

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Ekstraksi Daun Binahong

Proses ekstraksi daun binahong (*Anredera cordifolia*) dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi, yaitu maserasi. Berdasarkan penelitian Wirasty *et al.* (2013), maserasi merupakan cara yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam pelarut. Pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat-zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang pekat didesak keluar. Kelebihan cara ekstraksinya, yaitu cara pengerjaan atau peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan sedangkan kerugiannya adalah waktu pengerjaannya lama dan ekstraksi kurang sempurna.

Pelarut yang digunakan dalam proses maserasi ini adalah etanol. Etanol dipilih karena merupakan pelarut yang direkomendasikan di Farmakope Indonesia III. Maserasi dilakukan selama 24 jam lalu dilanjutkan remaserasi yang merupakan proses pengulangan maserasi. Remaserasi berguna untuk mengambil zat-zat yang mungkin tersisa pada saat maserasi. Hasil penyaringan dari proses maserasi dan remaserasi diupayakan menggunakan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental. Suhu yang digunakan adalah 50 °C, karena pada suhu tersebut, senyawa-senyawa yang terkandung tidak terdegradasi.

Selanjutnya, ekstrak dikeringkan dengan metode pengeringan berupa *freeze drying*. Metode *freeze drying* diawali dengan proses pembekuan dan dilanjutkan dengan pengeringan; yaitu mengeluarkan atau memisahkan hampir

sebagian besar air dalam bahan yang terjadi melalui mekanisme sublimasi (Hariyadi, 2013). Setelah melewati proses freeze-drying selama  $\pm 24$  jam, bobot ekstrak menjadi 37,69 gram. Prosentase penyusutan bobot ekstrak kental menjadi serbuk ekstrak sebesar 44,1%. Serbuk ekstrak yang didapatkan berupa padatan seperti serbuk yang bersifat higroskopis, berwarna hijau tua, rasa pahit sekali, dan berbau khas binahong.

### 6.2 Uji Kualitatif Ekstrak Daun Binahong

Serbuk ekstrak daun binahong diuji fitokimia secara kualitatif untuk mengetahui senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak. Senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam binahong setelah dilakukan uji adalah senyawa saponin, flavonoid, dan alkaloid. Sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati *et al.* (2012) yang mengatakan bahwa di dalam ekstrak etanol daun binahong mengandung senyawa saponin, flavonoid, dan alkaloid.

### 6.3 Pengaruh Ekstrak Binahong terhadap Kadar Gula Darah Puasa

Dalam penelitian ini, digunakan tikus sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu:

Kelompok I : tikus tanpa induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dan tidak diberikan ekstrak etanol binahong sebagai kontrol negatif.

Kelompok II : tikus induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dosis 35 mg/kgBB tanpa diberikan ekstrak daun binahong sebagai kontrol positif.

Kelompok III : tikus induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dosis 35 mg/kgBB dan diberikan ekstrak daun binahong dosis 17,5 mg/kgBB/hari setiap hari selama 2 minggu.

Kelompok IV : tikus induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dosis 35 mg/kgBB dan diberikan ekstrak daun binahong dosis 35 mg/kgBB/hari setiap hari selama 2 minggu.

Kelompok V : tikus induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dosis 35 mg/kgBB dan diberikan ekstrak daun binahong dosis 70 mg/kgBB/hari setiap hari selama 2 minggu.

Kelompok VI : tikus induksi diet tinggi lemak dan streptozotocin dosis 35 mg/kgBB dan diberikan Glimpiride dosis 0,216 mg/200 g tikus setiap hari selama 2 minggu.

Secara umum terjadi peningkatan kadar gula darah puasa pada semua kelompok perlakuan dibandingkan kelompok negatif. Pada awal sebelum terapi, kadar GDP semua kelompok mencapai kadar di atas 200 mg/dl. Kadar glukosa darah kelompok K(+), P(C), dan KP lebih tinggi dibandingkan kelompok K(-) pada H0 sebelum terapi dikarenakan adanya penurunan sensitivitas reseptor insulin dan penurunan fungsi sel beta pankreas pada tikus. Pada DM tipe 2, diawali dengan diet tinggi lemak yang menyebabkan kegemukan karena kelebihan makan. Sebagai kompensasi, sel beta pankreas merespon dengan mensekresi insulin lebih banyak sehingga terjadi hiperinsulinemia dan hiperglikemia terjadi ketika kompensasi tersebut tidak dapat mengembalikan kadar glukosa darah pada keadaan normal (Nugroho, 2006). Penggunaan streptozotocin dosis rendah 35 mg/kgBB/hari ditujukan untuk penurunan fungsi dari pankreas sehingga produksi insulin menurun. Sesuai dengan penelitian oleh Srinivasan, et al.

(2008), yang mengatakan bahwa pemberian dosis 35 mg/kgBB/hari dapat meningkatkan kadar glukosa darah puasa tikus yang diberi pakan diet tinggi lemak, namun tidak pada tikus yang diberi pakan normal. Penelitian Lian *et al.* (2007) juga menyebutkan bahwa pemberian diet tinggi lemak dapat memicu terjadinya resistansi insulin dan hiperinsulinemia dan dapat mengarah pada diabetes mellitus tipe 2. Kelompok perlakuan binahong dengan dosis 17,5 mg/kgBB/hari, 35 mg/kgBB/hari dan 70 mg/kgBB/hari menunjukkan kadar glukosa darah yang lebih rendah dari kontrol positif setelah mendapat terapi selama 2 minggu. Pemberian ekstrak daun binahong sebagai terapi memberikan hasil yang signifikan dalam menurunkan kadar glukosa darah puasa setelah 2 minggu terapi. Hasil yang signifikan disebabkan oleh adanya kandungan saponin dalam binahong sehingga memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah. Hasil ini juga sama dengan penelitian Wirasuasty *et al.*, (2013) yang menunjukkan efek penurunan kadar glukosa darah pada tikus diabetes berasal dari kerja saponin sebagai penghambat aktivitas enzim *alfa glukosidase*, yaitu enzim dalam pencernaan yang memiliki peran terhadap pengubahan karbohidrat menjadi glukosa.

Kelompok perlakuan binahong dengan dosis 35 mg/kgBB/hari menunjukkan penurunan kadar glukosa darah paling besar bila dibandingkan dengan dosis 17,5 mg/kgBB/hari dan 70 mg/kgBB/hari, walaupun secara statistik juga berbeda signifikan dibandingkan perlakuan K(+). Pada dosis rendah tidak begitu memiliki efek karena rendahnya dosis binahong juga mengandung senyawa aktif yang relatif sedikit sehingga kandungan aktif dari binahong tersebut tidak dapat berkerja maksimal. Pada dosis 35 mg/kgBB/hari dapat memberikan efek yang paling besar dalam penurunan kadar glukosa darah. Efek yang besar dapat

disebabkan adanya campuran senyawa aktif dan antagonis mengingat zat uji dalam bentuk ekstrak. Pada dosis 70 mg/kgBB/hari, efek penurunan tidak begitu besar dapat dikarenakan efek antagonis naik yang sesuai dengan penelitian Sukandar *et al.*, (2011) bahwa pada penggunaan ekstrak binahong dosis 100 mg/kgBB/hari terjadi penurunan efek antidiabetes karena efek antagonis naik. Pada kelompok tikus P(C) dengan dosis 70 mg/kgBB/hari terjadi penurunan sangat cepat pada kadar glukosa darah. Hal ini diduga dapat disebabkan karena terjadi glikosuria selain akibat penurunan resistensi insulin. Glikosuria merupakan suatu keadaan dimana glukosa disekresi dalam urin yang sering terjadi pada diabetes mellitus (Steven *et al.*, 1990). Selain itu, diduga binahong dosis tinggi 70 mg/kgBB/hari memiliki efek sebagai pengikat transporter glukosa/ $\text{Na}^+$  dalam tubulus proksimal ginjal dan menghambat reabsorpsi glukosa. Rees dan Alcolado, (2005) menyebutkan bahwa Phlorizin yang diinjeksi secara subkutan dapat mengikat transporter glukosa/ $\text{Na}^+$  dalam tubulus proksimal ginjal dan menghambat reabsorpsi glukosa. Hal tersebut mengakibatkan glukosa yang secara normal ketika melintasi ginjal dan mengalami reabsorpsi sempurna, dapat melintasi ginjal dan dapat diekskresikan bersama urin (glikosuria). Selama masa terapi, pada kelompok tikus perlakuan P(C) juga lebih banyak mengeluarkan urin dan banyak semut di sekitar kandang pemeliharaan dibandingkan kelompok perlakuan binahong lain.

Jika dibandingkan dengan penggunaan glibemipiride sebagai pembanding, perlakuan P(B) masih lebih baik terkait penurunan kadar glukosa darah setelah 2 minggu terapi. Glibemipiride yang diberikan, yaitu dosis 1,08 mg/kgBB/hari (dosis 2 mg untuk manusia) dan dosis 2,16 mg/kgBB (4 mg untuk manusia) sebagai dosis lanjutan. Penurunan kadar glukosa darah yang tidak begitu signifikan dapat

disebabkan karena masa terapi yang terlalu singkat. Menurut Kimble *et al.* (2009), Glimpiride yang merupakan OAD (Oral Anti Diabetes) untuk jangka panjang baru dapat mencapai target kadar glukosa darah setelah 3 bulan masa terapi.

#### 6.4 Profil Glukosa Darah Selama 10 Jam Setelah Pemberian Terapi

Pengukuran profil glukosa darah dilakukan selama 10 jam setelah pemberian terapi pada H1, H7, dan H14. Adanya pengukuran ini bertujuan untuk mengetahui efek kerja terapi yang diberikan setiap 2 jam. Sebelumnya kelompok tikus perlakuan dipuaskan selama 12 jam, lalu diperiksa kadar glukosa darah puasa. Pemberian glukosa diberikan 30 menit sebelum terapi dengan dosis 1g/kgBB lalu dicek kembali kadar glukosa darahnya. Setelahnya, dilakukan pemberian terapi sesuai dengan perlakuan masing-masing dan dilakukan pengecekan kadar glukosa darah tiap 2 jam hingga berakhir pada jam ke 10.

Pada tikus perlakuan kontrol positif dimana sebagai kelompok yang tidak mendapatkan terapi, dilakukan pengecekan kadar glukosa darah pada H1, H7, dan H14. Pada H1, kadar glukosa darah mencapai diatas 400 mg/dl pada saat pengukuran GDP. Peningkatannya lazim karena tikus sudah dalam kondisi hiperglikemia. Saat pemberian glukosa, kadar glukosa darah menjadi diatas 500 mg/dl. Pada pengukuran jam ke 10, kadar glukosa darah tetap stabil mendekati angka 400 mg/dl. Pada H7, kadar GDP maupun kadar glukosa darah saat pemberian glukosa masih tetap di atas 400 mg/dl, karena memang tikus kontrol positif tidak mendapatkan terapi, hanya *aqua pro injection* sebagai cairan pengganti. Pada akhir pengukuran, kadar masih tetap di atas 400 mg/dl. Pada H14, pen-

gukuran kadar glukosa darah dari GDP hingga jam ke 10 masih tetap di atas 400 mg/dl.

Terapi menggunakan ekstrak daun binahong sebagai anti diabetes terbagi menjadi 3 dosis pada penelitian ini, yaitu 17,5 mg/kgBB/hari, 35 mg/kgBB/hari, dan 70 mg/kgBB/hari. Pada dosis 17,5 mg/kgBB/hari juga dilakukan pengukuran kadar glukosa darahnya pada H1, H7, dan H14. Pada H1, saat pengukuran GDP, kadar glukosa darah mencapai 300 mg/dl. Saat pemberian larutan glukosa, kadarnya mencapai 500 mg/dl. Peningkatannya lazim karena sehari sebelumnya tikus dipuasakan dan tidak mendapatkan asupan makanan, sehingga pada saat diberi larutan glukosa kadarnya meningkat. Efek dari ekstrak daun binahong ini mulai terlihat saat pengukuran pada jam ke 2 dimana kadar glukosa darah mengalami penurunan hingga  $< 400$  mg/dl. Penurunan terus terjadi hingga jam ke 10, walaupun pada jam ke 8 terjadi peningkatan sedikit, namun tidak berarti. Kadar glukosa darah pada H1 stabil pada angka  $< 300$  mg/dl saat pengukuran berakhir. Pada H7, saat pengukuran GDP kadar glukosa darah tetap mendekati 400 mg/dl dan juga mengalami peningkatan saat pemberian glukosa. Penurunan kadar glukosa darah hingga jam ke 10 mencapai angka  $> 300$  mg/dl. Pada H14, tidak terdapat perbedaan yang berarti saat pengukuran kadar GDP dan pemberian glukosa. Namun, terjadi penurunan yang cukup tajam saat jam ke 6 hingga kadar glukosa darah mencapai kisaran angka 100 mg/dl. Saat jam ke 10, kadar glukosa darah mengalami kenaikan kembali hingga mencapai  $< 300$  mg/dl. Kenaikannya dapat disebabkan karena efek dari ekstrak daun binahong yang telah habis sebagai antidiabetes. Penggunaan dosis 17,5 mg/kgBB/hari ini dapat menurunkan kadar glukosa darah tetapi tidak dapat menurunkan kadar glukosa darah mendekati normal.

Efek penurunan kadar glukosa darah penggunaan dosis binahong 35 mg/kgBB juga diamati pada H1, H7, dan H14. Pada H1, saat pengukuran GDP, kadar glukosa darah mencapai angka 400 mg/dl. Saat pemberian glukosa, kadar meningkat hingga > 500 mg/dl. Efek dari dosis 35 mg/kgBB/hari mulai terlihat pada jam ke 1, kadarnya kembali pada 400 mg/dl. Hingga jam ke 10, terjadi penurunan yang landai pada kadar glukosa darahnya, namun kembali lagi pada angka 400 mg/dl. Pada H7, kadar glukosa darah saat GDP berada di sekitar angka 300 mg/dl. Pada jam ke 10, terdapat penurunan kadar glukosa darah hingga mencapai angka ,300 mg/dl. Adanya penurunan ini memberika perbedaan yang berarti pada pengukuran jam terakhir. Karena pada H1, kadar masih berada di sekitar angka 400 mg/dl. Efek dari dosis 35 mg/kgBB/hari semakin bermakna saat dilakukan pengukuran pada H14. Saat pengukuran GDP, kadar glukosa darah < 300 mg/dl. Pada pengukuran jam ke 1 kadar glukosa darah mencapai < 200 mg/dl. Saat jam ke 10, kadar glukosa darah terus menurun hingga mendekati kadar glukosa darah normal, yaitu 100 mg/dl. Penggunaan dosis 35 mg/kgBB/hari dapat menurunkan kadar glukosa darah yang paling baik bila dibandingkan dengan dosis 17,5 mg/kgB karena efeknya yang cukup stabil dalam penurunan kadar glukosa darah.

Penggunaan dosis lain yaitu 70 mg/kgBB/hari juga diamati efeknya sebagai antidiabetes pada profil glukosa darah H1, H7, dan H14. Pada H1, kadar GDP tikus mencapai > 400 mg/dl. Pada saat pemberian glukosa maupun pada jam ke 2 pengecekan, tidak ada perubahan pada kadar glukosa darahnya. Pada pengukuran jam ke 2 baru terjadi penurunan hingga jam ke 8 dengan kadar glukosa darahnya < 400 mg/dl. Namun, pada jam terakhir pengecekan, kadar glukosa darah kembali naik menjadi > 400 mg/dl. Pada H7, kadar GDP masih be-



rada pada kadar > 400 mg/dl. Pada pengukuran profil glikosa darah hingga jam ke 10, tetap terjadi penurunan glukosa darah hingga kadarnya sekitar < 300 mg/dl. Pada H14 tidak begitu terdapat perbedaan saat dilakukan pengecekan GDP, karena kadarnya masih pada kisaran angka > 400 mg/dl, begitupun juga dengan pemberian glukosa. Walaupun profil penurunan lebih baik dari sebelumnya karena mungkin kelompok dosis 70 mg/kgBB/hari sudah terbiasa dengan efeknya, tapi pada jam ke 10, kadar glukosa darah masih di kisaran angka 200 mg/dl. Hal ini dapat disebabkan karena efek dosis 70 mg/kg yang tidak terlalu efektif. Selain itu, dapat disebabkan adanya campuran senyawa aktif dan antagonis mengingat zat uji dalam bentuk ekstrak. Pada dosis 70 mg/kgBB/hari, efek penurunan tidak begitu besar dapat dikarenakan efek antagonis naik.

Sebagai pembanding ekstrak daun binahong, digunakan oral anti diabetes (OAD) yaitu glimepiride dengan dosis 0,216 mg/200 g tikus. Pada H1, H7, dan H14, kadar GDP sama-sama pada kisaran angka > 400 mg/dl. Pada H1, terjadi penurunan yang tidak konstan pada kadar glukosa darah karena kadar glukosa darah berada di kisaran angka < 400 mg/dl. Hal ini diduga dapat disebabkan dosis yang digunakan belum dapat menurunkan glukosa darah pada tikus. Pada minggu pertama juga terdapat kesalahan dalam pelarutan glimepiride yang dilarutkan dalam *aqua pro injectio*, padahal sifat dari glimepiride tidak larut dalam air, sehingga efek dari glimepiride tidak stabil. Pada H7, sudah terjadi penurunan kadar glukosa darah hingga < 300 mg/dl pada jam ke 6. Namun, terdapat kenaikan kembali dengan kadar glukosa darah mencapai 300 mg/dl. Pada H14, penurunan kadar glukosa darahnya lebih terkontrol hingga jam ke 10. Namun, efeknya penurunannya menjadi sekitar 200 mg/dl masih jauh dari kadar glukosa darah normal. Hal ini dapat disebabkan karena penggunaan oral anti diabetes

seperti glimepiride membutuhkan waktu untuk dapat memberikan efek yang diinginkan.

Dari empat perlakuan terapi yang ada, terapi menggunakan ekstrak daun binahong dosis 35 mg/kgBB/hari merupakan pilihan terapi yang paling baik dari pilihan lain pada penelitian ini. Efek penurunan darah dapat mendekati kadar glukosa darah normal dibandingkan yang lain. Pada kadar GDP juga mengalami penurunan tidak seperti kelompok perlakuan lain. Pemberian glimepiride yang efeknya belum mencapai target dapat disebabkan waktu pengamatan yang kurang dan obat antidiabetes kebanyakan mulai menunjukkan efek yang konstan saat penggunaan dalam jangka panjang atau sekitar 3 bulan.

#### **6.5 Rasio Bobot Ginjal Terhadap Berat Badan**

Pada kondisi diabetes mellitus, perubahan pertama yang terlihat pada ginjal adalah terjadinya hiperfiltrasi dan hipertrofi pada ginjal. Glukosa yang difiltrasi akan direabsorpsi oleh tubulus dan sekaligus membawa natrium, bersamaan dengan efek insulin yang merangsang reabsorpsi tubuler natrium. Reabsorpsi menyebabkan volume ekstrasel meningkat sehingga terjadi hiperfiltrasi. Hiperfiltrasi yang terus menerus menyebabkan terjadi akumulasi cairan sehingga terjadi hipertrofi ginjal (Djokomuljanto, 1999). Adanya peningkatan rasio bobot ginjal terhadap berat badan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif menunjukkan terjadinya hiperfiltrasi dan hipertrofi pada ginjal.

Kelompok K(+), P(A), P(B), P(C), dan KP menunjukkan peningkatan rasio bobot ginjal yang hampir sama. Kelompok perlakuan binahong dosis 17,5 mg/kgBB/hari menunjukkan rasio bobot ginjal lebih rendah dibandingkan kelompok lain. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Manoi (2009) yang

menyatakan bahwa daun binahong bekerja sebagai antioksidan dan antibiotik karena mengandung flavonoid yang cukup tinggi. Flavonoid merupakan antioksidan yang berfungsi menguatkan dan mengantisipasi terjadi kerusakan pada pembuluh darah serta bahan aktif yang berfungsi sebagai anti peradangan (Wade, 2005). Pada perlakuan binahong dosis 35 mg/kgBB dan 70 mg/kgBB/hari, terjadi peningkatan massa ginjal dibanding dosis 17,5 mg/kgBB/hari. yang diduga dapat disebabkan karena faktor lain berupa sebelumnya kelompok tikus tersebut telah mengalami pembesaran ginjal ataupun mengalami kelainan lain seperti perubahan arteriosklerosis dan adanya penyakit non diabetes yang dapat berpengaruh pada fungsi ginjal. Hasil uji statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada masing-masing kelompok. Uji korelasi juga tidak menunjukkan hubungan antara kelompok K(+), P(A), P(B), P(C), dan KP terhadap rasio bobot ginjal.

#### **6.6 Kadar Malondialdehid (MDA) pada Ginjal Tikus**

Malondialdehid (MDA) merupakan produk dari proses peroksidasi lipid oleh adanya radikal bebas. Meningkatnya kadar malondialdehid dipengaruhi oleh peningkatan produksi ROS sehingga MDA digunakan sebagai salah satu parameter untuk mengetahui adanya stress oksidatif.

Berdasarkan hasil penelitian, MDA kelompok K(+) lebih tinggi dibandingkan kelompok K(-) yang menunjukkan adanya tingkat stress oksidatif yang berat pada ginjal dengan kondisi diabetes mellitus. Kelompok perlakuan binahong menunjukkan kadar MDA lebih rendah dibandingkan K(+), tetapi masih lebih tinggi dibandingkan kelompok K(-). Secara statistik, terdapat perbedaan signifikan pada kadar MDA K(+) bila dibandingkan dengan perlakuan binahong dosis

35 mg/kgBB/hari dan 70 mg/kgBB/hari. Selain itu, terdapat hubungan yang signifikan antar perlakuan binahong dengan kadar MDA. Pemberian dosis binahong 17,5 mg/kgBB/hari, 35 mg/kgBB/hari, dan 70 mg/kgBB/hari dapat menurunkan kadar MDA melalui beberapa mekanisme. Mekanisme berupa aktivitas flavonoid dalam menangkap radikal bebas sehingga peroksidasi lipid dapat menurun maupun antioksidan dalam flavonoid dapat meningkatkan kerja antioksidan intraseluler. Persentase penurunan kadar MDA pada kelompok dosis 17,5 mg/kgBB/hari, 35 mg/kgBB/hari, dan 70 mg/kgBB/hari terhadap kelompok K(+) secara berurutan 13,29 %; 38,82%; dan 52,12 %. Pada pemberian glimepiride terjadi peningkatan kadar MDA terhadap kelompok K(+) hingga 3,19 %. Pemberian dosis binahong 70 mg/kgBB/hari dengan kadar antioksidan tinggi dapat bersifat *renal protector* sehingga dapat melindungi fungsi tubuh. Penelitian tentang *survival function* yang dilakukan oleh Indrawati (2014) menyebutkan bahwa pada kelompok tikus dosis binahong 70 mg/kgBB/hari, tingkat ketahanan hidupnya lebih bagus dari perlakuan lain. Hal ini mendukung pernyataan bahwa dosis 70 mg/kgBB/hari memiliki efek perlindungan walaupun rasio bobot ginjalnya tinggi. Pada pemberian glimepiride tidak terdapat penurunan kadar MDA melainkan kadar MDAnyanya menyamai kelompok tikus kontrol positif. Hal ini dikarenakan glimepiride tidak memiliki efek sebagai antioksidan yang merupakan keunggulan binahong.

Pengukuran MDA pada sampel organ harus dalam kondisi segar untuk menghindari positif palsu. Logam besi pada organ maupun reagen dapat mempercepat dekomposisi lipid peroksida yang menyebabkan peningkatan kadar MDA (Fatmawati, 2014).

