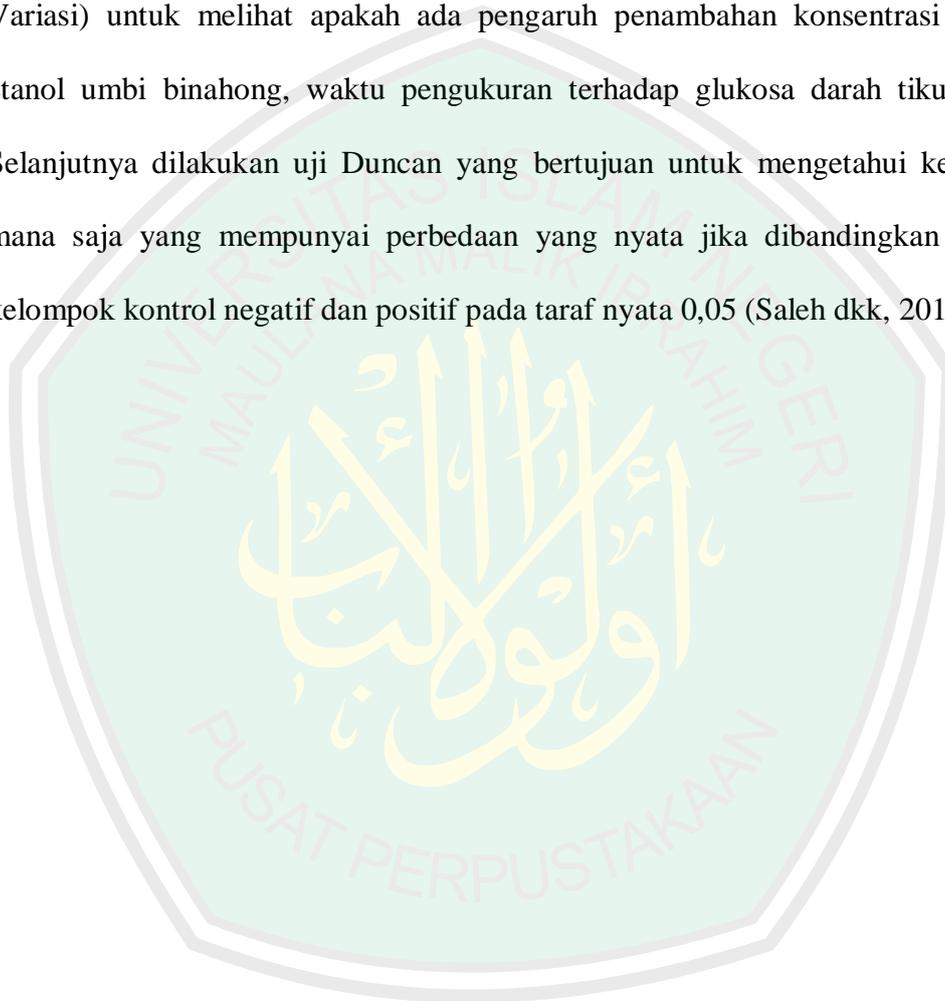
6. Identifikasi Noda

Noda-noda yang terbentuk pada plat silika gel G₆₀F₂₅₄ kemudian diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm, disemprot dengan penampak noda, dipanaskan di oven pada suhu 60 °C selama 10 menit, kemudian diamati

masing-masing noda yang terbentuk. Pengamatan noda meliputi jumlah noda, warna noda dan penghitungan nilai Rf noda.

3.5.8. Analisis Data

Data yang diperoleh di uji dengan menggunakan uji ANAVA (Analisis Variasi) untuk melihat apakah ada pengaruh penambahan konsentrasi ekstrak etanol umbi binahong, waktu pengukuran terhadap glukosa darah tikus putih. Selanjutnya dilakukan uji Duncan yang bertujuan untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan yang nyata jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan positif pada taraf nyata 0,05 (Saleh dkk, 2012).



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian dengan judul “Efek Terapi Ekstrak Kasar Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) pada Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes Mellitus Hasil Induksi Aloksan” ini dilaksanakan pada bulan Maret-Juli 2014 di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia dan Laboratorium Biosistemika Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Tahapan dalam penelitian ini dimulai dari preparasi sampel Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) kemudian dilakukan perhitungan kadar air dan dilanjutkan dengan ekstraksi senyawa menggunakan pelarut etanol 70 %. Selanjutnya dilakukan uji antidiabetes yang meliputi penyiapan dan perlakuan terhadap hewan coba, pembuatan larutan aloksan, preparasi tikus diabetes mellitus dan kontrol, terapi tikus dengan ekstrak umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), pengukuran kadar glukosa darah dan pengambilan organ hati hewan coba. Tahap berikutnya yaitu pengukuran kadar malondialdehid, uji fitokimia, kromatografi lapis tipis dan analisis data.

4.1 Preparasi Sampel

Sampel Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dibersihkan, dengan dicuci di bawah air yang mengalir dan dikeringkan. Selanjutnya sampel dipotong kecil-kecil untuk memperluas permukaan sehingga dapat mempercepat pengeringan (Ali, 2013). Sampel selanjutnya dikeringkan dengan cara dioven pada suhu 60 °C selama 24 jam. Proses pengeringan bertujuan supaya sampel

lebih mudah dalam proses penghalusan, selain itu dalam proses penyimpanan sampel kering mempunyai ketahanan lebih lama daripada sampel basah (Anwar, 2013), karena pengeringan akan mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatik, dan mencegah tumbuhnya jamur sehingga sampel dapat disimpan lebih lama dan tidak mudah rusak serta komposisi kimia sampel tidak mengalami perubahan (Hayati dkk., 2012). Sampel Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang telah kering selanjutnya diblender untuk memperluas permukaan serta membantu pemecahan dinding dan membran sel, sehingga memaksimalkan proses ekstraksi (Koirewoa dkk., 2010), kemudian sampel diayak dengan ayakan 60 mesh. Pengayakan sampel ini bertujuan untuk mendapatkan serbuk kering sampel yang memiliki ukuran yang sama agar mempermudah proses ekstraksi.

4.2 Analisis Kadar Air

Prinsip pengukuran kadar air adalah dengan proses penguapan air yang terdapat pada sampel menggunakan oven dengan suhu 100-105 °C hingga diperoleh berat konstan (Fahriya, 2013). Penentuan kadar air berfungsi sebagai koreksi rendemen karena kadar air berpengaruh terhadap proses pelepasan senyawa metabolit sekunder pada sampel saat ekstraksi, kadar air yang tinggi akan mengurangi rendemen ekstrak yang akan diperoleh (Ulfa dkk., 2014). Proses pengukuran kadar air dilakukan dengan cara pemanasan sampel basah dengan cawan penguap pada suhu 100 °C selama 15 menit kemudian dimasukkan di dalam dessikator selama 10 menit. Proses ini dilakukan karena suatu bahan yang telah mengalami pengeringan akan lebih bersifat higroskopis daripada bahan asalnya sehingga dilakukan pendinginan dengan dessikator sebelum dilakukan

penimbangan (Sudarmadji dkk., 2007). Selanjutnya dilakukan penimbangan sampai didapatkan berat konstan. Langkah yang sama juga dilakukan pada sampel kering sehingga kadar air dari sampel didapatkan dari selisih berat sebelum dan sesudah pengeringan (Winarno, 2002).

Penentuan kadar air berguna untuk menyatakan zat-zat dalam tumbuhan sebagai % bahan kering. Kadar air juga berkaitan dengan ukuran ketahanan suatu bahan dalam penyimpanan (Harjadi, 1993). Kadar air yang dihasilkan dari sampel setelah dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali adalah sebesar 6,45 %. Kadar air ini memenuhi standar karena apabila kadar air yang terkandung dari sampel kurang dari 10 % maka kestabilan dari sampel akan dapat tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat dikurangi (Puspita, 2009).

4.3 Ekstraksi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Ekstraksi merupakan penarikan komponen aktif dengan menggunakan pelarut tertentu. Komponen aktif tersebut diperoleh dari umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan menggunakan pelarut etanol 70 %. Metode ekstraksi yang digunakan adalah ekstraksi maserasi. Metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi dengan melakukan perendaman terhadap sampel menggunakan pelarut organik pada suhu ruang. Proses ekstraksi ini tidak dilakukan dengan menggunakan ekstraksi soxhlet karena ditakutkan adanya senyawa yang tidak tahan terhadap panas yang terdapat dalam sampel. Proses maserasi sangat menguntungkan dalam isolasi senyawa bahan alam karena selain murah dan mudah dilakukan, dengan perendaman sampel tumbuhan, akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam plasma akan

terlarut dalam pelarut. Pelarut yang mengalir dalam sel dapat menyebabkan protoplasma membengkak dan bahan kandungan sel akan larut sesuai dengan kelarutannya (Lenny, 2006).

Proses ekstraksi dilakukan dengan pelarut etanol. Kepolaran dari pelarut etanol dimungkinkan untuk mengekstrak senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam sampel umbi binahong. Hal ini merujuk pada penelitian yang dilakukan oleh Saleh dkk., (2012) yang melakukan ekstraksi umbi binahong dengan pelarut etanol menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, steroid dan fenolik. Selain itu senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol juga dihasilkan dari ekstraksi etanol 70 % umbi binahong (Setiaji, 2009).

Sebanyak 500 mg sampel umbi binahong kering dimaserasi dengan 1500 mL etanol 70 %. Maserasi sampel dilakukan selama kurang lebih 2x24 jam dengan menggunakan suhu ruang, lama maserasi ini dilakukan agar kontak antara sampel dengan pelarut sering terjadi sehingga hasil yang didapatkan akan semakin besar sampai titik jenuh larutan. Kontak antara sampel dengan pelarut dapat ditingkatkan dengan melakukan pengocokan (30 menit/hari) supaya kontak antara sampel dengan pelarut semakin sering terjadi sehingga proses ekstraksi lebih sempurna (Koirewoa dkk., 2010). Hasil maserasi selanjutnya dipisahkan dengan menggunakan corong buchner untuk memisahkan filtrat dengan residu. Selanjutnya filtrat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator vacuum* yang dilakukan pada suhu 60 °C tujuannya adalah untuk memekatkan ekstrak dan memisahkan antara pelarut dengan senyawa aktif dalam umbi binahong (Khunaifi 2012). Proses penguapan pelarut dilakukan sampai diperoleh ekstrak pekat yang

ditandai dengan tidak adanya pelarut yang menetes pada *receiving part* yang diasumsikan bahwa sudah tidak ada pelarut pada ekstrak pekat (Anwar, 2013).

Hasil maserasi dari 500 mg umbi binahong menggunakan 1500 mL pelarut etanol 70 % adalah sekitar 47,47 gram ekstrak kental etanol yang berwarna hijau kehitaman (hijau pekat). Selain itu dihasilkan % ekstrak dari perbandingan berat ekstrak sampel dengan berat sampel sebelum dimaserasi sebesar 9,49 %. Hasil ekstraksi selanjutnya digunakan untuk melakukan uji fitokimia, pemisahan senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada sampel umbi binahong dan uji antidiabetes pada hewan coba.

4.4 Uji Antidiabetes pada Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah hewan coba tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*). Penggunaan tikus sebagai hewan coba dikarenakan kelebihan dari tikus itu sendiri jika dibandingkan dengan hewan coba yang lain seperti halnya mencit (*mus mucus*). Kelebihan tersebut diantaranya adalah karena berat tikus bisa mencapai 500 g, hal ini menjadikan tikus lebih mudah untuk dipelihara, dikendalikan atau dapat diambil darahnya dalam jumlah relatif besar (Kusumawati, 2004).

Tikus yang digunakan adalah tikus putih galur wistar jantan dengan berat awal 150-200 g dan umur kurang lebih 2 bulan (Lukiati dkk., 2012) dengan *code ettick* 221 KEP UB. Tikus berkelamin betina tidak diikutsertakan dalam penelitian ini karena dikhawatirkan siklus hormonalnya dapat berpengaruh pada kadar glukosa yang akan diukur nantinya. Hormon estrogen dan progesterin yang terdapat pada tikus betina diketahui bersifat antagonis terhadap hormon insulin (Suherman, 2007 dalam Ratimanjari, 2011).

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini selanjutnya diaklimatisasi selama satu minggu, tujuan dari proses aklimatisasi ini adalah agar hewan coba dapat beradaptasi dengan lingkungan barunya. Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 24 ekor yang dibagi dalam 6 kelompok perlakuan dimana dalam setiap kelompok terdapat 4 ekor hewan coba. Hal ini berdasarkan perhitungan menggunakan rumus Federer (Felicia, 2009). Akan tetapi untuk meminimalisir terjadinya kesalahan pada penelitian ini ditambahkan satu ekor hewan coba pada setiap kelompok sehingga jumlah keseluruhan hewan coba yang digunakan sebanyak 30 ekor.

Kelompok pertama adalah kelompok kontrol nol (K0), yaitu kelompok kontrol tanpa perlakuan, artinya hewan coba hanya diberi makan dan minum secara rutin. Kelompok yang kedua yaitu kelompok kontrol normal (KN), pada kelompok ini hewan coba hanya diberi CMC-Na 0,5 % (1 mL/200 g BB tikus). Kelompok yang ketiga yaitu kelompok kontrol diabetes (KD), pada kelompok ini hewan coba diinjeksikan dengan aloksan dosis 32 mg/200 g BB hewan coba sehingga hewan coba mengalami diabetes mellitus. Kelompok yang ke-4, 5 dan 6 merupakan kelompok dosis. Pada kelompok ini hewan coba diinjeksikan dengan aloksan dosis 32 mg/Kg BB kemudian diterapi dengan menggunakan ekstrak kasar umbi binahong dengan dosis 25, 50 dan 75 mg/Kg BB hewan coba. Dosis ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Saleh dkk., (2012). Pembuatan dari masing-masing dosis yang digunakan untuk penurunan kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid tersebut sesuai dengan perhitungan dosis pembuatan larutan pada lampiran 4.

Hewan coba yang diinduksi dengan aloksan sebelumnya dipuasakan terlebih dahulu, karena menurut Katsam dkk. (1992) dalam Fitriani (2011) hewan coba yang dipuasakan selama 8-12 jam akan lebih cepat mengalami hiperglikemia daripada hewan coba yang tidak dipuasakan terlebih dahulu. Selanjutnya dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa yang selanjutnya digunakan sebagai perbandingan kadar glukosa darah setelah diinjeksikan aloksan. Selanjutnya dilakukan injeksi aloksan terhadap kelompok hewan coba kontrol diabetes, dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 dengan dosis 32 mg/200 g BB hewan coba.

Pembuatan larutan aloksan sesuai dengan perhitungan pembuatan dosis pada lampiran 4. Dalam pembuatan larutan aloksan, sebaiknya digunakan dalam keadaan segar, karena larutan aloksan yang segar akan berwarna merah muda, sementara aloksan yang telah teroksidasi menjadi tidak berwarna sehingga kemampuan aloksan dalam menginduksi tikus untuk diabetes mellitus berkurang (Hasanah, 2014).

Aloksan merupakan salah satu zat diabetogenik yang bersifat toksik terutama terhadap sel β pankreas, dan apabila diberikan pada hewan coba seperti tikus maka dapat menyebabkan hewan tersebut menjadi diabetes mellitus (Prameswari, 2014). Pemilihan dosis aloksan berdasarkan pada uji pendahuluan yang dilakukan oleh Fitriani (2011) dalam menentukan dosis optimum yang digunakan untuk membuat hewan coba menjadi hiperglikemia. Dosis aloksan yang digunakan dalam uji pendahuluan tersebut adalah 32, 36 dan 40 mg/200 g BB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh kelompok uji termasuk ketiga dosis di atas mengalami hiperglikemia pada hari ke-3 pasca-induks, akan tetapi beberapa hewan coba pada kelompok dosis 36 dan 40 mg/200 g BB mengalami

kematian pada hari berikutnya. Oleh karena itu dosis 32 mg/200 g BB hewan coba merupakan dosis optimum yang dapat mengakibatkan keadaan hiperglikemia pada hewan coba, namun tidak menyebabkan kematian. Selain itu Chaougale dkk., (2007) juga menyatakan bahwa pada dosis 160 mg/Kg BB (32 mg/200 g BB) merupakan dosis paling bagus yang digunakan untuk hewan coba dengan kenaikan kadar glukosa darah sebesar 300-400 mg/dL.

Penginjeksian aloksan dilakukan secara intraperitoneal yaitu dengan menginjeksikan aloksan pada bagian abdomen (perut) hewan coba. Penginjeksian dengan menggunakan teknik ini lebih menguntungkan jika dibandingkan dengan teknik yang lain seperti intravena dan subkutan karena larutan aloksan langsung dimasukkan kedalam tubuh hewan coba. Sebelum dilakukan injeksi, dioleskan dengan alkohol terlebih dahulu pada kulit hewan coba untuk mencegah terjadinya infeksi.

Pengukuran kadar glukosa terhadap tikus yang telah diinjeksikan dengan aloksan dilakukan setelah hari ke-3 pasca-induksi. Hal ini dilakukan untuk memastikan hewan coba telah mengalami diabetes atau tidak. Pengukuran kadar glukosa menggunakan *glucometer Dr.* Jika hewan coba telah mengalami diabetes yang ditandai dengan naiknya kadar glukosa darah di atas 300 mg/dL (Lukiati dkk., 2012) maka selanjutnya hewan coba akan langsung diterapi dengan ekstrak kasar umbi binahong, akan tetapi jika hewan coba belum mengalami diabetes maka diinjeksikan aloksan kembali sampai hewan coba mengalami diabetes. Terjadi perbedaan kadar glukosa yang terjadi pada hewan coba pada penelitian ini karena setiap hewan coba memiliki daya tahan tubuh yang berbeda-beda sehingga tidak semua hewan coba akan mengalami diabetes dengan hanya satu kali injeksi.

Pemeriksaan kadar glukosa darah ini menggunakan metode enzimatik, metode ini menggunakan enzim-enzim glukosa. *Glukosa oksidase* dalam zona reaksi yang terdapat pada strip glukometer mengoksidasi glukosa di dalam darah menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida. Reaksi dugaan yang terjadi adalah (Hones dkk., 2008):



Selanjutnya dalam reaksi yang kedua, enzim *peroksidase* mengkatalisis reaksi oksidasi kromogen (akseptor oksigen tidak berwarna), kemudian oleh *hidrogen peroksidase* membentuk satu produk kromogen teroksidase berwarna biru yang diukur oleh glukometer (Hones dkk., 2008). Selanjutnya intensitas arus elektron akan terbaca oleh alat sebagai kadar glukosa darah (Prasetyowati, 2008).

Pradana (2014) dalam penelitiannya menyatakan bahwa ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi aloksan. Adapun rata-rata kadar glukosa darah yang dihasilkan setelah terapi ekstrak umbi binahong dengan tiga variasi dosis (25, 50 dan 75 mg/Kg BB) secara berturut-turut yaitu 175,25 mg/dL; 261,5 mg/dL dan 136,5 mg/dL. Selain itu, hasil penelitian Saleh dkk., (2012) juga menunjukkan ekstrak etanol umbi binahong pada dosis 25 mg/Kg BB hewan coba memperlihatkan efek hipoglikemik yang paling baik terhadap persentase penurunan kadar glukosa darah mencit sebesar 33,05 %.

Penurunan kadar glukosa darah yang terjadi pada hewan coba tikus yang diterapi dengan ekstrak etanol umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dikarenakan adanya senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Senyawa flavonoid diduga dapat menurunkan kadar glukosa dengan cara

menghambat kerja dari GLUT2 (*Glucose Transporter Isoform 2*), yaitu suatu protein transporter glukosa yang terdapat pada membran usus (Noffritasari, 2006). Selain itu, kemungkinan penurunan kadar glukosa darah pada hewan coba terjadi melalui kerja saponin dan tannin di dalamnya. Bergabungnya saponin ke dalam membran sel membentuk struktur yang lebih permeabel dibanding membran aslinya. Saponin meningkatkan permeabilitas usus kecil, sehingga meningkatkan pengambilan zat yang sesungguhnya kurang diserap dan menyebabkan hilangnya fungsi normal usus. Pengaruh saponin terhadap susunan membran sel dapat menghambat absorpsi molekul zat gizi yang lebih kecil yang seharusnya cepat diserap, misalnya glukosa. Struktur membran sel yang terganggu diduga juga menimbulkan gangguan pada sistem transport glukosa sehingga akan terjadi hambatan untuk penyerapan glukosa. Sedangkan senyawa tannin yang bersifat sebagai astringen menurunkan kadar glukosa dengan cara mengpresipitasi protein selaput lendir usus dan membentuk lapisan yang melindungi usus, sehingga menghambat penyerapan glukosa (Meiyanti dkk., 2006).

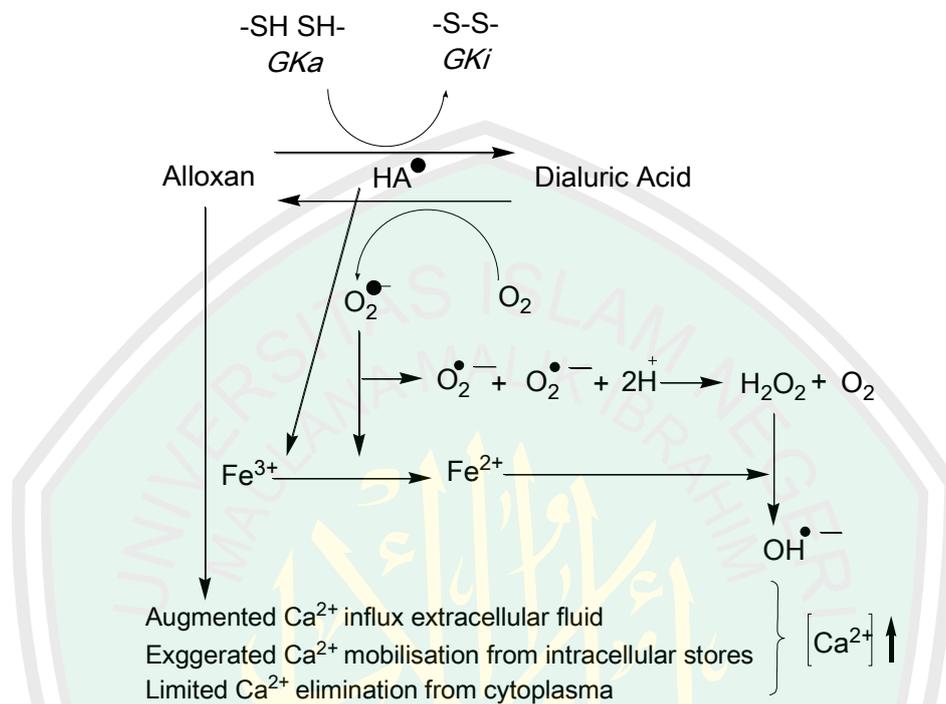
4.5 Efek Paparan Aloksan dan Terapi Ekstrak Umbi Binahong terhadap Kadar MDA Hati

Pemberian senyawa aloksan sebesar 32 mg/ 200 g BB pada hewan coba memberikan dampak negatif pada hewan coba. Kerusakan yang diakibatkan oleh agen diabetogenik aloksan adalah kerusakan sel dari sel-sel β pankreas yang berakibat pada penyakit diabetes mellitus. Kerusakan sel-sel β pankreas terjadi melalui proses bersamaan, yaitu melalui oksidasi gugus sulfidril dan pembentukan radikal bebas. Senyawa aloksan menyerang senyawa-senyawa seluler yang mengandung gugus SH (sulfhidril), asam-asam amino sistein dan protein yang

berikatan dengan SH (termasuk enzim yang mengandung gugus SH). Hasil dari reduksi aloksan adalah asam dialurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan, menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida. Reaksi antara aloksan dengan asam dialurat merupakan proses yang diperantarai oleh radikal aloksan intermediet (HA^{\cdot}) dan pembentukan “*compound 305*”. Radikal superoksida dapat membebaskan ion ferri dari ferinitin, dan mereduksi menjadi ion ferro. Selain itu, ion ferri juga dapat direduksi oleh radikal aloksan. Radikal superoksida mengalami dismutase menjadi hidrogen peroksida, berjalan spontan dan kemungkinan dikatalisis oleh *superoksida dismutase*. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas. Kerusakan DNA tersebut menstimulasi *poly ADP-rybosylation*, proses yang terlibat pada DNA repair. Adanya ion ferro dan hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksi yang sangat reaktif melalui reaksi fenton (Nugroho, 2006).

Faktor lain pembentukan oksigen reaktif adalah gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler. Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel β Langerhans pankreas. Efek tersebut diikuti oleh beberapa kejadian yaitu influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, eliminasi yang terbatas dari sitoplasma. Influks kalsium akibat aloksan tersebut mengakibatkan depolarisasi sel β Langerhans, lebih lanjut membuka kanal kalsium tergantung voltase dan semakin menambah masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain dari kedua faktor di atas aloksan juga berperan dalam menghambat *glukokinase* dalam proses

metabolisme energi (Nugroho, 2006). Mekanisme induksi aloksan terhadap pembangkitan senyawa oksigen reaktif dalam sel β pankreas tikus dapat dilihat pada gambar 4.1 (Szkudelski, 2001):



Gambar 4.1. Mekanisme aloksan dalam sel β pankreas tikus. GKA, GKI - glukokinase aktif dan tidak aktif, masing-masing; HA • - aloksan radikal; [Ca²⁺]_i - konsentrasi kalsium intraseluler (Szkudelski, 2001)

Kerusakan pada sel β selanjutnya akan diikuti dengan turunnya sekresi hormon insulin yang menyebabkan reaksi glikogenesis dan transport glukosa dalam sel menjadi berkurang (Szkudelski, 2001). Sebaliknya reaksi glikogenolisis menjadi tidak terkendali, sehingga tikus menjadi hiperglikemia (Dyahnugra dan Widjanarko, 2015).

Sel hati merupakan jaringan utama yang menjadi sasaran dari peningkatan konsentrasi radikal bebas karena hati merupakan tempat terjadinya metabolisme senyawa xenobiotik. Diabetes mellitus dapat menyebabkan terjadinya sintesis asam lemak dalam hati sehingga terjadi akumulasi asam lemak pada hati, hal ini

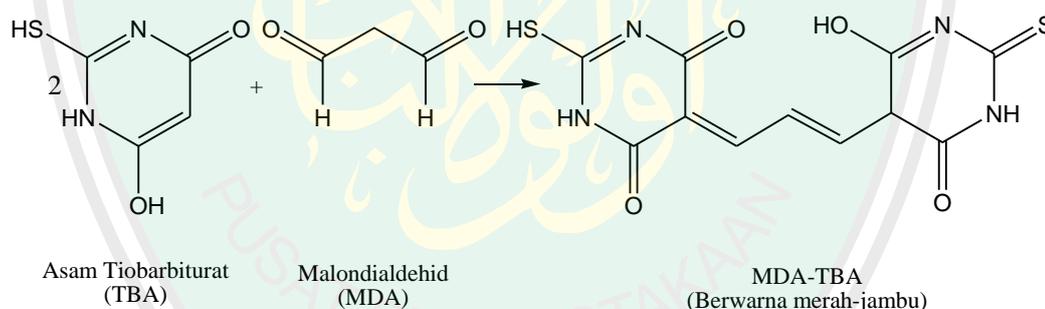
dapat memicu terbentuknya radikal bebas (Nurlaili, 2010). Radikal bebas adalah suatu molekul yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluar sehingga bersifat tidak stabil dan sangat reaktif (Zainuri, 2012). Radikal bebas yang dalam jumlah yang berlebih dalam tubuh sangat berbahaya karena menyebabkan kerusakan sel, asam nukleat protein dan jaringan lemak (Prapti dkk., 2006 dalam Fidzaro, 2010).

Malondialdehid (MDA) merupakan produk akhir dari peroksidasi lipid (Winarsi, 2007) yang terbentuk setelah senyawa radikal menyerang membran lipid yang kaya akan asam lemak tak jenuh ganda (PUFA). Malondialdehid merupakan senyawa yang sering digunakan sebagai indikator keberadaan radikal bebas dan terjadinya kerusakan oksidatif (Mu'nisa dkk., 2013). Tingginya kadar MDA dipengaruhi oleh kadar peroksidasi lipid, yang secara tidak langsung juga menunjukkan tingginya jumlah kadar radikal bebas (Wresdiyati dkk., 2013). Analisis kadar radikal bebas dalam penelitian ini dilakukan dengan mengukur kadar MDA hati tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar.

Pengukuran kadar MDA hati dilakukan dengan menggunakan uji TBARS (*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*), yang merupakan indikator dari peroksidasi lipid. Sebelum dilakukan penentuan kadar MDA hati hewan coba, isolasi sampel organ hati sangat penting dilakukan untuk menghilangkan reaksi yang akan berpengaruh terhadap hasil pengukuran. Penambahan TCA (*trichloroacetat*) 10 % pada proses isolasi sampel organ hati bertujuan agar protein yang terkandung dalam sampel mengalami presipitasi setelah disentrifugasi pada 3500 rpm. Presipitasi protein dilakukan karena kandungan protein yang terkandung dalam sampel akan mengganggu penetapan kadar MDA. Mekanisme

dari TCA (*trichloroacetat*) 10 % sebagai agen presipitasi yakni ion negatif dari TCA akan bergabung dengan protein yang sedang berada pada kondisi sebagai kation (pH larutan dalam kondisi asam hingga pH isoelektrik protein) hingga membentuk garam protein. Beberapa garam yang dihasilkan tersebut tidak larut, dengan demikian metode ini dapat digunakan untuk memisahkan protein dari sampel.

Penambahan campuran senyawa TCA dan TBA (*thiobarbituric acid*) pada uji TBARS yang disertai dengan inkubasi pada suhu 95 °C selama 15 menit dapat membentuk senyawa kompleks MDA-TBA yang berwarna merah muda. Tujuan dari inkubasi ini adalah agar TBA segera bereaksi dengan supernatannya sehingga warna dari senyawa kompleks lebih mudah terbentuk. Reaksi dugaan pembentukan senyawa kompleks MDA+TBA yaitu:



Gambar 4.2 Reaksi dugaan pembentukan kompleks MDA-TBA (Conti dkk., 1991 dalam Putri, 2009)

Langkah selanjutnya dilakukan pengukuran kadar sampel dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm (Bintang, 2010). Adapun hasil pengukuran kadar MDA berdasarkan pada kurva standar MDA diperoleh persamaan $y = 0,0169x + 0,0136$. Dimana hasil kadar MDA rata-rata dari kelompok tiap perlakuan ditunjukkan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil pengukuran kadar MDA rata-rata tiap kelompok perlakuan

Kelompok	Kadar MDA rata-rata (mg/mL)
K0	6,359
KN	10,594
KD	10,641
D1	5,625
D2	6,828
D3	7,156

Keterangan:

K0 : Kelompok tanpa perlakuan (hanya diberi makan dan minum)

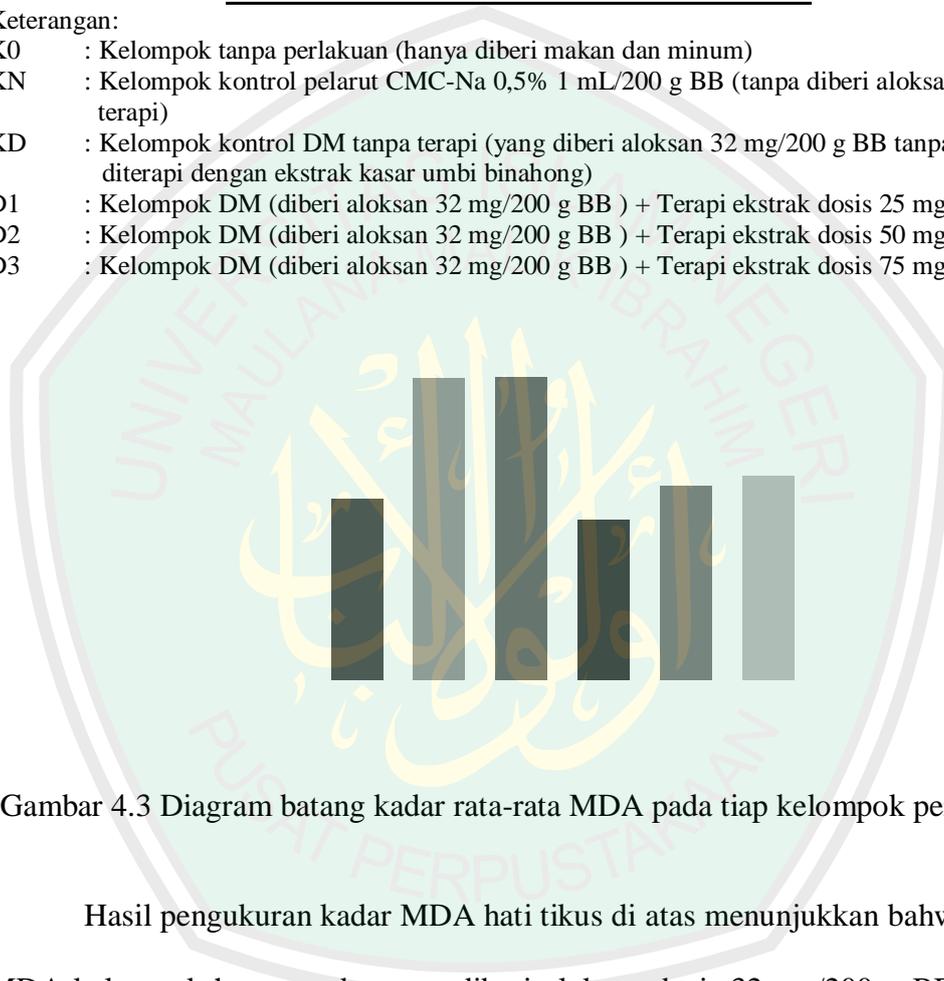
KN : Kelompok kontrol pelarut CMC-Na 0,5% 1 mL/200 g BB (tanpa diberi aloksan maupun terapi)

KD : Kelompok kontrol DM tanpa terapi (yang diberi aloksan 32 mg/200 g BB tanpa diterapi dengan ekstrak kasar umbi binahong)

D1 : Kelompok DM (diberi aloksan 32 mg/200 g BB) + Terapi ekstrak dosis 25 mg/kg BB

D2 : Kelompok DM (diberi aloksan 32 mg/200 g BB) + Terapi ekstrak dosis 50 mg/kg BB

D3 : Kelompok DM (diberi aloksan 32 mg/200 g BB) + Terapi ekstrak dosis 75 mg/kg BB



Gambar 4.3 Diagram batang kadar rata-rata MDA pada tiap kelompok perlakuan

Hasil pengukuran kadar MDA hati tikus di atas menunjukkan bahwa kadar MDA kelompok hewan coba yang diberi aloksan dosis 32 mg/200 g BB hewan coba tanpa disertai terapi ekstrak umbi binahong memiliki kadar MDA lebih tinggi yaitu sebesar 10,641 mg/mL dibandingkan dengan kelompok hewan coba yang disertai dengan terapi ekstrak umbi binahong (kelompok dosis) yaitu 5,625; 6,828 dan 7,156 mg/mL. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kasar umbi binahong mampu menurunkan kadar MDA dari hati hewan coba yang telah diinduksi aloksan. Hasil dari diagram batang pengukuran kadar MDA pada

gambar 4.3 di atas menunjukkan bahwa D1 yaitu terapi ekstrak umbi binahong dosis 25 mg/Kg BB memberikan hasil yang paling optimal dibandingkan dengan dosis 50 dan dosis 75 mg/Kg BB yaitu dengan kadar 5,625 mg/mL. Hal ini dikarenakan pada dosis tersebut tubuh hewan coba mampu menyerap obat secara maksimal. Sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Saleh dkk. (2012) menggunakan dosis 25, 50 dan 75 mg/Kg BB sebagai dosis dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit. Hasil yang diperoleh tidak jauh beda yaitu dosis 25 mg/Kg BB menunjukkan efek hipoglikemik yang paling baik. Akan tetapi ketika dosis ditambah menjadi 50 dan 75 mg/Kg BB kadar MDA pada kelompok tersebut mengalami kenaikan hingga 6,828 dan 7,156 mg/mL. Hal ini dimungkinkan karena kemampuan dari tubuh hewan coba untuk menyerap obat telah menurun, sehingga ketika dosis ditambahkan tidak akan terlalu banyak memberikan pengaruh pada tubuh hewan coba, bahkan bisa menjadi toksik akibat pemberian dosis secara berlebih.

Tingginya kadar MDA pada kelompok kontrol diabetes (KD) hewan coba menunjukkan bahwa senyawa agen diabetogenik yang disuntikkan pada hewan coba dengan dosis 32 mg/ 200 g BB mampu meningkatkan kadar MDA dalam hati hewan coba. Tidak adanya terapi umbi binahong menyebabkan kadar MDA dalam organ hati hewan coba semakin tinggi. Tingginya kadar MDA juga terjadi pada kontrol negatif yakni sebesar 10,594 mg/mL yaitu kontrol pemberian CMC-Na 0,5 % (tanpa aloksan). Tingginya kadar MDA pada kelompok ini karena kondisi stress yang terdapat pada hewan coba. Stress oksidatif merupakan kondisi dimana aktivitas radikal melebihi antioksidan (Kusnadi, 2008). Selain aloksan stress oksidatif dapat dipengaruhi oleh berbagai kondisi lingkungan hewan coba.

Teknik pemberian CMC-Na yang tidak tepat juga dapat menyebabkan stress oksidatif. Tingginya kadar MDA menunjukkan banyaknya kadar radikal bebas dalam tubuh hewan coba (Droge, 2002 dalam Mu'nisa, 2013). Terjadi hubungan yang erat antara kadar MDA, kadar glukosa dan kolesterol. Kadar MDA dan kolesterol akan meningkat seiring dengan meningkatnya kadar glukosa darah. Keterkaitan yang erat antara perubahan MDA dan nilai kadar glukosa maupun kolesterol menunjukkan bahwa ketiga faktor tersebut tidak dapat dipisahkan (Adji, 2008).

Peningkatan kadar MDA pada hewan coba dapat menekan fungsi dari SOD yang digunakan untuk menetralkan radikal bebas menjadi H_2O_2 dan O_2 (Gambar 4.4). Hal ini dikarenakan meningkatnya radikal bebas tersebut tubuh hewan coba mengalami degenerasi sehingga kerja sel menjadi tidak optimal dan berdampak pada penurunan aktivitas seluler seperti SOD (Winarsi, 2012).

Kerusakan sel hati yang disebabkan oleh radikal bebas dapat di atasi dengan menggunakan antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang melindungi sel melawan radikal bebas, dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif (Anggraini, 2011). Stres oksidatif yaitu ketidakseimbangan antara jumlah antioksidan dengan radikal bebas dalam tubuh (Zainuri, 2012).

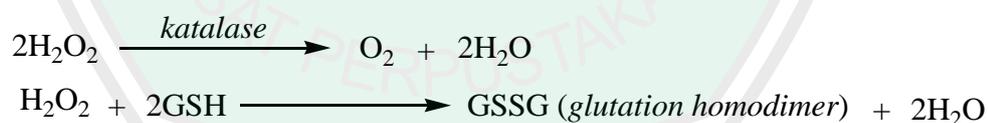
Senyawa antioksidan enzimatis yang sering berperan dalam menangkal radikal bebas adalah senyawa *SOD (superoksida dismutase)*. Enzim ini dapat melindungi sel-sel tubuh dan mencegah terjadinya proses peradangan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Nahari (2014) menyatakan bahwa ekstrak etanol

70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat berpotensi dalam meningkatkan kadar *SOD* dalam hati hewan coba yang diinduksi aloksan. Hasil penelitian tersebut menunjukkan terjadinya peningkatan aktifitas dari enzim *SOD* setelah pemberian ekstrak umbi binahong. Kadar *SOD* untuk dosis 25, 50 dan 27 mg/Kg BB dalam penelitian tersebut berturut-turut adalah 8,219; 7,483 dan 7,4 U/mL. Enzim *SOD* ini bekerja dalam menangkal radikal bebas dengan cara bekerja sebagai katalisator reaksi dismutase dari radikal anion superoksida menjadi H_2O_2 .



Gambar 4.4 Reaksi dugaan peredaman radikal bebas oleh enzim *SOD* (Winarshi, 2011)

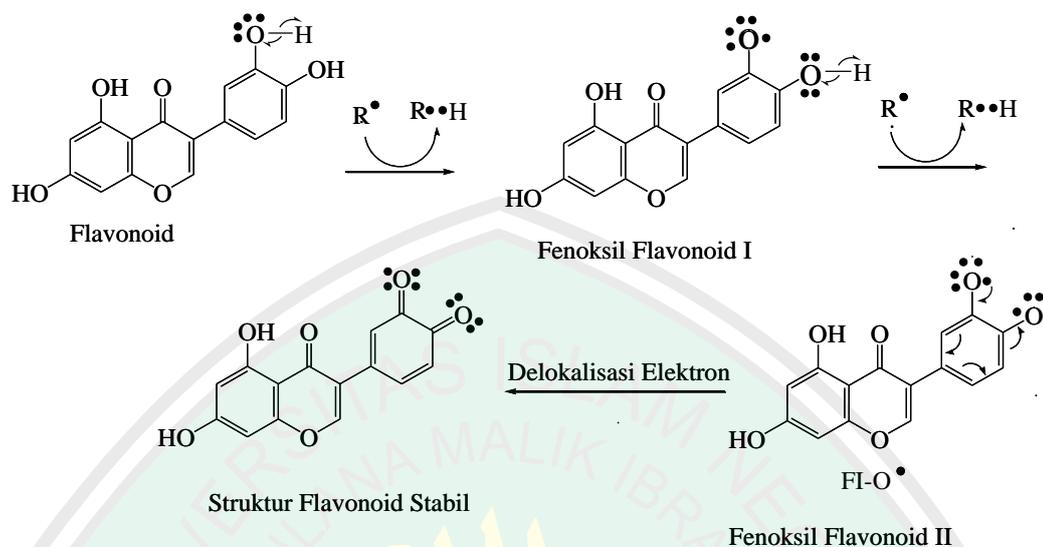
Hidrogen peroksida merupakan senyawa yang sangat toksik karena senyawa ini dapat bereaksi dengan lipid. Oleh karena itu senyawa ini harus segera dinetralisasi, baik melalui aktivitas enzim *katalase* pada peroksisom maupun melalui proses glutation (GSH).



Gambar 4.5 Reaksi dugaan peredaman hidrogen peroksida oleh enzim *katalase* (Sudiana, 2008 dalam Ummah, 2014)

Senyawa antioksidan non-enzimatis yang dapat digunakan dalam menangkal radikal bebas adalah senyawa flavonoid. Nugrahani (2015) dalam penelitiannya menyatakan bahwa senyawa flavonoid telah terbukti secara *in vitro* mempunyai efek biologis yang sangat kuat sebagai antioksidan. Hasil penelitian

sebelumnya juga menyebutkan bahwa senyawa flavonoid dapat menangkal radikal bebas dengan reaksi dugaan pada gambar 4.6 (Shofia, 2013):

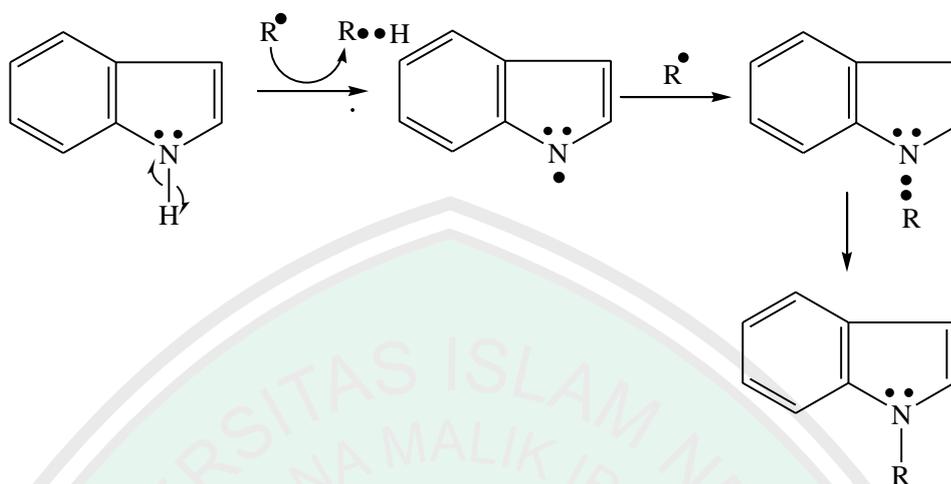


Gambar 4.6 Reaksi dugaan *scavenging* radikal bebas oleh senyawa flavonoid
 R^\bullet = senyawa radikal bebas, $FI-OH$ = senyawa golongan flavonoid, $FI-OH^\bullet$ =
 radikal-flavonoid (Marliana, 2007; Yuhernita dan Juniarti, 2011
 dan Shofia dkk., 2013)

Kemampuan senyawa flavonoid sebagai *scavenger* terhadap radikal bebas dapat dilakukan dengan terjadinya abstraksi atom hidrogen sebagai radikal bebas (R^\bullet) sehingga dapat menghasilkan radikal fenoksil flavonoid ($FI-O^\bullet$) yang memiliki reaktifitas lebih rendah. Radikal fenoksil flavonoid ($FI-O^\bullet$) dapat diserang kembali sehingga terbentuk fenoksil flavonoid ($FI-O^\bullet$) kedua. Radikal fenoksil flavonoid ($FI-O^\bullet$) memiliki ikatan rangkap terkonjugasi sehingga dapat menstabilkan strukturnya dengan delokalisasi elektron ataupun resonansi untuk menghilangkan efek radikal bebas (Shofia dkk., 2013).

Selain senyawa flavonoid, senyawa alkaloid terutama indol juga diduga memiliki kemampuan dalam menangkal radikal bebas secara efisien. Dugaan

mekanisme reaksinya dapat dilihat pada gambar 4.7.(Yuhernita dan Juniarti, 2011):



Gambar 4.7 Reaksi dugaan proses peredaman radikal bebas oleh senyawa alkaloid (Yuhernita dan Juniarti, 2011)

Kemampuan senyawa alkaloid dalam menangkal radikal bebas dimulai dari penyerangan atom H pada gugus amina senyawa indol. Terbentuk senyawa radikal dan terjadi penyerangan kembali sehingga terbentuk senyawa baru yang lebih stabil (Yuhernita dan Juniarti, 2011).

Karotenoid merupakan golongan senyawa dari terpenoid yang berperan penting dalam pencegahan penyakit degeneratif, dengan cara mempertahankan fungsi sistem imun dan antioksidan (Winarshi, 2007). Fungsi karotenoid sebagai pendeaktivasi radikal bebas terjadi melalui proses transfer elektron (Dutta dkk., 2005 dalam Panjaitan dkk., 2008). Pada reaksi tersebut akan diperoleh radikal bebas karotenoid yang relatif lebih stabil dan tidak memiliki energi yang cukup untuk dapat bereaksi dengan molekul lain membentuk radikal baru (Britton, 1995). Reaksi dugaannya pada gambar 4.8.



Gambar 4.8 Reaksi dugaan peredaman radikal bebas oleh senyawa karotenoid (Dutta dkk., 2005 dalam Panjaitan dkk., 2008)

Hasil penelitian dari pemberian ekstrak kasar umbi binahong ini menunjukkan hasil yang berbeda dari penelitian sebelumnya, yaitu tidak adanya hubungan antara kadar glukosa dengan kadar MDA pada hewan coba. Pada kelompok dosis 25 mg/Kg BB masih terjadi peningkatan kadar glukosa mencapai 175,25 mg/dL, dimana angka ini masih menunjukkan bahwa hewan coba masih mengalami hiperglikemia, sedangkan terjadi penurunan kadar MDA sampai 5,625 mg/mL yaitu setengah dari angka kadar glukosa KO (10,594) yang dijadikan perbandingan. Kadar glukosa pada kelompok dosis 50 mg/Kg BB juga mengalami peningkatan yaitu 261,5 mg/dL dengan kadar MDA melebihi D1 yaitu 6,828 mg/mL sedangkan untuk dosis 75 mg/Kg BB terjadi penurunan kadar glukosa darah mencapai 136,5 mg/dl, akan tetapi kadar MDA yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan kedua dosis di atas yaitu 7,156 mg/mL. Terjadinya ketidakseimbangan ini mungkin diakibatkan karena terjadinya kesalahan pada saat penelitian, seperti misalnya teknik pemberian obat (sonde) yang kurang tepat.

Uji statistika menggunakan *one way* ANOVA dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak kasar umbi binahong terhadap kadar radikal bebas dalam hati hewan coba. Hasil uji menunjukkan bahwa $F_{hitung} > F_{tabel}$ ($41,576 > 2,773$) dengan nilai α 0,05 atau dengan kepercayaan 95 % dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima. Dalam artian bahwa terdapat pengaruh yang signifikan antara pemberian ekstrak kasar umbi binahong terhadap kadar MDA hati hewan coba yang diinduksi aloksan. Selanjutnya untuk mengetahui perbedaan

yang nyata antara setiap kelompok perlakuan dilakukan pengujian dengan menggunakan uji uncan.

Hasil uji menggunakan uji duncan menunjukkan kelompok kontrol diabetes (KD) memiliki perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dengan tiga kelompok dosis yaitu dosis 25 mg/Kg BB, dosis 50 mg/Kg BB dan dosis 75 mg/Kg BB. Selain itu kelompok nol yakni kelompok tanpa perlakuan (K0) juga memiliki perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dengan kelompok kontrol normal (KN) dan kelompok kontrol diabetes (KD). Perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) juga terlihat pada kelompok normal yakni kelompok pemberian CMC Na 0,5 % dengan tiga kelompok dosis. Kemudian perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) juga terlihat pada ketiga dosis dosis 25 mg/Kg BB, dosis 50 mg/Kg BB dan dosis 75 mg/Kg BB. Selain perbedaan nyata, perbedaan yang tidak nyata juga terlihat pada kelompok nol dengan kelompok dosis 50 mg/Kg BB dan dosis 75 mg/Kg BB. Perbedaan yang tidak nyata juga terjadi pada kelompok dosis 50 mg/Kg BB dengan kelompok nol dan kelompok normal tidak terjadi perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dengan kelompok diabetes. Hasil analisis kedua uji statistika di atas disajikan pada lampiran 7.

4.6 Uji Fitokimia Ekstrak Kasar Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak kasar umbi binahong. Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak umbi binahong dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya dengan melihat ada tidaknya reaksi pengendapan dan perubahan warna yang terjadi. Selanjutnya dilakukan uji terhadap beberapa

senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan terpenoid. Hasil uji fitokimia dapat dilihat pada tabel 4.2.

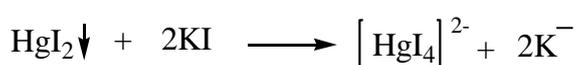
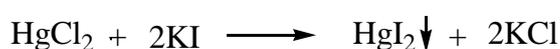
Tabel 4.2 Hasil pengamatan uji fitokimia pada umbi binahong

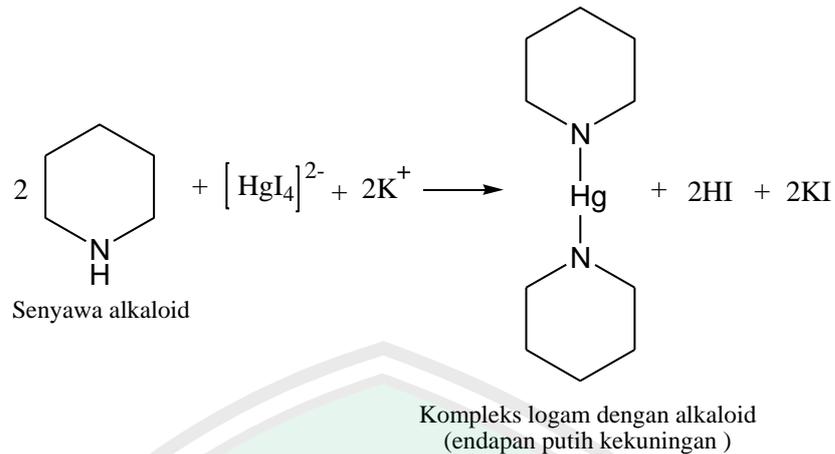
Golongan Senyawa	Ekstrak Kasar Umbi Binahong	Pengamatan
Alkaloid	+	Endapan jingga dan endapan putih kekuning-kuningan
Flavonoid	++	Larutan warna jingga
Tanin	++	Larutan berwarna hijau kehitaman
Saponin	++	Busa stabil
Terpenoid	++	Cincin kecoklatan diantara dua permukaan

Keterangan: (+): Positif; (++) : Positif Kuat

4.6.1 Senyawa Alkaloid

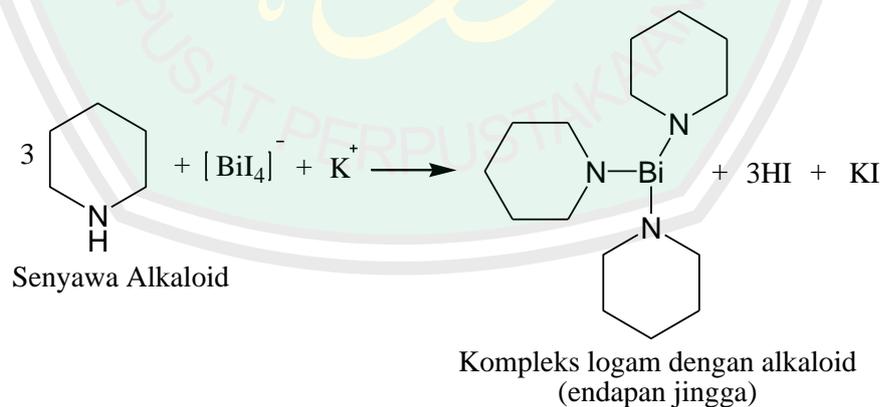
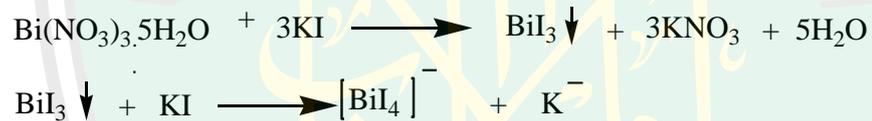
Hasil uji kualitatif senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan reagen dragendroff (Kalium tetraiodobismutat) dan reagen mayer (Kalium tetraiodomerkurat). Kedua reagen yang digunakan memberikan hasil positif karena ekstrak yang mengandung senyawa alkaloid akan memberikan warna jingga ketika ditambahkan reagen dragendroff dan endapan putih ketika ditambahkan reagen mayer (Harbone, 1985). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion logam. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion loga K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksi dugaan yang terjadi dapat dilihat pada gambar 4.9 (Marliana dkk., 2005).





Gambar 4.9 Reaksi dugaan alkaloid dengan Reagen Mayer
(Sumaryanto, 2009 dalam Sriwahyuni, 2010)

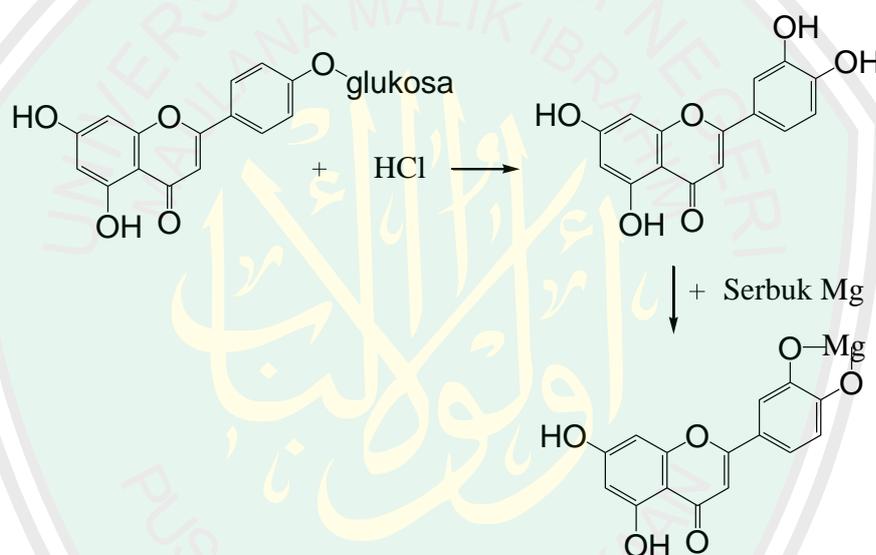
Sementara itu pada uji alkaloid menggunakan reagen Dragendroff, ion logam K^+ membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan alkaloid sehingga membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana dkk., 2005).



Gambar 4.10 Reaksi dugaan alkaloid dengan Reagen Dragendroff
(Sumaryanto, 2009 dalam Sriwahyuni, 2010)

4.6.2 Senyawa Flavonoid

Uji kualitatif golongan senyawa flavonoid ekstrak kasar umbi binahong dilakukan dengan menambahkan logam Mg dan asam klorida pekat. Reduksi dengan menggunakan logam Mg dan asam klorida pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Robinson, 1985). Hasil pengamatan menunjukkan hasil positif yakni dengan adanya warna kuning-jingga pada tabung reaksi. Reaksi dugaan yang terjadi diberikan pada gambar 4.11.

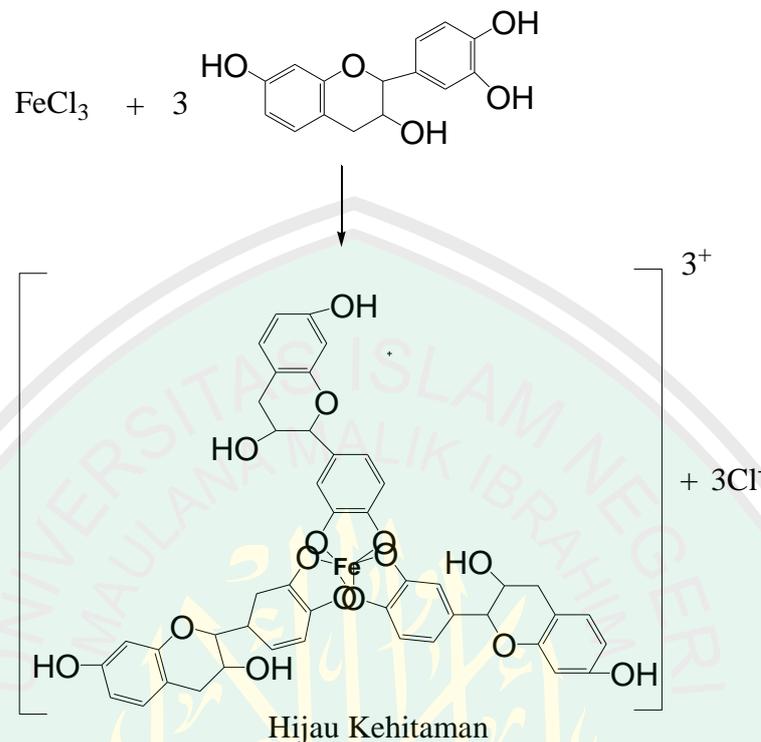


Gambar 4.11 Reaksi dugaan flavonoid dengan serbuk Mg dan HCl pekat (Hidayat, 2004 dalam Sriwahyuni, 2010)

4.6.3 Senyawa Tanin

Uji senyawa fenol dapat dilakukan dengan menggunakan larutan FeCl_3 1%. Adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tua setelah ditambahkan dengan FeCl_3 , sehingga apabila hasil uji memberikan hasil yang positif maka dimungkinkan di dalam ekstrak umbi binahong terdapat senyawa fenol yang salah satunya adalah senyawa tannin. Terbentuknya warna

hijau kehitaman ini karena senyawa tannin akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} dari senyawa FeCl_3 (Sa'adah, 2010).

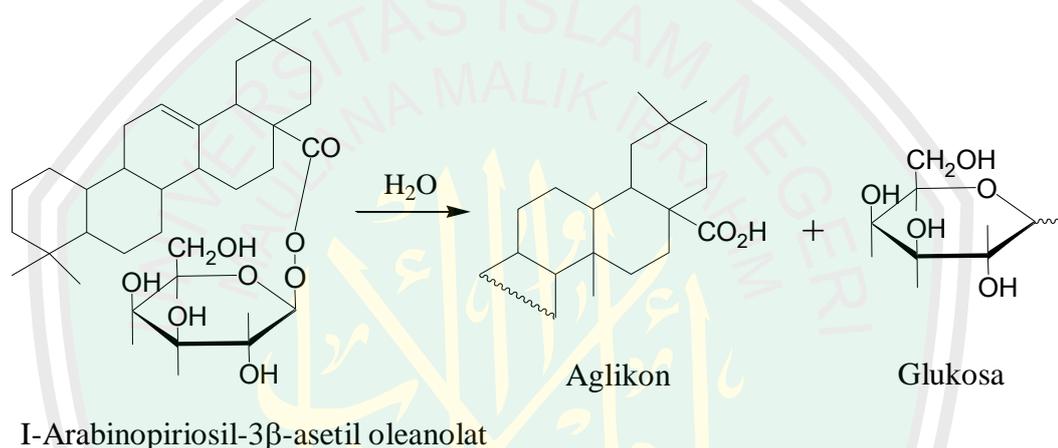


Gambar 4.12 Reaksi dugaan senyawa tannin membentuk senyawa kompleks berwarna hijau kehitaman (Sa'adah, 2010)

Terbentuknya senyawa kompleks antara tannin dan FeCl_3 karena adanya ion Fe^{3+} sebagai atom pusat dan tannin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligannya. Ion Fe^{3+} pada reaksi di atas mengikat tiga tannin yang memiliki 2 atom donor yaitu atom O pada posisi 4 dan 5 dihidroksi, sehingga ada enam pasangan elektron bebas yang bisa dikoordinasikan ke atom pusat. Atom O pada posisi 4 dan 5 dihidroksi memiliki energi paling rendah dalam pembentukan senyawa kompleks, sehingga memungkinkan menjadi sebuah ligan (Sa'adah, 2010).

4.6.4 Senyawa Saponin

Uji kualitatif senyawa saponin dari ekstrak kasar umbi binahong dapat dilakukan dengan menambahkan larutan HCl 1N. Hasil positif adanya senyawa saponin ditunjukkan dengan adanya busa stabil pada tabung reaksi. Timbulnya busa ini menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya (Marliana dkk., 2005).



Gambar 4.13 Reaksi dugaan hidrolisis saponin dalam air (Marliana dkk., 2005)

4.6.5 Senyawa Terpenoid

Uji kualitatif senyawa terpenoid dari ekstrak kasar umbi binahong dilakukan dengan menambahkan larutan H₂SO₄. Hasil positif adanya terpenoid ditunjukkan dengan adanya warna cincin kecoklatan pada tabung reaksi (Mu'adifah, 2013). Selain itu hasil positif uji fitokimia terhadap senyawa terpenoid juga menunjukkan warna merah-ungu pada penelitian yang dilakukan oleh Siadi (2012) pada ekstrak bungkil biji jarak pagar (*Jatropha curcas*) dengan menggunakan pelarut yang sama yaitu asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat.

4.7 Uji Senyawa Aktif dengan Kromatografi Lapis Tipis

Senyawa metabolit sekunder yang positif terkandung dalam ekstrak kasar umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) selanjutnya diuji dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kromatografi lapis Tipis merupakan teknik pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan distribusi antara dua fase yakni fase gerak dan fase diam (Day dan Underwood, 2002). Fase diam yang digunakan adalah plat silika yang terbuat dari lempeng logam. Sedangkan fase geraknya adalah campuran pelarut yang disesuaikan dengan senyawa yang akan dipisahkan.

Fase diam akan menahan komponen campuran, sedangkan fase gerak akan melarutkan zat komponen campuran. Komponen yang mudah terahan pada fase diam akan tertinggal sedangkan komponen yang mudah larut dalam fase gerak maka akan bergerak lebih cepat. Dalam penelitian ini senyawa yang akan diuji dengan menggunakan teknik KLT untuk menentukan eluen terbaik adalah senyawa yang bertindak sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas, yaitu senyawa alkaloid, flavonoid dan terpenoid. Eluen terbaik adalah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak yang ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harbone, 1987).

Pola pada plat KLT selanjutnya dihitung nilai Rfnya. Nilai Rf didapatkan dari hasil perbandingan antara jarak tempuh solut dengan jarak tempuh fase gerak (Gandjar dan Rohman, 2012). Nilai ini menunjukkan adanya perbedaan sifat molekul dari senyawa. Molekul yang paling lemah diabsorpsi oleh absorben terlebih dahulu dan akan bergerak membentuk pola yang paling tinggi kemudian

diikuti oleh molekul senyawa yang lebih rendah. Sehingga kecilnya nilai Rf menunjukkan semakin tingginya berat molekul senyawa.

4.7.1 Alkaloid

Hasil identifikasi senyawa aktif dengan menggunakan KLT pada ekstrak kasar umbi binahong dengan menggunakan beberapa eluen menunjukkan eluen terbaik adalah dengan campuran pelarut diklorometan : metanol dengan perbandingan (1:1). Hasil penentuan eluen terbaik ini dilakukan pada pengamatan di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm. Didapatkan 3 noda dengan pemisahan yang baik disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil KLT golongan senyawa alkaloid menggunakan reagen dragendroff dengan eluen terbaik diklorometan : metanol (1:1)

Spot	Rf tiap Noda	Warna Noda (UV 366 nm)	Pola Pemisahan Senyawa	Bentuk Noda
1	0,77	Ungu	Baik	Bulat
2	0,82	Pink	Baik	Bulat
3	0,87	Hijau	Baik	Bulat

(Sumber: Ummah, 2014)

Hasil pemisahan yang disajikan pada tabel 4.3 di atas menunjukkan bahwa pelarut diklorometan: metanol dengan perbandingan (1:1) memiliki pemisahan spot yang terbaik. Selain itu, diperoleh 3 spot dengan Rf 0,77, 0,82 dan 0,87. Fitriyani (2011) menyatakan bahwa senyawa alkaloid akan berwarna ungu setelah diberikan reagen penampak Dragendroff. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa alkaloid positif terkandung dalam ekstrak kasar umbi binahong dengan nilai Rf 0,77.

4.7.2 Flavonoid

Hasil pemisahan golongan senyawa flavonoid pada ekstrak kasar umbi binahong dengan menggunakan KLT, menunjukkan adanya 4 spot yang terpisah

dengan baik setelah diberikan penampak uap amoniak. Pelarut yang digunakan adalah campuran pelarut etil asetat : metanol dengan perbandingan (9:1). Hasil pemisahan di sajikan pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil KLT golongan senyawa flavonoid menggunakan penampak uap amoniak dengan eluen terbaik etil asetat : metanol (9:1)

Spot	Rf tiap Noda	Warna Noda (UV 366 nm)	Pola Pemisahan Senyawa	Bentuk Noda
1	0,11	Kuning	Baik	Bulat
2	0,28	Ungu	Baik	Lonjong
3	0,46	Pink	Baik	Lonjong
4	0,95	Biru	Baik	Sedikit Lonjong

(Sumber: Ummah, 2014)

Hasil pemisahan yang di sajikan pada tabel 4.4 di atas menunjukkan bahwa campuran pelarut etil asetat : metanol (9:1) memberikan pemisahan yang baik dengan 4 spot dan 0,95 merupakan Nilai Rf tertinggi. Adfa (2007) menyatakan bahwa senyawa flavonoid akan menimbulkan noda berfluoresensi kuning di bawah lampu UV₂₅₄ nm. Fitriyani (2011) juga menyatakan bahwa akan timbul noda berwarna kuning intensif setelah disemprot dengan penampak noda uap amoniak pada senyawa flavonoid. Selain itu, Halimah (2010) menyatakan bahwa golongan senyawa flavonoid setelah diuapi dengan uap amoniak di bawah sinar UV₃₆₆ menunjukkan noda berwarna biru kehijauan dan merah keunguan. Senyawa flavonoid juga dapat berwarna pink setelah diuapkan dengan uap amoniak di bawah lampu UV (Sulistijowati dan Gunawan (2001) dalam Halimah (2010)), sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol umbi binahong pada penelitian ini adalah pada spot 1, 2 dan 3 dengan Rf 0,11; 0,28 dan 0,46.

4.7.3 Terpenoid

Hasil pemisahan golongan senyawa terpenoid pada ekstrak kasar umbi binahong menunjukkan bahwa campuran klorofom : metanol (10:1) merupakan eluen terbaik dengan hasil pemisahan disajikan pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Hasil KLT golongan senyawa terpenoid menggunakan penampak Liberman Burchard dengan eluen terbaik klorofom : metanol (10:1)

Spot	Rf tiap Noda	Warna Noda (UV 366 nm)	Pola Pemisahan Senyawa	Bentuk Noda
1	0,19	Hijau	Baik	Sedikit Lonjong
2	0,56	Hijau	Sedikit Bertumpuk	Bulat
3	0,61	Hijau	Sedikit Bertumpuk	Bulat
4	0,71	Ungu	Sedikit Melebar	Bulat
5	0,85	Ungu	Sedikit Bertumpuk	Bulat
6	0,9	Hijau	Sedikit Bertumpuk	Bulat Pipih

(Sumber: Ummah, 2014)

Hasil pemisahan yang disajikan pada tabel 4.5 di atas menunjukkan bahwa campuran pelarut klorofom: metanol memberikan pemisahan yang baik dengan 6 buah spot yang terpisah sempurna. Spot tertinggi adalah 0,85 berwarna ungu dan 0,9 berwarna hijau. Dengan adanya reagen penampak Liberman Burchard senyawa terpenoid akan bereaksi dengan reagen membentuk warna merah-ungu. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa terpenoid merupakan spot dengan Rf 0,71 dan 0,85 berwarna ungu (Siadi, 2012). Sehingga dapat disimpulkan bahwa di dalam ekstrak kasar umbi binahong positif mengandung senyawa terpenoid.

Prinsip dari mekanisme reaksi antara terpenoid dengan pereaksi Libermann-Burchard adalah kondensasi atau pelepasan H₂O dan penggabungan dengan karbokation. Reaksi ini diawali dengan proses asetilasi gugus hidroksil menggunakan asam asetat anhidrida. Gugus asetil yang merupakan gugus pergi yang baik akan lepas, sehingga terbentuk ikatan rangkap. Selanjutnya terjadi pelepasan gugus hidrogen beserta elektronnya, mengakibatkan ikatan rangkap

berpindah. Senyawa ini mengalami resonansi yang bertindak sebagai elektrofil atau karbokation. Serangan karbokation menyebabkan adisi elektrofilik, diikuti pelepasan hidrogen. Kemudian gugus hidrogen beserta elektronnya dilepas, akibatnya senyawa mengalami perpanjangan konjugasi yang memperlihatkan munculnya warna merah-ungu (Siadi, 2012).

4.7. Pemanfaatan Umbi Binahong sebagai Obat Herbal dalam Perspektif Islam

Allah SWT menciptakan segala sesuatu didunia ini tidak ada yang sia-sia. Sebagaimana Allah menciptakan manusia dari setetes air mani yang hina, kemudian berubah menjadi segumpal darah. Manusia merupakan makhluk yang paling sempurna yang diciptakan Allah dimuka bumi yang dilengkapi dengan kelebihan yang membedakannya dengan makhluk lain yaitu akal. Allah memberikan akal kepada manusia untuk berfikir tentang betapa besar nikmat dan karunia yang Allah berikan kepadanya di muka bumi ini dan bagaimana cara memanfaatkannya. Sebagaimana dengan firmanNya dalam qur'an surah Thaahaa ayat 53-54 yang berbunyi:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّن نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾ كُلُوا وَارْعَوْا أَنْعَمَكُمُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿٥٤﴾

“Yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan Yang telah menjadikan bagimu dibumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam. Makanlah dan gembalakanlah binatang-binatangmu. Sesungguhnya pada yang demikian itu adalah tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang berakal” (QS. Thaahaa: 53-54).

Ayat di atas menerangkan bahwa sesungguhnya Allah telah menjadikan bumi sebagai hamparan tempat tinggal, tempat berdiri, tempat tidur di atasnya dan melakukan perjalanan di atas permukaannya. Allah yang telah menurunkan air hujan dari langit dan dengan air itulah tumbuh berbagai macam tumbuh-tumbuhan berupa tanam-tanaman dan buah-buahan dengan berbagai rasa, baik yang asam, manis maupun pahit dan berbagai macam lainnya. Tanam-tanaman yang ditumbuhkan diperintahkan oleh Allah digunakan sebagai makanan yang dikonsumsi oleh manusia dan peliharaannya. Sesungguhnya apa yang diciptakan tersebut merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah bagi yang memiliki akal yakni manusia yang berakal lurus, karena bahwasanya tidak ada yang berhak disembah selain Allah dan tidak ada tuhan selain Dia (Syaikh, 2008).

Tanam-tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah sesungguhnya tidak hanya dijadikan sebagai makanan untuk dikonsumsi melainkan bisa digunakan sebagai obat dalam menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti halnya dengan tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Tanaman binahong dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, reumatik dan lain-lain (Manoi dan Balittri, 2009). Bagian daun dari tanaman binahong juga digunakan sebagai antioksidan dalam menangkal radikal bebas yang terdapat dalam tubuh (Rahmawati dkk., 2005), sebagai anti bakteri (Darsana dkk., 2012; Murdianto dkk., 2013 dan Khunaifi, 2010). Sedangkan bagian dari umbi binahong menurut Saleh dkk. (2012) memiliki efek dalam menurunkan kadar glukosa darah dalam menyembuhkan penyakit diabetes mellitus. Hal ini sesuai dengan firman Allah dalam qur'an Surah asy-Syu'ara ayat 80.

وَإِذَا مَرَضْتُ فَبِهِ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

“Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku” (QS. asy-Syu’ara:80)

Maksud dari ayat di atas adalah bahwa segala macam penyakit yang diturunkan oleh Allah sekalipun itu adalah qadar, qadha dan ciptaan Allah tidak ada yang dapat menyembuhkan penyakit tersebut kecuali Dia. Jika Allah menurunkan suatu penyakit kepada manusia maka Allah yang akan menurunkan obatnya. Sebagaimana diutarakan dalam hadist yang diriwayatkan oleh Muslim dari Jabir bin Abdullah ra.

لكل داء دواء فاذا اصاب دواء الداء برأ باذن الله عز وجل

“Setiap penyakit ada obatnya, apakah obat itu tepat untuk suatu penyakit, penyakit itu akan sembuh atas izin Allah ‘azza wa jalla” (HR. Muslim).

Melalui penelitian ini telah dibuktikan tentang kebenaran Allah dalam firman-firman yang telah diwahyukan kepada umat manusia. Kebenaran ini menunjukkan tentang kebesaran dan keagungan dari Allah sang pencipta seluruh alam semesta dan akan semakin mendekatkan kita kepada-Nya. Sebagaimana telah dibuktikan bahwa umbi binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah dan kadar MDA dengan variasi dosis 25, 50 dan 75 mg/Kg BB hewan coba. Allah SWT berfirman:

وَإِن مِّن شَيْءٍ إِلَّا عِنْدَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَّعْلُومٍ ﴿٢١﴾

“Dan tidak ada sesuatupun melainkan sisi kamilah khazanahnya, dan Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran tertentu” (QS. al-Hijr: 21).

Kata *qadara* dari ayat di atas memiliki arti mengukur, memberi kadar atau ukuran. Allah SWT telah memberikan kadar dan ukuran tertentu terhadap apa yang diciptakannya (Shihab, 1996). Salah satu kadar tersebut adalah dalam pemberian obat. Setiap obat memiliki kadar optimal dalam menyembuhkan penyakit. Jika pemberian obat tersebut tidak sesuai dengan kadarnya, maka obat tersebut bukannya mengobati akan tetapi dapat merugikan atau tidak memberikan pengaruh apapun. Dosis 25 mg/Kg BB merupakan dosis yang paling baik dalam menurunkan kadar MDA dibandingkan dengan kadar 50 dan 75 mg/Kg BB hewan coba. Kadar MDA yang dihasilkan dengan dosis tersebut adalah 5,625 mg/dL. Hasil dari kadar tersebut membuktikan bahwa umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat digunakan sebagai alternatif dalam pengobatan diabetes mellitus yang disertai komplikasi. *Wallahua'lam.*

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Terapi ekstrak kasar umbi binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis) memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar MDA (malondialdehid) dalam organ hati hewan coba hasil induksi aloksan. Dosis optimum penurunan kadar MDA adalah 25 mg/Kg BB hewan coba dengan kadar sebesar 5, 625 mg/ml.
2. Golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak kasar umbi binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis) antara lain senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengamatan gambar histologi pada organ hati hewan coba dengan pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE) dan diamati di bawah mikroskop elektron untuk mengetahui jenis dari diabetes mellitus yang dihasilkan oleh pemberian agen diabetogenik aloksan.
2. Perlu dilakukan penelitian selanjutnya dengan menggunakan dosis terapi umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang lebih kecil.

DAFTAR PUSTAKA

- Adfa, M. 2007. Isolasi Senyawa Flavonoid Aktif Berkhasiat Sitotoksik dari Daun Kemuning (*Murraya Paniculata* L. Jack). *Jurnal Gradien*. Vol.3 No.2 Juli 2007 : 262-266.
- Adji, D. 2008. Hubungan Konsentrasi Malondialdehida, Glukosa dan Total Kolesterol pada Tikus Putih yang Diinduksi Streptozotocin. *Jurnal Sains*. Vol. 26. No. 2.
- Akbar, H. R. 2010. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus Nutans*) Berpotensi sebagai Antioksidan. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Bogor. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Ali, M. 2013. Uji Toksisitas dan Fitokimia Sediaan Herbal (Ekstrak Etanol 70 %, Dekok dan Teh) Daun Kelor (*Moringa Oleifera lamk*) dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang. Jurusan Kimia. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maliki Malang.
- Anggraini, H. 2011. Pengaruh Pemberian Jus Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L) terhadap Nitric Oxide (NO) dan Reactive Oxygen Intermediate (ROI) Makrofag Tikus Terpapar Asap Rokok. *Tesis*. Semarang. Universitas Diponegoro.
- Anonymous. 2013. <http://www.plantamor.com> (diunduh pada bulan Mei 2013).
- Anwar, S. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Aquades (Suhu Kamar) dan Aquades Panas (70 %) dan Kelor (*Moringa Oleifera Lamk*) terhadap Larva Udang *Artemia Salina* Leach. *Jurnal Skripsi Kimia*. Tidak Diterbitkan. Malang. Jurusan Kimia. Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maliki Malang.
- Arifien, A. P. 2013. Uji Efek Seduhan Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) terhadap Libido Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) dalam Penggunaannya sebagai Afrodisiak dengan Alat Libidometer. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya*. Vol. 2. No. 1.
- Aripin, S. 2007. Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Bunga Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) dan Uji Aktivitasnya Sebagai Antioksidan. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.
- Arjadi, F. dan Priyo, S. 2010. Regenerasi Sel Pulau Langerhans pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes yang Diberi Rebusan Daging Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarp* (scheff.) Boerl.). Vol. 2. No. 2.
- Asih, I. A. R. A. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Isoflavon dari Kacang Kedelai (*Glycine Max*). *Jurnal Kimia*. Vol 3 (1) ISSN 1907-9850.

- Astuti, S. M. 2013. Analisa Aktifitas Penisilina dan Tetrasiklina pada Ekstrak Umbi Tanaman Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan Parameter Optimasi Waktu dan Temperatur. *Jurnal*. Bogor, Indonesia.
- Astuti, S. M. 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga dan Umbi Tanaman Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis). *Jurnal*. Bogor, Indonesia.
- Bintang, M. 2010. *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga.
- Britton, G. 1995. Structure and Properties of carotenoids in relation to function. *The FASEB Journal*. No. 9.
- Burcham, P. C. 1998. Genotoxic Lipid Peroxidation Products: Their DNA Damaging Properties and Role in Formation of Endogenous DNA Adducts. *Mutagenesis*. Vol. 13. No. 3.
- Candra, S. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa Blimbi* L.) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang Diinduksi Aloksan. *Laporan Hasil Karya Tulis Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.
- Chougle, A. D., Shrimant N. P., Pradeep M., Gurao dan Akalpita U. A. 2007. Optimazatiuon of Alloxan Done is Essential to Induce Stable Diabetes for Prolonged Period. *Asian Journal of Biochamistry*. Vol. 2. No. 6: 402-408.
- Dalimartha, S. 2007. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Diabetes Mellitus*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Darsana, I. G. O. 2012. Potensi Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenore) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia Coli* secara In Vitro. *Indeonesia Medicus Veterinus*. Vol. 1. No. 3. Hal: 337-351.
- Day JR., R.A. dan A. L. Underwood. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Keenam*. Jakarta: Erlangga
- Depkes, 2006. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Depkes RI. Jakarta: ii + 62 hlm.
- Dyahnugra, A. A. dan Simon, B. W. 2015. Pemberian Ekstrak Bubuk Simplisia Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana* L.) Menurunkan Kadar Glukosa Darah pada Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Strain Wistar Jantan Kondisi Hiperglikemik. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 3. No. 1.
- Fahriya, A. H. 2013. Aktivitas Anti bakteri Ekstrak Kasar Teripang Pasir (*Holothura scabra*) Pantai Kenjeran Surabaya terhadap Bakteri *Staphylococcus* DAN *Eschericia Coli*. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.

- Felicia. 2009. Efek Neuroterapi Ekstrak Air Akar *Acalypha Indica* Linn. (Akar Kucing) Dosis 20 Mg dan 25 Mg Secara *Eks Vivo* pada Saraf-Otot Gastroknemius Katak. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Jurusan Kedokteran Hewan Universitas Indonesia.
- Fidzaro. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Klabet (*Trigonella Foenum*) terhadap Kadar Glukosa Darah Gambaran Histologi Pankreas Mencit (*Mus Musculus*) yang Terpapar Streptozotocin. *Skripsi* tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Fitriani, W.S. 2011. Pengaruh Pemberian Sari Buah Mengkudu (*Morinda itrifolia* Linn.) terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Gukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Dibuat Diabetes. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Depok. Jurusan Farmasi Universitas Indonesia.
- Fitriyani, A., Lina W., Siti M. dan Nuri. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz & Pav*) pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*. Vol. 16. No. 1: 34-42.
- Gandjar, I. G. dan Abdul R. 2012. *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Halimah, N. 2010. *Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica* Linn.) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerjemah Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Institut Teknologi Bogor.
- Harjadi, W. *Ilmu Kimia Analitik Dasar*. Jakarta: Gramedia.
- Hasanah, U. 2014. Isolasi dan Uji Efektifitas Senyawa Saponin dalam Ekstrak Umbi Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Hayati, E. K. Jannah, A. Ningsih, R. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Antimalaria in Vivo Ekstrak Etil Asetat Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica* L.). *Jurnal*. Malang. UIN Maliki Malang.
- Hones, J.; Muller, P. dan Surridge, N. 2008. The Technology Behind Glucose Meters: Test Strip. *Jurnal Diabetes Technology & Therapeutics*. Vol. 10: S10-S26.

- Khunaifi, M. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Pseudomonas Aeruginosa*. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Maliki Malang.
- Koirewoa, Y.A.; Fatimawali dan Wiyono, W.I. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas (*Plucea indica* L.). *Jurnal*. Manado: Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT.
- Kondoy, S., Adeanne, W dan Widdhi, B. 2013. Potensi Ekstrak Etanol Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dari Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Sukrosa. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. Vo. 2. No. 3.
- Krisnatuti, D., Rina Y. dan Rasjmida. 2014. *Diet Sehat untuk Penderita Diabetes*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Kudus. 2006. *Al-Quranul Karim*. Menara Kudus. Jawa Tengah
- Kusnadi. 2008. Perubahan Malonaldehida Hati, Bobot Relatif *Bursa Fabricius* dan Rasio Heterofi L/Limfosit (H/L) Ayam Broiler yang Diberi Cekaman Panas. *Media Peternakan ISSN 0126-0472*. Vol. 32. No. 2. Hal: 81-87
- Kusumawati, 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Larasati, P., L. 2012. Efek Penurunan Kadar Glukosa Darah Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat (*Persea Americana* Mill) dan Buah Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) pada Mencit Putih Jantan yang Dibebani Gukosa. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Depok. Fakultas Matematika dan Ilmu Penegetahuan Alam Universitas Indonesia Depok.
- Lenny, S. 2006. Isolasi dan Uji Bioktivitas Kandungan Kimia Utama Puding erah dengan Metode Uji BSLT. F-MIPA. Universitas Sumatera Utara: Medan.
- Lukiati, B., Aullanni'am dan Win D. 2012. Profil Distribusi INOS dan Kadar Pankreas Tikus Diabetes Mellitus hasil Induksi MLD-STZ Pasca Pemberian Akstrak Etanol Temugiring (*Curcuma heyneana*). *Jurnal Kedokteran Hewan*. Volume 6 Nomor 2. Malang.
- Lusiana, H. 2009. Isolasi dan Uji Anti Plasmodium Secara In Vitro Senyawa Alkaloid dari *Albertisia Papuana* Becc. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Bogor. Institut Pertanian Bogor.
- Makalalag, I. W., Addeanny W., dan Weny W. 2013. Uji Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Kadar Gula Darah pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*) yang Diinduksi Sukrosa. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. Vol. 2. No. 1.

- Manoi F. dan Balitro. 2009. Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis) sebagai Obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan*. Vol. 15. No. 1.
- Marks, B.D; Marks, A.D dan Smith C.M. 1996. *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Jakarta : EGC.
- Marliana, D. S., Venty, S., dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Jurnal Biofarmasi*. Vol. 3. No. 1: 26-31.
- Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spatholobus Ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang Berfungsi sebagai Antioksidan. *Jurnal Penelitian MIPA*. Vol. 1. No. 1.
- Meiyanti, Hedi R. D. dan Fransiscus D. S. 2006. Efek Hipoglikemik Daging Buah Mahkota Dewa (*Phaleria Macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) terhadap Kadar Gula Darah pada Manusia Sehat Setelah Pembebanan Glukosa. *Universa Medicina*. Vol. 25. No. 3.
- Misnadiarly. 2006. *Diabetes Melitus Gangren, Ulcer, Infeksi, Mengenaligejala, Menanggulangi, dan Mencegah komplikasi*. Jakarta: Pustaka Obor Populer.
- Muadifah, A. 2013. Efektifitas Antimalaria dan Identifikasi Golongan Senyawa Ekstrak Etanol 80% Tanaman Anting-Anting (*Alcalipha Indica L*) pada Mencit. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: UIN Maliki Malang.
- Muhammad, I. 2009. Efek Antioksidan Vitamin C terhadap Tikus (*Rattus Norvegicus*) Jantan Akibat Pemaparan Asap Rokok. *Tesis Tidak Diterbitkan*. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Murdianto. A., R, Enny F. dan Dewi K. 2005. Isolasi, Identifikasi Serta Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid dari Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia col*. Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Universitas Diponegoro Semarang.
- Mu'nisa, A., Muflihunna, A. dan Andi, F. A. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Sukun terhadap Kadar Glukosa Darah dan Malondialdehida (MDA) pada Mencit (*Mus musculus*). Fakultas Farmasi. Universitas Muslim Indonesia Makassar.
- Nahari, D. 2014. Pemisahan Golongan Senyawa Aktif dan Penentuan Kandungan Fenolik Total dari Ekstrak Etanol Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steen) Serta Efek Terapinya terhadap Aktivitas *Superoksida Dismutase* Hati Tikus Diabetes. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.

- Noffritasari, B. 2006. Pengaruh Pemberian Infusa Daun Kacapiring (*Gardenia Augusta*, Merr.) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang diberi Beban Glukosa. *Artikel Ilmiah*. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
- Nugrahani, S. S. 2012. Analisis Perbandingan Efektifitas Ekstrak Akar, Batang, dan Daun Herba Meniran (*Phyllanthus Ninuri*) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Mencit. *Skripsi*. Universitas Negeri Semarang.
- Nugroho, A. E. 2006. Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*. ISSN 1412-033 X. Vol. 7. No 4.
- Nurlaili, E. 2010. Pengaruh Ekstrak Biji Klebet (*Trigonella foenum-graecum linn.*) terhadap Kadar Transaminase (GPT dan GOT) dan Gambaran Histologi pada Hepar Mencit (*Mus musculus*) yang Terpapar Streptozotocin. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Padilah, I. 2009. Uji Efek Hipoglikemia Fraksi Etil Asetat Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* Linn) pada Tikus Putih Jantan dengan Metode Induksi Aloksan dan Toleransi Glukosa. *Skripsi*. Diterbitkan. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan. UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Panjaitan T. D., Budhi P. dan Leenawaty L. 2008. Peranan Karotenoid Alami dalam Menangkal Radikal Bebas didalam Tubuh. *Jurnal*. Universitas Sumatera Utara.
- Panjuantiningrum, F. 2009. Pengaruh Pemberian Buah Naga Merah (*Hylocereus Polyrhizus*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
- Pradana, F. 2014. Identifikasi Flavonoid dengan Pereaksi Geser dan Pengaruh Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steen) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Induksi Aloksan. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Prameswari, O. M. dan Simon, B. W. 2014. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 2. No. 2.
- Puspita, M. D. A. 2009. Pengoptimuman Fase Gerak KLT Menggunakan Desain Campuran untuk Pemisahan Komponen Ekstrak Meniran (*Phyllanthus ninuri*). *Skripsi*. Diterbitkan. Departemen Kimia Fakultas MIPA. IPB.

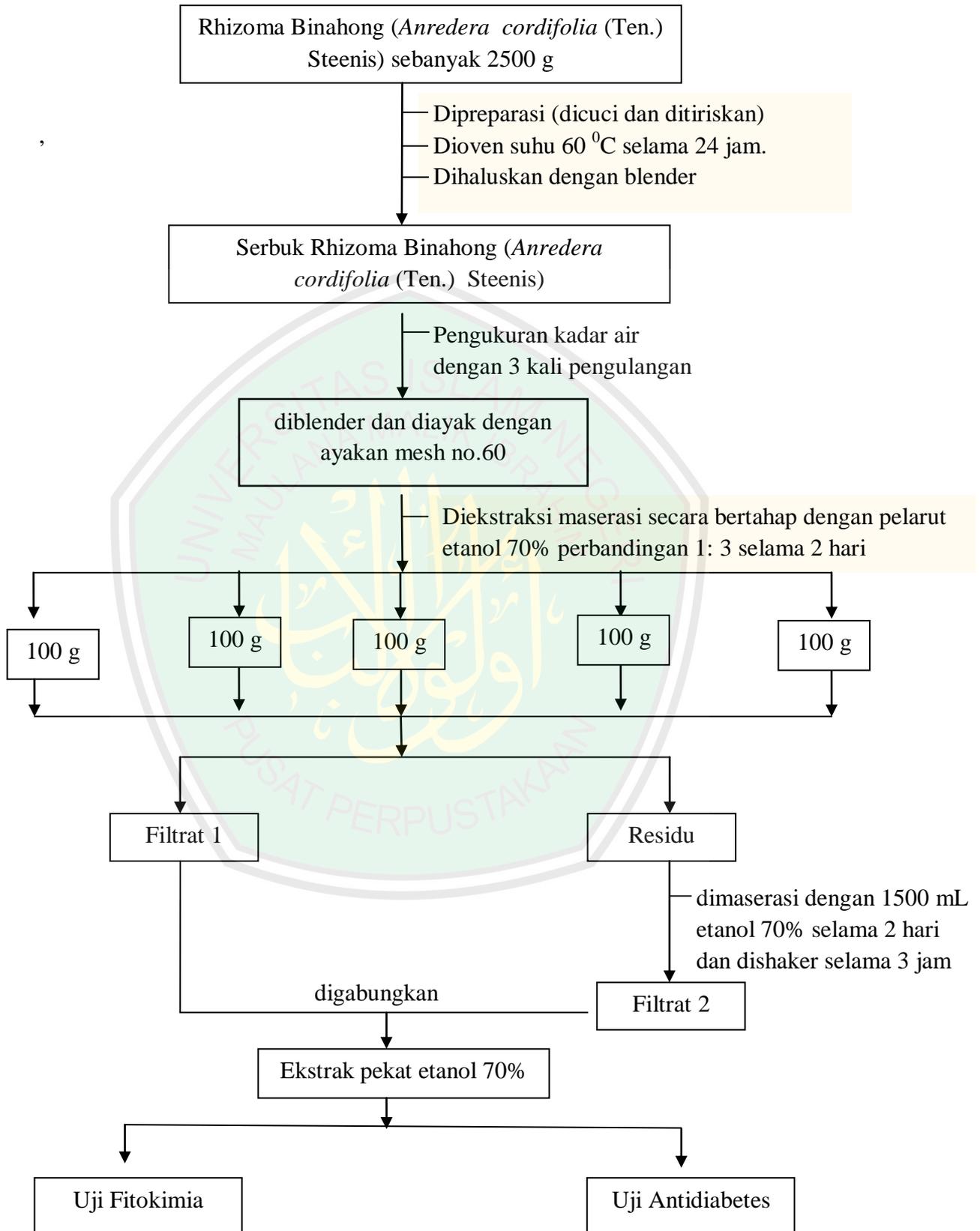
- Putri, K. R. 2009. Proliferasi Limfosit dan Kadar Malondialdehid pada Produk Pepes Ikan Iradiasi. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Rahmawati, L., Enny F. dan Dewi. 2005. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis). Semarang: Universitas Diponegoro.
- Ratimanjari, D. A. 2011. Pengaruh Pemberian Infusa Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata Nees*) terhadap Glibenklamid dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Dibuat Diabetes. *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Depok: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Program Studi Farmasi.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: Penerbit ITB.
- Saleh, C., Sitorus R; Nursanti. 2012. Uji Hipoglikemik Ekstrak Etanol Umbi. ISSN 1412-498x. *Mulawarman Scientifie*. Volume 11 Nomor 1. Samarinda.
- Salma, N., Jessy, P., Lidya, I. M., Sariyana, T. 2013. Antihiperlikemik Ekstrak Tumbuhan Suruhan (*Peperomia Pellucida* [L.] Kunth) terhadap Tikus Wistar (*Rattus Norvegicus L.*) yang Diinduksi Sukrosa. *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol. 13. No. 2.
- Sastrohamidjojo, H. 1996. *Sistesis Bahan Alam*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Sa'adah, L. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin dari Daun Belimbing Wuluh (*Avverhoa bilimbi L.*). *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Setiaji, A. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan etanol 70% Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 11229 Serta Skrining Fitokimianya. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Shofia, V., Aulanni'am, Chanif, M., 2013. Studi Pemberian Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargassum prismaticum*) terhadap Kadar Malondialdehid dan Gambaran Histologi Jaringan Ginjal pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes Melitus Tipe 1. *Kimia Student Journal*. Vol. 1. No. 1.
- Siadi, K. 2012. Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurnal MIPA*. Vol. 35. No. 1.

- Sriwahyuni, I. 2010. Uji Fitokimia Ekstrak Tanaman Anting-Anting (*Acalypha Indica Linn*) Dengan Variasi Pelarut dan Uji Toksisitas menggunakan Brine Shrimp (*Artemia Salina Leach*). *Skripsi Tidak Diterbitkan*. Malang: Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maliki Malang.
- Studiawan, H. dan Mulja, H. S. 2005. Uji Aktivitas Penurunan Kadar Ekstrak Daun *Eugenia Polyantha* pada Mencit yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal media kedokteran hewan*. Vol. 2. No. 2.
- Suarsana, I. N, B. P. Priosoeyanto, M. Bintang dan T. Wresdiyati. 2010. Profil Glukosa Darah dan Ultrastruktur Sel Beta Pankreas Tikus yang Diinduksi Senyawa Aloksan. *JITV*. Vol. 15. No. 2: 118-123.
- Subroto, M. A. 2008. *Real food true health, Makanan Sehat untuk Hidup Lebih Sehat*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Sudarmadji, S., Bambang, H., dan Suhardi. 2007. *Analisa Bahan Pangan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty Yogyakarta
- Sukadana, I. M. 2010. Aktivitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-Awar (*Ficus Septica Burm F*). *Jurnal Kimia*. Vol. 4 no. 1 ISSN 1907-9850.
- Susilaningsih, R. 2007. Isolasi, Identifikasi dan uji Toksisitas Senyawa Alkaloid Fraksi Etil Asetat Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia Galanga*). *Ringkasan*.
- Syaifuddin. 2009. *Anatomi Tubuh Manusia untuk Mahasiswa Keperawatan*. Jakarta: Salemba Medika.
- Syaikh, A. B. M. A. 2008. *Tafsir Ibnu Katsir*. Jakarta: Pustaka Imam Syafi'i
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism Of Alloxan And Streptozotocin Action In B Cells Of The Rat Pancreas. *Physiology Research*. 50: 536-54.
- Taylor, B. 2009. *Diabetes Tak Bikin Lemas, Menekan Risiko Penyakit Degeneratif pada Anda dan Keluarga Tercinta*. Yogyakarta: Paradigma Indonesia
- Titis, M., Enny F. dan Dewi K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia(Tenore) Steenis*). *Chem Info*. Vol. 1 No 1, hal 196-201
- Ulfa, A., Elok, K.H. dan Ahmad, H. 2014. Uji Toksisitas dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kloroform Kulit Dahan Sirsak (*Annona muricata Linn*) terhadap Larva Ugang *Artemia Selina Leach*. *Jurnal Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.

- Ummah, S. M. 2014. Efek Terapi Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera Cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Aktifitas Superoksida Dismutase (SOD) pada Ginjal Tikus (*Rattus Norvegicus*) Hasil Induksi Aloksan. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maliki Malang.
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Winarsi, H. 2011. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Wresdiyati. T, Made A., Diini F., I K. M. A., Savitri N. dan Septina A. 2013. Pengaruh Alfa-Tokoferol Profil Superoksida Dismutase dan Malondialdehid pada Jaringan Hati Tikus di Bawah Kondisi Stress. *Jurnal Veteriner*.
- Yuhernita dan Juniarti. 2011. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Surian yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Makara Sains*. Vol. 15. No. 1.
- Zainuri, M. dan Septelina I. W. 2012. Aktivitas Spesifik Manganese Superoxide Dismutase (MnSOD) dan Katalase pada Hati Tikus yang diinduksi Hipoksia Sistemik: Hubungannya dengan Kerusakan Oksidatif. *Media Litbang Kesehatan*. Vol. 22. No. 2.
- Zhijin, Z. dan Huang, R. 2013. Analysis of MDA, Klorofil, Soluble Sugar and Gutatione content in Arabidopsis Seeding. *Jurnal Bio-Protocol*.UB

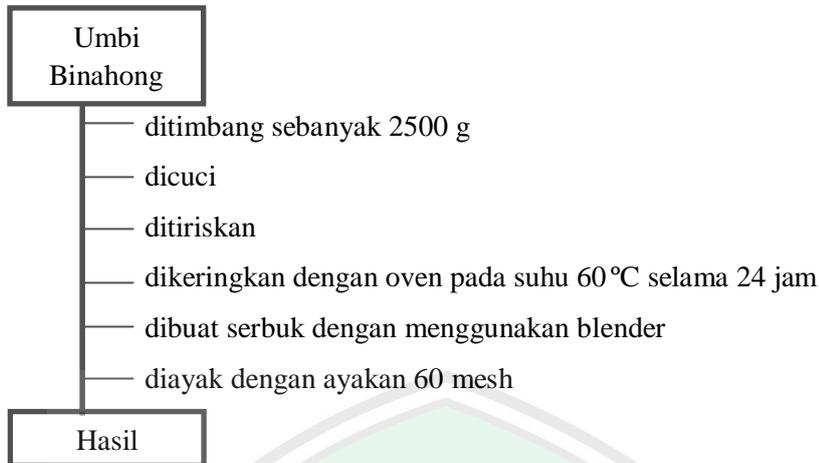
LAMPIRAN

Lampiran 1: Diagram Alir Penelitian

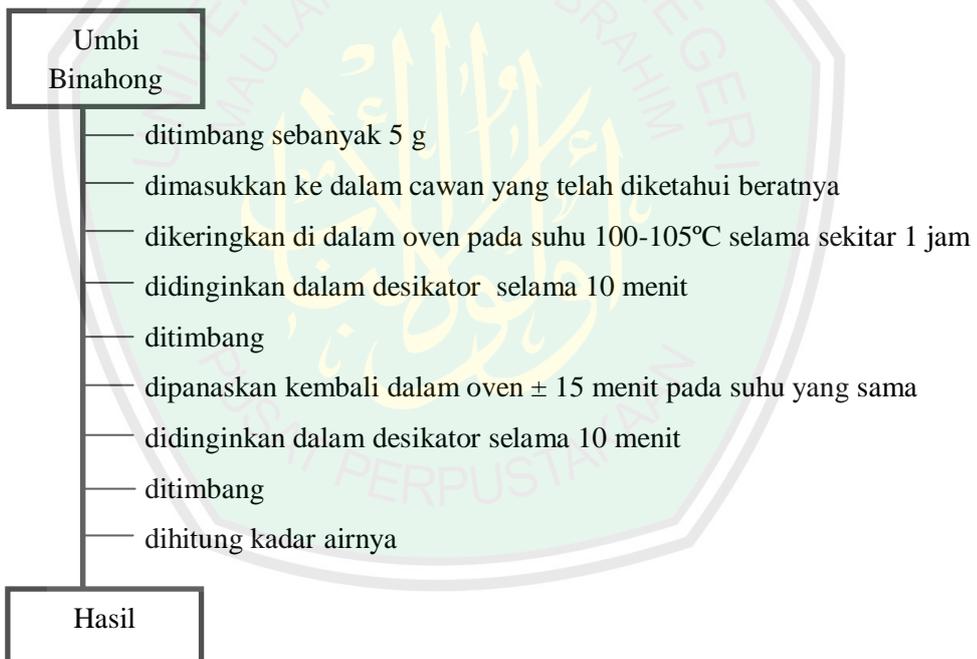


Lampiran 2: Langkah Kerja

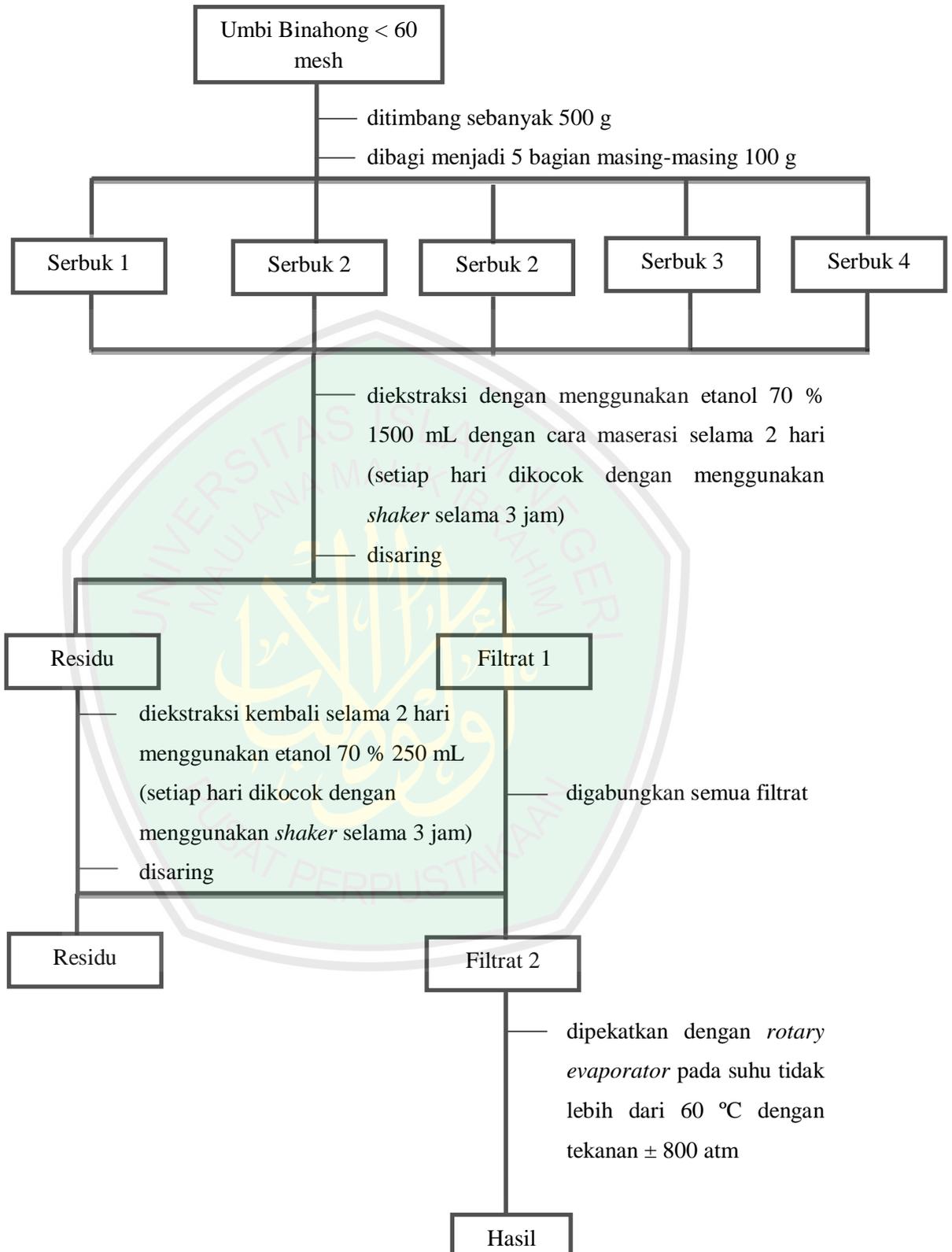
L.2.1. Preparasi Sampel



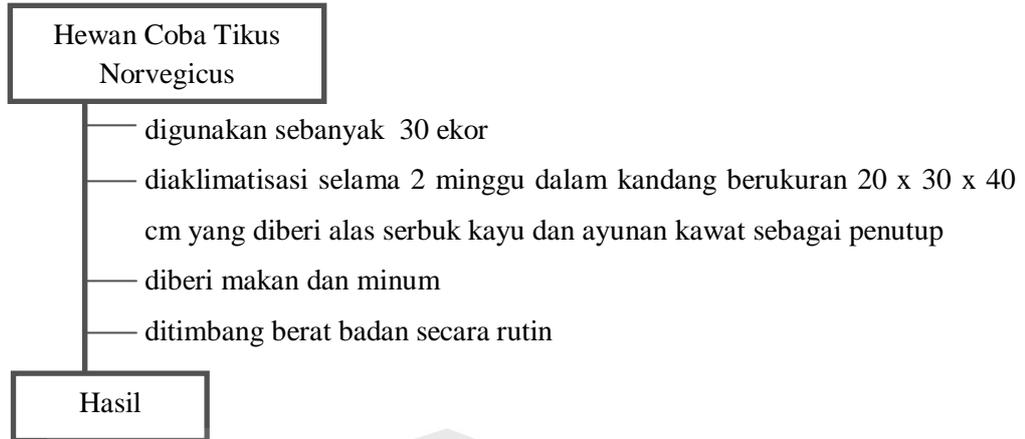
L.2.2. Penentuan Kadar Air dengan Metode Termografi



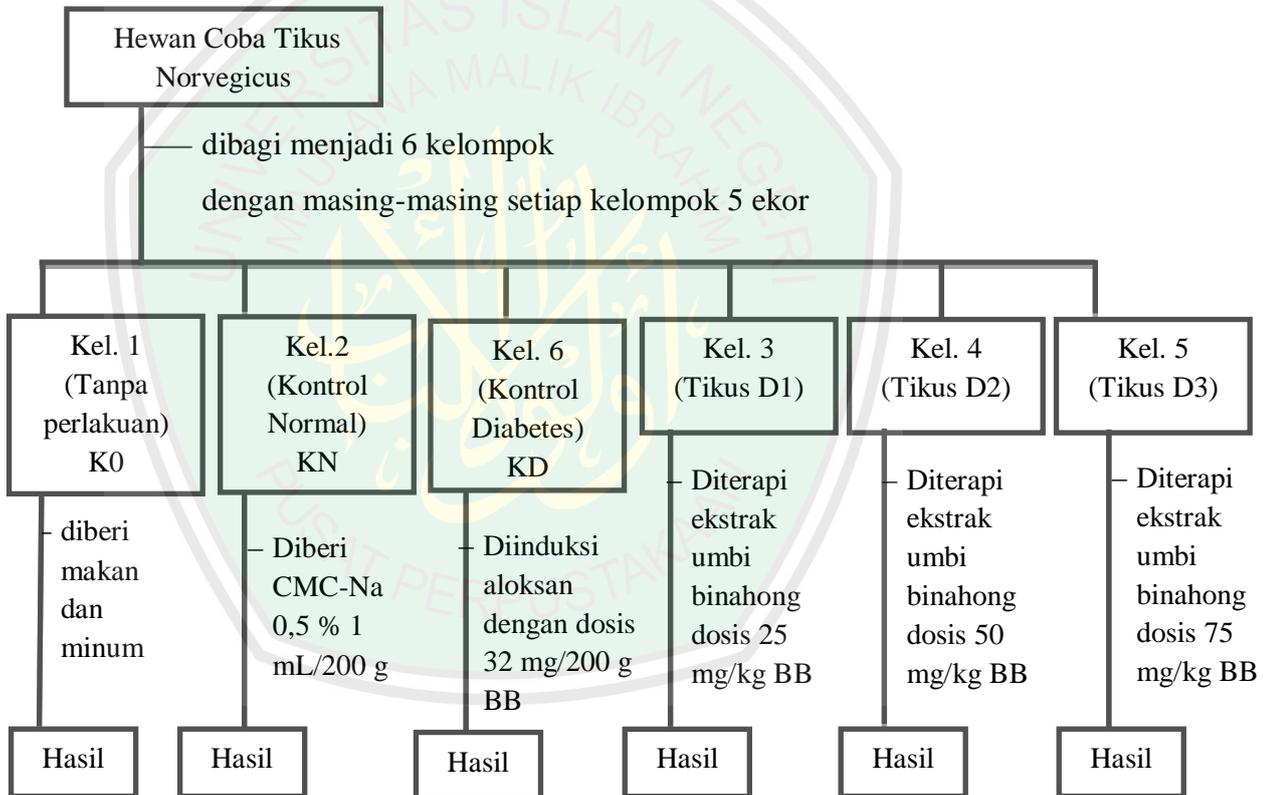
L.2.2. Ekstraksi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)



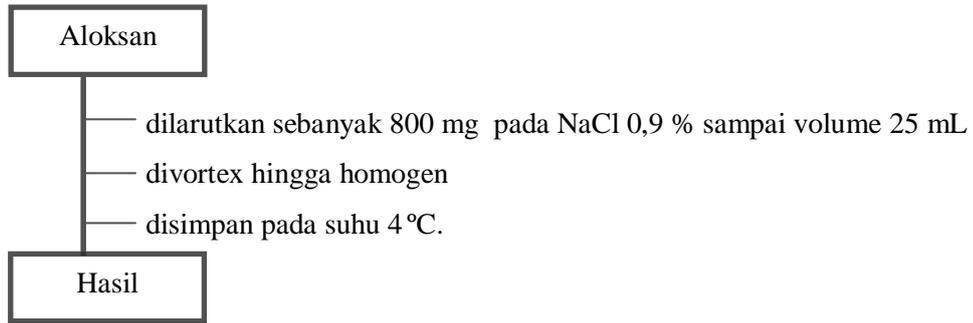
L.2.3. Penyiapan Hewan Coba



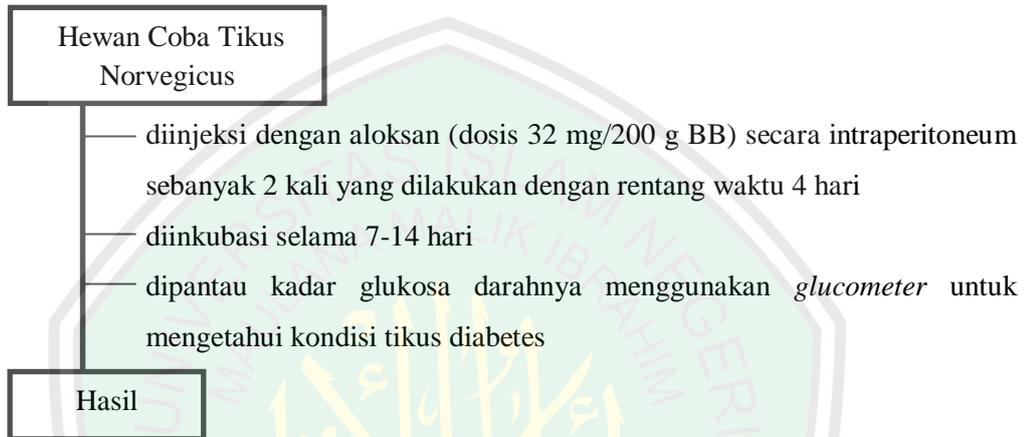
L.2.4. Perlakuan Hewan Coba



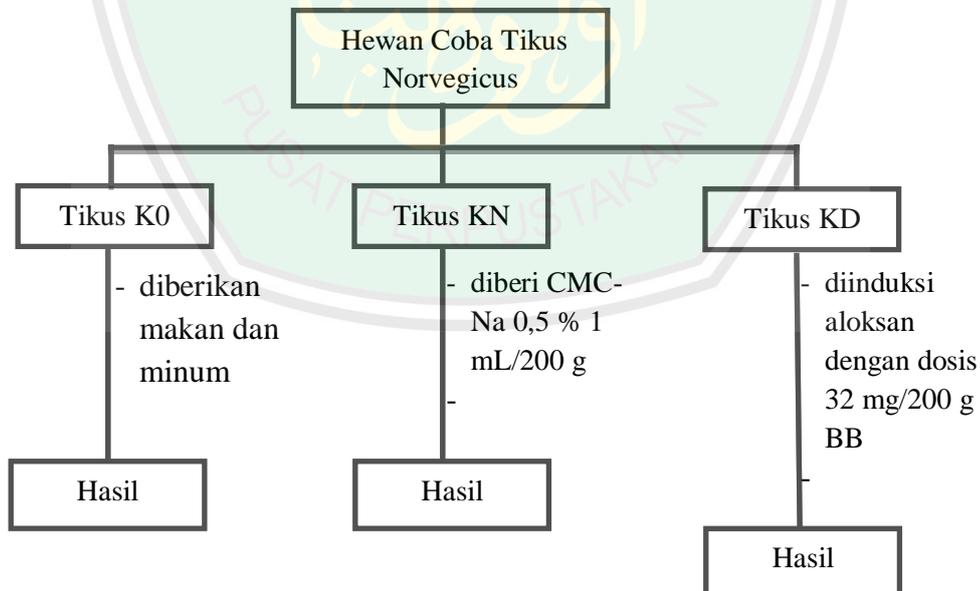
L.2.5. Pembuatan Larutan Aloksan



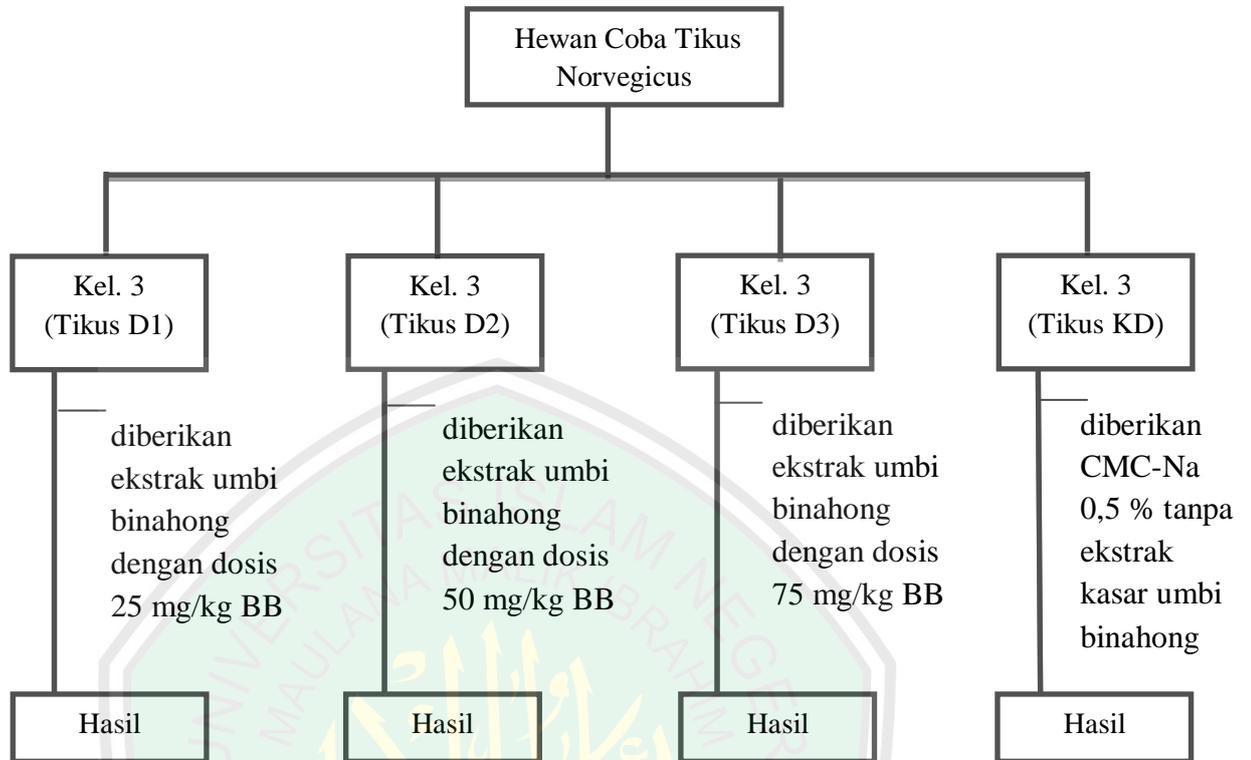
L.2.6. Pembuatan Tikus Diabetes Mellitus (DM)



L.2.7. Pembuatan Tikus Kontrol



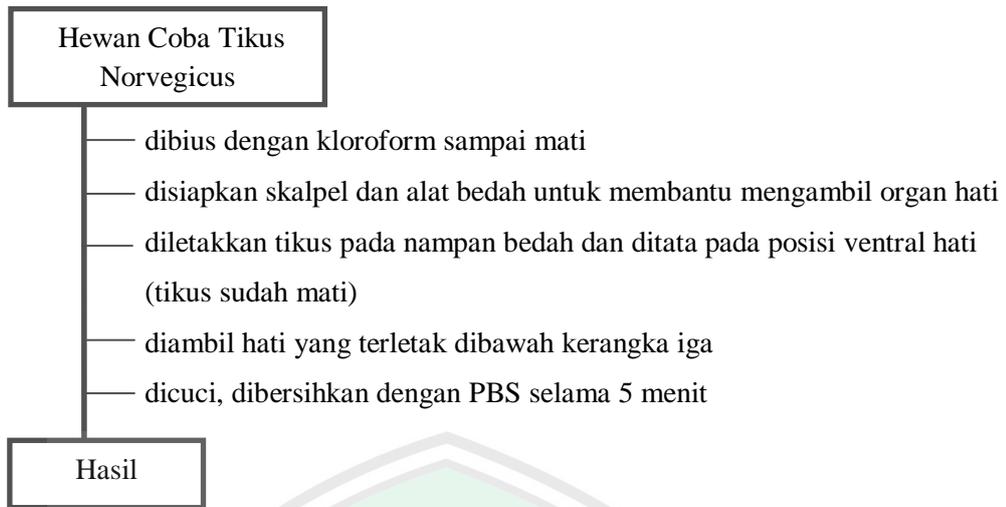
L.2.8. Terapi Tikus Diabetes



L.2.9. Pengukuran Kadar Glukosa

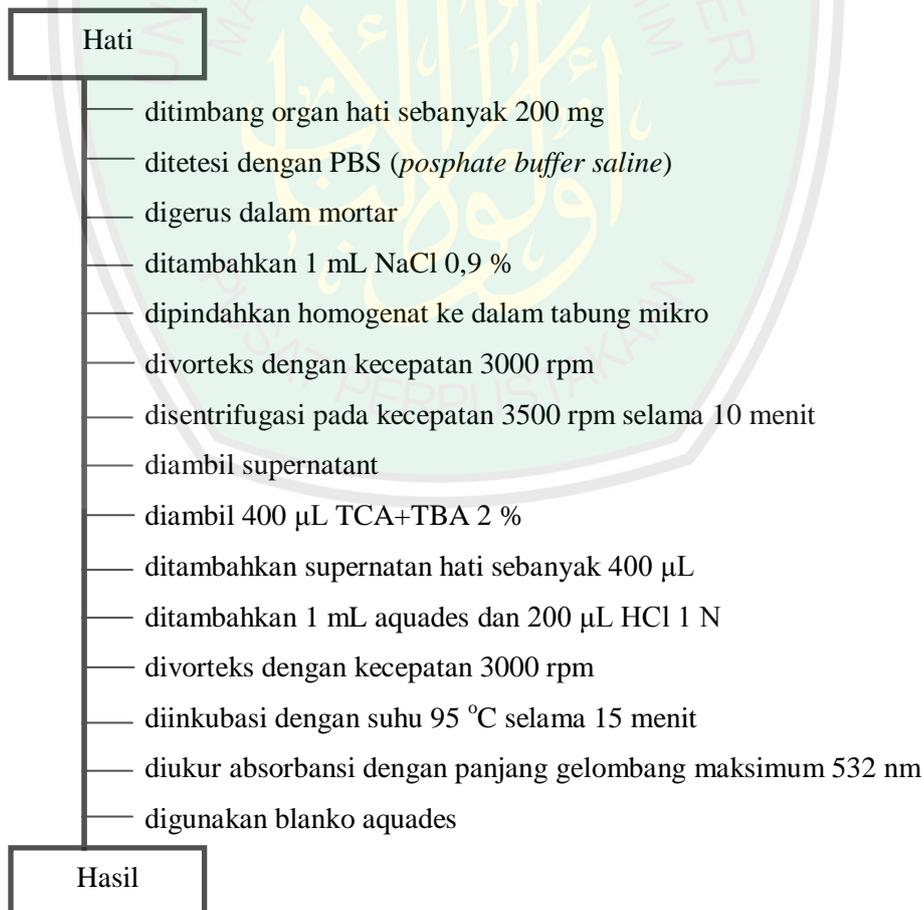


L.2.10. Pengambilan Organ Hati

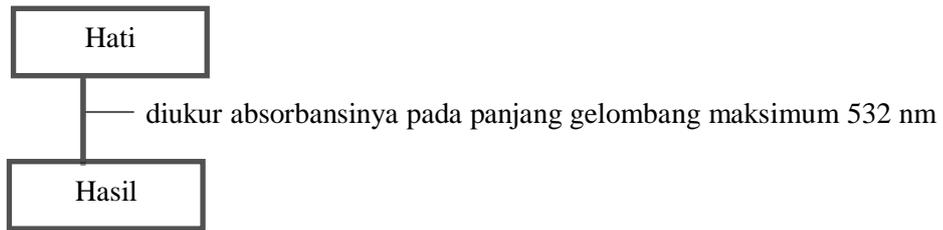


L.2.11. Pengukuran Kadar MDA

➤ *Isolasi Organ Hati*

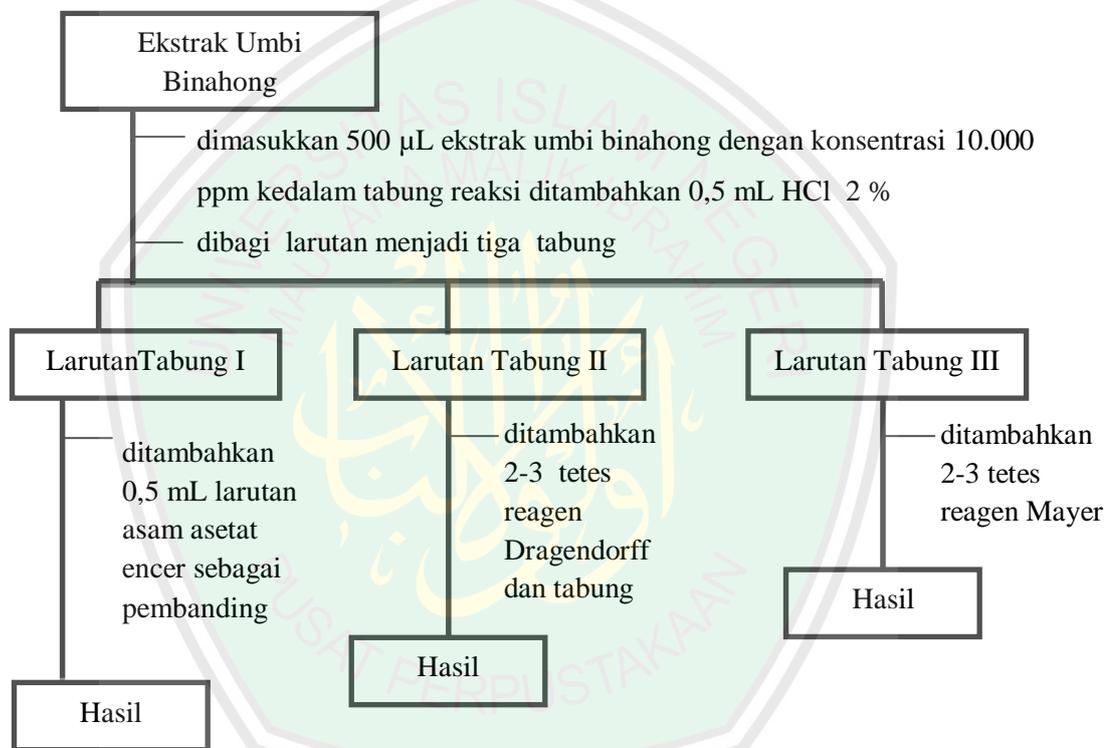


➤ **Pengukuran Kadar MDA**

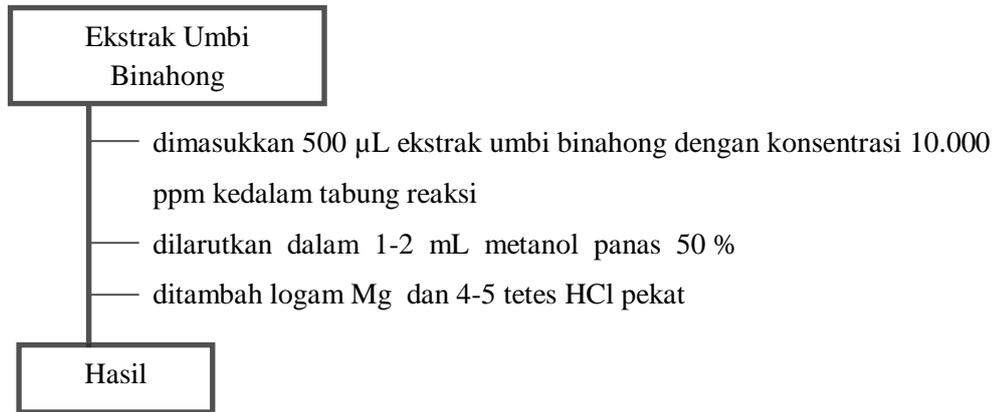


L.2.12. Uji Fitokimia dengan Reagen

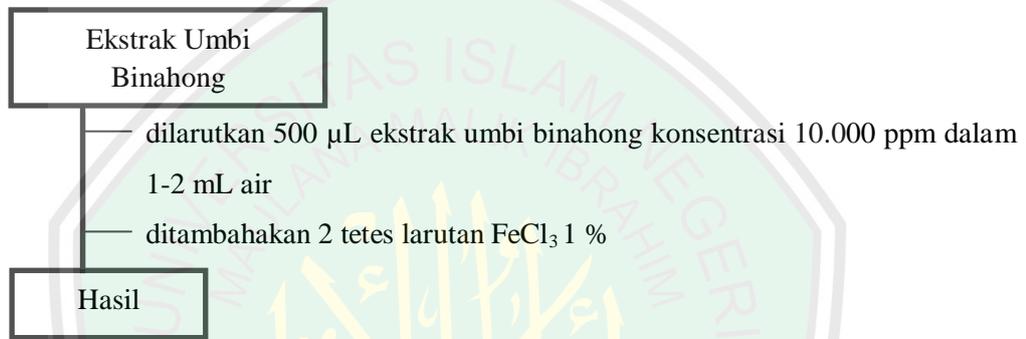
Uji Alkaloid



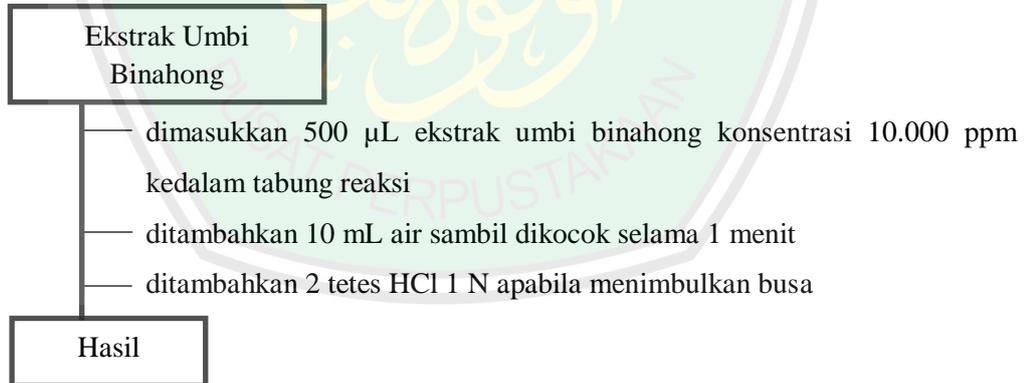
Uji Flavonoid



Uji Tanin



Uji Saponin



Uji Terpenoid

Ekstrak Umbi
Binahong

- dimasukkan 500 μL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm kedalam tabung reaksi
- dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform
- ditambah dengan 0,5 mL asam asetat anhidrat
- ditetesi dengan 1 - 2 mL H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut

Hasil



Lampiran 3 : Pembuatan dan Perhitungan Larutan

L.3.1 Pembuatan Larutan Etanol

Larutan etanol bertingkat dibuat dari larutan etanol absolut 99 % yang kemudian diencerkan menjadi 70 % dalam labu takar 100 mL dengan menggunakan aquades steril. Perhitungan pembuatan larutan etanol bertingkat 70 % dibuat dari etanol absolut, etanol absolut yang diperlukan adalah:

$$V_1 \cdot M_1 = V_2 \cdot M_2$$

$$V_1 \times 99 \% = 1000 \text{ mL} \times 70 \%$$

$$V_1 = 707 \text{ mL}$$

L.3.2 Pembuatan Reagen Dragendorff

Pembuatan pereaksi Dragendorff untuk pereaksi penyemprot, dilakukan dalam 2 bagian larutan yang berbeda. Pada larutan A, sebanyak 0,85 gr bismutsubnitrat dilarutkan dalam campuran 40 mL aquades dengan 10 mL HCl dalam beaker glass 100 mL. Pada larutan B, sebanyak 8 gr kalium iodida dilarutkan dalam 20 mL aquades dalam beaker glass 100 mL. Kemudian, masing-masing dari larutan A dan larutan B diambil sebanyak 5 mL untuk selanjutnya dicampurkan dengan 20 mL HCl dan ditanda bataskan dengan aquades hingga 100 mL dalam labu ukur 100 mL (Ditjen POM, 1989).

L.3.3 Pembuatan Reagen Mayer

Sebanyak 1,4 g raksa (II) klorida dilarutkan dalam air suling 60 mL. pada wadah lain dilarutkan 5 g kalium iodide dalam 10 mL air suling. Kemudian

keduanya dicampurkan dan ditambahkan air suling hingga diperoleh larutan 100 mL (Ditjen POM, 1978).

L.3.4 Pembuatan CMC 0,5 %

Perhitungannya sebagai berikut :

$$\frac{0,5 \text{ gr} \times 500 \text{ mL}}{100 \text{ mL}} = 2,5 \text{ gr}$$

Cara pembuatannya adalah 2,5 mg CMC dilarutkan dalam 50 mL air aquades panas dihomogenkan kemudian ditambahkan aquades dingin hingga volume 500 mL.

L.3.5 Pembuatan Metanol 50 %

Perhitungan yang digunakan sebagai berikut:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99,8\% \times V_1 = 50\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan metanol 99,8% sebanyak 5 mL dengan pipet volum 5 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL yang berisi \pm 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.6 Pembuatan FeCl₃ 1 %

Untuk membuat larutan FeCl₃ 1% adalah ditimbang sebanyak 0,1 g serbuk FeCl₃ dengan neraca analitik dalam gelas arloji, dimasukkan dalam beaker glass 50 mL untuk dilarutkan dengan \pm 3 mL aquades dengan dialirkan pada gelas arloji (untuk mengambil sisa FeCl₃ yang terdapat pada gelas arloji). Dilakukan

pengadukan dengan gelas pengaduk sampai larut sempurna. Setelah larut, dipindahkan dalam labu takar 10 mL dan ditambahkan aquades dengan menggunakan pipet tetes sampai tanda batas (digunakan miniskus atas) dikocok hingga homogen.

L.3.7 Pembuatan larutan HCl 1 N

Perhitungan yang digunakan sebagai berikut :

$$\text{BJ HCl pekat} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\% \text{ Volume} = 37\% (0,37)$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ gr/mol}$$

$$n = 1 \text{ (jumlah mol ion H}^{\text{+}}\text{)}$$

Molaritas HCl (M) :

$$\begin{aligned} \text{Massa HCl} &= \text{BJ HCl pekat} \times \% \\ &= 1190 \text{ g/L} \times 0,37 \\ &= 440,3 \text{ gr} \end{aligned}$$

$$\text{Mol HCl} = \frac{\text{Massa HCl}}{\text{BM HCl}} = \frac{440,3 \text{ gr}}{36,42 \text{ gr/mol}} = 12,09 \text{ mol}$$

$$\text{Konsentrasi HCl (M)} = \frac{\text{Mol HCl}}{\text{Volume HCl}} = \frac{12,09 \text{ mol}}{1 \text{ L}} = 12,09 \text{ M}$$

$$\begin{aligned} \text{Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas HCl} \\ &= 1 \times 12,09 \text{ M} \\ &= 12,09 \text{ N} \end{aligned}$$

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$12,09 \text{ N} \times V_1 = 1 \text{ N} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8,27 \text{ mL} = 8,3 \text{ mL}$$

Cara pembuatannya adalah diambil larutan HCl pekat 37% sebanyak 8,3 mL dengan pipet ukur 10 mL, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 100 mL yang berisi \pm 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.8 Pembuatan Larutan HCl 2%

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$37\% \times V1 = 2\% \times 10$$

$$V1 = 0,54 \text{ mL}$$

HCl sebanyak 0,54 dipipet, kemudian dipindahkan larutan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan aquades hingga tanda batas.

L.3.9 Pembuatan Larutan HCl 15 %

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

$$37\% \times V1 = 15\% \times 10$$

$$V1 = 4,05 \text{ mL}$$

HCl sebanyak 4,05 dipipet, kemudian dipindahkan larutan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditambahkan aquades hingga tanda batas

Lampiran 4: Penentuan dan Perhitungan Dosis

L.4.1 Dosis Ekstrak Etanol Umbi Binahong

Penentuan dosis ekstrak etanol umbi binahong untuk tikus adalah sebagai berikut:

Misalnya berat badan manusia 70 kg, maka dosis tikus adalah:

$$\text{Dosis 1} = 25 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 1.750 \text{ mg}$$

$$1.750 \text{ mg} \times 0,018 = 31,5 \text{ mg/200 g BB}$$

$$= 0,1575 = 0,16 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis 2} = 50 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 3.500 \text{ mg}$$

$$3.500 \text{ mg} \times 0,018 = 63 \text{ mg/200 g BB}$$

$$= 0,315 = 0,31 \text{ mg/g BB}$$

$$\text{Dosis 3} = 75 \text{ mg/kg BB} \times 70 \text{ kg} = 5.250 \text{ mg}$$

$$5.250 \text{ mg} \times 0,018 = 94,5 \text{ mg/200 g BB}$$

$$= 0,4725 = 0,47 \text{ mg/g BB}$$

L.4.2 Perhitungan Dosis dan Jumlah Ekstrak Larutan Uji

Rumus: Dosis x berat badan tikus

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan x Dosis x jumlah hari

Keterangan: Berat badan tikus = 200 gram

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan = 5

$$\text{Dosis 1} = 0,16 \text{ mg/g BB}$$

$$= 0,16 \text{ mg/g BB} \times 200 \text{ gr} = 32 \text{ mg}$$

$$= 5 \times 32 \text{ mg} \times 14 = 2.240 \text{ mg}$$

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 2.240 mg

Dosis 2 = 0,31 mg/g BB

$$= 0,31 \text{ mg/g BB} \times 200 \text{ gr} = 62 \text{ mg}$$

$$= 5 \times 62 \text{ mg/mL} \times 14 = 4.340 \text{ mg}$$

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 4.340 mg

Dosis 3 = 0,47 mg/g BB

$$= 0,47 \text{ mg/g BB} \times 200 \text{ gr} = 94 \text{ mg}$$

$$= 5 \times 94 \text{ mg/mL} \times 14 = 6.580 \text{ mg}$$

Maka, ekstrak ditimbang sebanyak 6.580 mg

Keterangan:

Angka 5 : jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

Angka 14 : jumlah hari terapi

Sehingga,

➤ Jumlah total ekstrak untuk uji antidiabetes adalah 13.160 mg = 13.160 g =
13,2 g.

➤ Jumlah total ekstrak untuk uji fitokimia adalah:

Pembuatan ekstrak tanaman umbi binahong 10.000 ppm:

$$10.000 \text{ ppm} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{10.000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{100 \text{ mg}}{10 \text{ mL}}$$

Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang sebanyak 100 mg kemudian diencerkan dengan 10 mL pelarut etanol 70 %. Kemudian dihomogenkan dengan pengadukan menggunakan pengaduk gelas, sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 10.000 ppm (ekstrak yang lebih encer sehingga mempermudah dalam identifikasi kualitatif dengan reagen tertentu). Perbandingan (100 mg : 10 mL) digunakan karena apabila menggunakan (10 mg : 1 mL) banyak terdapat eror dalam proses penimbangan dengan neraca analitik dimana menggunakan satuan mg yang merupakan nilai yang sangat kecil.

1. Uji Alkaloid = 0,5 mL
2. Uji Flavonoid = 0,5 mL
3. Uji Tanin = 0,5 mL
4. Uji Saponin = 0,5 mL
5. Uji Triterpenoid = 0,5 mL

Jadi jumlah total ekstrak yang dibutuhkan adalah **100 mg**.

- Jumlah total ekstrak untuk pemisahan dengan KLT:

Pembuatan ekstrak umbi binahong 1.000.000 ppm:

$$1.000.000 \text{ ppm} = \frac{1.000.000 \text{ mg}}{1 \text{ L}} = \frac{1.000.000 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} = \frac{1.000 \text{ mg}}{1 \text{ mL}}$$

Ekstrak pekat yang diperoleh ditimbang sebanyak 1.000 mg kemudian diencerkan dengan 1 mL pelarut etanol 70%. Kemudian dihomogenkan dengan pengadukan menggunakan pengaduk gelas, sehingga diperoleh ekstrak dengan konsentrasi 1.000.000 ppm (ekstrak yang lebih encer sehingga mempermudah dalam identifikasi kualitatif dengan penotolan). Kemudian ekstrak diletakkan di atas plat tetes untuk mempermudah pengambilan dengan pipa kapiler ketika akan ditotolkan.

Jadi jumlah total ekstrak adalah **1000 mg**.

- Jumlah ekstrak yang digunakan untuk identifikasi dengan spektroskopi inframerah adalah 100 mg

Maka, dapat diperkirakan jumlah keseluruhan ekstrak yang dibutuhkan adalah:

$$13.160 \text{ mg} + 100 \text{ mg} + 1000 \text{ mg} + 100 \text{ mg} = 14.360 \text{ mg} = \mathbf{15 \text{ gr}}$$

L.4.3 Perhitungan Aloksan

Dosis 160 mg /kg BB dengan bobot tikus 200 gr maka dosis aloksan

$$\frac{160 \text{ mg}}{1000 \text{ gr}} \times 200 \text{ gr} = 32 \text{ mg/tikus}$$

Maka 3,2 gr aloksan dilarutkan dalam 10 mL NaCl 0,9% sehingga setiap 1 ml mengandung 32 mg aloksan.

L.4.4 Perhitungan Ekstrak Umbi Binahong

$$\text{Rumus} = \frac{\text{Jumlah ekstrak/tikus} \times 100 \text{ mL}}{\text{Jumlah ekstrak}}$$

1. Dosis 25 mg/Kg BB

$$= \frac{32 \times 100 \text{ mL}}{2.240} = 1,43 \text{ mL}$$

Sehingga untuk larutan stock dosis 25 mg/Kg BB dibuat dengan melarutkan 2.240 mg ekstrak ke dalam 100 mL CMC 0,5% sehingga dalam 1,43 mL mengandung 32 mg ekstrak umbi binahong.

2. Dosis 50 mg/Kg BB

$$= \frac{62 \times 100 \text{ mL}}{4.340} = 1,43 \text{ mL}$$

Sehingga untuk larutan stock dosis 50 mg/Kg BB dibuat dengan melarutkan 4.340 mg ekstrak ke dalam 100 mL CMC 0,5% sehingga dalam 1,43 mL mengandung 62 mg ekstrak umbi binahong.

3. Dosis 108 mg/Kg BB

$$= \frac{94 \times 100 \text{ mL}}{6.580} = 1,43 \text{ mL}$$

Sehingga untuk larutan stock dosis 75 mg/Kg BB dibuat dengan melarutkan 6.580 mg ekstrak ke dalam 70 mL CMC 0,5% sehingga dalam 1,43 mL mengandung 94 mg ekstrak umbi binahong.

Lampiran 5: Perhitungan Kadar Air

Rumus Perhitungan : $\frac{b-c}{b-a} \times 100 \%$

Keterangan: a = Cawan Kosong

b = Cawan + Sampel Basah

c = Cawan + Sampel Kering

Hasil :

➤ Cawan Kosong (a)

Cawan	Pengulangan				
	I	II	III	IV	V
1	54,674	54,675	54,675	54,673	54,673
2	53,829	53,830	53,828	53,826	53,825
3	56,434	65,434	56,433	56,431	56,431

➤ Cawan Kosong + Sampel basah (b)

No	Cawan Kosong	Cawan + Sampel Basah
1	54,675	59,673
2	53,826	58,831
3	56,431	61,432

➤ Cawan Kosong + Sampel Kering (c)

Cawan	Pengulangan				
	I	20 menit	III	IV	V
1	54,674	54,675	54,675	54,673	54,673
2	53,829	53,830	53,828	53,826	53,825
3	56,434	65,434	56,433	56,431	56,431

Perhitungan Kadar Air

Cawan	a	b	c
1	54,673	59,673	59,352
2	53,682	58,831	58,502
3	56,431	61,431	61,112

Perhitungan % Kadar Air

$$\text{Kadar air Umbi 1} = \frac{59,673 - 59,352}{59,673 - 54,673} \times 100 \% = 6,40 \%$$

$$\text{Kadar air Umbi 2} = \frac{58,831 - 58,502}{58,831 - 58,826} \times 100 \% = 6,55 \%$$

$$\text{Kadar air Umbi 3} = \frac{61,432 - 61,112}{61,432 - 431,00} \times 100 \% = 6,40 \%$$

Rata-rata Kadar Air

$$\text{Rata-rata} = \frac{6,40 + 6,55 + 6,40}{3} = 6,45 \%$$

Perhitungan Faktor Koreksi

$$\begin{aligned} \text{Rumus Faktor Koreksi} &= \frac{100}{100 - \% \text{ Kadar air}} \\ &= \frac{100}{100 - 6,45} = 1,07 \% \end{aligned}$$

Menentukan % Kadar Terkoreksi

$$\begin{aligned} \text{Rumus Perhitungan} &= \text{Kadar Air} - \text{Faktor Koreksi} \\ &= 6,45 \% - 1,07 \% \\ &= 5,38 \% \end{aligned}$$

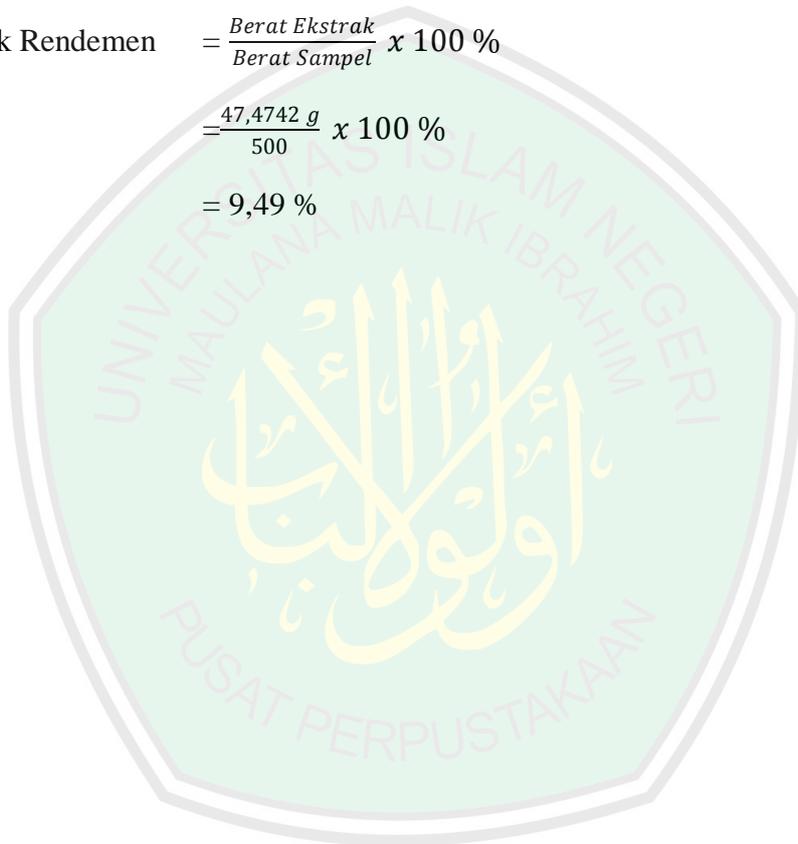
Lampiran 6 : Perhitungan Rendemen Ekstrak

Berat cawan petri kosong = 56,8071 g

Berat cawan + Ekstrak = 104,2813 g

Berat Ekstrak = Berat cawan + Ekstrak – Berat cawan petri kosong
= 104,2813 – 56,8071 g
= 47,4742 g

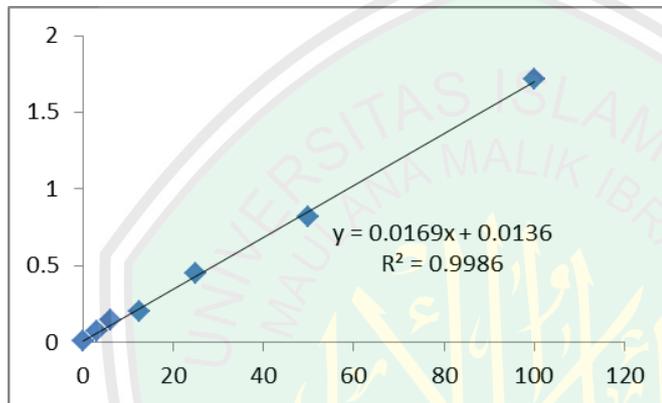
$$\begin{aligned}\text{Ekstrak Rendemen} &= \frac{\text{Berat Ekstrak}}{\text{Berat Sampel}} \times 100 \% \\ &= \frac{47,4742 \text{ g}}{500} \times 100 \% \\ &= 9,49 \%\end{aligned}$$



Lampiran 7: Perhitungan Kadar Malondialdehid (MDA) Secara Manual

Data dan Grafik Kurva Standar MDA

Kadar MDA (ng/mL)	Absorbansi
100	1.715
50	0.816
25	0.453
12.5	0.206
6.25	0.143
3.125	0.072
0	0.008



Didapatkan persamaan hasil kurva standar MDA $y = 0,00169x + 0,00136$

Data Hasil Pengukuran Kadar MDA pada Masing-masing Kelompok

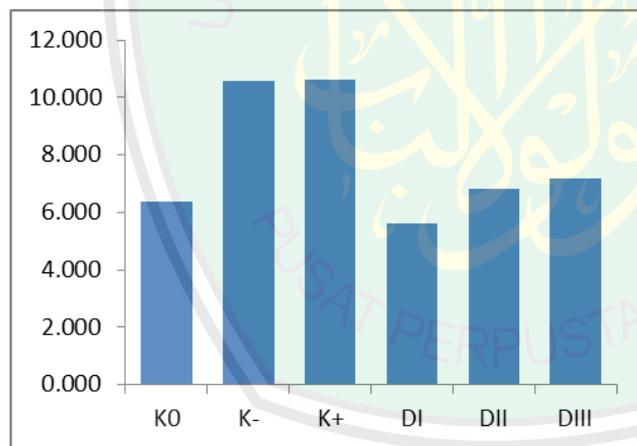
Kelompok	Sampel	Absorbansi	Kadar MDA (ng/mL)
Tanpa perlakuan (K0)	1	0,134	7,563
	2	0,111	6,125
	3	0,110	6,063
	4	0,104	5,688
	rata-rata		6,359
	Standar Deviasi		
Pelarut CMC-Na 0,5% (KN)	1	0,183	10,625
	2	0,180	10,500
	3	0,177	10,250
	4	0,189	11,000
	rata-rata		10,594
	Standar Deviasi		
DM+tanpa terapi (KD)	1	0,188	10,938
	2	0,193	11,250
	3	0,160	9,188
	4	0,192	11,188
	rata-rata		10,641
	Standar Deviasi		
DM+terapi dosis 25 mg/kg BB (D1)	1	0,131	6,250
	2	0,124	5,875
	3	0,123	4,313
	4	0,132	6,063
	rata-rata		5,625
	Standar Deviasi		
DM+terapi dosis 50 mg/kg BB (D2)	1	0,128	7,188
	2	0,122	6,813
	3	0,115	6,375
	4	0,124	6,938
	rata-rata		6,828
	Standar Deviasi		
DM+terapi dosis 75 mg/kg BB (D3)	1	0,131	7,375
	2	0,124	6,938
	3	0,123	6,875
	4	0,132	7,438
	rata-rata		7,156
	Standar Deviasi		

Keterangan:

- K0 : Kelompok tanpa perlakuan (hanya diberi makan dan minum)
KN : Kelompok kontrol pelarut CMC-Na 0,5% 1 mL/200 g BB (tanpa diberi aloksan maupun terapi)
KD : Kelompok kontrol DM tanpa terapi (yang diberi aloksan 32 mg/200 g BB tanpa diterapi dengan ekstrak etanol 70% umbi binahong)
D1 : Kelompok DM (diberi aloksan 32 mg/200 g BB) + Terapi ekstrak dosis 25 mg/kg BB
D2 : Kelompok DM (diberi aloksan 32 mg/200 g BB) + Terapi ekstrak dosis 50 mg/kg BB
D3 : Kelompok DM (diberi aloksan 32 mg/200 g BB) + Terapi ekstrak dosis 50 mg/kg BB

Data dan Diagram Batang rata-rata Kadar MDA Hati setiap Kelompok Perlakuan

No	Kode	Kadar MDA (mg/mL)
1	K0	6.359
2	KN	10.594
3	KD	10.641
4	DI	5.625
5	DII	6.828
6	DIII	7.156



L.8.1 Perhitungan One Way ANAVA Secara Manual

Data aktifitas SOD tiap kelompok perlakuan

Kelompok	Ulangan (X)				Total	Rerata
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄		
K0	7,563	6,125	6,063	5,688	25,439	6,360
KN	10,625	10,500	10,250	11,000	42,375	10,594
KD	10,938	11,250	9,188	11,188	42,564	10,641
D1	6,250	5,875	4,313	6,063	22,501	5,652
D2	7,188	6,813	6,375	6,938	27,314	6,828
D3	7,375	6,938	6,875	7,438	28,626	7,156
ΣX					188,819	

Keterangan:

- X₁ : Ulangan ke-1
- X₂ : Ulangan ke-2
- X₃ : Ulangan ke-3
- X₄ : Ulangan ke-4

1. Menghitung Frekuensi Kuadrat (FK)

$$FK = \frac{\sigma^2}{r \times n} = \frac{(188,819)^2}{4 \times 6} = \frac{35652,615}{24} = 1485,526$$

Keterangan: r = perlakuan
n = ulangan

Hipotesis:

H₀ = Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak umbi binahong terhadap kadar MDA hati tikus hasil induksi aloksan

H₁ = Ada pengaruh pemberian ekstrak umbi terhadap kadar MDA hati tikus hasil induksi aloksan

2. Menghitung JK (Jumlah Kuadrat)

$$\begin{aligned}
 JK \text{ Total} &= \epsilon x^2 - FK \\
 &= (7,563^2 + \dots + 7,438^2) - 1485,562 \\
 &= 1589,741 - 1485,562 \\
 &= 104,179
 \end{aligned}$$

3. Menghitung JK Perlakuan

$$\begin{aligned} \text{JK Perlakuan} &= \frac{\text{total kuadrat}}{\text{Ulangan}} - \text{FK} \\ &= \frac{(25,439^2 + \dots + 28,626^2)}{4} - 1485,526 \\ &= 1581,569 - 1485,526 \\ &= 96,043 \end{aligned}$$

4. Menghitung JK Galat

$$\begin{aligned} \text{JK Galat} &= \text{JK atotal} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 104,179 - 96,043 \\ &= 8,136 \end{aligned}$$

5. Menghitung Derajat Bebas (DB)

$$\text{dB (T)} = nt - 1 = 24 - 1 = 23$$

$$\text{dB (A)} = K - 1 = 6 - 1 = 5$$

$$\text{dB (D)} = nt - K = 24 - 6 = 18$$

6. Menghitung Kuadrat Tengah (KT)

$$\text{KT (A)} = \frac{JK (A)}{\text{db (A)}} = \frac{96,043}{5} = 19,208$$

$$\text{KT (D)} = \frac{JK (D)}{\text{db (D)}} = \frac{8,136}{18} = 0,462$$

7. Menghitung F hitung (Fh)

$$F_h = \frac{\text{KT (A)}}{\text{KT (D)}} = \frac{19,208}{0,462} = 41,576$$

8. Mencari F tabel

$$\begin{aligned}F_{\text{tabel}} &= F(\alpha 0,05; \text{db (A)}; \text{db (D)}) \\ &= F(\alpha 0,05; 5; 18) \\ &= 2,773\end{aligned}$$

Tabel Hasil Perhitungan One Way ANAVA Secara Manual

Sumber Varians	Db	JK	KT	F _{hitung}	F 5%
Kelompok (A)	5	96,043	19,208	41,576	2,773
Dalam (D)	18	8,136	0,462		
Total (T)	23	11,805			

$$F_{\text{hitung}} > F_{0,05} \quad H_0 \text{ ditolak}$$

$$41,576 > 2,773 \quad H_0 \text{ ditolak}$$

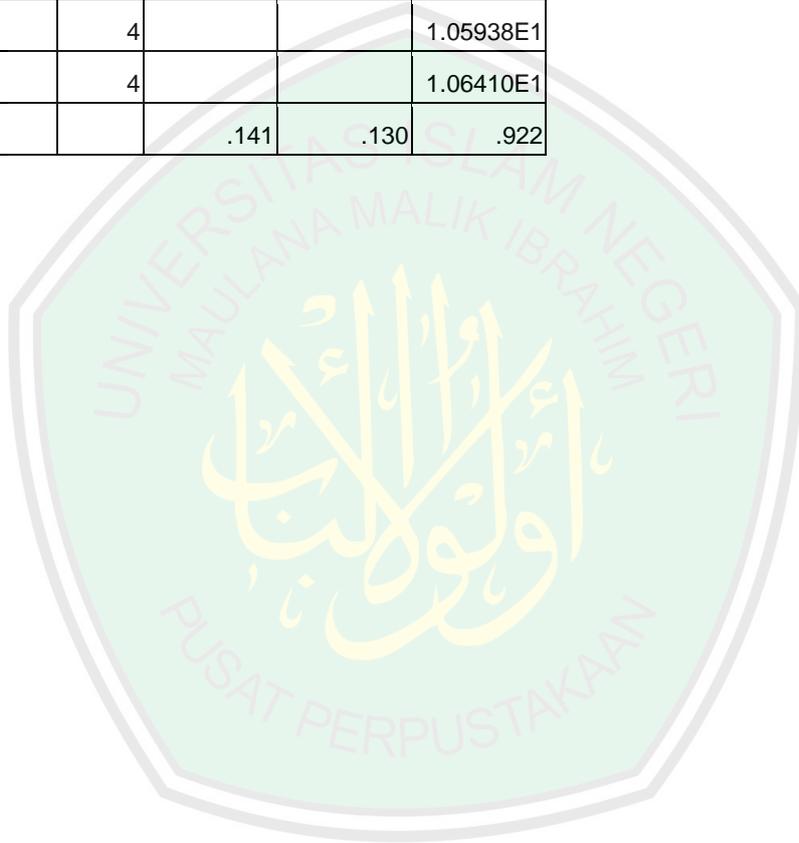
Kesimpulan: Ada pengaruh pemberian ekstrak umbi binahong terhadap kadar MDA hati tikus hasil induksi aloksan

L.8.2 Uji One Way ANAVA dengan Program SPSS 16.0

ANOVA					
MDA					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	96.043	5	19.209	42.309	.000
Within Groups	8.172	18	.454		
Total	104.215	23			

L.8.3 Uji Duncan dengan Program SPSS 16.0

MDA				
Duncan				
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
D1	4	5.62525		
K0	4	6.35975	6.35975	
D2	4		6.82850	
D3	4		7.15650	
KN	4			1.05938E1
KD	4			1.06410E1
Sig.		.141	.130	.922



Lampiran 8. Sertifikat Keterangan Kelaikan Etik



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No:221-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH EKSTRAK ETANOL 70% UMBI BINAHONG
(*Anredera cordifolia (ten) sten*) TERHADAP KADAR
GLUKOSA DARAH, MALONDIALDEHIDA (MDA),
SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD) TIKUS (*Rattus
norvegicus*) DIABETES MELLITUS TIPE I

PENELITI : FERRY PRADANA

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS ISLAM NEGRI MAULANA MALIK
IBRAHIM MALANG

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 24 Maret 2014
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya


Prof. Dr. drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

Lampiran 9 Dokumentasi

L.9.1 Preparasi Sampel



Sampel Umbi Binahong



Pencucian Sampel Umbi Binahong



Perendaman Sampel Umbi Binahong

L.9.2 Ekstraksi Sampel Umbi Binahong



Hasil Maserasi Sampel



Penyaringan Sampel



Serbuk Hasil Penyaringan



Filtrat Hasil Penyaringan



Proses Rotary Evaporator





Hasil Rotary Evaporator



Ekstrak Pekat Umbi
Binahong

L.9.3 Uji Antidiabetes

3.1 Preparasi Tikus Diabetes mellitus



Hewan Coba Tikus Putih
(*Rattus norvegicus*)



Larutan Aloksan (Agen
Diabetogenik)



Penyuntikan Aloksan
pada Hewan Coba

3.2 Pembuatan Dosis Hewan Coba



Ekstrak Etanol 70 %
Umbi Binahong



Pemanasan Aquades



CMC-Na dilarutkan
dengan Air Panas



Ekstrak Umbi Binahong + CMC Na



Pengenceran Dosis

3.3 Pengukuran Kadar Glukosa Darah



Glukometer Strip



Pengambilan Darah dengan Pematongan Ujung Ekor Hewan Coba



Pengukuran Kadar Glukosa Darah Hewan Coba

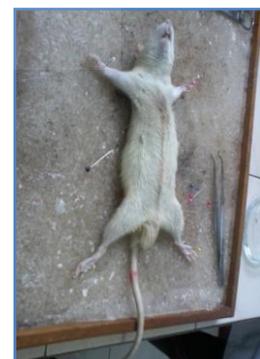
3.4 Pengambilan Organ Hati Hewan Coba



Hewan Coba Selesai dibius dengan Kloroform



Difiksasi Hewan Coba pada Papan Fiksasi





Pembedahan Hewan Coba



Pengambilan Organ Hati



Pencucian dan Perendaman Organ Hati dengan larutan PBS (Phosphate Buffer Saline)

3.5 Pengukuran Kadar Malondialdehid



Sampel Organ Hati



Timbangan Analitik



Sentrifugasi

3.6 Uji Fitokimia



Uji Senyawa Flavonoid
(++)



Uji Senyawa Alkaloid
Dragendrof (+)



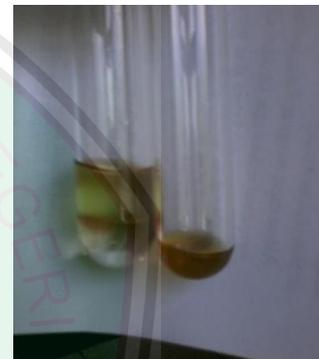
Uji Senyawa Alkaloid
Mayer (+)



Uji Senyawa Tanin
(++)



Uji Senyawa Saponin
(++)



Uji Senyawa Terpenoid
(++)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Untuk yang selalu ku Cintai dan Kurindukan,

Allah SWT yang Segala Maha, tidak ada Maha selain Dia dan Nabi Terahirku yang paling mulia Rasulullah Saw,

Untuk Semangat hidupku,

Amak dan Inakku tercinta Muhammad Salim dan Rohani,
Terimakasih aku ucapkan, tak ada yang dapat ku berikan untuk membalas jasa kalian, mungkin hanya karya kecil ini yang bisa aku persembahkan,

Untuk adik-adikku yang paling ganteng,

Muhammad Hatim, Achmad Yasin dan Achmad Turmuzi,
Terimakasih telah hadir menjadi adikku didunia ini, maafkan jika kakak belum bisa menjadi kakak yang baik untuk kalian,

Untuk semua Guru-guruku,

Terimakasih karena telah membagi ilmunya, terimakasih juga karena telah meluangkan waktunya untukku, terimakasih juga kepada admin dan laboran tercinta,

Untuk Abah dan Umi tercinta,

Abah Chusaini dan Umi Wardah
Terimakasih telah menjadi orang tua kedua untukku, untuk abah terimakasih untuk do'a, ilmu dan nasehatnya,

Untuk keluarga tercinta,

Mulai dari yang paling tua, untuk Mama, Mbokde, Qorro', Imprut, Ikha dan Cak Nuha. Terimakasih telah menjadi bagian dari hidupku, ternyata hidup ini terasa singkat jika bersama kalian. Itu karena aku bahagia. Terimakasih juga untuk Cak Adi yang sudah masuk menjadi keluarga kecil kami,, 😊😊

Untuk teman-teman kamar Juwairiyah tercinta,

Terimakasih kepada Masluhatin Nadziroh yang telah meminjamkan aku laptop dan inilah hasil laptopmu Dir,, 😊. Terimakasih juga kepada Amiroh al-Mahfuzhoh, Vivi (Virda cell), Li'ati, Dewi Queen, Ajeng cinta Rasulullah, Wiwit an-Na'im, Ala'ul Dila, Nala Ali, Nafis babol, Ning Hurin, Evi Abkariyah, Sarah, mbak Vina Azkiya, Novi, Nita dan Mia,

Dan seluruh keluarga besar PPTQ Nurul Furqon

Terimakasih atas cinta dan kasihnya, you are my everything,,,

Dariku Ujee Inges untuk kalian yang Kucintai,,