IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DAN EFEK TERAPI EKSTRAK ETANOL 70 % UMBI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN AKTIFITAS SOD *(Superoksida dismutase*) JANTUNG TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN

SKRIPSI

Oleh:
ANDRIEYANI
NIM. 10630032

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2014

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DAN EFEK TERAPI EKSTRAK ETANOL 70 % UMBI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN AKTIFITAS SOD (*Superoksida dismutase*) JANTUNG TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN

SKRIPSI

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)

Oleh:
ANDRIEYANI
NIM. 10630032

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2014

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DAN EFEK TERAPI EKSTRAK ETANOL 70 % UMBI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN AKTIFITAS SOD (*Superoksida dismutase*) JANTUNG TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN

SKRIPSI

Oleh :
ANDRIEYANI
NIM. 10630032

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji,
Tanggal 2 September 2014

Pembimbing I	Pembimbing II
Ahmad Hanapi, M.Sc	A. Ghanaim Fasya, M.Si
NIPT. 20140201 1 422	NIP. 19820616 200604 1 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DAN EFEK TERAPI EKSTRAK ETANOL 70 % UMBI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN AKTIFITAS SOD (*Superoksida dismutase*) JANTUNG TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN

SKRIPSI

Oleh:
ANDRIEYANI
NIM. 10630032

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal, 2 September 2014

Susunan Dewan Penguji :		Tanda Tangan
1. Penguji Utama	: Elok Kamilah Hayati, M. Si NIP. 19790620 200604 2 002	(.....)
2. Ketua Penguji	: Tri Kustono Adi, M.Sc NIP. 197103112003121002	(.....)
3. Sekr. Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIPT. 20140201 1 422	(.....)
4. Anggota Penguji	: A. Ghanaim Fasya, M.Si NIP. 19820616 200604 1 002	(.....)

Mengesahkan
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PERSEMBAHAN

Alhamdulillaahirobbil'aalamin...
dengan rasa syukur yang paling dalam kepada Allah SWT atas anugerah serta inayah-Nya karya sederhana ini dapat terselesaikan, karya ini akan kupersembahkan kepada:

Kedua orangku,,
Sukayatun dan Karnadi,, yang paling tersayang terima kasih atas do'a yang tulusnya, kesabaran, perhatian serta segala pengorbanan yang telah kalian berikan sehingga dapat menyelesaikan semua ini, tanpa kalian sebuah karya ini takkan mungkin ada. . .

My Brother, Sister,,
Mbak yeye, mbak Ruth dan K'Nazir, terima kasih atas segala dukungan, motivasi, do'a kalian serta semangat yang kalian berikan. dan para prince n princess yang aku sayangi "Intan, Desta, Fadhil, Fauzan, Ais n Nena" senyuman, keceriaan dan candaan kalian memberikan semangat setiap kali mengingat kalian ^_^ . . .

My Family,,
Keluarga besar mbah Karso dan Mbah Rasuki. bude serta mbahku yang telah mendahuluiku,, kalian inspirasiku.. terima kasih atas perhatian serta wejangan-wejangannya.. semoga selalu tenang ditempat sana. . .

Sahabat,,
My besties Ninis n Velly, terima kasih 3 tahun belakangan ini mau digangguin dan selalu ada suka duka menemani. Warga wisma arofah (bibii, Iin, Tuti, Kholidah, Mifta, Sasa) kebersamaan selama 2 tahun ini memberikan kesan yang begitu berarti. Sahabat 5 km nun jauh disana (Ellyf, Rytink, Taqiem, Ipin), Deby n Rina, PM 134, Room 31 terima kasih semuaa dan seseorang yang selalu aku repotin, mau digangguin, selalu ada disaat urgent dan selalu memberikan dukungan terima kasih atas segalanya . . .

Team binahong,,
(Ferry, Day Shine, Putri, Uswah, Silvi dan Uji) terima kasih atas kerjasama, ilmunya, kerja keras, kesabaran dan kebersamaannya, special thanks to tikus-tikus putih yang telah berkorban demi penelitian ini semoga kalian tenang dialam sana...

Seluruh keluarga besar Chemistry UIN Malang dan terkhusus angkatan 2010 terima kasih atas kebersamaan selama menuntut ilmu 4 tahun ini, Seluruh tenaga pengajar dosen kimia, pembimbing, admin dan stat laboratorium terima kasih atas segala ilmunya..

Dan seluruh orang-orang yang memberikan motivasi, semangat dan inspirasi yang tak bisa kusebutkan seluruhnya, Terima kasih ...

Andrieyani
ndrieyanni@gmail.com

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Motto

بِسۡمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحۡمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

وَٱذۡكُرِ ٱسۡمَ رَبِّكَ وَتَبَتَّلۡ إِلَيۡهِ تَبۡتِيلٗا ٨

Sebutlah nama Tuhanmu, dan beribadatlah kepada-Nya dengan penuh ketekunan.
(QS. al Muzzammil : 8)

* Do the best. Be the Best. *

Bukanlah hidup kalau tidak ada masalah, bukanlah sukses kalau tidak melalui rintangan, bukanlah menang kalau tidak dengan pertarungan, bukanlah lulus kalau tidak ada ujian, dan bukanlah berhasil kalau tidak berusaha

.Andrieyani.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

SURAT PERNYATAAN
ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Andrieyani

NIM : 10630032

Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/Kimia

Judul Penelitian : Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Efek Terapi Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Aktifitas SOD (*Superoksida dismutase*) Jantung Tikus yang Diinduksi Aloksan.

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan 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 dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 15 September 2014

Yang Membuat Pernyataan,

Andrieyani

NIM. 10630032

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya kepada penulis atas terselesaikannya skripsi ini yang berjudul: "**Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Efek Terapi Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera cordifolia (*Ten) Steenis) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)* Jantung Tikus yang Diinduksi Aloksan**". Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program S-1 (Strata-1) di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Seiring terselesaikannya penyusunan skripsi ini, dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu dan bapakku, Sukayatun dan Karnadi. Terimakasih atas cinta, kasih sayang, harapan dan doanya yang murni di dunia ini untuk anakmu
2. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc, selaku Pembimbing I
3. Ibu Hafidatul Hasanah, M.Si, selaku Konsultan
4. Bapak A.Ghanaim Fasya, M.Si, selaku Pembimbing Agama
5. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku Penguji Utama dan Ketua Jurusan Kimia
6. Bapak Tri Kustono Adi, M.Sc, Ketua Penguji

Atas bimbingan, pengarahan, dan nasehat serta segala bantuannya kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulisan skripsi ini tidak luput dari bantuan semua pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, penulis dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati, menghaturkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2. Ibu Dra. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M. Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maliki Malang.
3. Para Dosen Pengajar di Jurusan Kimia yang telah memberikan bimbingan dan membagi ilmunya selama berada di UIN Maliki Malang.
4. Seluruh staf Laboratorium dan Administrasi Jurusan Kimia atas seluruh bantuan dan sumbangan pemikiran selama penyelesaian skripsi ini.
5. Semua teman-teman Kimia khususnya angkatan 2010 yang telah berbagi kebersamaannya selama menuntut ilmu.
6. Seluruh anggota peneliti binahong (Velly, Day, Ferry, Uji, Putri, Uswah dan Silvi) terimakasih atas kerjasama dan bantuannya selama bergulat di binahong dan antidiabetes ini.
7. Keluarga besar Mbah Karso, saudaraku Mbak yeye, mbak Ruth terima kasih atas motivasi dan bantuannya
8. Si cantik Ninis dan penghuni Wisma Arofah Malang: Diatun, Iin, Tuti, Kholidah, Mifta, Sasa dan Mbak Ila. Terimakasih atas doa dan motivasi serta kebersamannya dalam satu atap. Bantuan vitalitasnya sungguh memiliki arti dalam penyelesain lembaran skripsi ini.
9. Sahabat 5 km dan semua orang yang ada disekelilingku (mereka yang memiliki sebab dan pengaruh baik) yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari semua pihak demi penyempurnaan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua

Malang, September 2014

Penulis

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **ii**
LEMBAR PERSETUJUAN ..... **iii**
LEMBAR PENGESAHAN ..... **iv**
LEMBAR PERSEMBAHAN ..... **v**
MOTTO ..... **vi**
SURAT PERNYATAAN ORISINALITAS ..... **vii**
KATA PENGANTAR ..... **viii**
DAFTAR ISI ..... **x**
DAFTAR TABEL ..... **xiii**
DAFTAR GAMBAR ..... **xiv**
DAFTAR PERSAMAAN ..... **xv**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xvi**
ABSTRAK ..... **xvii**

BAB I PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 6
1.3 Tujuan Penelitian 6
1.4 Batasan Masalah 7
1.5 Manfaat Penelitian 7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA **8**
2.1 Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) 8
2.1.1 Deskripsi Umbi Binahong 8
2.1.2 Klasifikasi Umbi Binahong 9
2.1.3 Kandungan dan Kegunaan Tanaman Binahong 9
2.2 Ekstraksi 11
2.3 Hidrolisis 13
2.4 Uji Fitokimia Senyawa Aktif 14
2.4.1 Alkaloid 14
2.4.2 flavonoid 15
2.4.3 Tanin 16
2.4.4 Saponin 17
2.4.5 Terpenoid 17
2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) 18
2.6 Diabetes Mellitus 20
2.6.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus 21
2.6.2 Komplikasi Diabetes Mellitus.. 22
2.6.3 Hubungan Diabetes Mellitus dengan Jantung 23
2.7 Tikus Putih *Rattus norvegicus* 24
2.8 Aloksan 26
2.9 Radikal Bebas 27

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.10 Antioksidan 28
2.11 Superoksida Dismutase (SOD) 30
2.12 Metode Pengukuran Aktivitas SOD 31
2.13 Glukometer 33

BAB III METODE PENELITIAN 34
3.1 Waktu dan Pelaksaan Penelitian 34
3.2 Alat dan Bahan Penelitian 34
3.2.1 Alat 34
3.2.2 Bahan 35
3.3 Rancangan Penelitian 35
3.4 Tahapan Penelitian 36
3.5 Prosedur Penelitian 37
3.5.1 Preparasi Sampel 37
3.5.2 Analisis Kadar Air 37
3.5.3 Ekstraksi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) 38
3.5.4 Uji Fitokimia dengan Reagen 38
3.5.4.1 Uji Alkaloid 39
3.5.4.2 Uji Flavonoid 39
3.5.4.3 Uji Tanin 39
3.5.4.4 Uji Saponin 39
3.5.4.5 Uji Terpenoid 40
3.5.5Pemisahan Senyawa Flavonoid 40
3.5.5.1Ekstraksi Flavonoid dari Ekstrak Pekat Umbi Binahong 40
3.5.5.2 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Analitik 41
3.5.6 Uji Antidiabetes 41
3.5.6.1 Penyiapan Hewan Coba 41
3.5.6.2 Perlakuan Hewan Coba 42
3.5.6.3 Pembuatan larutan Aloksan 43
3.5.6.4Pembuatan Tikus Diabetes 43
3.5.6.5 Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Tikus Diabetes 44
3.5.6.6 Terapi Tikus Diabetes dengan Ekstrak Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stenis) 44
3.5.7 Pengukuran Aktifitas SOD 45
3.5.7.1 Preparasi Sampel 45
3.5.7.2 Penentuan Aktifitas SOD 45
3.5.8 Analisis Data 46

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 47
4.1 Preparasi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) 47
4.2 Analisis Kadar Air 48
4.3 Ekstraksi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) ..... `49
4.4 Uji Fitokimia dengan Reagen 51
4.4.1 Alkaloid 52
4.4.2 Flanonoid 55
4.4.3 Tanin 56

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.4.4 Saponin 58
4.4.5 Terpenoid 58
4.5 Pemisahan Senyawa Flavonoid 59
4.5.1 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Analitik 61
4.6 Uji Antidiabetes 66
4.7 Analisis Aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)* 75
4.8 Perspektif Islam terhadap Pemanfaatan Tanaman Binahong 83

BAB V PENUTUP 87
5.1 Kesimpulan 87
5.2 Saran…… 87

DAFTAR PUSTAKA 88

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut..... 12
Tabel 2.2 Kadar glukosa darah sewaktu dan puasa 20
Tabel 2.3 Klasifikasi diabetes berdasarkan etiologi..... 21
Tabel 2.4 Tabel warna dan warna komplementer..... 32
Tabel 4.1 Hasil ektraksi maserasi serbuk umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) 51
Tabel 4.2 Hasil fitokimia ekstrak kasar etanol 70% umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) 52
Tabel 4.3 Hasil hidrolisis ekstrak flavonoid umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)..... 61
Tabel 4.4 Data penampakan noda senyawa flavonoid dari hasil KLTA ekstrak etanol 70% umbi binahong pada beberapa variasi eluen dengan lampu UV 366 nm..... 62
Tabel 4.5 Hasil KLTA Senyawa flavonoid ekstrak flavonoid umbi binahong dengan eluen BAA (4:1:5) setelah diuapi amonia 64
Tabel 4.6 Rerata kadar glukosa darah..... 70
Tabel 4.7 Ringkasan ANOVA pengaruh ekstrak umbi binahong terhadap kadar glukosa darah tikus diabetes mellitus..... 73
Tabel 4.8 Kurva standar SOD..... 76
Tabel 4.9 Rerata aktivitas SOD 79
Tabel 4.10 Ringkasan ANOVA terhadap aktifitas SOD jantung tikus..... 80

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Umbi binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis 9
Gambar 2.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan *o*-glikosida 14
Gambar 2.3 Struktur inti alkaloid 15
Gambar 2.4 Struktur dasar senyawa flavonoid 15
Gambar 2.5 Reaksi *scavenging* radikal bebas oleh flavonoid 16
Gambar 2.6 Contoh struktur senyawa tanin 17
Gambar 2.7 Struktur inti senyawa saponin 17
Gambar 2.8 Senyawa terpenoid 18
Gambar 2.9 Organ jantung 22
Gambar 2.10 Tikus putih (*Rattus norvegicus)* 26
Gambar 2.11 Struktur aloksan 26
Gambar 2.12 Reaksi pembentukan asam urat oleh *xantin oksidase* 31
Gambar 2.13 Reaksi radikal superoksida dan nbt menghasilkan formazan 32
Gambar 4.1 Reaksi hidrolisis bismuth 53
Gambar 4.2 Reaksi dalam reagen dragendorff 53
Gambar 4.3 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi dragendorff 53
Gambar 4.4 Reaksi dalam reagen mayer 54
Gambar 4.5 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi mayer 54
Gambar 4.6 Reaksi pada uji fitokimia flavonoid 56
Gambar 4.7 Reaksi dugaan antara tanin dengan $FeCl_3$ 57
Gambar 4.8 Reaksi hidrolisis flavonoid glikosida dengan HCl 60
Gambar 4.9 Gambar hasil KLT analitik BAA (4:1:5) senyawa flavonoid 63
Gambar 4.10 Mekanisme aloksan dalam sel β pankreas tikus 68
Gambar 4.11 Diagram batang nilai rerata kadar glukosa darah H_0 dan H_1 71
Gambar 4.12 Grafik kurva standar 76
Gambar 4.13 Reaksi radikal superoksida dan NBT menghasilkan formazan 78
Gambar 4.14 Reaksi radikal bebas dengan antioksidan 78
Gambar 4.15 Reaksi dugaan radikal bebas oleh flavonoid 82

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR PERSAMAAN

Persamaan 3.1 Kadar air 37
Persamaan 3.2 Faktor koreksi 38

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian..... 97
Lampiran 2. Skema Kerja 98
Lampiran 3. Pembuatan dan Perhitungan Reagen Larutan..... 109
Lampiran 4. Penentuan dan Perhitungan Dosis 112
Lampiran 5 Perhitungan Kadar Air..... 115
Lampiran 6 Perhitungan Rendemen Ekstrak 117
Lampiran 7.Data Kadar Glukosa Darah..... 118
Lampiran 8 Perhitungan Manual ANOVA Kadar Glukosa Darah 119
Lampiran 9 Hasil Statistika Program SPSS 16.0 ANOVA dan Uji Duncan 121
Lampiran 10 Data Analisi SOD Jantung 124
Lampiran 11 Perhitungan Manual ANOVA Aktifitas SOD 127
Lampiran 12 Hasil Statistika Program SPSS 16.0 129
Lampiran 13 Sertifikat Keterangan Kelayakan Etik 131
Lampiran 14 Tabel Kegiatan 132
Lampiran 15 Dokumentasi..... 133

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRAK

Andrieyani. 2014. **Identifikasi Senyawa Flavonoid dan Efek Terapi Ekstrak Etanol 70 % Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Aktifitas SOD (*Superoksida dismutase*) Jantung Tikus yang Diinduksi Aloksan**. Pembimbing I : Ahmad Hanapi, M.Sc; Pembimbing II : A. Ghanaim Fasya, M.Si; Konsultan : Hafidatul Hasanah, M.Si

kata kunci: flavonoid, ekstrak etanol 70 % umbi binahong, antidiabetes, SOD (*Superoksida dismutase)*, aloksan.

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia (Ten.)* Steenis) merupakan tanaman yang Allah ciptakan dan dimanfaatkan sebagai obat. Al Quran surat an Nahl ayat 11 menjelaskan bahwa Allah telah menciptakan berbagai tumbuhan dan memberikan manfaat bagi orang-orang yang memikirkannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi flavonoid serta mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70 % umbi binahong terhadap kadar glukosa darah dan aktifitas SOD pada tikus (*Rattus norvegicus)* yang diinduksi aloksan.

Metode yang digunakan untuk memperoleh ekstrak adalah maserasi dengan pelarut etanol 70 %. Kemudian ekstrak pekat yang diperoleh digunakan untuk uji golongan senyawa menggunakan uji fitokimia dan pengujian antidiabetes terhadap tikus yang diinduksi aloksan dosis 32 mg/200g BB. Ekstrak lalu dihidrolisis dan dipartisi dengan kloroform:air (1:1) serta dipisahkan senyawa flavonoidnya dengan kromatografi lapis tipis (KLT) analitik menggunakan variasi eluen.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol umbi binahong positif mengandung golongan senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid. Pemisahan golongan senyawa flavonoid telah memberikan pemisahan paling baik dengan campuran eluen butanol: asam asetat: air (4:1:5) yang menghasilkan 6 spot. Sedangkan pengujian antidiabetes pada tiga macam dosis 25, 50 dan 75 mg/kg BB ekstrak umbi binahong telah memberikan pengaruh penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)* berturut-turut 5,511; 5,217 dan 4,942 u/ml .

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRACT

Andrieyani. 2014**. Identification of Flavonoid Compounds in binahong tuber and Therapeutic Effect of 70 % Ethanol Extract of Binahong (*Anredera cordifolia (Ten.) Steenis)* Tuber on blood glucose levels and SOD activity *(Superoxide dismutase)* in Heart of Rat Induced Alloxan.** Supervisor I: Ahmad Hanapi, M.Sc; Supervisor II: A. ghanaim Fasya, M.Si; Consultant: Hafidatul Hasanah, M.Si

keywords: flavonoids, 70 % ethanol extract of tubers binahong, antidiabetic, SOD (*Superoxide dismutase*), alloxan.

Binahong (*Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*) is a plant that was created by Allah and used as a medicine. Allah says in Quran surah an Nahl verse 11 that he has created a different kinds of many plants that provide benefits to people who ponder. The aims of this research was to identify the flavonoid content in binahong tuber and determine the effect of 70 % ethanol extract of binahong tuber on blood glucose level and SOD activity in rats (*Rattus norvegicus*) induced alloxan.

The method used to obtain the extract was maceration using ethanol 70 %. The concentrated extract obtained was used to test the classes of its compound content using phytochemical test and antidiabetic effect against rats induced alloxan with dose of alloxan was 32 mg / 200 g BW. Then the extract was hydrolyzed and partitioned with chloroform: water (1: 1). The flavonoid compound contained in the extract was separated by analytic thin layer chromatography (TLC) technique using various eluents.

The results showed that the 70 % ethanol extract of binahong tuber contains flavonoids, alkaloids, tannins, saponins and terpenoids. Butanol: acetic acid: water (4: 1: 5) was the best eluent for separation of flavonoid compound in extract as it produce 6 spots. Binahong tuber extracts treatment with variation of extract dose, 25, 60 and 75 mg/kg BW, reduced the blood glucose levels and increased the SOD (*Superoxide dismutase*) activity of rat, that are 5,511 ; 5,217 and 4,942 u/mL respectively.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

مستخلص البحث

أندرياني . ٢٠١٤ . الجرذان القلب التعرف على مركبات الفلافونويد والعلاجية آثار استخراج النفط الخام ٧٠٪ من الإيثانول بيناهونج لمبات (أنرديرى كورديفوليي تين ستينيس) على مستويات السكر في الدم والنشاط من الهيئة العامة للسدود (ديسموتاز الفائق) آلوكسان المستحثة. المشرف الأول: أحمد حنفى الماجستير ، المشرف الثاني :أحمد غنائم فشا ، الماجستير ، المشرفة المستشارة :حفضة الحسنة الماجستيرة

الكلمات الرئيسية : الفلافونويدات، و ٧٠٪ الايثانول استخراج بيناهونج لمبات، المضادة لمرض السكرى، الهيئة العامة للسدود (ديسموتاز الفائق)، آلوكسان .

النباتات بيناهونج (أنرديرى كورديفوليي تين ستينيس) هى النبات التى خلقها الله ومفيدة كدواء. رسرة النحل الآية القرآن ١١ توضح أن الله خلق جميع النباتات وتوفير منافع للفكر. وتهدف هذه الدراسة إلى تحديد وتحديد تأثير مركبات الفلافونويد الخام ٧٠٪ من الإيثانول المستخلص من الدرنات بيناهونج على مستويات السكر في الدم ونشاط الهيئة العامة للسدود في الفئران (الجرذ النرويجي) آلوكسان المستحثة .

اكتساب مقتطفات الطريقة المستخدمة في استخراج النقع مع الايثانول ٧٠ ٪. ثم تم استخدام خلاصة مركزة الحصول على مجموعة الاختبار باستخدام اختبار مركب كيميائي نباتي والاختبارات المضادة لمرض السكر على الفئران آلوكسان التي يسببها جرعة من ٣٢ ملغ / ٢٠٠ غ ب ب . استخراج النفط الخام وتحلل وتقسيم مع الكلوروفورم: الماء (١: ١) ومركبات الفلافونويد مفصولة طبقة رقيقة اللوني باستخدام التباين التحليلي شاطف .

أظهرت النتائج أن استخراج الايثانول من درنة الطبقة بيناهونج إيجابية من المركبات التي تحتوي على مركبات الفلافونويد، قلويدات والعفص، السابونين وتيربينويدس. فصل الطبقة الفلافونويد مركبات مع خليط شاطف من بيوتانول: حمض الخليك: ماء (٤: ١: ٥) أعطى أفضل فصل تنتج ٦ بقعة. الاختبار على ثلاثة أنواع من الجرعات المضادة لمرض السكر من ٢٥ و ٥٠ و ٧٥ ملغم / كغم من خلاصة درنة بيناهونج تأثير انخفاض في مستويات السكر في الدم وزيادة النشاط من الهيئة العامة للسدود (ديسموتاز الفائق) ٥،٥١١ على التوالي؛ ٥،٢١٧ و ٤،٩٤٢و /مل.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kesehatan merupakan suatu ni'mat yang luar biasa yang Allah SWT berikan kepada manusia, sehingga sepantasnyalah kita menyukuri ni'mat tersebut, namun hal itu kadang kurang disyukuri. Sakit merupakan musibah dan ujian yang ditetapkan oleh Allah SWT, segala penyakit yang diberikan telah Allah tetapkan agar manusia selalu ingat kepadaNya, dalam QS. asy Syu'araa ayat 80 Allah SWT berfirman:

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴿٨٠﴾

Artinya: *"Dan apabila Aku sakit, dialah yang menyembuhkan aku"*(Q.S asy Syu'araa: 80)

Kata "Dia" dalam surat asy Syu'aara ayat 80 berarti Dia Allah SWT yang telah memberikan penyakit dan Dia pula yang akan menyembuhkan penyakit itu, karena sesungguhNya Dialah yang memberi kesembuhan, memberikan hidayah, sehingga kita sebagai manusia mampu bersyukur dan kembali hidup untuk mempertanggungjawabkan segala amal perbuatan kita dihadapan Allah SWT.

Diabetes mellitus merupakan suatu sindrom yang ditandai hiperglikemia kronis dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan berkurangnya sekresi insulin oleh sel-sel β pulau langerhans atau karena kerusakan jaringan akibat stres oksidatif yang timbul bila kecepatan pembentukan radikal bebas melebihi kapasitas sel untuk menetralkannya (Gustaviani, 2006).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Jumlah penderita diabetes mellitus di dunia dari tahun ke tahun mengalami peningkatan. Menurut data *World Health Organization* (WHO), Indonesia menempati urutan ke-4 terbesar dalam jumlah penderita diabetes mellitus di dunia. Pada tahun 2012 jumlah penderita 7,5 jiwa dan diperkirakan meningkat sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 mendatang (Soegondo, 2012).

Diabetes terdiri dari dua macam, yaitu diabetes mellitus Tipe 1 (DM 1) yang merupakan penyakit autoimun yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa dalam darah, akibat kerusakan sel β pankreas oleh aktivitas radikal bebas, sehingga sangat memerlukan injeksi insulin dari luar tubuh (Dalimartha, 2007). Serta diabetes mellitus Tipe 2 (DM 2) akibat faktor gaya hidup serta faktor lingkungan. Diabetes yang tidak segera diobati, dapat mengakibatkan berbagai komplikasi yang dapat menyebabkan kerusakan disfungsi berbagai organ tubuh. Salah satunya adalah organ jantung, jantung merupakan suatu organ yang vital dalam tubuh, fungsi jantung sebagai pemompa darah keseluruh tubuh dapat terganggu akibat tingginya kadar glukosa darah sehingga dapat meningkatkan kerja jantung 4-8 kali dari keadaan normal (Supriono, 2008). Dan penyebab kematian diabetes mellitus pada usia dibawah 50 tahun dengan infark jantung sebesar 30 %, gagal ginjal 20 % dan ketoasidosis 15 % (Sutedjo, 2010).

Ketergantungan serta mahalnya kebutuhan insulin pada penderita diabetes mellitus, menyebabkan masyarakat mencari alternatif pengobatan tradisional, yang secara alami dapat mengobati diabetes mellitus. Salah satunya adalah dengan cara alternatif terapi herbal, dimana dengan menggunakan ramuan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

berbagai tanaman obat dapat memberikan efek atau pengaruh akibat senyawa aktif dalam tanaman obat tersebut (Utami, 2003).

Allah SWT telah menjelaskan dalam al Quran, bahwa Allah SWT telah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan yang indah, hijau dan banyak memberi manfaat serta kenikmatan kepada manusia. Adapun firman Allah SWT dalam surat an Nahl ayat 11:

يُنۢبِتُ لَكُم بِهِ ٱلزَّرۡعَ وَٱلزَّيۡتُونَ وَٱلنَّخِيلَ وَٱلۡأَعۡنَٰبَ وَمِن كُلِّ ٱلثَّمَرَٰتِۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَأٓيَةٗ لِّقَوۡمٖ يَتَفَكَّرُونَ ١١

Artinya:*Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanaman-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam-macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang memikirkan"*(Q.S. an Nahl: Ayat 11)

Ayat tersebut sesungguhnya Allah SWT telah memerintahkan agar kaum yang memikirkan akan tanda-tanda kekuasaanNya tentu akan dapat mengambil pelajaran serta manfaat terhadap segala ciptaanNya. Sebagaimana memanfaatkan tanaman sebagai tanaman obat (Shihab, 2002).

Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat alternatif diabetes mellitus adalah binahong (*Anreedera cordifolia (Ten.)* Steenis). Seluruh bagian tanaman ini berkhasiat mulai dari akar, batang, daun dan umbinya. Tumbuhan ini sering digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, diantaranya adalah untuk menyembuhkan luka bakar, luka setelah operasi, rematik, asam urat, tifus, stroke, pembengkakan jantung dan diabetes. Hal ini karena binahong mengandung beberapa senyawa aktif. Penelitian Astuti (2011), menyatakan bahwa dalam binahong metabolit sekunder yang tertinggi adalah total

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

fenol, total flavonoid serta total saponin. Kemudian penelitian Saleh dkk (2012), kandungan senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan ekstrak etanol pada umbi binahong yaitu flavonoid, steroid dan fenolik. Makalalag dkk (2013), dengan adanya metabolit sekunder tersebut binahong telah memberikan pengaruh penurunan kadar gula hewan coba, karena terdapat saponin yang berperan menurunkan kadar gula darah. Penelitian Saleh dkk (2012), menggunakan ekstrak umbi binahong dengan dosis 25 mg/kg BB dapat menurunkan glukosa darah dengan induksi glukosa 50 % sebanyak 4 mg/kg BB, dimana golongan senyawa flavonoid yang diduga dapat mengembalikan sensitifitas reseptor insulin pada sel sehingga dapat menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes mellitus.

Diabetes mellitus menghasilkan *reactive oxygen spesies* (ROS), keberadaan ROS yang berlebihan tersebut menyebabkan terjadinya stress oksidatif karena adanya ketidakseimbangan antara radikal bebas yang dihasilkan dengan antioksidan yang ada dalam tubuh sehingga terjadi kerusakan membran sel yang ditandai dengan penurunan kadar antioksidan tubuh (Fiqriyana, 2010). Salah satu antioksidan didalam tubuh untuk melawan radikal bebas atau keberadaan ROS adalah *Superoksida dismutase* (SOD) (Retno, 2013).

SOD merupakan enzim yang diproduksi secara alami oleh organisme yang mengkonsumsi oksigen. SOD berperan sebagai salah satu mekanisme pertahanan terhadap spesi oksigen reaktif, Selain itu memperbaiki sel-sel dan mengurangi kerusakan sel tersebut yang disebabkan oleh superoksida, radikal bebas yang paling umum dalam tubuh (Pitayu, 2007). Penelitian Wresdiyati (2003) kondisi diabetes melitus dapat mengakibatkan penurunan antioksidan yaitu *Superoksida*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dismutase (SOD) dalam jaringan akibat peningkatan radikal bebas dalam tubuh. Kadar radikal bebas pada makhluk hidup dapat diketahui dari pengaruh antioksidan endogen atau aktivitas enzim SOD. Penelitian Bahri (2012), melakukan uji aktivitas SOD dengan menggunakan enzim *Xantine oksidase* sehingga menunjukkan penurunan kadar glukosa dan peningkatan aktivitas SOD .

Peningkatan aktivitas SOD dapat digantikan dengan antioksidan alami seperti binahong. Selawa (2013), kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol binahong berpotensi sebagai antioksidan. Sehingga pada penelitian ini metode yang digunakan untuk mengekstrak senyawa aktif tersebut adalah maserasi dengan etanol 70 % (Makalalag, 2013). Secara teori, etanol digunakan karena merupakan pelarut yang aman, tidak beracun dan tidak berbahaya serta mempunyai polaritas yang tinggi sehingga dapat mengekstrak lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain. Selain itu, secara farmakoterapi pembuatan obat herbal secara umum telah menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 70 % - 80 % (Sukandar, 2011).

Ekstrak umbi binahong diberikan untuk mengetahui efektifitas antioksidan dengan menggunakan dosis 25, 50, 75 mg/kg BB (Saleh dkk., 2012) pada hewan coba yaitu tikus jenis *Rattus novergicus*. Tikus tersebut terlebih dahulu harus diinduksi oleh aloksan agar terinduksi diabetes. Aloksan merusak sel β pankreas melalui pembentukan oksigen reaktif yang diawali dengan proses reduksi Aloksan dalam sel β pankreas. Akibatnya produksi insulin terganggu dan jumlah yang dihasilkan berkurang (Szkudelski, 2001). Chougale dkk (2007) dan Ratimanjari

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

(2011) menggunakan dosis 160 mg/kg BB untuk menginduksi tikus menjadi diabetes yang permanen dan dapat bertahan hidup selama beberapa bulan.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas SOD dan keefektifan ekstrak etanol 70 % umbi binahong sebagai antidiabetes sehingga dapat bermanfaat dan diaplikasikan sebagai obat antidiabetes.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah:

1). Golongan senyawa kimia apa yang terkandung dalam ekstrak umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dari hasil uji reagen?

2). Apa eluen terbaik yang dihasilkan dari KLTA pada pemisahan senyawa flavonoid?

3). Bagaimana efek pemberian variasi dosis ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap kadar glukosa darah dan aktivitas SOD (*Superoksida dismutase*) jantung tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan?

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak pada umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dari hasil uji reagen?

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2. Untuk mengetahui eluen terbaik yang dihasilkan dari KLTA pada pemisahan senyawa Flavonoid.
3. Untuk mengetahui efek pemberian variasi dosis ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap kadar glukosa darah dan aktivitas SOD (*Superoksida dismutase*) jantung tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan.

1.3 Batasan Masalah

1. Umbi binahong diperoleh dari daerah Tumenggung.
2. Variasi dosis yang digunakan adalah 25, 50 dan 75 mg/kg BB
3. Metode ekstraksi menggunakan maserasi dengan pelarut etanol 70 %.
4. Induksi diabetes menggunaka aloksan dengan dosis 32 mg/200g BB.
5. Golongan senyawa yang diidentifikasi meliputi Flavonoid, Alkaloid, Tanin, Saponin dan Terpenoid.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai golongan senyawa aktif dan pemanfaatan umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sebagai antidiabetes sehingga dapat menurunkan angka kematian penderita diabetes khususnya di Indonesia.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1.Umbi Binahong(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

2.1.1. Deskripsi Umbi Binahong

Tanaman binahong merupakan tanaman asli yang berasal dari Amerika selatan yang disebut juga *Anredera cordifolia (*Ten) Steenis. Binahong merupakan tumbuhan menjalar yang berumur panjang (perenial) dan panjangnya bisa mencapai ± 5 m. Binahong mudah tumbuh di dataran rendah maupun dataran tinggi dan banyak ditanam didalam pot sebagai tanaman hias dan obat Tanaman ini tumbuh baik di cuaca tropis dan sub-tropis (Mus, 2008).

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dapat berpotensial mengatasi berbagai jenis penyakit. Tanaman ini berasal dari dataran Cina dengan nama asalnya adalah Dhengshanchi, di Inggris disebut *madeira vine.* Indonesia mengenal binahong sebagai gondola yang sering digunakan sebagai gapura yang melingkar diatas jalan taman (Manoi, 2009).

Tanaman ini tumbuh baik di daerah tropika dan sub-tropika.Tanaman binahong memiliki umbi. Umbi merupakan struktur batang khusus yang sumbu utamanya terdapat di dalam tanah, bercabang-cabang, tumbuh mendatar, dan dari ujungnya dapat tumbuh tunas yang muncul di atas tanah. Umbi berfungsi sebagai alat perkembangbiakan dan tempat penimbunan zat-zat cadangan makanan (Tjitrosoepomo, 1999).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Gambar 2.1. Umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) (Manoi, 2009)

2.1.2. Klasifikasi Umbi Binahong

Klasifikasi umbi binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. Sebagai berikut (Kartesz, 2000):

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

2.1.3. Kandungan dan Kegunaan Tanaman Binahong

Bahan-bahan alam yang telah banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan etnomedis. Akan tetapi perlu adanya upaya untuk mencari sumber dari bahan-bahan alam tersebut yang dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan. Umumnya bahan alam yang digunakan untuk pengobatan berasal dari tumbuhan karena penggunaan bahan tersebut memiliki sedikit efek samping. Sebagaimana tercantum dalam surat asy Syua'raa ayat 7 bahwasanya Allah SWT menciptakan tumbuh-tumbuhan yang baik yaitu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan manusia,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

termasuk untuk pengobatan. Adapun ayatnya sebagai berikut:

أَوَلَمْ يَرَوْا۟ إِلَى ٱلْأَرْضِ كَمْ أَنۢبَتْنَا فِيهَا مِن كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ۝٧

Artinya :"*dan Apabila mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan dibumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?(*Q.S. asy Syua'raa: 7).

Kalimat *"Tumbuh-tumbuhan yang baik"* dalam ayat tersebut menunjukkan bahwa Allah SWT menciptakan berbagai macam tumbuhan sebagai bukti atas kuasaNya. Masing-masing tumbuhan tumbuh dengan subur dan memiliki banyak manfaat (Shihab, 2002), yaitu termasuk tumbuhan yang digunakan untuk pengobatan baik pada bagian akar, batang, daun maupun umbinya. Dalam bidang pengobatan untuk mengenali potensi dari tumbuhan dengan mengetahui senyawa yang terkandung dalam tumbuhan tersebut.

Khunaifi (2010) menyatakan bahwa, ekstrak daun binahong berpotensi sebagai antibakteri. Ekstrak binahong juga dapat mempercepat penyembuhan luka pada marmut, antiviral, bersifat sititoksik, antimutagenik, dan antinflamasi (Miladiyah dan Prabowo, 2012). Senyawa saponin mempunyai fungsi menurunkan kolesterol karena mempunyai aktifitas sebagai antioksidan, antivirus, antikarsinogenik, dan manipulator fermentasi rumen (Manoi, 2009). Dalam menurunkan kadar glukosa darah, saponin berperan dalam menghambat aktivitas enzim α-glukosidase, yaitu enzim yang bertanggung jawab pada pengubahan karbohidrat menjadi glukosa.

Penelitian Saleh dkk (2012) ekstrak etanol umbi binahong dapat menurunkan kadar glukosa darah dan penelitian Sukandar dkk (2011) dapat memperbaiki sel-sel β pankreas mencit yang rusak. Manfaat lain yang diperoleh

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dari hasil penelitian ilmiah, ekstrak etanol binahong dapat pula menurunkan kolesterol (Sukandar dkk., 2011). Serta tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis (Dalimarta, 2007).

Penelitian Astuti (2011), skrining fitokimia telah dilakukan pada umbi binahong *(Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan melakukan maserasi terhadap serbuk umbi binahong dengan menggunakan pelarut etanol didapatkan kandungan kimiaberupa saponin, terpenoid, steroid, fenol, flavonoid dan alkaloid. Setiaji (2009) melakukan ekstraksi pada umbibinahong dengan pelarut etil asetat, petroleum eter, dan etanol 70 % didapatkan senyawa alkaloid, saponin, flavonoid dan polifenol. Penelitian Saleh dkk (2012), bahwasanya terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol umbi binahong yaitu flavanoid, steroid dan fenolik.

2.2 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan menarik kandungan kimia yang dapat larut, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut. Pelarut yang digunakan umunya dalam bentuk cair. Prinsip ekstraksi pelarut berbeda dengan ekstraksi mekanis. Ekstraksi mekanis dilakukan berdasarkan perbedaan tekanan, sedangkan ekstraksi pelarut berdasarkan kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran (Sax, 1998).

Maserasi merupakan cara yang sederhana, dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang pekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan di dalam sel (Octavia, 2009).

Kelarutan suatu komponen tergantung pada derajat polaritas pelarut yang ditentukan oleh konstanta dielektrikum yang ditunjukkan pada Tabel 2.1(Sax, 1998).

Tabel 2.1 Konstanta dielektrikum dan tingkat kelarutan beberapa pelarut

Jenis pelarut	Konstanta dielektrikum	Tingkat kelarutan dalam air
Heksana	1,9	TL
Petroleum eter	2,28	TL
Benzene	2,38	TL
Toluene	4,81	TL
Kloroform	4,81	S
Etil asetat	6,02	S
Metil asetat	6,68	S
Metil klorida	9,08	S
Butanol	15,80	S
Propanol	20,1	L
Aseton	20,70	L
Etanol	24,30	L
Metanol	33,60	L
Air	78,4	L

Keterangan: TL = tidak larut; S = sedikit; L = larut dalam berbagai proporsi
Sumber: Sax (1998) dan HAM (2006).

Pemilihan jenis pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor antara lain harganya murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar. Pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut tidak berbahaya atau tidak beracun. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus dapat melarutkan ekstrak yang diinginkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

saja, mempunyai kelarutan yang besar, tidak menyebabkan perubahan secara kimia pada komponen ekstrak, dan titik didih kedua bahan tidak boleh terlalu dekat (Bernasconi, 1995).

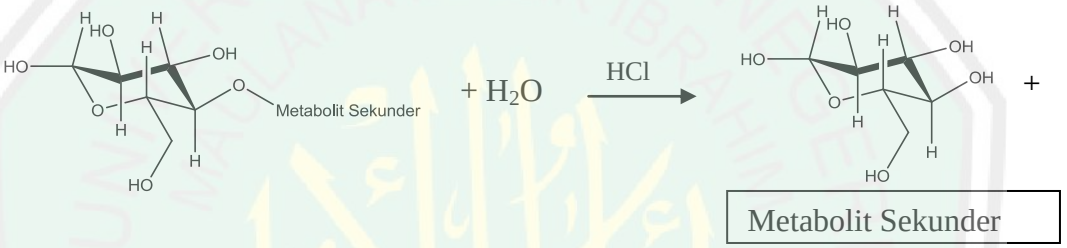
Pada umumnya pelarut yang sering digunakan adalah etanol karena etanol mempunyai polaritas yang tinggi dan selektif sehingga dapat mengekstrak (senyawa dalam tanaman binahong) lebih banyak dibandingkan jenis pelarut organik yang lain. Pelarut etanol pada konsentrasi diatas 20 %, kapang akan sulit tumbuh. Secara fisika, tingkat polaritas ini dapat ditunjukkan dengan lebih pasti melalui pengukuran konstanta dielektrikum (D) suatu pelarut. Semakin besar konstanta dielektrikum suatu pelarut maka akan semakin polar dan etanol mempunyai konstanta dielektrikum yang tinggi yaitu 24,30. Etanol mempunyai titik didih yang rendah yaitu 78,3 ˚C (Sudarmadji dan Gunawan, 2003) dan cenderung aman. Etanol juga tidak beracun dan berbahaya.

2.3 Hidrolisis

Hidrolisis adalah reaksi yang terjadi antara suatu senyawa dan air dengan membentuk reaksi kesetimbangan. Selain bereaksi, air juga berperan sebagai medium reaksi sedangkan senyawanya dapat berupa senyawa anorganik maupun senyawa organik (Mulyono, 2006). Reaksi hidrolisis dilakukan untuk memutus ikatan glikosida pada senyawa organik yang berbentuk glikosida. Glikosida merupakan senyawa yang terdiri dari gabungan bagian gula (glikon) yang bersifat polar dan bagian bukan gula (aglikon) yang dapat bersifat polar, semipolar maupun non polar (Gunawan, 2004).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Reaksi hidrolisis yang menggunakan air berlangsung sangat lambat sehingga memerlukan bantuan katalisator (seperti asam). Katalisator asam yang sering digunakan dalam industri adalah asam klorida (HCl) karena garam yang terbentuk tidak berbahaya yaitu NaCl. Dugaan reaksi pemutusan ikatan glikosida antara metabolit sekunder (glikon) dari gugus gula (aglikon) yang terjadi ketika penambahan HCl ditunjukkan pada gambar 2.2 (Nihlatidkk., 2008):



Gambar 2.2 Dugaan reaksi hidrolisis ikatan *O*-glikosida (Nihlati dkk., 2008)

2.4 Uji Fitokimia Senyawa Aktif

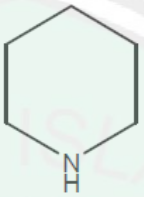
Uji fitokimia merupakan pengujian kandungan senyawa-senyawa di dalam tumbuhan. Tumbuhan umumnya mengandung senyawa aktif dalam bentuk metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin dan lain-lain. Senyawa metabolit sekunder kimia yang umumnya mempunyai kemampuan bioaktivitas dan berfungsi sebagai pelindung tumbuhan tersebut dari gangguan hama penyakit untuk tumbuhan itu sendiri atau lingkungannya (Lenny, 2006).

2.4.1 Alkaloid

Semua alkaloid mengandung paling sedikit sebuah nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Banyak senyawa heterosiklik nitrogen lain yang ditemukan di

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

alam bukan termasuk alkaloid. Misalnya pirimidin dan asam nukleat, yang kesemuanya itu tidak pernah dinyatakan sebagai alkaloid (Achmad dalam Widodo, 2007).

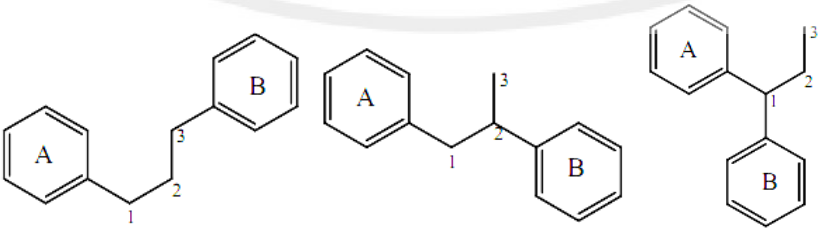


Gambar 2.3 Struktur inti alkaloid (Robinson, 1995)

Uji alkaloid untuk menunjukkan adanya alkaloid dilakukan dengan menggunakan beberapa pereaksi alkaloid, diantaranya adalah pereaksi Mayer (kalium tetraiodomerkurat) dan Dragendorff (Robinson, 1995). Kedua pereaksi tersebut memberikan warna berturut-turut coklat dan jingga.

2.4.2 Flavonoid

Flavonoid mempunyai kerangka dasar 15 atom karbon yang terdiri dari dua cincin benzen (C_6) terikat pada suatu rantai propana (C_3) sehingga membentuk suatu susunan C_6-C_3-C_6. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis senyawa flavonoid, yaitu: Flavonoid atau 1,3-diaril propana, Isoflavonoid atau 1,2-diarilpropana dan Neoflavonoid atau 1,1-diaril propana (Lenny, 2006).



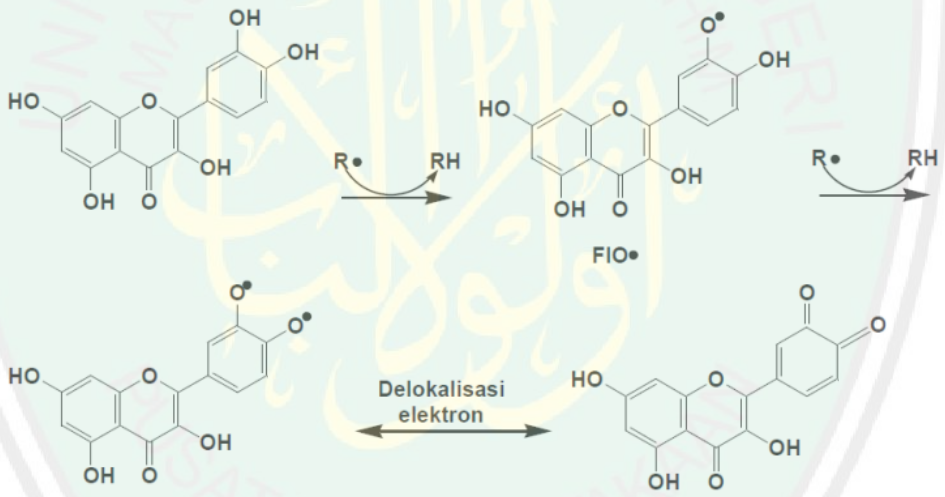
1,3-diaril propana 1,2-diarilpropana 1,1-diaril propana

Gambar 2.4 Struktur dasar senyawa flavonoid (Dermawan, 2012)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Astuti (2012) melakukan identifikasi senyawa flavonoid pada tanaman binahong dengan menambahkan beberapa tetes HCl pekat dan 1,5 gram logam Mg. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna pink atau merah jingga dalam waktu 3 menit.

Flavonoid mampu bekerja sebagai *scavenger* radikal bebas dengan adanya gugus hidroksi dalam susunan gugus fenol serta ikatan rangkap terkonjugasi dalam menghambat radikal bebas serta meningkatkan aktifitas antioksidan endogen (aktifitas SOD). Adapun reaksi sebagai berikut (Retno dkk, 2013):

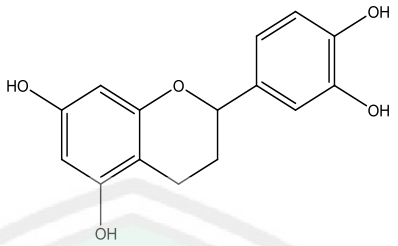


Gambar 2.5 Reaksi *scavenging* radikal bebas oleh flavonoid (Retno dkk, 2013)

2.4.3Tanin

Tanin 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 kimia tanin dibagi menjadi dua golongan, yaitu tanin terkondensasi atau tanin katekin dan tanin terhidrolisis atau tanin galat (Robinson, 1995).

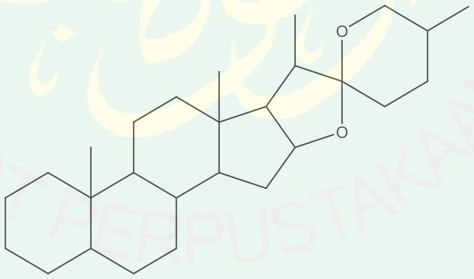
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 2.6 Contoh struktur senyawa tanin (Robinson, 1995)

2.4.4 Saponin

Saponin adalah glikosida triterpen dan sterol. Senyawa ini mempunyai sifat aktif permukaan dengan sifat berupa sabun dan dapat dideteksi karena kemampuannya membentuk sabun dan menghemolisis del darah merah (Robinson, 1995). Uji saponin yang sederhana adalah dengan menggunakan ekstrak alkohol, air dari tumbuhan dalam tabung reaksi dan perhatikan terbentuknya busa yang tahan lama pada permukaan cairan (Harbone, 1987).



Gambar 2.7 Struktur inti senyawa saponin (Robinson, 1995)

2.4.5 Terpenoid

Terpenoid atau isoprenoid merupakan salah satu senyawa organik yang hanya tersebar di alam, yang terbentuk dari satuan isoprena (CH_3=C(CH_3)-CH=CH_2). Senyawa terpenoid merupakan senyawa hidrokarbon yang dibedakan berdasarkan jumlah satuan isoprena penyusunnya, group metil dan atom oksigen yang diikatnya (Robinson, 1995 dalam Khunaifi, 2010). Secara umum terpenoid

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

terdiri dari unsur-unsur C dan H dengan rumus molekul umum $(C_5H_8)_n$ (Wahyuono, 2003).

Gambar 2.8 Senyawa triterpenoid (Robinson, 1995)

2.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Salah satu metode pemisahan adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT), metode ini merupakan salah satu jenis kromatografi yang prinsip pemisahannya berdasarkan proses adsorbsi. Lapisan yang dipisahkan terdiri atas fasa diam dan fasa gerak (Vogel, 1989). Fasa diam yang dapat digunakan adalah silika atau alumina yang dilapisi pada lempeng kaca atau aluminium. Fase gerak atau larutan pengembang biasanya digunakan pelarut organik atau bisa juga campuran pelarut organik-anorganik (Gritter, 1991).

Bercak pemisahan pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Untuk penentuannya dapat dilakukan secara kimia, fisika, maupun biologi. Cara fisika yang dapat digunakan untuk menampakkan bercak adalah dengan pencacahan radioaktif dan fluoresensi sinar ultraviolet. Fluoresensi sinar ultraviolet terutama untuk senyawa yang dapat berfluorosensi akan membuat bercak akan terlihat lebih jelas. Jika senyawa tidak dapat berfluoresensi maka bahan penyerapnya akan diberi indikator yang berfluoresensi, dengan demikian bercak akan kelihatan hitam sedang latar belakangnya akan terlihat berfluoresensi

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

(Gadjar dan Rohman, 2007). Sinar UV yang digunakan pada umumnya pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

Pemisahan flavonoid dengan KLT dapat menggunakan penyemprot amoniak/uap amoniak yang memberikan warna biru kehijauan, hijau kekuningan, lembayung dan kuning kecoklatan (Halimah, 2010). Alasan penggunaan uap amoniak karena flavonoid merupakan senyawa fenol yang warnanya dapat berubah bila ditambah basa atau amoniak. Oleh karena itu golongan ini mudah dideteksi pada kromatogram atau dalam larutan (Harbone, 1987)

Koeriwa dkk (2010) mengisolasi senyawa flavonoid dari daun Beluntas menggunakan eluen pengembang butanol-asam asetat-air (4:1:5) menghasilkan 3 noda, 1 noda dengan Rf 0,89 (hijau, berubah menjadi hijau tua setelah diuapi dengan amoniak yang diamati pada UV 366 nm) diindikasikan sebagai flavonoid. Arishandy (2011) memperoleh eluen terbaik untuk memisahkan flavonoid ekstrak daun Sirih merah, yakni menggunakan eluen metanol-kloroform (1:39) yang diuapi amoniak, menghasilkan 9 noda dengan 2 noda diindikasikan sebagai senyawa flavonoid. Noda tersebut memiliki Rf 0,86 (jingga pada UV 366 nm) dan Rf 0,92 (merah pada UV 366 nm).

Hasil KLT Analitik pada penelitian Adfa (2007) dengan menggunakan ekstrak dari daun kemuning yang telah memberikan noda-noda dengan warna fluoresensi biru, kuning-hijau, ungu dan biru-ungu yang terpisah baik dengan eluen etil asetat-metanol (9:1) pada penampak noda lampi UV 254 nm. Kemudian pada penelitian Akbar (2010) pemisahan flavonoid dengan KLT Analitik

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menghasilkan pemisahan yang baik dengan eluen kloroform: methanol (9:1) menunjukkan 4 noda di bawah lampu UV 254 nm.

2.6 Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus berasal dari kata Yunani *diabetes* yang artinya mengalir terus, *mellitus* berarti madu atau manis. Istilah tersebut menunjukkan tentang keadaan tubuh penderita, yaitu adanya cairan manis yang terus menerus mengalir (Dalimartha, 2007). Diabetes Mellitus adalah penyakit metabolik yang di tandai dengan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) yang disebabkan oleh gangguan sekresi insulin dan atau kerja insulin, sehingga terjadi abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak dan protein (Price, 1999).

Diagnosis diabetes biasanya diikuti dengan adanya gejala poliuria, polidipsia, polifagia dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya. Diagonosis diabetes dapat dipastikan apabila hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dL dan hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dL. Menurut Perkeni 2011 untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada Tabel 2.2 berikut ini:

Tabel 2.2 Kadar glukosa darah sewaktu dan puasa

		Bukan diabetes	**Belum pasti diabetes**	**Diabetes**
Kadar glukosa darah sewaktu (mg/dL)	Plasma vena	< 100	100-199	≥ 200
	Darah kapiler	< 90	90 – 199	≥ 200
Kadar glukosa darah puasa (mg/dL)	Plasma vena	< 100	100 -125	≥ 126
	Darah kapiler	< 90	90 – 99	≥ 100

Sumber: Dalimartha, 2007

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kadar glukosa darah yang tinggi setelah makan akan merangsang sel β pulau Langerhans untuk mengeluarkan insulin. Sebelum ada insulin, glukosa yang ada dalam darah ini tidak dapat masuk kedalam sel-sel jaringan tubuh seperti otot dan jaringan lemak ibarat sebuah kunci, insulin berguna untuk membuka pintu sel jaringan, memasukkan glukosa kedalam sel, dan selanjutnya menutup pintu sel kembali (Dalimartha, 2007).

2.6.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Klasifikasi diabetes berdasarkan etiologinya. Menurut Perkeni 2011 diklasifikasikan dalam Tabel 2.3:

Tabel 2.3 Klasifikasi diabetes berdasarkan etiologi

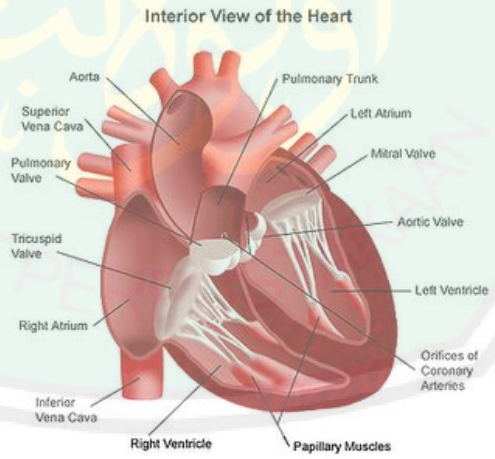
Jenis diabetes	Etiologi
Tipe 1	Destruksi sel β, defisiensi insulin sehingga tergantung oleh suntikan insulin dari luar tubuh.
Tipe 2	pankreas masih relatif cukup menghasilkan insulin tetapi insulin yang ada bekerja kurang sempurna karena adanya retensi insulin. Kebanyakan timbul pada penderita yang berusia diatas 40tahun, dan umumnya disertai kegemukan.
Tipe lain	– Defek genetik fungsi sel beta – Defek genetik kerja insulin – Penyakit eksokrin pankreas – Endikronepati – Karena obat atau zat kimia – Sebab imunologi yang jarang – Sindrom genetik lain yang berkaitan dengan diabetes
Diabetes Gestasional	Diabeter Mellitus yang muncul pada masa kehamilan. Umumnya bersifat sementara yang sembuh dengan sendirinya setelah persalinan.
Pra-Diabetes	IFG (*Impaired Fasting Glucose)* = GMP (Glukosa Puasa Terganggu) atau IGT(*Impaired Glucose Tolerance)* = TGT (Toleransi Glukosa Terganggu)

Sumber: Departemen Kesehatan RI, 2005

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.6.2 Komplikasi Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus yang tidak diobati dengan baik akan menyebabkan timbulnya komplikasi pada berbagai organ tubuh seperti mata, ginjal, jantung, pembuluh darah kaki dan saraf. J.C Stevenson mengutarakan bahwa penyebab kematian diabetes pada umur kurang dari 50 tahun disebabkan oleh infark jantung (30%), gagal ginjal (20%), ketoasidosis (15%), CVA (10%) dan hipoglikemia (5%). Komplikasi diabetes diawali dari gangguan metabolik sehingga terjadi hiperglikemia. Hiperglikemia berdampak pada peningkatan kadar lemak darah dan kerusakan pembuluh kecil (*microvasculer*) yang dalam waktu lama akan menyebabkan *neuropati diabetic* serta gangguan organ-organ penting dalam tubuh yaitu jantung, ginjal, otak dan sebagainya (Sutedjo, 2010).



Gambar 2.9 Organ jantung (Ariesti, 2011)

Jantung manusia adalah suatu organ tubuh sebesar kepalan tangan, yang berada pada rongga dada, dibelakang tulang dada bagian bawah. Jantung terletak dalam ruang mediastinum rongga dada, yaitu di antara paru. Jantung merupakan organ pemompa darah yang besar untuk memelihara peredaran darah ke seluruh

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tubuh, pada keadaan normal, jumlah darah dipompa oleh jantung sesuai dengan jumlah darah yang masuk kembali ke jantung. Peredaran darah ini penting untuk pengambilan oksigen dan perluasan karbondioksida yang merupakan taksoid bagi tubuh (Evelyn, 1997). Untuk melaksanakan fungsi tersebut jantung mengumpulkan darah yang kekurangan oksigen dari seluruh tubuh dan selanjutnya memompanya ke paru-paru.

2.6.3 Hubungan Diabetes Mellitus dengan Jantung

Penderita diabetes mellitus atau hiperglikemia berkaitan erat dengan terjadinya resiko komplikasi makrovaskuler, diabetes mellitus dapat menyebabkan stress oksidatif sehingga radikal bebas dalam tubuh meningkat. (Arjita, 2002). Radikal bebas dapat merusak berbagai jaringan tubuh seperti, otak, ginjal, dan jantung. Telah dikemukakan diatas bahwa setiap radikal mempunyai suatu elektron yang tidak berpasangan di permukaan kulit luarnya sehingga dia berusaha mencapai elektron dari jaringan- jaringan yang ada di dalam tubuh. Radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh kita mulai merusak sel, lalu protein, enzim dan kemudian inti sel dimana DNA dibentuk yang menyebabkan kerusakan-kerusakan pada sel-sel kita yang berakibat timbulnya berbagai penyakit (Gomall, 1986).

Jantung bekerja secara terus menerus selama manusia hidup dan akan berpengaruh terhadap kemampuan fungsi jantung yang secara berangsur akan mengalami penurunan. Hal ini akan semakin drastis penurunan fungsi jantung apabila terdapat keadaan lain yang mempengaruhi fungsi jantung itu sendiri. Misalnya terjadi infeksi otot jantung atau selaput otot *miokarditis* atau

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

perikarditis, berkurangnya oksigen karena penyempitan pembuluh darah yang menyuplainya, serta gangguan jantung akibat darah yang dipompa banyak mengandung glukosa darah dari penderita diabetes melitus dan sebagainya (Juntak, 2011).

Salah satu komplikasi makrovaskuler pada diabetes mellitus adalah penyakit jantung. Kadar hiperglikemia berbanding lurus dengan risiko mortalitas penyakit jantung pada penderita diabetes mellitus. Terutama bila berlangsung cukup lama, gula darah tersebut dapat mendorong terjadinya pengendapan arterosklerosis pada arteri coroner (Gunawan, 2005). Supriyono (2008) fungsi jantung dapat terganggu akibat peningkatan kadar glukosa dalam darah sehingga menyebabkan kerja jantung meningkat 4-8 kali.

2.7 Tikus Putih *Rattus norvegicus*

Tikus merupakan salah satu jenis hewan darat yang berkaki empat yang telah diciptakan Allah SWT dan telah membawa banyak manfaat, salah satunya dalam proses penelitian sebagai hewan coba. Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat an Nuur ayat 45 penciptaan hewan sebagai berikut:

وَٱللَّهُ خَلَقَ كُلَّ دَآبَّةٍ مِّن مَّآءٍ ۖ فَمِنْهُم مَّن يَمْشِى عَلَىٰ بَطْنِهِۦ وَمِنْهُم مَّن يَمْشِى عَلَىٰ رِجْلَيْنِ وَمِنْهُم مَّن يَمْشِى عَلَىٰٓ أَرْبَعٍ ۚ يَخْلُقُ ٱللَّهُ مَا يَشَآءُ ۚ إِنَّ ٱللَّهَ عَلَىٰ كُلِّ شَىْءٍ قَدِيرٌ ﴿٤٥﴾

Artinya: "*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. Allah menciptakan apa yang dikehendaki-Nya, Sesungguhnya Allah Maha*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kuasa atas segala sesuatu" (QS. an Nuur:45).

Q.S an Nuur ayat 45 menggambarkan tentang sebagian dari cara hewan berjalan. Ada yang berjalan dengan perutnya, kakinya dan diantara hewan yang berjalan diatas kakinya tersebut, ada yang berkaki dua danada yang berkaki empat (Rossidy, 2008), seperti halnya tikus yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai kaki empat.

Tikus dipilih menjadi subjek eksperimental sebagai bentuk relevansinya pada manusia. Walaupun tikus mempunyai struktur fisik dan anatomi yang berbeda dengan manusia, tetapi tikus adalah hewan mamalia yang mempunyai beberapa fisiologi dan biokimia yang hampir menyerupai manusia (Syahrin, 2006).

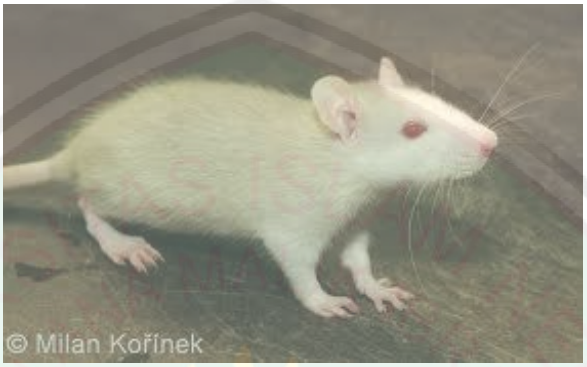
Sistem klasifikasi tikus *Rattus norvegicus* menurut Myers dan Armitage (2004) sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Kelas : Mammalia
Ordo : Rodentia
Famili : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattusnorvegicus*

Rattus norvegicus memiliki ciri-ciri panjang tubuh total 440 mm,panjang ekor 205 mm, bobot badan140-500 g dengan rataan 400 g (Myersdan Armitage 2004). *Rattus norvegicus* memiliki beberapa keunggulan, diantaranya: penanganan dan pemeliharaan yang mudah karena tubuhnya kecil, kemampuan reproduksi yang tinggi dengan masa kebuntingan yang singkat, sehat, bersih, dan cocok untuk berbagai macam penelitian (Maloledan Pramono, 1989). Diantaranya

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

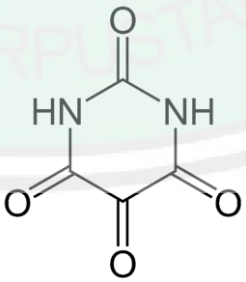
penelitian tentang hipertensi, diabetes insipidus, katarak, obesitas, diabetes melitus, dan lain-lain (Sirois, 2005).



Gambar 2.10 Tikus putih (*Rattus norvegicus)* (Bellows, 2005)

2.8 Aloksan

Keadaan diabetes atau hiperglikemia pada hewan percobaan dapat ditimbulkan melalui pemberian zat diabetogen, misalnya aloksan, diaksosida, streptozotosin dan sebagainya. Beberapa diabetogen dapat menyebabkan keadaan hiperglikemia permanen dalam dosis yang tinggi, misal aloksan dan streptozotosin. Keduanya merupakan analog sitotoksik glukosa (Lenzen, 2008).



Gambar 2.11 Struktur aloksan (Nugroho, 2011)

Aloksan memiliki rumus molekul $C_4H_2N_2O_4$ nama lainnya adalah mesoxalyl carbamida, merupakan senyawa hasil kondensasi yang berasal dari satu molekul urea dengan satu molekul asam mesooksalat. Aloksan memilik efek

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

diabetogenik ketika diberikan secara intravena, intraperitolial atau subkutan. Dosis yang diperlukan untuk menginduksi bergantung pada spesies, rute pemberian dan status nutrisi. Hewan yang dipuasakan akan lebih rentan terhadap aloksan (Szkudelski, 2001).

Aloksan memiliki dua mekanisme yang berbeda, mekanisme pertama yaitu aloksan secara selektif menghambat sekresi insulin yang diinduksi oleh glukosa melalui penghambatan spesifik pada glukokinase yang merupakan sensor glukosa dari sel β pankreas. Mekanisme kedua, melalui kemampuan aloksan untuk menginduksi pembentukan ROS yang menghasilkan nekrosis selektif dari sel β pankreas (Lenzen, 2008).

2.9 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu atom, gugus, atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit paling luar, termasuk atom hidrogen, logam-logam transisi, dan molekul oksigen. Adanya elektron tidak-berpasangan ini, menyebabkan radikal bebas secara kimiawi menjadi sangat aktif. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), negative (anion), atau tidak bermuatan (Setiawan, 2005).

Sumber radikal bebas bisa berasal dari proses metabolisme dalam tubuh (internal) dan dapat berasal dari luar tubuh (eksternal). Dari dalam tubuh mencakup superoksida (O_2•), hidroksil (•OH), peroksil (ROO•), hydrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen ($1O_2$), oksida nitrit (NO•), dan peroksinitrit (ONOO•). Dari luar tubuh antara lain berasal dari: asap rokok,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

polusi, radiasi, sinar UV, obat, pestisida, limbah industri, dan ozon (Siswono, 2005).

Peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai yang memberikan pasokan radikal bebas secara terus-menerus yang menginisiasi peroksidasi lebih lanjut. Proses secara keseluruhan dapat digambarkan sebagai berikut (Winarsi, 2007):

a. Inisiasi

$$ROOH + logam(n) \longrightarrow ROO\bullet + Logam(n-1) + H+$$

$$X\bullet + RH \longrightarrow R\bullet + XH$$

b. Propagasi

$$R\bullet + O_2 \longrightarrow ROO\bullet$$

$$ROO\bullet + RH \longrightarrow ROOH + R\bullet$$

c. Terminasi

$$ROO\bullet + ROO\bullet \longrightarrow ROOR + O_2$$

$$ROO\bullet + R\bullet \longrightarrow ROOR$$

$$R\bullet + R\bullet \longrightarrow RR$$

2.10 Antioksidan

Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralisir radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Sumber antioksidan berdasarkan mekanisme kerjanya digolongkan menjadi tiga kelompok yaitu (Winarsi, 2007) :

1. Antioksidan Primer (Antioksidan Endogenus)

   Antioksidan primer meliputi enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan *glutation peroksidase* (GSH-Px). Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer, apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil.

   SOD : $O_2^{\bullet -} + O_2^{\bullet -} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$

   Katalase : $2\ H_2O_2 \longrightarrow O_2 + H_2O$

   GSH- Px : $ROOH + 2GSH \longrightarrow ROH + H_2O +$ *glutathione*

2. Antioksidan Sekunder (Antioksidan Eksogenus)

   Antioksidan sekunder disebut juga antioksidan eksogenus atau non-enzimatis. Antioksidan ini dapat berupa komponen non-nutrisi dan komponen nutrisi dari sayuran dan buah-buahan. Antioksidan sekunder meliputi vitamin E, vitamin C, karoten, flavonoid, asam urat, bilirubin dan albumin. Senyawa antioksidan non–enzimatis akan menangkap radikal bebas kemudian mencegah reaktifitas amplifikasinya.

3. Antioksidan Tersier

   Kelompok antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA-*repair* dan *metionin sulfoksida reduktase*. Enzim-enzim ini berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.11. Superoksida Dismutase (SOD)

Antioksidan SOD bekerja mengkatalisis dismutasi anion superoksida (O_2) yang merupakan oksigen reaktif menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen (O_2). Dalam tubuh hewan mamalia, aktivitas enzim SOD memiliki peran penting dalam sistem pertahanan tubuh, terutama terhadap aktivitas senyawa oksigen yang reaktif yang dapat menyebabkan stress oksidatif (Winarsi, 2007). Enzim SOD mampu melindungi sel-sel tubuh dan mencegah terjadinya proses peradangan yang diakibatkan oleh radikal bebas (Priyanto, 2007).

Ada tiga jenis SOD yang sudah diketahui, yaitu CuZnSOD, Mn-SOD dan FeSOD. Antioksidan CuZnSOD terdapat pada retikumlum endoplasma, nukleus dan peroksisom, Mn-SOD terdapat di mitokondria, sedangkan FeSOD tidak terdapat pada manusia. Logam Cu^{+} sebagai katalisator sedangkan Zn^{2+} diperlukan sebagai stabilisator enzim. Penurunan kadar SOD berimplikasi terhadap beberapa kondisi dan penyakit seperti rheumatoid arthritis, anemia Fanconi, infeksi saluran pernafasan, katarak, dan infertile. Jadi, pengukuran SOD dapat dipakai untuk membantu mendiagnosis penyakit seperti kanker, jantung koroner, hepatitis, diabetes, distrofi muscular, abnormalitas hemoglobin, schizophrenia, depresi, dan *down syndrome* (Winarsi, 2007).

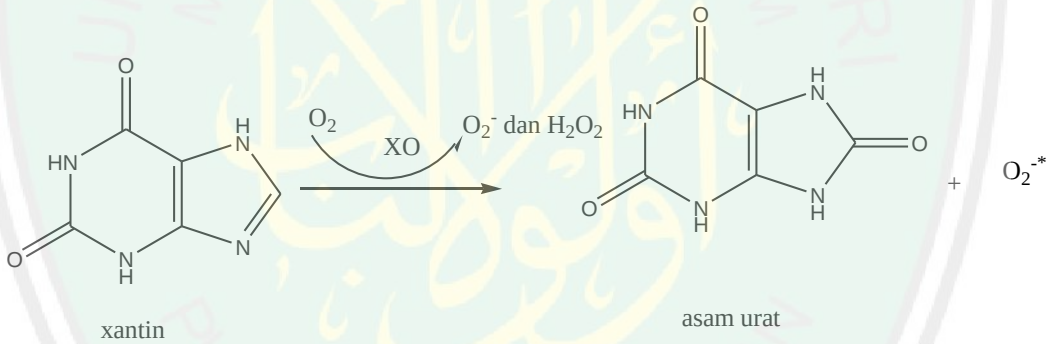
SOD pertama kali diisolasi oleh Mann dan Kleilin pada tahun 1938. Enzim ini dikenal dengan sebutan *eritrocuprein*, *indolefenol*, *oksidase*, dan *tetrazolium oksidase*. Enzim SOD tersusun atas sembilan macam asam amino dengan komponen utama tirosin dan lisin. Enzim ini merupakan enzim yang mengkatalisis dismutase peroksida menjadi oksigen dan hidrogen peroksida (BioAssay System, 2010).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.12 Metode Pengukuran Aktivitas SOD

Antioksidan SOD adalah metaloenzim. Aktivitasnya dapat di tetapkan dengan beberapa cara, namun sebagian besar pengukurannya dilakukan secara tidak langsung. Salah satu caranya adalah dengan menggunakan sistem yang menghasilkan superoksida dan inhibitornya. Selanjutnya indikator akan beraksi dengan superoksida (Nisma dkk., 2012). Prinsip dasar pengukuran antioksidan SOD (*superoksida dismutase*) adalah reaksi xantin dan xantin oksidase yang digunakan menghasilkan $O_2^{\bullet-}$ (Prangdimurti dkk., 2006).

Xantin $\xrightarrow{\text{XOD}}$ Asam urat + $O_2^{\bullet-}$

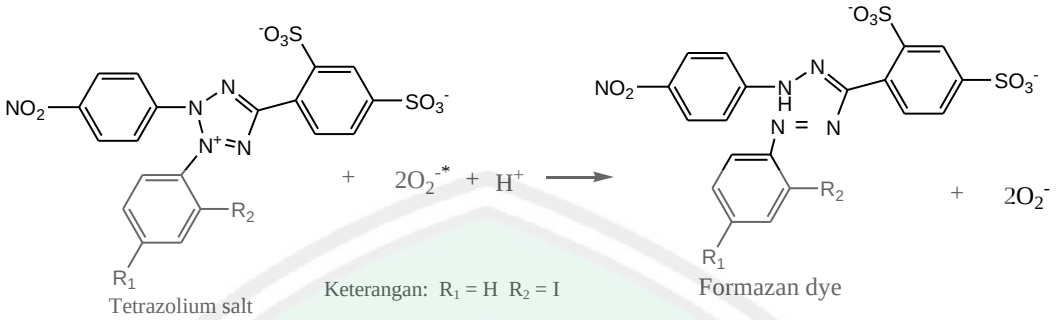


Gambar 2.12. Reaksi pembentukan asam urat oleh *Xantin oksidase* (Ozyurek dkk, 2009 dalam Aktsar, 2012)

Radikal superoksida yang dihasilkan akan bereaksi dengan Nitroblue Tetrazolium (NBT) sehingga menghasilkan pewarna formazan biru ungu.

NBT + O_2^{*-} $\longrightarrow$ pewarna formazan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 2.13. Reaksi radikal superoksida dan NBT menghasilkan formazan (Ukeda *et al*, 1999).

Antioksidan SOD dalam sampel akan berlomba dengan NBT untuk bereaksi dengan radikal superoksida sehingga menghambat pembentukan zat warna (*dye*).

$$2\ O_2^{*-} + 2\ H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

Aktivitas SOD diukur pada panjang gelombang maksimum yang ditentukan berdasarkan warna komplementer melalui derajat penghambatan (inhibisi) pembentukan zat warna. Aktivitas enzim antioksidan SOD dapat dinilai berdasarkan kemampuannya menghambat reaksi yang dikatalisis oleh radikal superoksida, seperti menghambat reduksi sitokrom c dan nitroblue tetrazolium (NBT).

Tabel 2.4 Tabel warna dan warna komplementer (Sastrohamidjojo, 2007)

Panjang gelombang (nm)	**Warna**	**Warna Komplementer**
400-435	Violet (Ungu)	Hijau Kekuningan
450-480	Biru	Kuning
480-490	Biru Kehijauan	Jingga
490-500	Hijau kebiruan	Merah
500-560	Hijau	Ungu kemerahan
560-580	Hijau Kekuningan	Ungu
580-595	Jingga	Biru Kehijauan
595-610	Merah	Hijau Kebiruan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.13. Glukometer

Kadar glukosa darah dapat diukur dengan metode enzimatik (*glukosa oksidase*) menggunakan alat glukometer. Prinsip kerja penggunaan alat ini yaitu: oksigen dengan bantuan enzim *glukosa oksidase* mengkatalisis proses oksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan hidrogen peroksida. Berikut ini reaksinya (Hones dkk., 2008):

$$\text{Glukosa} + O_2 + H_2O \longrightarrow \text{Asam Glukonat} + H_2O_2$$

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 mengandung bahan kimia glukosa ≥ 0,8 IU; garam naftalen asam sulfat 42 µg; dan 3-metil-2-benzothiazolin hidrazon (Hones dkk., 2008).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga Mei 2014 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, Laboratorium Biosistematika Jurusan Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Faal Universitas Brawijaya.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ekstraksi maserasi adalah seperangkat alat gelas, ayakan 60 mesh, blender, oven, cawan porselen, neraca analitik, kertas saring, *shaker*, penyaring *buchner*, *rotary evaporator*. Uji fitokimia digunakan seperangkat alat gelas, pipet tetes dan lemari asam. KLT Analitik digunakan plat silica gel 60 F_{254}, gelas eluen, penggaris.

Alat yang digunakan dalam uji antidiabetes meliputi perawatan mencit antara lain: kandang mencit kotak berukuran 20 x 30 x 40 cm, botol minum mencit, kawat, tempat makan. Untuk mengambil darah dan membedah antara lain: gunting steril, jarum pentul, kapas, spuit 1 mL, plastik, pinset, cawan petri dan *glucometer*. Perlakuan terapi antara lain: botol, spuit 1 mL dan sonde. Alat pemeriksaan kadar SOD diantaranya mikro pipet, spektrometer, dan tabung *ependorff*.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). yang diambil dari daerah Temanggung. Bahan dalam ekstraksi maserasi, uji fitokimia dan KLTA adalah etanol 70 %, reagen dragendroff, reagen mayer, metanol 50 %, logam Mg, HCl 2 %, HCl pekat, kloroform, asam asetat anhidrat, aquades, larutan $FeCl_3$ 1 %, H_2SO_4, dan HCl 1 N.

Bahan uji antidiabetes berupa mencit jenis *Rattus norvegicus* strain wistar jantan dengan berat badan awal 150-200 gram. Bahan untuk perlakuan diantaranya aloksan, ekstrak umbi binahong, NaCl fisiologis (0,9 %), PBS-azida *(phosphate buffer saline-azida)*,CMC-Na 0,5 %, aquades. Untuk pengukuran aktifitas SOD diantaranya SOD murni, *Xantine*, *Xantin oksidase*, NBT, PBS

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperi mental laboratorik. Sampel yang diambil adalah umbi binahong yang dikeringkan dan dihaluskan dalam bentuk serbuk menggunakan blender Serbuk yang diperoleh dianalisis kadar airnya kemudian dimaserasi menggunakan etanol 70 %. Ekstrak yang diperoleh dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak pekat kasar selanjutnya ekstrak kasar digunakan untuk uji fitokimia, KLT Analitik dan Uji Antidiabetes.

Uji fitokimia menggunakan uji reagen terhadap ekstrak pekat umbi binahong, pengujiannya meliputi senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

terpenoid. Setelah itu Ekstrak pekat kasar dihidrolisis dengan HCl 15 % kemudian diekstraksi cair-cair dengan menggunakan kloroform:air (1:1) setelah itu dilakukan KLTA (Kromatografi Lapis Tipis Analitik) untuk mengetahui eluen terbaik pada pemisahan senyawa flavonoid dari ekstrak kasar umbi binahong.

Uji antidiabetes dilakukan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 4 ulangan. Perlakuan yang digunakan adalah 4 ekor kelompok kontrol tanpa perlakuan (D0), 4 ekor kelompok kontrol positif yang hanya aloksan dengan dosis 32 mg/200g BB (D+), 4 ekor kelompok kontrol pelarut dengan diberi CMC-Na 0,5 % 1 mL/200g BB (D-), 4 ekor kelompok tikus diabetes yang diterapi ekstrak pekat umbi binahong dosis 25 mg/kg BB (D1), 4 ekor kelompok tikus diabetes yang diterapi ekstrak pekat umbi binahong dosis 50 mg/kg BB (D2), 4 ekor kelompok tikus diabetes yang diterapi ekstrak pekat umbi binahong dosis 75 mg/kg BB (D3). Tikus yang telah diterapi selanjutnya dibedah dan diambil organ jantungnya untuk dilakukan pengukuran aktifitas SOD (*Superoksida dismutase).* Selanjutnya dilakukan analisis data.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Preparasi sampel
2. Analisis kadar air
3. Ekstraksi dengan metode maserasi
4. Uji Fitokimia dengan reagen
5. Pemisahan senyawa flavonoid dengan KLT analitik
6. Uji antidiabetes
7. Pengukuran aktivitas SOD (*Superoksida dismutase)*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

8. Analisis data

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Preparasi Sampel

Sampel umbi binahong sebanyak 2500 g dicuci dibawah air keran yang mengalir, kemudian ditiriskan dan dikeringkan dengan oven 60 ^{o}C, selama 24 jam, kemudian dibuat serbuk (Astuti, tanpa tahun) dengan blender, yang bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel serta memperbesar luas permukaan, setelah itu diayak dengan ayakan mesh no.60 kemudian diekstraksi dengan maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %.

3.5.2 Analisis Kadar Air (AOAC, 1984)

Pada penentuan kadar air, cawan dipanaskan dalam oven pada suhu 100-105 ^{o}C sekitar 15 menit untuk menghilangkan kadar airnya. Cawan disimpan dalam desikator sekitar 10 menit, lalu ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Setelah itu, sebanyak 5 gram serbuk umbi binahong dimasukkan dalam cawan porselen, kemudian dimasukkan dalam oven dan dikeringkan pada suhu 100-105 °C sekitar ±15 menit, kemudian sampel disimpan dalam desikator sekitar ±10 menit dan ditimbang. Sampel tersebut dipanaskan kembali dalam oven ±15 menit, didinginkan dalam desikator sekitar ±10 menit dan ditimbang kembali. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan. Kadar air dalam umbi binahong *(Anredera cordifolia*(Ten.) Steenis*)* dihitung menggunakan persamaan (3.1) (AOAC, 1984):

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\ \% \quad \text{(AOAC, 1984)} \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \text{(3.1)}$$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Keterangan : a = bobot cawan kosong
b = bobot sampel + cawan sebelum dikeringkan
c = bobot cawan + sampel setelah dikeringkan

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

% Kadar air terkoreksi = kadar air – faktor koreksi

Kadar air yang dihasilkan diharapkan mencapai < 10 %, sehingga kadar air tersebut tidak mempengaruhi dalam proses ekstraksi maserasi.

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

Serbuk umbi binahong ditimbang sebanyak 500 gram. Dibagi menjadi 5 bagian masing-masing 100 gram kemudian masing-masing diekstraksi dengan menggunakan etanol 70 % 300 mL dengan cara maserasi (setiap hari dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 3 jam) kemudian ampas yang diperoleh diekstraksi kembali menggunakan etanol 70 % 300 mL.

Masing-masing ekstrak yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu tidak lebih dari 60°C sampai volumenya menjadi $^1/_4$, Ekstrak dialiri gas N_2 sampai diperoleh ekstrak pekat etanol 70 % (dengan berat konstan). Ekstrak pekat yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji fitokimia, KLT Analitik dan uji antidiabetes terhadap tikus (*Rattus norvegicus)*.

3.5.4 Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia dengan reagen untuk mengetahui kandungan senyawa aktif dalam ekstrak etanol 70 % umbi binahong. Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol 70 % umbi binahong dilarutkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid (Indrayani dkk, 2006).

3.5.4.1 Uji Alkaloid

Sebanyak 500 µL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian ditambah 0,5 mL HCl 2 % dan larutan dibagi dalam tiga tabung. Tabung 1 larutan ditambah 0,5 mL larutan asam encer sebagai pembanding, tabung 2 ditambah 2 - 3 tetes reagensia Dragendorff, dantabung 3 ditambah 2 - 3 tetes reagensia Mayer. Jika tabung 2 terbentuk endapan jingga dan pada tabung 3 terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid.

3.5.4.2 Uji Flavonoid

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

3.5.4.3 Uji Tanin

Sebanyak 500 µL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dilarutkan dalam 1 - 2 mL air dan ditambahkan 2 tetes larutan $FeCl_3$, timbulnya warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin katekol.

3.5.4.4 Uji Saponin

Sebanyak 500 µL ekstrak umbi binahong konsentrasi 10.000 ppm dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 10 mL air sambil dikocok selama

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

1 menit, apabila menimbulkan busa ditambahkan 2 tetes HCl 1 N, apa bila busa yang terbentuk bisa tetap stabil maka ekstrak positif mengandung saponin.

3.5.4.5 Uji Terpenoid

Sebanyak 500 µL 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 H_2SO_4 pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya terpenoid.

3.5.5 Pemisahan Senyawa Flavonoid

Pada tahap ini dilakukan pemisahan senyawa flavonoid dengan KLT Analitik yang bertujuan untuk mencari eluen terbaik pemisahan senyawa flavonoid dari ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera coridilia*(Ten) Steenis).

3.5.5.1 Ekstraksi Flavonoid Dari Ekstrak Pekat Umbi Binahong (Markham, 1988)

Ekstrak pekat kasar sebanyak 6 gram dihidrolisis dengan 12 mL HCl 15 %, kemudian diekstraksi cair-cair dengan pelarut air : kloroform (1:1), ekstraksi dilakukan secara bertahap (3 × 35 mL). Fasa air dan fasa organik yang diperoleh masing-masing dipisahkan. Masing-masing yaitu lapisan atas (fasa air) dan lapisan bawah (fasa organik) kemudian keduanya dilakukan uji reagen flavonoid, jika terdapat positif flavonoid kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan ditentukan nilai rendemennya.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.5.2 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Analitik

Pemisahan dengan KLT Analitik mnggunakan plat silika gel 60 F_{254} dengan ukuran 1 × 10 cm. Penelitian Markham (1988) disebutkan bahwa pada umumnya eluen yang digunakan untuk memisahkan komponen-komponen dalam bahan alam yang diduga mengandung flavonoid adalah campuran n-butanol – asam asetat glasial – aquades (BAA) dan metanol – kloroform dengan komposisi meliputi BAA (4:1:5) (Koeriwadkk, 2010), Etil asetat - metanol (9:1) (Adfa, 2007) dan metanol – kloroform (1:39) (Arishandi, 2011), (1:9) (Akbar, 2010) dan (2:3) (Sukadana, 2010).

Sebanyak 1000 mg ekstrak flavonoid umbi binahong diencerkan dengan menambahkan 1 mL etanol 70 %, kemudian ditotolkan (10-15) pada plat KLT pada jarak 1 cm dari garis bawah menggunakan pipa kapiler. Kemudian dikeringkan di udara dan dielusi sejauh 8 cm. Noda yang ada diperiksa dengan lampu UV. Hasil pemisahan pada KLT Analitik diidentifikasi menggunakan uap amonia. Kromatogram yang sudah kering diletakkan di atas botol yang berisi amonia. Noda yang terbentuk diperiksa dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm.

3.5.6 Uji Antidiabetes

3.5.6.1 Penyiapan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan hewan coba Tikus (*Ratus novergicus)* strain wistar jantan dengan berat badan awal 150-200 gr dan umur 2 bulan. Kondisi tikus dalam keadaan sehat yang ditandai oleh gerakan aktif. Sebelum perlakuan, tikus dipelihara dalam kandang berukuran 20 x 30 x 40 cm yang diberi

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

alas serbuk kayu dan anyaman kawat sebagai penutup. Pemberian makan dan minum dilakukan setiap hari secara *ad libitum.*

3.5.6.2 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 = 6

n= jumlah pengulangan tiap sampel

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

$(n-1)\,5 \geq 15$

$5n - 5 \geq 15$ maka, $n \geq 4$

Berdasarkan perhitungan tersebut maka jumlah sampel minimal yang diperlukan adalah empat sediaan mencit untuk setiap kelompok perlakuan. Sehingga jumlah minimal seluruh sampel yang digunakan adalah 24 ekor mencit yang dipelihara dalam *animal house* Laboratorium Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Ketentuan dari tiap-tiap kelompok adalah sebagai berikut:

a. Kelompok kontrol nol tanpa perlakuan (KO)
b. Kelompok kontrol positif/diinduksi aloksan dengan dosis 32 mg/200 g BB + CMC-Na 0,5 % (K+)
c. Kelompok kontrol Negatif (CMC-Na 0,5 % tanpa aloksan)(K-)
d. Kelompok tikus diebetes yang diterapi ekstrak umbi binahong dosis 25 mg/kg BB+ CMC-Na 0,5 % (D1)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

e. Kelompok tikus diabetes yang diterapi ekstrak umbi binahong dosis 50 mg/kg BB + CMC-Na 0,5 % (D2)

f. Kelompok tikus diabetes yang diterapi ekstrak umbi binahong dosis 75 mg/kg BB + CMC-Na 0,5 % (D3)

3.5.6.3 Pembuatan Larutan Aloksan

Aloksan sebanyak 1280 mg dilarutkan pada NaCl 0,9 % sampai volumenya 40 mL, selanjutnya divortex hingga homogen. Larutan aloksan stok selanjutnya digunakan untuk injeksi dengan dosis yang volume pengambilannya disesuaikan dengan berat badan tikus. Larutan stok disimpan pada suhu 4ºC.

Aloksan yang akan di injeksikan diambil dari larutan stok. Volume yang diambil disesuaikan dengan berat badan tikus yang akan diinjeksi. Digunakan dosis 32 mg/200g BB yang dilakukan dengan rentang waktu 4 hari sampai tikus dinyatakan telah diabetes dengan glukosa darah hewan coba mencapai 300 mg/dL (Ratimanjari, 2011).

3.5.6.4 Pembuatan Tikus Diabetes (DM)

Tikus diinjeksi denga aloksan (dosis 32 mg/200 g BB) (Chougale, *et al*, 2007) secara intraperitonium dengan cara tikus diposisikan kearah frontal hingga terlihat bagian abdomenya. Pada bagian atas abdomen tikus disemprot dengan etanol 70 %, kulit dicubit hingga terasa bagian ototnya, spuit dimasukkan pada bagian abdomen dan dicoba digerakkan, lalu dimasukkan secara perlahan (BB 200 g=l mL). Selanjutnya abdomen tikus disemprot dengan etanol 70 % kembali. Injeksi aloksan dilakukan dengan rentang waktu 4 hari sampai kadar glukosa darah hewan coba mencapai 300 mg/dl. dan diinkubasi selama 7-14 hari.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Dan tikus dipantau kadar glukosa darahnya menggunakan *glucometer* (Lukiati dkk, 2012).

3.5.6.5 Pembuatan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif Tikus Diabetes

Pada tikus kontrol positif, yakni kelompok tikus yang dinijeksi aloksan (dosis 32 mg/200 g BB) tanpa terapi, hanya diinjeksi dengan CMC-Na 0,5 %. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif, tikus sehat diberi pelarut CMC-Na 0,5 % dengan dosis 1 mL/200 g BB (Ratimanjari, 2011).

3.5.6.6 Terapi Tikus Diabetes dengan Ekstrak Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Stenis)

Tikus diabetes diterapi dengan ekstrak umbi binahong dengan dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB dan 75 mg/kg BB sebanyak 14 kali (14 hari berturut-turut). Sebanyak 100 mg ekstrak umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). dilarutkan dalam PBS 3 mL, selanjutnya dijadikan sebagai larutan stok. Saat akan menginjeksikan volume yang diambil disesuaikan dengan berat badan tikus diabetes yang akan diterapi (1µl=0.03mg; BB 130 g=45µl) (Saleh dkk, 2012). Untuk sediaan uji dosis 25 mg/kgBB, ditimbang 500 mg CMC-Na kemudian ditaburkan pada akuades panas, lalu diaduk sampai CMC-Na mengembang, lalu ditambahkan 3150 mg ekstrak umbi binahong dan diaduk sampai homogen. Setelah itu, ditambah dengan aquades sampai volumenya 100 ml. Untuk sediaan uji dosis 50 mg/kg BB, caranya sama seperti tersebut di atas, tetapi ekstraknya sebanyak 6300 mg sementara untuk sediaan uji dosis 75 mg/kg BB, dengan cara yang sama namun sebanyak 9450 mg ekstrak umbi binahong.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.7 Pengukuran Aktifitas SOD

3.5.7.1 Preparasi Sampel

Preparasi sampel merupakan langkah untuk mengisolasi enzim SOD. Preparasi sampel dari organ jantung diambil setelah dibedah kemudian direndam dengan PBS selama 5 menit, kemudian ditimbang jantung sebanyak 100 mg kemudian dicacah hingga halus dengan menggunakan mortar, lalu ditambahkan 1000 µL pH 7,4, setelah itu divortex selama 5 detik. Diambil bagian cairannya (lisat/supernatant). Supernatan yang diperoleh ditampung dalam tabung eppendorf dan dibungkus dengan *alumiunium foil*. Semua perlakuan dilakukan dalam kondisi dingin bertujuan agar enzim kasar SOD yang diisolasi dari organ jantung tidak aktif dan menghindari denaturasi protein.

3.5.7.2 PenentuanAktivitas SOD

Supernatan yang diperoleh dari hasil preparasi kemudian diambil sebanyak 100 µL ditambahkan *Xantine* 100 µL, *Xantine oksidase* 100 µL, NBT 100 µL dan PBS sebanyak 1600 µL. Setelah itu divortex selama 5 detik dengan kecepatan 2600 rpm kemudian diinkubasi selama 30 menit dengan suhu 30 ºC dan disentrifugase selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Blanko yang digunakan pada pengukuran ini adalah PBS pH 7,4. Setelah itu sampel dan blanko dipindahkan kedalam kuvet dan diukur absorbansinya menggunakan spektofotometer UV pada panjang gelombang 580 nm (Sherly dkk., 2013).

Adapun kurva standar dibuat dengan cara yang sama pada sampel yaitu larutan standar dibuat dengan melarutkan SOD murni komersial dengan menggunakan beberapa konsentrasi yang meliputi 5, 10, 20, 40, 80, 160 u/ml,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kemudian dari beberapa kosentrasi tersebut diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang 580 nm dan dibuat kurva standar untuk menghitung aktifitas SOD pada sampel tersebut.

Panjang gelombang maksimum dapat diperoleh dari pengukuran absorbansi larutan standar enzim SOD dengan konsentrasi paling tinggi pada rentang panjang gelombang 550 – 600 nm. Satu unit aktivitas enzim superoksida dismutase didefinisikan sebagai konsentrasi enzim yang diperlukan untuk menghambat *optical density* (OD) pembentukan 50 % kromogen pada panjang gelombang tertentu tiap menitnya (Kakkar dkk., 1984).

3.5.8 Analisis Data

Analisis data, parameter yang digunakan adalah penurunan kadar glukosa darah puasa dari hari ke-1 sampai hari ke-14 dari semua kelompok. Penurunan kadar glukosa darah puasa dari semua dianalisis dengan uji ANOVA pada tingkat kepercayaan 95 %. Data yang diperoleh diuji dengan menggunakan uji ANOVA 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).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian identifikasi senyawa flavonoid dan uji antidiabetes ini dilakukan dalam tujuh tahap yang meliputi: preparasi sampel, analisis kadar air, ekstraksi dengan metode maserasi, uji fitokimia dengan menggunakan reagen, pemisahan senyawa flavonoid dengan KLT Analitik, uji antidiabetes terhadap hewan coba serta pengukuran aktivitas SOD (*Superoksida dismutase)* terhadap jantung tikus yang diinduksi aloksan.

4.1 Preparasi Umbi Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Sampel yang digunakan dalam analisis ini adalah umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) yang diambil dari daerah Temanggung. Proses preparasi sambel umbi dilakukan dalam beberapa proses yaitu proses pencucian sampel yang dimaksudkan untuk menghilangkan pengotornya berupa debu atau lainnya yang dapat mengganggu proses ekstraksi, proses pengeringan sampel untuk mengurangi kadar air, aktifitas mikroba dan mencegah tumbuhnya jamur. Kemudian proses penyerbukan sampel dengan menggunakan blender yang bertujuan untuk memperkecil ukuran partikel. Voight (1995), menyatakan bahwa semakin kecil ukuran partikel serbuknya maka semakin besar luas permukaannya. Pemblenderan juga dapat membuka dinding sel sehingga interaksi pelarut dengan sampel dalam proses ekstraksi lebih maksimal dan proses ekstraksi akan semakin

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

efektif. Setelah itu dilakukan pengayakan dengan menggunakan ayakan 60 mesh dengan tujuan untuk menyeragamkan ukuran serbuk.

4.2 Analisis Kadar Air

Analisis kadar air dilakukan untuk mengetahui kandungan air di dalam sampel. Analisis kadar air ini menggunakan metode termogravimetri yang merupakan analisis kadar air dengan mengeringkan bahan didalam oven pada suhu 100-105 °C selama 2 jam atau lebih hingga diperoleh berat sampel yang konstan (Winarno, 2002). Selain itu juga, analisis kadar air bertujuan untuk mengetahui ketahanan suatu bahan yang disimpan dalam selang waktu yang lama, karena mikroba tumbuh baik pada bahan yang mengandung kadar air yang tinggi.

Selisih berat sampel sebelum dan sesudah pengeringan menunjukkan banyaknya air yang diuapkan. Penggunaan oven pemanas dikarenakan proses ini mudah dikerjakan dan efisien karena penggunaan suhu panas dapat dikendalikan dan diatur temperatur suhunya. Hasil dari analisis kadar air sampel serbuk umbi binahong sebesar 5,38 % adapun perhitungannya seperti pada Lampiran 5.

Berdasarkan hasil pengukuran kadar air serbuk umbi binahong sebesar 5,38 % maka diketahui bahwa sampel yang dianalisis mempunyai kadar air cukup baik untuk dilakukan proses ekstraksi. Menurut Kumala (2007), semakin kecil kadar air suatu sampel maka semakin mudah pelarut untuk mengekstrak komponen senyawa aktif, sehingga akan diperoleh rendemen yang semakin besar. Puspita (2009) menyatakan apabila kadar air yang terkandung kurang dari 10 %

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

maka kestabilan optimum bahan akan dapat tercapai dan pertumbuhan mikroba dapat dikurangi.

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

Ektraksi merupakan suatu proses pemisahan senyawa dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi dilakukan untuk mengisolasi komponen kimia yang terdapat dalam suatu bahan. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi. Maserasi merupakan metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk sampel dalam pelarut dan dalam jangka waktu tertentu (Octavia, 2009).

Prinsip utama dalam maserasi adalah mengekstrak senyawa aktif yang dapat larut dalam pelarut berdasarkan tingkat kepolaran masing-masing pelarutnya (*like dissolves like*) (Khopkar, 2008). Adapun kelebihannya yaitu pengerjaannya cukup sederhana, murah, mudah dilakukan dan tidak menggunakan suhu tinggi yang dimungkinkan dapat merusak senyawa-senyawa kimia yang terdapat dalam sampel (Yustina, 2008).

Serbuk umbi binahong dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70 % yang merupakan pelarut polar, dipilihnya pelarut tersebut karena lebih selektif, zat pengganggu yang larut terbatas, kapang sulit tumbuh dalam etanol 20 % ke atas, lebih tidak beracun dan berbahaya (aman/*safety*) apabila dibandingkan dengan metanol, titik didih rendah (78,3 ^{o}C), dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan (Pine dkk., 2005). Selain itu, secara farmakoterapi

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

pembuatan obat herbal secara umum telah menggunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 70 % - 80 % (Sukandar dkk, 2011).

Langkah yang dilakukan dalam proses ekstraksi maserasi ini yaitu serbuk umbi sebanyak 500 g dibagi menjadi 5 bagian, masing-masing sebanyak 100 g serbuk umbi diekstrak menggunakan 300 mL etanol 70 %. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk umbi dengan pelarut etanol 70 % selama 24 jam dengan pengoncokan yang dibantu dengan *shaker* selama 3 jam dengan kecepatan 120 rpm untuk mempercepat ekstraksinya. Tujuan pengocokan tersebut untuk memaksimalkan interaksi antara sampel dengan pelarut sehingga diharapkan senyawa metabolit sekunder yang terekstrak lebih banyak.

Filtrat dan residunya dipisahkan dengan cara disaring menggunakan corong *Buchner* dan kertas saring. Prinsip penyaringan dengan corong *Buchner* adalah penyaringan secara mekanis berdasarkan ukuran molekul, sehingga molekul yang berukuran lebih besar akan tertahan pada kertas saring (Vogel, 1978). Filtrat yang dihasilkan berwarna kecoklatan, selanjutnya residu yang didapatkan dari penyaringan selanjutnya dikeringkan dan dilakukan maserasi kembali menggunakan etanol 70 % yang baru hingga diperoleh filtrat berwarna coklat bening. Dalam penelitian ini dilakukan tiga kali maserasi dan didapatkan filtrat berwarna coklat bening yang menandakan bahwa ekstraksi telah sempurna.

Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan *vacum rotary evaporator*. Proses ini dihentikan ketika pelarut sudah tidak menetes lagi pada labu alas bulat. Prinsip utama *rotary evaporator* adalah adanya penurunan tekanan dan dipercepatnya putaran labu alas bulat sehingga pelarut akan menguap 5 – 10

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

^{o}C pada suhu dibawah titik didih pelarut (Vogel, 1978). Ekstrak pekat yang diperoleh berupa padatan berwarna coklat kehitaman. Hasil tersebut ditunjukkan pada Tabel 4.1 dengan perhitungan rendemen pada Lampiran 6.

Tabel 4.1 Hasil ektraksi maserasi serbuk umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Pelarut	**Serbuk+pelarut yang digunakan**	**Perubahan warna filtrat**	**Warna ekstak pekat**	**Berat ekstrak pekat (g)**	**Rendemen (%) (b/b)**
Etanol 70 %	500 g + 4500 mL	Coklat tua	Coklat kehitaman	47,47	9,49 %

Selanjutnya dari hasil ekstrak pekat yang telah diperoleh dengan rendemen 9,49 %, digunakan dalam uji fitokimia, uji antidiabetes dan pemisahan senyawa flavonoid.

4.4 Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif pada tanaman. Prinsip metode ini adalah adanya perubahan warna oleh suatu pereaksi warna, dimana perubahan warna yang dihasilkan dicocokkan dengan standar warna. Pada penelitian ini pengujian dilakukan dengan cara mengambil sedikit ekstrak umbi binahong dimasukkan kedalam tabung reaksi yang selanjutnya dilakukan penambahan reagen yang sesuai dengan senyawa yang akan diidentifikasi. Hasil identifikasi golongan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak kasar umbi binahong ditunjukkan pada Tabel 4.2.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.2 Hasil fitokimia ekstrak kasar etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Uji	Ektrak Umbi Binahong	Warna	Standar warna
Alkaloid			
• Dragendorff	+	Endapan sedikit jingga	Endapan jingga
• Mayer	+	Endapan kuning	Endapan kekuning-kuningan
Flavonoid	+ +	Kuning jingga	Merah/Jingga/Hijau
Tanin:			
• $FeCl_3$	+ +	Hijau kehitaman	Hijau Kehitaman/ biru tua
Saponin	+ +	Terbentuk busa stabil	Terbentuk busa stabil
Terpenoid	+ +	Terbentuk cincin coklat	Terbentuk cincin kecoklatan

Keterangan: ++ = Kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)
+ = Mengandung senyawa (berwarna)
- = Tidak terkandung senyawa

4.4.1 Alkaloid

Uji fitokimia untuk menunjukkan adanya alkaloid dapat diperoleh dengan menggunakan reagen Dragendorff (kalium tetraiodobismutat) dan Mayer (kalium tetraiodomerkurat). Ekstrak yang mengandung alkaloid menurut Harbone (1987) akan membentuk endapan merah hingga jingga dengan reagen Dragendorff dan membentuk endapan putih kekuning-kuningan dengan reagen Mayer. Endapan jingga pada uji dragendorff merupakan kalium alkaloid.

Pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil (BiO^+), yang reaksinya ditunjukkan pada Gambar 4.1 (Marliana dkk, 2005).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

$$Bi^{3+} + H_2O \rightleftharpoons BiO^{+} + 2H^{+}$$

Gambar 4.1 Reaksi hidrolisis bismuth

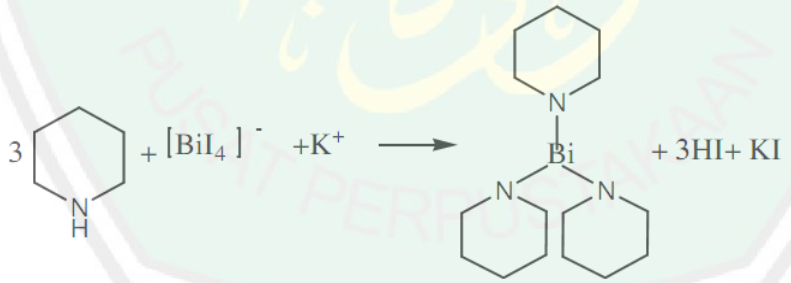
Selanjutnya larutan tersebut ditambah asam sehingga kesetimbangan akan bergeser ke arah kiri dan ion Bi^{3+} tetap berada dalam larutan, ion Bi^{3+} dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan Bismut(III) iodida yang kemudian larut dalam kalium iodida berlebih sehingga membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1990).

$$Bi(NO_3)_3.5H_2O + 3KI \longrightarrow \downarrow BiI_3 + 3KNO_3 + 5H_2O$$

$$BiI_3\downarrow + KI \longrightarrow [BiI_4]^{-} + K^{+} \quad \text{(dengan KI berlebih)}$$

Gambar 4.2 Reaksi dalam reagen dragendorff

Reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid disajikan pada Gambar 4.3 berikut ini.



Kompleks logam dengan alkaloid
(endapan jingga)

Gambar 4.3 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi dragendorff (Sumaryanto, 2009)

Reagen Mayer dibuat dengan melarutkan antara $HgCl_2$ dengan KI, reaksi tersebut membentuk endapan HgI_2, apabila penambahan KI ini berlebih maka

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

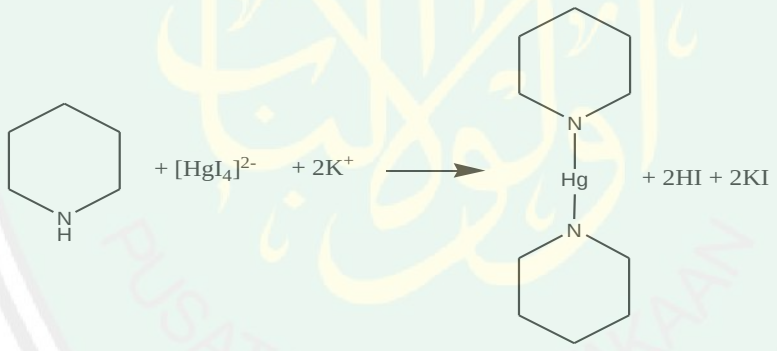
akan terbentuk senyawa kalium tetraiodomerkurat (II) (Shevla,1990), reaksi tersebut disajikan pada Gambar 4.4.

$HgCl_2 + 2\ KI \longrightarrow HgI_2 + 2\ KCl$

$HgI_2 + 2\ KI \longrightarrow [\ HgI_4\ ]^{2-} + 2K^+$

Gambar 4.4 Reaksi dalam reagen mayer

Reaksi yang terjadi pada uji alkaloid dengan reagen Mayer diperkirakan terjadi antara atom N pada alkaloid dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat(II), reaksi dugaan yang terjadi pada uji alkaloid dengan reagen Mayer disajikan pada Gambar 4.5.



Komplek logam dengan alkaloid
(endapan putih kekuningan)

Gambar 4.5 Reaksi dugaan antara alkaloid dengan pereaksi mayer (Sumaryanto, 2009)

Hasil uji senyawa alkaloid dari ekstrak etanol 70 % umbi binahong telah menunjukkan terbentuknya endapan yang berwarna jingga ketika direaksikan dengan reagen Dragendorff dan terbentuknya endapan berwarna putih kekuningan ketika direaksikan dengan reagen Mayer, sehingga dari kedua pereaksi tersebut

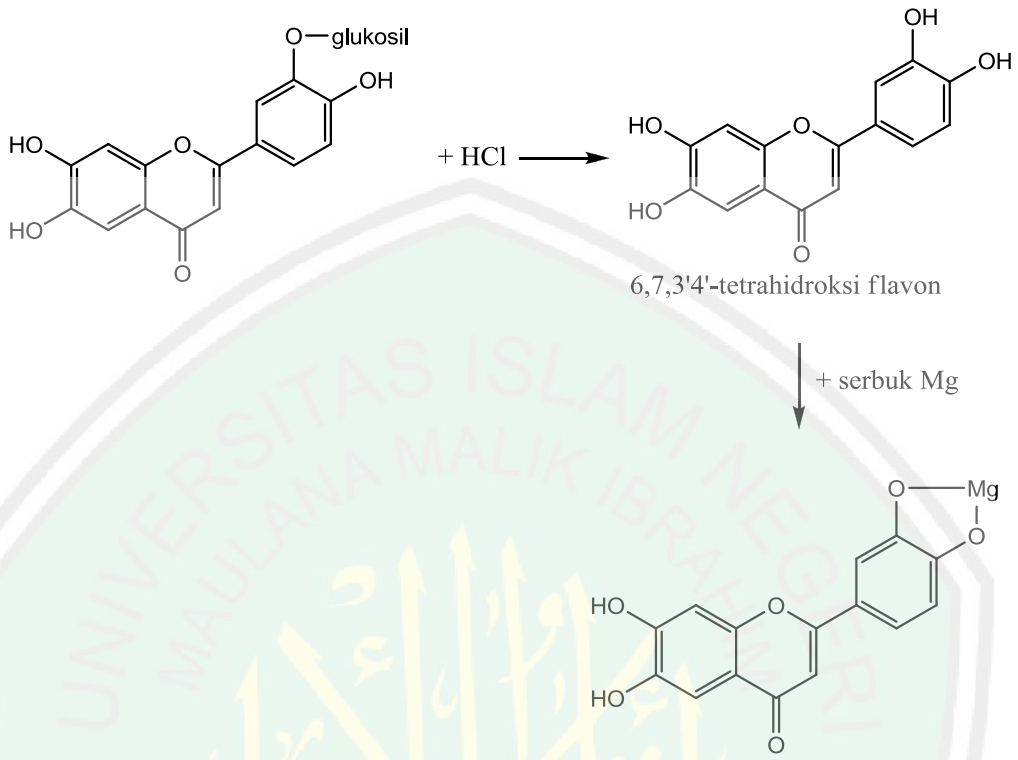
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

membuktikan terdapatnya senyawa golongan alkaloid secara kualitatif terhadap ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).

4.4.2 Flavonoid

Uji fitokimia senyawa flavonoid dilakukan dengan cara menggunakan sedikit ekstrak etanol 70 % umbi binahong dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan metanol panas dengan konsentrasi 50 %, HCl dan sedikit serbuk Mg. Penambahan HCl pekat tersebut berfungsi menghidrolisis flavonoid dalam bentuk glikosidanya menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Penambahan serbuk Mg menghasilkan senyawa kompleks. Reduksi dengan Mg dan HCl pekat ini menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton (Robinson, 1995). Hasil uji fitokimia senyawa flavonoid dari ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) telah menunjukkan terbentuknya warna kuning jingga, sehingga secara kualitatif ekstrak tersebut mengandung senyawa golongan flavonoid. Reaksi uji fitokimia flavonoid ditunjukkan pada Gambar 4.6.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



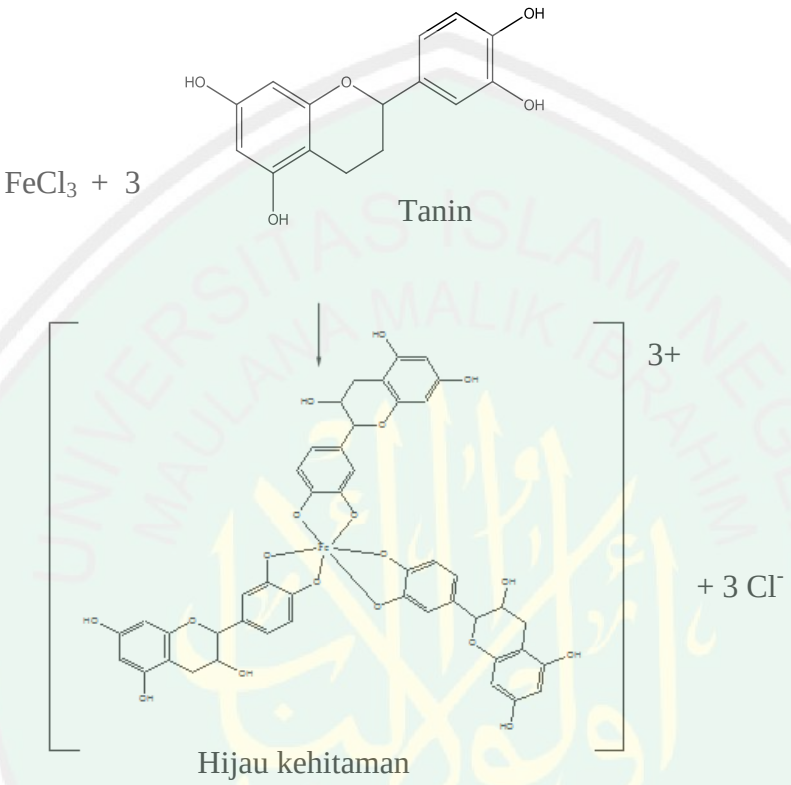
Gambar 4.6 Reaksi pada uji fitokimia flavonoid (Hidayat, 2004)

4.4.3 Tanin

Uji fitokimia senyawa tanin dapat ditunjukkan dengan timbulnya warna hijau kehitaman (Harbone, 1987). Pengujian ini menggunakan $FeCl_3$ untuk menentukan apakah suatu bahan atau sampel mengandung gugus fenol. Dugaan adanya gugus fenol ditunjukkan dengan warna hijau kehitaman atau biru tinta sehingga apabila uji fitokimia dengan $FeCl_3$ memberikan hasil positif dimungkinkan dalam suatu sampel terdapat suatu senyawa fenol dan dimungkinkan salah satunya adalah tanin karena tanin merupakan senyawa polifenol. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan $FeCl_3$ karena tanin akan membentuk senyawa komplek dengan $FeCl_3$.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Reaksi dugaan yang terjadi pada uji tanin dengan $FeCl_3$ ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Reaksi dugaan antara tanin dengan $FeCl_3$ (Halimah, 2010)

Ion logam pusat Fe^{3+} akan cenderung stabil dengan bilangan koordinasi 6 (oktahedral). Kecenderungan Fe dalam pembentukan senyawa kompleks dapat mengikat 6 pasang elektron bebas. Ion Fe^{3+} dalam pembentukan senyawa kompleks akan terhibridisasi membentuk hibridisasi d^2sp^3, sehingga akan terisi oleh 6 pasang elektron bebas atom O pada tanin. Kestabilan dapat tercapai jika tolakan antara ligan pada 3 tanin minimal. Hal ini terjadi jika 3 tanin tersebut posisinya dijauhkan (Effendy, 2007).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol 70 % umbi binahong menunjukkan warna hijau kehitaman dengan penambahan $FeCl_3$ yang menunjukkan mengandung golongan senyawa tanin.

4.4.4 Saponin

Pengujian fitokimia senyawa saponin pada ekstrak etanol 70 % Umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dengan cara menambahkan air pada sampel. Saponin berasal dari bahasa latin "*sapo*" yang berarti sabun, karena sifatnya menyerupai sabun (Halimah, 2010). Jika dengan pengocokan selama 5 menit timbul adanya busa yang bertahan selama 30 menit, maka ekstrak menunjukkan adanya senyawa saponin (Indriyani, 2006).

Hasil fitokimia pada ekstrak umbi binahong menunjukkan hasil yang positif mengandung senyawa saponin secara kualitatif, hal ini karena dengan pengocokan selama 5 menit menimbulkan busa yang stabil pada sampel ekstrak etanol umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis).

4.4.5 Terpenoid

Uji fitokimia pada senyawa flavonoid yang pertama kali dilakukan yaitu sampel ekstrak umbi binahong dimasukkan sedikit kedalam tabung reaksi. Kemudian ekstrak dalam tabung reaksi ditambahkan kloroform 2 mL untuk melarutkan senyawaan karena senyawaan tersebut larut baik dalam kloroform dan tidak mengandung molekul air, kemudian ditambahkan asam sulfat 3 mL secara perlahan-lahan melalui dinding tabung reaksi. Terbentukya cincin kecoklatan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menunjukkan positif terpenoid (Prihanto, 2011). Dengan penambahan asam kuat senyawa terpenoid akan mengalami dehidrasi dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna.

Hasil uji terpenoid dari ekstrak etanol 70 % umbi binahong menghasilkan warna cincin kecoklatan yang menandakan dalam ekstrak tersebut mengandung terpenoid.

4.5 Pemisahan Senyawa Flavonoid

Pemisahan senyawa flavonoid dilakukan melalui proses hidrolisis dengan menggunakan katalis HCl 15 % pada ekstrak pekat umbi binahong. Penambahan HCl 15 % ini bertujuan untuk mengubah flavonoid dalam bentuk glikosida menjadi aglikonnya. Dimana prinsipnya adalah peruraian suatu senyawa dengan cara memutus ikatan glikosida menggunakan air dan katalis asam (Saifudin dkk., 2006).

Hasil dari hidrolisis tersebut selanjutnya diekstraksi cair-cair dengan menggunakan corong pisah, dimana pelarut yang digunakan adalah air-kloroform (1:1) yang bertujuan untuk memisahkan glikosida yang bersifat lebih polar dari aglikon flavonoid yang lebih bersifat non polar. Penelitian ini dilakukan ekstraksi bertahap sebanyak tiga kali, artinya dilakukan pengulangan tiga kali ekstraksi dengan menggunakan pelarut kloroform-air sehingga hasil ekstraksinya lebih maksimal. Hasil dari ekstraksi cair-cair tersebut membentuk dua lapisan, diantaranya lapisan bawah (fasa organik) yang mengandung aglikon flavonoid dan lapisan atas (fasa air) yang dimungkinkan mengandung gula, HCl dan sisa

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

senyawa flavonoid yang tidak terhidrolisis. Adapun reaksi yang mungkin terjadi dalam proses hidrolisis ditunjukkan pada Gambar 4.8.

Gambar 4.8 Reaksi hidrolisis flavonoid glikosida dengan HCl (Mardiyah, 2012)

Kemudian masing-masing fasa air dan fasa organik dipisahkan dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak fasa air diperoleh warna kehitaman dan ekstrak fasa organik berwarna coklat kehitaman yang lebih kering di bandingkan dengan ekstrak pekat umbi binahong hasil maserasi. Hasil tersebut ditunjukkan pada Tabel 4.3 dengan perhitungan rendemen pada Lampiran 6.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.3 Hasil hidrolisis ekstrak flavonoid umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Pelarut	**Ekstrak pekat + pelarut yang digunakan**	**Warna ekstak pekat (Fasa organik)**	**Berat ekstrak pekat (gr)**	**Rendemen (%) (b/b)**
Etanol 70% + HCl 15%	8,053gr + HCl 15% 16 mL	Coklat kehitaman	6,102	75,77

Kedua ekstrak pekat fasa organik dan fasa air selanjutnya diuji fitokimia senyawa flavonoid. Hasil uji fitokimia senyawa flavonoid pada fasa organik menunjukkan terbentuknya warna kuning jingga sehingga positif mengandung senyawa flavonoid, namun pada fasa air setelah dilakukan uji fitokimia tidak memberikan warna jingga atau merah melainkan warna kehitaman yang bukan merupakan senyawa golongan flavonoid. Hal ini karena fasa air yang dimungkinkan mengandung gula, HCl sudah tidak terdapat senyawa flavonoid dan flavonoid tersebut telah terhidrolisis dan terpisah pada senyawa organiknya. Selanjutnya ekstrak flavonoid umbi binahong digunakan untuk KLT analitik senyawa flavonoid.

4.5.1 Pemisahan Senyawa Flavonoid dengan KLT Analitik

Kromatografi lapis Tipis (KLT) merupakan metode pemisahan yang didasarkan pada perbedaan distribusi molekul-molekul komponen diantara dua fase yakni fase gerak (eluen) dan fase diam (adsorben) yang berbeda tingkat kepolarannya (Sastrohamidjojo, 1991). Prinsip pemisahan KLT ini adalah adanya

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), kecenderungan molekul untuk menguap dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan fase diam (Hendayana, 2006).

Proses pemisahan golongan senyawa aktif ekstrak flavonoid umbi binahong dilakukan pemisahan berdasarkan distribusinya yaitu fasa diam yang berupa silika gel dan fasa geraknya berupa larutan pengembang atau eluen. Komponen ekstrak umbi binahong yang tertotol pada fasa diam akan terpisahkan oleh fasa gerak yang bergerak sepanjang fasa diam karena pengaruh kapiler pada larutan pengembang.

Tujuan dilakukannya KLT Analitik terhadap ekstrak flavonoid umbi binahong adalah untuk mencari eluen terbaik dari beberapa eluen terbaik dalam pemisahan senyawa aktif yaitu flavonoid, dimana pada flavonoid dari ekstrak umbi binahong hasil hidrolisis ini digunakan lima macam eluen, adapun hasil lima eluan tersebut ditunjukkan pada Tabel 4.4

Tabel 4.4 Data penampakan noda senyawa flavonoid dari hasil KLTA ekstrak etanol 70% umbi binahong pada beberapa variasi eluen dengan lampu UV 366 nm

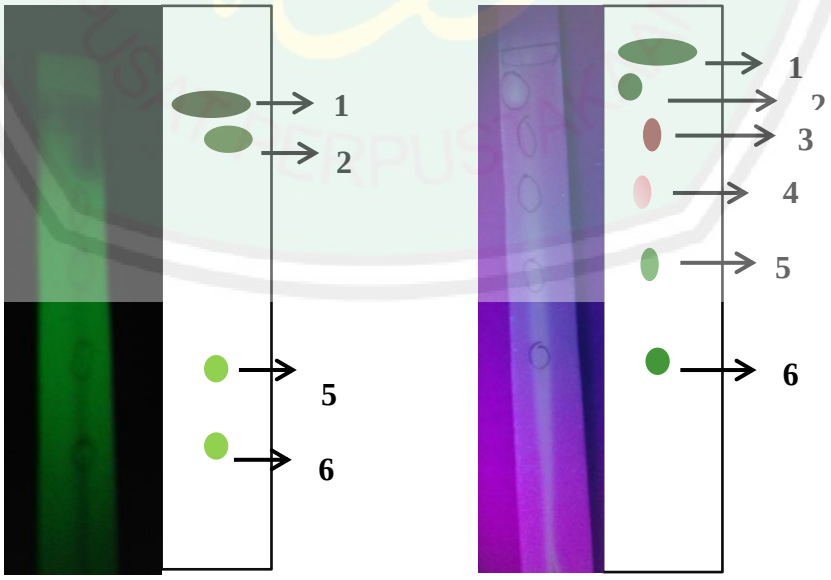
No.	Fase Gerak	Jumlah noda pendeteksi Amonia	Nilai Rf	Warna noda
1.	Butanol: asam asetat: air (4:1:5)	6	0,4 0,55 0,71 0,81 0,91 0,97	Hijau Tua Hijau tua Merah Merah muda Hijau hijau

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lanjutan Tabel 4.4

2.	Metanol : kloroform (1:9)	5	0,03 0,06 0,35 0,49 0,67	Merah muda Ungu Merah muda Ungu Hijau
3.	Etil asetat: metanol (9:1)	5	0,05 0,11 0,26 0,46 0,95	Biru Merah muda Biru Merah muda Hijau
4.	Metanol: kloroform (2:3)	3	0,54 0,6 0,88	Merah muda Ungu Hijau
5.	Metanol: kloroform (1:39)	-	-	-

Berdasarkan 5 variasi eluen tersebut, terdapat satu eluen yang menunjukkan hasil pemisahan baik yaitu menggunakan eluen butanol - asam asetat - air (4:5:1) sebagaimana Gambar 4.9 dan Tabel 4.5.



(a) (c)

Gambar 4.9 Gambar hasil KLT analitik BAA (4:1:5) senyawa flavonoid

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kerangan:
a.. Hasil pengamatan dengan lampu UV 254 nm sesudah disemprot NH_3
c. . Hasil pengamatan dengan lampu UV 366 nm sesudah disemprot NH_3

Tabel 4.5 Hasil KLTA senyawa flavonoid ekstrak flavonoid umbi binahong dengan eluen BAA (4:1:5) setelah diuapi amonia

No Noda	Rf (cm)	Warna dibawah sinar $UV_{254\ nm}$	Warna noda dibawah sinar $UV_{366\ nm}$		Dugaan Senyawa
			Sebelum diuapi amonia	Setelah diuapi amonia	
1	0,4	Hijau kehitaman	Hijau	Hijau tua	Flavonoid
2	0,55	Hijau kehitaman	Merah muda	Hijau tua	Flavonoid
3	0,71	-	-	Merah	Flavonoid
4	0,81	-	-	Merah muda	Flavonoid
5	0,97	Hijau	-	Hijau	Flavonoid
6	0,91	Hijau muda	-	Hijau	Flavonoid

Hasil pemisahan senyawa flavonoid pada ekstrak flavonoid umbi binahong dengan KLT analitik menunjukkan bahwasanya variasi eluen butanol : asam asetat : air (4:1:5) mampu memberikan pemisahan yang cukup baik dibandingkan dengan variasi eluen yang lain. Dimana dengan menggunakan variasi eluen tersebut noda yang dihasilkan mampu terpisah dengan baik. Pemisahan dikatakan baik apabila menghasilkan komponen senyawa berupa noda yang banyak, noda yang terbentuk bulat tidak berekor, dan pemisahan nodanya jelas (Gandjar dan Rohman, 2007). Hasil elusi untuk eluen terbaik membentuk 6 spot dengan Rf (0,4-0,91) dan warna noda seperti yang ditampilkan pada Tabel 4.5 di atas. Spot yang mempunyai Rf terkecil (0,4) menunjukkan adanya senyawaan flavonoid yang bersifat seperti sifat kepolaran fase diamnya sedangkan nilai Rf yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

diatasnya (0,55-0,91) senyawa flavonoid juga bersifat polar namun lebih mirip kepolarannya dengan fase geraknya.

Hasil warna dari 6 spot yang muncul semuanya diduga merupakan senyawa flavonoid, hal ini serupa dalam Koeriwa (2010) dimana dihasilkan warna hijau, merah muda, kuning yang merupakan senyawa flavonoid, merah, merah jingga, merah muda dan ungu (Inayah, 2011), kemudian menurut Harborne (2006), senyawa flavonoid yang diuapi amonik menghasilkan warna biru, coklat muda/lemah, coklat tua, coklat hitam, merah muda, merah tua, jingga, kuning dan hijau kuning. Perubahan warna pada noda satu menjadi hijau setelah diuapi amonia juga cenderung sama seperti penelitian Koeriwa (2010) dimana terjadi perubahan warna hijau menjadi hijau tua setelah diuapi amonia.

Pengamatan plat dilakukan dibawah sinar UV pada λ 366 nm baik sebelum atau sesudah diuapi dengan amonia. Penampakan noda pada λ 366 nm terjadi karena noda terlihat terang pada lampu UV λ 366 nm sedangkan silika gel tidak berfluorosensi pada lampu UV λ 366 nm. Timbulnya warna pada noda disebabkan karena adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat pada auksokrom yang ada pada noda. Kromofor merupakan senyawa organik yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang dapat menyerap warna sedangkan auksokrom adalah gugus fungsional yang memiliki elektron bebas yang apabila terikat pada kromofor menyebabkan terjadinya pergeseran panjang gelombang. Fluorosensi cahaya yang nampak merupakan emisi cahaya yang dipancarkan oleh komponen tersebut ketika elektron tereksitasi dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi kemudian kembali ke keadaan semula

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dengan melepaskan energi (Sudjadi, 1988). Noda tidak nampak pada λ 254 nm karena pada λ tersebut hanya menyerap golongan khas dari aromatik, α dan β karbonil tak jenuh dan sistem terkojugasi (Zahro, 2011). Panjang gelombang 254 nm digunakan untuk menampakkan eluen yang digunakan sebagai bercak gelap.

4.6 Uji Antidiabetes

Penelitian uji antidiabetes ini dilakukan untuk mengetahui efek yang dihasilkan dari ekstrak kasar etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dalam menurunkan kadar glukosa darah dan aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)*. Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan jenis *Rattus norvegicus* berat badan 100-200 g dengan *laik etik* **221-KEP-UB**. Dipilih tikus jantan karena sistem imun pada tikus jantan cenderung tidak dipengaruhi oleh hormon reproduksi pada masa siklus estrus, selain itu tikus jantan tidak memiliki hormon estrogen dan progesteron yang diketahui bersifat antagonis terhadap insulin (Inayah, 2008). Kusumawati (2004) menambahkan bahwa tikus berbeda dengan mencit sebagai hewan coba untuk pengambilan sampel darah dan pengukuran aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)*, hal ini karena ukuran tubuh tikus lebih besar untuk mempermudah pengamatan pada jantung dan darahnya lebih banyak dibandingkan mencit.

Rattus norvegicus memiliki karakter fungsional yang baik sebagai model bagi hewan mamalia (Fidzaro, 2012). Pemeliharaan tikus dalam penelitian ini dilakukan selama 1 minggu dengan pemberian makan dan minum secara *ad libitum* maksudnya secara bebas dan terus menerus sampai tikus itu berhenti

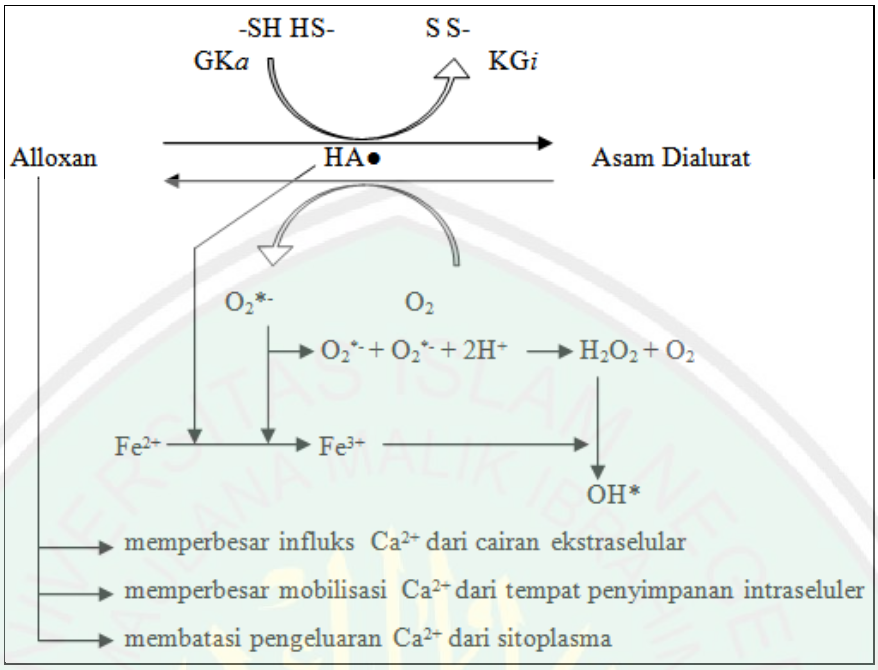
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

sendiri sesuai keinginannya, tujuan dari pemelihaan seminggu adalah untuk mengadaptasi tikus terhadap lingkungan sekitarnya.

Kondisi diabetes pada tikus *Rattus norvegicus* didapat dengan menginjeksikan aloksan dengan dosis yaitu 32 mg/200g BB, Chougale dkk (2007) menggunakan dosis 32 mg/200g BB untuk menjadikan tikus menjadi diabetes, kemudian Fitriani (2011) dan Ratimanjari (2011) menggunakan dosis optimum yaitu 32 mg/200g BB dapat mengakibatkan hiperglikemia tikus selama 3 hari setelah induksi dan tidak menyebabkan kematian. Pada penelitian ini tikus tersebut berhasil menjadi diabetes setelah diinduksi aloksan, dan diperoleh kadar glukosa tikus diatas 300 mg/dL.

Aloksan menyebabkan hiperglikemia dengan diawali oleh pembentukan ROS (*reaktif oksigen spesies)* yang bersifat toksik, yaitu radikal superoksida (O_2^-) dan radikal hidroksil (•OH). ROS tersebut merupakan hasil reduksi aloksan didalam sel β pankreas yang dapat merusak DNA sel-sel pulau Langerhans, kerusakan atau kematian sebagian sel β pulau Langerhans menyebabkan penurunan jumlah insulin yang disekresi. Berkurangnya jumlah insulin tersebut kemudian menghambat transportasi glukosa ke sel-sel tubuh sehingga menimbulkan penimbunan glukosa dalam darah (Lenzen, 2008). Adapun mekanisme aloksan sehingga menghasilkan radikal superoksida ($O_2^{\bullet-}$) dan radikal hidroksil (•OH) sebagai berikut:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.10 Mekanisme aloksan dalam sel β pankreas tikus (Szkudelski, 2001)

Keterangan: GK*a*, GK*i*: glukokinase aktif dan inaktif
HA*: radikal aloksan; $[Ca^{2+}]i$: konsentrasi kalsium intraselular

Aksi toksik aloksan pada sel β pankreas direduksi sehingga menghasilkan asam dialurik kemudian membentuk radikal bebas yaitu radikal aloksan serta membentuk radikal superoksida ($O2^{\bullet-}$) yang mempnyai kereaktifan yang tinggi, radikal superoksida mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) karena terdapat enzim SOD (*Superoksida dismutase)*, hidrogen peroksida (H_2O_2) yang tidak terdismutasi akibat enzim SOD yang kurang dalam tubuh akan menyebabkan terbentuknya radikal hidroksil (OH•), radikal hidroksil akan terus meningkat seiring dengan rendahnya enzim SOD untuk dapat membentuk kembali hidrogen peroksida dan oksigen. Aksi radikal bebas tersebut dengan rangsangan tinggi menyebabkan destruksi cepat pada sel β pankreas sehingga insulin tidak terbentuk dan kadar glukosa menjadi meningkat (Yuriska, 2009).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan glukometer strip, adapun prinsip dari metode tes strip adalah adanya *Glukosa oksidase* pada tes strip, tes strip mempunyai bagian yang dapat menarik darah dari sumber tetesan darah (ekor tikus) ke dalam zona reaksi, *Glukosa oksidase* dalam zona reaksi akan mengoksidasi glukosa didalam darah. Intensitas arus elektron akan terukur oleh alat dan terbaca sebagai konsentrasi glukosa dalam darah (Hones dkk., 2008).

Selain ditandai dengan kadar glukosa darah, tikus yang mengalami diabetes pada penelitian tersebut juga menunjukkan gejala-gejala seperti glukosuria, poliuria dan polidipsia. Hal tersebut sesuai dengan teori yang menyatakan bahwa penderita diabetes umumnya memiliki gejala glukosuria, yaitu urin yang mengandung glukosa, banyak mengeluarkan urin (poliuria) dan mengalami peningkatan rasa haus (podipsia) dibandingkan dengan yang sehat (Homenta, 2012).

Tikus diabetes selanjutnya diterapi dengan memberikan ekstrak umbi binahong dengan dosis dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB dan 75 mg/kg BB dengan perhitungan dosis larutan uji seperti pada Lampiran 4. Pelarut yang digunakan hendaknya tidak memberikan efek toksik terhadap hewan uji. Pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah CMC-Na 0,5 % sebab pelarut ini bersifat netral dan tidak memberikan efek samping terhadap hewan uji terbukti pada kontrol negatif tanpa injeksi aloksan tikus tetap hidup ketika diberikan larutan CMC-Na 0,5 %. Selain itu, larutan CMC-Na berbentuk gel sehingga akan menjadikan larutan uji lebih stabil di dalam lambung tikus.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

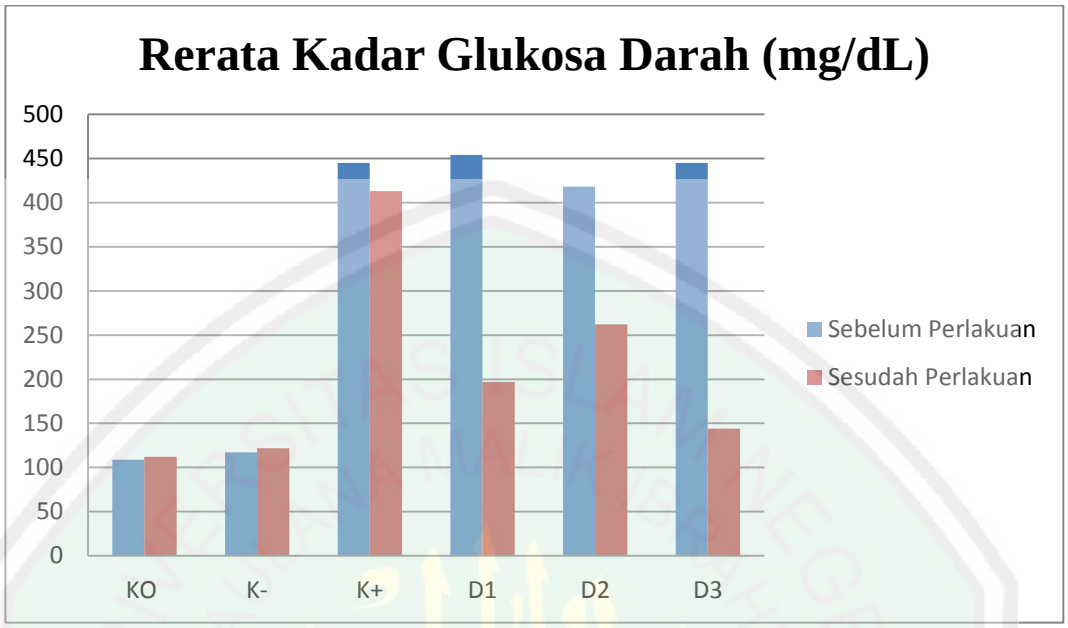
Ketiga dosis tersebut dilakukan terapi setiap hari secara peroral seperti yang dilakukan pada manusia, dengan menggunakan sonde yaitu alat suntik yang ujungnya dilengkapi dengan sesuatu yang tumpul. Terapi tersebut dilakukan selama 14 hari bertujuan agar dalam waktu 14 hari tersebut dapat menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)* pada jantung tikus *Rattus norvegicus* yang telah diabetes.

Rerata kadar glukosa darah tikus *Rattus norvegicus* didapatkan pada masing-masing kelompok ditunjukkan pada Tabel 4.6 sebagai berikut:

Tabel 4.6 Rerata kadar glukosa darah

Kelompok	**Rerata Kadar Glukosa Darah (mg/dL)**			
	H0	**H1**	**H7**	**H14**
K0	102 ± 15,35	109 ± 35,76	74 ± 11,87	122 ± 2,36
K-	124 ± 10,05	117 ± 8,26	89 ± 15,41	112 ± 16,34
K+	87 ± 21,56	445 ± 58,43	304 ± 47,54	413 ± 76,97
D1	99 ± 13,84	454 ± 88,48	351 ± 83,08	197 ± 36,94
D2	93 ± 24,30	418 ±64,43	306 ± 114,45	262 ± 114,84
D3	88 ± 23,34	445± 123,4	296 ± 121,28	144 ± 103,13

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.11 Diagram batang nilai rerata kadar glukosa darah H_0 dan H_1

Keterangan:
Kontrol nol (KO) : tanpa perlakuan injeksi dan terapi
Kontrol negatif (K-) : pemberian pelarut tanpa injeksi aloksan
Kontrol positif (K+) : injeksi aloksan dosis 32mg/200g BB
Dosis 1 (D1) : pemberian terapi ekstrak umbi binahong dosis 25 mg/Kg BB
Dosis 2 (D2) : pemberian terapi ekstrak umbi binahong dosis 50 mg/Kg BB
Dosis 3 (D3) : pemberian terapi ekstrak umbi binahong dosis 75 mg/Kg BB

Hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa rata-rata diatas memperlihatkan data yang beragam, hal ini disebabkan karena adanya variasi biologis yang dimiliki tiap tikus sehingga tidak memungkinkan untuk memperoleh kadar glukosa tikus puasa yang tepat sama. Tabel 4.6 juga menjelaskan bahwa pada H_0 didapatkan rerata kadar glukosa darah yang normal dan tidak melebihi 126 mg/dL. Menurut Perkeni (2011) hasil dari pemeriksaan kadar glukosa darah puasa dikatakan normal jika tidak melebihi 126 mg/dL.

Pada (H_1) tikus yang diinduksi aloksan mengalami peningkatan kadar glukosa darah berbeda pula pada tiap tikus, hal ini karena respon tubuh tikus terhadap aloksan berbeda. Selanjutnya tikus yang diabetes pada D1, D2 dan D3

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dilakukan terapi ekstrak umbi binahong selama 14 hari. Dari hasil penelitian ini hari keempat belas (H_{14}) menunjukkan kadar glukosa darah yang mengalami penurunan, hal ini karena dalam ekstrak umbi binahong terkandung senyawa aktif yang dapat menurunkan kadar glukosa darah tersebut, salah satu golongan senyawa yang dimungkinkan telah memberikan pengaruh terhadap kadar glukosa darah H_{14} adalah flavonoid, Suarsana (2013) menyebutkan bahwa senyawa flavonoid dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus dengan cara merangsang sel β pankreas untuk memproduksi insulin lebih banyak. Setelah hari ketujuh ($H_{7)}$ kelompok nol, kelompok negatif dan kelompok positif diabetes telah mengalami penurunan kadar glukosa darah dan meningkat kembali pada hari keempat belas ($H_{14)}$, hal ini dimungkinkan pada masing-masing tikus berbeda dalam hal variasi biologis, daya tahan tubuh, serta kondisi fisik yang dimiliki tikus sehingga dapat mempengaruhi pula kadar glukosa darah menurun dalam tubuh.

Efek penurunan kadar glukosa darah dapat diketahui dengan menggunakan program SPSS 16.0 dengan menggunakan Uji *One Way* ANOVA untuk mengetahui signifikasi rata-rata penurunan kadar glukosa darah perlakuan terhadap kontrol dan signifikasi antar kelompok perlakuan. Hasil H_0 (Kadar glukosa awal) pada Lampiran 9 menunjukkan bahwa taraf signifikasi sebesar 0,109 lebih besar dari α (0,05) sehingga H_0 diterima H_1 ditolak, artinya tidak ada perbedaan yang nyata terhadap kadar glukosa darah semua tikus sehat sebelum dilakukan induksi aloksan sehingga antara kelompok dosis maupun kontrol positif dan kontrol negatif tidak ada perbedaan yang bermakna.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil uji Anova H_1 dan H_{14} menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kadar glukosa darah dengan taraf signifikasi diperoleh sebesar 0,00 lebih kecil dibandingkan dengan α (0,05). Perbedaan pada H_1 karena kelompok yang diinduksi aloksan kadar glukosa darahnya lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol nol dan kontrol negatif. Pada H_{14} terjadi perbedaan karena terdapat tiga kelompok dosis yang mengalami penurunan kadar glukosa darah setelah diberikan terapi ekstrak umbi binahong. Adapun hasil ANOVA tersebut terdapat di Lampiran 9.

Berikut merupakan ringkasan hasil perhitungan ANOVA terhadap tiga dosis dalam menurunkan kadar glukosa darah pada Tabel 4.7.

Tabel 4.7 Ringkasan ANOVA pengaruh ekstrak umbi binahong terhadap kadar glukosa darah tikus diabetes mellitus.

SK	Db	JK	KT	F_{hitung}	F 5%
Perlakuan	2	43888,67	21944,335	2,4471	4,26
Galat	9	80708,2467	8967.58		
Total	11	124596,92			

Dari Tabel 4.7 diatas dapat diketahui bahwa nilai F_{hitung} = 2,4471 artinya $F_{hitung} < F_{tabel}$ pada taraf signifikasi 95% yaitu 2,4471 < 4,26 dengan demikian H_0 diterima dan H_1 ditolak. sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan kadar glukosa darah tikus yang telah diabetes pada pemberian ekstrak umbi binahong. Artinya jika dibandingkan dengan kontrol positif, ketiga dosis tersebut sama-sama telah menurunkan kadar glukosa darah akibat pemberian terapi ekstrak umbi binahong.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kemampuan ekstrak umbi binahong dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes berkaitan dengan aktivitas biologis senyawa dalam umbi binahong. Dalam penelitian ini setelah dilakukan uji fitokimia menghasilnya positif senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid. Astuti (2010) melakukan fitokimia terhadap berbagai bagian pada tanaman binahong yaitu daun, batang, bunga serta umbinya dan dari hasil fitokimia tersebut telah mengandung flavonoid, tannin, saponin, terpenoid dan alkaloid. Saleh (2012) menyatakan adanya senyawa golongan flavonoid dalam tanaman mengembalikan sensitifitas reseptor insulin pada sel sehingga menurun kadar glukosa tersebut, selain itu flavonoid sebagai antioksidan yang dapat memperbaiki sel β pankreas yang telah rusak akibat radikal bebas. Kemudian dalam umbi binahong diketahui terkandung saponin sehingga dimungkinkan saponin berperan dalam menghambat aktivitas enzim α-glukosidase, yaitu enzim yang bertanggung jawab pada pengubahan karbohidrat menjadi glukosa sehingga menurunkan kadar glukosa darah (Manoi, 2009).

Untuk mengetahui dosis paling efektif dari tiga dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB dan 75 mg/kg BB maka menggunakan uji Duncan. Pada Lampiran 9 (L.9.2) hasil ANOVA didapatkan taraf signifikasi sebesar 0,00 sehingga lebih kecil dari pada α= 0,05 artinya terdapat perbedaan dari tiap-tiap kelompok kemudian dilanjutkan dengan uji Duncan, hasil Duncan didapatkan 3 subset, kontrol nol, kontrol negatif dan kontrol positif terdapat pada subset pertama artinya bahwa ketiga kelompok tersebut tidak terdapat perbedaan kadar glukosa darah, pada subset kedua terdapat kelompok dosis 2 sedangkan pada subset ketiga

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

terdapat kelompok dosis 1 dan kelompok dosis 3 sehingga dari kelompok 1 dan 3 keduanya tidak ada perbedaan. Namun dari hasil subset ketiga mengindikasikan bahwasanya dosis 1 yaitu 25 mg/kg BB telah menunjukkan efek penurunan kadar glukosa yang paling baik dibandingkan dengan dosis 3 yaitu 27 mg/kg BB hal ini karena dalam waktu terapi yang sama namun dengan dosis yang lebih rendah yaitu dosis 25 mg/kg BB sudah bekerja secara maksimal dalam menurunkan kadar glukosa darah sehingga dosis 25 mg/kg BB memperlihatkan efek hipoglikemik yang paling baik.

4.7 Analisis Aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)*

Kerentanan suatu jaringan terhadap kerusakan oksidatif tergantung terutama pada mekanisme pertahanan oksidatifnya, antara lain enzim-enzim antioksidannya. Enzim katalase dan SOD termasuk enzim-enzim utama yang berperan dalam melindungi oksidasi jaringan. SOD adalah salah satu enzim yang bekerjasama menetralisir radikal superoksida oleh SOD menjadi H_2O_2 yang masih bersifat toksik (Prangdimurti, 2006).

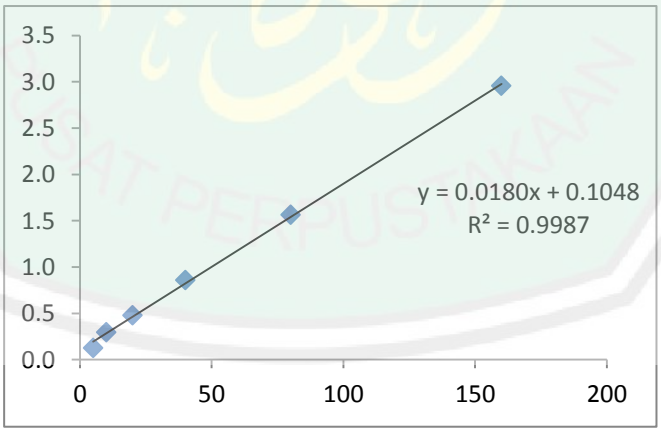
Pada Penelitian ini dilakukan pengukuran aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)* dimana prinsip dari pengukuran ini adalah mengukur formazan yang dihasilkan dari reduksi NBT (*nitro blue tetrazolium*) oleh radikal superoksida. Satu unit aktifitas SOD menunjukkan sejumlah enzim yang dibutuhkan untuk menghambat reduksi NBT menjadi 50 % dalam kondisi tertentu (Rukmin dkk, 2004). Langkah awal yang dilakukan pada analisis ini adalah membuat kurva standar yaitu untuk mencari kadar aktifitas SOD, dimana digunakan SOD murni

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

komersial dengan berbagai konsentrasi yang meliputi 5, 10, 20, 40, 80, 160 u/ml, kemudian dari beberapa konsentrasi tersebut diukur absorbansinya menggunakan panjang gelombang maksimum 580 nm karena warna pada sampel tersebut menunjukkan warna ungu, kemudian dibuat kurva standar untuk menghitung aktifitas SOD pada sampel. Berikut ini kurva baku dari aktifitas SOD murni komersial pada Tabel 4.8 dan Gambar 4.11.

Tabel 4.8 Kurva standar SOD

Aktivitas SOD (u/ml)	ABS
5	0,128
10	0,297
20	0,479
40	0,860
80	1,564
160	2,956



Gambar 4.12 Grafik kurva standar

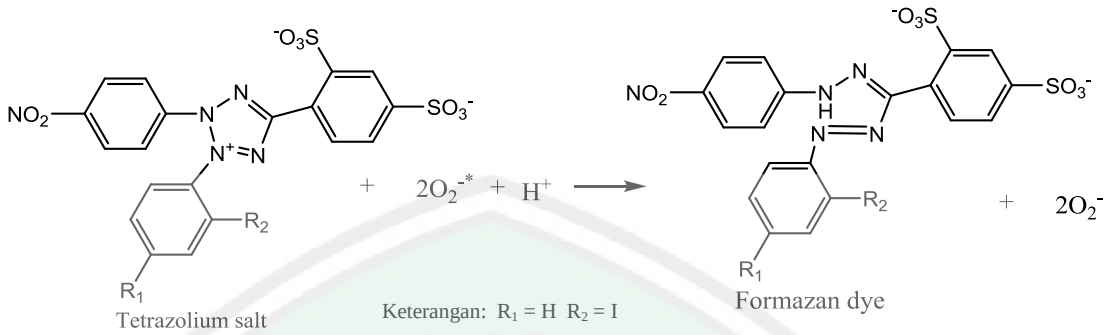
Kurva standar yang didapatkan selanjutnya digunakan untuk menghitung aktifitas SOD, sampel yang digunakan adalah jantung, hal ini karena penderita diabetes mellitus beresiko terjadi komplikasi yang menyebabkan kerusakan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

disfungsi berbagai organ tubuh, salah satunya adalah organ jantung. Jantung yang perperan memompa darah dapat terganggu akibat tingginya kadar glukosa darah sehingga dapat meningkatkan kerja jantung 4-8 kali dari keadaan normal (Supriyono, 2008).

Sampel jantung kemudian ditimbang 100 mg dan dijadikan ekstrak jantung yang ditambahkan PBS (pH= 7,4) sebagai pelarutnya, selanjutnya di*sentrifuse* sehingga memudahkan dalam proses analisis, tabung *ependofft* yang digunakan dalam analisis ditutup dengan *alumunium foil* sebelum digunakan, karena analisis ini sangat mudah teroksidasi senyawa yang digunakan. Bahan yang digunakan meliputi ekstrak jantung, PBS, NBT, *xhantine* dan *xhantine oksidase* kemudian divortex dan diinkubasi selama 30 menit hal ini dilakukan agar terjadi reaksi terhadap bahan yang ditambahkan, penambahan *xhantine* dan *xhantine oksidase* akan menghasilkan radikal superoksida (O_2^-) dan asam urat, adapun reaksi yang dihasilkan terdapat pada Gambar 2.12. Radikal superoksida (O_2^-) yang terbentuk selama aktifitas fisik berat bersifat reaktif dan berbahaya bagi tubuh, sehingga radikal tersebut dinetralisir dengan enzim SOD dalam jaringan jantung dan akan mengoksidasi garam tetrazolium (berwarna kuning) yang terdapat dalam NBT menjadi formazan yang berwarna ungu. Adapun reaksi yang terjadi sebagai berikut pada Gambar 4.13.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.13. Reaksi radikal superoksida dan NBT menghasilkan formazan (Ukeda *et al*, 1999).

Pada analisis ini enzim SOD (*Superoksida dismutase)* dalam sampel jantung akan berlomba dengan NBT untuk bereaksi dengan radikal superoksida sehingga menghambat pembentukan zat warna (*dye*).

$$2\ O_2^{\bullet -} + 2\ H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$$

Gambar 4.14 Reaksi radikal bebas dengan antioksidan

Semakin banyak radikal bebas yang dioksidasi maka warna akan semakin pekat dan semakin banyak pula enzim SOD yang ada dalam jantung tersebut, warna yang dihasilkan dalam penelitian ini menunjukkan warna ungu setelah dilakukan penambahan NBT, hal ini karena terjadi pembentukan formazan.

Wresdiyati (2010) menyatakan bahwa kadar dari antioksidan SOD di jaringan hati dan ginjal mengalami penurunan pada tikus yang dimodel diabetes mellitus, pada penelitian ini pengukuran aktivitas SOD pada jaringan jantung tikus yang diinduksi aloksan juga mengalami penurunan antioksidan SOD, hal ini karena antioksidan SOD tidak hanya terdapat dalam hati dan ginjal melainkan berada di beberapa jaringan dalam tubuh tak terkecuali pada jaringan jantung.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Rerata aktivitass SOD (*Superoksida dismutase)* pada organ jantung tikus *Rattus norvegicus* berbagai kelompok serta kelompok yang telah diberikan terapi ekstak umbi binahong disajikan pada Tabel 4.9 dengan perhitungan di Lampiran 10:

Tabel 4.9 Rerata aktivitas SOD

Perlakuan	Aktivitas SOD (u/ml)
K O	5,386 ± 0,28
K -	5,219 ± 0,2
K+	4,358 ± 0,27
D1	5,511 ± 0,12
D2	5,247 ± 0,37
D3	4,942 ± 0,28

Keterangan:
Kontrol nol (KO) : tanpa perlakuan injeksi dan terapi
Kontrol negatif (K-) : pemberian pelarut tanpa injeksi aloksan
Kontrol positif (K+) : injeksi aloksan dosis 32mg/200g BB
Dosis 1 (D1) : pemberian terapi ekstrak umbi binahong dosis 25 mg/Kg BB
Dosis 2 (D2) : pemberian terapi ekstrak umbi binahong dosis 50 mg/Kg BB
Dosis 3 (D3) : pemberian terapi ekstrak umbi binahong dosis 75 mg/Kg BB

Pada Tabel 4.9 didapatkan rerata pada aktivitas SOD dimana terjadi perubahan pada tiap-tiap kelompok, kelompok kontrol positif didapatkan sebesar 4,358 u/ml lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol negatif dan kontrol nol sebesar 5,219 u/ml dan 5,386 u/ml, hal ini karena pada kondisi diabetes telah terjadi peningkatan radikal bebas dalam tubuh sehingga enzim untuk menghambat radikal tersebut sedikit, sedangkan kondisi normal terdapat radikal dalam tubuh yang sedikit sehingga enzim SOD masih dapat menetralkan radikal bebas tersebut. Menurut (Soedarmi, 2009) diketahui bahwa kadar *Superoksida*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dismutase (SOD) orang normal sebesar 74,3556. Masing-masing tubuh tikus mempunyai variasi biologis yang berbeda sehingga tidak mungkin aktifitas pada tikus selalu sama. Tiga kelompok terapi ekstrak umbi binahong didapatkan aktivitas SOD lebih tinggi berturut-turut yaitu 5,511 u/ml ; 5,217 u/ml dan 4,942 u/ml dibandingkan dengan kelompok positif yang lebih rendah. Hal tersebut terjadi karena kandungan aktif dalam umbi binahong bertindak sebagai antioksidan alami yang menghambat radikal bebas sehingga terjadi peningkatan aktivitas SOD.

Berikut merupakan ringkasan hasil perhitungan ANOVA terhadap semua kelompok tikus dalam aktifitas SOD jantung tikus.

Tabel 4.10 Ringkasan ANOVA terhadap aktifitas SOD jantung tikus.

SK	db	JK	KT	F_{hitung}	F 1%	F 5%
Perlakuan	5	3,44	0,688746	9,712501	8,02	4,26
Galat	18	1,28	0,070913			
Total	23	4,72				

Dari data Anova diketahui bahwa nilai F_{hitung} = 9,715 artinya $F_{hitung} > F_{tabel}$ pada taraf signifikasi 95% yaitu 9,715 > 4,26. Dengan demikian H_0 ditolak dan H_1 diterima, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat pengaruh dalam pemberian ekstrak umbi binahong dalam meningkatkan aktifitas SOD tikus.

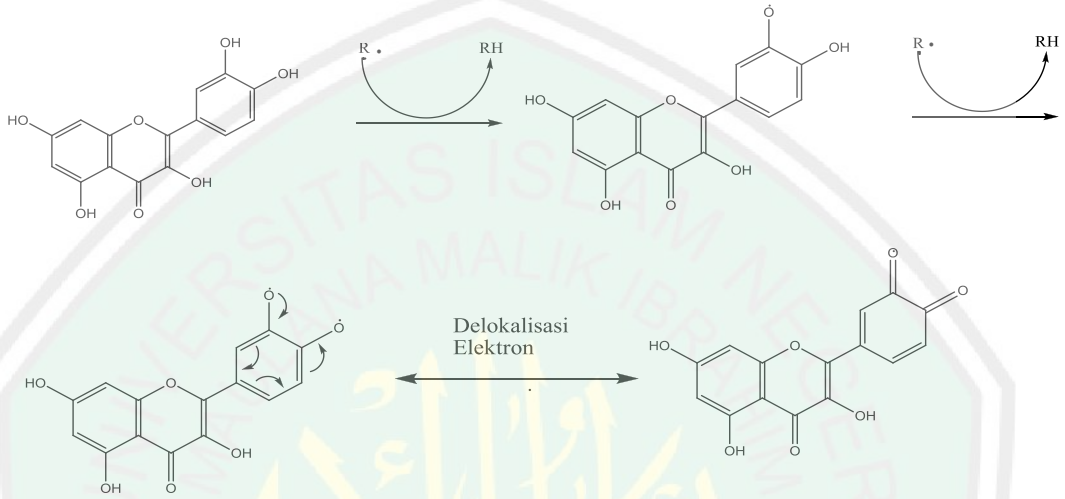
Untuk mengetahui ada perbedaan atau tidak terhadap tiap perlakuan maka dilanjutkan uji Duncan sehingga dapat diketahui pula dosis optimum untuk mengetahui dosis yang terbaik dalam meningkatkan aktifitas SOD pada jantung

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

tikus. Pada Lampiran 12 diperoleh hasil uji Duncan yang menghasilkan tiga subset, dimana masing-masing subset menunjukkan perbedaan antara subset lainnya. Pada subset pertama terdapat kontrol nol, kontrol negatif dan kontrol positif yang menunjukkan tidak ada perbedaan terhadap ketiga kelompok, kemudian pada subset kedua terdapat kelompok dosis 2 dan pada subset ketiga terdapat kelompok dosis 1 dan dosis 3 sehingga dari kelompok dosis 1 dan dosis 3 tidak ada perbedaan, namun hal tersebut mengindikasikan bahwa dosis 1 telah menunjukkan pengaruh yang optimum dalam meningkatkan aktifitas SOD dimana dengan waktu pemberian terapi yang sama dan menggunakan dosis terendah dapat meningkatkan aktifitas SOD secara optimum.

Pada tikus diabetes yang telah diinduksi aloksan, terjadi pembentukkan radikal bebas atau *reaktif oksigen spesies* (ROS) yang tinggi sehingga jumlah enzim antioksidan dalam sel berkurang untuk menetralisir ROS tersebut. Untuk meningkatkan enzim antioksidan tersebut maka diperlukannya antioksidan dari luar tubuh seperti pemberian terapi umbi binahong tersebut, sehingga kandungan metabolit dalam umbi mampu bertindak sebagai antioksidan alami yang dapat membantu enzim SOD dalam tubuh, dapat menetralisir ROS dan dapat mempengaruhi metabolisme dari insulin (Helianti, 2009). Salah satu golongan senyawa antioksidan dalam umbi binahong adalah flavonoid. Flavonoid berperan sebagai *scavenger* radikal karena mampu menangkap radikal bebas dalam tubuh dengan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan atom H sebagai donor dari gugus hidroksil (-OH) fenolik pada saat bereaksi dengan radikal bebas (Retno, 2013). Adapun reaksi yang terjadi pada Gambar 4.15.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 4.15 Reaksi dugaan *scavenger* radikal bebas oleh flavonoid

Kemampuan flavonoid sebagai antioksidan disebabkan karena flavonoid mampu bertindak sebagai penangkal radikal bebas. Menurut Shofia dkk (2013) berdasarkan struktur kimianya flavonoid sebagai *scavenger* radikal bebas, yaitu terjadi abstraksi atom hidrogen sebagai radikal bebas ($R^{\bullet}$) sehingga dapat menghasilkan radikal fenoksil flavonoid ($FIO^{\bullet}$) yang memiliki reaktifitas lebih rendah. Radikal fenoksil flavonoid ($FIO^{\bullet}$) dapat diserang kembali sehingga terbentuk fenoksil flavonoid ($FIO^{\bullet}$) kedua. Radikal fenoksil flavonoid ($FIO^{\bullet}$) memiliki ikatan rangkap terkonjugasi sehingga dapat menstabilkan strukturnya dengan delokalisasi elektron ataupun resonansi untuk menghilangkan efek radikal bebas (Kochhar dan Rosell, 1990 dalam Shofia dkk, 2013).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.8 Perspektif Islam terhadap Pemanfaatan Tanaman Binahong

Allah SWT telah menciptakan segala sesuatu yang ada di alam semesta ini pasti ada manfaatnya dan tidak diciptakan secara sia-sia. Oleh karenanya kita harus selalu memperhatikan segala ciptaan Allah SWT sebagai tanda kekuasaanNya agar kita termasuk orang-orang yang berakal sehat, sebagaimana filmanNya dalam QS. Ali Imran ayat 190-191:

إِنَّ فِي خَلْقِ ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَٱلْأَرْضِ وَٱخْتِلَٰفِ ٱلَّيْلِ وَٱلنَّهَارِ لَءَايَٰتٍ لِّأُو۟لِى ٱلْأَلْبَٰبِ
﴿١٩٠﴾ ٱلَّذِينَ يَذْكُرُونَ ٱللَّهَ قِيَٰمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِى خَلْقِ
ٱلسَّمَٰوَٰتِ وَٱلْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَٰذَا بَٰطِلًا سُبْحَٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ ٱلنَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya: "*Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan Ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, Maka peliharalah kami dari siksa neraka*" (Q.S Ali Imran: 190-191)

Tidak ada yang sia-sia semua yang Allah SWT ciptakan di muka bumi ini, begitu pula dalam penciptaan tumbuhan, Allah SWT menciptakan tumbuhan tersebut melalui proses yang cukup panjang dan tidak serta merta ada langsung muncul di alam ini, Allah SWT berfirman dalam QS. az Zumar ayat 21:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

أَلَمْ تَرَ أَنَّ ٱللَّهَ أَنزَلَ مِنَ ٱلسَّمَآءِ مَآءً فَسَلَكَهُۥ يَنَٰبِيعَ فِى ٱلْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِۦ زَرْعًا مُّخْتَلِفًا أَلْوَٰنُهُۥ ثُمَّ يَهِيجُ فَتَرَىٰهُ مُصْفَرًّا ثُمَّ يَجْعَلُهُۥ حُطَٰمًا ۚ إِنَّ فِى ذَٰلِكَ لَذِكْرَىٰ لِأُو۟لِى ٱلْأَلْبَٰبِ ﴿٢١﴾

Artinya: *"Apakah kamu tidak memperhatikan, bahwa Sesungguhnya Allah menurunkan air dari langit, Maka diaturnya menjadi sumber-sumber air di bumi Kemudian ditumbuhkan-Nya dengan air itu tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya, lalu menjadi kering lalu kamu melihatnya kekuning-kuningan, Kemudian dijadikan-Nya hancur berderai-derai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi orang-orang yang mempunyai akal".*(QS.az Zumar:21)

Dalam al Quran surat az Zumar ayat 21 telah memberikan pelajaran bagi kita bahwa Allah telah menumbuhkan suatu tanaman itu tidak secara kebetulan, akan tetapi membutuhkan suatu proses yang panjang untuk menumbuhkan tanaman tersebut. Mulai dari diturunkannya hujan, menumbuhkan serta memberikan bermacam-macam warna, kemudian kering berubah menjadi kekuning-kuningan, lalu dihancurkan untuk mendapatkan manfaat dari tumbuhan tersebut. Begitu pula penelitian ini untuk dapat mengindentifikasi senyawa flavonoid dilakukan dalam beberapa proses. sehingga dari proses yang panjang itu Allah akan memberikan manfaat dari apa yang telah diciptakanNya bagi orang-orang yang mau berusaha.

Binahong merupakan salah satu tanaman yang mempunyai banyak manfaat dalam dunia pengobatan. Senyawa aktifnya banyak digunakan sebagai obat alternatif dalam berbagai penyakit, salah satunya adalah diabetes mellitus. Allah SWT berfirman dalam Surat al Anbiyaa' ayat 16:

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

وَمَا خَلَقْنَا ٱلسَّمَآءَ وَٱلْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لَٰعِبِينَ ﴿١٦﴾

Artinya: *"Dan tidaklah Kami ciptakan langit dan bumi dan segala yang ada di antara keduanya dengan bermain-main"*(QS.al Anbiyaa':16)

Manusia telah diciptakan oleh Allah SWT dengan kelebihan akal yang dimilikinya sehingga kita dapat berfikir dengan memanfaatkan ni'mat alam yang telah Allah SWT berikan seperti binahong yang merupakan salah satu tumbuhan ciptaan Allah SWT dan Allah SWT menciptakan tumbuhan binahong itu tidak main-main melainkan terdapat manfaat yang begitu melimpah sebagai pengobatan.

Allah SWT menciptakan penyakit pastilah Allah SWT pula menciptakan obat sebagai penawarnya. Dari Ibnu Mas'ud, Rasulullah bersabda:

إِنَّ اللهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلاَّ أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ وَجَهِلَهُ مَنْ جَهِلَهُ

Artinya: "*Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan suatu penyakit melainkan menurunkan pula obat penyembuhnya; obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya, dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya"* (HR. Ahmad, Ibnu Majah dan Al-Hakim).

Hadits tersebut memberikan pengertian kepada manusia bahwa semua penyakit yang menimpa manusia maka Allah SWT turunkan obatnya. selain itu memberikan penguatan jiwa manusia untuk mengambil pelajaran dari segala ciptaan Allah SWT. Seperti halnya datangnya penyakit diabetes maka Allah SWT turunkan pula obatnya, namun untuk mendapatkan obat dari suatu penyakit tersebut maka kita harus berusaha dan berfikir dari apa yang telah diwahyukan Allah SWT sebagai petunjuk bagi kehidupan, karena Allah SWT telah menciptakan semua yang ada di alam semesta ini tidaklah ada yang sia-sia.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil dari penelitian terhadap umbi binahong ini telah menunjukkan bahwa ekstrak umbi binahong mempunyai potensi sebagai antioksidan dan antidiabetes. Dimana dengan menggunakan variasi dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB dan 75 mg/kg BB telah menunjukkan penurunan kadar glukosa darah serta mengalami peningkatan aktifitas antioksidan SOD dari rata-rata kontrol positif sebesar 4,358 u/ml menjadi 5,511 u/ml pada kelompok dosis 1. Dari hasil tersebut kelompok dosis 1 telah menunjukkan dosis paling baik dalam menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan aktifitas SOD sehingga terbukti bahwa Allah SWT telah menciptakan tumbuhan umbi binahong itu tidaklah sia-sia dan memberikan manfaat sebagai antidiabetes.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

1. Golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dari hasil uji reagen meliputi flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid.
2. Eluen terbaik yang dihasilkan dari KLTA pada pemisahan senyawa flavonoid adalah butanol – asam asetat – air (4:1:5).
3. Ekstrak etanol 70 % tanaman umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki aktivitas antidiabetes. Ekstrak dengan variasi dosis 25 mg/kg BB, 50 mg/kg BB dan 75 mg/kg BB telah menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)* jantung tikus diabetes berturut-turut 5,511 u/ml ; 5,217 u/ml dan 4,942 u/ml. Dosis terbaik dari variasi tersebut adalah 25 mg/kg BB.

5.2. Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan ekstrak flavonoid tanaman umbi binahong sebagai antidiabetes serta perlu dilakukan analisis *hemotoxylin eosin* (HE) pada jantung sehingga diketahui kerusakan jaringan atau tidak akibat diabetes tersebut.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR PUSTAKA

Adfa, M. 2007. Isolasi Senyawa Flavonoid Aktif Berkhasiat Sitotoksik dari daun Kemuning (*Nurraya Panicullata* L. Jack). *Jurnal Gradien*. Vol.3 No.2. hlm 262-266.

Akbar, H.R. 2010. Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (*Clinacanthus nutans)* Berpotensi Sebagai Antioksidan. *Skripsi*. Bogor: Jurusan kimia Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor.

AOAC (*Association of Official Analytical Chemists).*1984. Official Methods of Analysus. Washington D.C.

Ariesti, A. 2011. *Asuhan Keperawatan Gerontik Diabetes Mellitus*. http://learntogether-aries.blogspot.com/2011/09/askep-gerontik-diabetes-melitus.html

Arishandy, D.N.A.T.A. 2011. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Sirih Merah *(Piper betle* L.*var rebrum). Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

Arjita, I.P.D., Widodo, M.A. dan Widjajanto, E. 2002. Pengaruh Kadar Glukosa Tinggi Terhadap Sintesis Nitric Oxide dari Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEs) Culture dengan Tehnik Bioassay. Biosain, Vol., No. 1.

Astuti, S.M. 2011. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga dan Umbi Tanaman Binahong *(Anredera cordifolia* (Ten) Steenis*)*. Fakultas Kejuteraan Kimia. Malaysia: Universitas Malaysia Pahang.

Bahri, S. 2012. Pengaruh Pemberian Bentuk Sediaan Pegagan *(Centella asiantica (L.) Urban)* Terhadap Kadar Superoksida Dismutase (SOD) dan Malondialdehide (MDA) Otak Tikus Putih *(Rattus norvegicus)* Betina yang Diinduksi Aloxan. *Skripsi.*Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Saintek UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Bellow A. 2005. Mice, Man and Medicine. http://www.damninteresting.com [16 Nov 2008].

Bernasconi, G. 1995. *Teknologi Kimia*. Jilid 2. Edisi pertama. Jakarta: PT. Pradaya Paramita.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Choulage, A.D., Panaskar, S.N, Gurau, P.M and Arvindekar, U.A. 2007. Optimization of Alloxan Dose is Essensial to Induce Stable Diabetes for Plolonged Period. *Asian Journal of Biochemistry 2 (6)*. hlm:402-408.

Dalimartha, S. 2007. *Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Diabetes Mellitus.* Jakarta : Penebar Swadaya.

Dermawan, R. 2012. *Metode Analisis Uji Warna Senyawa Metabolit Sekunder*. *Makalah Kimia Organik Analisis.* Makassar: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.

Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi*. Malang: Bayumedia Publishing.

Felicia. 2009. Efek Neoterapi 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. Jakarta: Jurusan Kedokteran Hewan Universitas Indonesia.

Fidzaro. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Klabet (*Trigonella foenumgraecum* L) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Gambaran Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus)* yang Terpapar Streptozotin. *Skripsi*. Malang: Jurusan Biologi Fakultas Saintek UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Fiqriyana, M. 2010, Pengaruh Pemberian ekstrak *Euchema Spinom* Terhadap Kadar Glukosa dalam Darah dan Aktivitas *Superoksida Dismutase (SOD)* pada Tikus Terpapar Multiple Low Doses *Streptozotocin (MLD-STZ)* , *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang.

Fitriani, A., Winarti, L., Muslichah, S. dan Nuri. 2011. Uji Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Sirih Merah *(Piper crocatum Ruiz & Pav)* Pada Tikus Putih. *Majalah Obat Tradisional*. Volume 16, Nomor 1: 34-42.

Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta:Pustaka Pelajar

Gritter, R.J., Bobbit, J.M. dan Schwarting, A.E. 1991. *Pengantar Kromatografi.* Edisi kedua. Penerjemah: Kokasih Padmawinta. Bandung: ITB Press.

Gunawan, D. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I.* Jakarta: Penebar Swadaya

Gustaviani, R. 2006. *Buku Ajar penyakit Dalam Jilid III Edisi IV: Diagnosa dan Klasifikasi Diabetes Mellitus.* Jakarta: FKUI.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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.

Harborne, J. 1987. Metode Fitokimia: *Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Cetakan Kedua*. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.

Helianti, D dan Hairudin. 2009. Efek Protektif Proporlis Dalam Mencegah Ster Oksidatif Akibat Aktifitas Fisik Berat (*Swimming Stress).Jurnal Ilmu Dasar* Vol 10 No 2, hal: 207-211.

Hendayana, S. 2006. *Kimia Pemisahan Metode Kromatografi dan Elektroforesis Modern*. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.

Hidayat, M. B. C. 2004. Identifikasi Senyawa Flavonoid Hasil Isolasi dari Propolis Lebah Madu *Apis mellifera* dan Uji Aktivitasnya sebagai Antijamur *Candida albinans*. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.

Homenta, H. 2012. *Diabetes Mellitus Tipe 1*. Malang : Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Hones, J.; Muller, P. and Surridge, N. 2008. The Technology Behind Glucose Meters: Test Strip. *Jurnal Diabetes Technology & Therapeutics* Volume 10 Hal: S10-S26.

Inayah, F.2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Metanol Tanaman Anting-Anting (Acalypha indica Linn)* Skripsi Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Indrayani, L., Soetjipto,H dan Sihasale,L. 2006. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Daun Pecut Kuda (*Stachytapheta jamaicensis L. Vahl)* Terhadap Larva Udang *Artemia salina leach*. Salatiga: Fakultas Sains dan Matematika Universitas Kristen Satya Wacana.

Kakkar, P.; Ballabh, D.; dan Viswanathan, PN. 1984. A Modified Spectrophotometric Assay of Superoxide Dismutase. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysic*. Vol. 22, hal: 130-132.

Kartesz, J. 2000. *Acalypha indica*. The PLANTS Database, database (version5.1.1), National Plant Data Center, NRCS, USDA. Baton Rouge, LA70874-4490 USA. *http://plants.usda.gov*. Diakses tanggal 18 September 2013.

Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kochhar, S.P and J.B Rossell. 1990. Detection, estimation and evaluation of anti oxidants in food systems.

Koeriwa, Y.A.; Fatimawali dan Wiyono, W.I. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Daun Beluntas *(Plucea indi*ca L.*). Jurnal.* Manado: Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT

Kumala, L.D. 2007. *Kajian Ekstrak Umbi Gadung* (*Dioscorea hispida*), Rerak (*Sapindus rarak*) *dan Biji Sirsak* (*Annona muricata* L.) *sebagai Bahan Pengawet Alami Kayu*. *Skripsi*. Bandung: Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.

Kusumawati D. 2004. *Bersahabat Dengan Hewan Coba*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press

Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenil Propanoida dan Alkaloida*. *Karya Ilmiah* Tidak Diterbitkan. Medan: MIPA Universitas Sumatera Utara

Lenzen, S. 2008. The *Mekanism of alloxan and streptozotocin-induced diabetes*. Diabetologia

Lukiati, B. Aulanni'am dan Darmanto, W. 2012. Profil Distribusi Inos dan Kadar NO Pankreas Tikus Diabetes Mellitus Hasil Induksi MLD-STZ Pasca Pemberian Ekstrak Etanol Temugiring *(Curcuma heyneana)*. *Jurnal Kedokteran Hewan*. Vol 6. No.2.

Makalalag, I.W. Wullur, A. Adeanne dan Wiyono, 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*- UNISRAT. Vol 2. No. 01.

Manoi, Feri. Dan Ballitro, 2009. Binahong *(Anredera cordifilia)* sebagai obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan*. *Jurnal.* Vol.15 No.1.hlm: 3-6.

Mardiyah, U. 2012. *Ekstraksi, Uji Aktivitas Antioksidan terhadap 1,1–Difenil–2–Pikrilhidrazil (DPPH) dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Alga Merah Eucheuma spinosum dari Perairan Banyuwangi*. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.

Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid.* Bandung: Penerbit ITB.

Marliana, S.D.; Suryanti, V. dan Suyono. 2005. *Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatogrfi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (Sechium edule Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol*. Surakarta: Jurusan Biologi FMIPA UNS. *Jurnal Biofarmasi 3 (1): 26-31 ISSN: 1693-2242.*

Mulyono. 2006. *Kamus Kimia.* Jakarta: PT Bumi Aksara.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Mus. 2008. *Informasi Spesies Binahong Anredera cordifolia (Ten.) Steenis*. http://www.plantamor.com. Diakses 05 Januari 2011.

Nihlati, I., Abdul, R. dan Triana, H. 2008. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci [*Boesenbergia pandurata* (roxb.) *Schlecth*] dengan Metode Penangkapan Radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *Skripsi* Diterbitkan. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

Nugroho, A.E. 2008. Hewan Percobaan Diabetes Mellitus: Patologi dan Mekanisme aksi Diabetogenik. *Jurnal*. Jurnal Farmasi 7(4), 378-382

Nugroho, E.A. 2011. Review Hewan Percobaan Diabetes Mellitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. Yogyakarta. *Jurnal Biodeversitas*. Vol 7 No. 4 ISSN 1412-033x Hal: 378-382.

Octavia, D, R. 2009. Uji Aktivitas Penangkapan Radikal Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat dan Etanol Daun Binahong (*Anredera cordivolia (Ten)*Steenis) dengan Metodee DPPH. *Skripsi* Diterbitkan. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah.

Perkeni. 2011. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 di Indonesia*. FKUI RSCM. Jakarta.

Pine, A. T. D., Alam, G., dan Attamimm, F. 2005. Standardisasi Mutu Ekstrak Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) dan Uji Efek Antioksidan dengan Metode DPPH.

Pitayu, L.2007. *Penapisan Aktivitas Superoksida Dismutase dan Identifikasi Spesies dengan Metode 16 S rDNA dari Bakteri Asal Indonesia*. Departement Pharmacy.

Prangdimurti, E., Muhtadi,D., Astawan, M dan Zakaria, FR. 2006. Aktivitas Antioksidan ekstrak Daun Suji (*Pleomele angustifolia N.E. Brown). Jurnal Teknol dan Industri Pangan.* Vol. XVII No. 2.

Price, Sylvia A dan Lorraine M Wilson. 1999. *Patofisiologi. Konsep klinis prosesproses penyakit*. Jakarta: EGC

Prihanto, A., A., Firdaus, M., dan Nurdiani, R. 2011. Penapisan Fitokimia dan Antibakteri ekstrak metanol Mangrove (*Excoecaria agallocha*) dari Muara Sungai Porong. *Berk. Penel. Hayati*. 17:69-72.

Priyanto. 2007. *Toksisitas Obat, Zat Kimia dan Terapi Antidotum.* Leskonfi. Depok.

Puspita, M, D, A. 2009. Pengoptimuman Fase Gerak KLT Menggunakan Desain Campuran Untuk Pemisahan Komponen Ekstrak meniran (*Phylantus ninuri).Skripsi* Diterbitkan. Bogor: Jurusan Kimia Fakultas MIPA IPB.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Ratimanjari, AD. 2011. Pengaruh Pemberian Infusa Herba Sambiloto (*Andographis paniculata Ness)* TerhadapGlibenklamid Dalam Menurunkan Kadar Glukosa DarahTikus Putih Jantan yang dibuat Diabetes. *Skripsi* Tidak diterbitkan. Depok: Fakultas MIPA Program Studi Farmasi.

Retno, A., Aulanni'am dan Prasetyawan, S. 2013. Potensi Ekstrak Rumput Laut Coklat *(Sargassumprismaticum)* untuk Meningkatkan Aktivitas *Superoksida Dismase (SOD)* dan gambaran Histoplogi jaringan Hepar pada Tikus *(Rattus norvegicus)* Diabetes Melitus Tipe 1. *Kimia Student Journal.* Vol 2.No 1.hlm:414-420.

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.

Saifudin, A.; Suparti; Fuad, A. dan Da'i, M. 2006. *Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun Catharanthus roseus [L] G.Don Berbunga Merah*. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi Vol. 7 No. 2 2006-92-102.*

Saleh, C., Sitorus, dan Nursanti. 2012. Uji Hipoglikemik Ekstrak Etanol Umbi. *Anredera cordifolia [Ten.] Steenis. Jurnal*. Samarinda: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Mulawarman.Vol 11. hlm: 96-99

Sastrohamidjojo, H. 1991. *Kromatografi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada

Sastrohamidjojo, H. 2007. *Kromatografi*. Yogyakarta: UGM Press.

Sax, D., Lewis, R., 1998. *Dictionary Chemistry*. Canada: Galler International.

Selawa, W., Runtuwene, M.R dan Citraningtyas, G. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ektrak Etanol Daun Binahong *(Anredera cordifolia* (Ten) Steenis). *Jurnal Ilmiah farmasi* – UNSRAT. Vol 2. No.1

Setiaji, A. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Petroleum Eter, Etil Asetat Dan Etanol 70% Rhizoma Binahong *(Anredera Cordifolia* (Ten) Steenis) Terhadap *Staphylococcus Aureus Atcc* 25923 Dan *Escherichia Coli Atcc* 11229 Serta Skrining Fitokimianya. Terdapat pada http://etd.eprints. ums.ac.id/5253/1/K100050288.pdf.

Setiawan, B. 2005. *Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Mellitus.* Kalimantan Selatan : Fakultas Kedokteran Universitas Lambung mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan.

Sherly R, Barlianto W dan Setyohadi R. 2013. Pengaruh Selenium (Se) Pada Model Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) dengan Pajanan Ovalbumin-Induced Allergic Asthma (OVA). *Tugas Akhir*, Program Studi Pendidikan Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah; pesan dan keserasian Al-Qur'an volume 11 Dan 15*. Jakarta: Lentera Hati.

Shofia V., Aulanni'am, dan Mahdi C. 2013. Studi Pemberian Rumput Laut Coklat (*Sargassum prismaticum*) Terhadap Kadar Malondialdehid dan Gambaran Histologi Jaringan Ginjal Pada Tikus (Rattus norvegicus) Diabetes Mellitus Tipe I. *Kimia student jurnal*. Vol. 1, No 1. Malang: Universitas Brawijaya

Soedarmi,M., Meiyani, I.E. dan Rahayu, P. 2009. Hubungan kadar superoksida dismutase dan *body mass index* dengan respons radiasi penderita karsinoma nasofaring. *Laporan Penelitian*. Malang: FK Universitas Brawijaya.

Soegondo S. 2012. *Diabetes*, the sillent killer. http://medicastore.com/diabetes/.. [16 Februari 2009]. Pdf DM pd tempe.

Suarsana, IM.; Wresdiyati, T.; dan Suprayogi, A. 2013. Respon Stress Oksidtif Dan Pemberian Isoflavon Terhadap Aktivitas Enzim Superoksida Dismutase Dan Peroksidasi Lipid Pada Hati Tikus. *JITV*. 18 (2): 146-152.

Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Yogyakarta: Kanisius.

Sukadana, I M. 2010. Aktifitas Antibakteri Senyawa Flavonoid dari Kulit Akar Awar-awar (*Ficus septica Burm* F.). *Jurnal Kimia*. Volume 4, Nomor 1: 63-70.

Sukandar, E.Y., Qowiyyah, A dan Larasati, L. 2011. Efek Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Andredera cordivolia (Ten) Steenis)* Terhadap Glukosa Darah Pada Mencit Model Diabetes Mellitus. *Jurnal Medika Planta.*Vol. 1 No.4.

Sumaryanto, A. 2009. Isolasi Karakterisasi Senyawa Alkaloid Dari Kulit Batang Tanaman Angsret (*Spathoda campanulata* Beauv) Serta Uji Aktivitas Biologisnya Dengan Metode Uji Brine Shrimp. *Skripsi* Tidak Diterbitkan. Malang: Jurusan Kimia. *Fakultas* MIPA Universitas Brawijaya.

Supriyono, Mamat. 2008. Faktor-Faktor Risiko yang Berpengaruh terhadap Kejadian Penyakit Jantung Koroner pada Kelompok Usia < 45 Tahun. Tesis. Pasca Sarjana - Magister Epidemiologi. Semarang: Universitas Diponegoro.

Sutedjo, A.Y. 2010. 5 *Strategi Penderita Diabetes Mellitus Berusia Panjang.* Yogyakarta : Kanisius.

Svehla, G. 1990. *Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*. Edisi kelima. Penerjemah: Setiono, L. dan A.H. Pudjaatmaka. Jakarta: PT Kalman Media Pusaka .

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Szkudelski, k and Szkudelska. 2001. *Streptozotocin Induces Lipolysis in Rat Adipocytes in Vitro*. Department of Animal Physiology and Biochemistry, University of Agriculture, Poznań, Poland. Physiol. Res.51: 255-259

Tjitrosoepomo, G. 1999. *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta).* Yogyakarta: Gajah Mada University Press

Ukeda H, Kawana D, Maeda S dan Sawamura M. 1999. Spestrophotometric Assay for Superoxide Dismutase Based on the Reduce of Highly Water-soluble Tetrazolium Salts by Xanthine-Xanthine Oxidase. *Biosci Biotechnol, Biochem*., 63 (3), 485-488.

Utami, P dan Tim Lentera. 2003. *Tanaman Obat Untuk Mengatasi Diabetes Mellitus*. Jakarta : Agromedia.

Winarno, F.G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustak Utama

Winarsi, H.M. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.

Vogel. 1978. *Text Book of Practical Organic Chemistry, 4th Edition.* London: Longman Group Limited.

Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Diterjemahkan oleh Soedani Noerono Soewandhi, Apt. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada press.

Wresdiyati, T. 2003. Immunohistochemical Study Of Oxygen-Free Radical Scavenger Superoxide Dismutase (Cu,Zn-SOD) In The Liver Of Rat Under Stress Condition. *Biota*. Vol. 8, halaman: 107-112.

Wresdiyati, T.; Sinulingga, TS.; dan Zulfanedi, Y. 2010. Effect of *Mamordica charantia* L. Powder on Antioxidant Superoxide Dismutase of Liver and Kidney of Diabetic Rat. *Hayati Journal of Biosciences*. Vol. 17, No. 2, halaman: 53-57.

Yuriska, A. 2009. Efek Aloxan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Aloksan. *Skripsi*. Tidak diterbitkan. Semarang: Univeristas Diponegoro

Yustina. 2008. *Daya Antibakteri Campuran Ekstrak Etanol Buah Adas (Foeniculumvulgare mill) dan Kulit Batang Pulasari (Alyxia reinwardtii bl)*http://www.usd.ac.id/06/publ_dosen/far/yustina.pdf. (diunduh tanggal 01Desember 2009).

Zahro, I.M. 2011. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak n-Heksana Tanaman Anting-Anting (Acalipha indica* Linn.*) Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DAN EFEK TERAPI EKSTRAK ETANOL 70 % UMBI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN AKTIFITAS SOD (*Superoksida dismutase*) JANTUNG TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN

JURNAL SKRIPSI

Oleh:

ANDRIEYANI
NIM. 10630032

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2014

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

IDENTIFIKASI SENYAWA FLAVONOID DAN EFEK TERAPI EKSTRAK ETANOL 70 % UMBI BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN AKTIFITAS SOD (*Superoksida dismutase*) JANTUNG TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Andrieyani[1]; Ahmad Hanapi, M.Sc[2]; A.Ghanaim Fasya, M.Si[3]; Hafidatul Hasanah, M.Si[4].

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Jl. Gajayana No.50 Malang Telp/Fax +62341558933
ndrieyanni@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi flavonoid serta mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70 % umbi binahong terhadap kadar glukosa darah dan aktifitas SOD pada jantung tikus yang diinduksi aloksan. Ekstraksi didapatkan dari hasil maserasi yang dilanjutkan dengan uji fitokimia reagen, pemisahan flavonoid dengan kromatografi lapis tipis (KLT) analitik dan dilakukan pengujian antidiabetes terhadap tikus yang terinduksi aloksan dengan dosis 32 mg/200 g BB.

Hasil penelitian didapatkan golongan senyawa aktif yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid. Eluen terbaik dari pemisahan senyawa flavonoid adalah butanol: asam asetat: air (4:1:5) dan pengujian antidiabetes setelah diterapi menggunakan ekstrak etanol 70 % umbi binahong dosis 25, 50 dan 75 mg/kg BB telah memberikan pengaruh penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)* pada jantung tikus berturut-turut sebesar 5,511; 5,217 dan 4,942 u/ml dengan dosis terbaik yaitu 25 mg/kg BB.

kata kunci: flavonoid, umbi binahong, antidiabetes, SOD, aloksan.

[1] Mahasiswa kimia
[2] Pembimbing I
[3] Pembimbing II
[4] Konsultan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRACT

The aims of this research was to identify the flavonoid content in binahong tuber and determine the effect of 70 % ethanol extract of binahong tuber on blood glucose level and SOD activity in rats (*Rattus norvegicus*) induced alloxan. The extract was maceration and then used to test the classes of its compound content using phytochemical test, the flavonoid compound contained in the extract was separated by analytic thin layer chromatography (TLC) and antidiabetic effect against rats induced alloxan with dose of alloxan was 32 mg / 200 g BW.

The results showed that the 70 % ethanol extract of binahong tuber contains flavonoids, alkaloids, tannins, saponins and terpenoids. Butanol: acetic acid: water (4: 1: 5) was the best eluent for separation of flavonoid compound in extract and binahong tuber extracts treatment with variation of extract dose, 25, 60 and 75 mg/kg BW, reduced the blood glucose levels and increased the SOD (*Superoxide dismutase*) activity of rat, that are 5,511 ; 5,217 and 4,942 u/mL respectively.

keywords: flavonoids, tubers binahong, antidiabetic, SOD, alloxan.

مستخلص البحث

وتهدف هذه الدراسة إلى تحديد وتحديد تأثير مركبات الفلافونويد الخام ٧٠٪ من الإيثانول المستخلص من الدرنات بيناهونج على مستويات السكر في الدم ونشاط الهيئة العامة للسدود في الفئران (الجرذ النرويجي) آلوكسان المستحثة .اكتساب مقتطفات الطريقة المستخدمة في استخراج النقع مع الايثانول ٧٠ ٪. ثم تم استخدام خلاصة مركزة الحصول على مجموعة الاختبار باستخدام اختبار مركب كيميائي نباتي والاختبارات المضادة لمرض السكر على الفئران آلوكسان التي يسببها جرعة من ٣٢ ملغ / ٢٠٠ غ ب ب .

أظهرت النتائج أن استخراج الايثانول من درنة الطبقة بيناهونج إيجابية من المركبات التي تحتوي على مركبات الفلافونويد، قلويدات والعفص، السابونين وتيربينويدس. فصل الطبقة الفلافونويد مركبات مع خليط شاطف من بيوتانول: حمض الخليك: ماء (٤: ١: ٥) أعطى أفضل فصل تنتج ٦ بقعة. الاختبار على ثلاثة أنواع من الجرعات المضادة لمرض السكر من ٢٥ و ٥٠ و ٧٥ ملغم / كغم من خلاصة درنة بيناهونج تأثير انخفاض في مستويات السكر في الدم وزيادة النشاط من الهيئة العامة للسدود (ديسموتاز الفائق) ٥،٥١١ على التوالي؛ ٥،٢١٧ و ٤،٩٤٢و /مل.

الكلمات الرئيسية : الفلافونويدات، و بيناهونج لمبات، المضادة لمرض السكرى، الهيئة العامة للسدود آلوكسان .

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan suatu sindrom yang ditandai hiperglikemia kronis dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan berkurangnya sekresi insulin oleh sel-sel β pulau langerhans atau karena kerusakan jaringan akibat stres oksidatif yang timbul bila kecepatan pembentukan radikal bebas melebihi kapasitas sel untuk menetralkannya (Gustaviani, 2006).

Salah satu kerusakan jaringan tersebut adalah jantung, dimana kerja jantung sebagai pemompa darah keseluruh tubuh dapat terganggu akibat tingginya kadar glukosa darah sehingga dapat meningkatkan kerja jantung 4-8 kali dari keadaan normal (Supriono, 2008).

Untuk dapat memperbaiki serta mengurangi kerusakan sel maka diperlukannya antioksidan alami dalam tubuh untuk melawan radikal bebas yaitu *Superoksida dismutase* (SOD), namun kondisi diabetes melitus dapat mengakibatkan penurunan SOD sehingga perlu antioksidan dari luar tubuh untuk meningkatkan aktifitas SOD serta dapat menurunkan kadar glukosa darah seperti tumbuhan binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Selawa (2013), menyatakan kandungan flavonoid dalam ekstrak etanol binahong berpotensi sebagai antioksidan.

Penelitian Saleh dkk (2012), menggunakan ekstrak umbi binahong dengan dosis 25 mg/kg BB dapat menurunkan glukosa darah dengan induksi glukosa 50 %, dimana golongan senyawa flavonoid yang diduga dapat mengembalikan sensitifitas reseptor insulin pada sel sehingga dapat menurunkan kadar gula darah pada penderita diabetes mellitus.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi flavonoid serta mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70 % umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap kadar glukosa darah dan aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)* pada tikus yang terinduksi aloksan.

METODE PENELITIAN

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2014 sampai Juni 2014 di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, laboratorium Fisiologi Hewan Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang serta laboratorium Faal Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah eperangkat alat gelas, *rotary evaporator*, neraca analitik, kertas saring, plat KLT silika gel 60 F_{254}, bejana pengembang, lampu UV, pipa kapiler, penyaring *buchner*, *shaker*, vortex, kandang hewan coba (baki plastik), kawat, botol minum mencit, pinset,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

mikropipet, spuit 1 mL, sonde lambung dan gunting steril, *glucometer*, spektrometer, dan tabung *ependorff*.

Bahan yang digunakan meliputi umbi binahong, etanol 70 %, kloroform, aloksan, NaCl fisiologis (0,9 %), PBS *(phosphate buffer saline)*, CMC-Na 0,5 %, aquades, *Xantine*, *Xantin oksidase*, NBT, alkohol 70 %.

PROSEDUR PENELITIAN

Preparasi Sampel

Seluruh bagian dari umbi binahong dicuci dengan air, kemudian dipotong kecil-kecil, sampel dipanaskan dengan terik matahari secara tidak langsung selama ± 5 hari. Setelah itu, diblender sampai berbentuk serbuk.

Analisis Kadar Air

Serbuk umbi binahong yang didapatkan kemudian ditimbang dalam cawan konstak dan dimasukkan dalam oven dengan suhu 100 - 105 ^{o}C.

Ekstraksi Maserasi

Serbuk ditimbang sebanyak 500 gram dan 5 bagian lalu masing-masing diekstraksi maserasi dengan etanol 70 % 300 mL (setiap hari dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 3 jam) kemudian diekstraksi kembali menggunakan etanol 70 % 300 mL (Makalalag dkk., 2013).

Masing-masing ekstrak yang dipekatkan dengan *rotary evaporator*, ekstrak kemudian dialiri gas N_2sampai diperoleh ekstrak pekat etanol 70 % (dengan berat konstan).

Uji Fitokimia dengan Uji Reagen

Ekstrak hasil maserasi diambil sedikit kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi dan dilakukan uji golongan senyawa flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid dan saponin dengan menggunakan reagen yang sesuai.

Pemisahan Senyawa Flavonoid

Ekstrak pekat sebanyak 6 gram dihidrolisis dengan 12 mL HCl 15 %, dan dipartisi dengan air : kloroform (1:1), ekstraksi dilakukan secara bertahap (3 × 35 mL), masing-masing fase dipisahkan kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Kemudian ekstrak digunakan KLT Analitik dengan eluen butanol – asam asetat - aquades (BAA) (4:1:5), Etil asetat - metanol (9:1) dan metanol – kloroform (1:39) ;(1:9); (2:3).

Uji Antidiabetes

Digunakan tikus sebanyak 24 ekor kemudian di bagi menjadi 6 kelompok meliputi kontrol nol tanpa perlakuan (KO), kontrol positif yang diinduksi aloksan dengan dosis 32 mg/200 g BB (K+), kontrol negatif (kontrol pelarut/CMC-Na 0,5%) (K-), kelompok dosis 25 mg/kg BB(D1), dosis 50 mg/kg BB (D2) dan dosis 75 mg/kg BB (D3) + CMC-Na 0,5 %.

Tikus diterapi umbi binahong selama 14 hari dan diukur kadar glukosa darah pada hari ke-1, 7 dan 14 dengan glukometer. Setelah hari ke-14 tikus dibedah untuk diambil organ jantungnya.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Uji Aktfitas SOD

Preparasi Sampel

Organ jantung direndam dengan PBS selama 5 menit dan ditimbang sebanyak 100 mg lalu dihaluskan dan ditambah 1000 µL pH 7,4 divortex selama 5 detik dan diambil supernatannya.

Penentuan Aktivitas SOD

Supernatan jantung diambil sebanyak 100µL ditambahkan *Xantine* 100 µL, *Xantine oksidase* 100 µL, NBT 100 µL dan PBS sebanyak 1600 µL lalu divortex selama 5 detik dengan kecepatan 2600 rpm. Setelah itu diinkubasi 30 menit, disentrifugase selama 10 menit. Blanko yang digunakan adalah PBS pH 7,4. Setelah itu sampel dan blanko diukur absorbansinya dengan spektofotometer UV pada panjang gelombang 580 nm (Sherly dkk., 2013).

K urva standar dibuat dengan melarutkan SOD murni komersial dengan konsentrasi 5, 10, 20, 40, 80, 160 u/ml, lalu diukur absorbansinya dengan panjang gelombang 580 nm dan dibuat kurva standar untuk menghitung aktifitas SOD pada sampel tersebut.

Analisis Data

Menggunakan analisis uji ANOVA pada tingkat kepercayaan 95 % kemudian uji Duncan pada taraf nyata 0,05.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Kadar Air

Kadar air yang diperbolehkan pada serbuk umbi binahong adalah sebesar 5,38 %.

Uji Fitokimia

Golongan senyawa yang dihasilkan meliputi:

Tabel 1 Hasil pengamatan uji fitokimia

Ket:

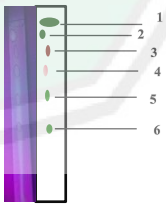
++ =Kandungan senyawa lebih banyak (warna sangat pekat)

\+ =Mengandung senyawa (berwarna)

Golongan Senyawa	Warna	Ket
Flavonoid	Merah/Jingga	++
Alkaloid		
Dragendorff	Endapan Jingga	+
mayer	Endapan Kuning	+
Tanin	Hijau Kehitaman	++
Terpenoid	Cincin coklat	++
Saponin	Busa Stabil	++

Pemisahan Senyawa Flavonoid

Pada KLTA senyawa flavonoid didapatkan satu eluen menunjukkan hasil pemisahan baik yaitu menggunakan eluen butanol - asam asetat - air (4:5:1)



Gambar 1. KLTA BAA (4:1:5)

Hasil elusi membentuk 6 spot dengan Rf (0,4-0,91). Spot yang mempunyai Rf terkecil (0,4) menunjukkan adanya senyawaan flavonoid yang bersifat seperti sifat kepolaran fase diamnya sedangkan nilai Rf yang diatasnya (0,55-0,91) senyawa flavonoid juga bersifat polar

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

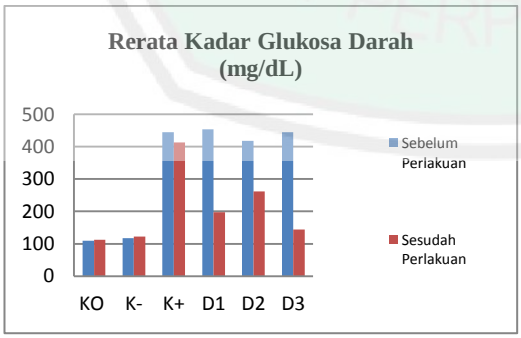
namun lebih mirip kepolarannya dengan fase geraknya.

Tabel 2 Hasil KLTA eluen BAA (4:1:5)

Rf	Warna $UV_{254\ nm}$	Warna $UV_{366\ nm}$		Dugaan Senyawa
		Sebelum	Setelah	
0,4	Hijau kehitaman	Hijau	Hijau tua	Flavonoid
0,55	Hijau kehitaman	Merah muda	Hijau tua	Flavonoid
0,71	-	-	Merah	Flavonoid
0,81	-	-	Merah muda	Flavonoid
0,97	Hijau	-	Hijau	Flavonoid
0,91	Hijau muda	-	Hijau	Flavonoid

Uji Antidiabetes

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tikus dengan *laik etik* **221-KEP-UB** yang diinduksi aloksan dosis 32 mg/200g BB secara intraperitonial dapat menyebabkan tikus menjadi diabetes, hal ini karena Aloksan menyebabkan hiperglikemia dengan diawali oleh pembentukan ROS (*reaktif oksigen spesies)* yang bersifat toksik, berkurangnya jumlah insulin tersebut kemudian menghambat transportasi glukosa ke sel-sel tubuh sehingga menimbulkan penimbunan glukosa dalam darah (Lenzen, 2008).



Gambar 2 Diagram batang nilai rerata kadar glukosa darah H_0 dan H_1

Keterangan:
(KO) : tanpa perlakuan injeksi dan terapi
(K-) : pemberian pelarut Kontrol positif
(K+) : injeksi aloksan dosis 32mg/200g BB
Dosis 1 (D1): pemberian terapi dosis 25 mg/Kg BB
Dosis 2 (D2): pemberian terapi dosis 50 mg/Kg BB
Dosis 3 (D3): pemberian terapi dosis 75 mg/Kg BB

Kemampuan ekstrak umbi binahong dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes berkaitan dengan aktivitas biologis senyawa dalam umbi binahong. Salah satunya adalah flavonoid yang diduga mengembalikan sensitifitas reseptor insulin pada sel sehingga menurun kadar glukosa tersebut, selain itu flavonoid sebagai antioksidan yang dapat memperbaiki sel β pankreas yang telah rusak akibat radikal bebas (Saleh, 2012). Umbi binahong juga mengandung senyawa saponin yang dimungkinkan berperan dalam menghambat aktivitas enzim α-glukosidase, yaitu enzim yang bertanggung jawab pada pengubahan karbohidrat menjadi glukosa sehingga menurunkan kadar glukosa darah (Manoi, 2009).

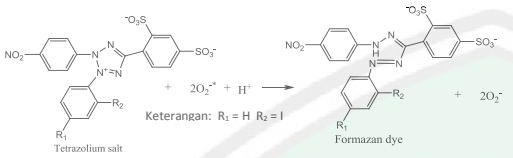
Berdasarkan hasil uji Duncan diperoleh dosis 25 mg/kg BB yang bekerja secara maksimal dalam menurunkan kadar glukosa darah sehingga dosis 25 mg/kg BB memperlihatkan efek hipoglikemik yang paling baik.

Aktifitas SOD

Pengujian pada aktifitas SOD ini radikal superoksida (O_2^-) terbentuk selama aktifitas fisik berat, dimana radikal tersebut bersifat reaktif dan berbahaya bagi tubuh, sehingga radikal tersebut dinetralisir dengan enzim SOD dalam jaringan jantung dan akan mengoksidasi garam tetrazolium (berwarna kuning) yang terdapat dalam NBT menjadi

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

formazan yang berwarna ungu. Adapun reaksi yang terjadi sebagai berikut pada Gambar 3.



Gambar 3.Reaksi radikal superoksida dan NBT menghasilkan formazan (Ukeda *et al*, 1999).

Pada analisis ini enzim SOD (*Superoksida dismutase)* dalam sampel jantung akan berlomba dengan NBT untuk bereaksi dengan radikal superoksida sehingga menghambat pembentukan zat warna (*dye*).

Berikut hasil dari pengujian aktifitas SOD:

Tabel 3 Rerata aktivitas SOD (*Superoksida dismutase)*

Perlakuan	Aktivitas SOD (u/ml)
K O	5,386 ± 0,28
K -	5,219 ± 0,2
K+	4,358 ± 0,27
D1	5,511 ± 0,12
D2	5,247 ± 0,37
D3	4,942 ± 0,28

Tiga kelompok terapi ekstrak umbi binahong mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok positif yang lebih rendah. Hal tersebut terjadi karena kandungan aktif dalam umbi binahong bertindak sebagai antioksidan alami yang menghambat radikal bebas sehingga terjadi peningkatan aktivitas SOD. Salah satu golongan senyawa antioksidan tersebut adalah flavonoid. Flavonoid tersebut berperan sebagai *scavenger* radikal karena mampu menangkap radikal bebas dalam tubuh dengan adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan atom H sebagai donor dari gugus hidroksil (-OH) fenolik pada saat bereaksi dengan radikal bebas (Retno, 2013).

KESIMPULAN

Hasil uji fitokimia umbi binahong meliputi flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan terpenoid, dimana eluen terbaik yang dihasilkan dari KLT analitik pada pemisahan senyawa flavonoid adalah butanol– asam asetat –air (4:1:5). Umbi binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) memiliki aktivitas antidiabetes yaitu mampu menurunkan kadar glukosa darah serta pada peningkata aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)* jantung tikus yang diterapi ekstrak dosis 25, 50, 75 mg/kg BB berturut-turut 5,511 u/ml ; 5,217 u/ml dan 4,942 u/ml. Dosis terbaik adalah 25 mg/kg BB.

SARAN

Perlu dilakukan identifikasi lanjutan menggunakan ekstrak flavonoid umbi binahong sebagai antidiabetes serta dilakukan analisis *hemotoxylin eosin* (HE) pada jantung sehingga diketahui kerusakan jaringan atau tidak akibat diabetes tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

Astuti, S.M. 2011. Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang,

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Bunga dan Umbi Tanaman Binahong*(Anredera cordifolia* (Ten) Steenis*)*. Fakultas Kejuteraan Kimia. Malaysia: Universitas Malaysia Pahang.

Gustaviani, R. 2006. *Buku Ajar penyakit Dalam Jilid III Edisi IV: Diagnosa dan Klasifikasi Diabetes Mellitus.* Jakarta: FKUI.

Lenzen, S. 2008. The *Mekanism of alloxan and streptozotocin-induced diabetes*.Diabetologia

Makalalag, I.W. Wullur, A. Adeanne dan Wiyono, 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*- UNISRAT. Vol 2. No. 01.

Manoi, Feri. Dan Ballitro, 2009. Binahong *(Anredera cordifilia)* sebagai obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan*. *Jurnal*. Vol.15 No.1.hlm: 3-6.

Retno, A., Aulanni'am dan Prasetyawan, S. 2013. Potensi Ekstrak Rumput Laut Coklat *(Sargassumprismaticum)* untuk Meningkatkan Aktivitas *Superoksida Dismase (SOD)* dan gambaran Histoplogi jaringan Hepar pada Tikus *(Rattus norvegicus)* Diabetes Melitus Tipe 1. *Kimia Student Journal*. Vol 2.No 1.hlm:414-420.

Saleh, C., Sitorus, dan Nursanti. 2012. Uji Hipoglikemik Ekstrak Etanol Umbi. *Anredera cordifolia [Ten.] Steenis*. *Jurnal*. Samarinda: Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Mulawarman.Vol 11. hlm: 96-99

Selawa, W., Runtuwene, M.R dan Citraningtyas, G. 2013. Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ektrak Etanol Daun Binahong *(Anredera cordifolia* (Ten) Steenis). *Jurnal Ilmiah farmasi* – UNSRAT. Vol 2. No.1

Sherly R, Barlianto W dan Setyohadi R. 2013. Pengaruh Selenium (Se) Pada Model Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) dengan Pajanan Ovalbumin-Induced Allergic Asthma (OVA). *Tugas Akhir*, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

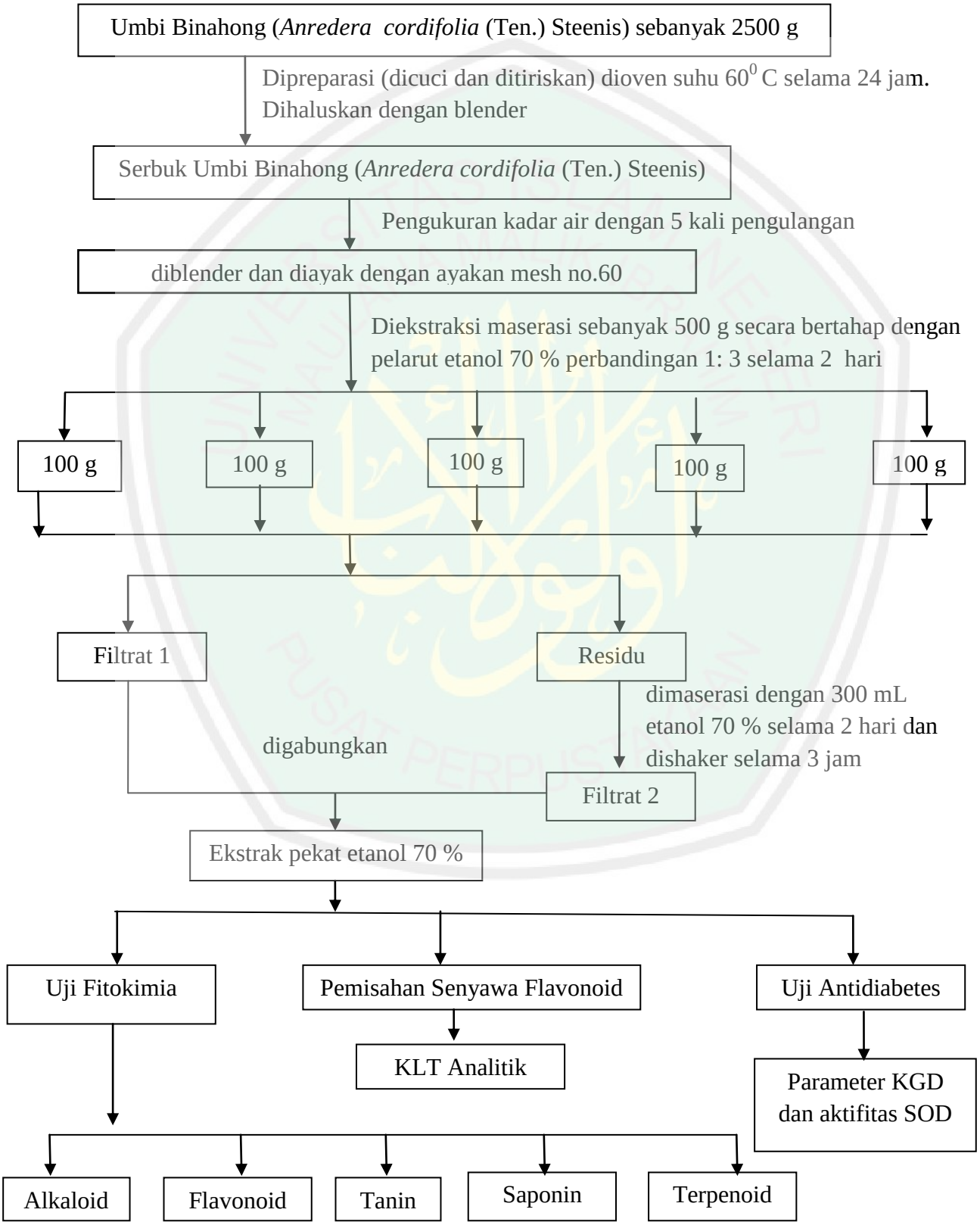
Szkudelski, k and Szkudelska. 2001. *Streptozotocin Induces Lipolysis in Rat Adipocytes in Vitro*. Department of Animal Physiology and Biochemistry, University of Agriculture, Poznań, Poland. Physiol. Res.51: 255-259.

Ukeda H, Kawana D, Maeda S dan Sawamura M. 1999. Spestrophotometric Assay for Superoxide Dismutase Based on the Reduce of Highly Water-soluble Tetrazolium Salts by Xanthine-Xanthine Oxidase. *Biosci Biotechnol, Biochem*., 63 (3), 485-488.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

LAMPIRAN

Lampiran 1 Diagram Alir Penelitian



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 2 Skema Kerja

L.2.1 Preparasi Sampel

Sampel umbi binahong

- Ditimbang sebanyak 2,5 kg
- Dicuci dibawah air keran yang mengalir
- Dipotong kecil-kecil
- Dioven dengan suhu 60 ^{o}C, selama 24 jam
- Dihaluskan dengan menggunakan blender
- Diayak dengan ayakan mesh no.60

Hasil

L.2.2 Penentuan Kadar Air

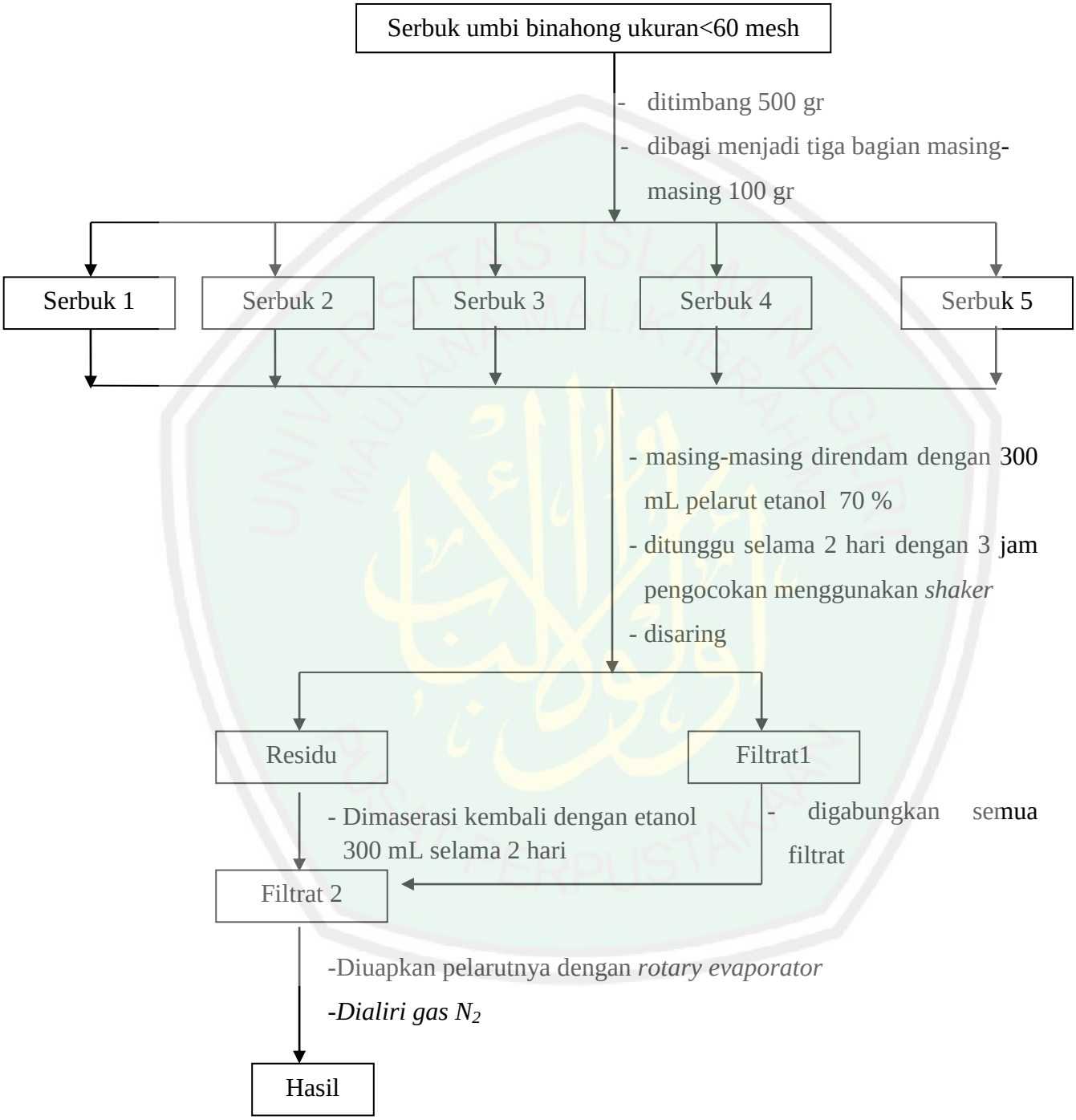
Sampel umbi binahong

- Ditimbangsebanyak 5 g dalam cawan yang telah dipreparasi
- Dikeringkan dalam oven pada suhu
- Dipotong kecil-kecil
- Dioven dengan suhu 100-105 ^{o}C selama 1 jam
- Dikeringkan sampel dalam desikator dan ditimbang
- Dioven kembali selama ±20 menit
- Dikeringkan sampel dalam desikator dan ditimbang
- Diukur kadar air dengan rumus pada persamaan (3.1)

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.3 Ekstraksi Sampel Umbi Binahong

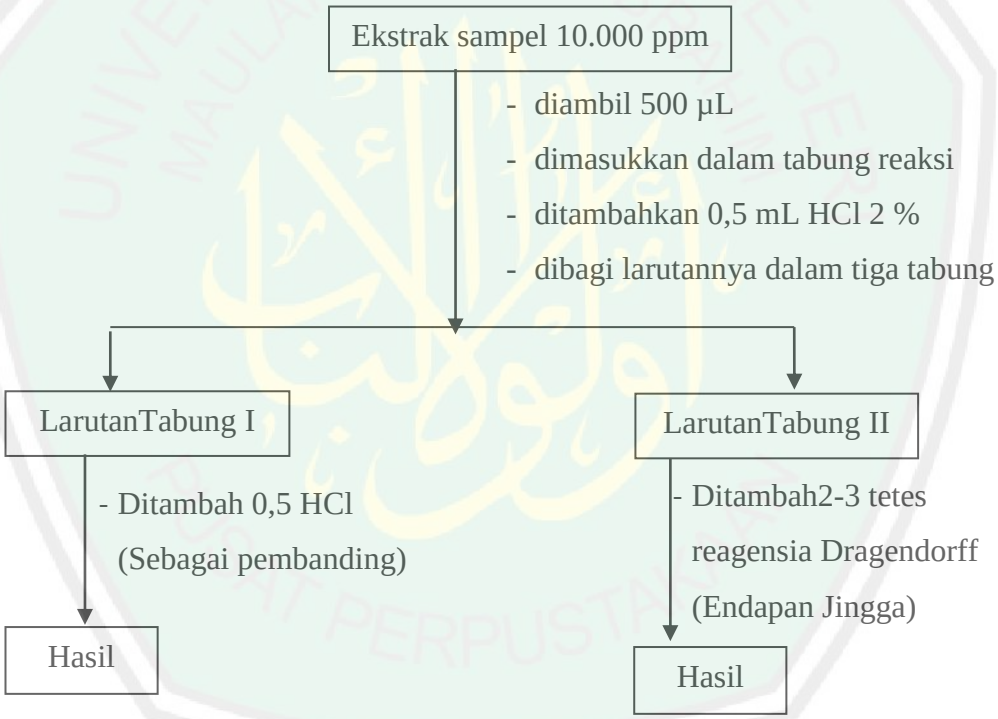


CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

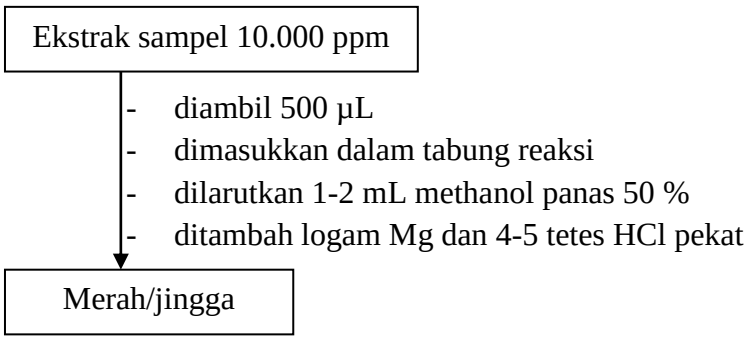
L.2.4 Uji Fitokimia dengan Reagen

Uji fitokimia kandungan senyawa aktif dengan uji reagen dari ekstrak pekat etanol 70 % umbi binahong dilarutkan dengan sedikit masing-masing pelarutnya. Kemudian dilakukan uji alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid (Indrayani*et al*., 2006 dalam Afidatul, 2010).

L.2.4.1 Uji Alkaloid

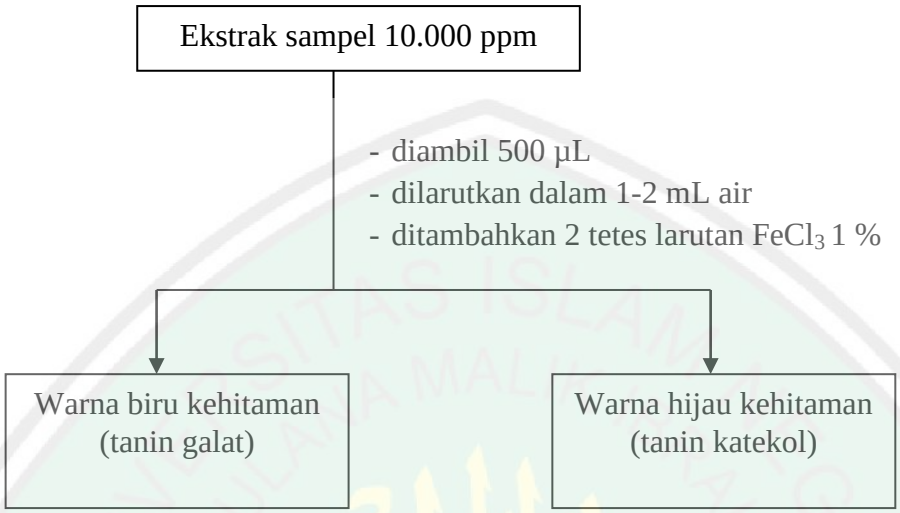


L.2.4.2 Uji Flavonoid

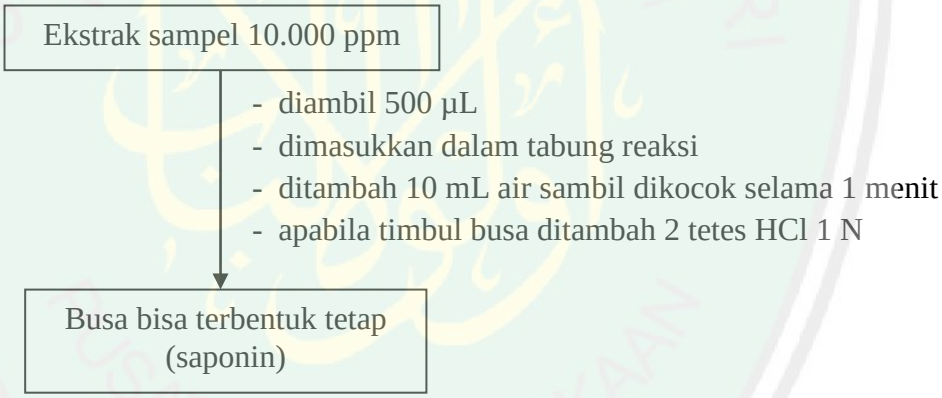


CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

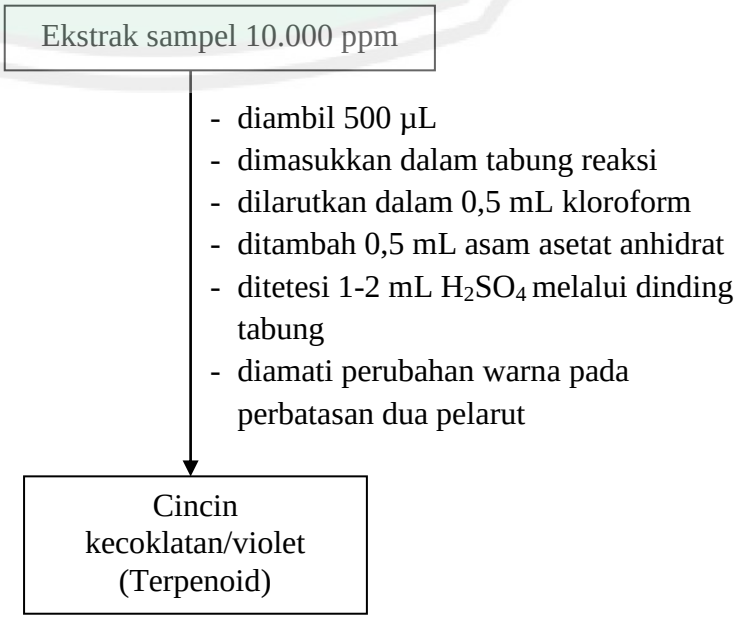
L.2.4.3 Uji Tanin



L.2.4.4 Uji Saponin



L.2.4.5 Uji Terpenoid



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.5 Ekstraksi Flavonoid

Ekstrak Pekat Flavonoid

- Ditimbang 6 gram
- Dihidrolisis dengan 12 mL HCl 15 %,
- Diekstraksi cair-cair dengan pelarut air : kloroform (1:1)
- Dilakukan secara bertahap (3 × 35 mL)
- Dipisahkan masing-masing fasa
- Dipekatkan masing-masing fasa dengan *rotary evapolator*
- Dilakukan uji fitokimia untuk fasa organik dan fasa air

Hasil

L.2.6 KLT Analitik Flavonoid

Ekstrak Pekat Flavonoid

- Dilarutkan dengan etanol 70 %
- Ditotolkan pada plat silika gel 60 F_{254} berukuran 2x10 cm
- Dielusi dengan beberapa campuran dengan fase gerak hingga tanda batas
- Dikeringkan dan dapat diukur nilai Rf nya
- Diperiksa noda pada permukaan plat di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm
- Diamati masing-masing hasil nodanya dengan menggunakan uap ammonia
- Diperiksa kembali noda di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 366 nm

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Eluen yang digunakan:

Eluen	Perbandingan
Etil asetat : Metanol	9:1
Butanol : asam asetat : air	4:1:5
Metanol : kloroform	1:39
Metanol : kloroform	1:9
Metanol : kloroform	2;3

L.2.7 Uji Antidiabetes

L.2.7.1 Penyiapan Hewan Coba

Hewan coba

- Digunakan tikus (*RatusNovergillus)* strain wistar jantan yang mempunyai berat badan 200-300 g dengan umur 2 bulan
- Dipelihara dalam kandang berukuran 20 x 30 x 40 cm yang diberi alas serbuk kayu dan anyaman kawat sebagai penutup
- Diberikan makan dan minum setiap hari secara *ad libitum.*

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.7.2 Perlakuan Hewan Coba

24 ekor Hewan coba

- Dibagi menjadi 6 kelompok dimana jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan dihitung menggunakan rumus Federer

  Rumus Federer: $(n-1)(t-1) \geq 15$;

  dengan t = jumlah kelompok = 6

  n = jumlah pengulangan tiap sampel

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

  $(n-1)\,5 \geq 15$

  $5n - 5 \geq 15$ maka, $n \geq 4$

- Dipeliharadalam *animal house* Laboratorium Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Ketentuan dari tiap-tiap kelompok adalah sebagai berikut:
  a. Kelompok kontrol nol tanpa perlakuan (K0)
  b. Kelompok kontrol positif/diinduksi aloksan dengan dosis 32 mg/200 g BB (K+)
  c. Kelompok kontrol Negatif (CMC-Na 0,5 % 1 mL/200g BB) (K-)
  d. Kelompok tikus diabetes diterapi ekstrak umbi binahong dosis 25 mg/kg BB (D1)
  e. Kelompok tikus diabetes diterapi ekstrak umbi binahong dosis 50 mg/kg BB (D2)
  f. Kelompok tikus diabetes diterapi ekstrak umbi binahong dosis 75 mg/kg BB (D3)

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.7.3 Pembuatan Larutan Aloksan

Aloksan

- Ditimbang aloksan sebanyak 1280 mg
- Dilarutkan pada NaCl 0,9 % sampai volumenya 40 mL.
- Divortex hingga homogen.
- Disimpan pada suhu 4 ºC.

Hasil

L.2.7.4 Pembuatan Tikus Diabetes (D M)

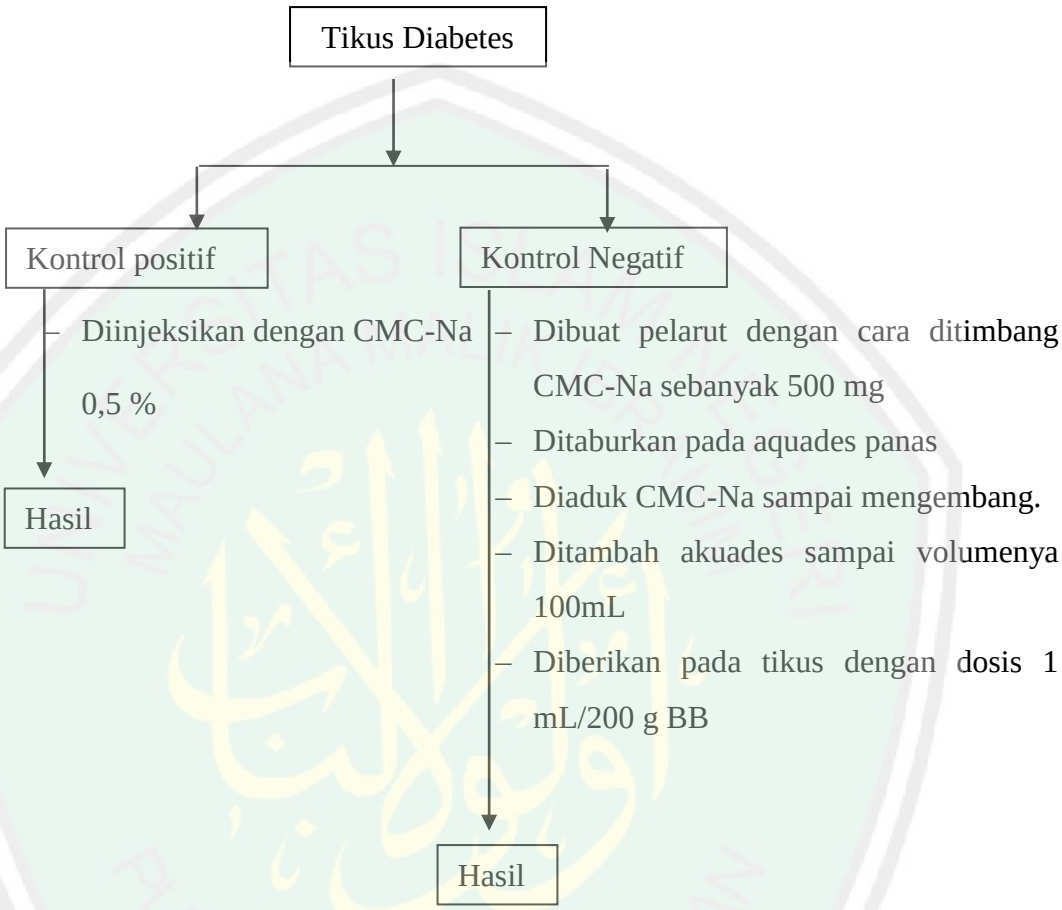
Hewan coba

- Tikus diinjeksi denga aloksan (dosis 32 mg/200 g BB)
- Diinkubasi selama 7-14 hari
- Dipantau kadar glukosa darahnya tikus selama 7-14 hari menggunakan *glucometer* untuk mengetahui kadar glukosa darah tikus diabetes
- Tikus sudah menjadi DM apabila kadar glukosa darahnya di atas 300 mg/dL

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.7.5 Pembuatan Tikus Kontrol Positif dan Kontrol Negatif



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.7.6 Terapi Tikus Diabetes dengan Ekstrak Umbi Binahong (*Anredera cordifolia*(Ten.) Steenis)

Tikus Diabetes

Dosis 25 mg/kg BB

- Ditimbang 500 mg CMC-Na
- Ditaburkan pada akuades panas
- Diaduk sampai CMC-Na mengembang
- Ditambahkan 3150 mg ekstrak umbi binahong
- Diaduk sampai homogen.
- diancerkan hingga 100 ml.

Hasil

Dosis 50 mg/kg BB

Dilakukan perlakuan seperti pada dosis sebelumnya (6300 mg ekstrak umbi binahong)

Hasil

Dosis 75 mg/kg BB

- Dilakukan perlakuan seperti pada dosis sebelumnya (9450 mg ekstrak umbi

Hasil

L.2.8 Analisis SOD (*Superoksida dismutase)*

L.2.8.1 Pengambilan Organ Jantung

Hewan coba

- Dibius tikus dengan menggunakan kloroform
- Disiapkan skalpel dan alat bedah untuk membantu mengambil organ jantung
- Setelah itu, tikus diletakkan pada nampan bedah dan ditata pada posisi ventral diatas
- diambil jantung dicuci dan direndam dalam PBS selama 5 menit

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.8.2 Preparasi sampel jantung

Organ jantung

- Sampel sebanyak 100 mg dicacah dalam kondisi dingin
- Ditambahkan 1000 µL larutan PBS (*Phospat Buffer Saline*)
- divortex dengan kecepatan 2600 rpm

Hasil

L.2.8.3 Pengukuran SOD (*(Superoksida dismutase)*

Sampel

- Sampel hasil preparasi diambil 100 µL
- Ditambahkan *xantine oksidase* 100 µL, *Xantin* 100 µL, NBT 100 µL, PBS 1600 µL
- Divortex selama 5 detik dengan kecepatan 2600 rpm
- Diinkubasi selama 30 menit pada suhu 30°C
- Disentrifuse selama 10 menit dengan kecepatan 3500 rpm
- Diukur absorbansi pada panjang gelombang 580 nm dengan menggunakan spektro UV

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 3 : Pembuatan dan Perhitungan Larutan

L.3.1 Pembuatan Reagen Dragendorf

Pembuatan pereaksi Dragendroff 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 ditandabataskan dengan aquades hingga 100 mL dalam labu ukur 100 mL (Ditjen POM, 1989).

L.3.2 Pembuatan Reagen Mayer

Sebanyak 1,4 g raksa (II) klorida dilarutkan dalam air suling hingga 60 ml. Pada wadah lain dilarutkan 5 g kalium iodida dalam 10 ml air suling. Kemudian keduanya dicampurkan dan ditambahkan air suling hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1978).

L.3.3 Pembuatan Metanol 50 %

Perhitungan yang digunakan sebagai berikut:

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

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

$V_1 = 5$ 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 ± 5 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

L.3.4 Pembuatan larutan HCl 1 N

Perhitungan yang digunakan sebagai berikut :

BJ HCl pekat = 1,19 g/mL = 1190 g/L

% Volume = 37% (0,37)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BM HCl = 36,42 gr/mol

n = 1 (jumlah mol ion H^+)

Molaritas HCl (M) :

Massa HCl = BJ HCl pekat x %

= 1190 g/L x 0,37

= 440,3 gr

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

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

Normalitas HCl = n x Molaritas HCl

= 1 x 12,09 M

= 12,09 N

N_1 x V_1 = N_2 x V_2

12,09 N x V_1 = 1 N x 100 mL

V_1= 8,27 mL = 8,3 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 ± 15 mL aquades. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dikocok hingga homogeny.

L.3.5 Pembuatan Larutan HCl 2%

M1 x V1 = M2 x V2

37% x V1= 2% x 10

V1= 0,54 mL

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.3.6 Pembuatan Larutan HCl 15%

M1 x V1 = M2 x V2

37% x V1= 15% x 10

V1= 4,05 mL

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

L.3.7 Pembuatan $FeCl_3$ 1 %

Untuk membuat larutan $FeCl_3$ 1% adalah ditimbang sebanyak 0,1 g serbuk $FeCl_3$ dengan neraca analitik dalam gelas arloji, dimasukkan dalam beaker glass 50 mL untuk dilarutkan dengan ± 3 mL aquades dengan dialirkan pada gelas arloji (untuk mengambil sisa $FeCl_3$ 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 ministus atas) dikocok hingga homogen.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 4 Penentuan dan Perhitungan Dosis

Tabel 4.1 Konversi Perhitungan Dosis untuk Beberapa Jenis Hewan dan Manusia

	Mencit 20 g	Tikus 200 g	Marmot 400 g	Kelinci 1,5 kg	Kucing 2 kg	Kera 4 kg	Anjing 12 kg	Manusia 70 kg
Mencit 20 g	1,0	7,0	2,25	27,8	29,7	64,1	124,2	387,9
Tikus 200 g	0,14	1,0	1,74	3,9	4,2	9,2	17,8	56,0
Marmot 400 g	0,08	0,57	1,0	2,25	2,4	5,2	10,2	31,5
Kelinci 1,5 kg	0,04	0,25	0,44	1,0	1,08	2,4	4,5	14,2
Kucing 2 kg	0,03	0,23	0,41	0,92	1,0	2,2	4,1	13,0
Kera 4 kg	0,016	0,11	0,19	0,42	0,45	1,0	1,9	6,1
Anjing 12 kg	0,008	0,06	0,10	0,22	0,24	0,52	1,0	3,1
Manusia 70 kg	0,0026	0,018	0,031	0,07	0,076	0,16	0,32	1,0

L.4.1 Dosis Ekstrak Etanol Umbi Binahong

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

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

Dosis 1 = 25 mg/kg BB x 70 kg = 1750 mg

1750 mg x 0,018 = 31,5 mg/200 g BB

= 0,157 mg/g BB

Dosis 2 = 50 mg/kg BB x 70 kg = 3500 mg

3500 mg x 0,018 = 63 mg/200 g BB

= 0,315 mg/g BB

Dosis 3 = 75 mg/kg BB x 70 kg = 5250 mg

5250 mg x 0,018 = 94,5 mg/200 g BB

= 0,473 mg/g BB

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.4.2 Perhitungan Dosis dan Jumlah Ekstrak Larutan Uji

Rumus: Dosis x berat badan tikus

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan x Dosis x 14 hari

Keterangan: berat badan tikus = 200 gram

Jumlah sampel tiap kelompok perlakuan = 5

Dosis 1 = 0,157 mg/g BB

= 0,157 mg/g BB x 200 gr = 31,5 mg

= 5 x 31,5 mg/mL x 14

= 2205 mg

Dosis 2 = 0,315 mg/g BB

= 0,315 mg/g BB x 200 gr = 63 mg

= 5 x 63 mg/mL x 14

= 4410 mg

Dosis 3 = 0,473 mg/g BB

= 0,473 mg/g BB x 200 gr = 94,5 mg

= 5 x 94,5 mg/mL x 14

= 6615 mg

Keterangan:

Angka 5 : jumlah sampel tiap kelompok perlakuan

Angka 14 : jumlah hari terapi

Sehingga,

- Jumlah total ekstrak untuk uji antidiabetes adalah 13230mg = 13,23 g
- Jumlah total ekstrak untuk uji fitokimia adalah:

Pembuatan ekstrak umbi binahong 10.000 ppm:

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

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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**.

Maka, dapat diperkirakan jumlah keseluruhan ekstrak yang dibutuhkan adalah:

13230 mg + 100 mg = 13330 mg = **13,33 gr.**

Umbi binahong yang dibutuhkan = 13,33 x 100/10 = 133,3 g = **200** g serbuk umbi binahong kering.

Lampiran 4.3 Perhitungan Penggunaan Aloksan

Dosis aloksan yang digunakan adalah 32 mg/200 g BB. Sehingga aloksan yang dibutuhkan adalah:

Rumus Jumlah Aloksan: Dosis x jumlah tikus x 2 induksi

Keterangan: berat badan tikus = 200 gram

Jumlah tikus = 20

Jumlah Aloksan = 32 x 20 x 2

= 1280 mg

Pelarut yang digunakan dalam pembuatan aloksan adalah NaCl 0,9 % sehingga Sebanyak 0,9 gram dilarutkan dengan aquades hingga 100 ml menggunakan labu ukur 100 ml. Selanjutnya dikocok hinga homogen.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 5 Perhitungan Kadar Air

Diketahui:

Berat cawan kosong = a

Berat cawan kosong + sampel basah = b

Berat cawan kosong + sampel kering = c

a_1= 54,673	b_1=59,673	c_1= 59,352
a_2= 53,826	b_2= 58,831	c_2= 58,503
a_3= 56,431	b_3=61,432	c_3= 61,112

Maka kadar air dalam sampel umbi binahong adalah:

$$\text{Kadar air}_{\text{umbi 1}} = \frac{b-c}{b-a} \times 100\ \%$$

$$= \frac{59{,}673\ \text{gram} - 59{,}352\ \text{gram}}{59{,}673\ \text{gram} - 54{,}673\ \text{gram}} \times 100\ \% = 6{,}40\ \%$$

$$\text{Kadar air}_{\text{umbi 2}} = \frac{b-c}{b-a} \times 100\ \%$$

$$= \frac{58{,}831\ \text{gram} - 58{,}503\ \text{gram}}{58{,}831\ \text{gram} - 53{,}826\ \text{gram}} \times 100\ \% = 6{,}55\ \%$$

$$\text{Kadar air}_{\text{umbi 3}} = \frac{b-c}{b-a} \times 100\ \%$$

$$= \frac{61{,}432\ \text{gram} - 61{,}112\ \text{gram}}{61{,}432\ \text{gram} - 56{,}431\ \text{gram}} \times 100\ \% = 6{,}40\ \%$$

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

$$\text{Faktor koreksi} = \frac{100}{100 - \%\ \text{kadar air}}$$

$$= \frac{100}{100 - 6{,}45}$$

$$= 1{,}07\ \%$$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kadar air terkoreksi = Kadar air – faktor koreksi

= 6,45 % - 1,07 %

= 5,38 %

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 6 Perhitungan Rendemen Ekstrak

L.6.1 Ekstrak Pekat Umbi Binahong

Berat Awal serbuk umbi binahong = 500 gram

Berat cawan petri kosong = 56,8071g

Berat cawan petri + Ekstrak = 104,2813 g

Berat Ekstrak = 104,2813 g - 56,8071 g = 47,4742 gram

Rendemen ekstrak etanol 70% umbi binahong

$$\frac{berat\ ekstrak}{berat\ awal} \text{ X } 100\% =$$

$$\frac{47{,}4742\ \ gram}{500\ gram} \text{ x } 100\% = 9{,}49\ \%$$

L.6.2 Ekstrak Umbi Binahong Hasil Hidrolisis

Berat sampel awal ekstrak pekat = 8,053 gram

Berat ekstrak hasil hidrolisis = 6,105 gram

Rendemen ekstrak etanol 70 % umbi binahong

$$\frac{berat\ ekstrak}{berat\ awal} \text{ X } 100\% =$$

$$\frac{6{,}105\ gram}{8{,}053\ \ gram} \text{ x } 100\% = 75{,}81\ \%$$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 7 Data Kadar Glukosa Darah (mg/dL)

Kelompok	Pengulangan	H_0	H_1	H_7	H_{14}
KO	1	105	100	83	125
	2	109	63	60	120
	3	79	131	69	120
	4	113	143	85	122
Rata-Rata		**101.5**	**109.25**	**74.25**	**121.75**
St.dev		**15.35144**	**35.76194**	**11.87083**	**2.362908**
K-	1	137	127	67	122
	2	126	107	98	122
	3	113	115	101	117
	4	121	118	91	88
Rata-Rata		**124.25**	**116.75**	**89.25**	**112.25**
St.dev		**10.04573**	**8.261356**	**15.41374**	**16.33758**
K+	1	109	392	336	342
	2	68	400	247	398
	3	69	513	282	522
	4	102	473	349	388
Rata-Rata		**87**	**444.5**	**303.5**	**412.5**
St.dev		**21.55613**	**58.42659**	**47.54296**	**76.96536**
D1	1	105	330	272	233
	2	106	452	455	211
	3	78	522	380	198
	4	106	513	298	146
Rata-Rata		**98.75**	**454.25**	**351.25**	**197**
St.dev		**13.84136**	**88.4774**	**83.07978**	**36.9414**
D2	1	92	463	414	404
	2	76	429	292	292
	3	128	317	152	134
	4	77	464	367	216
Rata-Rata		**93.25**	**418.25**	**306.25**	**261.5**
St.dev		**24.29506**	**69.43282**	**114.4505**	**114.8376**
D3	1	86	356	270	108
	2	61	488	329	74
	3	118	336	147	96
	4	87	600	438	297
Rata-Rata		**88**	**445**	**296**	**143.75**
St.dev		**23.33809**	**123.391**	**121.2848**	**103.1322**

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 8 Perhitungan Manual Analisis Variasi (ANOVA) Kadar Glukosa Darah Tikus Terhadap Semua Tikus yang telah Diterapi

Perlakuan	Ulangan				Total	Rerata
	1	2	3	4		
K+	50	2	-9	85	128	32
D1	97	241	324	367	1029	257,25
D2	59	137	183	248	627	156,75
D3	248	414	240	303	1205	301,25
Total (σ^2)					2861	

Menghitung FK (Frekuensi Kuadrat)

FK= $\frac{\sigma^2}{r\ x\ n}$ = $\frac{(2861)^2}{4\ x\ 3}$ =$\frac{8185321}{12}$ = 682110,08

Keterangan: r = perlakuan
n = ulangan

Hipotesis:

H_0 = Tidak ada perbedaan kadar glukosa darah tikus diabetes mellitus dengan pemberian ekstrak umbi binahong.

H_1= Ada perbedaan kadar glukosa darah tikus diabetes mellitus dengan pemberian ekstrak umbi binahong.

Menghitung JK (Jumlah Kuadrat)

JK Total = $\varepsilon x^2 - FK$

= (97^2 +241^2 +324^2 +367^2 +59^2 +137^2 + 183^2 + 248^2 + 248^2 + 414^2 + 240^2 + 303^2) – 682110,0833

=(9409 +58081 +104976 +1134689 +3481 +18769 +33489 +61504 +61504 +171396 +57600 +91809) - 682110,0833

= 806707 - 682110,0833

= 124596,9167

JK Perlakuan = $\frac{\text{total kuadrat}}{\text{Ulangan}}$ - FK

= $\frac{(1029^2 + 627^2 + 1205^2)}{4}$ – FK

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

= 725999,8 - 682110,0833

= 43888,67

JK Galat = JK Total – JK Perlakuan

= 124596,9167 - 43888,67

= 80708,2467

Tabel Anova Kadar Glukosa Tikus

SK	Db	JK	KT	F_{hitung}	F 1%	F 5%
Perlakuan	2	43888,67	21944,335	2,4471	8,02	4,26
Galat	9	80708,2467	8967.58			
Total	11	124596,92				

$F_{hitung} < F_{0,05}$ ⟶ H_0 diterima

2,4471< 4,26 ⟶ H_0 diterima

Kesimpulan: Tidak ada perbedaan kadar glukosa darah dengan pemberian ekstrak umbi binahong pada tiga kelompok dosis.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 9 Hasil Analisis Statistika Program SPSS 16.0

L.9.1 Uji OneWay ANOVA

Terhadap tikus yang diterapi ekstrak umbi binahong pada Lampiran 8

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	43888.667	2	21944.333	2.447	.142
Within Groups	80708.250	9	8967.583		
Total	124596.917	11			

Kadar glukosa darah terhadap lama perlakuan

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
H0	Between Groups	3766.708	5	753.342	2.124	.109
	Within Groups	6383.250	18	354.625		
	Total	10149.958	23			
H1	Between Groups	575027.333	5	115005.467	21.144	.000
	Within Groups	97906.000	18	5439.222		
	Total	672933.333	23			
H7	Between Groups	279425.800	4	69856.450	15.428	.000
	Within Groups	67920.000	15	4528.000		
	Total	347345.800	19			
H14	Between Groups	254541.109	5	50908.222	9.204	.000
	Within Groups	94027.500	17	5531.029		
	Total	348568.609	22			

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.9.2 Uji Duncan

Anova terhadap semua kelompok tikus

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	366473.708	5	73294.742	14.449	.000
Within Groups	91306.250	18	5072.569		
Total	457779.958	23			

Homogeneous Subsets

Kadar glukosa darah

Duncan

Jenis perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol nol	4	-12.5000		
kontrol negatif	4	4.5000		
kontrol positif	4	32.0000		
kelompok dosis 2	4		1.5675E2	
kelompok dosis 1	4		2.5725E2	2.5725E2
kelompok dosis 3	4			3.0125E2
Sig.		.415	.061	.394

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Cara manual Duncan

1. Diurutkan nilai tengah dari terkecil – terbesar

Tikus	Kontrol					
	Nol	Negatif	Positif	Dosis I	Dosis II	Dosis III
1	5	-25	50	97	59	248
2	-15	-57	2	241	137	414
3	-2	11	-9	324	183	240
4	30	21	85	367	248	303
Total	18	-50	128	1029	627	1205
Rata-rata	4,5	-12,5	32	257,25	156,75	301,25

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Perlakuan	Negatif	Nol	Positif	Dosis II	Dosis III	Dosis I
Rata-rata	-12,5	4,5	32	156,75	257,25	301,25

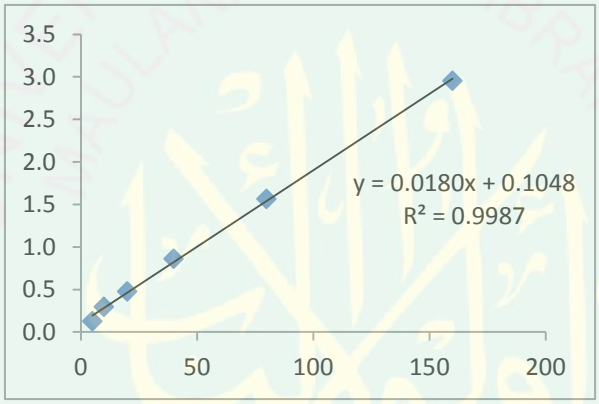
Perlakuan	Rata-Rata	Notasi
Nol	-7,5	a
Negatif	4,5	a b
Glibenklamid	9,25	a b c
Positif	32,5	a b c d
Dosis II	156,75	d
Dosis III	306,75	e
Dosis I	307,25	e

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 10 Data Analisis SOD Jantung

L.10.1 Kurva Standar SOD (*Superoksida dismutase)*

Aktivitas SOD (u/ml)	ABS
5	0.128
10	0.297
20	0.479
40	0.860
80	1.564
160	2.956



L.10.2 Perhitungan aktifitas SOD

SAMPEL	ABS	Aktivitas SOD (u/ml)
K + 1	0.180	4.178
K + 3	0.189	4.678
K + 4	0.186	4.511
K + 5	0.178	4.067
rata-rata	**0,183**	**4.358**
K - 1	0.194	4.956
K - 3	0.201	5.344
K - 4	0.202	5.400
K - 5	0.198	5.178
rata-rata	**0,199**	**5.219**
KO 1	0.200	5.289
KO 2	0.196	5.067
KO 3	0.204	5.511
KO 5	0.207	5.678

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

rata-rata	**0,202**	**5.386**
D1. 1	0.204	5.511
D1. 2	0.201	5.344
D1. 3	0.205	5.567
D1. 4	0.206	5.622
rata-rata	**0,204**	**5.511**
D2. 2	0.208	5.733
D2. 3	0.193	4.900
D2. 4	0.201	5.344
D2. 5	0.195	5.011
rata-rata	**0,199**	**5.247**
D3. 2	0.191	4.789
D3. 3	0.188	4.622
D3. 4	0.198	5.178
D3. 5	0.198	5.178
rata-rata	**0,194**	**4.942**

Rerata Aktifitas SOD

Y=0,018X+0,1048

$$\text{KO} = \frac{(Absorbansi - 0{,}1048)}{0{,}018} = \frac{(0{,}202 - 0{,}1048)}{0{,}018} = 5{,}386$$

$$\text{K-} = \frac{(Absorbansi - 0{,}1048)}{0{,}018} = \frac{(0{,}199 - 0{,}1048)}{0{,}018} = 5{,}219$$

$$\text{K+} = \frac{(Absorbansi - 0{,}1048)}{0{,}018} = \frac{(0{,}183 - 0{,}1048)}{0{,}018} = 4{,}358$$

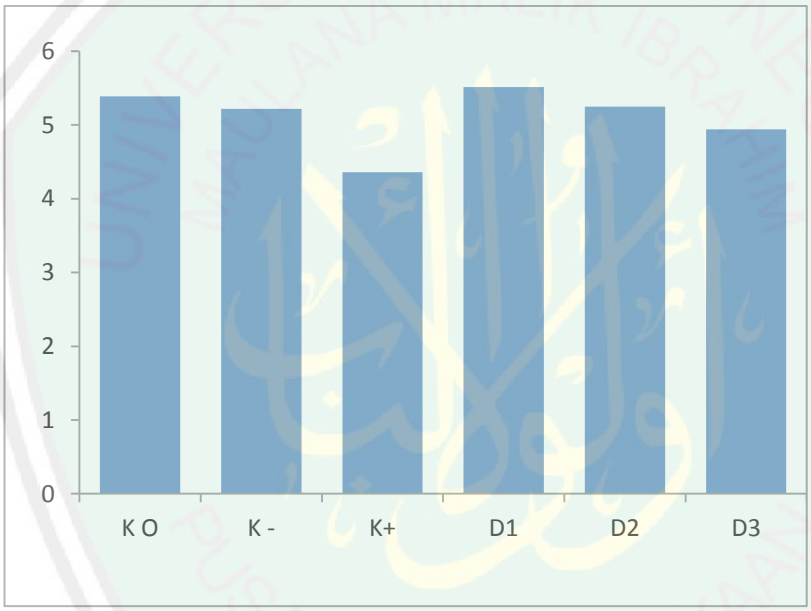
$$\text{D1} = \frac{(Absorbansi - 0{,}1048)}{0{,}018} = \frac{(0{,}204 - 0{,}1048)}{0{,}018} = 5{,}511$$

$$\text{D2} = \frac{(Absorbansi - 0{,}1048)}{0{,}018} = \frac{(0{,}199 - 0{,}1048)}{0{,}018} = 5{,}247$$

$$\text{D3} = \frac{(Absorbansi - 0{,}1048)}{0{,}018} = \frac{(0{,}194 - 0{,}1048)}{0{,}018} = 4{,}942$$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

SAMPEL	Aktivitas SOD (u/ml)
K O	5.386
K -	5.219
K+	4.358
D1	5.511
D2	5.247
D3	4.942



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 11 Perhitungan Analisis Variasi (ANOVA) Aktifitas SOD terhadap tikus yang telah diterapi

Perlakuan	Ulangan				Total	Rerata
	1	2	3	4		
KO	5,289	5,067	5,511	5,678	21,545	5,386
K-	4,956	5,344	5,400	5,178	20,878	5,219
K+	4,178	4,678	4,511	4,067	17,434	4,358
D1	5,511	5,344	5,567	5,622	22,044	5,511
D2	5,733	4,900	5,344	5,011	20,988	5,247
D3	4,789	4,622	5,178	5,178	19,767	4,942
Total (σ^2)					122,66	

Menghitung FK (Frekuensi Kuadrat)

$$FK = \frac{\sigma^2}{r\ x\ n} = \frac{(122,66)^2}{4\ x\ 6} = \frac{15044,49434}{24} = 626,8539307$$

Keterangan: r = perlakuan
n = ulangan

Hipotesis:

H_0 = Tidak ada pengaruh pemberian ekstrak umbi binahong terhadap aktifitas SOD pada jantung tikus diabetes mellitus.

H_1= Ada pengaruh pemberian ekstrak umbi terhadap aktifitas SOD pada jantung tikus diabetes mellitus.

Menghitung JK (Jumlah Kuadrat)

JK Total $= \varepsilon x^2 - FK$

$= (5,29^2 + 5,07^2 + 5,51^2 + 5,68^2 + 4,96^2 + 5,34^2 + \ldots + 4,79^2 + 4,62^2 + 5,178^2 + 5,178^2) - 626,8539307$

$= 631,574098 - 626,8539307$

$= 4,720167333$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

JK Perlakuan $= \frac{\text{total kuadrat}}{\text{Ulangan}}$ - FK

$= \frac{(21{,}55^2 + 20{,}88^2 + 17{,}43^2 + 22{,}04^2 + 20{,}99^2 + 19{,}77^2)}{4}$ – FK

= 630,3977 – 626,8539307

= 3,44

JK Galat = JK Total – JK Perlakuan

= 4,7201673- 3,44

= 1,28

Tabel Anova Kadar Glukosa Tikus

SK	db	JK	KT	F_{hitung}	F 1%	F 5%
Perlakuan	5	3,44	0,688746	9,712501	8,02	4,26
Galat	18	1,28	0,070913			
Total	23	4,72				

$F_{hitung} > F_{0,05}$ ⟶ H_0 ditolak

9,7125 > 4,26 ⟶ H_0 ditolak

Kesimpulan: Ada pengaruh pemberian ekstrak umbi binahong terhadap aktifitas SOD jantung tikus diabetes mellitus

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 12 Hasil Analisis Statistika Program SPSS 16.0

Descriptives

Aktifitas SOD

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
kontrol nol	4	5.38625	.265869	.132934	4.96319	5.80931	5.067	5.678
kontrol negatif	4	5.21950	.199361	.099681	4.90227	5.53673	4.956	5.400
kontrol positif	4	4.35850	.284540	.142270	3.90573	4.81127	4.067	4.678
kontrol dosis 1	4	5.51100	.120203	.060101	5.31973	5.70227	5.344	5.622
kontrol dosis 2	4	5.24700	.374927	.187463	4.65041	5.84359	4.900	5.733
kontrol dosis 3	4	4.94175	.281188	.140594	4.49432	5.38918	4.622	5.178
Total	24	5.11067	.453017	.092472	4.91937	5.30196	4.067	5.733

L.12.1 Uji OneWay ANOVA

Terhadap semua kelompok tikus pada Lampiran 13

ANOVA

Aktifitas SOD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.444	5	.689	9.713	.000
Within Groups	1.276	18	.071		
Total	4.720	23			

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.12.2 Uji Duncan

Jenis perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol nol	4	-12.5000		
kontrol negatif	4	4.5000		
kontrol positif	4	32.0000		
kelompok dosis 2	4		1.5675E2	
kelompok dosis 1	4		2.5725E2	2.5725E2
kelompok dosis 3	4			3.0125E2
Sig.		.415	.061	.394

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 13. Sertifikat Keterangan Kelayakan Etik

KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARENCE"

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 14 Tabel Rencana Penelitian

No	Rencana Penelitian		Bulan																			
			Februari				Maret				April				Mei				Juni			
			1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Ujian Proposal																					
2	Revisi Proposal																					
3	Preparasi Sampel dan Analisis kadar air																					
4	Ekstraksi																					
5	Hidrolisis																					
6	KLTA																					
7	Preparasi hewan coba (adaptasi)																					
8	Uji antidiabetes	Induksi aloksan																				
		Pembuatan tikus DM																				
		Terapi ekstrak umbi binahong																				
		Isolasi dan preparasi organ																				
9	Pengukuran SOD																					
10	Analisis Data																					
11	Penyusunan Laporan Skripsi																					

MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 15 Dokumentasi

L. 15.1 Preparasi Sampel

Umbi Binahong

Serbuk Halus

L. 15.2 Analisis Kadar Air

Sampel

L. 15.3 Ekstraksi Maserasi

Maserasi

Pengocokan dengan shaker

Penyaringan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Filtrat

Pemekatan

Ekstrak pekat

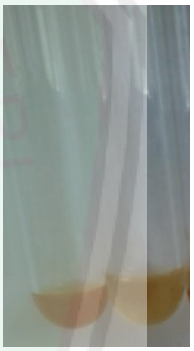
L. 15.4 Uji Fitokimia

Terpenoid

Flavonoid

Saponin

Tanin



Alkaloid

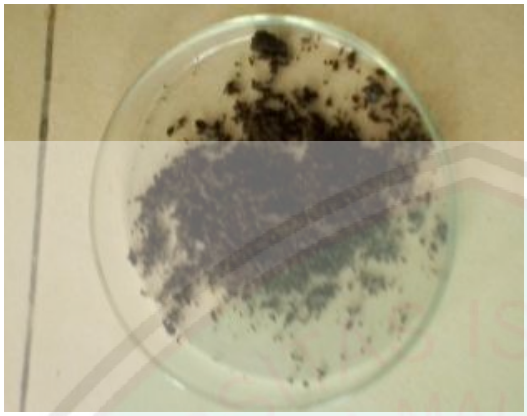
L. 15.5 Hidrolisis Ekstrak Pekat

Dipartisi

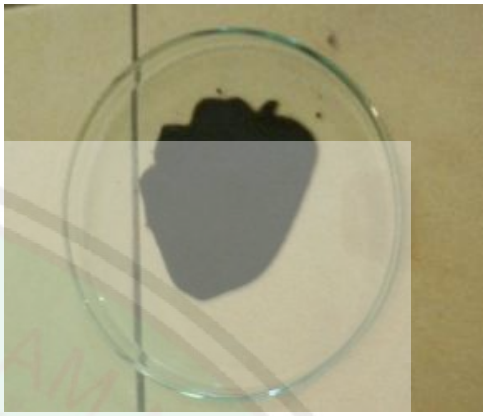
Fasa Organik

Fasa Air

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Ekstrak pekat fasa organik



Ekstrak pekat fasa air

L. 15.6 Kromatografi lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis

L. 15.7 Uji Antidiabetes

Aloksan

Induksi aloksan

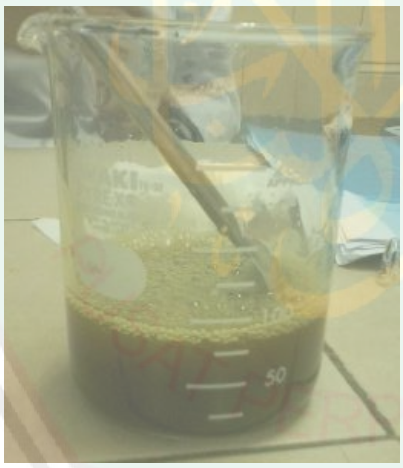
Pengukuran KGD

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Bedah tikus

Alat uji kadar gula

L.15 .8 Terapi Umbi Binahong



Ekstrak +
CMC-Na 0,5 %

Pelarut
CMC-Na 0,5 %

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L. 15.7 Aktifitas SOD (*Superoksida dismutase)*

Sampel Jantung

Supernatant

Setelah ditambah reagen

Vortex

Sentrifugase

Spektro UV 1601

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG