

## **BAB 1**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1 Latar Belakang**

Diabetes melitus adalah penyakit yang berhubungan dengan metabolisme kadar gula dalam darah. Penyakit ini menjadi salah satu gangguan metabolisme yang terus meningkat dan mengkhawatirkan di seluruh dunia. Diabetes melitus disebabkan oleh gangguan metabolik kronis yang ditandai dengan hiperglikemia atau tingginya kadar gula dalam darah karena gangguan pada sekresi insulin. Kondisi ini dapat menyebabkan kerusakan pembuluh darah, saraf, dan organ lainnya. Menurut data International Diabetes Federation prevalensi diabetes melitus di seluruh dunia mencapai 537 juta, sedangkan menurut laporan Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur prevalensi diabetes melitus di Surabaya mencapai 96.280 orang pada tahun 2021 (Budianto *et al.*, 2022).

Masyarakat Indonesia umumnya lebih menyukai obat yang mengandung bahan alami untuk mengobati berbagai macam penyakit karena efek samping lebih kecil dibandingkan dengan penggunaan obat kimia dan lebih ekonomis sebagai alternatif obat bagi pasien penyakit diabetes melitus (Fatikhurokhmah and Agustini, 2022). Kandungan senyawa metabolit sekunder dalam tanaman obat dapat digunakan untuk kesehatan. Salah satu tanaman obat yang digunakan ialah brotowali (*Tinospora crispa*) untuk menurunkan kadar gula darah. Brotowali digunakan sejak awal abad ke-20 sebagai pengobatan diabetes melitus dengan cara mengolah batangnya menjadi tepung dan dijual dalam kemasan sachet yang biasa disebut ouwel antidiabetik dan pemberiannya secara oral (Pujiyanto *et al.*, 2019).

Brotowali merupakan tanaman perdu, merambat yang kaya akan antioksidan dan telah banyak digunakan untuk pengobatan tradisional di

Amerika, India, Vietnam, Thailand, Malaysia dan Indonesia. Menurut Pujiyanto (2019) brotowali berkhasiat mengobati berbagai penyakit seperti cacar air, cacingan, penyakit kuning, trakoma, kolera, dan diabetes melitus. Brotowali mengandung flavonoid, alkaloid, terpenoid, damar lunak, pati, glikosida, pikroretosid, harsa, zat pahit pikroretin, tinokrisposid, palmatin, kolumbin, kaokulin atau pikrotoksin, dan berberin (Hasan *et al.*, 2024).

Berberin adalah senyawa bahan alam golongan alkaloid isokuinolin yang telah menunjukkan aktivitas sebagai senyawa antidiabetes yang baik. Berberin berbentuk bubuk berwarna kuning tidak berbau dengan rasa pahit yang khas. Berdasarkan pada beberapa penelitian menunjukkan bahwa berberin dapat meningkatkan sensitivitas insulin pada pasien, sehingga membantu mengatur kadar gula darah dan lipid. Oleh karena itu berberin digunakan sebagai salah satu alternatif pengobatan anti diabetes yang lebih aman digunakan dibandingkan dengan insulin (Nie *et al.*, 2024).

Tanaman obat memegang peranan penting dalam bidang farmasi, khususnya sebagai sumber bahan baku obat tradisional (Salim and Munadi, 2017). Tingginya kebutuhan bahan baku obat tradisional membuat penggunaan teknik kultur jaringan semakin diminati. Teknik kultur jaringan atau *in vitro* merupakan salah satu bidang bioteknologi yang dimanfaatkan untuk memperbanyak tanaman secara vegetatif. Teknik ini merupakan perbanyak tanaman dengan mengisolasi bagian tanaman seperti batang, daun atau sel pada media buatan yang telah diberi nutrisi. Ditanamkan dengan kondisi aseptis sehingga dapat menjamin tidak ada kontaminasi mikroba dari luar. Sel tumbuhan dapat beregenerasi membentuk tanaman baru yang utuh kembali (Kadapi *et al.*, 2024).

Menurut Rahma dan Asmono (2022) penggunaan zat pengatur tumbuhan merupakan kunci keberhasilan pertumbuhan tanaman yang optimal, hal ini berkaitan dengan produksi metabolit sekunder yang

dihasilkan. Zat pengatur tumbuhan yang biasanya digunakan berasal dari golongan sitokinin berupa *benzyl amino purine* (BAP), kinetin dan zeatin, serta dari golongan auksin berupa *indole acetic acid* (IAA), *indole butyric acid* (IBA), dan *naphthaleneacetic acid* (NAA) (Kadapi *et al.*, 2024).

Metode kultur jaringan kalus brotowali penelitian ini didasarkan pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Nugroho *et al.*, (2023) tentang inisiasi kalus tanaman brotowali (*Tinospora crispa*) untuk tujuan akhir identifikasi adanya kandungan metabolit sekunder berberin dalam kalus. Dari penelitian tersebut diketahui bahwa kalus brotowali dapat diinisiasi dari eksplan batang maupun daun dengan menggunakan media MS dan hormon golongan auksin (NAA, IBA, dan IAA). Berberin diamati pada kromatogram dengan fase gerak kloroform:metanol:amonia (1:10:1) dan diperoleh Rf sebesar 0,18.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Dewi (2024) tentang profil pertumbuhan kalus tanaman brotowali (*Tinospora crispa*) dengan hormon NAA-Kinetin terhadap kandungan alkaloid berberin diketahui bahwa dalam sampel ekstrak kalus brotowali terdapat senyawa yang diduga sama dengan berberin. Tingkat kemiripan spektrum pada pembanding berberin HCl yaitu 88,76% dengan hasil pengamatan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada sinar UV 254 nm menunjukkan bahwa nilai Rf pembanding berberin sebesar 0,70, simplisia batang brotowali 0,65 dan kalus brotowali 0,65. Pengamatan pada sinar UV 366 nm menunjukkan bahwa nilai Rf pembanding berberin sebesar 0,70, simplisia batang brotowali 0,65 dan kalus brotowali 0,66.

Pengujian aktivitas antidiabetes dapat menggunakan beberapa metode yaitu *in vivo* (hewan coba seperti mencit), *in vitro* (penghambatan enzim  $\alpha$ -glucosidase dan  $\alpha$ -amylase serta *uptake glucose* oleh sel ragi) dan *in silico* (Sunganya *et al.*, 2014). Pada penelitian ini dilakukan *uptake glucose* oleh sel ragi sebagai metode skrining efek hipoglikemik senyawa tanaman

obat (Pitchaipillai dan Ponniah, 2016). Metode ini belum banyak digunakan dan belum dipelajari secara rinci oleh beberapa peneliti, namun tetap digunakan karena metode ini lebih sederhana dibandingkan dengan metode enzimatik. Ragi atau *yeast* merupakan mikroorganisme yang termasuk dalam golongan fungi uniseluler. Mikroorganisme yang digunakan adalah *Saccharomyces cereviseae*.

Menurut penelitian Pulivarthy *et al.*, (2020) tentang aktivitas antidiabetes metode *uptake glucose* dan potensi antioksidan ekstrak daun *Annona reticulata* menggunakan pelarut (metanol, etil asetat, air, dan n-heksana). Pada aktivitas antioksidan dilakukan uji DPPH untuk menangkap radikal bebas, uji daya reduksi menggunakan kompleks Prussian Blue dan total antioksidan diukur melalui metode fosfomolibdenum. Hasil ekstrak metanol memiliki antioksidan tertinggi 62,28% inhibisi radikal DPPH konsentrasi 200 µg/mL, memiliki daya reduksi tertinggi dibandingkan ekstrak lainnya, dan total antioksidan tertinggi  $164,72 \pm 2,63$  µg/mL. Pada aktivitas antidiabetes dilakukan uji *uptake glucose* menggunakan sel ragi untuk mengukur kemampuan ekstrak dalam meningkatkan transport glukosa. Hasil tersebut menunjukkan aktivitas *uptake glucose* tertinggi pada metronidazol  $76,08\% \pm 1,86\%$  konsentrasi 500 µg/mL, aktivitas antidiabetes yang signifikan pada ekstrak metanol 48,55% dengan konsentrasi yang sama, sedangkan pada ekstrak lainnya seperti etil asetat dan air menunjukkan peningkatan *uptake glucose* yang lebih rendah.

Penelitian yang dilakukan Bayuangga (2024) tentang uji aktivitas antidiabetes kombinasi kayu manis, kembang bulan dan kunyit secara *in vitro* dengan *uptake glucose of yeast cell* yang bertujuan untuk menentukan dan membandingkan aktivitas % *uptake glucose* dari kombinasi maupun ekstrak tunggalnya menggunakan pembanding acarbose dan metformin. Dapat diketahui bahwa ketiga tanaman tersebut berpotensi untuk menurunkan kadar

gula darah. Pada aktivitas kombinasi ekstrak konsentrasi 800 ppm memiliki nilai % *uptake glucose* sebesar 29,856% (formula 1), 39,877% (formula 2), 34,981% (formula 3), 36,094% (formula 4), 35,558% (formula 5) dan 34,493% (formula 6). Dapat disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak memiliki nilai % *uptake glucose* yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya, tetapi memiliki nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan acarbose dan metformin.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Hasan (2024) ekstrak metanol daun brotowali dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 300 mg/kg BB dapat menurunkan kadar gula darah. Semakin tinggi dosis yang diberikan, semakin besar efek penurunan kadar gulanya. Mencit jantan yang diinduksi aloksan dosis 300 mg/kg BB menunjukkan aktivitas paling baik sebagai antidiabetes dimana terjadi kenaikan kadar gula darah dengan rata-rata 236,3 mg/dL dan terjadi penurunan hingga 89,3 mg/dL.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian *uptake glucose* dengan dua metode yaitu Nelson-Somogyi dan DNS (3,5-dinitrosalisilat). Reagen Nelson-Somogyi merupakan reagen yang digunakan untuk menentukan gula pereduksi dari dua reagen yaitu reagen Nelson dan reagen arsenomolibdat. Sedangkan reagen DNS adalah reagen yang digunakan untuk mendeteksi dan mengukur gula pereduksi dengan cara senyawa yang digunakan akan bereaksi dengan gula reduksi dan akan membentuk asam-3-amino-5 dinitrosalisilat. Sampel yang akan digunakan yaitu batang dan kalus brotowali (*Tinospora crispa*) dengan media kultur yang mengandung kombinasi hormon IAA-BAP (TC-1) dan NAA-Kinetin (TC-3) terbukti mampu memberikan interaksi yang sangat baik untuk memacu pertumbuhan kalus secara lebih efisien jika dibandingkan dengan penggunaan hormon tunggal saja (Kumlay and Ercisli, 2015).

## **1.2 Rumusan Masalah**

1. Bagaimana aktivitas *uptake glucose* dari ekstrak batang dan kalus brotowali (*Tinospora crispa*) dengan hormon IAA-BAP (TC-1) dan NAA-Kinetin (TC-3) yang ditentukan dengan metode Nelson-Somogyi dan DNS (3,5-dinitrosalisilat)?
2. Apakah terdapat perbedaan signifikan pada aktivitas *uptake glucose* dari ekstrak batang dan kalus brotowali (*Tinospora crispa*) pembanding berberin, metronidazol dan rutin yang ditentukan dengan metode Nelson-Somogyi dan DNS (3,5-dinitrosalisilat)?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Menentukan aktivitas *uptake glucose* dari ekstrak batang dan kalus brotowali (*Tinospora crispa*) dengan hormon IAA-BAP (TC-1) dan NAA-Kinetin (TC-3) yang ditentukan dengan metode Nelson-Somogyi dan DNS (3,5-dinitrosalisilat).
2. Menentukan perbedaan signifikan aktivitas *uptake glucose* dari ekstrak batang dan kalus brotowali (*Tinospora crispa*) dengan pembanding berberin, metronidazol dan rutin yang ditentukan dengan metode Nelson-Somogyi dan DNS (3,5-dinitrosalisilat).

## **1.4 Hipotesis Penelitian**

1.  $H_0$ : Ekstrak batang dan kalus tanaman brotowali tidak memiliki aktivitas *uptake glucose*.  
 $H_0$ : Aktivitas *uptake glucose* dari ekstrak batang dan kalus tanaman brotowali tidak berbeda signifikan dibandingkan dengan berberin, metronidazol dan rutin.
2.  $H_1$ : Ekstrak batang dan kalus tanaman brotowali memiliki aktivitas *uptake glucose*.

$H_1$ : Aktivitas *uptake glucose* dari ekstrak batang dan kalus tanaman brotowali berbeda signifikan dibandingkan dengan berberin, metronidazol dan rutin.

### **1.5 Manfaat Penelitian**

Dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas *uptake glucose* dari ekstrak batang dan ekstrak kalus tanaman brotowali (*Tinospora crispa*) sebagai antidiabetes. Penelitian ini juga diharapkan dapat digunakan sebagai obat antidiabetes dalam berbagai bentuk sediaan.