

## Bab II

### Tinjauan Pustaka

#### 2.1 Tanaman Binahong

##### 2.1.1 Morfologi

Binahong merupakan tanaman yang dapat dimanfaatkan dari mulai akar, batang, dan daunnya. Tanaman binahong tumbuh menjalar dan panjang tanamannya hingga 5 meter, memiliki batang lunak yang berbentuk silindris. Daun dari binahong merupakan daun tunggal dan memiliki tangkai yang pendek, serta bersusun berselang-seling, daun binahong berbentuk jantung. Panjang dari daun binahong 5-10 cm dan memiliki lebar 3-7 cm. Memiliki helaian daun yang tipis dan lemas, pada ujung daunnya berbentuk runcing, terdapat pangkal yang berbelah, serta memiliki tepi daun yang rata dan bergelombang, dan memiliki permukaan daun yang halus dan licin, morfologi daun binahong dapat dilihat pada gambar 2.1 (Pariyana *et al.*, 2016).



Gambar 2.1 tanaman binahong (*Anredera cordifolia* ( Tenore) Steenis)

##### 2.1.2 Klasifikasi dari tanaman binahong yaitu (Anwar and Soleha, 2016):

Kingdom	: Plantae
Sub kingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Familia	: Basellaceae
Genus	: Anredera
Spacies	: <i>Anredera cordifolia</i> ( Tenore) Steenis

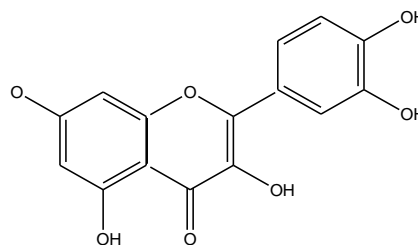
### 2.1.3 Kandungan Binahong

Tanaman binahong memiliki kandungan saponin, alkaloid, polifenol, flavonoid, dan monopolisakarida (Anwar and Soleha, 2016). Dari tanaman binahong hampir semua bagian dapat dimanfaatkan, dalam daun, batang, akar, serta bunganya memiliki kandungan flavonoid yang tinggi (Pariyana *et al.*, 2016). Kandungan flavonoid dari daun binahong segar yaitu 11,266 mg/kg dan 7687 mg/kg bila kering. Sedangkan kandungan flavonoid dari ekstrak ethanol sebagai antioksidan yaitu 4,29 mmol/100g apabila segar, sedangkan apabila kering 3,68 mmol/100g (Larissa, Wulan and Prabowo, 2018)

### 2.1.4 Manfaat Binahong

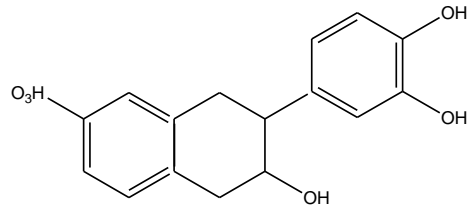
Bagian dari binahong yang banyak di manfaatkan yaitu daunnya. Karena khasiat dari daun binahong memiliki aktivitas sebagai antioksidan, asam askorbat, setara dapat melawan bakteri gram positif dan gram negatif (Anwar and Soleha, 2016). Selain itu daun binahong dapat dimanfaatkan sebagai obat herba sebagai obat antidiabetes, pembengkakan jantung, muntah darah dan lainnya. Beberapa kandungan dari binahong yang memiliki manfaat bagi kesehatan antara lain (Larissa, Wulan and Prabowo, 2018)

1. Kandungan saponin dalam tumbuhan binahong dapat dijadikan sebagai antibakteri.
2. Kandungan dari flavonoid dari tumbuhan binahong juga dapat digunakan sebagai antiinflamasi, analgesik, antiradang, dan antioksidan. Dimana flavonoid bekerja dengan menghambat pertumbuhan bakteri serta menghambat jalur lipoksigenase dan siklooksigenase dalam metabolisme arakidonat.



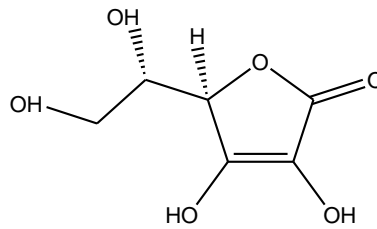
Gambar 2.2 Struktur Kimia Flavonoid (Redha, 2010)

3. Kandungan dari polifenol pada tanaman binahong mampu sebagai antiinflamasi dan menjaga kekebalan tubuh.



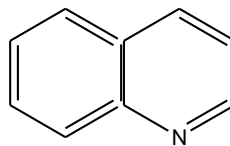
Gambar 2.3 Senyawa Polifenol

4. Kandungan asam askorbat dari tumbuhan binahong dipercayai dapat meningkatkan daya tahan tubuh serta dapat memelihara membran mukosa dan juga mempercepat proses penyembuhan luka.



Gambar 2.4 Senyawa Asam Askorbat

5. Kandungan alkaloid dalam tumbuhan binahong berkhasiat sebagai antibakteri. Senyawa alkaloid tersebut akan menyebabkan penyusutan peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga sel bakteri akan tidak terbentuk dan mati.



Gambar 2.5 Senyawa Alkaloid

## 2.2 Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan metode yang digunakan untuk pemisahan suatu komponen yang terdiri dari suatu pelarut, dimana hasil akhirnya yaitu menarik senyawa aktif yang ada di dalam suatu tanaman. Dalam melakukan ekstraksi harus menggunakan pelarut yang memiliki kemampuan untuk menarik zat aktif yang ada di sebuah tanaman. Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa cara antara lain (Mukhriani, 2014):

1. Maserasi adalah metode yang tidak perlu adanya pemanasan sehingga kemungkinan tanaman terurai atau rusak sangat kecil. Proses dari maserasi yaitu dengan memasukkan serbuk tanaman yang sudah menjadi partikel-partikel kecil kemudian dimasukkan kedalam wadah inert atau wadah kaca

dan diberi pelarut yang sesuai lalu ditutup rata. Maserasi dilakukan proses penyaringan untuk mendapat ekstrak.

2. Metode refluks dilakukan dengan cara pemanasan, dimana metode ini harus mengetahui temperatur titik didih dari pelarut yang digunakan serta dalam metode ini waktu yang dibutuhkan lebih efisien serta zat aktif yang ditarik oleh pelarut lebih efektif (Susanty and Bachmid, 2016). Metode refluks dengan pemanasan dapat mengekstraksi andrografolid yang merupakan tanaman yang memiliki senyawa yang tahan panas (Laksmiani *et al.*, 2015). Pada metode reflux sampel dan pelarut dimasukkan bersamaan kedalam kondensor, hingga mencapai titik didih.
3. Perkolasi merupakan metode yang menggunakan perkolator atau wadah berbentuk silinder yang terdapat kran dibagian bawahnya, dimana serbuk dari sampel dibasahi oleh perkolator. Metode ini dengan mengalir pelarut baru serta menggunakan banyak pelarut.
4. Soxhlet merupakan metode dengan sampel yang berbentuk serbuk dimasukkan kedalam sarung selulosa yang ditempatkan dibawah kondensor. Metode soxhlet merupakan ekstraksi yang bersifat kontinyu, sehingga tidak memerlukan banyak pelarut.
5. *Ultrasound- Assisted Solvent Extraction* merupakan metode maserasi yang menggunakan bantuan dari *ultrasound*. Dimana wadah diisi dengan serbuk sampel kemudian di tempatkan dalam wadah ultrasonik dan *ultrasound*. Pada metode ini adanya tekanan mekanik yang di berikan sehingga akan memberikan rongga pada sampel.

Proses ekstraksi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu jumlah pelarut yang digunakan. Terdapat beberapa target ekstraksi yaitu (Mukhriani, 2014):

1. Senyawa bioaktif yang tidak diketahui.
2. Senyawa yang diketahui ada pada suatu organisme.
3. Sekelompok senyawa dalam suatu organisme yang berhubungan secara struktural.

Selain itu terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi dari proses ekstraksi antara lain (Nasir, Fitriyanti and Kamila, 2009) :

1. Temperatur

Setiap pelarut yang digunakan untuk ekstraksi pada tumbuhan memiliki temperatur yang berbeda-beda sehingga mendapatkan hasil ekstrak yang diinginkan. Biasanya temperatur yang digunakan untuk ekstraksi yaitu dibawah 100°C, karena semakin tinggi temperatur yang digunakan maka laju pelarut semakin tinggi.

2. Waktu ekstraksi

Waktu ekstraksi sangat menentukan berapa banyaknya zat yang tertarik oleh pelarut, serta mempengaruhi volume dari ekstrak tumbuhan tersebut.

3. Ukuran

kecilnya ukuran partikel dari tumbuhan akan mempengaruhi waktu ekstraksi. Sehingga waktu yang dibutuhkan untuk ekstraksi semakin cepat karena kontak antara partikel dengan pelarut semakin banyak. Selain itu apabila dinding sel memiliki laju difusi yang tinggi maka laju dari ekstraksi akan rendah.

4. Jenis pelarut

Jenis pelarut dalam metode ekstraksi sangat menentukan penarikan zat aktif yang ada di dalam tumbuhan. Dalam pemilihan pelarut ada beberapa hal yang harus di perhatikan seperti selektivitas, kelarutan, kerapatan, titik didih, viskositas pelarut, dan rasio pelarut.

Pelarut yang biasanya digunakan dalam proses maserasi yaitu etanol. Etanol merupakan jenis pelarut yang mudah menguap, dan tidak memiliki warna serta aroma yang khas. Etanol merupakan pelarut yang mudah terbakar. Etanol adalah pelarut yang dapat larut dengan air serta pelarut organik lainnya seperti asam asetat, aseton, benzen, karbontetraklorida, dan kloroform. Sifat fisik dari etano, yaitu (Nasir, Fitriyanti and Kamila, 2009):

Tabel 2.1. Sifat Fisik Etanol

Sifat-sifat	Keterangan
Rumus molekul	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH
Berat molekul	46,068 g/mol
Bentuk dan warna	Likuid tidak berwarna
Densitas	0,789 gr/ml
Titik leleh	-112 °C (161 K)
Titik didih	78,4 °C (351,6K)

Kelarutan dalam air	larut
Visikositas	1,200 cP pada 20°C
Temperature kritis	240,2 °C (513,92 K)
Tekanan kritis	6,12 x 10 <sup>6</sup> Pa

### **2.3 Uji Fitokimia Senyawa Herba**

Uji fitokimia pada sebuah tanaman berfungsi untuk menguji kandungan dari senyawa-senyawa aktif yang ada di dalam tumbuhan tersebut. Dalam tumbuhan binahong terdapat senyawa flavonoid, alkaloid dan tanin yang merupakan senyawa aktif metabolit sekunder. Sehingga untuk membuktikan bahwa dalam tumbuhan binahong terdapat senyawa aktif tersebut maka dapat dilakukan uji fitokimia (Parwati, Napitupulu and Diah, 2014).

#### **2.3.1 Uji Flavonoid**

Mendeteksi senyawa flavonoid pada tumbuhan binahong dapat menggunakan pereaksi Mayer. Penambahan reaksi Mayer pada ekstrak binahong akan menimbulkan reaksi terbentuknya warna kuning jingga. Hasil warna yang terjadi akibat adanya reaksi dari logam Mg dan HCl yang mereduksi inti dari benzopiron sehingga terbentuknya garam flavilum yang akan menghasilkan warna merah atau jingga.

#### **2.3.2 Uji Alkaloid**

Mendeteksi adanya senyawa alkaloid pada tumbuhan binahong dapat menggunakan pereaksi Mayer. Penambahan dari pereaksi Mayer akan menimbulkan reaksi endapan putih. Hal ini menunjukkan adanya senyawa alkaloid pada tumbuhan binahong. Hal ini terjadinya karena kandungan nitrogen pada senyawa alkaloid bereaksi dengan ion logam K<sup>+</sup> yang berasal dari kalium tetraiodomerkurat (II) yang akhirnya membentuk kalium-alkaloid sehingga menghasilkan endapan berwarna putih.

#### **2.3.3 Uji Tanin**

Mendeteksi senyawa tanin pada tumbuhan binahong dapat menggunakan pereaksi Mayer. Penambahan dari pereaksi FeCl<sub>3</sub> pada ekstrak binahong akan menimbulkan reaksi larutan dari ekstrak binahong berubah menjadi warna biru.

Hal ini terjadi karena penambahan  $\text{FeCl}_3$  pada ekstrak binahong akan membentuk senyawa kompleks dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$ . Uji tanin ini membuktikan adanya senyawa fenol dalam tumbuhan binahong. Hasil dari penambahan  $\text{FeCl}_3$  akan menghasilkan warna biru yang membuktikan bahwa terdapat senyawa polifenol pada tumbuhan binahong.

### 2.3.4 Uji Saponin

Mendeteksi adanya senyawa saponin didalam tumbuhan binahong yaitu dapat menggunakan aquades yang telah didinginkan kemudian dicampurkan dengan HCl. Dimana apabila terjadi reaksi menimbulkan adanya buih maka dapat dikatakan bahwa tanaman binahong mengandung senyawa saponin.

## 2.4 Diabetes Melitus

### 2.4.1 Pengertian Diabetes Melitus

Diabetes melitus merupakan penyakit kronik yang membutuhkan perawatan serta pengawasan yang rutin serta berkelanjutan. Hal ini bertujuan untuk mengurangi resiko serta komplikasi jangka panjang (America Diabetes Assocoation, 2019). Diabetes melitus adalah kelainan metabolisme dimana terjadinya kelainan hiperglikemia serta terjadi gangguan metabolisme pada karbohidrat, lemak, dan protein yang terjadi akibat insulin tidak bekerja dengan baik atau terjadi gangguan pada proses pembentukan insulin. Diabetes melitus termasuk kedalam penyakit degeneratif atau penyakit tidak menular. Penyebab terjadinya penyakit degeneratif akibat pola makan yang tidak teratur (Susanti and Bistara, 2018). Kadar glukosa dalam darah yang baik yaitu :

Tabel 2.2 Kadar Normal Gula Darah (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2015)

	HbA <sub>1c</sub> (1%)	Glukosa darah puasa (mg/dL)	Glukosa plasma 2 jam setelah TTGO ( mg/dL)
Diabetes	≥6,5	≥ 126 mg/dL	≥ 200 mg/dL
Prediabetes	5,7 – 6,4	100 – 125	140 – 199
Normal	< 5,7	< 100	< 140

## 2.4.2 Klasifikasi Diabetes Melitus

Terdapat beberapa klasifikasi dari diabetes melitus di antaranya diabetes tipe 1, diabetes tipe 2, diabetes tipe lain, dan diabetes pada kehamilan. Selain itu terdapat satu klasifikasi diabetes melitus yaitu prediabetes. Diabetes tipe 1 disebabkan oleh adanya gangguan autoimun. Akibat dari gangguan autoimun terjadi resistensi kerusakan sel beta pankreas (American Diabetes Association, 2019).

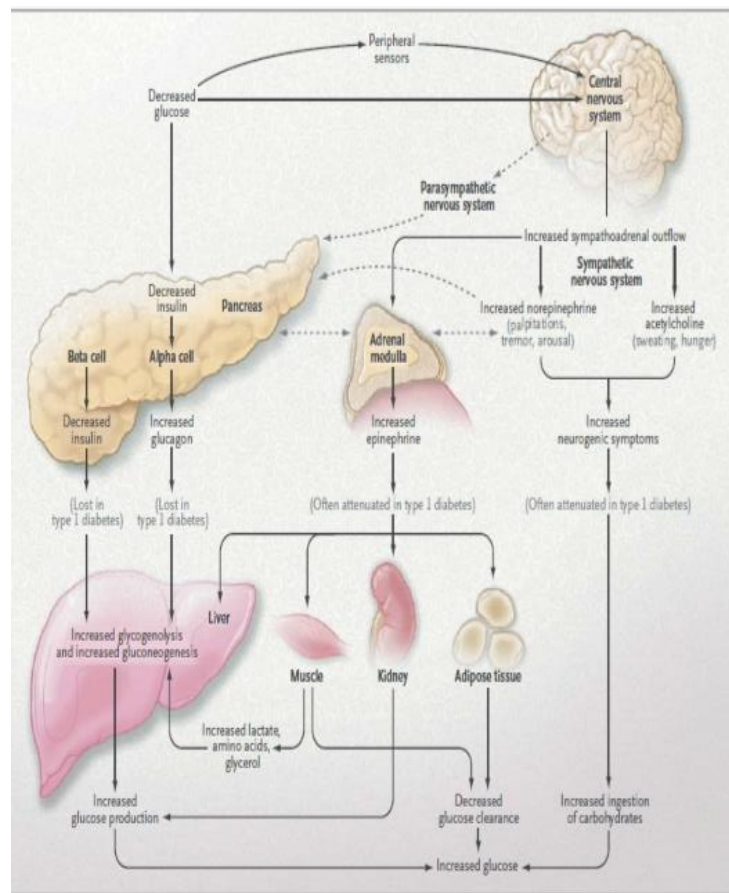
Tabel 2.3. Karakteristik dan diagnosa dari Diabetes tipe 1 (American Diabetes Association, 2019)

	Tingkat 1	Tingkat 2	Tingkat 3
Karakteristik	Autoimun Normoglikemia Presimtomatik	Autoimun Disglikemia Presimtomatik	Terjadi hiperglikemia simptomatik
Kriteria Diagnosa	Terdapat beberapa antibodi Tidak terdapat IGT atau IFG	Terdapat beberapa antibodi Disglikemia : IFG atau IGT FPG 100-125 mg/dL (5,6-6,9 mmol/L) Pada saat 2 jam PG 140-199 mg/dL (7,8- 11 mmol/L) A1C 5,7-6,4% ( 29- 47 mmol/mol) atau $\geq$ 10% meningkat di A1c	Gejala klinis Standar diabetes gejala

Diabetes tipe 1 ditandai dengan adanya penghancuran sel-sel yang berfungsi untuk menghasilkan insulin di pankreas oleh sel T CD4+ dan CD8+. Selain itu terdapat beberapa tanda-tanda dari diabetes tipe 1 yaitu terjadinya perubahan imunoregulasi oleh sel T khususnya pada sel T CD4+, kemudian rentan terhadap penyakit yang menyerang autoimun. Akibat dari penghancuran sel beta pankreas mengakibatkan terjadinya gangguan metabolisme. Fungsi dari sel alfa pankreas bekerja secara abnormal dan terjadinya sekresi glukagon hal ini dapat menyebabkan hiperglikemia. Glukagon yang meningkat secara tidak normal atau disebut dengan hiperglikemia maka akan dapat menyebabkan defisiensi insulin. Kekurangan insulin dapat menyebabkan lipolisis sehingga adanya peningkatan



kadar asam lemak bebas dalam plasma yang akan menekan jaringan perifer pada otot kerangka.

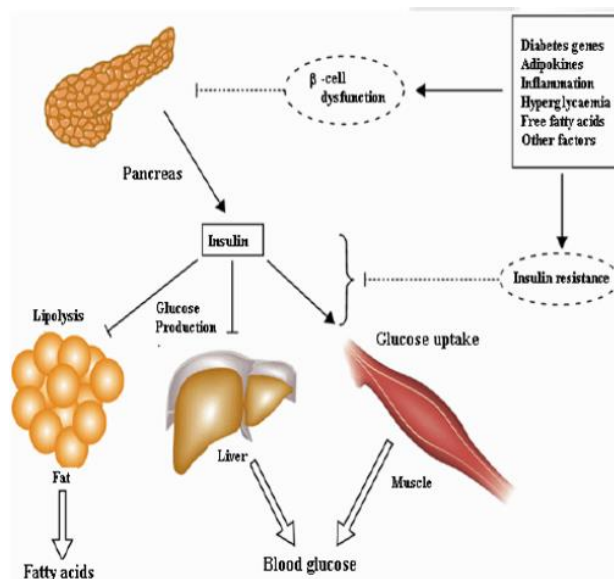


Gambar 2.6 Patofisiologi DM tipe 1 (American Diabetes Association, 2019)

Diabetes melitus tipe 2 adalah resistensi insulin perifer dan terjadinya defisiensi insulin relatif. Hal ini terjadi akibat fungsi dari sel beta tidak bekerja dengan baik sehingga insulin tidak dapat bekerja dengan semestinya. Akibat dari resistensi insulin terjadi penurunan berat. Diabetes melitus tipe 2 biasanya terjadi pada orang lanjut usia, obesitas, dan orang yang memiliki aktifitas fisik yang kurang (American Diabetes Association, 2019). Patogenesis dari diabetes melitus tipe 2 disebabkan oleh beberapa hal seperti (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2015):

1. Kegagalan sel beta pankreas yang mengakibatkan pada orang yang mengalami diabetes melitus tipe 2 fungsi dari sel beta bekerja dengan tidak optimal.

2. Terjadi gangguan pada hati akibat resistensi insulin bagi penderita diabetes melitus tipe 2. Sehingga pada keadaan ini produksi glukosa dalam keadaan basal akan meningkat.
3. Terjadi gangguan pada fungsi otot akibat kinerja dari insulin di intramioseluler, sehingga fosforilasi tirosin menghambat transport glukosa dalam sel otot.
4. Terjadi peningkatan kadar asam lemak bebas akibat resistensi antilipolisis dari insulin.
5. Saluran pencernaan berfungsi sebagai penyerapan karbohidrat dimana memecah polisakarida menjadi monosakarida. Apabila saluran pencernaan terganggu maka makanan yang diserap oleh usus akan mengakibatkan peningkatan glukosa dalam darah setelah makan.
6. Sel alpa pankreas berfungsi sebagai sintesis glukagon dimana akan meningkat pada saat keadaan puasa. Sehingga menyebabkan HGP pada saat keadaan basal meningkat dibandingkan dengan orang normal.
7. Terjadi penurunan fungsi ginjal akibat dari peningkatan ekspresi SGLT-2.
8. Penurunan fungsi otak akibat dari resistensi insulin, yang mengakibatkan otak akan mengirim sinyal untuk menekan nafsu makan yang kuat.



Gambar 2.7 Patofisiologi DM Tipe 2 (American Diabetes Association, 2019)

Prediabetes merupakan suatu istilah dimana kondisi kadar gula dalam darah tidak terlalu tinggi. Prediabetes dapat menimbulkan risiko diabetes serta penyakit kardiovaskular. Prediabetes terjadi karena beberapa hal seperti obesitas, dislipidemia dengan nilai trigliserida yang tinggi atau nilai kolesterol pada HDLnya rendah, serta mengalami hipertensi (American Diabetes Association, 2019).

Tabel 2.4 Kriteria Prediabetes (American Diabetes Association, 2019)

	Normal
FPG	100 mg/dL (5,6 mmol/L) – 125 mg/dL (6,9 mmol/L)
2 jam PG	140 mg/dL (7,8 mmol/L) – 199 mg/dL (11 mmol/L)
A1C	5,7 – 6,4 % ( 39-47 mmol/mol)

Diabetes pada kehamilan biasanya terjadi pada trimester pertama atau disebut dengan pregestasional. Wanita yang memiliki prediabetes pada trimester pertama dianjurkan untuk mengontrol pola hidup agar kadar gula dalam darahnya tidak terus meningkat yang dapat mengurangi risiko terkena diabetes melitus tipe 2. Diabetes melitus gestational dari hasil diagnosa dapat menyebabkan risiko bagi ibu, janin, dan juga neonatal (American Diabetes Association, 2019). Pada wanita yang mengalami diabetes tipe ini akan dengan sendirinya sembuh setelah proses melahirkan (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2015).

Tabel 2.5 Klasifikasi Etiologi Diabetes Melitus (American Diabetes Association, 2019)

DM tipe 1	DM tipe 2	DM tipe lain	DM Gestational
Autoimun	Resistensi insulin	Terjadi cacat genetik	Terjadi pada saat wanita yang sedang hamil
Idopatik		Tidak dapat menghasilkan insulin Penyakit pankreas endokrinopati Diinduksi oleh bahan kimia atau farmakologis	

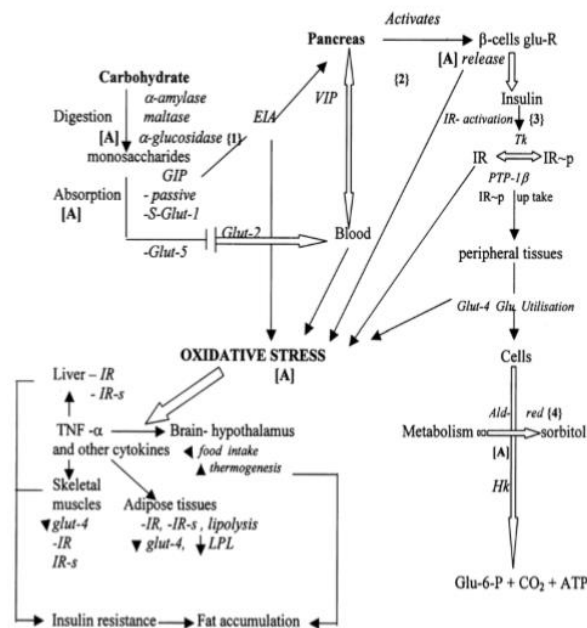
Selain itu diabetes melitus dapat disebabkan oleh mengonsumsi obat atau zat kimia, infeksi, sindrom genetik yang berkaitan dengan penyakit diabetes melitus, endokrinopati, defek dari fungsi sel beta serta kerja dari insulin, semua ini termasuk kedalam etiologi dari jenis diabetes tipe lainnya (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia, 2015). Sehingga banyak faktor yang menyebabkan seseorang terkena diabetes melitus. Diabetes melitus dapat menyebabkan beberapa komplikasi dengan penyakit lain antaranya (Permana, 2000):

1. Komplikasi Mikrovaskular

Pada komplikasi ini terjadi retinopati diabetik dimana terjadi gangguan penglihatan sampai dapat menyebabkan kebutaan. Retinopati diabetes terbagi menjadi 2 yaitu retinopati non poliferatif dan poliferatif. Retinopati non poliferatif memiliki tanda mikroaneurisma yang merupakan stadium awal dari komplikasi ini muncul. Sedangkan retinoproliferatif ditandai dengan gejala hipoksia retina. Selain retinopati diabetes komplikasi yang termasuk dalam mikrovaskular yaitu nefropati diabetika. Nefropati diabetik menyebabkan gagal ginjal terminal. Hal ini menyebabkan fungsi dari ginjal untuk melakukan penyaringan tidak bekerja dengan baik, sehingga molekul-molekul besar yang seharusnya tersaring dapat masuk kedalam kemih.

2. Komplikasi Makrovaskular

Pada komplikasi ini terjadi penyakit jantung koroner yang menyebabkan adanya gangguan seperti insufisiensi koroner atau angina pektoris. Gangguan yang dirasakan seperti nyeri pada dada, pada daerah rahang bawah, bahu, lengan, dan pergelangan tangan terasa berat. Selain menimbulkan komplikasi dengan penyakit jantung diabetes juga dapat menyebabkan stroke, hal ini karena adanya gangguan pada aliran arteri karotis internal dan arteri vertebralis.



Gambar 2.8 Metabolisme Karbohidarat dan Proses yang Menimbulkan Diabetes

Tujuan terapi pada orang dewasa yang menderita diabetes melitus yaitu (American Diabetes Association, 2019) :

1. Mengatur pola makan yang sehat serta mengonsumsi jumlah karbohidarat yang sesuai dengan porsinya. Hal ini untuk menjaga dan mencapai target berat badan yang ideal, serta mencegah terjadinya komplikasi.
2. Adanya kemauan untuk melakukan perubahan pola hidup serta memenuhi jumlah nutrisi yang dibutuhkan.
3. Mengatur makanan yang tepat untuk dikonsumsi.
4. Mengembangkan pola makan baik itu makronutrien, mikronutrien atau makanan tunggal.

## 2.5 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat pembentukan dari radikal bebas. Antioksidan memiliki senyawa yang dapat menghambat laju dari oksidasi. Antioksidan sudah diproduksi di dalam tubuh karena antioksidan merupakan zat alami yang dapat dihasilkan sendiri oleh tubuh baik dari makanan yang di konsumsi. Selain dapat menghambat pembentukan dari radikal bebas, antioksidan juga dapat sebagai penetralisir dan dapat memperbaiki kerusakan yang ada di dalam tubuh. Radikal bebas merupakan molekul yang tidak memiliki

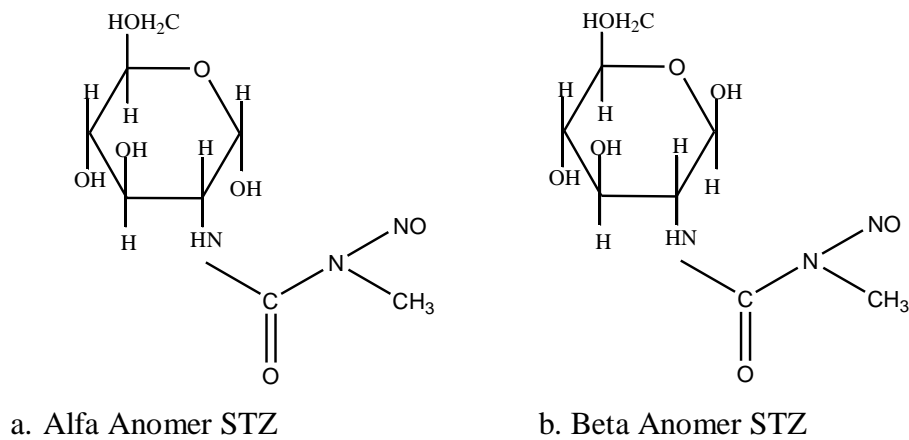
pasangan elektron di dalam tubuh, sehingga radikal bebas dapat bereaksi dengan molekul lain yang ada di dalam tubuh (Ardianti, Guntarti and Zainab, 2014).

Antioksidan sangat diperlukan oleh tubuh karena untuk mencegah terjadinya reaksi oksidatif. Cara kerja dari radikal bebas yaitu mengikat elektron dari molekul sel yang ada di dalam tubuh sehingga menyebabkan reaksi berantai yang dapat merusak tubuh (Ardianti, Guntarti and Zainab, 2014). Akibat dari radikal bebas tersebut mengakibatkan kerusakan sel, kerusakan DNA, protein, serta dapat menimbulkan penyakit degeneratif. Sehingga antioksidan sangat diperlukan oleh tubuh untuk mengurangi resiko terhadap penyakit degeneratif seperti diabetes, kanker, dan jantung coroner (Gendola *et al.*, 2012).

## 2.6 Streptozotocin

*Streptozotocin* (STZ) merupakan senyawa kimia yang bekerja untuk mengakibatkan kerusakan pada sel beta langerhans pankreas. *Streptozotocin* senyawa kimia yang memiliki waktu paruh yang lebih lama dibandingkan dengan senyawa kimia yang dapat merusak sel beta langerhans pankreas seperti aloksan. Mekanisme *streptozotocin* yaitu dengan menimbulkan radikal bebas dalam tubuh yang sangat reaktif sehingga nantinya akan menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA) (Saputra, Suartha and Dharmayudha, 2018). Sehingga dari mekanisme kerjanya tersebut fungsi dari sel beta langerhans pankreas untuk memproduksi insulin akan terganggu. *Streptozotocin* terbagi menjadi dua bentuk anomer yaitu alfa dan beta yang dapat di pisahkan dengan menggunakan teknik kromatografi dengan alat bantu HPLC. *Streptozotocin* memiliki berat molekul 256 g/mol dengan rumus kimia  $C_8H_{15}N_3O_7$ . *Streptozotocin* adalah senyawa glukosamin nitrosourea dengan memiliki gugus metil yang melekat pada salah satu ujung dari molekul glukosa (Goud, 2015).

## Struktur kimia dari *Streptozotocin*



Gambar 2.9 Struktur *Streptozotocin* (Goud, 2015)

Kelarutan dan stabilitas dari STZ yaitu sangat larut pada air, keton, dan alkohol. STZ sedikit larut dalam pelarut yang bersifat polar. STZ akan larut pada air dan memberikan warna kuning muda hingga pada 50 mg/ml. Stabilitas dari STZ yaitu memiliki pH 4. STZ dapat disimpan dalam jangka waktu yang cukup lama apabila penyimpanannya benar, STZ disimpan dalam jangka pendek atau akan segera digunakan maka dapat disimpan dalam suhu 4°C dan apabila akan digunakan dalam jangka panjang maka dapat disimpan dalam suhu -20°C yang akan bertahan minimal selama 2 tahun. Larutan STZ harus diberikan kepada hewan percobaan tidak boleh lebih dari 15-20 menit setelah STZ larut, hal ini dikarenakan larutan STZ akan melepas NO pada suhu kamar dimana fungsi dari NO sangat penting bagi sebuah penelitian. STZ akan bekerja dan menimbulkan efek setelah 72 jam setelah pemberian (Goud, 2015).

Jalur pemberian STZ dapat melalui rute intraperitoneal (IP) atau intravena (IV). Pemberian secara (IP) dapat mengakibatkan penurunan efek diabetogenik walaupun cara pemberiannya mudah dan cepat, sehingga lebih disarankan pemberian melalui IV karena lebih stabil. Dosis yang dianjurkan apabila menggunakan rute IP yaitu 100 mg/kg sampai 220 mg/kg untuk dosis tinggi atau dapat menggunakan dosis harian 35 mg/kg – 40 mg/kg. Kemudian dosis yang dianjurkan digunakan untuk rute intravena yaitu 40 mg/kg sampai 60 mg/kg. Dalam sebuah penelitian STZ yang diinduksi dengan rute IV diberikan dosis 65

mg/kg berat badan dengan menggunakan buffer 0,1 M asam sitrat dengan pH 4,5 (Goud, 2015).

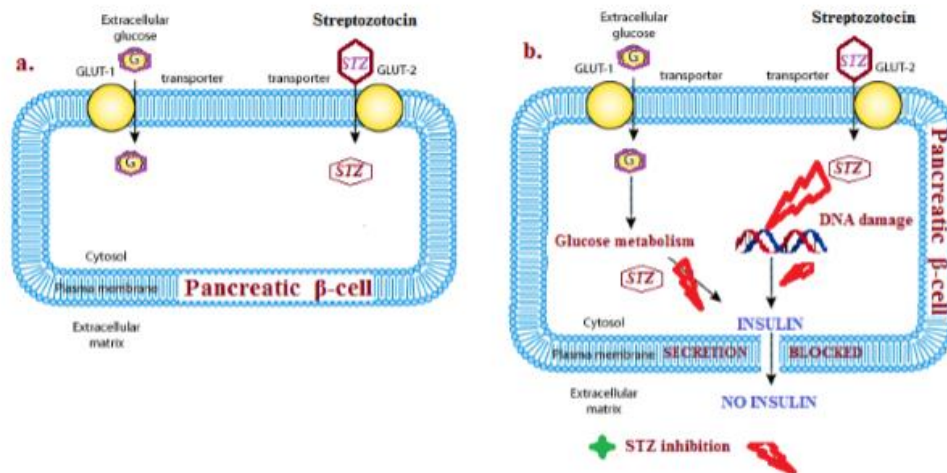
*Streptozotocin* bekerja dengan cara menghambat siklus Krebs dimana akan mengalami peningkatan enzim *xanthine oxidase*, sehingga pembentukan adenosin trifosfat akan terhambat dan terjadi pembentukan radikal bebas. Setelah itu *Streptozotocin* masuk ke dalam sel beta langerhans pankreas melalui jalur *glucose transportase 2* (GLUT 2) yang akan menyebabkan alkilasi. *Streptozotocin* (STZ) akan menimbulkan diabetes melitus tipe 1 dan diabetes melitus tipe 2 setelah diinduksikan (Saputra, Suartha and Dharmayudha, 2018).

Induksi *Streptozotocin* agar dapat mengakibatkan diabetes melitus tipe 1 dan diabetes melitus tipe 2 penyuntikan pada tikus dewasa yaitu 35-65 mg/Kg yang dilakukan secara intraperitoneal akan mengakibatkan diabetes melitus tipe 2. Penginduksian *Streptozotocin* (STZ) harus diperhatikan, karena tikus diinduksi dengan konsentrasi yang tinggi dapat menyebabkan kematian pada tikus di minggu pertama, sedangkan penyuntikan dengan dosis rendah kerusakan sel beta langerhans pankreas tidak mencapai target yang diinginkan (Gdp, 2013). Reaksi dari *Streptozotocin* (STZ) terhadap sel beta pankreas akan mengalami perubahan karakteristik pada insulin sehingga konsentrasi glukosa meningkat atau menyebabkan hiperglikemia. Hal ini akibat dari penurunan sensitifitas reseptor pada insulin perifer yang memiliki dampak meningkatkan resistensi insulin dan menyebabkan kadar glukosa dalam darah meningkat (Goud, 2015).

*Streptozotocin* merupakan senyawa diabetogenik dimana bekerja dengan cara menghambat produksi dari insulin dengan cara merusak sel beta pankreas. Pemberian STZ dapat menyebabkan toksisitas dalam penyerapan selektif pada membran plasma yang mengakibatkan rendahnya glukosa yang ada dalam sel beta. STZ memiliki sifat yang hidrofilik hal ini dikarenakan adanya difusi pada membran plasma sehingga mengakibatkan hidrofobitas. Hal ini dapat dilihat pada gambar 2.10 pada gambar a merupakan proses penyerapan glukosa dan STZ yang bekerja secara selektif melalui transpoter glukosa (GLUT) – 2. Lalu pada gambar 2.10 b merupakan proses dimana adanya penghambatan metabolisme glukosa dan sekresi insulin dalam sel beta pankreas efek dari pemberian STZ dilihat dari tanda merah yang ada pada gambar 2.10 memberikan

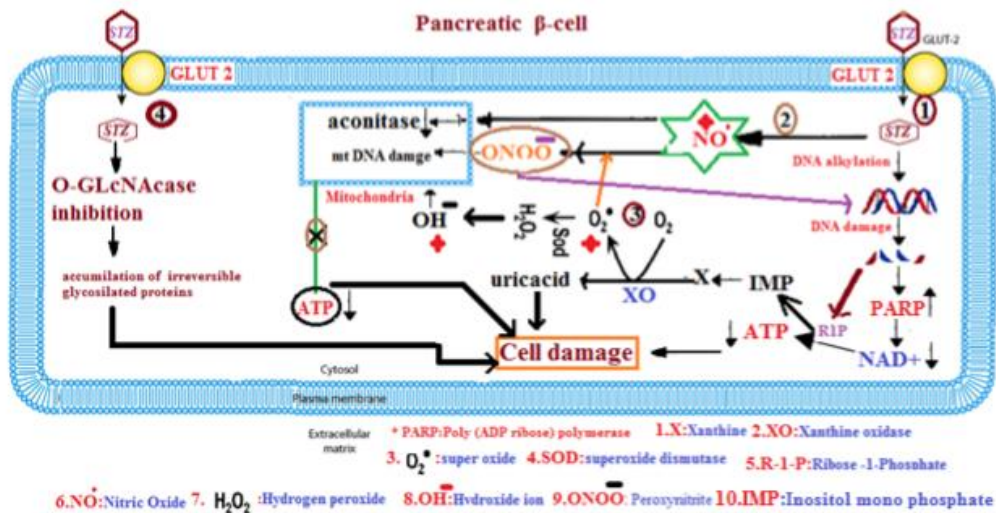


sinyal bahwa menginaktivasikan proses metabolisme untuk produksi insulin (Goud, 2015).



Gambar 2.10 Mekanisme kerja STZ di dalam sel beta pankreas

Mekanisme toksisitas dari STZ yaitu membunuh sel dengan menghambat O-GlcNacase (OGA). O-GlcNacase merupakan glikosida hidrolase yang membelah untuk menjadi beta O-link GlcNac (N-asetil glukosamin (O-GlcNac)). Penghambatan dari OGA yang dilakukan oleh STZ akan menghasilkan reaksi hyper-O-GlcNAcylation menyebabkan kematian sel atau apoptosis. Pada gambar 2.14 merupakan mekanisme toksisitas dari STZ dimana awalnya terjadi alkilasi DNA yang disebabkan oleh pemberian STZ sehingga terjadinya kerusakan pada DNA lalu terjadinya aktivasi dari PARP sehingga mengakibatkan NAD<sup>+</sup> terjadi penipisan yang mengakibatkan kematian sel beta yang ada di pankreas. Setelah itu terjadinya pelepasan NO yang mengakibatkan kerusakan mitokondria akibat dari NO, dimana akan menyebabkan kematian sel beta akibat dari ATP sintesis dihambat oleh STZ. Selain itu radikal bebas seperti superoksida (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), hydroxide (OH<sup>•-</sup>), peroxyinitrite (ONOO<sup>-</sup>), dari beberapa radikal bebas tersebut dapat mengakibatkan kematian sel beta. Penghambatan dari O-GlcNacase oleh STZ mengakibatkan terjadi pembentukan protein glikosilasi irreversibel sehingga merusak sel beta pankreas (Goud, 2015).



Gambar 2.11 Mekanisme Toksisitas STZ (Goud, 2015)

Pemberian STZ memiliki empat efek yang ditimbulkan antara lain terjadi karbamolasi dan alkilasi. Sifat dari STZ yaitu sebagai agen alkilasi dimana memiliki genotoksik yang dapat menyebabkan kerusakan sel termasuk dapat terjadinya kerusakan urutan DNA bahkan dapat menyebabkan kematian sel. STZ yang masuk kedalam sel akan membentuk isosianat dan molekul metildiazohidroksi dimana kedua molekul ini akan menyebabkan alkilasi DNA. Selain itu ion karbonium bekerja aktif dalam STZ dimana ion ini akan bereaksi dengan pasangan elektron nitrogen yang ada pada nukleofilik DNA. Kemudian alkilasi DNA yang disebabkan oleh STZ akan membentuk fosfotriester yang menyebabkan perubahan rangkaian DNA. STZ dapat berinteraksi di tempat-tempat lain dari DNA seperti cincin nitrogen dan atom oksigen eksosiklik secara dominan yang menghasilkan 7 metilguanin 3 metiladenin dimana nantinya akan memecah DNA dan mengaktifkan poli ADP ribose polimerasi (PARP). PARP bekerja sebagai pengatalis dan penambah kovalen ADP ribosa untuk protein dan menyebabkan penipisan NAD<sup>+</sup> (Goud, 2015).

Efek yang ditimbulkan selain karbamolasi dan alkilasi yaitu pelepasan nitric oxide (NO). Nitric Oxide yang ditimbulkan akibat dari pemberian STZ yaitu terjadinya penghancuran sel-sel beta di pankreas melalui kerusakan DNA. Nitric oxide merupakan radikal yang menonaktifkan enzim yang ada di mitokondria serta mengganggu produksi dari ATP. Efek dari NO dapat membentuk N-nitrosoamin atau DNA yang kompleks. Selain itu NO dapat menonaktifkan enzim untuk mengreplikasi DNA, sehingga terjadilah kerusakan DNA sel beta

akibat dari NO selain itu dapat menyebabkan kematian sel. Kemudian efek lain yang ditimbulkan dari pemberian STZ yaitu terbentuknya radikal bebas dan stres oksidatif. Terjadinya radikal bebas pada hewan uji yang diberikan STZ yaitu adanya oksigen yang reaktif dan nitrogen seperti superoksida, hidroksil, hidrogen peroksida, dan periksininitrit yang dimana semuanya akan menyebabkan stress oksidatif. Oksidatif terjadi akibat glukosa mengalami oksidasi sehingga menghasilkan radikal bebas. Pada hewan uji yang diberikan STZ akan terjadi peningkatan kadar glukosa dalam plasma, jumlah lipid, trigliserida, kolesterol dan asam urat. Kemudian efek yang ditimbulkan dari pemberian STZ yaitu penghambatan O-GlcNAcase. O-GlcNAcase yaitu glikosida hidrolase yang berfungsi memecah beta O-linked GlcNAc (N-Asetilglukosamin(O-GlcNAc)) yang berkerja pada sitosol sel beta untuk memodifikasi protein yang lebih baik dan aman, dengan pemberian STZ O-GlcNAcase akan dihambat sehingga akan menghasilkan hyper-O-GlcNAcylation yang dapat menyebabkan kematian sel (Goud, 2015).

## 2.7 Hewan Uji

Tikus putih merupakan hewan uji yang banyak digunakan untuk penelitian. Tikus putih dijadikan sebagai hewan uji dalam penelitian karena memiliki keuntungan seperti perkembangbiakan yang cepat, memiliki ukuran yang lebih besa di bandingkan dengan mencit. Ciri-ciri morfologi dari tikus putih yaitu merupakan tikus albino, memiliki kepala kecil, serta memiliki ekor yang lebih panjang dibandingkan dengan badannya. Tikus putih juga memiliki pertumbuhan yang cepat, memiliki sifat tempramen yang baik, memiliki kemampuan laktasi yang tinggi, serta dapat tahan terhadap arsenik tiroksid. Klasifikasi dari tikus putih yaitu (Akbar, 2010):

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Rodentia
Subordo	: Ordontoceti
Familia	: Muridae

Genus : *Rattus*  
Spesies : *Rattus norvegicus*



Gambar 2.12 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague Dawley

Tikus termasuk hewan yang memiliki sifat poliestrus, dimana memiliki siklus reproduksi yang sangat pendek. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) betina termasuk kedalam mamalia yang mengalami ovulator spontan. Sehingga pada penelitian Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang lebih banyak digunakan yaitu tikus putih jantan. Karena tikus putih betina dapat terjadi ovulasi dipertengahan siklus estrus hal ini di lihat dari kenaikan dari LH ( *luteinizing hormone* ) (Akbar, 2010).

Pemeliharaan hewan uji seperti tikus harus memenuhi persyaratan terhadap suhu, kelembaban, cahaya dan kebisingan. Suhu ruangan untuk hewan uji yang dianjurkan yaitu  $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$ . kemudian untuk kelembaban yang dianjurkan yaitu 30-70%, penerangan pada tempat hewan uji yaitu 12 jam pada kondisi terang 12 jam pada kondisi gelap, lalu pastikan tempat penyimpanan tikus terhindar dari keramaian atau kebisingan. Kandang tikus harus terbuat dari material yang kedap air, kuat, dan mudah dibersihkan. Luas area kadang tikus berat 100-200 gram yang disarankan yaitu  $148,4 \text{ cm}^2$  dan tinggi 17,8 cm. Umur hewan uji yang ideal yaitu antara 6 – 8 minggu (RI, 2005).

## 2.8 *Analysis Of Varian* (ANOVA)

*Analysis Of Varian* (ANOVA) merupakan analisis data untuk mengetahui data sebelum dan sesudah adanya perlakuan. Pada analisis menggunakan ANOVA tingkat kepercayaan dapat diperoleh 95%. Dalam analisis

ini nilai p-value tidak boleh lebih dari 0,05. Maksud dari hal ini yaitu, kesalahan yang boleh diterima dari data yang sudah diolah baik dari membandingkan antara sampel kontrol negatif, kontrol positif, dan kelompok uji tidak boleh dari 5%. Selain itu ada perlunya Pemeriksaan normalitas dan homogenitas untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal atau tidak. Data dapat didistribusi dengan normal dapat menggunakan uji normalitas menggunakan Shapiro Wilk karena sampel kelompok kurang dari 50. Homogenitas varians membandingkan kurva terdistribusi normal atau tidak dari sebuah data. Dua uji homogenitas varians umumnya menggunakan Levene. Uji ANOVA disebut juga skor F, dimana ANOVA merupakan varian data yang nantinya akan menghasilkan skor F. Pada hasil ANOVA akan terdapat Mean Square Within Groups (kesalahan) yang apabila nilai dari Mean Square Within besar maka semakin besar perbedaan antara kelompok. Mean Square Within meningkat maka nilai F lebih kecil. Skor F yang lebih besar akan menghasilkan nilai p lebih rendah. Nilai p lebih rendah dapat dipengaruhi karena jumlah sampel dan jumlah kelompok yang rendah (Sawyer, 2009).

## **2.9 Glukometer**

Glukometer adalah alat yang berfungsi untuk mendeteksi kadar gula dalam darah. Prinsip kerja dari glukometer yaitu menggunakan biosensor. Biosensor merupakan gabungan dari bioreseptor dan transduser. Fungsi dari biosensor yaitu mendeteksi enzim dan jaringan lainnya. Transduser berfungsi sebagai sinyal yang akan menjadi sinyal listrik dan dapat dibaca pada glukometer. Prinsip kerja dari glukometer yaitu darah yang diambil teroksidasi oleh enzim oksidase yang ada di dalam strip alat glukometer yang akan dirubah menjadi glikogen. Pemecahan glukosan menjadi glikogen akan menimbulkan reaksi yang nantinya akan dibaca oleh sensor pada alat akibat adanya elektron yang di timbulkan dari glukometer. Elektron dihasilkan dari banyaknya glukosa yang dalam darah yang teroksidasi menjadi glikogen maka alat glukometer akan membaca dan nilai yang didapatkan tinggi sesuai dengan kadar glukosa dalam darah (Maulidiyanti, 2017).