

Research Article

**EFFECT OF METHANOL EXTRACT HEARHLEAF
MADEIRAVINE (*Anredera cordifolia* (TEN.) STEENIS)
LEAVES ON BLOOD SUGAR
IN DIABETES MELLITUS MODEL MICE**

*Elin Yulinah Sukandar**, *Atun Qowiyyah***, *Lady Larasari***

* *School of Pharmacy, Institut Teknologi Bandung*

Email: elin@fa.itb.ac.id

** *Department of Pharmacy, Garut University*

ABSTRACT

Introduction: Heartleaf madeiravine (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) leaves, traditionally, are used to treat various diseases including to decrease blood glucose level. **Objective:** This study aims to determine the effect of heartleaf madeiravine leaves extract in lowering blood glucose level and in repairing a damage of β -pancreas cells. **Methods :** This experimental research uses Swiss Webster mice The extract was tested on diabetic Swiss Webster mice induced by alloxan at a dose of 70 mg/kg bw intravenously . Doses used for treating these mice were 50 mg/kg bw and 200 mg/kg bw orally for 14 days .Blood glucose level of the mice were measured after 7 and 14 days administration of the extract. The pancreas cell of treated mice were observed histologically on day 14. **Result:** The research showed that the methanol extract of heartleaf madeiravine leaves at a dose of 50, 100 and 200 mg/kg bw could lower blood glucose level significantly different compared to control group ($p < 0.05$) either on day 7 or on day 14 and increased the number and repaired the damage of β - pancreas cell. **Conclusion:** Methanol extract of heartleaf madeiravine leaves can be used to treat diabetes mellitus induced by alloxan in mice.

Key words: heartleaf madeiravine , *Anredera cordifolia*, diabetes mellitus, histology.

Research Article

EFEK EKSTRAK METANOL DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (TEN.) STEENIS) TERHADAP GULA DARAH PADA MENCIT MODEL DIABETES MELITUS

Elin Yulinah Sukandar*, Atun Qowiyyah**, Lady Larasari**

* Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung

Email: elin@fa.itb.ac.id

** Jurusan Farmasi, Universitas Garut

ABSTRAK

Pendahuluan : Daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) secara tradisional digunakan untuk menangani berbagai jenis penyakit termasuk sebagai penurun glukosa darah. **Tujuan** : Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak daun binahong terhadap penurunan kadar glukosa darah dan perbaikan sel β pankreas. **Metode** : Penelitian merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang menggunakan hewan coba mencit galur Swiss Webster dengan bahan uji ekstrak metanol daun binahong. Ekstrak daun binahong diuji pada mencit diabetes yang diinduksi dengan aloksan dengan dosis 70 mg/kg bb secara intra vena. Dosis ekstrak binahong yang digunakan adalah 50 dan 200 mg/kg bb secara oral selama 14 hari. Kadar glukosa darah ditentukan pada 7 dan 14 hari setelah pemberian ekstrak. Pankreas mencit diamati secara histologi pada hari ke 14. Analisis data menggunakan ANAVA **Hasil** : Penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak metanol daun binahong dosis 50, 100 dan 200 mg/kg bb dapat menurunkan kadar glukosa darah berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol setelah pemberian ekstrak 7 dan 14 hari, dan secara histologi dapat meningkatkan jumlah sel dan memperbaiki kerusakan sel β – pankreas akibat pemberian aloksan. **Simpulan** : Ekstrak metanol daun binahong dapat digunakan untuk menangani diabetes mellitus pada mencit yang diinduksi aloksan.

Kata kunci : Binahong, *Anredera cordifolia*, diabetes mellitus.

PENDAHULUAN

Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dikenal di Cina dengan nama *Dheng San Chi*, di Eropa dinamai *heartleaf madeiravine* dan di Amerika Selatan dikenal dengan nama *madeira-vine*. Seluruh bagian tanaman ini berkhasiat, mulai dari akar, batang dan daunnya. Hasil wawancara dengan masyarakat di Jawa Barat, ternyata tanaman ini sudah dimanfaatkan untuk menangani berbagai penyakit. Binahong terbukti berkhasiat melalui penelitian di laboratorium. Ekstrak etanol daun binahong dapat menurunkan kreatinin dan ureum dalam darah serta memperbaiki sel ginjal yang rusak.¹ Ekstrak metanol daun binahong menunjukkan efek antiinflamasi² dan ekstrak etanol binahong memiliki efek antioksidan³ dan memiliki aktivitas hepatoprotektor⁴. Kandungan utama daun binahong adalah flavonoid⁵ Di samping itu ekstrak etanol binahong menunjukkan dapat menurunkan kolesterol pada tikus Wistar⁶.

Research Article

Ekstrak air binahong aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif pada konsentrasi 50 mg/mL⁷, senyawa *acordin* (protein) dari akar menunjukkan aktivitas terhadap pelepasan NO yang dapat melebarkan pembuluh darah dan menurunkan tekanan darah dan diduga flavoid aktif untuk berbagai penyakit.⁸

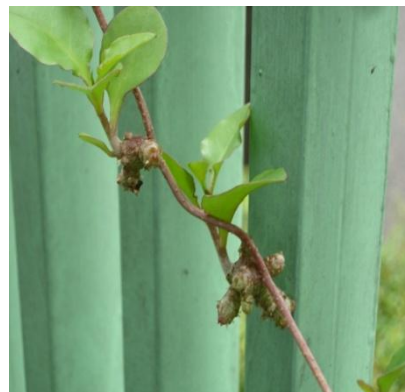
Tanaman binahong termasuk ke dalam kelas *Magnoliopsida*, subkelas *Hamamelidae*, keluarga *Caryophyllales*, suku *Basellaceae*, bangsa *Anredera* dan jenis *Anredera cordifolia*. Kandungan tanaman ini adalah 3-hidroksi-30-horoleana-12, 18-dien-29-oat, larragenin, etil ester, asam ursolat.⁹

Aloksan merupakan senyawa kimia yang dapat merusak ginjal dengan mengoksidasi sel ginjal. Agar ginjal tidak rusak parah, harus dipilih dosis yang tepat dan melalui penelitian pendahuluan diperoleh dosis 70 mg/kg bb pada mencit.¹⁰

Diabetes melitus merupakan penyakit karena gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglisemia, gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Gangguan ini disebabkan karena defek sekresi insulin, penurunan sensitivitas reseptor insulin atau keduanya.¹¹ Obat antidiabetes terdiri dari beberapa golongan, golongan sulfonilurea (glibenklamid, dll.) mempunyai mekanisme merangsang pelepasan insulin, golongan biguanida (metformin) meningkatkan kepekaan reseptor insulin dan menghambat pembentukan glukosa hepatic, tiazolidindion (pioglitazon) meningkatkan kepekaan reseptor insulin pada sel otot skelet, hati dan sel adiposa, meglitinid bekerja seperti sulfonilurea, agonis GLP-1 (*glucagon like peptide-1*) yaitu *exenatid* menginduksi pelepasan insulin dan menghambat pelepasan glukagon, dan sitagliptin menghambat dipeptidil peptidase-4 sehingga GLP1 tidak cepat diuraikan, antidiabetes yang lain inhibitor gluksidase (akarbose dll.)¹² Pada penelitian yang lalu ekstrak daun binahong dapat memperbaiki sel ginjal yang rusak¹ dan ingin diketahui pula apakah ekstrak daun binahong dapat memperbaiki sel pankreas yang rusak



Gambar 1 : Daun binahong



Gambar 2 : Umbi gantung binahong

Research Article

METODE

Penelitian merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang menggunakan hewan coba mencit galur Swiss Webster dengan bahan uji ekstrak etanol daun binahong. Mencit galur Swiss Webster diinduksi menjadi diabetes melitus dengan pemberian aloksan satu kali, urin diperiksa setiap hari dengan menggunakan stik glukosa sampai dinyatakan diabetes yang terlihat dari warna stik menjadi hijau. Mencit yang positif diabetes dipuasakan selama 15-16 jam kemudian diambil darahnya dan ditentukan sebagai kadar glukosa awal. Mencit model diabetes ini dikelompokkan menjadi 6 kelompok. Pada kelompok kontrol positif diberi pembawa yaitu suspensi tragakan, kelompok kontrol negatif diberi air suling, kelompok pembanding diberi glibenklamid dan kelompok uji diberi ekstrak daun binahong .

Sediaan uji diberikan secara peroral satu kali sehari terhadap semua kelompok perlakuan selama 14 hari. Pengambilan cuplikan darah dilakukan dari ekor mencit. Sediaan uji diberikan selama 14 hari secara oral dan pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke 1, 7, dan 14.

Pada akhir perlakuan, mencit dikorbankan dan dilakukan pengambilan organ pankreas dan selanjutnya difiksasi dalam dapar formalin 40%, dehidrasi, penjernihan (*clearing*), infiltrasi parafin, penanaman jaringan (*embedding*), pemotongan (*section*), pewarnaan (*staining*), perlekatan sediaan (*mounting*) dan pembuatan fotomikrograf. Pewarnaan dilakukan dengan teknik pewarnaan imunohistokimia. Proses pewarnaan ini dilakukan untuk mendeteksi sel β didalam Pulau *Langerhans* menggunakan antibodi monoklonal insulin. Prinsip pewarnaan ini adalah ikatan antigen (insulin dalam sel β) dan antibodi monoklonal insulin yang divisualisasikan dengan *diaminobenzidine* (DAB) berupa endapan coklat.

Bahan yang digunakan adalah daun binahong, aloksan monohidrat, glibenklamid, tragakan, air suling, metanol.

Alat yang digunakan adalah *optium omega*[®] (alat pengukur gula darah), stik test glukosa darah, glukotest urin, alat suntik, sonde oral, mortir, stamper, tabung reaksi, gelas kimia, gelas ukur, batang pengaduk, penangas air, kompor listrik, timbangan mencit, timbangan analitik, cawan penguap, alat refluks dan alat penguap vakum putar.

Hewan uji yang digunakan mencit jantan galur *Swiss Webster*, sehat dengan bobot badan 20-25 gram yang diperoleh dari Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati ITB.

Research Article

Cara percobaan

Penyiapan Simplisia dan Pengolahan Simplisia

Tanaman uji diperoleh dari daerah Garut, kemudian dilakukan determinasi di Herbarium Bandungense, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung. Tanaman uji dikeringkan selama lima hari. Dilakukan penghilangan kotoran organik dan anorganik dari simplisia, dan selanjutnya dilakukan penggilingan simplisia menjadi serbuk.

Pembuatan Ekstrak

Serbuk kering daun binahong diekstraksi menggunakan metanol, kemudian diuapkan menggunakan penguap vakum berputar.

Induksi diabetes

Induksi diabetes dilakukan pada mencit jantan yang diinduksi dengan aloksan monohidrat dengan dosis 70 mg/kg bobot badan. Penyuntikan dilakukan secara intravena pada ekor mencit menjadi mencit model diabetes.

Uji antidiabetes

Setelah penyuntikan, mencit diberi makan dan minum seperti biasa. Perkembangan hiperglikemia diperiksa setiap hari melalui pemeriksaan adanya glukosa darah dalam urin menggunakan stik glukosa urin. Mencit positif diabetes pada stik glukosa urin akan berubah menjadi warna hijau. Mencit yang positif diabetes dipuaskan selama 15-16 jam kemudian diambil darahnya dan ditentukan sebagai kadar glukosa awal. Mencit dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 5 ekor mencit jantan. Pada kelompok kontrol positif diberi tragakan 2%, kelompok kontrol negatif diberi air suling, kelompok pembanding diberi glibenklamid dan kelompok uji diberi ekstrak daun binahong dengan dosis 50 mg/kg bb, 100 mg/kg bb dan 200 mg/kg bb.

Sediaan uji diberikan secara oral satu kali sehari terhadap semua kelompok perlakuan selama 14 hari.

Pengambilan cuplikan darah dilakukan dari ekor mencit. Setiap kali pengambilan darah mencit harus dipuaskan sebelumnya maksimal 16 jam. Sediaan uji diberikan selama 14 hari secara peroral. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada jam ke-2 setelah pemberian sediaan uji pada ke 1, 7, dan 14.

Research Article

Pengamatan Histopatologi Organ Pankreas Mencit Diabetes Aloksan

Pada akhir perlakuan kemudian hewan uji dikorbankan dan dilakukan pengambilan organ pankreas, fiksasi dalam dapar formalin 40%, dehidrasi, penjernihan, infiltrasi parafin, penanaman jaringan, pemotongan, pewarnaan, perlekatan sediaan (*mounting*) dan pembuatan fotomikrograf. Pewarnaan dilakukan dengan teknik pewarnaan imunohistokimia. Proses pewarnaan ini dilakukan untuk mendeteksi sel β didalam Pulau *Langerhans* menggunakan antibodi monoklonal insulin. Prinsip pewarnaan ini adalah ikatan antigen (insulin dalam sel β) dan antibodi monoklonal insulin yang divisualisasikan dengan diaminobenzidin (DAB) berupa endapan coklat.

HASIL DAN DISKUSI

Pada mencit yang diberi aloksan terlihat kadar glukosa darahnya meningkat setelah 4-7 hari yang dihitung sebagai H0 (Tabel 1), dan pada kelompok kontrol positif masih meningkat pada hari ke 1 (H1) dan pada H7 sudah mulai menurun tetapi tetap masih tinggi (dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2 serta Gambar 1 dan 2). Pada kelompok glibenklamid terlihat terjadi penurunan yang cukup besar sehingga kadar glukosa darah menjadi normal. Pada kelompok yang diberi ekstrak daun binahong penurunan bermakna secara statistik terjadi pada dosis 50 mg/kg bb pada hari ke 1, 7 dan ke 14 dengan *p* masing-masing 0,009; 0,031 dan 0,001. Pada dosis 100 mg/kg bb terlihat penurunan (Gambar 1) tetapi secara statistik penurunan tidak bermakna (Tabel 3) dan pada dosis 200 mg/kg bb terjadi penurunan yang bermakna pada hari ke 7 dan ke 14 dengan *p* masing-masing 0,11 dan 0,002.

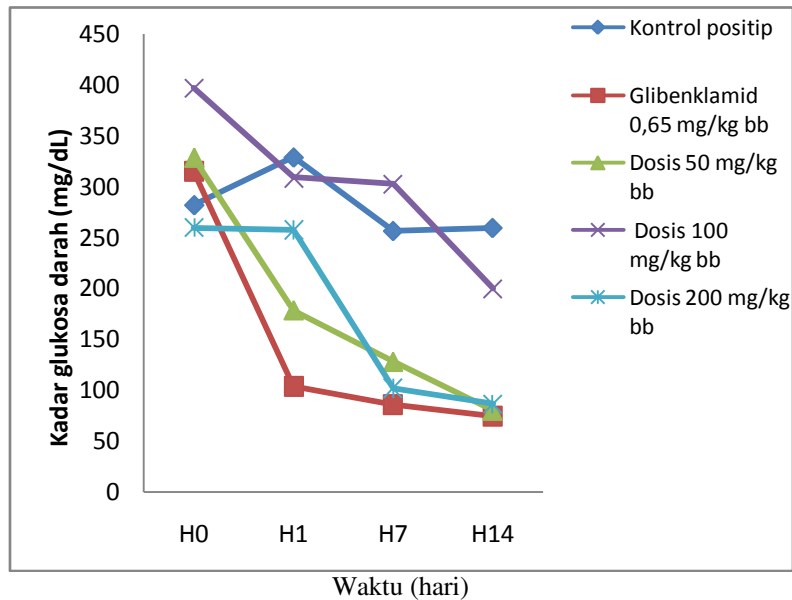
Dosis 50 mg/kg bb menunjukkan dosis yang optimum untuk penurunan kadar glukosa darah. Mengingat zat uji dalam bentuk ekstrak, kemungkinan mengandung campuran senyawa aktif dan antagonisnya sehingga dalam dosis yang lebih tinggi yaitu 100 mg/kg bb terjadi penurunan efek anti diabetes karena efek antagonis naik, tetapi pada dosis yang lebih tinggi lagi yaitu 200 mg/kg bb efek antagonis tidak meningkat (tidak *dose dependent*) sehingga efek zat aktif antidiabetes terlihat lagi. Oleh karena itu histopatologi hanya dilakukan untuk dosis 50 dan 200 mg/kg bb.

Research Article

Tabel 1 Kadar Glukosa Darah Rata-Rata Mencit Jantan sebelum dan sesudah Pemberian ekstrak Daun Binahong.

Kelompok	Kadar glukosa darah (mg/dL) pada hari pengamatan			
	H0	H1	H7	H14
Kontrol positif	282,0 ± 114,4	328,8 ± 124,3	256,6 ± 141,4	259,6 ± 172,5
Glibenklamid 0,65 mg/kg bb	314,9 ± 107,2	103,6 ± 13,8	86,0 ± 26,1	74,4 ± 31,4
Ekstrak binahong Dosis 50 mg/kg bb	328,4 ± 85,5	178,6 ± 31,2	128,0 ± 55,6	80,0 ± 25,8
Ekstrak binahong Dosis 100 mg/kg bb	397,0 ± 84,3	309,0 ± 101,2	303,0 ± 140,0	200,0 ± 58,0
Ekstrak binahong Dosis 200 mg/kg bb	259,4 ± 114,9	257,4 ± 120,1	102,0 ± 63,3	86,6 ± 25,3

Keterangan : Ho : hari ke nol, sebelum diberi sediaan uji
 H1 : hari pertama diberi sediaan uji, darah diambil 2 jam setelah pemberian sediaan uji
 H7 : hari ke 7 pemberian sediaan uji
 H14 : hari ke 14 pemberian sediaan uji



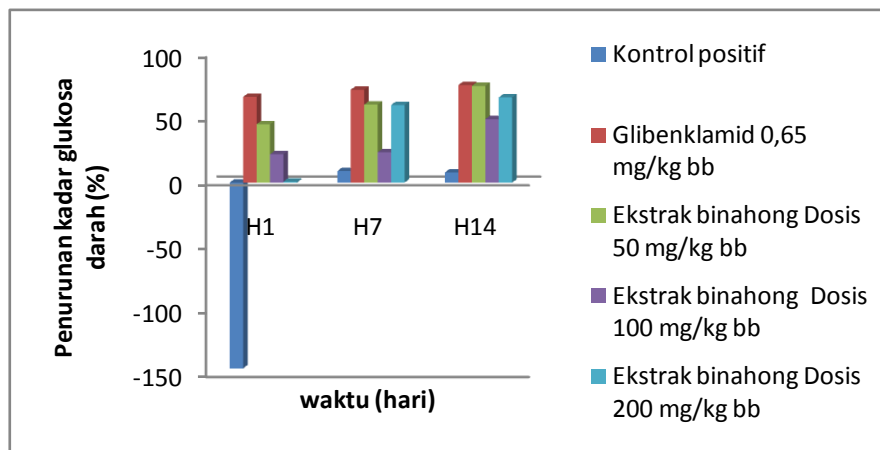
Gambar 1. Grafik gambaran pengaruh perlakuan terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes aloksan

Research Article

Tabel 2 Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan Diabetes Aloksan oleh Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Binahong

Kelompok	Persentase penurunan kadar glukosa darah pada hari pengamatan		
	H1	H7	H14
Kontrol positif	-145,32	9,0	7,94
Glibenklamid 0,65 mg/kg bb	67,0	72,61	76,30
Ekstrak binahong Dosis 50 mg/kg bb	45,61	61,02	75,64
Ekstrak binahong Dosis 100 mg/kg bb	22,17	23,68	49,62
Ekstrak binahong Dosis 200 mg/kg bb	0,77	60,68	66,61

Keterangan : - menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah

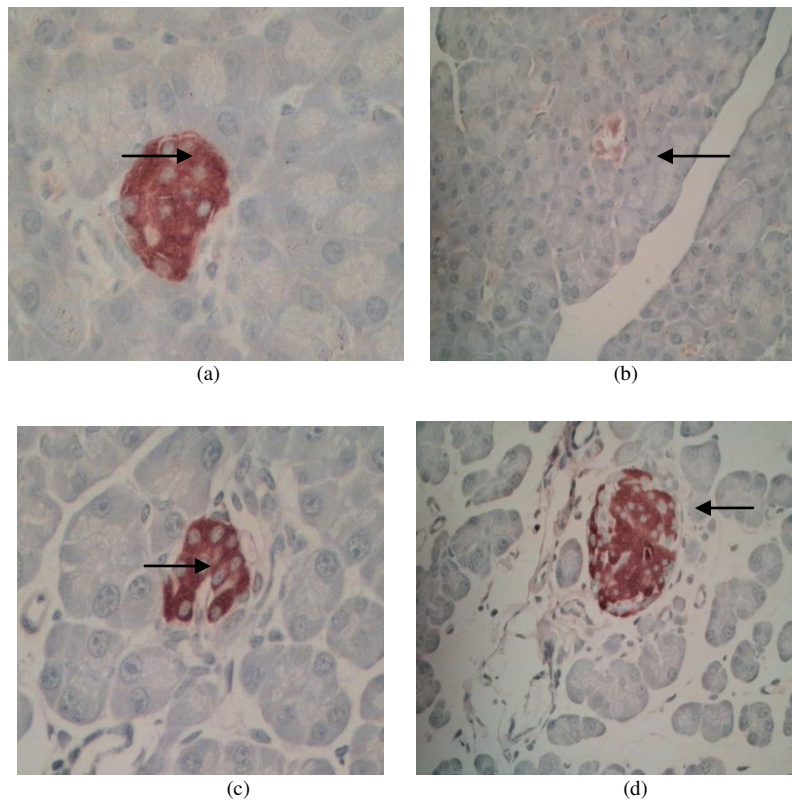


Gambar 2: Penurunan kadar glukosa darah terhadap H0 setelah diberi sediaan uji

Tabel 3 Hasil Evaluasi Statistik Penurunan Kadar Glukosa Darah Dibandingkan terhadap Kelompok Kontrol Positif

Kelompok	Nilai p		
Glibenklamid	<0,001	0,006	0,001
Dosis 50 mg/kg bb	0,009	0,031	0,001
Dosis 100 mg/kg bb	0,709	0,417	0,232
Dosis 200 mg/kg bb	0,186	0,011	0,002

Research Article



Gambar 3: Hasil histologi pankreas

Keterangan (a) Pankreas tikus normal
 (b) Pankreas tikus yang diberi aloksan
 (c) Pankreas tikus yang diberi ekstrak binahong 50 mg/kg bb
 (d) Pankreas tikus yang diberi ekstrak binahong 200 mg/kg bb
 tanda panah menunjukkan sel β pankreas

Hasil pengamatan imunohistokimia menunjukkan bahwa sel β pankreas rusak dan pankreas mengecil (Gambar 3b) dibandingkan dengan kelompok normal (Gambar 3a). Kerusakan sel beta pankreas sejalan dengan peningkatan kadar glukosa darah pada Tabel 1. Pada tikus yang diberi ekstrak daun binahong 50 dan 200 mg/kg bb terlihat jumlah sel beta pankreas meningkat dan sel pankreas menjadi normal (Gambar 3c dan 3d).

SIMPULAN

Ekstrak metanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dosis 50, 100 dan 200 mg/kg bb dapat menurunkan glukosa darah. Penurunan kadar glukosa darah yang berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol positif ($p < 0,05$) terjadi pada dosis 50 dan 200 mg/kg bb menciit dan pada dosis ini terjadi perbaikan sel-sel beta pankreas yang rusak.

Research Article**DAFTAR PUSTAKA**

1. Sukandar EY, Qowiyah A, Minah N, Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) pada Model Tikus Gagal Ginjal. JMP; 2010. 1(2).
2. Nurlestari A., Uji Efek Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) V. Steenis Pada Tikus Betina Galur Wistar (Tugas Akhir). Jurusan Farmasi, Universitas Garut; 2009
3. Handayani I, Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) V. Steenis dengan Metode DPPH dan Peroksidasi Lipid Secara in vitro (Tugas Akhir). Jurusan Farmasi, Universitas Garut; 2009
4. Sopiani T, Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) V. Steenis Pada Tikus Betina Galur Wistar, (Tugas Akhir). Jurusan Farmasi, Universitas Garut; 2009
5. Nurfitri, A. Telaah Fitokimia Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) V. Steenis (Tugas Akhir). Sekolah Farmasi ITB; 2009: 33.
6. Laela SN, Uji Efek Antihiperlipidemia Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) V. Steenis Pada Tikus Betina Galur Wistar (Tugas Akhir). Jurusan Farmasi, Universitas Garut; 2009
7. Tshikalange, T.E., Meyer, J.J.M. and Hussein, A.A. Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases., J.Ethnopharmacology; 2005; 96(3) : 515-519
8. Chuang MT, Lin YS, Hou WC. Ancordin, the major rhizome protein of madeira-vine, with trypsin inhibitory and stimulatory activities in nitric oxide productions. Peptides 2007; 28(6): 1311-1316
9. Li TSC, Chinese and Related North American Herbs; Phytopharmacology and Therapeutic Values. e-book: CRC Press; 2002: 17, 359-366
10. Yulinah E, Aktivitas Antidiabetika Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*andropogon paniculata* Nees (Acanthaceae), Jurnal Matematika dan Sains 2001; 6(1): 13-20
11. Wells B, DiPiro JT, Schwinghammer TL, Hamilton CW. Pharmacotherapy Handbokk, 7th ed. :McGraw-Hill. Boston; 2008
12. Brunton LL, Lazo JS Parker KL. Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 11 ed.. McGraw-Hill. New York.; 2006:1634-1641