

SKRINING FITOKIMIA DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL AKAR BAJAKAH (*Spatholobus littoralis* Hassk) PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI ALOKSAN

PHYTOCHEMICAL SCREENING AND ANTIOXIDANT ACTIVITY TEST OF ETHANOL EXTRACT OF BAJAKAH ROOT (*Spatholobus littoralis* Hassk) IN ALLOXAN-INDUCED WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)

Ilham Ramadhan¹, Tanti Azizah Sujono^{1*}

¹Laboratorium Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

*E-mail correspondence : tanti_azizah@ums.ac.id

Dikirim : 25 Februari 2025 ; Disetujui: 27 Februari 2025 ; Diterbitkan : 28 Februari 2025

Abstrak

Antioksidan didefinisikan sebagai zat alami maupun zat sintetis yang dapat melindungi sel karena proses oksidasi. Antioksidan alami yang didapat dari alam yaitu akar bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) telah terbukti memiliki potensi aktivitas antioksidan yang kuat secara *in vitro* menggunakan metode DPPH. Induksi aloksan bertujuan untuk membuat hewan uji stres oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fitokimia pada ekstrak etanol akar bajakah (EEAB) dan membuktikan aktivitas EEAB secara *in vivo* dengan parameter kadar malondialdehid (MDA) pada hati dan plasma darah tikus aloksan. Akar bajakah diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3 hari. Pada penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus yang dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kontrol normal, kontrol positif Vitamin C, kelompok 4-6 berturut-turut diberikan EEAB dosis 50, 100, 200 mg/kgBB. Induksi aloksan dilakukan secara intraperitoneal. Perlakuan dilakukan selama 9 hari. Pengambilan sampel darah dilakukan sebelum perlakuan sebagai *baseline*, setelah induksi aloksan, dan pada hari ke 3, 6, dan 9. Selanjutnya pada hari ke-9 tikus diterminasi untuk diambil organ hati. Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan parameter kadar malondialdehid (MDA) pada hati dan plasma darah. Hasil uji skrining fitokimia EEAB mengandung senyawa saponin, fenolik, flavonoid, terpenoid, dan steroid. Dari hasil uji penelitian menunjukkan EEAB positif senyawa saponin, fenolik, flavonoid, dan terpenoid dan memiliki potensi antioksidan pada dosis 200mg/KgBB.

Kata Kunci: antioksidan, akar bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk), tikus putih, kadar MDA, skrining fitokimia.

Abstract

Antioxidants are defined as natural or synthetic substances that can protect cells due to the oxidation process. Natural antioxidants obtained from nature, namely bajakah roots (*Spatholobus littoralis* Hassk), have been proven to have strong antioxidant potential activity *in vitro* using the DPPH method. Alloxan induction aims to create oxidative stress in test animals. This study aims to determine the phytochemical content of ethanol extract of bajakah roots (EEAB) and prove the activity of EEAB *in vivo* with the parameters of malondialdehyde (MDA) levels in the liver and blood plasma of alloxan mice. Bajakah roots were extracted using the maceration method with 96% ethanol solvent for 3 days. In this study, 30 rats were used, which were divided into six groups, namely normal control, positive control (Vitamin C), and groups 4-6, which were given EEAB doses of 50, 100, and 200 mg/kgBW, respectively. Alloxan induction is carried out intraperitoneally. Treatment

was carried out for 9 days. Blood sampling was done before treatment as a baseline, after alloxan induction, and on days 3, 6, and 9. Furthermore, on day 9, the rats were terminated to take the liver organs. Antioxidant activity was measured based on malondialdehyde (MDA) levels in the liver and blood plasma. The EEAB phytochemical screening test results contain saponin, phenolic, flavonoid, terpenoid and steroid compounds. The research test results show that EEAB is positive for saponin, phenolic, flavonoid, and terpenoid compounds and has antioxidant potential at 200 mg/KgBW.

Keywords: antioxidants, bajakah root (*Spatholobus littoralis* Hassk), white rat, MDA levels, phytochemical screening.

PENDAHULUAN

Aloksan adalah zat yang bersifat diabetogenik dan bersifat toksik terhadap sel beta pankreas. Aloksan yang diinduksikan pada tikus akan menyebabkan diabetes pada tikus tersebut. Mekanisme kerja aloksan yaitu menginduksi kerusakan pada sel beta pankreas. Kemampuan sel beta pankreas dalam penyerapan aloksan menjadi parameter kadar toksisitas dan sifat diabetogenik. Hal ini akan menyebabkan sel beta pankreas mengalami kerusakan setelah proses oksidasi gugus sulfhidril dan pembentukan radikal bebas (Yusarni et al., 2021).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas pada dasarnya bersifat tidak stabil dan sangat reaktif dalam penarikan elektron dari molekul lain dalam tubuh agar dapat stabil. Kemampuan radikal bebas berpengaruh pada kerusakan yang terjadi pada integritas lipid, protein, dan DNA yang menyebabkan peningkatan stres oksidatif seperti diabetes. Peroksidasi lemak pada membran sel akibat diserang oleh radikal bebas akan mengakibatkan sel mengalami kerusakan (Maharani et al., 2021). Stres oksidatif adalah kondisi yang ditandai dengan kadar radikal bebas yang tidak seimbang dengan antioksidan. Stres oksidatif terbentuk akibat produksi reaktif nitrogen spesies (RNS) atau reaktif oksigen spesies (ROS) secara berlebihan. Reaksi RNS dan ROS pada lipid berpotensi menghasilkan senyawa lain seperti Malondialdehid (MDA) (Gusniwan et al., 2024). Malondialdehid (MDA) adalah hasil dari peroksidasi lipid pada tubuh. Kadar MDA yang tinggi merupakan hasil dari proses oksidasi pada membran sel. Kadar MDA pada hati dan plasma menjadi tanda kerusakan jaringan dampak dari radikal bebas secara *in vivo*. Secara kimiawi, MDA bersifat lebih stabil yang dapat dimanfaatkan sebagai parameter stres oksidatif (Ayuningati et al., 2018).

Antioksidan merupakan senyawa yang berpotensi untuk mengurangi gangguan akibat radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan yaitu menyumbangkan satu elektron pada senyawa oksidan agar dapat menghambat aktifitas oksidan dalam tubuh. Produksi antioksidan secara alami dapat diproduksi sendiri oleh tubuh sebagai mekanisme perlindungan terhadap serangan radikal bebas seperti enzim superoksida dismutase (SOD), katalase (CAT), dan glutathion peroksidase (GPx) (Maharani et al., 2021). Selain antioksidan alami, radikal bebas dapat dinetralkan menggunakan antioksidan sintetik seperti butil hidroksi anisol (BHA) dan butil hidroksi toluen (BHT). BHA dan BHT merupakan senyawa fenolik, namun antioksidan sintetik yang digunakan terus-menerus dapat memberikan dampak buruk di dalam tubuh yang mengakibatkan beberapa efek negatif seperti alergi pada kulit, tumbuhnya tumor dan

kerusakan hati (Nurkhasanah et al., 2021). Penggunaan bahan alam dapat menjadi alternatif sebagai pengganti antioksidan sintetik karena lebih aman dan tidak menimbulkan efek samping yang serius seperti dapat memicu pertumbuhan kanker. Akar bajakah mengandung golongan senyawa tanin, saponin, fenolik, triterpenoid, flavonoid, dan alkaloid. Adanya kandungan flavonoid dalam akar bajakah dapat mengurangi kerusakan dan degenerasi pada sel beta pankreas. Kandungan senyawa fitokimia pada akar bajakah dapat menurunkan kadar gula darah dengan menjadi penghambat fosfodiesterase dan menurunkan stres oksidatif (Lung et al., 2018).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan fitokimia pada ekstrak etanol akar bajakah (EEAB) dan membuktikan aktivitas antioksidan EEAB secara *in vivo* dengan parameter kadar malondialdehid (MDA) pada hati dan plasma darah pada tikus yang diinduksi aloksan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang dipakai meliputi seperangkat *rotary evaporator*, *waterbath*, spektrofotometer UV-Vis (*Shimadzu*, Jepang), *Glucodr Biosensor*, *sentrifuge scientific* (*Gemmy PLS 05*, Taiwan), *sentrifuge minispin*, *grinder* (*Willman DE 500 g*, Indonesia), timbangan analitik (*Ohaus*, USA), timbangan hewan, gunting bedah, peralatan gelas, kertas saring, pipet tetes, mikro pipet, jarum sonde, masker, dan *handgloves*. Sedangkan bahan-bahan yang dipakai meliputi akuades, etanol 96%, ekstrak etanol akar bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk), tikus putih jantan galur Wistar, aloksan (*Alloxan monohydrate*, *Sigma Aldrich*®, Jerman), vitamin C 500 mg (Vitamin c promed 500 mg FC CAPL 100S, Indonesia), pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, FeCl_3 1%, magnesium 0,1 mg, 0,4 mg amil alkohol, pereaksi Liebermann-Burchard, HCL 2 N, EDTA, asam trikloroasetat (TCA), dan asam tiobarbiturat (TBA).

Persiapan Sampel

Akar bajakah (*Spatholobus littoralis* Hassk) diambil sebanyak 1 kg yang telah dicuci bersih, dikeringkan, dihaluskan menggunakan grinder, serbuk simplisia diambil, selanjutnya disimpan dalam wadah tertutup baik (Andriani et al., 2023).

Pembuatan Ekstrak Etanol Akar Bajakah

Wadah bejana dicuci sampai bersih, dikeringkan dan dibilas dengan menggunakan etanol. Untuk membuat ekstrak, ekstraksi serbuk simplisia akar bajakah dilakukan dengan metode maserasi dengan merendam 1000 gram simplisia pada 1500 mL etanol 96% selama 72 jam (1:3). Setelah itu dilakukan penyaringan larutan. Filtrat yang dihasilkan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan dipekatkan menggunakan *waterbath* suhu 50 °C. Ekstrak etanol akar bajakah yang didapatkan yaitu ekstrak kental dengan warna gelap, lalu ekstrak etanol akar bajakah ditimbang kemudian dihitung rendemen ekstraknya. EEAB dimasukkan ke dalam refrigerator agar tidak terkontaminasi (Hasna et al., 2021).

Skrining Fitokimia

1. Uji Terpenoid

Uji deteksi terpenoid EEAB dimasukkan 1 mL ekstrak ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 tetes pereaksi Lieberman-Burchard. Hasil positif terpenoid jika menghasilkan warna merah/ungu (Manongko et al., 2020).

2. Uji Fenolik

Uji deteksi fenolik EEAB 1 mL dimasukkan ekstrak ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 tetes FeCl_3 1%. Hasil uji positif mengandung fenolik menghasilkan warna hijau kehitaman atau biru kehitaman (Manongko et al., 2020).

3. Uji Alkaloid

Uji deteksi alkaloid dimasukkan EEAB ke dalam tabung reaksi, ditambahkan pereaksi Mayer. Hasil positif terdapat senyawa alkaloid yaitu terbentuknya endapan putih hingga kekuningan pada tabung (Manongko et al., 2020).

4. Uji Saponin

Uji deteksi saponin ditimbang 2 gram sampel kemudian dimasukkan ke dalam air panas, selanjutnya diikuti dengan penambahan beberapa tetes HCl pekat. Hasil positif terdapat saponin apabila terdapat busa permanen kurang lebih lima belas menit (Julianto et al., 2019).

5. Uji Flavonoid

Uji deteksi flavonoid ditimbang 2 gram sampel EEAB, ditambahkan ke dalam air panas, kemudian dicampur dengan sedikit serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat lalu dikocok. Hasil positif apabila terbentuk warna merah, kuning atau jingga (Julianto et al., 2019).

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan yaitu tikus putih betina galur Wistar. Aklimatisasi tikus dilakukan selama 7 hari agar tikus dapat menyesuaikan diri dengan suasana laboratorium dan menghindari stres karena perjalanan. Tikus ditempatkan pada kandang dengan ukuran kurang lebih 18 x 50 x 30 cm dan pada suhu ruang 22-24 °C dan kelembaban 50-60% dengan ventilasi baik. Hewan uji yang digunakan berjumlah 30 ekor dengan bobot badan 150-200 gram berbadan sehat. Tikus dibagi dalam 6 kelompok perlakuan. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus putih yang ditentukan secara acak. Kelompok 1 sebagai kontrol normal, kelompok 2 sebagai kontrol positif, kelompok 3 sebagai kontrol negatif, kelompok 4 hingga 6 sebagai kelompok perlakuan. Rincian perlakuan hewan uji sebagai berikut:

1. Kelompok perlakuan 1 yaitu kontrol normal (P1) tikus diberi pakan standar dan akuades
2. Kelompok perlakuan 2 yaitu kontrol positif (P2) tikus diinduksi aloksan 150 mg/kgBB dan diberikan vitamin C 500 mg/kgBB/ hari
3. Kelompok perlakuan 3 yaitu kontrol negatif (P3) tikus diinduksi aloksan 150 mg/kgBB secara intraperitoneal
4. Kelompok perlakuan 4 (P4) terdiri dari tikus yang diinduksi aloksan 150 mg/kgBB dan diberikan EEAB 50 mg/ kgBB /hari
5. Kelompok perlakuan 5 (P5) terdiri dari tikus yang diinduksi aloksan 150 mg/kgBB dan diberikan EEAB 100 mg/ kgBB /hari
6. Kelompok perlakuan 6 (P6) terdiri dari tikus yang diinduksi aloksan 150 mg/kgBB dan diberikan EEAB 200 mg/ kgBB /hari.

Persiapan Induksi Aloksan

Sebelum induksi, dilakukan pengukuran kadar gula darah sebelum induksi sebagai *baseline*, kemudian hewan uji tikus diberi perlakuan induksi aloksan dengan dosis 150 mg/kgBB intraperitoneal. Pengukuran kadar gula darah tikus dilakukan setelah 72 jam. Hasil pengukuran kadar gula darah tikus yang telah diinduksi aloksan dinyatakan sebagai *post* aloksan (Ulfa et al., 2020). Dilanjutkan pengukuran kadar gula darah secara berkala kadar gula darah tikus pada hari ke-3, 6, dan 9.

Pengukuran Kadar Gula Darah

Sebelum pengecekan kadar gula darah, tikus dipuasakan selama kurang lebih 10 jam. Bagian ujung ekor tikus dipotong sepanjang 0,5 mm untuk pemeriksaan kadar gula darah. Tetesan darah yang pertama dibersihkan, darah selanjutnya diteteskan pada *reagen strip*. Lalu diukur kadar gula darahnya menggunakan alat *Glucodr Biosensor*. Hasil pengukuran yang ditampilkan pada layar adalah nilai kadar gula darah dengan satuan mg/dL.

Pembuatan Kurva Baku MDA

Larutan stok pereaksi 1,1,3,3- *tetrametoksiopropana* (TMP) diencerkan menjadi 5; 7; 11; 15; 19; 23; 27; 31; 35; dan 39 μM . Setiap konsentrasi TMP direaksikan dengan 1,0 mL TCA 20% dan 1,0 mL TBA 1%. Larutan yang telah homogen dipanaskan dalam *waterbath* pada suhu 95 °C selama 15 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Kemudian larutan disentrifugasi pada 1000 rpm selama 15 menit. Supernatan pada lapisan atas diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 532 nm (Ubaidah et al., 2023).

Pengambilan Sampel Darah dan Hati

Pada hari terakhir perlakuan tikus dipuasakan selama 16 jam sebelum dikorbankan, selanjutnya dilakukan pengambilan sampel darah dan organ hati. Sampel darah diambil 1 mL melalui vena ekor. Sampel darah yang telah dikumpulkan dimasukkan ke dalam tabung yang telah diberikan larutan EDTA 10%, disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Plasma darah yang terbentuk dari hasil sentrifugasi diambil untuk pengukuran kadar MDA pada plasma darah. Setelah pengambilan sampel darah, tikus dikorbankan dengan melakukan dislokasi leher, selanjutnya organ hati dibersihkan dan dicincang halus, ditimbang sebanyak 0,5 gram.

Pengukuran Kadar MDA Hati dan Darah

Hati yang telah diambil dicincang hingga halus dan ditimbang sebanyak 0,5 gram, kemudian ditambahkan 4 mL asam trikloroasetat (TCA) 10% lalu divortex selama 1 menit. Kemudian disentrifugasi (EBA Hettich) dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Supernatan hasil sentrifugasi ditambahkan 2,5 mL larutan asam tiobarbiturat (TBA) 0,02 M, lalu divortex selama 1 menit sampai homogen. Larutan homogen lalu dipanaskan dengan *waterbath* pada suhu 100° C selama 10 menit. Pendinginan larutan dilakukan pada air mengalir kemudian serapannya diukur dengan panjang gelombang 532 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Data absorbansi diukur untuk mengetahui konsentrasi MDA (Trisanti et al., 2013) . Plasma yang telah didapatkan dimasukkan ke dalam *microtube* yang telah ditambahkan larutan EDTA 10%, 200 μL plasma darah dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi kemudian ditambah 1 mL trikloroasetat 10% dan 2 mL asam tiobarbiturat (TBA). Sampel kemudian divortex hingga homogen, setelah itu dipanaskan dengan *waterbath* pada

suhu 100°C selama 10 menit. Absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 532 nm (Wulandari et al., 2021).

Analisis Data

Data yang didapatkan kemudian dilakukan uji normalitas dengan metode *Saphiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan metode *Levene*. Data normal dinyatakan dengan ($p > 0,05$) dan data homogen dinyatakan dengan ($p > 0,05$), data terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* dengan taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$) dengan $\alpha = 0,05$ untuk mengetahui perbedaan kadar MDA pada semua kelompok. Kemudian, dilakukan analisis *Post-Hoc Tukey HSD (Honestly Significance Different)* agar dapat mengetahui perbedaan signifikan pada tiap kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Skrining Fitokimia

Hasil maserasi EEAB diperoleh ekstrak pekat akar bajakah yaitu 123,37 gram dari 1000 gram simplisia, pelarut etanol 96% digunakan sebanyak 1500 mL, hasil persentase rendemen EEAB yaitu 12,3%. Data hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa EEAB mengandung senyawa saponin, fenolik, flavonoid, dan terpenoid. Skrining fitokimia EEAB terdapat senyawa metabolit sekunder yaitu saponin, fenolik, flavonoid, dan terpenoid. Hasil pemeriksaan alkaloid pada EEAB tidak menunjukkan adanya endapan putih dan endapan coklat pada EEAB yang dapat dirujuk pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Akar Bajakah

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil		Keterangan
		Pustaka	Pengamatan	
Alkaloid	Mayer	Endapan putih (Febriyanti et al., 2021)	Tidak terbentuk endapan putih	(-)
	Wagner	Endapan coklat (Febriyanti et al., 2021)	Tidak terbentuk endapan coklat	(-)
Saponin	HCl ₂ N	Buih yang stabil selama kurang lebih 10 menit (Julianto, 2019)	Terdapat buih yang stabil selama kurang lebih 10 menit	(+)
Fenolik	FeCl ₃ 1%	Hijau kehitaman atau biru kehitaman (Febriyanti et al., 2021)	Terbentuk warna hijau kehitaman	(+)
Flavonoid	Wilstatter	Merah, kuning atau jingga (Julianto, 2019)	Terbentuk warna jingga	(+)
Terpenoid	Lieberman-Burchard	Merah atau ungu (Febriyanti et al., 2021)	Terbentuk warna merah	(+)

Keterangan: (+) : Senyawa terdeteksi; (-): Senyawa tidak terdeteksi

Flavonoid merupakan salah satu senyawa polifenol yang mempunyai sifat antioksidan. Senyawa flavonoid pada tanaman akar bajakah bersifat protektif pada kerusakan sel β yang mengakibatkan sel-sel β pankreas yang rusak dapat diregenerasi dan meningkatkan daya kerja reseptor insulin (Azzahra et al., 2022) . Senyawa saponin yang terkandung pada akar

bajakah memiliki aktivitas sebagai antioksidan karena saponin mampu meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hiperoksida sehingga mampu mencegah kerusakan biomolekuler oleh radikal bebas. Saponin steroid adalah salah satu turunan saponin yang tersusun atas inti steroid (C27) dan molekul karbohidrat (Hasan et al., 2022). Senyawa fenolik memiliki aktivitas antioksidan yang dapat membantu melindungi sel terhadap kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas karena berpotensi sebagai antioksidan dengan menetralkan anion superoksida, oksigen singlet, radikal peroksi lipid, serta menstabilkan radikal bebas yang terlibat dalam proses oksidatif melalui hidrogenasi atau pembentukan kompleks dengan spesies pengoksidasi. Beberapa turunan senyawa fenolik antara lain resorsinol, katekol, orsinol, floroglusinol dan pirogalol (Asih et al., 2021). Terpenoid dapat digunakan sebagai sumber antioksidan alami karena memiliki kapasitas antioksidan yang membantu mencegah penyakit kardiovaskular (CVD) atau kanker. Turunan terpenoid adalah senyawa yang berasal dari terpena, yaitu senyawa organik yang ditemukan pada tanaman dan serangga (Azalia et al., 2023).

Hasil Pengukuran Kadar Gula Darah (KGD)

Analisis pengukuran kadar gula darah dilakukan 72 jam setelah pemberian aloksan. Tikus dianggap diabetes jika Kadar Gula Darah (KGD) ≥ 140 mg/dL (Setadi et al., 2020). Hasil pengukuran kadar gula darah dalam penelitian ini, dapat dirujuk pada tabel 2 berikut.

Tabel 2. Rata – Rata Kadar Gula Darah (KGD) Setelah Perlakuan

Perlakuan	Baseline	Post Aloksan	Hari ke-3	Hari ke-6	Hari ke-9	% Penurunan KGD/Hari			% Penurunan Hari Ke-9
						Hari Ke-3	Hari Ke-6	Hari Ke-9	
Kontrol Normal(mg/dL)	113,20 $\pm 28,70$	113,40 $\pm 28,83$	113,60 $\pm 25,70$	116,60 $\pm 22,17$	116,60 $\pm 21,87$	-0,18	-2,27	0,00	-2,74
Kontrol Positif (mg/dL)	113,20 $\pm 12,98$	356,80 $\pm 17,84$	351,20 $\pm 20,31$	256,00 $\pm 18,26$	169,80 $\pm 16,97$	1,59	37,19	50,77	98,44
Kontrol Negatif (mg/dL)	120,20 $\pm 5,16$	349,60 $\pm 43,60$	350,20 $\pm 40,34$	355,20 $\pm 21,44$	351,20 $\pm 10,80$	-0,17	-1,41	1,14	-0,46
Perlakuan 50 mg/ kg BB /hari	122,00 $\pm 12,29$	343,00 $\pm 42,84$	344,20 $\pm 44,82$	340,20 $\pm 42,28$	332,60 $\pm 37,97$	-0,35	1,18	2,29	3,13
Perlakuan 100 mg/kg BB /hari	127,80 $\pm 21,20$	324,80 $\pm 31,18$	322,60 $\pm 31,15$	316,4 $\pm 26,35$	299,20 $\pm 13,31$	-0,68	1,96	5,75	8,56
Perlakuan 200 mg/Kg BB /hari	127,40 $\pm 11,06$	358,20 $\pm 25,44$	349,40 $\pm 25,33$	284,60 $\pm 18,03$	187,20 $\pm 9,628$	2,52	22,77	52,03	72,88

Keterangan: (-) Tidak terjadi penurunan KGD

Hasil analisis dengan ANOVA menunjukkan pengaruh pemberian EEAB pada kadar glukosa darah tikus menyatakan hasil yang berbeda nyata ($P < 0,05$). KGD meningkat secara signifikan pada kelompok perlakuan yang diinduksi aloksan. Aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel β pankreas. Kerusakan akibat induksi aloksan mempunyai dua mekanisme kerja yaitu menghalangi sekresi insulin secara selektif dengan cara merusak sel β pankreas melalui kompetisi selektif *up take* senyawa dengan perantara GLUT 2, sedangkan mekanisme kerja

yang kedua adalah induksi pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menyebabkan nekrosis selektif sel β pankreas (Mason, 2023).

Asam askorbat atau Vitamin C berperan sebagai molekul pembantu yang berperan sebagai antioksidan. Dalam sebuah penelitian, kejadian retinopati diabetik 50% lebih rendah pada subjek dengan asupan buah dan vitamin C yang tinggi. Meningkatnya kebutuhan vitamin C oleh penderita diabetes dapat berfungsi untuk menahan peningkatan stres oksidatif. Hubungan antara asam askorbat plasma dan kerusakan DNA pada pasien DM tipe II menunjukkan bahwa penderita diabetes yang tidak terkontrol mungkin mendapat manfaat dari peningkatan vitamin C (Kamrul et al., 2017). Terdapat hubungan yang berbanding terbalik antara asam askorbat plasma dan kerusakan DNA pada pasien DM tipe II. Pada penderita diabetes yang tidak terkontrol kadar gula darahnya mungkin mendapat manfaat dengan adanya peningkatan asupan vitamin C dalam makanannya. Suplementasi 1000 mg asam askorbat per hari selama dua minggu telah terbukti secara signifikan mengurangi sorbitol eritrosit dan sorbitol sel darah merah secara signifikan, dan mungkin hal ini dapat menjadi alternatif sebagai pencegahan yang sederhana, aman dan efektif dan memperbaiki komplikasi kronis pada diabetes (Kardina et al., 2021). Peran vitamin C pada tikus yang mengalami diabetes adalah sebagai penghambat enzim *aldose reductase* (AR). *Aldose reductase* dihambat oleh vitamin C untuk mencegah penumpukan sorbitol yang dapat menyebabkan kerusakan sel (Sunarti et al., 2022). Vitamin C secara struktural mirip dengan glukosa dan dapat menggantikan glukosa dalam berbagai reaksi kimia, sehingga dapat efektif untuk pencegahan reaksi glikasi non enzimatis pada hiperglikemia. Glikosilasi adalah reaksi yang terjadi antara protein dan glukosa pada konsentrasi tinggi yang dapat menyebabkan stress oksidatif (Pitaloka & Juwariyah, 2021). Vitamin C secara signifikan dapat menurunkan kadar MDA pada pasien DM tipe II, akan tetapi buktinya masih terbatas karena jumlah penelitian tentang hal tersebut yang masih relatif sedikit (Mason et al., 2023). Penurunan kadar gula darah tidak hanya dipengaruhi oleh asupan vitamin C, tetapi juga dipengaruhi oleh konsumsi obat oral anti diabetes, hal ini dikarenakan kadar vitamin C bukan merupakan senyawa utama yang berperan dalam proses pengendalian kadar glukosa dalam tubuh (Kardina et al., 2021).

Penurunan Berat Badan Tikus

Penurunan berat badan pada tikus terjadi karena induksi aloksan merusak sel β pankreas sehingga menyebabkan penurunan produksi insulin didalam tubuh. Ketika glukosa dalam tubuh tidak terpenuhi dengan baik maka sumber energi lain seperti lemak dan protein diubah menjadi sumber energi, sehingga tikus mengalami penurunan berat badan (Rokhmah et al., 2021). Penurunan pada berat badan tikus dengan perlakuan induksi aloksan juga menjadi parameter tikus yang mengalami diabetes. Data rata-rata berat badan tikus dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rata – Rata Penurunan Berat Badan Tikus (g) Selama Perlakuan

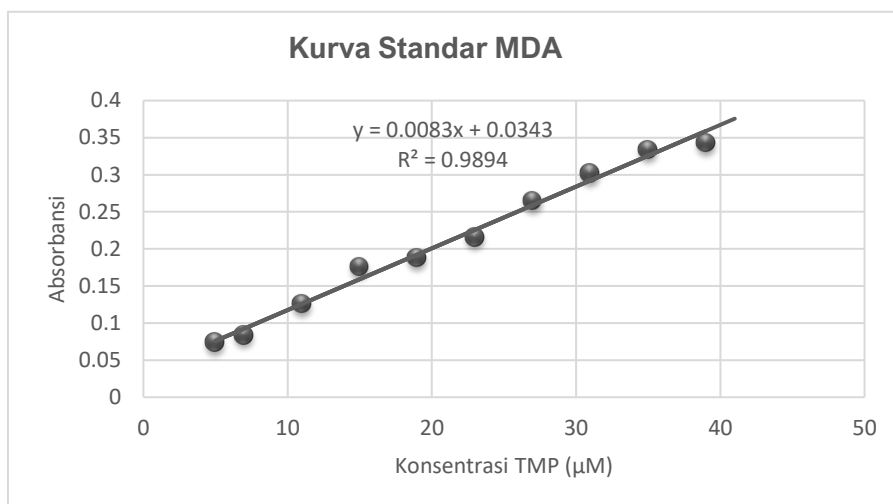
Perlakuan	Baseline	Post aloksan	Hari terakhir perlakuan	% penurunan berat badan
Kontrol Normal (g)	180,80 ±11,256	184,20 ±10,66	184,60 ±9,88	-2,06
Kontrol Positif(g)	169,00 ±16,32	160,60 ±18,18	162,40 ±16,22	4,06
Kontrol Negatif(g)	169,80 ±14,57	162,60 ±12,32	155,60 ±11,10	9,13
Perlakuan EEAB 50 mg/ kgBB /hari	172,20 ±21,93	167,20 ±18,52	159,60 ±19,85	7,89
Perlakuan EEAB 100 mg/kgBB /hari	173,00 ±10,95	166,20 ±9,73	162,60 ±8,98	6,40
Perlakuan EEAB 200 mg/ KgBB/hari	185,00 ±17,52	178,20 ±17,92	173,80 ±17,51	6,44

Keterangan: (-) Tidak terjadi penurunan berat badan

Tikus yang telah diinduksi dengan aloksan akan mengalami penurunan berat badan karena diabetes. Penurunan berat badan dengan persentase terbesar terjadi pada kelompok kontrol negatif yaitu 9,13%. Perbaikan jaringan hati juga berdampak pada peningkatan insulin dalam tubuh sehingga menyebabkan glukosa dalam darah dapat masuk ke dalam sel sehingga KGD dalam tubuh akan menurun. Peran senyawa antioksidan fenolik yang terdapat pada EEAB dapat merangsang penyerapan glukosa di jaringan perifer, mengatur aktivitas dan ekspresi enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat. Selain itu, dapat pula berperan mempengaruhi mekanisme sinyal insulin (Priyanto et al., 2023). Kerusakan yang terjadi pada jaringan hati ini karena meningkatnya kadar glukosa darah pada pemberian aloksan dan dapat disebabkan oleh dua proses yaitu terbentuknya radikal bebas dan kerusakan permeabilitas membran sel sehingga terjadi kerusakan sel beta pankreas yang berfungsi menghasilkan insulin (Azzahra et al., 2022).

Hasil Pengukuran Kurva Standar MDA

Hasil pengukuran kurva standar MDA dilakukan dengan 1,1,3,3- *tetrametoksipropana* (TMP). Hasil serapan yang didapatkan dari 10 konsentrasi larutan standar MDA yaitu absorbansi dengan kurva yang linear, semakin besar konsentrasi standar MDA didalam larutan maka serapan yang terbaca semakin besar (Ubaidah et al., 2023). Hasil pengukuran kurva standar MDA dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Kurva Standar MDA

Perlakuan pada hari ke 9 menunjukkan bahwa pemberian EEAB berpengaruh terhadap kadar gula darah tikus diabetes. KGD sebelum induksi aloksan pada tiap kelompok berada pada kisaran normal yaitu 70-140 mg/dL. Kadar gula darah mengalami penurunan paling signifikan pada hari ke-9 pada kelompok perlakuan 6 dengan rata-rata 187,2 mg/dL dengan persentase penurunan 72,88%. Berdasarkan hasil analisis statistik, kelompok perlakuan EEAB dosis 200 mg/kgBB menunjukkan perbedaan secara signifikan pada perlakuan kontrol negatif. Hasil tersebut menunjukkan pemberian EEAB dosis 200 mg/kgBB dapat menurunkan KGD tikus yang diinduksi aloksan, tetapi tidak dapat mengembalikan kadar glukosa darah seperti kondisi normal.

Pengujian secara *in vivo* menyatakan terdapat perbedaan kadar MDA pada hati dan plasma darah pada tikus diabetes. Kelompok kontrol normal memiliki kadar MDA terendah dibandingkan dengan kelompok kontrol yang diinduksi aloksan pada organ hati maupun plasmadarah. Berdasarkan hasil pengukuran MDA Hati dan plasma darah, tikus perlakuan kontrol normal pada hati memiliki kadar sebesar $3,478 \pm 0,501 \mu\text{g/mL}$ dan pada plasma darah $2,678 \pm 0,230 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil pengukuran MDA Hati dan plasma darah, tikus perlakuan kontrol normal pada hati memiliki kadar sebesar $3,478 \pm 0,501 \mu\text{g/mL}$ dan pada plasma darah $2,678 \pm 0,230 \mu\text{g/mL}$. Kadar MDA tertinggi dinyatakan pada kelompok kontrol negatif yang diinduksi aloksan dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, yaitu pada hati sebesar $10,848 \pm 0,489 \mu\text{g/mL}$ dan pada darah $6,248 \pm 0,535 \mu\text{g/mL}$. Hasil pengukuran kadar MDA hati dan plasma darah tikus menggunakan uji TBA, didapatkan hasil perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dibanding kontrol negatif (terlihat pada Tabel 4).

Tabel 4. Rata-Rata Kadar MDA ($\mu\text{g/mL}$) Pada Tikus

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kadar MDA ($\mu\text{g/mL}$)	
	Hati	Plasma Darah
Kontrol Normal	3,478 \pm 0,501	2,678 \pm 0,230
Kontrol Positif	4,232 \pm 0,440	2,442 \pm 0,406
Kontrol Negatif	10,848 \pm 0,489	6,248 \pm 0,535
EEAB 50 mg/KgBB	5,178 \pm 0,699*	3,956 \pm 0,501*
EEAB 100 mg/KgBB	4,716 \pm 0,253*	3,552 \pm 0,602*
EEAB 200 mg/KgBB	4,320 \pm 0,408*	2,728 \pm 0,570*

Keterangan: *Berbeda bermakna dengan kontrol negatif ($p < 0,05$)

Hasil analisis statistik ANOVA menunjukkan perbandingan rata-rata kadar MDA antara tikus kontrol normal dan kontrol negatif berbeda nyata yaitu $p < 0,05$. Hal ini membuktikan bahwa fungsi aloksan sebagai penginduksi berhasil dilakukan. Kelompok perlakuan 6 (EEAB 200 mg/KgBB) memiliki perbandingan kadar MDA terdekat dengan kelompok kontrol normal yaitu pada hati 4,320 \pm 0,408 $\mu\text{g/mL}$ dan pada plasma darah 2,728 \pm 0,570 $\mu\text{g/mL}$ (Tabel 4). Hal ini menunjukkan potensi antioksidan EEAB yang mampu menurunkan kadar MDA akibat induksi aloksan. Pengukuran MDA pada hati dilakukan karena sel hati merupakan jaringan utama yang menjadi sasaran peningkatan radikal bebas. Hiperglikemia akan menyebabkan terjadinya sintesis asam lemak dalam hati sehingga terjadi akumulasi asam lemak dalam hati yang dapat memicu terjadinya senyawa radikal bebas (Andayani et al., 2021). Turunnya kadar MDA menjadi parameter penurunan kadar radikal bebas dalam tubuh. Kelompok kontrol positif yaitu vitamin C dapat menghambat kerusakan oksidatif pada sel dengan mengurangi efek negatif dari kelebihan oksidan yang disebabkan oleh kadar gula darah yang tinggi. Berdasarkan hasil uji statistik, terdapat perbedaan yang signifikan pada kadar MDA tikus kontrol negatif dengan tikus kelompok perlakuan 6 (EEAB dosis 200 mg/kgBB). Berdasarkan hasil yang diperoleh, EEAB dapat menurunkan kadar radikal bebas dalam tubuh. Penurunan kadar MDA mendekati perlakuan pada kelompok kontrol normal. Senyawa fenolik pada EEAB diduga dapat menurunkan kadar radikal bebas, mengurangi pembentukan singlet oksigen, dan pengkelat logam.

KESIMPULAN

Skrining fitokimia ekstrak etanol akar bajakah (EEAB) menunjukkan hasil positif mengandung golongan senyawa saponin, fenolik, flavonoid, dan terpenoid. Ekstrak etanol akar bajakah (EEAB) secara *in vivo* menunjukkan potensi antioksidan dengan menurunkan kadar MDA tikus putih yang diinduksi aloksan. Penurunan MDA terjadi EEAB dosis 50, 100, dan 200 mg/kgBB. Ekstrak etanol akar bajakah dosis 200 mg/KgBB memiliki penurunan kadar MDA terbesar dibanding kontrol negatif yaitu pada hati 4,320 \pm 0,408 $\mu\text{g/mL}$ dan plasma darah 2,728 \pm 0,570 $\mu\text{g/mL}$. Penurunan kadar MDA pada hati dan plasma darah menunjukkan bahwa ekstrak etanol akar bajakah (EEAB) memiliki potensi sebagai antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, L., Yulion, R., Manora, O. S., & Nanda, R. B. (2023). Uji toksisitas akut LD50 ekstrak batang bajakah tampala (*spatholobus littoralis* hassk.) dan batang bajakah kuning (*arcangelisia flava* (L.) Merr.) pada mencit putih (mus musculus). *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 8(1), 337-344. <https://doi.org/10.37874/ms.v8i1.537>
- Asih, D. J., Warditiani, N. K., & Wiarsana, I. G. S. (2022). Review artikel: aktivitas antioksidan ekstrak Amla (*phyllanthus emblica/emblica officinalis*). *Humantech: Jurnal Ilmiah Multidisiplin Indonesia*, 1(6), 674-687. <https://doi.org/10.32670/ht.v1i6.1533>.
- Ayuningati, L. K., Murtiastutik, D., & Hoetomo, M. (2018). Perbedaan kadar malondialdehid (MDA) pada pasien dermatitis atopik dan nondermatitis atopik. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*, 30(1), 58-65. <http://repository.unair.ac.id/id/eprint/95894>.
- Azalia, D., Rachmawati, I., Zahira, S., Andriyani, F., Sanini, T. M., Supriyatin, S., & Aulya, N. R. (2023). Uji kualitatif senyawa aktif flavonoid dan terpenoid pada beberapa jenis tumbuhan fabaceae dan apocynaceae di kawasan bodogol. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 8(1), 32-43. <https://journal.unhas.ac.id/index.php/bioma/issue/view/1226>.
- Azzahra, A., Farhani, N., Syahfitri, W., Fatahillah Pasaribu, S. (2022). Potensi kandungan flavonoid dalam kayu bajakah sebagai antidiabetes. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 6(2), 14345-14350. <https://doi.org/10.31004/jptam.v6i2.4708>.
- Dewi, S. R., Argo, B. D., & Ulya, N. (2018). Kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak pleurotus ostreatus. *Rona Teknik Pertanian*, 11(1), 1-10. <https://doi.org/10.17969/rtp.v11i1.9571>.
- Gusnurwan, A., & Sangging, P. R. A. (2024). Tinjauan: Malondialdehyde (MDA) sebagai marker stres oksidatif berbagai penyakit. *Medical Profession Journal of Lampung*, 14(2), 321-325. <https://doi.org/10.53089/medula.v14i2.990>.
- Hasan, H., Thomas, N. A., Hiola, F., Ramadhani, F. N., & Ibrahim, A. S. (2022). Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan kulit batang matoa (*pometia pinnata*) dengan metode 1, 1-diphenyl-2-picrylhidrazyl (DPPH). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 2(1), 67-73. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v2i1.10995>.
- Hasna, L. Z., Sehkaemi, P., & Aviciena, M. A. (2021). Akar kayu bajakah dan manfaatnya untuk kesehatan. *FoodTech: Jurnal Teknologi Pangan*, 4(1), 32-39. <https://doi.org/10.26418/jft.v4i1.56637>.
- Julianto, T. S. (2019). Fitokimia tinjauan metabolit sekunder dan skrining fitokimia. *Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia*.
- Kamrul Hasan, A. B. M., Islam, A., Islam, M., & Selim, S. (2017). Vitamins and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Diabetol*, 4(1), 3-9.
- Kardina, R. N., Nuriannisa, F., Andini, A., & Anita, A. (2021). Hubungan asupan bahan makanan sumber vitamin d dan vitamin c terhadap penurunan glukosa darah pada responden terindikasi diabetes mellitus tipe ii. *Journal of Islamic Medicine*, 5(1), 20-26. <https://Doi.Org/10.18860/Jim.V5i1.11433>.
- Kodariah, L., Maulana, W., & Murtafi'ah, N. M. (2022). Pengaruh rebusan daun sukun terhadap histologi hati mencit yang diinduksi aloksan. In *Basic and Applied Medical Science Conference* (Vol. 1, No. 1, pp. 010-019). <http://prosiding.gunabangsa.ac.id>.

- Lung, J. K. S., & Destiani, D. P. (2017). Uji aktivitas antioksidan vitamin A, C, E dengan metode DPPH. *Farmaka*, 15(1), 53-62. <https://doi.org/10.24198/jf.v15i1.12805>.
- Maharani, A. I., Riskierdi, F., Febriani, I., Kurnia, K. A., Rahman, N. A., Ilahi, N. F., & Farma, S. A. (2021). Peran antioksidan alami berbahan dasar pangan lokal dalam mencegah efek radikal bebas. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi* (Vol. 1, No. 2, pp. 390-399). <https://doi.org/10.24036/prosemmasbio/vol1/355>.
- Manongko, P. S., Sangi, M. S., & Momuat, L. I. (2020). Uji senyawa fitokimia dan aktivitas antioksidan tanaman patah tulang (*euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal Mipa*, 9(2), 64-69. <https://doi.org/10.35799/jmuo.9.2.2020.28725>.
- Mason, S. A., Parker, L., van der Pligt, P., & Wadley, G. D. (2023). Vitamin C supplementation for diabetes management: A comprehensive narrative review. *Free Radical Biology and Medicine*, 194, 255-283. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2022.12.003>.
- Nurkhasanah, M. A., Si, A., Mochammad, S., Bachri, S., Si, M., Si, D. S., & Yuliani, M. P. (2021). *Antioksidan Dan Stres Oksidatif*. UAD Press.
- Pitaloka, Y. D., & Juwariyah, S. (2021). Efek pemberian buah naga merah (*hylocereus polyrhizus*) terhadap penurunan kadar glukosa darah pada penderita diabetes tipe 2. *Jurnal Manajemen Asuhan Keperawatan*, 5(2), 97-103. <https://doi.org/10.33655/mak.v5i2.120>.
- Priyanto, Y., Christijanti, W., Lisdiana, L., & Marianti, A. (2023). Aktivitas antioksidan daun kelor pada tikus diabetik induksi aloksan. *Life Science*, 12(1), 97-106. <https://doi.org/10.15294/lifesci.v12i1.65968>.
- Rokhmah, N. N., Rustiani, E., Ambiya, M. N. (2021). Efektivitas antidiabetes tablet polih herbal pada model tikus diabetik. *SERINA III*. <https://journal.untar.ac.id>.
- Rosyadi, I., Romadhona, E., Utami, A. T., Hijrati, Y. N., & Santosa, C. M. (2018). Gambaran Kadar Gula Darah Tikus Wistar Diabetes Hasil Induksi Streptozotocin Dosis Tunggal. *Arshi Veterinary Letters*, 2(3), 41-42. <https://doi.org/10.29244/Avl.2.3.41-42>
- Setiadi, E., Peniati, E., & Susanti, R. S. R. (2020). Pengaruh ekstrak kulit lidah buaya terhadap kadar gula darah dan gambaran histopatologi pankreas tikus yang diinduksi aloksan. *Life science*, 9(2), 171-185. <https://doi.org/10.15294/lifesci.v9i2.47160>.
- Sunarti, S., Wahyudin, E., & Kasim, H. (2022). Efek asam askorbat menurunkan indeks aterogenik dan kadar gula darah tikus diabetes mellitus induksi aloksan. *Journal Of Experimental And Clinical Pharmacy (Jecp)*, 2(1), 1. <http://dx.doi.org/10.52365/jecp.v2i1.303>.
- Trisanti, I., Fatimawali, F., & Bodhi, W. (2013). Uji efek hepatoprotektor ekstrak etanol daun benalu langsung (*dendrophthoe petandra* (L.) Miq.) terhadap kadar malondialdehid (mda) pada hati tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi karbon tetraklorida (CCl₄). *PHARMACON*, 2(3). <https://doi.org/10.35799/pha.2.2013.2383>.
- Ubaidah, S. S., & Mukaromah, A. H. (2023). Efek ekstrak etanol daun kesum terhadap penurunan kadar malondialdehid lambung tikus putih terinduksi monosodium glutamate. In *Prosiding Seminar Kesehatan Masyarakat [Proceeding of Public Health Seminar]* (Vol. 1, No. Oktober, pp. 114-122). <https://doi.org/10.26714/pskm.v1iOktober.249>.

- Ulfa, A. M., Nofita, N., & Bonita, B. N. (2020). Uji aktivitas penurunan kadar glukosa darah ekstrak etanol kulit jeruk nipis (*citrus aurantifolia*) pada tikus jantan sprague dawley yang diinduksi aloksan. *JFM (Jurnal Farmasi Malahayati)*, 3(2), 126-138. <https://doi.org/10.33024/jfm.v3i2.3799>.
- Wulandari, T. R. I., Harini, M., & Listyawati, S. (2021). Pengaruh pemberian ekstrak daun sambiloto (*andrographis paniculata*) terhadap struktur mikroanatomi hepar dan kadar glutamat piruvat transaminase serum mencit (*mus musculus*) yang terpapar diazinon. *Bioteknologi*, 4(2), 53–58. <https://Doi.Org/10.13057/Biotek/C040204>.
- Yusasrini, N. L. A., & Mayun, I. D. G. P. (2021). Perubahan kadar malondialdehid hati dan ginjal tikus diabetik yang diberi diet rumput laut caulerpa racemosa. *Scientific Journal of Food Technology*, 8(1), 09-17. <https://ojs.unud.ac.id>.