

## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

## 5.1 Hasil Ekstraksi Daun Binahong

Ekstrak daun binahong diperoleh dengan cara ekstraksi menggunakan metode maserasi. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi ini ialah etanol 70%. Serbuk daun binahong sebanyak 400 gram dimasukkan dalam toples lalu ditambahkan dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2 liter. Perbandingan antara pelarut dengan serbuk daun yang akan diekstrak ialah 5:1. Selanjutnya campuran serbuk kering daun binahong dengan etanol 70% distirer untuk menghomogenkan antara serbuk kering daun dengan pelarutnya. Lalu toples tadi ditutup dan didiamkan selama 24 jam. Setelah 1x24 jam toples dibuka dan maserat disaring menggunakan kain flanel. Hasil maserasi yang diperoleh ditampung dalam wadah toples lainnya. Selanjutnya dilakukan proses remaserasi sebanyak dua kali. Ekstrak kental binahong yang diperoleh ialah sebesar 67,4 gram dan berwarna hijau gelap.

Ekstrak kental daun binahong selanjutnya dibuat dalam sediaan serbuk dengan metode *freeze drying* yang dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tropis Universitas Airlangga Surabaya. Proses *freeze drying* ini membutuhkan waktu selama  $\pm 24$  jam. Ekstrak yang diperoleh berbentuk serbuk kering berwarna hijau gelap, bersifat higroskopis, berasa pahit, dan berbau khas binahong dengan berat 37,69 gram. Persentase penyusutan bobot ekstrak kental menjadi ekstrak serbuk sebesar 44,1%.

## 5.2 Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Daun Binahong

Uji fitokimia dilakukan untuk menguji atau mengetahui kandungan senyawa kimia yang ada dalam ekstrak daun binahong. Gambar dari hasil uji kualitatif terlampir pada lampiran 13. Berikut adalah hasil uji kualitatif ekstrak daun binahong pada Tabel 5.1:

**Tabel 5.1 Hasil Uji Kualitatif Ekstrak Daun Binahong yang Menunjukkan Positif Adanya Senyawa Saponin, Flavonoid, dan Alkaloid**

Uji Kualitatif	Metode/Reagen	Hasil	Interpretasi
Saponin	Pengocokan dan pemanasan	Berbusa	Terdapat saponin
Flavonoid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Warna merah	Terdapat flavonoid
Alkaloid	Wagner	Endapan coklat	Terdapat alkaloid

## 5.3 Kematian Tikus

Kematian tikus pada masa percobaan terjadi pada saat masa pemberian terapi. Persentase besar ketahanan hidup dari setiap kelompok memiliki nilai yang berbeda. Besar persentase ketahanan hidup kelompok K- (tikus normal) dan KP (glimepiride) ialah 100%, menandakan tidak ada tikus mati dalam masa terapi. Pada kelompok PB (binahong 35 mg/kgBB/hr), PC (binahong 70 mg/kgBB/hr), dan K+ (tikus DM2), besar persentase ketahanan hidupnya ialah 80% dengan kematian 1 ekor tikus pada masing-masing kelompok. Persentase ketahanan hidup paling rendah ada pada kelompok PA (binahong 17,5 mg/kgBB/hr) dengan kematian 3 ekor tikus pada masa terapi yaitu 40%.

Tikus percobaan dengan kondisi diabetes yang mati sebelum masa akhir terapi langsung dilakukan pembedahan untuk melihat kondisi organ dari tikus. Kondisi organ dari tikus yang mati terdapat pada Tabel 5.2.

**Tabel 5.2 Kondisi Organ pada Tikus yang Mati Masa Terapi**

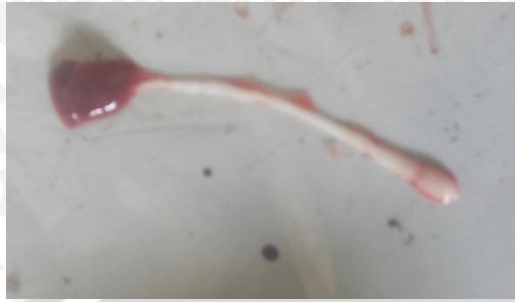
Tikus mati	Kondisi organ		
	Hati	Ginjal	Pankreas
PA2	N	N	An
PA4	N	N	An
PB5	N	N	An
K+5	An	N	An
PA3	N	N	An
PC4	N	An	An

N=normal; An=abnormal. Pengamatan berdasarkan visual yaitu Hepar=warna, Ginjal=rasio berat, dan Pankreas=keutuhan organ

Selain pengamatan pada kondisi organ, juga dilakukan pengamatan pada kondisi fisik lainnya pada tikus. Tikus mati yang ditemukan belum kaku, juga diperiksa kadar glukosa darahnya. Pada tikus K+5 dan PA3 menunjukkan kelainan pada sistem penglihatannya, ditandai dengan adanya selaput pada bagian mata dan warna bola mata tikus yang berubah pucat. Selain itu, setelah dilakukan pembedahan pada tikus K+5 terdapat cacing yang ada dalam organ hatinya. Tikus PC2 pada hari sebelumnya sempat mengeluarkan darah dari mulutnya. Tikus mati yang sempat diperiksa kadar glukosa darahnya yaitu PA4 70 mg/dL dan PB5 269 mg/dL. Kondisi fisik lemas dan aktivitas yang berkurang dari tikus terlihat pada tikus PA4, K+5, PA3, dan PC2 yang diamati pada hari sebelum kematian terjadi.



**Gambar 5.1 Kondisi Tikus PA3 pada Bagian Mata yang Terdapat Selaput (dilingkari)**



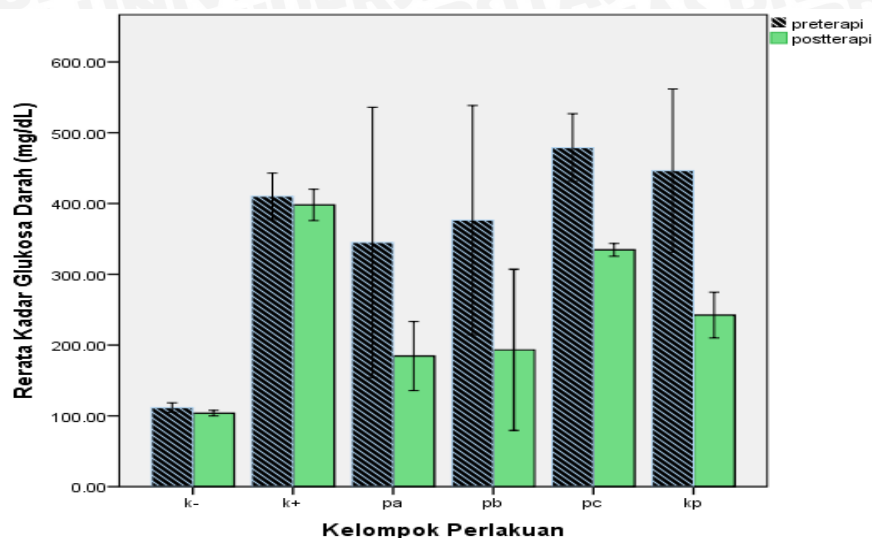
**Gambar 5.2 Cacing yang Terdapat Pada Tikus Mati K+5**

#### 5.4 Kadar Glukosa Darah Puasa

Kadar glukosa darah puasa tikus pada semua kelompok diukur pada hari pertama sebelum diberi perlakuan diet tinggi lemak. Selanjutnya kadar glukosa darah tikus puasa diukur pada hari setelah pemberian diet tinggi lemak dan tiga hari setelah injeksi STZ dosis tunggal 35 mg/kgBB. Pada saat perlakuan pemberian terapi, kadar glukosa darah puasa semua kelompok tikus diukur pada hari pertama dimulainya pemberian terapi (H1), hari ketujuh (H7), hari ke-14 (H14), dan hari ke-15 (H15) pemberian terapi. Kadar glukosa darah tikus sebelum pemberian terapi dan sesudah diberi perlakuan pemberian terapi dapat dilihat dalam Tabel 5.3 dan Gambar 5.3.

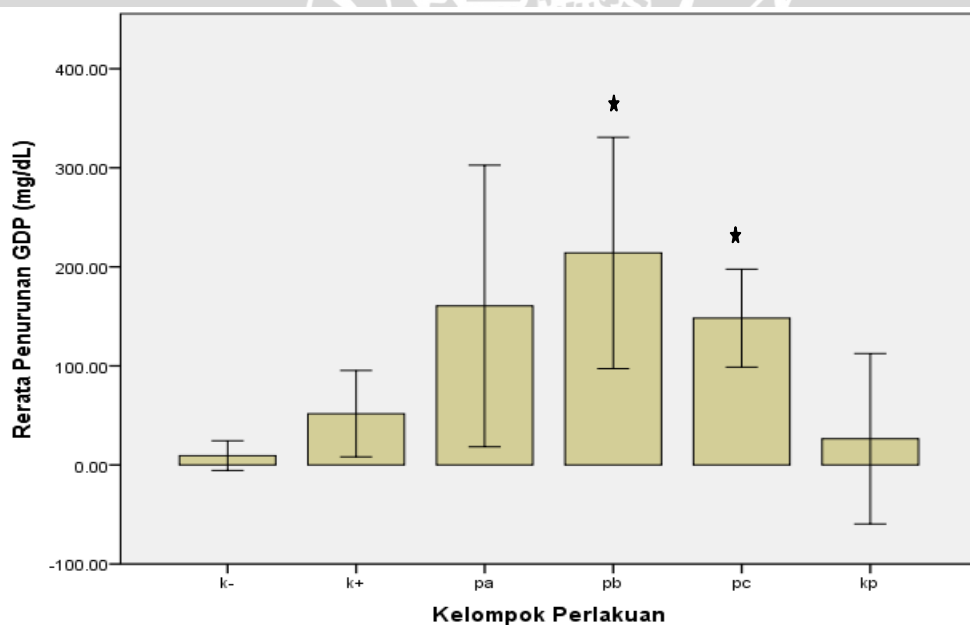
**Tabel 5.3 Rerata Kadar Glukosa Darah Tikus Pada H0 (Hari Setelah Induksi DM2) dan H15 (Hari Terakhir Masa Terapi)**

Kelompok	Rerata Kadar Glukosa darah $\pm$ SD (mg/dL)		
	Sebelum Terapi	Sesudah Terapi	Besar Penurunan
K-	109,2 $\pm$ 12,438	99,8 $\pm$ 6,61	9,40 $\pm$ 6,690
K+	410,25 $\pm$ 31,664	358,5 $\pm$ 19,689	51,75 $\pm$ 21,818
PA	345 $\pm$ 190,919	184,5 $\pm$ 48,79	160,50 $\pm$ 100,50
PB	376,5 $\pm$ 162,017	162,5 $\pm$ 62,399	214,00 $\pm$ 58,376
PC	479 $\pm$ 47,868	330,75 $\pm$ 11,529	148,25 $\pm$ 24,736
KP	446,6 $\pm$ 115,227	420,2 $\pm$ 67,474	26,40 $\pm$ 38,471



**Gambar 5.3** Grafik Kadar Glukosa Darah Pada Perlakuan Sebelum Pemberian Terapi dan Sesudah Pemberian Terapi. Kelompok PA (Binahong dosis 17,5 mg/kg/BB) dan PB (Binahong dosis 35 mg/kg/BB) mencapai normal <200 mg/dL, namun tingkat kematian terendah pada kelompok PB.

Penurunan kadar glukosa dari semua kelompok tikus setelah pemberian terapi dapat dilihat dalam Gambar 5.4 berikut:



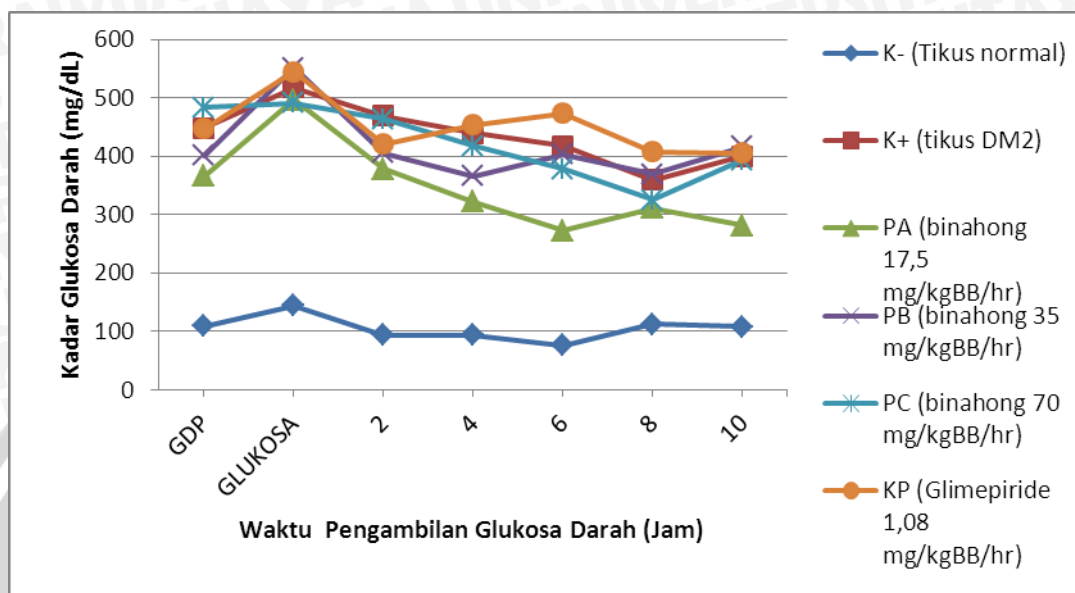
**Gambar 5.4** Grafik Penurunan Kadar Glukosa Darah Setelah Pemberian Terapi Selama 2 Minggu. \*P<0,05 Signifikan. Kelompok PB (Terapi Binahong 35 mg/kgBB/hr) Dan PC (Terapi Binahong 70 mg/Kgbb/hr) Berbeda Secara Signifikan Dibanding Kelompok K+ (Tikus DM2 Tanpa Terapi)

Besar penurunan kadar glukosa darah pada kelompok K-, K+, PA, PB, PC, dan KP secara berurutan ialah  $9,40 \pm 6,690$  mg/dL;  $51,75 \pm 21,818$  mg/dL;  $160,50 \pm 100,50$  mg/dL;  $214,00 \pm 58,376$  mg/dL;  $148,25 \pm 24,736$  mg/dL; dan  $26,40 \pm 38,471$  mg/dL. Data menunjukkan tidak normal serta homogen pada kelompok *post*-terapi dengan nilai  $p < 0,05$  sehingga tidak dapat dilakukan uji secara *One Way Anova*. Maka dilakukan uji Kruskal-Wallis antara kelompok perlakuan dengan penurunan glukosa darah yang menunjukkan hasil yang signifikan dengan nilai  $p = 0,011$  ( $p < 0,05$ ). Kemudian dilakukan uji statistika Mann-Whitney antara kelompok K+ dengan kelompok perlakuan yang diberi terapi. Hasil uji secara berurutan antara kelompok K+ dengan PA, PB, PC, dan KP yaitu 0,355; 0,043; 0,021; dan 0,462. Penurunan secara signifikan ditunjukkan pada kelompok perlakuan PB dengan dosis binahong 35 mg/kgBB/hari dan kelompok PC dengan dosis binahong 70 mg/kgBB/hari ( $p < 0,05$ ). Uji korelasi spearman antara dosis binahong dengan penurunan glukosa darah tikus menunjukkan hubungan yang negatif dengan nilai  $\rho = -0,143$  dan  $\rho = 0,693$ . Nilai ini menunjukkan hubungan yang cukup lemah antara dosis binahong dengan penurunan glukosa darah tikus.

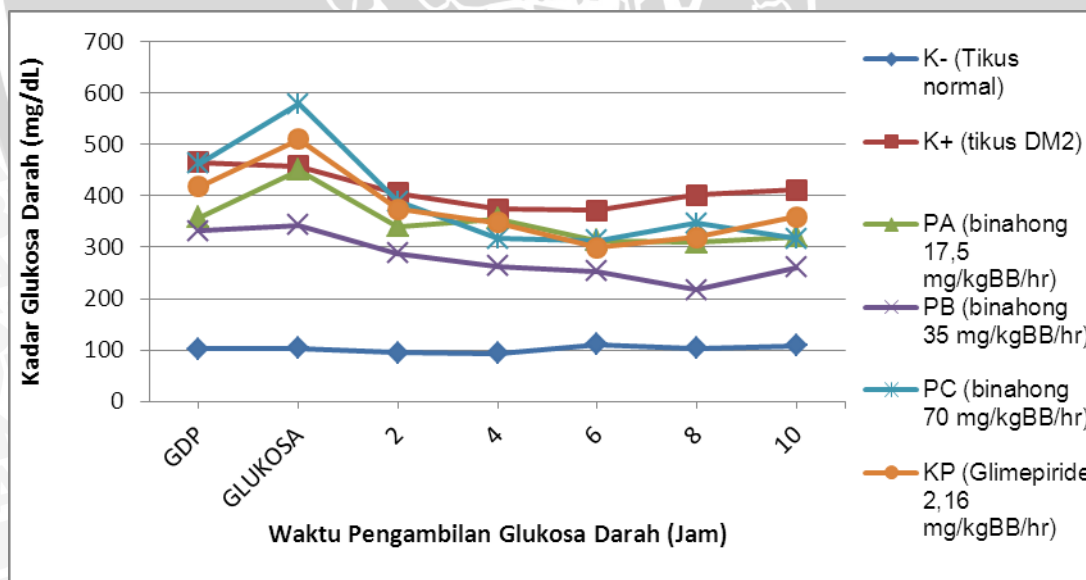
### 5.5 Profil Glukosa Darah Pemberian Terapi

Profil glukosa darah pada saat perlakuan pemberian terapi ini berguna untuk mengetahui mula efek kerja obat dalam menurunkan glukosa darah tikus. Pengukuran glukosa darah tikus dilakukan setelah pemberian induksi glukosa dan sonde terapi. Glukosa darah diambil sebanyak lima kali dalam selang waktu 10 jam dan rentang waktu pengambilan ialah 2 jam. Pengukuran profil glukosa darah ini dilakukan pada hari pertama terapi (H1), hari ketujuh (H7), dan hari ke-14 (H14) pemberian terapi.

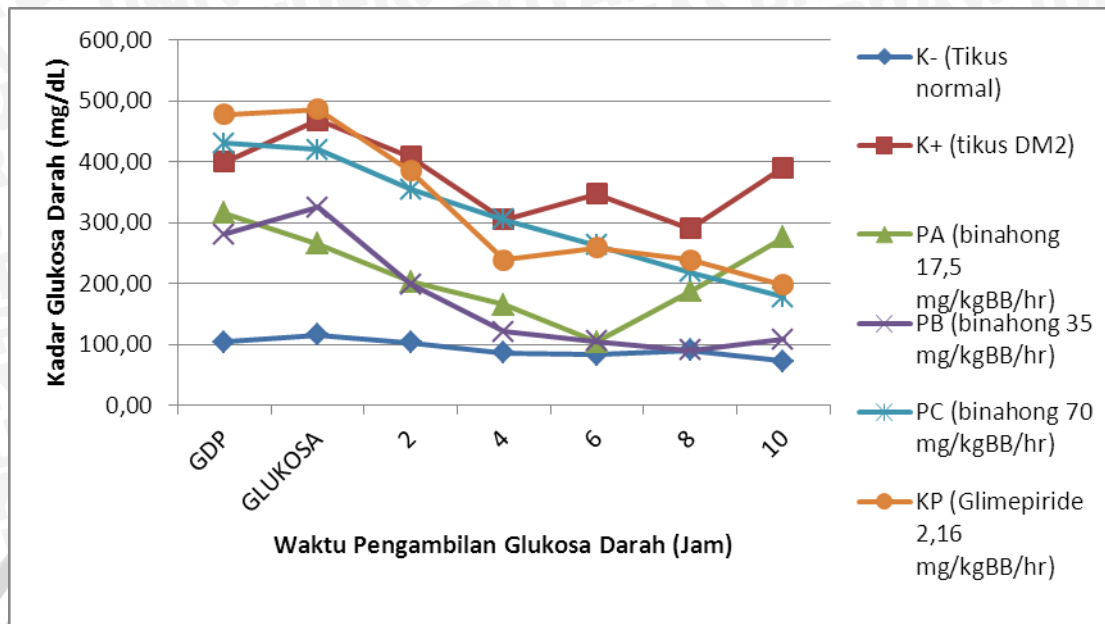
Berikut merupakan grafik profil glukosa darah pada H1, H7, dan H14 masa terapi yang ditunjukkan pada Gambar 5.5; Gambar 5.6; dan Gambar 5.7:



**Gambar 5.5 Grafik Profil Glukosa Darah Hari Pertama Pemberian Terapi (H1).** GDP=Tikus Puasa 12 Jam; Glukosa=30 Menit Setelah Induksi Glukosa. Penurunan Kadar Glukosa Darah Ditunjukkan pada Jam Ke-2 Setelah Pemberian Terapi pada Kelompok PA, PB, PC, dan KP



**Gambar 5.6 Grafik Profil Glukosa Darah Hari Ke-7 Pemberian Terapi (H7).** GDP=Tikus Puasa 12 Jam; Glukosa=30 Menit Setelah Induksi Glukosa. Penurunan Kadar Glukosa Darah Ditunjukkan pada Jam Ke-2 Setelah Pemberian Terapi pada Kelompok PA, PB, PC, Dan KP. Rerata Efek Kerja Obat Dapat Menurunkan Kadar Glukosa Darah Hingga Jam Ke-8 Setelah Pemberian Terapi



**Gambar 5.7 Grafik Profil Glukosa Darah Hari Ke-14 Pemberian Terapi (H14).** GDP=Tikus Puasa 12 Jam; Glukosa=30 Menit Setelah Induksi Glukosa. Penurunan Kadar Glukosa Darah Ditunjukkan Pada Jam Ke-2 Setelah Pemberian Terapi pada Kelompok PA, PB, PC, dan KP

Pada pengukuran profil glukosa darah tikus ini, terjadi peningkatan kadar glukosa darah di semua kelompok tikus setelah diinduksi dengan glukosa. Pada hari pertama, kadar glukosa darah tikus menunjukkan penurunan setelah pemberian terapi pada kelompok PA, PB, PC, dan KP. Grafik menunjukkan pada hari pertama pemberian terapi, penurunan glukosa darah pada kelompok PA, PB, PC, dan KP terlihat 2 jam setelah pemberian terapi. Kelompok PA yang diberi perlakuan dosis binahong terendah yaitu 17,5 mg/kgBB menunjukkan penurunan glukosa darah hingga jam ke-6. Pada jam ke-8, glukosa darah mengalami kenaikan dan jam ke-10 glukosa darah kembali mengalami penurunan. Pada kelompok PB dengan dosis binahong 35 mg/kgBB, penurunan glukosa darah terjadi hingga jam ke-4, selanjutnya glukosa darah mengalami kenaikan dan penurunan secara tidak beraturan. Kelompok PC dengan dosis binahong tertinggi yaitu 70 mg/kgBB, glukosa darah mengalami penurunan



hingga jam ke-8. Kelompok KP yang mendapatkan terapi glimepiride 2 mg juga menunjukkan penurunan glukosa darah hingga jam ke-8 setelah pemberian terapi.

Profil glukosa darah tikus selanjutnya diukur pada hari ketujuh (H7) setelah perlakuan pemberian terapi. Kelompok PA menunjukkan penurunan glukosa darah 2 jam setelah pemberian terapi, kemudian pada jam-jam berikutnya grafik glukosa darah mengalami penurunan dan kenaikan secara tidak beraturan. Pada kelompok PB penurunan glukosa darah terjadi setelah 2 jam pemberian terapi hingga jam ke-8 setelah pemberian terapi. Pada kelompok PC dan KP, penurunan glukosa darah terus ditunjukkan hingga jam ke-6 setelah pemberian terapi.

Pengukuran glukosa darah terakhir dilakukan pada hari ke-14 (H14) setelah pemberian terapi. Pada kelompok PA dengan jumlah ekor tikus yang diperiksa sebanyak 2 ekor, penurunan glukosa darah ditunjukkan hingga jam ke-6 setelah pemberian terapi. Pada kelompok PB penurunan ditunjukkan hingga jam ke-8 setelah pemberian terapi. Glukosa darah pada jam ke-10 di kelompok PB ini hampir mendekati nilai glukosa darah pada kelompok tikus K- (tikus normal) dengan nilai <math><200\text{ mg/dL}</math>. Pada kelompok PC, penurunan glukosa darah ditunjukkan hingga jam ke-10 setelah pemberian terapi binahong. Pengukuran glukosa darah tikus selama 10 jam pada H1, H7, dan H14 menunjukkan efek kerja dalam menurunkan kadar glukosa darah dari terapi ekstrak binahong maupun glimepiride yang terjadi pada 2 jam setelah pemberian terapi.

### **5.6 Kadar Glikogen Hati**

Glikogen hati merupakan simpanan glukosa yang disimpan di dalam organ hepar. Kadar glikogen hati diukur setelah tikus dibunuh dan diambil organ

hatinya. Berikut merupakan Tabel 5.4 rerata kadar glikogen hati pada akhir masa terapi:

**Tabel 5.4 Rerata Kadar Glikogen Hati**

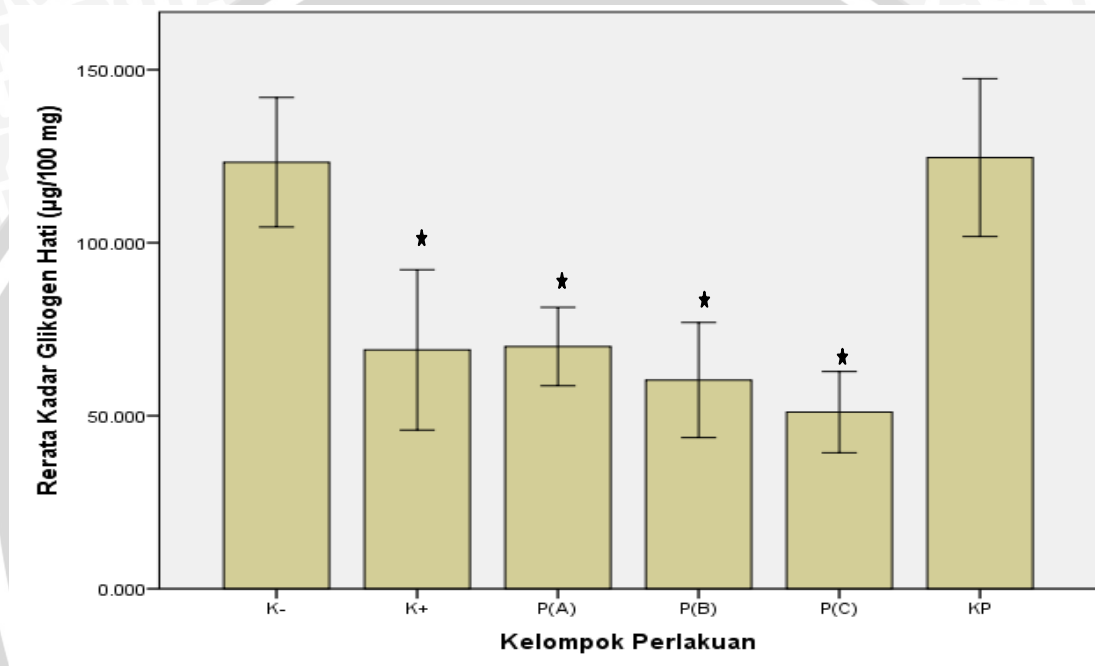
Kelompok	Kadar Glikogen Hati $\pm$ SD ( $\mu$ g/100mg)	Nilai P
K-	123,239 $\pm$ 18,719	-
K+	69,018 $\pm$ 23,181	0,014 *
PA	70,005 $\pm$ 11,328	0,053 *
PB	60,312 $\pm$ 16,646	0,014 *
PC	51,024 $\pm$ 11,731	0,014 *
KP	124,620 $\pm$ 22,808	0,917

Diukur pada masa akhir terapi setelah dilakukan pembedahan, \*p sig<0,05 dibanding dengan k- (tikus normal).

Kadar glikogen hati pada kelompok K- dan KP menunjukkan nilai yang lebih tinggi dibanding dengan kadar glikogen hati kelompok K+, PA, PB, dan PC. Sebaran data berdasarkan uji statistika menunjukkan data normal dan homogen namun jumlah data dari setiap perlakuan pada penelitian tidak seragam, sehingga tidak dapat diuji secara *One Way Anova*. Oleh karena itu, dilakukan analisis menggunakan Kruskal-Wallis Test. Hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan yang nyata yaitu  $p=0,04$  ( $p<0,05$ ).

Selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan. Hasil uji secara berurutan antara kelompok K- dengan PA, PB, PC dan KP ialah 0,053; 0,014; 0,014; dan 0,917. Perbedaan signifikan ditunjukkan pada kelompok K- dengan kelompok perlakuan PA, PB, dan PC ( $p<0,05$ ). Kadar glikogen hati pada kelompok K- lebih tinggi secara signifikan daripada kelompok perlakuan PA, PB, dan PC. Pada kelompok K- dengan KP tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai  $p=0,917$ . Hasil uji Mann-Whitney antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan yaitu kelompok PA, PB, PC, dan KP secara berurutan ialah 1,000; 0,564; 0,248; dan 0,014. Perbedaan nyata ditunjukkan antara kelompok K+

dengan kelompok KP ( $p < 0,05$ ). Kadar glikogen hati pada kelompok KP signifikan lebih tinggi daripada kelompok K+. Perbedaan yang nyata juga ditunjukkan antara kelompok K+ dengan kelompok K- dengan nilai  $p = 0,014$ . Kadar glikogen hati pada kelompok K- lebih tinggi daripada kelompok K+. Rerata kadar glikogen hati dari semua kelompok tikus dapat dilihat dalam Gambar 5.8 berikut ini:



**Gambar 5.8 Grafik Kadar Glikogen Hati Tikus; dinyatakan dalam µg/100 mg. \* $P < 0,05$  signifikan dibanding kelompok K- (tikus normal). Perbedaan signifikan terdapat pada kelompok K+ (tikus DM2), PA (binahong 17,5 mg/kgBB/hr), PB (binahong 35 mg/kgBB/hr), PC (binahong 70 mg/kgBB/hr). KP (Glimepiride) tidak menunjukkan perbedaan signifikan.**

Uji korelasi Spearman juga dilakukan pada kelompok perlakuan dosis binahong dengan kadar glikogen hati yang dihasilkan. Uji menunjukkan hubungan yang negatif lemah dan tidak signifikan dengan nilai  $\rho = -0,415$  dan nilai  $p = 0,233$ . Hubungan negatif menunjukkan peningkatan dosis dari ekstrak daun binahong akan menurunkan kadar glikogen hati tikus DM tipe 2.