

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Malondialdehid pada Tikus Yang Diinduksi Aloksan

*The Effect Of Ethanolic Extract Of Bandotan Leaves (*Ageratum conyzoides* L.) on Blood Glucose and Malondialdehyde Levels in Alloxane Induced Rats*

Johanes Kalfari⁽¹⁾, Wiwin Herdwiani⁽²⁾, Fitri Kurniasari⁽³⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾Program Studi S1 Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta, Indonesia

Email Korespondensi: fitrikurnia@setiabudi.ac.id

ABSTRAK

Hiperglikemia menyebabkan bertambahnya jumlah ROS (*Reactive Oxygen Species*) dalam tubuh yang akan menimbulkan stres oksidatif dan kerusakan jaringan. Stres oksidatif muncul melalui kenaikan kadar malondialdehid (MDA) dalam darah. Daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) mempunyai aktivitas antihiperglikemik dan antioksidan dari senyawa flavonoid yang mampu menekan kadar malondialdehid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengamati pengaruh pemberian ekstrak etanol daun bandotan pada kadar glukosa darah serta malondialdehid terhadap tikus yang diinduksi aloksan serta dosis efektifnya. Penelitian diawali dengan mengekstraksi simplisia serbuk daun bandotan dengan metode maserasi dan dilanjutkan uji skrining fitokimia. Uji farmakologi dilakukan terhadap tikus yang dikelompokkan menjadi kelompok kontrol negatif (Na-CMC 0,5%), kelompok kontrol positif (Glibenclamid 0,45 mg/kg BB), dan kelompok ekstrak etanol daun bandotan dengan dosis 72,5 mg/kg BB, 145 mg/kg BB, dan 290 mg/kg BB. Setelah perlakuan 14 hari, darah tikus diambil untuk diukur kadar glukosa darah menggunakan glukometer tes dan kadar malondialdehid menggunakan Kit ELISA MDA. Hasil menunjukkan ekstrak daun bandotan memiliki aktivitas antihiperglikemik dan antioksidan dengan rerata kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid berbeda signifikan terhadap kelompok kontrol negatif. Analisis statistik menunjukkan bahwa pada aktivitas antihiperglikemik, ekstrak daun bandotan menghasilkan dosis efektif sebesar 72,5 mg/kg BB. Pada aktivitas antioksidan dengan parameter kadar malondialdehid, ekstrak daun bandotan menghasilkan dosis efektif sebesar 290 mg/kg BB.

Kata kunci: *Ageratum conyzoides* L., Antioksidan, MDA Plasma, Aloksan.

ABSTRACT

Hyperglycemia causes an increase of ROS (Reactive Oxygen Species) in the body, causing oxidative stress and tissue destruction. Oxidative stress occurs through increased levels of Malondialdehyde (MDA) in the blood. Bandotan leaves (Ageratum conyzoides L.) have antihyperglycemic and antioxidant activity from flavonoid compounds are able to minimize Malondialdehyde levels. The following research aims to observe the effect of ethanolic extract of bandotan leaves on blood glucose and malondialdehyde levels in alloxan-induced rats and the effective dose. The study began with extracting bandotan leaves using maceration method and continued with phytochemical screening test. Pharmacological tests were applied to rats, grouped into negative control group (Na-CMC 0.5%), positive control group (Glibenclamid 0.45 mg/kg), and group of bandotan leaves extract with doses of 72,5 mg/kg, 145 mg/kg, and 290 mg/kg. After 14 days of treatment, rats blood was collected to measure glucose levels using a glucometer test and Malondialdehyde levels using a MDA ELISA kit. The results showed bandotan leaves extract

had antihyperglycemic and antioxidant effects by the mean of blood glucose and Malondialdehyde levels were significantly different from negative control group. Statistical analysis showed that in antihyperglycemic activity, bandotan leaves extract produced an effective dose at 72.5 mg/kg. In antioxidant activity with the parameter of Malondialdehyde levels, bandotan leaves extract produced an effective dose at 290 mg/kg.

Keywords: *Ageratum conyzoides L.*, antioxidants, MDA Plasma, Alloxane

PENDAHULUAN

Stres oksidatif adalah kondisi ketika terjadi ketidakseimbangan antara jumlah ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan antioksidan dalam suatu organisme yang dapat disebabkan karena peningkatan produksi ROS atau penurunan sistem antioksidan dalam tubuh. Dengan mengurangi glutathione intraseluler dan fosforilasi oksidatif dalam metabolisme glukosa, produksi ROS yang berlebihan meningkatkan kadar glukosa darah dan asam lemak bebas serta mengganggu pertahanan antioksidan alami tubuh. Tingginya kadar kadar glukosa darah dan akumulasi lipid dalam sel dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan membran diiringi penurunan sekresi insulin oleh sel β -pankreas (Tangvarasittichai, 2015). Kadar lipid peroksida dalam tubuh dapat diukur melalui produk akhirnya yang stabil yaitu malondialdehid (MDA). Kerusakan pada sel-sel tubuh lebih parah ketika kadar malondialdehid lebih tinggi (Valko et al., 2006).

Salah satu tumbuhan yang berkhasiat sebagai antioksidan sekaligus antihiperlikemik adalah daun bandotan (*Ageratum conyzoides L.*). Pada daun bandotan, aktivitas antihiperlikemik dan antioksidan yang dimiliki tersebut diyakini karena adanya senyawa fitokimia seperti flavonoid dan alkaloid, dan tanin (Tailor & Goyal, 2016). Kehadiran gugus hidroksil dalam struktur kimianya, yang menyumbangkan elektron kepada radikal bebas, memberikan senyawa tanaman alami seperti flavonoid sifat antioksidannya.

Flavonoid memicu sekresi insulin serta melakukan regenerasi pada sel β -pankreas yang rusak, memiliki sifat protektif dan mampu mengoptimalkan sensitivitas insulin.

Oso et al., (2018) menggunakan teknik DPPH dan parameter nilai IC₅₀ (konsentrasi larutan sampel yang diperlukan untuk memblokir 50% radikal bebas DPPH) untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan daun bandotan. Hasil penelitian yaitu potensi antioksidan dari metode DPPH IC₅₀ yaitu 48,34±5,38 μ g/ml. Penelitian mengenai aktivitas antioksidan tumbuhan bandotan juga dilakukan oleh Ola, (2018) terhadap batang dan bunga bandotan yang menyimpulkan bahwa ekstrak batang dan bunga bandotan pada konsentrasi 7,8 μ g/ml dan 11,71 μ g/ml nilai IC₅₀ ekstrak batang dan bunga lebih besar daripada obat standar (asam askorbat = 5,66 μ g/ml) sebesar 27,43 μ g/ml pada batang dan 46,87 μ g/ml pada bunga. Penelitian Martinus & Verawati, (2016) menyatakan ekstrak polar daun bandotan hasil maserasi menggunakan etanol menunjukkan aktivitas penangkap radikal bebas dengan nilai IC₅₀ sebesar 228,431 μ g/ml (Martinus & Verawati, 2016). Pada penggolongan aktivitas antioksidan sesuai IC₅₀, sebuah ekstrak tergolong amat kuat bila nilai IC₅₀ sebesar 200 μ g/ml termasuk kurang aktif (Molyneaux et al., 2004).

Untuk mengetahui bagaimana aktivitas antioksidan tanaman bandotan (*Ageratum conyzoides L.*) memengaruhi makhluk hidup, peneliti ingin melakukan penelitian tambahan menggunakan hewan uji. Mengingat konteks saat ini, penting untuk memahami efek ekstrak etanol daun

bandotan pada kadar gula darah dan malondialdehid pada tikus yang diobati dengan aloksan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu alat penghalus/blender, ayakan nomor 40, Beaker glass, gelas ukur, Erlenmeyer, kertas saring, batang pengaduk, pipet ukur, pipet tetes, botol maserasi, kain flanel, *rotary evaporator*, *moisture balance*, timbangan analitik, spuit injeksi, jarum sonde, sarung tangan, vaculab, *Easy Touch Glukometer*, *Easy Touch Glukosa Strip test*, Kit MDA ELISA.

Daun bandotan hijau segar tidak terlalu muda atau terlalu tua yang dikumpulkan pada bulan Februari 2022 di lingkungan Mojosongo, Surakarta, Jawa Tengah, dijadikan sebagai bahan penelitian. Etanol 70%, Toluene, NaCl fisiologis, Aloksan pro analisis (Sigma Aldrich[®]), Tablet Glibenklamid 5 mg (Kima Farma), CMC Na (Sigma Aldrich[®]), EDTA (OneMed), pereaksi mayer dan dragendorf, reagen Lieberman buchar, HCl, pereaksi larutan besi (III) klorida 1%, serbuk Mg, aquadest, dan pakan hewan. Sebanyak 25 ekor tikus putih jantan strain Wistar dari *Rattus norvegicus*, dengan berat 150–200 gram dan berusia 3–4 bulan, digunakan sebagai hewan uji. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan.

Pembuatan Simplisia Serbuk Daun Bandotan

Daun bandotan sebanyak 13,5 kg dicuci kemudian dirajang dan dikeringkan, setelah kering digiling dan diayak dengan ayakan mess no. 40 sehingga didapatkan serbuk daun bandotan semi kasar. Serbuk daun bandotan selanjutnya dilakukan uji organoleptik, yaitu pemeriksaan visual terhadap bentuk, warna, dan bau.

Alat *moisture balance* digunakan untuk menentukan penyusutan pengeringan serbuk daun bandotan. Dua gram serbuk ditimbang pada wadah aluminium, dan suhunya diatur pada 105°C.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Bandotan

Daun bandotan dapat dimaserasi untuk menghasilkan ekstrak etanol. Dalam botol maserasi, 10 liter etanol 70% dicampur dengan 1 kilogram serbuk simplisia daun bandotan. Campuran dikocok setelah 6 jam direndam kemudian dilanjutkan perendaman selama 18 jam. Prosedur maserasi diulangi dengan menggunakan lima liter pelarut etanol 70%. Kertas saring digunakan dua kali untuk menyaring hasil maserasi yang diperoleh, pertama menggunakan kain flanel. Proses penguapan dilakukan menggunakan *rotary evaporator* untuk menguapkan filtrat yang terkumpul hingga diperoleh ekstrak kental (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Penetapan Susut Pengeringan Ekstrak Daun Bandotan

Dengan menggunakan pendekatan gravimetri, kehilangan hasil pengeringan ekstrak daun bandotan ditentukan. Sebanyak 10 gram ekstrak daun bandotan ditimbang dengan teliti. Proses pengeringan berlangsung selama lima jam pada suhu 105°C dan dilanjutkan selama satu jam lagi hingga perbedaan antara kedua pembacaan berat tersebut kurang dari 0,25% (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Identifikasi Kandungan Senyawa

Untuk mengetahui kandungan senyawa dalam ekstrak daun bandotan digunakan uji tabung yang meliputi deteksi senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid, dan terpenoid serta KLT yang meliputi senyawa flavonoid.

Flavonoid

Sebanyak 3 mililiter etanol 70% ditambahkan ke tabung reaksi yang berisi satu gram ekstrak daun bandotan. Campuran

tersebut kemudian direbus selama 15 menit di atas penangas air sebelum disaring. Hasilnya dilengkapi dengan 0,1 gram bubuk magnesium dan dua tetes HCl kuat. Pembentukan lapisan etanol berwarna merah bata menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1993).

Alkaloid.

Sebanyak 5 mililiter HCl 2 N dituangkan ke atas dua gram ekstrak sampel dalam tabung reaksi, yang kemudian dipanaskan, didinginkan, dan dibagi menjadi tiga tabung reaksi. Tabung reaksi diisi dengan masing-masing reagen. Pengujian Alkaloid menggunakan reagen Mayer menghasilkan endapan putih atau kuning. Terdapat endapan coklat setelah penambahan reagen Wagner atau endapan jingga setelah penambahan reagen Dragendorf (Harborne, 1993).

Saponin.

Tabung reaksi yang berisi satu gram ekstrak diisi dengan air mendidih hingga 10 mililiter, didinginkan, lalu dikocok dengan kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa hingga 1–10 cm selama minimal 10 menit dan tidak hilang setelah ditambahkan 1 tetes HCl 2 N, ekstrak terbukti mengandung saponin (Harborne, 1993).

Tanin.

Sebanyak 10 ml air panas ditambahkan ke tabung reaksi yang berisi 1 gram ekstrak. Campuran tersebut kemudian dipanaskan selama 5 menit, dan 3 hingga 4 tetes FeCl₃ ditambahkan ke filtrat. Ini menunjukkan adanya tanin katekol jika berwarna biru-hijau (hijau-hitam), dan adanya tanin jika berwarna biru-hitam (Harborne, 1993).

Terpenoid dan Steroid.

Sebanyak 3 mililiter kloroform, 2 mililiter asam sulfat pekat, dan 2 mililiter asam asetat anhidrat ditambahkan ke tabung reaksi yang menampung satu gram ekstrak. Warna berubah dari ungu menjadi biru

kehijauan jika ada molekul steroid, dan berubah menjadi coklat jika ada terpenoid positif (Harborne, 1993).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sebanyak 10 ml etanol 95% dan 1 gram bubuk dicampur selama 10 menit dalam penangas air. Baku quercetin ditempatkan dalam *chamber* dengan 10 ml fase gerak yang mengandung n-heksana: etil asetat: metanol: air (3:4,5:2:0,5) yang sebelumnya telah dijenuhkan menggunakan kertas saring yang dimasukkan ke dalam *chamber* hingga fase gerak diserap hingga tanda batas. Filtrat ditempatkan dalam labu 10 ml, dan pelarut ditambahkan hingga tanda batas volume tercapai. Filtrat kemudian ditotolkan pada fase diam pelat KLT silika gel G60 F254. Biarkan fase diam mencapai tanda batas dengan cara mengelusnya. Setelah pelat KLT dikeluarkan dari *chamber* dan dibiarkan mengering di udara, menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 dan 366 nm, bercak tersebut diperiksa (Kementerian Kesehatan RI, 2017).

Pembuatan Larutan Uji

Glibenklamid

Untuk membuat glibenklamid 0,005%, satu tablet glibenklamid lengkap digerus halus dan dilarutkan dalam 0,5% CMC Na untuk membuat 100 mililiter.

CMC Na 0,5%

Prosesnya meliputi penimbangan 500 mg bubuk CMC Na, penambahan air suling hangat ke dalam lumpang, dan penggerusan campuran hingga halus dan berjumlah 100 ml.

Aloksan 1%

Sebanyak 1 gram bubuk aloksan dilarutkan dalam 0,9% NaCl untuk membuat 100 ml larutan aloksan.

Ekstrak Etanol Daun Bandotan

Dosis dinaikkan menjadi 100 ml setelah ekstrak daun bandotan dilarutkan dalam CMC 0,5% hingga homogen. Tiga

varian dosis ekstrak yang berbeda, yaitu 72,5%, 145%, dan 29% BB, ditimbang.

Perlakuan Hewan Uji

Tikus Wistar jantan dengan berat 150–200 gram dan berusia 3–4 bulan digunakan dalam penelitian ini. Sebanyak 25 ekor tikus dibagi menjadi lima kelompok yang masing-masing terdiri dari lima ekor tikus. Tikus-tikus tersebut ditimbang untuk mengetahui berat badannya dan masing-masing diberi tanda pengenalan. Tikus-tikus tersebut diberi makanan komersial dan cukup air minum selama tujuh hari sebelum perawatan untuk menyesuaikan diri. Pada hari kedelapan perawatan, tikus-tikus tersebut diberi suntikan aloksan intraperitoneal dengan konsentrasi 150 mg/kg BB.

Darah diambil dari tikus-tikus tersebut tiga hari setelah induksi untuk memeriksa kadar glukosa darah. Pengujian diberikan selama 14 hari dengan cara berikut :

Kelompok I, Kontrol negatif : diinduksi aloksan + larutan CMC 0,5% b/v.

Kelompok II, Kontrol positif : diinduksi aloksan + Glibenclamid 0,45 mg/kg BB.

Kelompok III, Kelompok dosis ekstrak 1 : diinduksi aloksan + ekstrak etanol daun bandotan 72,5 mg/kg BB (EDB 1).

Kelompok IV, Kelompok dosis ekstrak 2 : diinduksi aloksan + ekstrak etanol daun bandotan 145 mg/kg BB (EDB 2).

Kelompok V, Kelompok dosis ekstrak 3 : diinduksi aloksan + ekstrak etanol daun bandotan 290 mg/kg BB (EDB 3).

Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa darah tikus dinilai tiga kali, pertama sebelum induksi aloksan (kadar normal), setelah induksi aloksan (untuk melihat tercapainya kondisi hiperglikemik (kadar glukosa >180 mg/dl), dan setelah perlakuan 14 hari. Untuk memastikan bahwa keadaan hiperglikemia yang dicapai

disebabkan oleh induksi aloksan dan bukan pengaruh makanan yang diberikan, tikus dipuasakan sepanjang malam sebelum pengujian glukosa darah. Gula darah tikus diukur dengan glukometer dengan cara menggoreskan darah tikus yang terkumpul pada strip glukometer dan secara otomatis menyerap darah, sehingga hasil pengukuran muncul di layar monitor dalam satuan mg/dl setelah beberapa detik.

Pengukuran Kadar MDA

Tikus dipuasakan semalaman sebelum diambil darahnya agar kandungan dalam sampel darah yang diamati tidak terakumulasi dengan glukosa maupun produk radikal bebas yang berasal dari makanan yang diberikan. Pada hari ke-14 sesudah masa perlakuan, darah tikus diambil dari vena mata. Darah diambil sebanyak 1,5 ml menggunakan Vaculab yang berisi EDTA. Proses mengumpulkan plasma darah dilakukan dengan sentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit.

Plasma yang dipisahkan dikumpulkan dengan mikropipet dan dipasang ke dalam tabung mikro kemudian disiapkan untuk pengukuran kadar MDA plasma di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Kurva standar ditetapkan dan diuji kinerja presisi, recovery, dan linearitas. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 450 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pembuatan Serbuk

Daun bandotan segar sebanyak 13,5 kg dijemur dengan ditutup kain hitam dan menghasilkan berat kering 4 kg. Berdasarkan hasil organoleptik serbuk berwarna hijau, memiliki aroma khas daun bandotan, dan berbentuk serbuk. Persentase rendemen berat kering daun bandotan terhadap berat basah ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Rendemen Daun Bandotan Kering

Bobot basah (kg)	Bobot kering (kg)	Rendemen (%)
13,5	4	29,63

Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk

Persentase bahan, termasuk air, yang menguap selama proses pemanasan ditentukan dengan mengukur penyusutan pengeringan. Hasil penetapan penyusutan pengeringan bubuk daun manggis rata-rata sebesar 8,4%, maka hasil penelitian telah memenuhi persyaratan karena kurang dari 10% (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Hasil dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Daun Bandotan

Sampel	Replikasi	Bobot (gram)	Susut pengeringan (%)
Serbuk	1	2,04	9,2%
	2	2,00	8,0%
	3	2,00	8,0%
Rata-rata±SD			8,4%±0,6928

Hasil Ekstraksi

Prosedur maserasi digunakan untuk mengekstrak daun bandotan menggunakan etanol 70% yang dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Bandotan

Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Rendemen (%)
1000	289	28,9

Hasil Penetapan Susut Pengeringan Ekstrak

Metode gravimetri digunakan untuk menentukan kehilangan pengeringan ekstrak daun bandotan dan hasil menunjukkan sebesar 4,55%. Hasil tertera pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Susut Pengeringan Ekstrak Daun Bandotan

Sampel	Replikasi	Bobot (gram)	Susut pengeringan (%)
Ekstrak	1	10,3254	4,94%
	2	9,9858	4,70%
	3	10,3554	4,00%
Rata-rata±SD			4,55±0,4883

Hasil Skrining Kandungan Senyawa

Skrining kandungan senyawa dilakukan untuk mendapatkan gambaran senyawa yang terkandung pada ekstrak daun bandotan secara kualitatif menggunakan uji tabung dan Kromatografi Lapis Tipis. Hasil uji tabung terdapat pada tabel 5.

Tabel 5. Identifikasi Uji Tabung Ekstrak Daun Bandotan

Senyawa	Hasil Ekstrak	Referensi	Hasil
Flavonoid	Terbentuk warna merah bata pada lapisan amil alkohol	Terbentuk warna merah bata pada lapisan amil alkohol	(+)
Alkaloid	Tidak terdeteksi	Terbentuk endapan merah, coklat, dan putih kekuningan	(-)
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman	Terbentuk warna hijau kehitaman	(+)

Senyawa	Hasil Ekstrak	Referensi	Hasil
Saponin	Terbentuk buih mantap	Terbentuk buih mantap	(+)
Terpenoid/ Steroid	Tidak terdeteksi	Terbentuk warna biru atau coklat.	(-)

KLT (Kromatografi Lapis Tipis) merupakan uji penegasan terhadap adanya senyawa flavonoid yang dilihat melalui hasil perbandingan nilai faktor retensi (Rf). Nilai Rf antara sampel ekstrak dengan baku dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Identifikasi KLT

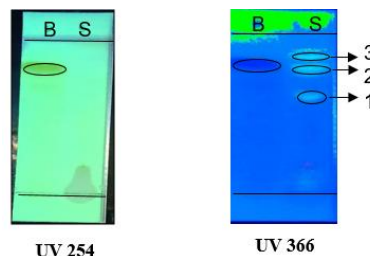
Kode bercak	Nilai Rf	Warna bercak	
		UV 254	UV 366
B	0,80	Kuning	Peredaman
S(1-3)	0,59	Tidak terdeteksi	Fluoresensi
	0,78	Tidak terdeteksi	Fluoresensi
	0,86	Tidak terdeteksi	Fluoresensi

Keterangan:

B : baku kuersetin

S : sampel ekstrak daun bandotan

Baku yang dipakai pada pengujian berikut adalah kuersetin dengan fase gerak (eluen) yang digunakan yaitu n-heksan: etil asetat: metanol: air (3:4,5:2:0,5). Plat KLT silika gel G60 F254 diaktivasi dalam oven pada suhu 110°C selama 30 menit untuk menghilangkan kelembaban pada plat. Bercak KLT ditentukan menggunakan lampu UV 254 nm dan 366 nm (gambar 1).



Gambar 1. Identifikasi Flavonoid Secara KLT

Hasil Pengukuran Glukosa Darah

Pengujian aktivitas antihiperglikemi menggunakan induksi aloksan sebagai zat diabetogenik dengan merusak sel β pankreas. mencit dinyatakan hiperglikemi apabila kadar glukosa darah di atas 180 mg/dL (Iskandar *et al.*, 2019). Parameter yang diamati meliputi kadar glukosa darah pada waktu T0 (hari ke-0), T1 (setelah induksi aloksan), dan T2 (hari ke-14). Hasil pengukuran kadar glukosa darah dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

Kelompok	Rata-rata kadar glukosa (mg/dL)			$\Delta T(T1-T2)$
	$\pm SD$			
	T0	T1	T2	
Kontrol Negatif	75,2 \pm 9,01	190,8 \pm 13,40	187,4 \pm 10,01	6,8 \pm 6,87 ^b
Kontrol Positif	73 \pm 7,10	203,2 \pm 19,01	76,2 \pm 3,83	127 \pm 19,09 ^b
Dosis 72.5 mg/kgBB	77,6 \pm 4,15	204,6 \pm 30,13	79,2 \pm 3,70	125,4 \pm 29,19 ^b
Dosis 145 mg/kgBB	76,8 \pm 7,36	199,8 \pm 18,40	69,8 \pm 6,30	130 \pm 18,86 ^{ab}
Dosis 290 mg/kgBB	74,6 \pm 4,03	191,6 \pm 20,03	69,4 \pm 6,18	122,2 \pm 18,03 ^{ab}

Keterangan :

T0 = kadar glukosa darah normal

T1 = kadar glukosa darah setelah diinduksi aloksan

T2 = kadar glukosa darah setelah 14 hari perlakuan

Hasil Pengukuran MDA

Salah satu indikator stres oksidatif adalah malondialdehid (MDA). Disfungsi endotel dimediasi oleh stres oksidatif. Disfungsi endotel merupakan prekursor masalah kardiovaskular. MDA adalah salah satu produk akhir peroksida lipid yang mudah dideteksi. Hasil pengukuran nilai MDA dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Rata-Rata Kadar MDA Plasma

Kelompok	Rata-rata (ng/ml)±SD
Kontrol (-)	214,40±1,17 ^b
Kontrol (+)	21,37±1,23 ^{ab}
Dosis 72,5 mg/kgBB	42,22±0,60 ^b
Dosis 145 mg/kgBB	24,00±0,88 ^b
Dosis 290 mg/kgBB	21,65±0,82 ^{ab}

PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dijalankan dalam waktu 2x24 jam. Kondisi tersebut untuk mengoptimalkan aktivitas penyerapan senyawa kimia yang terkandung dalam sampel daun. Pengadukan selama maserasi juga mempercepat kontak antara pelarut dengan sampel. Ekstrak hasil maserasi kemudian dipekatkan melalui proses evaporasi, proses ini dilakukan untuk menghilangkan pelarutnya (Handoyo, 2020).

Ekstrak etanol pekat yang diperoleh ditimbang agar diketahui persen rendemen. Pengamatan organoleptis terhadap ekstrak menunjukkan warna ekstrak hijau kehitaman dan baunya khas aromatik serta rasanya pahit. Ekstrak etanol daun bandotan menghasilkan rendemen sebesar 28,9%. Hasil ekstrak digunakan untuk

membandingkan temuan ekstrak dengan berat bubuk simpleks yang digunakan; jumlah ekstrak yang dihasilkan juga menunjukkan apakah daun bandotan mengandung komponen bioaktif.

Hasil rendemen lebih tinggi daripada rendemen yang diperoleh dari penelitian yang dilakukan oleh Mulyani *et al.*, (2021) dengan menggunakan pelarut yang sama menghasilkan rendemen 9,43%. Perbedaan rendemen terjadi karena jumlah senyawa fitokimia dalam tumbuhan sangat bergantung terhadap beragam aspek lingkungan seperti suhu, cahaya, kesuburan tanah, serta salinitas tanah dan perbedaan perlakuan pada proses ekstraksi (Mulyani *et al.*, 2021).

Selain itu, proses ekstraksi dipengaruhi oleh ukuran sampel; semakin kecil luas permukaan sampel, semakin banyak kontak dan interaksinya dengan pelarut (Umainah Sineke *et al.*, 2016). Menurut Farmakope Herbal Indonesia (FHI) Edisi II Tahun 2017, ekstrak daun bandotan yang baik memiliki nilai hasil rendemen tidak kurang dari 9,6%. Oleh karena itu, rendemen ekstrak daun bandotan pada penelitian ini memenuhi baku mutu yang ditetapkan.

Hasil Penetapan Susut Pengerinan

Penyusutan pengeringan ekstrak daun bandotan diukur dan ditemukan sebesar 4,55%. Standar kadar air kurang dari 10% terpenuhi berdasarkan hasil pendekatan gravimetrik penelitian ini (Kementerian Kesehatan RI, 2017). Bersumber dari hasil susut pengeringan, ekstrak daun bandotan mengalami penurunan lebih banyak dari pada dengan bentuk simplisia. Kondisi tersebut disebabkan oleh simplisia yang dipakai bersifat kering sehingga kadar airnya lebih rendah daripada ekstrak ataupun daun segar. Serta perlakuan yang diterima kedua sampel berbeda, sampel ekstrak mengalami perse pemanasan berjam-jam lebih lama sampai

diperoleh bobot konstan sehingga banyak air dan senyawa yang terlepas ke atmosfer.

Hasil KLT

Hasil KLT menunjukkan noda sampel berjumlah tiga bercak dengan masing-masing skor Rf bernilai 0,59; 0,78 serta 0,86 dan Rf pembanding kuersetin 0,80. Adanya senyawa flavonoid pada uji KLT ditunjukkan dengan nilai Rf bercak nomor dua (0,78) yang mendekati nilai Rf baku kuersetin.

Hasil Pengukuran Glukosa

Nilai penurunan glukosa darah setelah perlakuan (ΔT) dan hasil analisis statistik *post hoc* LSD menunjukkan adanya efek antihiperlikemik ekstrak etanol daun bandotana, berdasarkan hasil pengukuran glukosa darah. Kelompok dosis ekstrak menunjukkan penurunan kadar gula darah terbaik pada dosis 145 mg/kg BB, sedangkan penurunan kadar glukosa (ΔT) serupa dengan kelompok kontrol positif pada dosis 72,5 mg/kg BB.

Zat-zat dalam ekstrak daun bandotan, khususnya senyawa flavonoid, meningkatkan aktivitas enzim yang dapat memperbaiki sel-sel β pankreas yang cedera dan menghasilkan insulin yang menurunkan kadar glukosa darah. Peningkatan enzim katalase yang memecah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air dua zat yang cocok untuk pertumbuhan dan perkembangan sel merupakan salah satu metode pemulihan sel-sel β pankreas. Aktivitas antioksidan juga berpengaruh terhadap proliferasi sel β (Wang *et al.*, 2017).

Peningkatan jumlah antioksidan juga bisa menurunkan banyaknya ROS serta mengembalikan integritas sel serta meningkatkan visibilitas sel (Patel, 2008). Selain itu, sel-sel melanjutkan mitosis ataupun pembelahan, untuk mengembalikan sel ke keadaan awal. Flavonoid telah terbukti bisa memicu sistem imunitas tubuh oleh karena sifat antioksidannya. Flavonoid

meredam radikal bebas sehingga bisa meminimalkan rusaknya sel-sel β pankreas (Rahmawati *et al.*, 2014). Banyak proses yang menyebabkan meningkatnya stres oksidatif dikaitkan dengan hiperglikemia pada diabetes melitus.

Hasil Pengujian Kadar MDA

Kadar MDA rata-rata adalah 21,37 \pm 1,23 ng/ml pada kelompok kontrol positif, 42,22 \pm 0,60 ng/ml pada kelompok dosis 72,5 mg/kg BB, 24 \pm 0,88 ng/ml pada kelompok dosis 145 mg/kg BB, dan 21,65 \pm 0,82 ng/ml pada kelompok dosis 290 mg/kg BB. Kondisi uji Anova terpenuhi dan dapat dilakukan karena hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan tidak adanya variasi antara kelompok yang dibandingkan.

Analisis statistik ANOVA dari kelima kelompok perlakuan menghasilkan hasil $p = 0,000$ ($p < 0,05$) pada tingkat kepercayaan 95%. Temuan ini menunjukkan bahwa kelima kelompok perlakuan berbeda secara signifikan satu sama lain. Untuk memastikan kelompok mana yang menunjukkan perbedaan signifikan, analisis *post hoc* dilakukan pada hasil analisis statistik. Berdasarkan uji *post hoc*, terdapat perbedaan bermakna pada setiap kelompok terhadap kelompok kontrol negatif yang ditunjukkan dengan diperolehnya nilai sig. $< 0,05$.

Kelompok perlakuan dosis dan kelompok kontrol positif memiliki hasil yang berbeda. Hasil nilai signifikansi dari kedua kelompok dosis 72,5 mg/kg BB dan kelompok dosis 145 mg/kg BB masing-masing adalah 0,000 dan 0,003 (Sig. $< 0,05$), yang menunjukkan adanya perbedaan yang cukup besar pada kontrol positif. Menurut temuan ini, kedua dosis tersebut bermanfaat dalam menurunkan kadar MDA jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif; namun, efeknya tidak sekuat pada kelompok kontrol positif. Hasil statistik berbeda ditunjukkan pada kelompok dosis

290 mg/kg BB yang berdasarkan uji *post hoc* LSD tidak menunjukkan adanya perbedaan bermakna terhadap kontrol positif karena nilai signifikansinya sebesar 0,767 (Sig. >0,05), dengan demikian dapat disimpulkan bahwa efek penurunan kadar MDA pada kelompok dosis tersebut sebanding dengan kelompok kontrol positif.

Pemberian ekstrak etanol daun bandotan dengan dosis 72,5 mg/kg, 145 mg/kg, dan 290 mg/kg pada tikus hiperglikemia selama 14 hari secara signifikan (Sig. <0,05) menurunkan kadar MDA dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, yang hanya menerima Na-CMC dan kekurangan antioksidan yang dapat menekan kadar MDA. Tikus pada kelompok negatif tetap hiperglikemia, yang berdampak pada kadar MDA, sedangkan Na-CMC tidak berpengaruh pada tikus.

Efek antioksidan daun bandotan dihasilkan oleh adanya senyawa flavonoid dan alkaloid yang terkait dengan aktivitas penangkapan radikal bebas. Antioksidan flavonoid memiliki daya antioksidan yang dapat menurunkan risiko penyakit jantung, hiperlipidemia dan penyakit kronis lainnya sebagaimana stroke dan diabetes (Pérez-Fons *et al.*, 2010).

Pengaruh pemberian ekstrak daun bandotan memiliki pengaruh lebih signifikan terhadap aktivitas antihiperglikemik dibandingkan dengan aktivitas antioksidannya. Hal tersebut dibuktikan dari dosis efektif yang dihasilkan pada masing-masing aktivitas yang diamati. Kadar glukosa darah harus diturunkan ke tingkat kontrol positif menggunakan dosis terendah (72,5 mg/kg BB) yang diperlukan untuk aktivitas antihiperglikemik. Untuk mencapai kadar MDA yang mirip dengan kontrol positif, dosis tertinggi (290 mg/kg BB) diperlukan untuk efek antioksidan. Perbedaan dosis efektif yang dihasilkan dapat disebabkan karena faktor penentuan dosis.

Dosis yang digunakan dalam penelitian ini adalah dosis hasil konversi nilai IC_{50} dari peneliti Martinus & Verawati, (2016) yaitu 228,431 $\mu\text{g/ml}$. Nilai tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang lemah, sehingga diperlukan dosis yang lebih besar untuk menghasilkan aktivitas penurunan kadar MDA yang sebanding dengan kontrol positif. Selain itu, perbedaan dosis efektif yang dihasilkan juga dipengaruhi oleh senyawa lain yang memiliki aktivitas yang sama dengan flavonoid. Nyunai *et al.*, (2009) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa senyawa seperti tanin juga memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar glukosa darah.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol daun bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) berdampak pada aktivitas antihiperglikemik dan antioksidan dengan dosis efektif sebagai antihiperglikemik sebesar 72,5 mg/kg BB dan dosis efektif sebagai antioksidan sebesar 290 mg/kg BB.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang membantu menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Handoyo, D. L. Y. (2020). The Influence Of Maseration Time (Immeration) On The Vocity Of Birthleaf Extract (Piper Betle). *Jurnal Farmasi Tinctura*, 2(1), 34–41. <https://doi.org/10.35316/tinctura.v2i1.1546>
- Harborne, J. B. (1993). Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants. *Biochemical Systematics and Ecology*, 21(8), 849. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(93\)90098-c](https://doi.org/10.1016/0305-1978(93)90098-c)
- Iskandar, S. G., Swasti, Y. R., & Yanuartono,

- Y. (2019). PENURUNAN GLUKOSA DARAH MENCIT (*Mus musculus*) JANTAN HIPERGLIKEMIA DENGAN VARIASI PENAMBAHAN MINUMAN SERBUK BIJI ALPUKAT (PERSEA AMERICANA MILL.). *Jurnal Teknologi Pertanian*, 20(3), 153–162. <https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2019.020.03.2>
- Kementerian Kesehatan RI. (2017). Farmakope Herbal Indonesia Edisi II Tahun 2017. In *Direktorat Jenderal Farmasi dan Alat Kesehatan*. <https://doi.org/10.1201/b12934-13>
- Martinus, B. A., & Verawati, V. (2016). PENENTUAN KADAR FLAVONOID TOTAL DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI EKSTRAK DAUN BANDOTAN (*Ageratum conyzoides* L.). *Scientia : Jurnal Farmasi Dan Kesehatan*, 5(1), 47. <https://doi.org/10.36434/scientia.v5i1.67>
- Molyneaux, P., Newsholme, P., Haber, E. P., & Hirabara, S. M. (2004). Antioxidant activity, phenol, and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. In *African Journal of Biotechnology* (Vol. 26, Issue 10). CRC Press. <http://www.plantamor.com/index.php?plant=2197,DiaksesOktober>
- Mulyani, Y., Fatwia, R., & Sutrisno, E. (2021). AKTIVITAS ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL *Ageratum conyzoides* (L.) L. dan *Blumea balsamifera* (L.) DC. DAN TOKSISITAS AKUT. *Media Informasi*, 16(1), 8–17. <https://doi.org/10.37160/bmi.v16i1.377>
- Nyunai, N., Njikam, N., Abdennebi, E. H., Mbafor, J. T., & Lamnaouer, D. (2009). Hypoglycaemic and antihyperglycaemic activity of *Ageratum conyzoides* L. in rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 6(2), 123–130. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v6i2.57083>
- Ola, A. O. (2018). Evaluation of Antioxidant Activity of Stem And Flower Extracts of *Ageratum conyzoides*. *International Journal of Advance Research, Ideas and Innovations in Technology*, 4(3), 891–897.
- Patel, J. M. (2008). Review of Potential Health Benefits of Flavonoids. *Lethbridge Undergraduate Research Journal*. *Lethbridge Undergraduate Research Journal*, 3(2), 1–5. <http://www.lurj.org/article.php/vol3n2/flavonoids.xml>
- Pérez-Fons, L., Garzón, M. T., & Micol, V. (2010). Relationship between the Antioxidant Capacity and Effect of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) Polyphenols on Membrane Phospholipid Order. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(1), 161–171. <https://doi.org/10.1021/jf9026487>
- Rahmawati, G., Rachmawati, F. N., & Winarsi, H. (2014). Aktivitas Superoksida Dismutase Tikus Diabetes Yang Diberi Ekstrak Batang Kapulaga Dan Glibenklamid. *Scripta Biologica*, 1(3), 197. <https://doi.org/10.20884/1.sb.2014.1.3.42>
- Tailor, C. S., & Goyal, A. (2016). Isolation of phytoconstituents and invitro antilithiatic activity by titrimetic method, antioxidant activity by dpph scavenging assay method of alcoholic root extract of *hedychium coronarium*



- J. Koenig and alcoholic leaves extract of *Ageratum conyzoides* Li. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(4), 120–132. https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference_id/8327053
- Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 6(3), 456. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i3.456>
- Umainah Sineke, F., Suryanto, E., & Sudewi, S. (2016). PENENTUAN KANDUNGAN FENOLIK DAN SUN PROTECTION FACTOR (SPF) DARI EKSTRAK ETANOL DARI BEBERAPA TONGKOL JAGUNG (*Zea mays* L.). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*, 5(1), 275–283.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160(1), 1–40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2005.12.009>
- Wang, J., Wang, J., Li, Q., Zhang, P., Yuan, P., Ma, F., Luo, Y., Cai, R., Fan, Y., Chen, S., Li, Q., & Xu, B. (2017). Young breast cancer patients who develop distant metastasis after surgery have better survival outcomes compared with elderly counterparts. *Oncotarget*, 8(27), 44851–44859. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15268>