

# 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, Ahmad Hanapi, A.Ghanaim Fasya, Hafidatul Hasanah

Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

Email: [ndrieyanni@gmail.com](mailto:ndrieyanni@gmail.com)

## 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:** alloxan, antidiabetic, flavonoids, binahong tubers, SOD

## 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:** aloksan, antidiabetes, flavonoid, umbi binahong, SOD

## I. 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  $\beta$  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.

## II. 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

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah eperangkat alat gelas, *rotary evaporator*, neraca analitik, kertas saring, plat KLT silika gel 60 F<sub>254</sub>, bejana pengembang, lampu UV, pipa kapiler, penyaring *buchner*, *shaker*, vortex, kandang hewan coba (baki plastik), kawat, botol minum mencit, pinset, 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  $\pm$  5 hari. Setelah itu, diblender sampai berbentuk serbuk.

### Analisis Kadar Air

Serbuk umbi binahong yang didapatkan kemudian ditimbang dalam cawan konstat dan dimasukkan dalam oven dengan suhu 100 - 105 °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<sub>2</sub> sampai 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.

#### **Uji Aktifitas 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 spektrofotometer UV pada panjang gelombang 580 nm (Sherly dkk., 2013).

Kurva 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.

### **III. 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 flavonoid, alkaloid, tannin, terpenoid dan saponin sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil pengamatan uji fitokimia

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

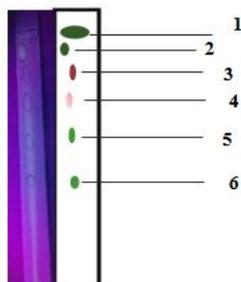
Ket:

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

+ =Mengandung senyawa (berwarna)

### 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 di atasnya (0,55-0,91) senyawa flavonoid juga bersifat polar

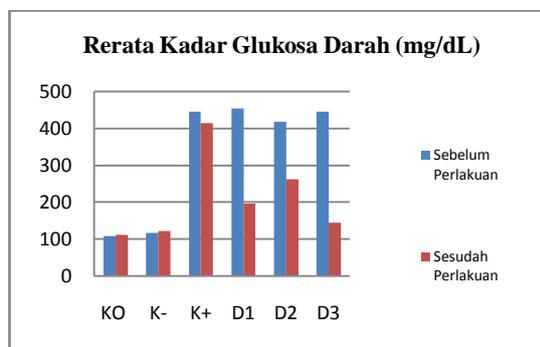
namun lebih mirip kepolarannya dengan fase geraknya.

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

Rf	Warna UV <sub>254 nm</sub>	Warna UV <sub>366 nm</sub>		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<sub>0</sub> dan H<sub>1</sub>

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  $\beta$  pankreas yang telah rusak akibat radikal bebas (Saleh, 2012). Umbi binahong juga mengandung senyawa saponin yang dimungkinkan berperan dalam menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase, yaitu enzim yang bertanggung jawab pada perubahan karbohidrat menjadi glukosa sehingga menurunkan kadar glukosa darah (Manoi, 2009).

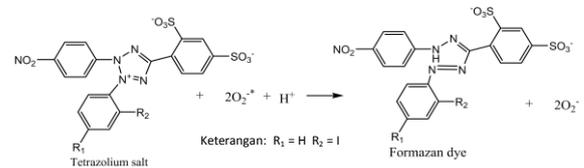
Berdasarkan hasil uji Duncan diperoleh dosis 25 mg/kg BB yang bekerja secara maksimal dalam menurunkan kadar glukosa darah sehingga dosis 25 mg/kg BB memperlihatkan efek hipoglikemik yang paling baik.

**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 dinetralkan 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 3.

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*).



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

Hasil pengujian aktifitas SOD ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3 Rerata aktivitas SOD (*Superoksida dismutase*)

Perlakuan	Aktifitas 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).

**IV. 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 peningkat aktivitas 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.

## V. DAFTAR PUSTAKA

- 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.
- 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 cordifolia*) sebagai obat. *Warta Penelitian dan Pengembangan. Jurnal*. Vol.15 No.1.hlm: 3-6.
- Retno, A., Aulanni'am dan Prasetyawan, S. 2013. Potensi Ekstrak Rumpun 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 Ekstrak 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 Paparan 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. Spectrophotometric 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.