

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tumbuhan Bandotan (*Agerantum conyzoides* L.)**

##### **1. Klasifikasi Tumbuhan**

Klasifikasi tumbuhan bandotan (*Agerantum conyzoides* L.) berdasarkan Chahal *et al.*, (2021) secara lengkap adalah meliputi:

Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Plantae
Filum	: Spermatophyta
Subfilum	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Subkelas	: Asteridae
Ordo	: Asterales
Famili	: Asteraceae
Genus	: <i>Ageratum</i>
Spesies	: <i>Ageratum conyzoides</i>

##### **2. Nama Lain**

Nama Ilmiah : *Agerantum conyzoides* L.

Nama Daerah : Badotan, tempuyak (Jawa), wedusan, rumput Belanda (Bengkulu), dus bedusan (Madura), jukut bau, rumput tahi babi (Jambi), empedu tanah (Kalimantan Tengah), ki bau (Sunda), buyuk-buyuk (Manado), mbora (Kalimantan Timur), siangur (Batak Angkola-Mandailing), tada-tada (Sulawesi Tengah), sibaubau (Batak Toba) (Silalahi, 2019).

Nama Asing : *Billygoat-weed*, *Chick weed*, *Goatweed*, atau *Whiteweed* dalam bahasa Inggris.

##### **3. Morfologi Tumbuhan**



**Gambar 1. Tumbuhan bandotan**  
Sumber : (Chahal *et al.*, 2021)

Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) tergolong jenis tumbuhan pengganggu (gulma) yang termasuk kedalam famili *Asteraceae* (Silalahi, 2019). Tumbuhan semusim ini berasal dari wilayah tropis di benua Amerika seperti Brasil, hingga tersebar di berbagai negara, khususnya wilayah tropis dan subtropis. Bandotan banyak dijumpai sebagai tumbuhan liar di sawah yang kering, kebun, ladang, pekarangan, pinggir jalan, tepi sungai yang sering terkena sinar matahari (Kotta *et al.*, 2020). Bandotan dapat tumbuh di tanah hingga ketinggian 3.000 meter, dengan bunga yang mekar sepanjang tahun serta mampu memproduksi sampai 40.000 biji pada setiap tumbuhan (Fitmawati & Erwina, 2017).

Bandotan memiliki sifat yang khas yaitu rasanya yang pahit hingga pedas, (Hilaliyah *et al.*, 2021). Tumbuhan beraroma khas mirip seperti bau kambing sehingga banyak orang menamainya sebagai tumbuhan wedusan atau *goatweed* (Bosi *et al.*, 2013). Memiliki akar berwarna coklat kekuningan, berfasikulat, dan berserat yang tumbuh dangkal pada tanah. Batangnya berbentuk silindris berwarna hijau pada tumbuhan yang lebih muda tetapi seiring waktu berubah menjadi sedikit coklat dan keras (Santos *et al.*, 2016) dan tingginya mencapai 120 cm (Fitmawati & Erwina Juliantari, 2017). Daunnya berbentuk bulat lonjong atau mirip belah ketupat dengan pangkal menyerupai bentuk jantung, membulat atau runcing. Lebar daun 5-50 mm dan panjang 20-100 mm dengan ujung daun meruncing dan tepian daun bergerigi, permukaan daun bagian atas dan bagian bawahnya ditutupi bulu halus putih, dengan kelenjar di permukaan bawah daun (Chahal *et al.*, 2021).

Bunga-bunga berjenis kelamin sama bersatu pada kepala bunga (bongkol), yang jumlahnya 4-18 bongkol. Panjang bongkol 6–8 mm dan dapat diisi 60-70 bunga pada setiap bongkol dengan variasi bunga pita yaitu putih, ungu, atau biru muda, dan ditopang oleh tangkai bunga (panjang 50-150 mm; lebar 5 mm) (Bosi *et al.*, 2013). Memiliki buah berupa buah kurung (*achenium*). Bijinya kecil dan berwarna coklat kehitaman.

#### **4. Kandungan Kimia**

Herba bandotan adalah seluruh bagian tumbuhan *Ageratum conyzoides* L. yang tampak di atas tanah dengan kandungan minyak atsiri melebihi 0,20% v/b dan flavonoid total melebihi 0,61% yang dinilai sebagai rutin (FHI, 2017). Studi terhadap *Ageratum conyzoides*

L. telah menemukan adanya berbagai senyawa fitokimia seperti alkaloid, tanin, terpenoid, kromen, kumarin, flavonoid, saponin, glikosida, fenol, dan resin, bersama dengan nutrisi lain seperti asam amino tertentu (esensial dan non-esensial), vitamin (A, B, B2, B6, C, E, tiamin, dan niasin), karbohidrat, dan bentuk pereduksinya. Selain itu, ditemukan keberadaan berbagai macam fitokonstituen dalam minyak esensialherba *Agerantum conyzoides* L. sebagai benzofuran (*precocene* I, *precocene* II, dan dimer ageratokromen), kumarin, kromen, flavonoid (kamferol, kuersetin, kuersetin-3-ramnopiranosida), alkaloid (asam kafeat, *echinatine*, fitol, dan alkaloidpirolizidin), sterol (stigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, dan friedelin), terpen ( $\alpha$ - pinen,  $\beta$ -pinen), dan eugenol yang konsentrasinya bervariasi antara tumbuhan bandotan di satu tempat dengan tempat yang lainnya (Chahal *et al.*, 2021).

## **5. Manfaat Tumbuhan**

Bandotan memiliki banyak khasiat yang bermanfaat di dunia kesehatan. Bagian yang dimanfaatkan yaitu bagian bunga, daun, dan akarnya. Herba yang dipakai bisa berbentuk herba segar maupun bentuk simplisianya. Bandotan berkhasiat sebagai stimulan, tonik, mengikis pembengkakan, menghentikan pendarahan, pereda demam, peluruh haid (hemenagog), racun (antitoksin), bau kentut, serta peluruh bau kencing. Maka tidak heran jika bandotan digunakan oleh banyak orang untuk mengobati rematik, menghilangkan bengkak akibat keseleo, radang tenggorokan, sedangkan akarnya digunakan dalam menurunkan demam (Suriana, 2013).

Menurut penelitian Silalahi (2014) masyarakat suku Batak di Sumatera Utara juga menggunakan bandotan untuk mengatasi malaria karena dikenal sebagai tumbuhan yang sangat pahit (Silalahi, 2014). Daun bandotan yang diekstraksi menggunakan pelarut air, metanol serta n-hexana mempunyai aktivitas antiplasmodial dimana dipakai untuk pengobatan malaria dan juga mengobati bisul serta penurunan demam. Secara tradisional, bandotan banyak dimanfaatkan untuk mengobati bermacam penyakit, akan tetapi yang sudah diuji ilmiah bioaktivitas yang terkandung dalam bandotan antara lain menjadi anti-histamin, anti-mikroba, anti-plasmodial, sitoprotektif, analgesik, antioksidan serta antidiabetes (Silalahi, 2019).

## B. Simplisia

### 1. Pengertian Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang sudah mengalami prosedur pengeringan serta belum diolah serta dapat digunakan dalam pengobatan tradisional. Simplis juga diartikan sebagai bahan alam yang dipakai menjadi obat serta belum diolah, kecuali dinyatakan lain, sebagai bahan alam yang sudah dikeringkan. Pengeringan dilaksanakan melalui proses menjemur di bawah sinar matahari langsung, ventilasi maupun di dalam oven, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan di bawah 60°C. Sumber simplisia dapat berupa simplisia tumbuhan, hewan, pelikan atau mineral (Depkes RI, 2008).

Simplisia nabati merupakan simplisia yang berasal dari tumbuhan baik utuh, bagian dari tanaman (akar atau rimpang, batang, daun, buah, bunga, biji), serta eksudat yang merupakan isi sel yang keluar dengan alami maupun melalui proses khusus dari tanaman dan dipisahkan dari tanaman. Simplisia hewani yaitu simplisia yang berasal dari hewan baik utuh, bagian dari tubuh hewan, maupun zat-zat yang diproduksi oleh hewan yang memiliki manfaat. Simplisia pelikan maupun mineral yaitu simplisia yang bersumber pada bahan mineral belum diolah maupun sudah melewati proses pengolahan sederhana, namun belum ada zat kimia murninya (Agoes, 2009).

### 2. Tahap Penyiapan Simplisia

**2.1 Pengumpulan Bahan Baku.** Pengumpulan bahan baku merupakan kegiatan memanen bagian dari tanaman dengan cara dipetik dari tanaman tersebut dan dikumpulkan dalam suatu wadah. Panen biasanya dilakukan dengan tangan kosong atau menggunakan alat bantu seperti gunting stek, sabit atau pisau, dan mesin. Waktu panen berkaitan pada produksi senyawa aktif dalam bagian tanaman yang hendak dipanen. Waktu panen dikatakan tepat jika bagian tanaman yang dipanen memiliki kandungan senyawa aktif yang besar. Kadar senyawa aktif pada simplisia bergantung di bagian dari tanaman yang dijadikan simplisia, usia siap panen tanaman, waktu pemanenan, dan lingkungan tanaman tersebut tumbuh (Kementerian Pertanian RI, 2011).

**2.2 Sortasi Basah.** Sortasi basah merupakan proses seleksi awal yang bertujuan untuk memisahkan bagian tanaman agar sesuai dengan kebutuhan dan persyaratan, bebas dari benda pengotor atau benda asing misalnya kerikil, tanah, rumput, akar, batang, daun rusak,

serta pengotor lain yang harus disingkirkan. Pemisahan bahan baku simplisia dari kotoran agar menghasilkan kualitas bahan baku yang baik sekaligus mempermudah proses pengolahan selanjutnya (Depkes RI, 2008). Menjaga kebersihan bahan awal yang dipanen adalah syarat mutlak yang harus dilakukan secara teliti dan cermat (Parfati *et al.*, 2018).

**2.3 Pencucian.** Proses pencucian dilaksanakan untuk menghilangkan benda pengotor yang menempel di bahan baku simplisia. Pencucian dilakukan memakai air bersih, misalnya air dari sumber mata air, air dari sumur maupun air PAM. Zat yang mudah terbawa air yang mengalir pada bahan simplisia dilaksanakan pencucian pada waktu yang singkat (Depkes RI, 2008). Ketika pencucian berlangsung, bahan dibolak-balik untuk menghilangkan kotoran yang menempel atau terbawa pada bahan simplisia (Ningsih, 2016). Pencucian direplikasi setidaknya 3 kali hingga air yang dipakai untuk pencucian jernih (Kementerian Pertanian RI, 2011).

**2.4 Perajangan.** Perajangan adalah kegiatan memperkecil ukuran simplisia atau merubah bentuk simplisia memakai peralatan maupun mesin dengan jenis serta kriteria menurut dengan sifat dan bentuk simplisia (Kementerian Pertanian RI, 2011). Beberapa jenis simplisia harus menjalani proses perajangan tujuannya untuk menyingkat proses pengeringan. Proses perajangan dilakukan menggunakan pisau atau mesin pemotong khusus sehingga menghasilkan potongan simplisia dengan ukuran yang sama dan disesuaikan dengan kebutuhan (Depkes RI, 2008). Perajangan yang tidak tepat pada simplisia bisa mengakibatkan peningkatan penguapan senyawa volatil (Kementerian Pertanian RI, 2011).

**2.5 Pengeringan.** Kegiatan pengeringan mempunyai maksud untuk meminimalkan kadar air pada simplisia untuk menjaga kualitas simplisia agar tidak mudah ditumbuhi mikroba serta memiliki usia simpan yang lebih lama. Kadar air yang sedikit mampu menghambat reaksi enzimatik sehingga mencegah penurunan kualitas simplisia. Kandungan air pada simplisia pada kadar tertentu bisa menjadi medium pertumbuhan kapang dan jamur. Bersumber hasil riset yang dilaksanakan, dapat dipahami bahwa respon enzimatik dalam simplisia tidak berjalan jika kadar airnya di bawah 10%. Adanya proses pengeringan sudah bisa menghambat proses enzimatik yang bisa menurunkan kualitas simplisia (Parfati *et al.*, 2018). Proses

pengeringan dilakukan dengan memanfaatkan sinar matahari, pengeringan dengan angin, maupun memakai oven, dengan suhu pengeringan tidak lebih dari 60°C (Depkes RI, 2008). Penjemuran dengan cahaya matahari perlu ditutup kain hitam (proses pelayuan) supaya menghasilkan warna simplisia yang lebih tajam. Suhu pengeringan yang ideal adalah maksimal 50°C dengan tinggi tumpukan tidak lebih dari 4 cm. Pengeringan dapat juga dilakukan menggunakan alat pengering bertenaga sinar matahari (*solar dryer*) atau dengan mesin pengering (*tray dryer*) (Kementerian Pertanian RI, 2011).

**2.6 Sortasi Kering.** Sortasi setelah proses pengeringan adalah tahap terakhir pengolahan simplisia. Kegiatan sortasi kering dilakukan untuk memastikan simplisia sudah bebas dari benda asing yang masih tertinggal dari proses sebelumnya (Ningsih, 2016). Pada sortasi kering juga dilakukan pemisahan simplisia berdasarkan ukuran. Proses ini biasanya dilakukan sebelum simplisia dikemas (Agoes, 2009).

**2.7 Penyimpanan.** Simpisia yang telah selesai dikemas selanjutnya disimpan di tempat yang tidak terpapar matahari pada suhu ruang. Penyebab utama kerusakan dari simplisia adalah air dan udara yang lembab. Simplisia yang mempunyai sifat mudah menyerap air sebaiknya diletakkan dalam ruangan berbeda dengan wadah tertutup rapat (Depkes RI, 2008).

## C. Ekstraksi

### 1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi dimbil dari bahasa latin *extractio* atau *extrahere* yang memiliki arti menarik keluar. Zat yg ditarik bisa berupa senyawa aktif dari tanaman atau hewan. Ekstraksi merupakan proses penarikan suatu zat atau solut dari cairan asal atau padatan ke dalam pelarut tertentu. Proses pemisahan pada ekstraksi berdasar pada perbedaan kemampuan melarutnya komponen-komponen yang ada dalam campuran. Secara umum ekstraksi dibedakan menjadi dua macam, yaitu ekstraksi padat-cair (*leaching*) dan ekstraksi cair-cair (Aji *et al.*, 2018). Tujuan dari ekstraksi adalah untuk memperoleh jumlah maksimum senyawa dengan kualitas setinggi mungkin (Ecem Bayram & Can Gercek, 2019).

### 2. Pengertian Ekstrak

Berdasarkan Farmakope Indonesia Edisi IV (Depkes RI, 1995), ekstrak adalah larutan kental yang didapat melalui ekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati ataupun hewani dengan pelarut yang sesuai,

kemudian seluruh pelarut akan diuapkan dan massa atau zat padat yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga kriteria baku yang telah dipersyaratkan terpenuhi. Ekstrak kental atau ekstrak setengah padat adalah ekstrak yang memiliki kekentalan di antara ekstrak cair dan ekstrak kering. Ekstrak kental dihasilkan dari penguapan pelarut yang dapat berupa air, alkohol, atau campuran hidroalkohol yang digunakan pada proses ekstraksi.

### **3. Metode Ekstraksi (Maserasi)**

Maserasi adalah metode ekstraksi padat-cair (*leaching*) cara dingin karena tidak mengalami proses pemanasan menggunakan pelarut yang sesuai disertai pengadukan beberapa kali pada suhu ruangan. Ekstraksi maserasi dilakukan dengan merendam bahan pada pelarut dengan sesekali dilakukan pengadukan (Depkes RI, 2000). Pada prosesnya, perendaman dilakukan tidak kurang dari 24 jam, kemudian dilakukan maserasi ulang dengan pelarut baru. Maserasi juga dapat dilakukan pengadukan yang kontinu (maserasi kinetik). Metode ini cocok digunakan pada senyawa kimia tumbuhan yang mudah menguap atau termolabil (Julianto, 2019). Beberapa kelemahan metode ini yaitu membutuhkan waktu ekstraksi yang lama, pelarut yang dibutuhkan banyak, dan ada beberapa senyawa tertentu tidak bisa diekstrak disebabkan kelarutannya pada suhu ruang yang rendah (Sarker *et al.*, 2006).

### **4. Pelarut**

Pelarut adalah media ekstraksi berupa cairan yang digunakan untuk melangsungkan ekstraksi. Pelarut yang dipakai dalam ekstraksi memiliki syarat utama yaitu mampu melarutkan solut yang ada dalam padatan inert (Aji *et al.*, 2018). Diperlukan pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi, karena pelarut yang digunakan harus mampu mengekstraksi substansi yang dibutuhkan tanpa adanya zat-zat lain yang tidak diperlukan ikut terlarut (Kurniawan *et al.*, 2017). Pada proses ekstraksi dibutuhkan pelarut yang mampu melarutkan kandungan senyawa aktif yang berkhasiat secara optimal, dengan begitu senyawa aktif akan terpisah dari bahan dan kandungan senyawa yang lain, serta ekstrak yang dihasilkan hanya mengandung senyawa yang diinginkan (Depkes RI, 2000). Terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan agar tercapai kondisi ekstraksi yang optimal antara lain senyawa mampu terlarut dalam waktu singkat, pelarut memiliki selektivitas dalam melarutkan senyawa yang diinginkan, ekstraksi akan lebih mudah bila

konsentrasi senyawa analit semakin tinggi, serta tersedia metode untuk memisahkan kembali senyawa analit dari pelarut pengestraksi (Gamse, 2002). Cairan penyari dibedakan berdasarkan sifatnya yaitu pelarut polar, semi-polar dan non-polar. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%. Etanol dianggap sebagai pelarut yang lebih selektif, jamur dan bakteri tidak dapat tumbuh dalam etanol dengan konsentrasi lebih dari 70%, tidak beracun dan dengan daya serap yang baik. Etanol dapat melarutkan senyawa seperti tanin, flavonoid, alkaloid dasar, saponin, steroid, antrakuinon dan glikosida (Depkes RI, 2000).

#### **D. Identifikasi Senyawa dengan Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi lapis tipis (KLT), terdiri atas dua fase yaitu fase dan (absorben) dan fase gerak (eluen). Prinsip metode KLT yaitu campuran dipisahkan berdasarkan kelarutannya pada fase gerak, fase gerak dapat berbentuk fase gerak kombinasi atau fase gerak tunggal dari beberapa macam pelarut. KLT banyak digunakan sebagai teknik analisis dibandingkan metode preparatif (Wulandari, 2011).

Hubungan antara jarak yang ditempuh oleh fase gerak dan titik bercak disimbolkan oleh nilai  $R_f$  (Wulandari, 2011). Bercak berwarna yang muncul dapat diamati secara langsung, namun jika bercak tidak berwarna dapat dilakukan deteksi bercak di bawah sinar UV, penguapan dengan yodium, atau penyemprotan reagen tertentu yang bereaksi dengan satu atau lebih komponen sampel (Wulandari, 2011).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa yang diteliti}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Pada fase diam, silika gel dengan campuran fosfor anorganik berfluoresensi hijau jika dilihat di bawah sinar UV 254, dan ketika banyak komponen berada dalam fase diam, fluoresensi noda muncul jika dilihat di bawah sinar UV 366 (Wulandari, 2011).

### **E. Diabetes Melitus**

#### **1. Definisi**

Diabetes adalah suatu kondisi dimana kadar gula darah berada di atas kadar normal (hiperglikemia), yaitu  $\geq 200$  mg/dL saat pemeriksaan glukosa darah atau  $\geq 126$  mg/dL saat puasa, meningkatnya kadar glukosa karena terjadi penurunan insulin atau gangguan fungsi insulin (Larantukan *et al.*, 2014). Menurut ADA (2016), diabetes



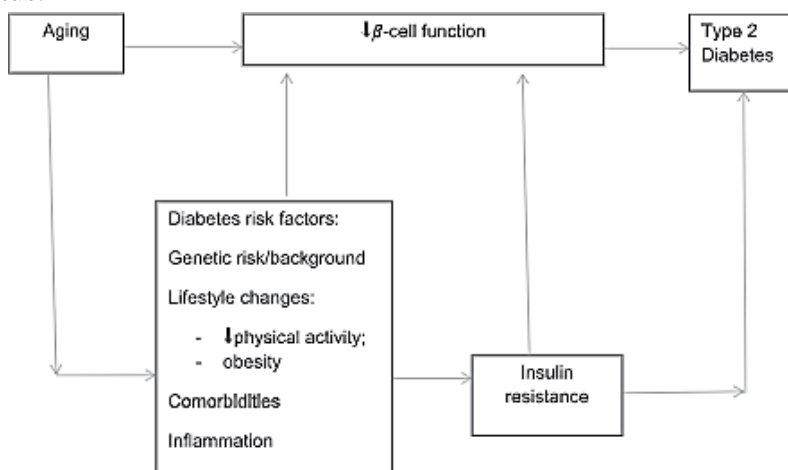
adalah kumpulan gangguan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia akibat gangguan sekresi dan kerja insulin. Kondisi hiperglikemik kronis berhubungan dengan kerusakan jangka panjang pada sel  $\beta$  pankreas, disfungsi berbagai organ vital, termasuk mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah, serta gangguan endokrin. Pada 2017, *International diabetes Federation* memperkirakan bahwa 425 juta orang berusia antara 20 dan 79 tahun menderita diabetes. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat menjadi 629 juta pada tahun 2045. Diabetes secara klinis dibagi menjadi tipe 1 dan tipe 2. Diabetes tipe 2 adalah penyakit diabetes yang paling umum, terhitung sekitar 90% dari semua kasus diabetes melitus (IDF, 2017). Sebagian besar gejala diabetes ditandai dengan kondisi hiperglikemia, resistensi insulin dan defisiensi relatif insulin. Penderita diabetes melitus tipe 2 umumnya adalah orang dewasa, namun saat ini mulai ditemukan pada anak-anak dengan usia 12-16 tahun dan wanita mempunyai resiko lebih tinggi dibandingkan pria (Prawitasari, 2019). Prevalensi diabetes melitus tipe 1 di Indonesia belum diketahui jumlah yang pasti karena kejadiannya jarang dijumpai dan tidak dipengaruhi oleh genetik, tetapi juga karena diagnosis diabetes melitus tipe 1 yang terlambat sehingga penderita sudah meninggal karena adanya komplikasi sebelum didiagnosis (Khoiroh, 2017).

## **2. Klasifikasi Diabetes**

Berdasarkan etiologinya diabetes melitus dilasifikasikan menjadi diabetes melitus tipe 1, diabetes melitus tipe 2, diabetes tipe lain dan diabetes Gestasional. Diabetes Melitus tipe 1 disebabkan karena adanya destruksi sel  $\beta$  pankreas yang mengerucut kepada defisiensi absolut autoimun, idiopatik, dan ditandai dengan hormon insulin yang sedikit bahkan tidak ada akibat gangguan pada kelenjar pankreas (Larantukan *et al.*, 2014). Sedangkan pada diabetes melitus tipe 2 terjadi karena jumlah hormon insulin yang disekresikan normal akan tetapi jumlah reseptor insulin yang terdapat pada permukaan sel kurang sehingga terjadi gangguan sekresi insulin bersamaan dengan resistensi insulin. Diabetes Melitus tipe lain terjadi karena ada kelainan genetik fungsi sel  $\beta$  pankreas, tepatnya pada kromosom 12 (HNF- 1 $\alpha$ ) dan kromosom 7 (glukokinase). Diabetes tipe Gestasional merupakan faktor risiko untuk diabetes melitus tipe 2 namun kasusnya hanya ditemui pada masa kehamilan dan akan kembali normal setelah melahirkan (Larantukan *et al.*, 2014).

### 3. Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2

Diabetes melitus tipe 2 disebabkan oleh resistensi insulin pada sel  $\beta$ -pankreas, dengan atau tanpa defisiensi insulin yang akan menjadi penyebab disfungsi organ vital pada tubuh (Putri & Waluyo, 2019). Sejauh ini, diabetes melitus tipe 2 merupakan bentuk diabetes yang paling umum pada orang dewasa dan merupakan gangguan metabolisme yang dipengaruhi oleh usia. Kriteria untuk mendiagnosis diabetes adalah sama untuk semua kelompok umur karena risiko komplikasi terkait diabetes dikaitkan dengan hiperglikemia dari waktu ke waktu di semua kelompok umur. Orang dewasa dengan usia senja berada pada risiko tinggi untuk perkembangan diabetes melitus tipe 2 karena disertai dengan pengaruh genetik, gaya hidup, dan penuaan. Faktor-faktor tersebut berkontribusi pada munculnya hiperglikemia kronik akibat menurunnya kapasitas pada proses sekresi insulin dan gangguan pada sensitivitas jaringan terhadap insulin. Kejadian diabetes melitus tipe 2 pada orang dewasa juga diperparah oleh faktor komorbid dan gangguan fungsional yang terkait dengan penuaan. Frekuensi hiperglikemia meningkat pada diabetes tipe 2 saat terjadi ketimpangan produksi glukosa (produksi glukosa selama puasa) dan asupan glukosa (konsumsi makanan) yang berlawanan dengan penyerapan glukosa yang distimulasi insulin di jaringan target, terutama otot rangka. Hiperglikemia kronik yang terjadi sebelum diagnosis ditegakkan dapat menimbulkan kondisi stres oksidatif dan menurunkan enzim antioksidan sehingga berakibat pada disfungsi endotelia dan komplikasi diabetes melitus.



**Gambar 2. Faktor penyebab ketidakseimbangan regulasi glukosa pada orang dewasa**

Sumber : (Lee & Halter, 2017)

#### **4. Terapi Penyakit Diabetes Melitus**

Terapi yang diberikan kepada penderita diabetes bisa berupa terapi non- farmakologi dan farmakologi. Manifestasi terapi non-farmakologi yaitu dengan melakukan program diet, konsumsi makanan rendah lemak jenuh dan jumlah karbohidrat yang tidak berlebihan serta berolahraga. Hal tersebut memiliki tujuan untuk mengembalikan sensitivitas insulin secara alami sehingga mampu mengatur kadar gula darah (Wells *et al.*, 2015).

Pelaksanaan terapi farmakologi dilakukan dengan memberikan pengobatan kepada penderita diabetes melitus tipe 1 dan diabetes melitus tipe 2 dengan tujuan untuk menurunkan kadar gula darah dan mencegah perkembangan penyakit diabetes. Terapi farmakologi dengan pemberian obat dapat berupa obat hipoglikemik oral ataupun insulin. Obat hipoglikemik oral terdiri dari beberapa golongan, yaitu golongan biguanid, sulfonilurea, inhibitor alfa glukosidase, tiazolidindion, dan meglitinide.

Glibenclamid adalah obat diabetes melitus tipe 2 golongan sulfonilurea generasi pertama. mekanisme kerja Glibenclamid dalam menekan kadar glukosa yaitu dengan meningkatkan kapasitas sekresi insulin dari sel beta pankreas (Wells *et al.*, 2015). Pada penderita diabetes tipe 2, tubuh tidak mampu memetabolisme dan menyimpan glukosa dengan baik sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa dalam darah. Glibenclamid bekerja dengan merangsang tubuh untuk memproduksi insulin lebih banyak dari biasanya agar dapat mengikat dan memetabolime glukosa dalam darah (Zahra, 2021).

Glibenclamid juga mampu meningkatkan aktivitas antioksidan dengan mempercepat produksi antioksidan endogen dan menghilangkan parameter stres oksidatif dengan menurunkan peroksidasi lipid sehingga kadar malondialdehid berkurang (Bayani *et al.*, 2017). Pemberian Glibenclamid menunjukkan nilai signifikan terhadap penurunan stres oksidatif melalui peningkatan katalase (CAT) di hati serta aktivitas SOD di hati dan ginjal (Abdel- Haleem *et al.*, 2017).

#### **F. Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah molekul atom yang terdiri dari satu atau lebih elektron tunggal di orbit terluarnya (Clarkson & Thompson, 2000). Radikal bebas awalnya tidak berpasangan dalam periode waktu

yang singkat sebelum mengikat atom lain. Banyak radikal bebas yang membentuk interaksi secara cepat dengan atom lain yang tidak berpasangan untuk mengisi orbitnya. Simbol radikal bebas digambarkan dengan sebuah titik yang berada setelah simbol atom ( $R\bullet$ ). Radikal bebas menginduksi kerusakan sel dengan melepaskan elektron yang tidak berpasangan mengakibatkan oksidasi komponen sel dan molekul (Bansal & Bilaspuri, 2011).

ROS (*Reactive Oxygen Species*) adalah senyawa oksidan turunan oksigen yang sangat reaktif, terdiri dari golongan radikal bebas dan non radikal. Golongan radikal bebas berupa *superoxide anion* ( $O_2^-$ ), *hydroxyl radicals* ( $OH\bullet$ ), dan *peroxyl radicals* ( $OOH\bullet$ ) dan nonradikal misalnya *hydrogen peroxide* ( $H_2O_2$ ), dan *organic peroxides* ( $ROOH$ ) (Cooper *et al.*, 2002).

Radikal bebas terbentuk dalam tubuh melalui proses metabolik oksidatif di mitokondria untuk menghasilkan energi (Cooper *et al.*, 2002). Pada kondisi normal, reaksi pembentukan radikal bebas berjalan lambat, 5% dari konsumsi oksigen akan digunakan untuk membentuk radikal bebas yang akan dinetralisir oleh antioksidan yang ada dalam tubuh.

## G. Stres Oksidatif

### 1. Stres Oksidatif pada Diabetes

Stres oksidatif adalah kondisi tidak seimbangnya jumlah radikal bebas dan antioksidan yang disebabkan oleh dua kondisi umum yaitu sedikitnya antioksidan dan tingginya produksi radikal bebas (Harahap, 2014). Stres oksidatif juga memainkan peran penting dalam perkembangan komplikasi vaskular pada diabetes tipe 2 (Pham-Huy, 2008). Peningkatan stres oksidatif biasanya disertai dengan peningkatan produksi radikal bebas atau gangguan pertahanan antioksidan. Ada banyak bukti yang menunjukkan bahwa stres oksidatif yang disebabkan oleh hiperglikemia yang akhirnya mengakibatkan resistensi insulin, disfungsi sel, dan komplikasi DM (Soares *et al.*, 2012). Meningkatnya kadar ROS pada kondisi diabetes dapat disebabkan karena penurunan penghancuran atau peningkatan produksi oleh katalase (CAT—enzimatik/non-enzimatik), *superoksida dismutase* (SOD) dan *glutathione peroksidase* (GPx) antioksidan. Variasi tingkat enzim tersebut menjadikan jaringan lebih rentan terhadap serangan stres oksidatif yang mempercepat perkembangan komplikasi diabetes

(Lipinski, 2001). Secara epidemiologi, kematian karena penyakit diabetes dapat dijelaskan melalui peningkatan penyakit kardiovaskular selain hiperglikemia (Pham-Huy, 2008).

## **2. Patofisiologi Stres Oksidatif pada Diabetes**

Pada kondisi diabetes pembentukan radikal bebas diinisiasi oleh aktivitas non-enzimatik glikasi protein, oksidasi glukosa dan peningkatan lipid peroksidasi menyebabkan kerusakan enzim dan mekanisme seluler dan juga meningkatkan resistensi insulin karena stres oksidatif (Maritim *et al.*, 2003). Tidak hanya lipid tetapi juga komponen apolipoprotein LDL yang membentuk agregat tidak larut secara oksidatif karena ikatan silang yang diinduksi radikal hidroksil antara monomer apo-B yang bertanggung jawab atas kerusakan oksidatif pada komplikasi diabetes (Pham-Huy, 2008). Pada diabetes melitus, sumber utama stres oksidatif adalah mitokondria. Selama metabolisme oksidatif di mitokondria, komponen oksigen yang digunakan direduksi menjadi air dan oksigen yang tersisa diubah menjadi radikal bebas oksigen ( $O\bullet$ ) yang merupakan ROS yang diubah menjadi spesies reaktif lain seperti  $ONOO^-$ ,  $OH$  dan  $H_2O_2$  (Moussa, 2008).

Aktivitas insulin dimodulasi oleh ROS melalui dua cara. Di satu sisi, sebagai respons terhadap insulin, ROS diproduksi untuk menjalankan fungsi fisiologisnya secara penuh dan di sisi lain, ROS memiliki regulasi negatif pada aktivitas insulin dan menyebabkan peningkatan resistensi insulin yang merupakan faktor risiko untuk diabetes tipe 2 (Erejuwa, 2012).

## **3. Peroksidasi Lipid**

Radikal bebas terbentuk dari banyak sumber, salah satunya berasal dari luar tubuh yaitu akibat konsumsi lemak yang berlebihan. Apabila dikonsumsi dalam jumlah banyak akan menimbulkan stres oksidatif. Pada kondisi tersebut akan terbentuk juga *reactive oxygen species* (ROS) yang terbentuk dari radikal bebas dan derivatnya seperti  $O_2^-$ ,  $OH$  dan  $H_2O_2$  (Buyukbas *et al.*, 2008). Pada dasarnya, stres oksidatif terjadi karena jumlah radikal bebas dan antioksidan yang tidak seimbang yang akan mengambil peran dalam perusakan sel dan merangsang peroksidasi lipid yang dipecah dan menghasilkan produk akhir dalam darah berupa malondialdehid (MDA) (Rahardjani, 2010). Peroksidasi lipid melalui stimulasi stres oksidatif tidak hanya berperan

dalam pembusukan makanan tetapi juga dalam kerusakan jaringan *in vivo*. Peroksidasi juga memicu penyakit seperti aterosklerosis, peradangan dan penuaan. Efek berbahaya ini juga disebabkan oleh radikal bebas yang terbentuk ketika peroksida terbentuk dari asam lemak dengan ikatan rangkap yang bercampur dengan radikal bebas metilen dan asam lemak yang terdapat dalam asam lemak tak jenuh.

#### **4. Malondialdehid (MDA)**

Malondialdehid merupakan produk peroksidasi asam lemak rantai panjang yang melonjak saat berlangsungnya proses peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid akan terdekomposisi menjadi malondialdehid. Malondialdehid tersebut menjadi produk akhir proses peroksidasi lipid dan kerap dipakai sebagai marker peroksidasi lipid (Yusuf, 2013). Malondialdehid merupakan suatu struktur solid yang stabil saat kondisi netral, namun tidak saat kondisinya asam. Umumnya zat tersebut diproduksi serta digunakan dalam jumlah yang kecil pada kegiatan penelitian. Secara alamiah, malondialdehid ditemukan pada jaringan manusia dan hewan sebagai produk akhir dari peroksidasi lipid. Zat ini juga sebagai produk samping dari biosintesis tromboksan dan prostaglandin. Malondialdehid juga dijumpai pada sel darah yaitu dalam trombosit dan plasma (Yusuf, 2013).

Kondisi stres oksidatif akan timbul bila kadar radikal bebas dalam tubuh lebih besar dibanding antioksidan. Malondialdehid sebagai salah satu parameter stres oksidatif dapat digunakan untuk mengukur stres oksidatif dalam tubuh, dimana semakin tinggi kadar malondialdehid dalam darah maka semakin berat tingkat stres oksidatif yang terjadi dalam sel-sel tubuh (Valko, 2006). Pada kasus tingginya stres oksidatif, terjadi peningkatan kadar malondialdehid plasma secara signifikan dan bila keadaan tersebut dapat diatasi, maka kadar malondialdehid akan kembali menurun (Papas, 1999).

#### **5. Peran MDA pada Diabetes Melitus Tipe 2**

Salah satu sumber terjadinya stres oksidatif pada diabetes melitus adalah pembentukan lipid peroksida dan akumulasi produk-produknya (Moussa, 2008). Mekanisme yang berkontribusi terhadap terbentuknya lipid peroksida pada diabetes melitus adalah hiperglikemia yang menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi non-enzimatik antara protein dan lemak, peningkatan aktivitas jalur poliol sorbitol, oksidasi antara AGE dan siklooksigenase yang bergantung pada pembentukan prostaglandin H<sub>2</sub> (PGH<sub>2</sub>) (Gordon *et al.*, 2012).

Kadar lipid peroksida dalam tubuh dapat diukur melalui produk akhirnya yang stabil yaitu malondialdehid (MDA). Peningkatan kadar malondialdehid akan mengganggu membran dan organel sel serta menginduksi terjadinya atherosklerosis dan komplikasi mikrovaskuler pada diabetes melitus tipe 2 (Kumawatet *et al.*, 2012).

## H. Antioksidan

### 1. Pengertian

Antioksidan adalah suatu molekul kima yang mampu menyalurkan satu atau lebih elektron, sehingga bisa mencegah terjadinya reaksi radikal bebas pada peroksidasi lipid (Turisman, 2012). Antioksidan merupakan substansi vital yang mampu memproteksi tubuh dari paparan radikal bebas melalui netralisasi dampak negatifnya. Beberapa jenis antioksidan antara lain antioksidan enzimatis dan non enzimatis.

**1.1. Antioksidan Enzimatis.** Antioksidan enzimatis atau antioksidan endogen adalah antioksidan yang berasal dari dalam tubuh, yang tergolong didalamnya adalah enzim *superoksida dismutase* (SOD), katalase, *glutation peroksidase* (GPx), serta *glutation reduktase* (GRx) (Mates & Jimenez, 1999; Tuminah, 2000). Antioksidan enzimatis seperti SOD bersama-sama vitamin E menghilangkan radikal bebas superoksida sehingga mencegah peroksidasi hidrogen dan peroksidasi lipid (Ozkaya, *et al.*, 2008). Pada tubuh yang sehat, radikal bebas dan antioksidan berada dalam kadar yang seimbang. Apabila keseimbangan ini terganggu dan bergeser karena meningkatnya radikal bebas maka terjadi peningkatan beban stres oksidatif. Stres oksidatif terjadi akibat prooksidan (*free radical*) dan kemampuan *scavenger* tubuh (*body's scavenging ability*) atau antioksidan yang tidak seimbang (Agarwal *et al.*, 2005). Enzim katalase dan *glutation peroksidase* bekerja dengan memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  sedangkan SOD bekerja melalui katalisis reaksi dismutasi dari radikal anion superoksida menjadi  $H_2O_2$  (Langseth L, 1995; Winarsi, 2007).

**1.2. Antioksidan Non-enzimatis.** Antioksidan non-enzimatis merupakan antioksidan eksogen yang bersifat preventif yaitu mencegah terbentuknya spesies oksigen reaktif dengan cara mengkhelat logam atau merusak pembentukannya (Winarsi, 2007). Antioksidan non-enzimatis dapat berupa komponen dari makanan seperti sayuran, buah-buahan dan rempah-rempah. Contoh senyawa antioksidan yang

terdapat pada buah-buahan, sayuran, serta rempah-rempah antara lain vitamin E, vitamin C, flavonoid,  $\beta$ -karoten, flavon, isoflavon, katekin, antosianin, serta isokechin (Kahkonen, *et al.*, 1999). Fitokimia ini mampu melindungi sel dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas.

Antioksidan diklasifikasikan menjadi 3 golongan berdasarkan mekanisme kerjanya (Sayuti, 2015):

Antioksidan primer : molekul antioksidan bekerja mencegah pembentukan reaksi baru radikal bebas dengan lipid dengan cara mengurangi molekul radikal bebas sehingga memutus reaksi berantai radikal bebas dengan radikal lipid dan menjadikannya molekul yang lebih stabil (Prayoga, 2015). Contoh dari antioksidan ini antara lain *superoksida dismutase* (SOD), *glutathion peroksidase* (GPx), dan *catalase* (CAT).

Antioksidan sekunder : molekul antioksidan berperan sebagai pertahanan preventif dengan memotong reaksi oksidasi berantai radikal bebas, sehingga molekul radikal bebas tidak bisa berikatan dengan komponen seluler. Contoh : vitamin C, vitamin E, flavonoid, dan  $\beta$ -karoten.

Antioksidan tersier : molekul antioksidan berfungsi untuk memperbaiki biomolekuler yang rusak akibat dari reaktifitas radikal bebas, sehingga disebut juga sebagai antioksidan *repaired*. Contoh : *methionine sulfoksida reductase*.

## **2. Flavonoid Sebagai Antioksidan**

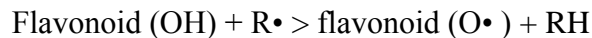
Setiap gugus pada flavonoid memiliki kemampuan yang cukup baik sebagai antioksidan. Gugus flavon dan katekin memiliki aktivitas yang besar untuk melindungi tubuh dari paparan radikal bebas pada pemutusan rantai peroksid. Flavonoid memiliki mekanisme lain dalam mencegah oksidasi yaitu melalui pengkelatan ion logam serta menghentikan reaksi *Fenton* dan *Haber-Weis* yang menjadi sumber radikal bebas oksigen.

Senyawa flavonoid juga memiliki efek tambahan dalam menghilangkan radikal bebas. Flavonoid dapat meningkatkan efek antioksidan endogen yang bekerja pada tiga sistem pembentukan radikal bebas yang berbeda, seperti dijelaskan di bawah ini:

**2.1 Pembersihan radikal secara langsung.** Flavonoid dapat mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas. Mengikat radikal bebas secara langsung dengan flavonoid menciptakan zat yang lebih stabil



untuk menstabilkan ROS dalam reaksi berikut:



R• melambangkan radikal bebas dan O• mewakili radikal bebas oksigen. Flavonoid dapat secara langsung menarik superoksida dan dengan cepat menangkap oksigen reaktif peroksinitrit. Epicatechin dan rutin adalah pembersih radikal terkuat dengan kelompok rutin yang menghambat aktivitas xantin oksidase. Pembersihan radikal flavonoid juga menghambat oksidasi LDL dalam perkembangan aterosklerosis in vitro.

**2.2 Nitrit Oksida.** *Quercetin* dalam flavonoid juga dapat mencegah kerusakan setelah reperfusi iskemik dengan menginduksi aktivitas nitrit oksida sintase. Nitrat oksida diproduksi oleh beberapa jenis sel seperti sel endotel dan makrofag. Tingginya konsentrasi nitrit oksida yang terkandung dalam makrofag dapat menyebabkan kerusakan oksidatif. Peningkatan aktivasi makrofag secara bersamaan meningkatkan produksi oksida nitrat dan anion superoksida. Oksida nitrat yang bereaksi dengan radikal bebas menyebabkan kerusakan peroksinitril yang lebih parah. Nitrat oksida dengan cepat menghancurkan bagian dari jalur peroksinitril karena peroksinitril dapat langsung mengoksidasi LDL dan menyebabkan kerusakan permanen pada membran sel. Menggunakan flavonoid sebagai antioksidan secara efektif membersihkan radikal bebas dari oksida nitrat, sehingga dapat melindungi sel dari kerusakan.

**2.3 Xantin oksidase.** Jalur *xantin oksidase* merupakan jalur terpenting pada kerusakan jaringan oksidatif, terutama sesudah reperfusi iskemik. Kedua enzim xanthine dehydrogenase dan xanthine oxidase mengkatalisis konversi xanthine menjadi asam urat. Xanthine dehydrogenase adalah bentuk enzim yang ada dalam kondisi fisiologis, tetapi konfigurasi strukturnya berubah menjadi xanthine oksidase ketika terjadi iskemia. Pada fase reperfusi, xantin oksidase bereaksi dengan oksigen dan melepaskan radikal bebas superoksida. Flavonoid dapat membatasi aktivitas *xantin oksidase* tersebut dan mencegah kerusakan oksidatif melalui gugus kuersetin dan silibin yang dikandungnya.

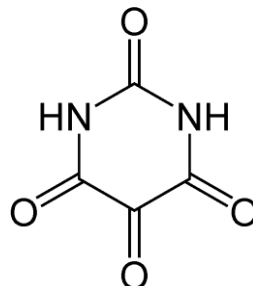
### 3. Efek Antioksidan pada Diabetes Tipe 2

Upaya untuk memberikan antioksidan tidak lain adalah untuk mencegah produksi radikal bebas intraseluler atau di sisi lain untuk meningkatkan kapasitas pertahanan enzim terhadap radikal bebas untuk

mencegah stres oksidatif dan komplikasi vaskular terkait diabetes. Berbagai suplemen makanan yang mengandung antioksidan dan faktor yang dapat meningkatkan produksi oksida nitrat dapat memperbaiki disfungsi endotel dan fungsi mitokondria dalam sel serta menurunkan aktivitas enzim NAD(P)H oksidase. Pada penderita diabetes melitus yang mengalami komplikasi makrovaskular/mikrovaskular, terapi antioksidan berguna ketika dikombinasikan dengan terapi untuk mengatur tekanan darah, kondisi dislipidemia, dan mengoptimalkan pengendalian kadar glukosa (Bajaj & Afreen, 2012).

Berdasarkan sumbernya, jenis antioksidan dibedakan menjadi antioksidan endogen dan antioksidan eksogen. Antioksidan endogen meliputi antioksidan enzimatik seperti tembaga, seng, mangan, superoksida dismutase, glutathione peroksidase, glutathione reduktase, dan katalase, sedangkan antioksidan non-enzimatik meliputi glutathione, ubiquinol, selenium, asam lipoat, dan lain-lain. Sumber antioksidan lain yang dipelajari adalah asam askorbat (vitamin C) dan vitamin E (tokoferol). Sayur dan buah sama-sama mengandung vitamin serta senyawa lain yang juga dapat berperan sebagai antioksidan yaitu polifenol, asam fenolat dan flavonoid (Bajaj & Afreen, 2012). Kondisi tersebut ditunjang oleh riset Montonen *et al.*, (2004) bahwa pemberian vitamin E pada 4000 pasien non diabetes berusia di atas 23 tahun menunjukkan hasil yang signifikan dalam menurunkan risiko diabetes melitus tipe 2. Hasil yang signifikan dalam meningkatkan penyerapan glukosa oleh insulin dibandingkan dengan kelompok kontrol (Oyenihi *et al.*, 2015).

### I. Aloksan



**Gambar 3. Struktur Aloksan**

Sumber : *Edubio*

Aloksan adalah derivat pirimidin yang akan membentuk aloksan hidrat dalam keadaan cair. Nama lain aloksan berdasarkan IUPAC

adalah 2,4,5,6,- tetraoksipirimidina ;5,6-dioksiurasil dengan rumus struktur  $C_4H_2N_2O_4$ . Aloksan menyebabkan kerusakan sel  $\beta$  pankreas pada hewan pengerat (tikus dan sejenisnya). Zat ini banyak digunakan sebagai penginduksi diabetes pada hewan percobaan. Menurut Szkudelski (2001), mekanisme penghancuran selektif aloksan adalah bahwa aloksan membentuk ikatan dengan Glut-2, yang membantu aloksan masuk ke dalam sitoplasma sel  $\beta$  pankreas, menyebabkan depolarisasi mitokondria karena masuknya ion  $Ca^{2+}$  yang meningkat serta diikuti dengan konsumsi energi yang berlebihan, sehingga jumlah energi di dalam sel berkurang (Szkudelski, 2001). Aloksan memasuki sel beta pankreas melalui transporter glukosa GLUT2. Aloksan dapat melewati GLUT2 karena struktur molekulnya menyerupai glukosa. Akumulasi zat tersebut mampu menyebabkan kerusakan sel di dalam sel  $\beta$ -pankreas (Rahman *et al.*, 2014). Pemberian aloksan pada rodensia akan menyebabkan rusaknya sel beta pankreas sehingga produktifitasnya berkurang. Sedikitnya insulin membuat kadar glukosa di dalam darah hewan tersebut terus bertambah.

## **J. Hewan Percobaan**

### **1. Pengertian**

Hewan percobaan adalah semua hewan yang digunakan dalam penelitian biologi atau biomedis yang dipilih berdasarkan persyaratan atau standar esensial yang diperlukan untuk penelitian (Mangkoewidjojo, 1998). Penggunaan hewan percobaan dalam penelitian memerlukan sumber daya yang cukup terkait dengan berbagai metode biologi mengenai penggunaan hewan coba di laboratorium. Perawatan hewan laboratorium diawali dengan pengadaan hewan, termasuk pemilihan spesies hewan sesuai dengan konteks penelitian. Pengelolaan dilanjutkan dengan memelihara dan merawat hewan mulai dari melakukan penelitian, pendataan, hingga akhirnya mengorbankan hewan percobaan dalam penelitian (Mangkoewidjojo, 1998). Hewan yang sehat dan berkualitas harus dipilih sesuai dengan tujuan penelitian untuk penelitian hewan percobaan. Secara khusus, hewan tersebut diadaptasi di lingkungan yang diawasi dan dikendalikan secara ketat. Tujuannya adalah untuk mendapatkan hewan percobaan yang ditentukan di mana genotip, fenotip (efek ibu) dan dramatis (pengaruh lingkungan pada fenotipe) tetap tidak berubah. Hal ini diperlukan agar penelitian dapat

direproduksi, yaitu memberikan hasil yang sama ketika diulangi oleh peneliti lain pada waktu yang berbeda (Nomura & Tajima, 1982). Saat ini, ada beberapa galur tikus yang umum digunakan dalam penelitian laboratorium di Indonesia seperti *Wistar* dan *Sprague-Dawley* (Ridwan, 2013).

## **2. Etika Penggunaan Hewan Percobaan**

Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian pasti akan mengalami penderitaan yaitu ketidaknyamanan, ketidakseimbangan, ketakutan, menerima rasa sakit dan seringkali mengalami kematian. Pada kondisi tersebut, hewan yang dikorbankan dalam penelitian untuk kepentingan manusia layak dihormati, diperlakukan secara manusiawi, dirawat dengan baik dan hewan dibiarkan untuk hidup beradaptasi sesuai dengan lingkungannya. Penelitian menggunakan hewan laboratorium di bidang kesehatan harus mengkaji kelayakan dan rasionalitas penggunaan hewan, dengan mempertimbangkan penderitaan hewan di laboratorium dan manfaatnya bagi manusia. Hewan boleh digunakan untuk riset maupun pengujian akan tetapi harus diberi perlakuan sesuai dengan kaidah kesejahteraan hewan dengan pertimbangan sebagai berikut:

Pertama, penelitian harus relevan dengan kebutuhan kesehatan manusia atau hewan dan mampu mengembangkan ilmu pengetahuan, atau untuk kesejahteraan masyarakat.

Kedua, jika tidak ditemukan alternatif untuk menggantikan peran hewan dalam penelitian, mungkin karena tidak ada model *in vitro* yang dikembangkan, sebagaimana regulasi hormonal pada manusia dan hewan, perkembangan suatu penyakit, penularan dan pengaruhnya terhadap kesehatan tubuh, penelitian pada organ usus dan otak (Barré-Sinoussi & Montagutelli 2015).

Ketiga, tidak dapat menduplikasi penelitian sebelumnya karena heterogenitas dan kompleksitas biologis, serta penerapan metode atau teknologi terapan yang terbatas, yang memerlukan penelitian lebih lanjut pada hewan lain (Bert *et al.* 2019).

Penelitian di bidang kesehatan yang menggunakan hewan percobaan juga harus menerapkan prinsip 3R dalam protokol penelitian yaitu *replacement* (penggantian), *reduction* (pengurangan) dan *refinement* (perbaikan) (Cheluvappa *et al.*, 2017).

## **3. Tikus Putih Galur Wistar**

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan jenis mamalia yang

termasuk ordo *Rodentia* dan suku *Muridae*. Tikus putih memiliki beberapa sifat menguntungkan seperti berkembangbiak dengan cepat, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, tidak agresif dan memiliki ukuran lebih besar dari pada mencit. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri albino, kepala kecil dan ekor yang panjangnya melebihi badan, pertumbuhannya cepat dan lebih tenang (Maksum, 2008).



**Gambar 4. Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*)**

Sumber : (Komang *et al.*, 2014)

Sistematika tikus putih sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentis
Familia	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus novergicus</i> (Myres & Armitage, 2004).

### **K. Landasan Teori**

Stres oksidatif adalah kondisi ketika terjadi ketidakseimbangan antara jumlah ROS dan antioksidan dalam suatu organisme yang dapat disebabkan karena peningkatan produksi ROS atau penurunan sistem antioksidan dalam tubuh. Produksi ROS secara berlebihan mengakibatkan terganggunya pertahanan antioksidan endogen dengan mengurangi glutation intraseluler dan terjadi fosforilasi oksidatif pada metabolisme glukosa sehingga mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah dan asam lemak bebas. Tingginya kadar glukosa darah dan akumulasi lipid dalam sel dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran diiringi penurunan sekresi insulin oleh sel  $\beta$ - pankreas (Ali, 2015; Tangvarasittichai, 2015). Kadar lipid peroksida dalam tubuh dapat diukur melalui produk akhirnya yang stabil yaitu malondialdehid (MDA). Peningkatan kadar malondialdehid

akan mengganggu membran dan organel sel serta menginduksi terjadinya atherosklerosis dan komplikasi mikrovaskuler pada diabetes melitus tipe 2 (Rio *et al.*, 2005; Salem *et al.*, 2011; Kumawat *et al.*, 2012). Semakin tinggi kadar malondialdehid maka semakin masif kerusakan yang terjadi dalam sel-sel tubuh (Valko, 2006).

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi (Simanjuntak, 2012). Antioksidan adalah molekul penangkal radikal bebas dengan mendonorkan beberapa elektronnya untuk memutus reaksi radikal bebas pada peroksidasi lipid. Berhentinya peroksidasi lipid akan menurunkan resistensi insulin dan meningkatkan respon sensitifitas dari insulin tersebut sekaligus mencegah hiperglikemia (Prawitasari, 2019). Salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai antioksidan sekaligus antihiperglikemik adalah herba bandotan (*Ageratum conyzoides* L.).

Herba bandotan mengandung minyak atsiri tidak kurang dari 0,20% v/b dan atau flavonoid total tidak kurang dari 0,61% yang dihitung sebagai rutin (FHI, 2017). Pada bandotan, aktivitas antihiperglikemik dan antioksidan yang dimiliki tersebut diyakini karena adanya senyawa fitokimia seperti flavonoid dan fenol, dan tanin (Tailor & Goyal, 2016). Aktivitas antioksidan dari flavonoid juga bergantung pada struktur molekulnya terutama gugus prenil ( $(\text{CH}_3)_2\text{C}=\text{CH}-\text{CH}_2^-$ ). Adanya antioksidan dari senyawa alami tumbuhan seperti flavonoid dikarenakan adanya gugus hidroksil pada struktur molekulnya yang akan mereduksi radikal bebas dengan cara mendonorkan elektronnya. Flavonoid juga memiliki mekanisme kerja secara tidak langsung melalui peningkatan sensitifitas antioksidan endogen (Shinta & Kusuma, 2015). Agar diperoleh aktifitas yang maksimal dari senyawa flavonoid dalam bandotan, maka diperlukan langkah ekstraksi daun bandotan. Ekstraksi daun bandotan memakai metode ekstraksi maserasi, yaitu proses ekstraksi simplisia dengan cara direndam menggunakan pelarut etanol disertai pengadukan pada suhu ruang (Ditjen POM, 2000). Ekstrak cair yang dihasilkan kemudian dipadatkan untuk memperoleh ekstrak kental.

Penelitian dilakukan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang dikelompokkan sesuai dengan perlakuan yang akan diberikan yaitu kontrol negatif, kontrol positif, dan dosis ekstrak etanol daun bandotan. Induksi aloksan diberikan untuk menciptakan kondisi hiperglikemia,

sedangkan aktivitas antihiperlipidemia dan antioksidan diketahui dengan mengamati kadar glukosa darah dan malonaldehid.

#### **L. Hipotesis**

Berdasarkan tinjauan pustaka yang telah dipaparkan, maka diperoleh hipotesis penelitian sebagai berikut :

Pertama, pemberian ekstrak etanol daun bandotan memiliki aktivitas antihiperlipidemia yang dilihat dari kadar glukosa darah tikus yang diinduksi aloksan dan menghasilkan dosis efektif.

Kedua, pemberian ekstrak etanol daun bandotan memiliki aktivitas antioksidan yang dilihat dari kadar malondialdehid (MDA) pada tikus yang diinduksi aloksan dan menghasilkan dosis efektif .