

**AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK POLISAKARIDA RUMPUT  
LAUT (*Ulva sp*) PADA TIKUS PUTIH DIABETES**

**ANTIOXIDAN ACTIVITY OF DIABETIC ALBINO RATS BY  
POLYSACCHARIDES EXTRACTED FROM SEAWEAD *Ulva sp***

**SUKRIANI KURSIA**



**PROGRAM PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2013**

**AKTIVITAS ANTIOKSIDATIF EKSTRAK RUMPUT LAUT (*Ulva* sp)  
PADA TIKUS PUTIH DIABETES**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi  
Biomedik Farmakologi

Disusun dan diajukan oleh

SUKRIANI KURSIA

kepada

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2013**

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Sukriani Kursia  
Nomor mahasiswa : P 150 3211 001  
Program studi : Biomedik Farmakologi

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar – benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi perbuatan tersebut.

Makassar,  
Yang menyatakan

Sukriani Kursia

## PRAKATA

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayahnya serta karunia-Nya sehingga tesis ini dapat terselesaikan.

Gagasan yang melatarbelakangi penulisan tesis ini karena perkembangan dalam masyarakat yang cenderung menggunakan herbal sebagai pengobatan. Oleh karena itu dibutuhkan data ilmiah dari herbal yang digunakan dalam masyarakat.

Banyak kendala yang dihadapi oleh penulis dalam rangka penyusunan tesis ini, tapi berkat bantuan dari berbagai pihak maka tesis ini selesai pada waktunya. Sebagai ungkapan kebahagiaan, penulis menyampaikan terima kasih kepada Prof.dr.Peter Kabo, Ph.D Sp.JK, SpFK, FIHA sebagai Ketua Komisi Penasihat dan Dr.Pirman Ap.M.Si sebagai Anggota Komisi Penasihat atas bantuan dan bimbingan yang diberikan mulai dari pengembangan minat terhadap permasalahan penelitian ini, pelaksanaan penelitiannya sampai penulisan tesis ini.

Rasa terima kasih juga penulis haturkan kepada keluarga atas dukungan moral dan materil serta doa. Tesis ini saya persembahkan sebagai kebanggaan untuk almarhumah ibunda tercinta Hj. Aisyah. Tak lupa pula terima kasih yang tak terhingga kepada saudara, sahabat dan adinda Arini Arianti Dewi Kartika yang telah memberikan semangat dan

motivasi hingga penelitian ini bisa selesai tepat pada waktunya. Serta semua pihak di laboratorium farmakologi dan fitokimia yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini. Terakhir ucapan terima kasih juga disampaikan kepada mereka yang namanya tidak tercantum tetapi telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Makassar , Juli 2013

Sukriani kursia

## ABSTRAK

SUKRIANI KURSIA. *Aktivitas Antioksidan Ekstrak Polisakarida Rumput Laut Ulva sp pada Tikus Putih Diabetes* (dibimbing oleh Peter Kabo dan Pirman Ap).

Penelitian ini bertujuan menentukan aktivitas antioksidan ekstrak polisakarida dari Rumput Laut *Ulva sp* pada Tikus Diabetes terinduksi aloksan dengan parameter Malondialdehida.

Diabetes mellitus adalah suatu penyakit hiperglikemia yang bercirikan kekurangan insulin secara mutlak atau penurunan kepekaan sel terhadap insulin.

Penelitian ini dilakukan pengujian penangkapan radikal bebas DPPH dari ekstrak polisakarida rumput laut *ulva sp* menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm. Kemudian dihitung persentase penangkapan radikal (% ES). Digunakan quersetin sebagai pembanding.

Pengujian lanjutan pengukuran kadar Malondialdehida terhadap hewan coba tikus yang telah diinduksi aloksan dengan dosis 110 mg/KgBB yang dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu kelompok kontrol menggunakan vitamin E, kelompok ekstrak metanol polisakarida 5% dan kelompok ekstrak etanol polisakarida 5 %. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai  $ES_{50}$  dari ekstrak metanol polisakarida sebesar 107,853 ppm dan ekstrak etanol polisakarida sebesar 243,936 ppm sehingga termasuk dalam kategori weekly active serta quersetin sebesar 2,051 ppm sehingga termasuk dalam kategori strongly active. Sedangkan persentase penurunan kadar Malondialdehida (MDA) dari ekstrak metanol polisakarida sebesar 53,380 % dan ekstrak etanol polisakarida sebesar 47,234 % serta vitamin E sebesar 47,233 %. Hasil tersebut dilakukan uji statistik dengan menggunakan uji one way anova dan diperoleh hasil yang signifikan dengan  $p > 0.05$  sehingga menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan pemberian kedua jenis ekstrak polisakarida rumput laut *Ulva sp*.

Disimpulkan bahwa ekstra polisakarida rumput laut *Ulva sp* memiliki aktivitas antioksidan dan dapat menurunkan kadar Malondialdehida pada tikus diabetes.

## DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
<b>I. PENDAHULUAN</b>	
A. Latar belakang	1
B. Rumusan masalah	4
C. Tujuan penelitian	4
D. Manfaat penelitian	5
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
A. Peranan pankreas dalam mengatur metabolisme glukosa	6
1. Histologi fisiologi pankreas	
2. Efek insulin terhadap metabolisme glukosa	6
B. Aloksan dan Diabetes Mellitus	14
1. Definisi Aloksan	14
2. Definisi Diabetes Mellitus	15
3. Patofisiologi Diabetes Mellitus	15
4. Mekanisme Aloksan menginduksi Diabetes Mellitus	17
C. Rumput laut	19
1. Deskripsi rumput laut	19
2. Klasifikasi rumput laut	19
3. Kandungan dan manfaat rumput laut	20
D. Uraian tentang kandungan Polisakarida rumput laut	20
E. Antioksidan dan Radikal bebas	22
1. Antioksidan	22
2. Radikal bebas	24
3. Metode Pengujian aktivitas antioksidan	29
F. Metode ekstraksi bahan alam	30

G. Malondialdehida (MDA)	33
H. Spektrofotometri UV-Visible	34
I. Kerangka konsep	35
J. Hipotesis	35
K. Definisi Operasional	35
III. Metode Penelitian	
A. Rancangan penelitian	37
1. Preparasi ekstrak polisakarida dari rumput laut <i>Ulva</i> sp	37
2. Pengujian komponen kimia	37
3. Pengukuran kapasitas antioksidan ekstrak polisakarida dari rumput laut <i>Ulva</i> sp	39
4. Pengukuran kapasitas antioksidan Quarsetin	40
5. Pengukurab Malondialdehida (MDA) ekstrak polisakarida dari rumput laut <i>Ulva</i> sp	40
B. Lokasi dan waktu penelitian	41
C. Sampel penelitian	42
D. Bahan dan Alat	42
E. Teknik Pengumpulan data	43
F. Rancangan dan analisis data	43
G. Etik penelitian	44
IV. Hasil penelitian dan pembahasan	45
VI.1 Hasil Penelitian	45
A. Uji kualitatif kandungan kimia	45
B. Uji antioksidan ekstrak polisakarida rumput laut <i>Ulva</i> sp	45
C. Pengukuran Malondialdehida (MDA)	46
VI.2 Pembahasan	47
V. Kesimpulan dan saran	54
V.1 Kesimpulan	54
V.2 Saran	54
DAFTAR PUSTAKA	55



**DAFTAR TABEL**

Nomor	halaman
1. Hasil penapisan fitokimia terhadap ekstrak polisakarida rumput laut <i>Ulva</i> sp	61
2. Hasil pengukuran serapan dari kurva baku DPPH	61
3. Hasil pengukuran serapan ekstrak polisakarida dari rumput laut <i>Ulva</i> sp	62
4. Hasil pengukuran serapan Quarsetin	63
5. Hasil pengukuran serapan dari kurva baku Malondialdehida (MDA)	64
6. Uji distribusi data	65
7. Uji T berpasangan	65
8. Hasil pengujian dengan menggunakan metode ANAVA	65

**DAFTAR GAMBAR**

Nomor	halaman
1. Grafik pengukuran serapan dari kurva baku DPPH	61
2. Grafik pengukuran serapan ekstrak metanol polisakarida rumput laut <i>Ulva</i> sp	62
3. Grafik pengukuran serapan ekstrak metanol polisakarida	63
4. Grafik pengukuran serapan dari Quarsetin	63
5. Grafik pengukuran serapan dari kurva baku Malondialdehida (MDA)	64
6. Foto rumput laut <i>Ulva</i> sp	66
7. Foto rumput laut <i>Ulva</i> sp kering	66
8. Foto alat maserasi	67
9. Foto alat rotavapor	67
10. Foto alat penangas	68
11. Foto alat Vortex	68
12. Foto alat sentrifuge	68

**DAFTAR LAMPIRAN**

Nomor	halaman
1. Skema kerja ekstraksi Rumput laut <i>Ulva</i> sp	57
2. Skema kerja pengukuran antioksidan dengan metode DPPH	58
3. Skema kerja pengukuran Malondialdehida (MDA)	59
4. Skema kerja analisis Malondialdehida (MDA)	60

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A.Latar Belakang**

Diabetes mellitus adalah suatu penyakit hiperglikemia yang bercirikan kekurangan insulin secara mutlak atau penurunan kepekaan sel terhadap insulin. The American Diabetic Association membedakan diabetes mellitus menjadi diabetes jenis-1 untuk kekurangan insulin yang mutlak, diabetes jenis-2 yang bercirikan resistensi insulin dan kekurangan sekresi insulin, diabetes jenis-3 yang disebabkan oleh gangguan endokrin dan diabetes jenis-4 yaitu diabetes gestasional (Yunir E, 2006).

Saat ini penderita diabetes mellitus di Indonesia prevalensinya mencapai 1.5-2.3% dari jumlah penduduk Indonesia dan pada tahun 2020 diperkirakan angka tersebut akan menjadi 4% atau setara dengan 7 juta penderita (PERKENI 2002).

Keadaan hiperglikemia kronis yang diderita oleh penderita diabetes mellitus dapat mendorong terbentuknya radikal bebas melalui proses fosforilasi oksidatif dan autooksidasi glukosa (Robertson *et al*, 2004). Radikal bebas bersifat sangat reaktif serta dapat berinteraksi dengan membran sel lipid, protein, dan asam nukleat yang selanjutnya dapat mengakibatkan kerusakan struktur dan fungsi sel. Keadaan hiperglikemia yang meningkat menyebabkan peningkatan aktivitas mitokondria. Mitokondria secara berkesinambungan akan menghasilkan radikal bebas

dan menyebabkan keadaan stress oksidatif. Kelebihan produksi radikal bebas atau gagalnya sistem pertahanan enzim antioksidan ekstraselular terhadap radikal bebas akan menginisiasi patogenesis penyakit degeneratif diantaranya diabetes (Newsholme *et al.* 2007).

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang sangat reaktif karena mempunyai satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas sangat reaktif karena kehilangan satu atau lebih elektron yang bermuatan listrik, dan untuk mengembalikan keseimbangannya maka radikal bebas berusaha mendapatkan elektron dari molekul lain atau melepas elektron yang tidak berpasangan tersebut (Dalimartha S *et al.*, 1998).

Di dalam tubuh terdapat mekanisme antioksidan atau anti radikal bebas secara endogenik (Dyatmiko W *et al.*, 2000). Tetapi bila jumlah radikal bebas dalam tubuh berlebih maka dibutuhkan antioksidan yang berasal dari sumber alami atau sintetik. Senyawa antioksidan ini akan mendonorkan satu atau lebih elektronnya kepada radikal bebas sehingga dapat menghentikan kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Menurut Hudson (1990) definisi antioksidan secara umum adalah suatu senyawa yang dapat memperlambat atau mencegah proses oksidasi. Antioksidan dapat menghambat laju oksidasi bila bereaksi dengan radikal bebas. Secara alami beberapa jenis tumbuhan merupakan sumber antioksidan, hal ini dapat ditemukan pada beberapa jenis sayuran, buah-

buahen segar, beberapa jenis tumbuhan dan rempah-rempah (Dalimarta S *et al*, 1998).

Salah satu bahan alami yang diduga memiliki efek antioksidan adalah Rumput Laut (*Ulva* sp). Di masyarakat rumput laut lebih dikenal dalam pemanfaatan pembuatan agar. Namun dari beberapa penelitian ternyata di temukan manfaat lain dari rumput laut termasuk penggunaannya sebagai obat.

*Ulva* sp mengandung sejumlah nutrisi untuk konsumsi tubuh dan mineral dalam jumlah terbatas seperti besi dan kalsium yang di gunakan dalam pengolahan makanan dan juga berfungsi mencegah sindrom metabolik seperti diabetes (Celikler *et al*. 2009). Penelitian baru-baru ini menunjukkan bahwa konsumsi *Ulva* sp dapat membantu menurunkan kolesterol dan meningkatkan daya tahan tubuh serta dapat berfungsi sebagai antitumor, antiinfluenza dan antikoagulan (Winberg P.C *et al*, 2008).

*Ulva* sp dapat diperkenalkan dalam makanan manusia dan hewan, terutama dalam bentuk suplemen diet, yang dianggap sebagai sumber yang kaya antioksidan alami (Duan *et al*, 2006). Senyawa antioksidan terdeteksi di ganggang dari genus tersebut memiliki potensi antipenuaan, makanan, antiinflamasi, antibakteri, antijamur, sitotoksik, antimalaria, antiproliferasi, dan antikanker (Duan *et al*, 2006).

Penelitian lain melaporkan bahwa kandungan monosakarida ekstrak senyawa polisakarida dari *Ulva lactuca* yang bersifat sebagai anti

oksidan adalah asam galakturonat, asam glukoronat, mannose, xylose, arabinosa, glukosa, galaktosa dan rhamnosa (Hasan S *et al*, 2010).

## **B. RUMUSAN MASALAH**

1. Apakah pemberian ekstrak polisakarida dari Rumput Laut *Ulva* sp memiliki efek antioksidan.
2. Apakah pemberian ekstrak polisakarida dari Rumput Laut *Ulva* sp dapat menurunkan kadar glukosa darah melalui mekanisme antioksidan.

## **C. TUJUAN PENELITIAN**

### **1. Tujuan Umum**

Menentukan aktivitas antioksidan ekstrak polisakarida dari Rumput Laut *Ulva* sp pada Tikus Diabetes terinduksi aloksan dengan parameter Malondialdehida.

### **2. Tujuan khusus**

- a. Menentukan kapasitas ekstrak polisakarida dari Rumput Laut *Ulva* sp sebagai antioksidan secara *in vitro* dengan metode DPPH.
- b. Menentukan kapasitas ekstrak polisakarida dari Rumput Laut *Ulva* sp sebagai antioksidan secara *in vivo* pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan dengan parameter Malondialdehida (MDA).

#### **D. MANFAAT PENELITIAN**

- a. Memberikan informasi tentang efek ekstrak polisakarida rumput Laut *Ulva* sp sebagai antioksidan
- b. Memberikan informasi tentang efek ekstrak polisakarida rumput Laut *Ulva* sp sebagai antidiabetes.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Peranan Pankreas dalam Mengatur Metabolisme Glukosa

##### 1. Histologi Fisiologi Pankreas

Pankreas adalah suatu organ yang terdiri dari jaringan eksokrin dan endokrin. Bagian eksokrin pankreas mengeluarkan larutan basa encer dan enzim-enzim pencernaan melalui duktus pankreatikus ke dalam lumen saluran cerna. Diantara sel-sel eksokrin pankreas tersebar dalam kelompok-kelompok, atau “pulau-pulau” sel endokrin yang dikenal sebagai pulau-pulau langerhans. Pulau langerhans mengandung tiga jenis sel utama, yakni sel alfa, beta, dan delta. Sel beta mencakup 60 persen dari semua sel pulau langerhans dan mensekresi insulin. Sel alfa mencakup kira-kira 25 persen dan mensekresikan glukagon. Sedangkan sel delta, mencakup 10 persen dan mensekresikan somatostatin. Selain itu, paling sedikit terdapat satu jenis sel lain, yang disebut sel PP, yang terdapat dalam jumlah sedikit dalam pulau langerhans dan mensekresi polipeptida pankreas (Guyton A.C *et al*, 1997).

## 2. Efek Insulin Terhadap Metabolisme Glukosa

Pankreas sangat berperan dalam memelihara homeostasis glukosa darah. Konsentrasi glukosa dalam darah ditentukan oleh keseimbangan yang ada antara proses-proses berikut, yaitu: penyerapan glukosa dari saluran pencernaan; transportasi glukosa ke dalam sel; pembentukan glukosa oleh sel (terutama di hati); dan (secara abnormal) ekskresi glukosa oleh urin. Hormon Insulin yang dihasilkan oleh sel beta pankreas memainkan peranan penting dalam metabolisme glukosa (Guyton A.C *et al*, 1997).

Insulin memiliki empat efek yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan penyimpanan karbohidrat, antara lain Pertama, Insulin mempermudah masuknya glukosa ke dalam sebagian besar sel. Molekul glukosa tidak mudah menembus membran sel tanpa adanya insulin. Dengan demikian, sebagian besar jaringan sangat bergantung pada insulin untuk menyerap glukosa dari darah dan menggunakannya. Insulin meningkatkan difusi terfasilitasi (dengan perantaraan pembawa) glukosa ke dalam sel-sel tergantung glukosa tersebut melalui fenomena transporter. Glukosa dapat masuk ke dalam sel hanya melalui pembawa di membran plasma yang dikenal sebagai glukosa transporter. Sel-sel tergantung insulin memiliki simpanan pengangkut glukosa intrasel. Pengangkut-pengangkut tersebut menyebabkan peningkatan sekresi insulin, sehingga terjadi peningkatan pengangkutan glukosa ke dalam sel. Apabila sekresi

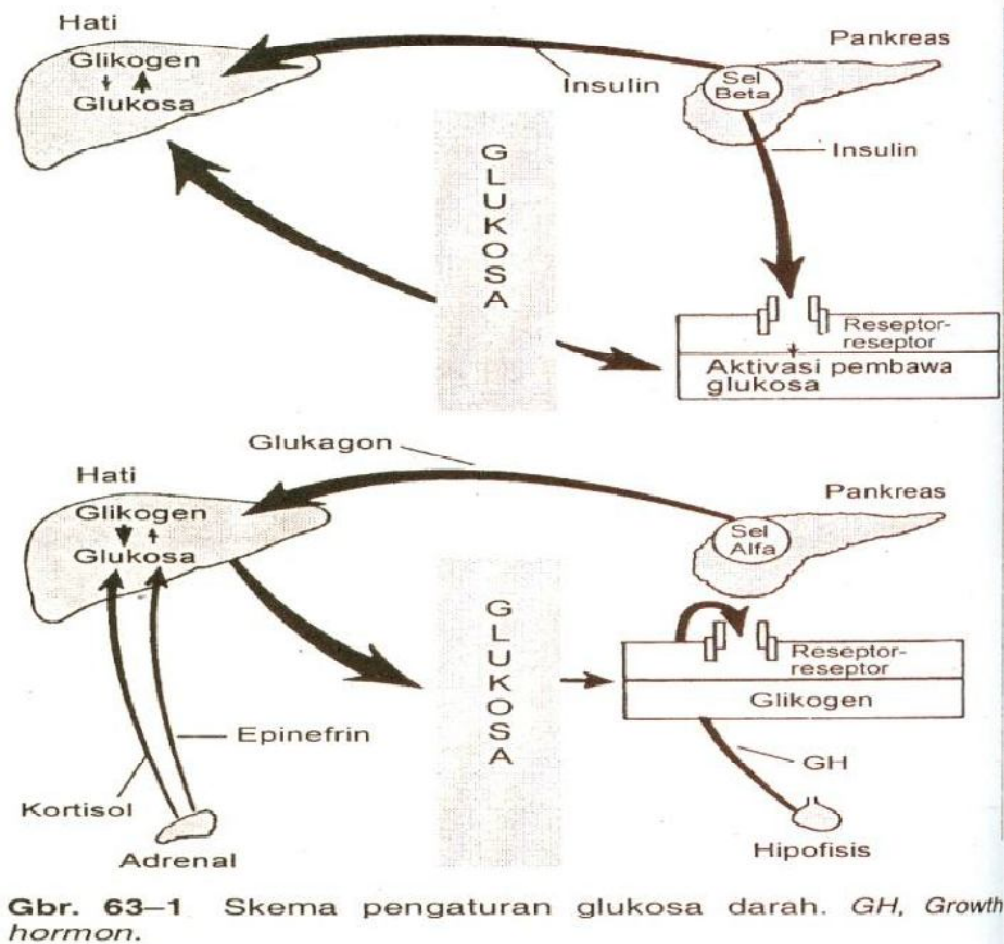
insulin berkurang, pengangkut-pengangkut tersebut sebagian ditarik dari membran sel dan dikembalikan ke simpanan intrasel (Guyton A.C *et al*, 1997).

Kedua Insulin merangsang glikogenesis, pembentukan glikogen dari glukosa, baik di otot maupun di hati. Salah satu efek penting insulin adalah menyebabkan sebagian besar glukosa yang diabsorpsi sesudah makan segera disimpan dalam hati dalam bentuk glikogen. Keadaan ini terjadi dengan meningkatkan aktivitas enzim glukokinase, merupakan salah satu enzim yang menyebabkan fosforilasi awal dari glukosa sesudah berdifusi ke dalam sel-sel hati. Sekali difosforilasi, glukosa akan terjatoh sementara di dalam sel-sel hati sehingga tidak dapat berdifusi kembali melewati membran sel. Insulin juga meningkatkan aktivitas enzim-enzim yang meningkatkan sintesis glikogen, termasuk enzim glikogen sintase, yang bertanggung jawab untuk polimerisasi dari unit-unit monosakarida untuk membentuk molekul-molekul glikogen. Ketiga, Insulin menghambat glikogenolisis, penguraian glikogen menjadi glukosa. Insulin melakukan hal ini dengan menghambat fosforilasi hati, merupakan enzim utama yang menyebabkan terpecahnya glikogen dalam hati menjadi glukosa. Dengan demikian menurunlah pengeluaran glukosa oleh hati (Guyton A.C *et al*, 1997).

Keempat, Insulin selanjutnya menurunkan pengeluaran glukosa oleh hati dengan menghambat glukoneogenesis, perubahan asam

amino menjadi glukosa di hati. Insulin melakukan ini dengan dua cara yaitu, dengan menurunkan jumlah asam amino di dalam darah yang tersedia bagi hati untuk glukoneogenesis, dan dengan menghambat enzim-enzim hati yang diperlukan untuk mengubah asam amino menjadi glukosa (Guyton A.C *et al*, 1997).

Dengan demikian, insulin sangat berperan dalam menurunkan konsentrasi glukosa darah dengan meningkatkan penyerapan glukosa dari darah untuk digunakan dan disimpan oleh sel, sementara secara simultan menghambat dua mekanisme yang digunakan oleh hati untuk mengeluarkan glukosa baru ke dalam darah (glukogenolisis dan glukoneogenesis). Insulin adalah satu-satunya hormon yang mampu menurunkan kadar glukosa darah (Guyton A.C *et al* , 1997).



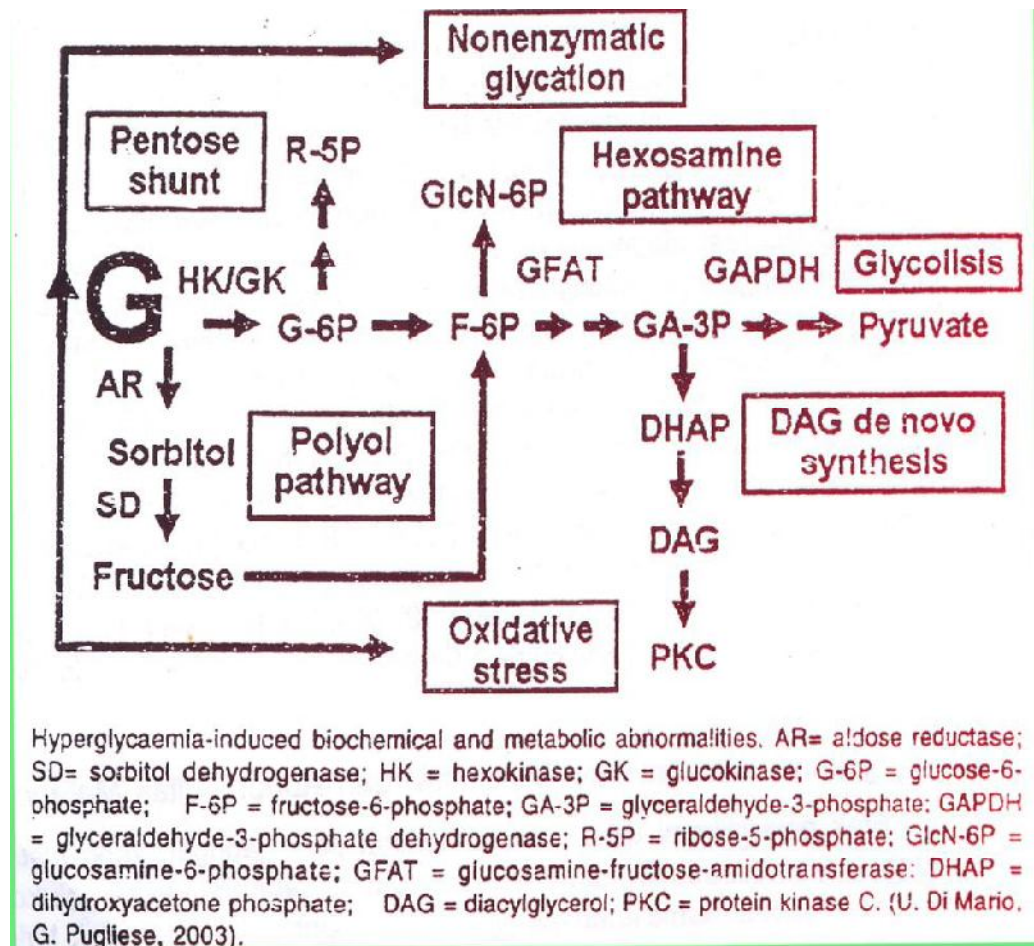
Gambar 1. Skema pengaturan glukosa darah. GH, Growth hormone (dikutip dari Buku Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi 6. Jakarta : EGC)

### 3. Hiperglikemia, Abnormalitas Biokimiawi dan Abnormalitas Metabolik

Glukosa mengalami proses metabolisme lewat berbagai jalur metabolik. Hiperglikemia kronik dapat menyebabkan gangguan pada sel. Hiperglikemik kronik merupakan inisiator terjadinya komplikasi

mikrovaskular pada penderita diabetes mellitus. Dalam keadaan normal sebagian besar glukosa mengalami metabolisme lewat jalur glikolitik dan pentose . Apabila terjadi hiperglikemia, pembuangan glukosa lewat jalur tersebut di atas cenderung meningkat sehingga glukosa juga diubah menjadi sorbitol, lewat jalur polyol, glukosamin-6-fosfat, lewat jalur hexosamin dan enzim glukosamin fructosa-amino transferase (GFAT) dan diacylglycerol (DAG), lewat sintesis dari glukosa langsung. Sebagian glukosa yang berlebih mengalami reaksi non enzimatik, dengan protein atau bahan dalam sirkulasi maupun jaringan sehingga mempercepat secara fisiologis glikasi non enzimatik. Disamping itu glukosa mengalami otooksidasi, yang berakibat, bersama dengan radikal bebas yang terbentuk dari beberapa reaksi enzimatik maupun non enzimatik, menjadi stres oksidatif. Reaksi-reaksi tersebut di atas saling terkait satu sama lain bahkan kadang saling memperkuat. (Djokomoeljanto R, 2007).

Teori yang berkembang dan diharapkan dapat menjelaskan terjadinya komplikasi mikroangiopati karena hiperglikemia kronik ialah: (a) teori polyol pathway; (b) teori AGEp; (c) teori reactive oxygen intermediates dan (d) teori protein kinase C (PKC) (Djokomoeljanto R, 2007).



Gambar 2. Hiperglikemi menginduksi abnormalitas metabolik dan biokimia (dikutip dari Buku Naskah Lengkap Diabetes melitus ditinjau dari berbagai aspek penyakit dalam. Semarang: Badan penerbit Universitas Diponegoro.2007)

Pertama, Teori *the Polyol Pathway* (jalur aldose reductase-AR). Aldose reduktase (AR) hanya akan aktif apabila glukosa intrasel melebihi nilai hiperglikemia. Proses Aldose reduktase (AR) menggunakan NADPH untuk mereduksi glukosa menjadi sorbitol, yang kemudian dioksidasi menjadi fruktosa oleh sorbitol dehidrogenase (SDG), reaksi ini

menggunakan NAD sebagai kofaktor. Menurunnya NADPH sel akibat fluks Aldose reduktase (AR) sangat mengganggu terbentuknya Nitrogen Oksida (NO) di sel endotel dan mengubah keseimbangan redoks. Peningkatan fluks oleh sorbitol dehidrogenase (SDG) menaikkan rasio NADH/NAD<sup>+</sup> yang berpotensi dalam aktivitas enzim dan selanjutnya mengakibatkan komplikasi. Pada keadaan ini menghambat gliseraldehid-3-fosfat dehidrogenase (untuk membentuk piruvat/laktat) tetapi mempercepat produksi *a*-gliserol-3- fosfat, satu prekursor DAG yang merangsang Protein Kinase C (PKC). Meningkatnya jalur poliol menurunkan mioinositol. Ada tiga keterangan mengapa mioinositol pada diabetes rendah : (a) glukosa berkompetisi dengan mioinositol dalam hal ambilan kembali. (b) sorbitol menghambat transpor mioinositol dan (c) ambilan kembali (yang Na<sup>+</sup> dependent) dihambat oleh naiknya konsentrasi Na<sup>+</sup> intrasel (Djokomoeljanto R, 2007).

Kedua, teori advanced glycation end products (AGEPs). Teori ini menerangkan bahwa komplikasi diabetik merupakan bentuk dari “proses menua yang dipercepat” dan terjadi karena modifikasi kovalen dan ikatan silang protein oleh glukosa. advanced glycation end products (AGEPs) merupakan produk akibat glikasi nonenzimatik protein yang beragam dalam struktur kimiawinya. Terbentuknya advanced glycation end products (AGEPs) dapat merusak sel karena mengganggu struktur protein intrasel dan ekstrasel seperti kolagen. Pada endotel mikrovaskular manusia, advanced glycation end products (AGEPs) menghambat produksi



prostasiklin dan mengakibatkan agregasi trombosit, stabilisasi fibrin hingga memudahkan trombosis. Sumber advanced glycation end products (AGEPs) eksogen timbul pada “pro-oxidants state” , misalnya pada hiperglikemik, usia lanjut, gagal ginjal (Djokomoeljanto R, 2007).

Ketiga, teori reactive oxygen intermediates (ROS). Teori ini menyatakan bahwa stres oksidatif dapat naik karena proses enzimatik dan non enzimatik oleh keadaan hiperglikemia. Baik pada komplikasi diabetes maupun non diabetes atau peristiwa ‘makan’ menurunkan total *radical trapping* antioxidant parameter (TRAP) plasma, sehingga merusak pertahanan antioksidan natural di plasma. Ada tiga cara stres oksidatif meningkat yaitu, (a) glikasi yang labil; (b) oto-oksidasi glukosa; dan (c) aktivasi intrasel jalur poliol. Glikolisis dan siklus krebs menghasilkan energi yang ekuivalen untuk mendorong sintesis ATP mitokondria, sebaliknya hasil samping fosforilasi oksidatif mitokondria (termasuk radikal bebas dan anion superoksida) juga ditingkatkan oleh kadar glukosa yang tinggi. Otooksidasi glukosa pun menaikkan radikal bebas menjadi stress oksidatif yang akan menurunkan kadar NO, merusak protein sel, meningkatkan adhesi lekosit pada endotel sedang fungsinya sebagai pembawa terhambat (Djokomoeljanto R, 2007).

Keempat, teori protein kinase C. Diacylglycerol (DAG) dan protein kinase C (PKC) adalah molekul sinyal yang banyak berperan dalam faal vaskular seperti permeabilitas, vasodilatasi, aktivasi endotel, dan sinyal pertumbuhan. Popholipase-C mengaktifkan pembentukan protein kinase

C (PKC) dengan cara merangsang  $Ca^{2+}$  dan kadar Diacylglycerol (DAG). Keadaan patologik ini dapat ditemukan pada penderita diabetes karena jalur glikolitik meningkatkan glyceraldehid- 3-fosfat intrasel, sintesis Diacylglycerol (DAG) dan akhirnya aktivasi protein kinase C (PKC). Meningkatnya aksi protein kinase C (PKC) pada pembuluh retina, ginjal, dan saraf menyebabkan kerusakan vaskular yang ditandai dengan permeabilitas yang meningkat, disregulasi Nitrogen Oksida (NO) terjadi adesi leukosit, dan gangguan aliran darah (Djokomoeljanto R, 2007).

## **B. Aloksan dan Diabetes Melitus**

### **1. Definisi Aloksan**

Aloksan (2,4,5,6-tetraoxypyrimidin; 2,4,5,6-pirimidintetron) adalah suatu substansi yang secara struktural merupakan derivat pirimidin sederhana. Aloksan telah digunakan secara luas untuk menginduksi diabetes pada hewan percobaan. Substansi diabetogenik ini bersifat destruktif selektif terhadap sel  $\beta$  pankreas yang bertanggung jawab untuk memproduksi insulin (Szkudelski T, 2007).

### **2. Definisi Diabetes Mellitus**

Diabetes mellitus adalah kelainan yang ditandai dengan terjadinya hiperglikemia dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang dihubungkan dengan defisiensi kerja dan atau sekresi insulin secara absolut atau relatif. Gejala khasnya adalah

merasa sangat haus, poliuria, pruritus, dan kehilangan berat badan yang tak dapat dijelaskan (Gustiviani R, 2006).

Definisi yang sama juga dikemukakan oleh WHO yang mendefinisikan diabetes mellitus sebagai kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia kronik disertai gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein yang disebabkan kerusakan dalam sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (Masharani U *et al*, 2004)

### **3. Patofisiologi Diabetes Melitus**

Beberapa bukti menunjukkan bahwa etiologi diabetes mellitus bermacam-macam. Klasifikasi diabetes mellitus terkini yang dianjurkan adalah klasifikasi etiologis dari ADA (*American Diabetes Association*) tahun 2005. ADA mengklasifikasikan berdasarkan pengetahuan mutakhir mengenai patogenesis sindrom diabetes mellitus dan gangguan toleransi glukosa. Empat klasifikasi klinis gangguan toleransi glukosa : (1) diabetes mellitus tipe 1; (2) diabetes mellitus tipe 2; (3) diabetes gestasional (diabetes kehamilan) dan (4) tipe khusus lain (Yunir E, 2006).

Diabetes mellitus tipe 1 adalah penyakit autoimun yang ditentukan secara genetik dengan gejala-gejala yang pada akhirnya menuju proses bertahap perusakan imunologik sel-sel yang memproduksi insulin (Schteingart D.E, 2005).

Patogenesis diabetes tipe 1 meliputi lima tahap. Pertama, penderita DM tipe 1 memiliki kerentanan genetik terhadap penyakit ini. Kedua, keadaan lingkungan biasanya memulai proses ini pada individu dengan kerentanan genetik. Infeksi virus diyakini merupakan satu mekanisme pemicu, tetapi agen noninfeksius juga dapat terlibat. Tahap ketiga dalam rangkaian proses peradangan pankreas disebut insulinitis. Monosit/makrofag dan limfosit T teraktivasi menginfiltrasi sel  $\beta$  pankreas. Tahap keempat adalah perubahan atau transformasi sel beta sehingga tidak lagi dikenali sel “sendiri” tetapi dilihat oleh sistem imun sebagai “sel asing”. Tahap kelima adalah perkembangan respon imun. Hasil akhirnya adalah perusakan sel  $\beta$  dan timbulnya diabetes. Manifestasi klinis diabetes mellitus terjadi jika lebih dari 90% sel-sel  $\beta$  mengalami kerusakan (Scheingart D.E, 2005).

Patogenesis terjadinya disfungsi sel  $\beta$  pada diabetes melitus tipe 2 pada dasarnya adalah peningkatan resistensi insulin di jaringan. Resistensi insulin adalah turunnya kemampuan insulin untuk merangsang pengambilan glukosa oleh jaringan perifer dan untuk menghambat produksi glukosa oleh sel hati. Sel  $\beta$  tidak mampu mengimbangi resistensi insulin ini sepenuhnya, artinya terjadi penurunan insulin. Banyak proses yang dapat menimbulkan resistensi insulin, diantaranya faktor genetik, berbagai faktor lingkungan seperti kegemukan, inaktivitas fisik, asupan makanan yang berlebihan, beberapa macam obat dan juga proses penuaan (Waspadji S, 2002).

Pada keadaan normal, apabila didapatkan resistensi insulin, maka tubuh akan merespon dengan meningkatkan produksi insulin untuk mengembalikan kadar glukosa darah pada keadaan normal. Jika proses kompensasi ini menurun, maka kapasitas menyeimbangkan tersebut kurang sehingga tubuh tidak dapat mengembalikan keseimbangan dan terjadilah diabetes mellitus (Waspadji S, 2002).

#### **4. Mekanisme Aloksan Menginduksi Diabetes Melitus**

Aloksan telah digunakan secara luas untuk menginduksi diabetes mellitus pada hewan percobaan. Terdapat beberapa teori yang menerangkan mekanisme kerja aloksan terhadap sel  $\beta$  pankreas. Aloksan dalam darah berikatan dengan GLUT-2 (pengangkut glukosa) yang memfasilitasi masuknya aloksan ke dalam sitoplasma sel  $\beta$  pankreas. Di dalam sel  $\beta$ , aloksan menimbulkan depolarisasi berlebih pada mitokondria sebagai akibat pemasukan ion  $\text{Ca}^{2+}$  yang diikuti dengan penggunaan energi berlebih sehingga terjadi kekurangan energi dalam sel. Dua mekanisme ini mengakibatkan kerusakan baik dalam jumlah sel maupun massa sel pankreas sehingga terjadi penurunan pelepasan insulin yang mengakibatkan terjadinya diabetes mellitus (Santoso J *et al*, 2008).

Beberapa teori lain menerangkan bahwa aloksan dapat membangkitkan reactive oxygen species (ROS) melalui siklus reaksi yang hasil reduksinya berupa asam dialurik. Asam Dialurik ini akan mengalami siklus redoks dan membentuk radikal superoksida.

Kemudian radikal ini akan mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida dan pada tahap akhir mengalami reaksi katalisasi besi membentuk radikal hidroksil. Radikal hidroksil inilah yang menyebabkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas sehingga terjadilah insulin dependent diabetes mellitus atau disebut juga “alloxan diabetes” pada hewan percobaan. Diabetes tipe ini memiliki karakteristik yang serupa dengan diabetes tipe I pada manusia (Walde S.S *et al*, 2008).

Oleh karena itu, pemberian aloksan merupakan suatu cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada hewan percobaan. Tikus hiperglikemik dapat dihasilkan dengan menginjeksikan aloksan 120– 150 mg/ kg BB (Nugroho B. A *et al*, 2004).

### **C. Rumput Laut (*Ulva* sp)**

#### **1. Deskripsi Rumput Laut (Anonim a,2010)**

*Ulva* sp adalah alga yang berbentuk heterotalik, berkembang biak secara aseksual dengan oospora berflagel empat yang terbentuk pada sel-sel vegetatif. *Ulva* sp. tidak memiliki akar, batang dan daun sejati. Tubuh seperti ini dinamakan talus. Di dalam sel *Ulva* sp terdapat plastida yaitu organel sel yang mengandung zat warna (pigmen). Plastida yang terdapat pada alga ini terutama kloroplas mengandung pigmen klorofil yang berperan penting dalam proses fotosintesis.

Sehingga alga ini bersifat autotrof karena dapat menyusun sendiri makanannya berupa zat organik dan zat-zat anorganik. Pada umumnya berbentuk seperti lembaran daun. Dinding selnya menghasilkan lendir.

## **2. Klasifikasi (Anonim b,2010)**

Kingdom : Protista

Divisio : Chlorophyta

Classsis : Cholrophyceae

Ordo : Ulvales

Familia : Ulvaceae

Genus : *Ulva*

Species : *Ulva* sp

## **3. Kandungan dan manfaat Rumput Laut**

Kandungan gizi dari *Ulva* sp berupa mineral, serat, dan protein (Anonim b, 2010). *Ulva* sp mengandung sejumlah nutrisi untuk komsumsi tubuh dan mineral dalam jumlah terbatas seperti besi dan kalsium yang di gunakan dalam pengolahan makanan dan juga berfungsi mencegah sindrom metabolic seperti diabetes (Celikler et al. 2009). Penelitian baru-baru ini menunjukkan bahwa konsumsi *Ulva* dapat membantu ,menurunkan kolesterol dan meningkatkan meningkatkan daya tahan tubuh serta campuran *Ulva* menunjukkan

bahwa dapat berfungsi sebagai anti tumor, anti influenza dan anticoagulan (Winberg P.C *et al*, 2009).

#### **D. Uraian tentang Kandungan Polisakarida Rumput Laut**

Polisakarida penyusun dinding sel utama dalam rumput laut hijau adalah ulvans. Ulvans adalah kandungan utama dinding sel rumput laut hijau yang mewakili 8-29% dari berat kering alga. Ulvans ini bercabang polisakarida asam sulfat dan dibentuk oleh tulang punggung sentral unit disakarida yang dibentuk oleh L-rhamnose 3-sulfat terkait dengan: (i) residu asam D-guluronat (unit asam ulvabiouronic A), (ii) L-iduronic residu asam (acid ulvabiuronic Unit B), (iii) D-xylose 4-sulfat residu (ulvabiose Unit A), atau (iv) residu D-xylose (ulvabiose unit B) (Gambar 1). Selain itu, ulvans menunjukkan konsekuensi dalam posisi O-2 dari rhamnose residu 3-sulfat. Di sisi lain, oligo-ulvans telah diperoleh dengan depolimerisasi polisakarida dinding sel dari *Ulva armoricana*, *U. rigida*, *U. lactuca*, *U. compressa* dan *U. intestinalis* menggunakan 2 M HCl pada 100 ° C selama 45 menit yang menghasilkan terutama unit monosakarida dan disakarida (Jaulneau V *et al.*, 2009)

Ganggang hijau genus *Ulva* secara umum berlimpah ditemukan di seluruh dunia pada umumnya berkembang biak di perairan pesisir . Ekstrak Alga terdiri dari komponen larut air, yang biokimia analisis mengungkapkan adanya polisakarida khas ditemukan dalam ganggang hijau, yang dikenal sebagai ulvan,. Konstituen utama ulvan



yang sulfated residu rhamnose terkait dengan asam uronic, sehingga unit disakarida berulang-D-glucuronosyl-(1,4) --L-rhamnose 3-sulfat, disebut asam aldobiouronic (Jiao G *et al.* 2010).

Ulvan adalah bercabang polisakarida kompleks terdiri dari asam uronic (asam galacturonic, asam iduronic) dan gula netral (rhamnose, galaktosa, xilosa) yang dapat sulfated (rhamnose). Ulvan diekstrak dari sumber alami juga mengandung kation divalen seperti  $\text{Ca}^{2+}$ . Fraksi berat molekul tinggi yang kita digunakan dalam percobaan kami terkandung terutama polisakarida dengan komposisi monosakarida khas ulvan (rhamnose, asam uronic, dan xylose, galaktosa) dan sulfat (Jiao G *et al.* 2010).

## **E. Antioksidan dan Radikal Bebas**

### **1. Antioksidan**

Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya dengan cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas.

Antioksidan adalah zat yang memperlambat atau menghambat stress oksidatif pada molekul target (Priyanto, 2010).

Terdapat tiga macam antioksidan yaitu :

a. Antioksidan yang berasal dari dalam tubuh:

Antioksidan ini biasanya berupa enzim katalase, glutathion peroksidase (GSH.Prx), superoksida dismutase (SOD), asam urat dan ubiquinol . Superoksida dismutase (SOD) adalah enzim yang mengaktivasi reaksi dismutasi dari anion superoksida untuk membentuk hidrogen peroksida. Glutathion peroksidase adalah enzim yang berperan aktif dalam menghilangkan  $H_2O_2$  dalam tubuh dan mempergunakannya untuk merubah glutathion (GSH) menjadi glutathion teroksidasi (GSSG), selain itu enzim ini mendukung aktivitas enzim SOD bersama-sama dengan enzim katalase dan menjaga konsentrasi oksigen akhir agar stabil dan tidak berubah menjadi pro-oksidan. Sebaliknya enzim katalase akan melindungi sel secara langsung, melalui dekomposisi hidrogen peroksida menjadi air.

b. Antioksidan Alami

Antioksidan alami dapat diperoleh dari tanaman atau hewan contohnya tokoferol, vitamin C, poliphenol, indol, monoterpen, katekin, enzim, flavonoid dan karotenoida (Pokorni J *et al*, 2001). Senyawa poliphenol mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal (radikal scavenging) dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang (Halliwell B *et al*. 1999). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa flavanoid dapat menghambat

peroksidasi asam linoleat, mencegah pembentukan anion superoksida, dan potensial melawan peroksidasi mikrosomal lipid yang diinduksi oleh Fe(III)-ADH/NADPH (Taylor, 2002). Ekstrak metanol pada daun cengkeh memiliki total fenol 63.14 mg/ml mampu mengatasi peningkatan kadar malondialdehida dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan (SOD, katalase, dan glutathion peroksidase) pada organ hati dan ginjal (Mu'nisa A *et al*, 2008)

c. Antioksidan sintetik

Antioksidan sintetik dibuat dari bahan-bahan kimia yaitu butilated hidrokisianisol (BHA), butil hidroksitoluen (BHT), TBHQ, PG, dan NDGS yang ditambahkan dalam makanan untuk mencegah kerusakan lemak.

Berdasarkan fungsinya antioksidan dapat dibedakan menjadi 3 yaitu : pertama adalah antioksidan primer, antioksidan ini berfungsi mencegah terbentuknya radikal bebas yang baru. Seperti SOD, GPx, seruloplasmin, transferin, dan ferritin. Kedua adalah antioksidan sekunder seperti vitamin E, vitamin C,  $\beta$ -karoten, asam urat, bilirubin, dan albumin akan memutus jalur pembentukan reaksi rantai dari radikal bebas. Ketiga adalah antioksidan tersier seperti enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfoksida reduktase berfungsi untuk memperbaiki struktur sel yang rusak akibat serangan radikal bebas.

Antioksidan bekerja melindungi sel dan jaringan sasaran melalui mekanisme sebagai berikut : (Priyanto, 2010)

- a. Penangkapan (*scavenger*) radikal bebas secara enzimatik atau dengan reaksi kimia langsung
- b. Mengurangi pembentukan radikal bebas
- c. Mengikat ion logam yang terlibat dalam pembentukan spesies yang reaktif (transferin, seruloplasmin, dan albumin)
- d. Memperbaiki kerusakan sasaran (target)
- e. Menghancurkan molekul yang rusak dan menggantinya dengan yang baru.

## **2. Radikal Bebas**

Radikal bebas (*free radical*) adalah suatu atom atau molekul yang mempunyai elektron tidak berpasangan. Secara teoritis radikal bebas dapat terbentuk bila terjadi pemisahan ikatan kovalen. Radikal bebas dianggap berbahaya karena menjadi sangat reaktif dalam upaya mendapatkan pasangan elektronnya, dapat pula terbentuk radikal bebas baru dari atom atau molekul yang elektronnya terambil untuk berpasangan dengan radikal bebas sebelumnya. Oleh karena sifatnya yang sangat reaktif dan gerakannya yang tidak beraturan, maka apabila terjadi di dalam tubuh makhluk hidup akan menimbulkan kerusakan di berbagai bagian sel (Muhilal, 1991). Kerusakan yang dapat ditimbulkan oleh serangan radikal bebas antara lain kerusakan membran sel, protein, DNA, dan lipid. Kerusakan tersebut dapat

menyebabkan timbulnya berbagai macam penyakit degeneratif seperti katarak, kanker, atherosklerosis, dan proses ketuaan (Muhilal, 1991).

Radikal bebas adalah partikel terkecil dari suatu molekul yang mengandung gugusan elektron yang tidak berpasangan pada orbit terluarnya. Radikal bebas memiliki reaktifitas yang tinggi dan cenderung membentuk radikal baru, yang pada gilirannya apabila menjumpai molekul lain akan membentuk radikal baru lagi, sehingga terjadilah reaksi rantai. Reaksi rantai tersebut baru berhenti apabila radikal bebas itu dapat diredam (Suryohudoyo, 2000).

Sumber radikal bebas dalam tubuh manusia : (Priyanto, 2010)

#### 1. Sumber internal

##### a. Proses transpor di mitokondria

Kompleks sitokrom oksidase mereduksi  $O_2$  secara simultan dengan 4 elektron dalam proses produksi ATP tanpa menghasilkan radikal bebas sebagai produk antara. Namun 1 – 5 % dari oksigen yang digunakan akan mengalami kebocoran dari proses ini dan mengalami reduksi bertingkat yang menghasilkan  $O_2^{\cdot-}$  atau bahkan  $OH^{\cdot}$ .

##### b. Proses Fagositosis

Proses fagositosis melibatkan sel – sel neutrofil, eosinofil, dan basofil (polimorfonuklear), monosit, dan makropage. Proses tersebut dapat menghasilkan radikal superoksid ( $O_2^{\cdot-}$ ),

radikal hidroksil dan peroksida. Peroksida bukan radikal bebas, tetapi sumber radikal bebas yang efektif.

c. Oksidasi Hemoglobin

Diperkirakan 3 % dari Hb yang terdapat pada sel darah merah mengalami oksidasi menjadi oksihemoglobin. Oksihemoglobin secara lambat melepaskan  $O_2^{\cdot-}$  dalam jumlah yang bermakna.

d. Enzim yang menggunakan  $O_2$  secara berlebihan

Ada sekitar 10 – 15 % oksigen yang diambil saat bernapas digunakan oleh enzim – enzim seperti oksidase, oksigenase dan sitokrom P 450.

e. Reaksi Dismutasi

Pada sistem biologi yang menghasilkan  $O_2^{\cdot-}$  juga akan menghasilkan hidrogen peroksida melalui reaksi dismutasi tersebut.

f. Reaksi Fenton

Dalam tubuh manusia terdapat logam seperti besi dan cuprum baik dalam bentuk bebas atau terikat. Dalam tubuh, unsur besi dapat berasal dari garam – garam besi pada terapi anemia, makanan atau yang dilepas dari hemoglobin.

2. Sumber eksternal

Radikal bebas dari luar tubuh masuk ketubuh terjadi secara sengaja atau tidak sengaja, seperti dari polutan, atau obat – obatan tertentu.

Radikal bebas dapat masuk dan terbentuk di dalam tubuh melalui :

- a. Pernafasan pada kondisi lingkungan tidak sehat. Saat melakukan pernafasan akan masuk oksigen ( $O_2$ ) yang sangat dibutuhkan oleh tubuh untuk proses metabolisme dengan mengoksidasi zat-zat makanan, seperti karbohidrat, lemak dan protein. Zat-zat ini akan dikonversi menjadi senyawa pengikat energi atau adenosin triphosfat (ATP). Tetapi oksigen yang berlebihan saat olahraga yang kompleks dalam tubuh menghasilkan produk-produk sampingan berupa radikal bebas.
- b. Makanan berlemak. Lemak sangat bermanfaat bagi tubuh, tetapi mengkonsumsi lemak berlebihan khususnya lemak polyunsaturated dan lemak hidrogenasi sangat berpotensi menghasilkan radikal bebas. Lemak polysaturated disebut juga lemak tidak jenuh artinya yang mempunyai ikatan rangkap pada atomya C-nya. Adanya ikatan rangkap tersebut mudah sekali dioksidasi atau terserang peroksidasi lipid membentuk radikal peroksidasi lipid. Lemak ini banyak terdapat dalam mayones dan saos salad. Sedangkan lemak hidrogenasi adalah lemak yang ikatan rangkap tak jenuhnya telah disubtitusi dengan hidrogen, lemak ini disebut margarin atau

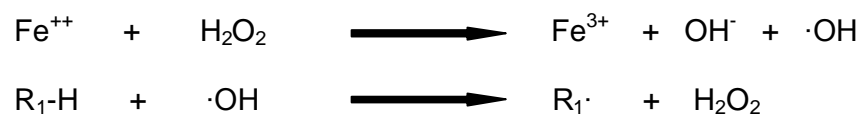
mentega tiruan. Selain mudah terserang oleh radikal bebas, lemak ini sangat berbahaya karena dapat mengubah kemampuan serap selaput sel sehingga mengakibatkan fungsi selaput sel sebagai pelindung menjadi tidak berarti.

- c. Kondisi lingkungan yang tidak sehat. Polusi udara yang disebabkan oleh proses pembakaran bahan bakar pada mesin dan kendaraan bermotor dapat membentuk radikal bebas.

Senyawa oksigen reaktif sebagian diantaranya berbetuk radikal seperti radikal hidroksil, radikal peroksil, dan ion superoksida dan sebagian yang lain bukan radikal singlet oksigen, hidrogen peroksida, dan ion hiperklorit. Radikal bebas dan senyawa oksigen reaktif lainnya yang diproduksi dalam jumlah normal sangat penting untuk menjaga fungsi biologis, seperti halnya sel darah putih menghasilkan hidropersida untuk membunuh beberapa jenis bakteri dan fungi. Namun, jika jumlahnya berlebihan akan mencari pasangan elektronnya dengan merampas secara radikal dari molekul lain yang mengakibatkan kerusakan oksidatif jaringan yang sering dikenal sebagai stress oksidatif (Muhilal,1991).

Mekanisme reaksi radikal bebas meliputi tiga tahap (Suryohudoyo, 2000), yaitu:

- a. Tahap Inisiasi



- b. Tahap Propagasi





c. Tahap terminasi



### 3. Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan

Pengujian efek antioksidan dapat dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenil-2-pikrat-hidrazid). Molekul DPPH merupakan radikal bebas yang stabil akibat delokalisasi elektron pada keseluruhan molekul, sehingga molekul DPPH tersebut tidak dimerisasi. Delokalisasi elektron ini akan memberikan warna ungu dalam larutan etanol yang terukur pada panjang gelombang 520 nm (Molyneux, 2004).

Ketika larutan DPPH dicampur dengan bahan antioksidan maka akan terjadi reaksi penangkapan hidrogen yang berasal dari antioksidan oleh DPPH dan diubah menjadi 1,1 difenil-pikrilhidrazin yang ditandai perubahan warna dari ungu gelap ke kuning terang (Molyneux, 2004).

Reaksi diatas menggambarkan sistem oksidasi, sama seperti reaksi autooksidasi dari lipid atau asam lemak tak jenuh lainnya. Molekul DPPH menggantikan radikal bebas pada sistem oksidasi ini yang aktivitasnya akan dikurangi oleh bahan antioksidan (Molyneux, 2004).

Pengujian terhadap aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode baik secara, *in vitro* dan *in vivo*. Uji aktivitas antioksidan secara *in vitro* dapat dilakukan dengan metode penangkap radikal hidroksil atau anti degradasi deoksiribosa yang telah dilakukan oleh beberapa peneliti (Sri A, 2005).

Radikal hidroksil selanjutnya akan bereaksi dengan 2-deoksiribosa membentuk malonaldehida. Adanya sampel atau ekstrak yang mengandung senyawa yang dapat menangkap radikal hidroksil akan mengurangi kerusakan 2-deoksiribosa. Adanya malonaldehida dapat diidentifikasi dengan asam tiobarbiturat (TBA) yang akan membentuk kompleks berwarna merah, sehingga dapat ditetapkan secara spektrofotometri.

#### **F. Metode Ekstraksi Bahan Alam**

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair dibuat dengan mengekstraksi simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok diluar pengaruh cahaya matahari langsung (Dirjen POM, 1997)

Ekstraksi adalah penyaringan komponen kimia atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis hewan termasuk biota laut. Komponen kimia yang terdapat pada tanaman, hewan, dan beberapa jenis ikan pada umumnya mengandung senyawa-senyawa yang mudah larut dalam pelarut organik. Pelarut organik yang paling umum digunakan untuk mengekstraksikan komponen kimia dari sel tanaman

adalah metanol, etanol, kloroform, heksan, eter, aseton, benzene, dan etil asetat (Dirjen POM 1997).

Proses pengekstraksian komponen kimia dalam sel tanaman adalah pelarut organik akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dalam pelarut organik di luar sel, maka larutan terpekat akan berdifusi keluar sel dan proses ini akan berulang terus sampai terjadi keseimbangan konsentrasi cairan zat aktif di dalam dan di luar sel (Dirjen POM 1997).

Penyarian dipengaruhi oleh : (Dirjen POM 1997).

1. Derajat kehalusan serbuk
2. Perbedaan konsentrasi yang terdapat mulai dari pusat butir serbuk simplisia sampai ke permukaannya, maupun pada perbedaan konsentrasi yang terdapat lapisan batas, sehingga suatu titik akan dicapai, oleh zat – zat yang tersari jika ada daya dorong yang cukup untuk melanjutkan pemindahan massa.

Jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah :

- a. Secara panas seperti refluks dan destilasi uap air karena sampel langsung dipanaskan dengan pelarut, umumnya digunakan untuk sampel yang mempunyai bentuk dan dinding sel yang tebal. Metode ekstraksi secara panas digunakan untuk sampel yang tahan panas dan mempunyai tekstur yang keras seperti batang, akar dan biji.
- b. Secara dingin misalnya maserasi, perkolasi, dan sokletasi. Maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia, sedangkan soklet dengan

cara cairan penyaring dipanaskan dan uap cairan penyaring naik ke kondensor kemudian terjadi kondensasi dan turun menyaring simplisia. Ekstraksi secara dingin digunakan untuk sample yang lunak, tidak tahan panas, dan tidak mudah mengembang dalam cairan penyari (Dirjen POM 1997)

Metode maserasi merupakan cara penyari yang sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode ini dilakukan untuk menyaring simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyaring dan tidak mengandung zat yang mudah mengembang seperti benzoin, tiraks, dan lilin (Dirjen POM 1997).

Maserasi dilakukan dengan cara memasukkan 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok (4/8) ke dalam bejana, ditambahkan dengan 75 bagian penyari dan ditutup serta dibiarkan selama 5 hari, terlindung dari cahaya sambil sekali-kali diaduk, dan diperas. Ampas dicuci dengan cairan penyari secukupnya sampai diperoleh 100 bagian. Pindahkan ke dalam bejana tertutup, biarkan di tempat sejuk dan terlindung cahaya selama 2 hari. Endapan yang terbentuk dipisahkan dan dipekatkan (Dirjen POM 1997).

Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Dirjen POM 1997).

### **G. Malondialdehida (MDA)**

Malondialdehida (MDA) merupakan produk hasil peroksidasi lipid dalam tubuh dan terdapat dalam bentuk bebas atau terkompleks dengan jaringan di dalam tubuh. Reaksi ionisasi senyawa-senyawa radikal bebas juga dapat membentuk Malondialdehida (MDA) dan juga merupakan produk samping biosintesis prostaglandin (Bird dan Drapper, 1984)

Untuk menentukan radikal bebas secara langsung sangat sulit, hal ini disebabkan karena waktu paruhnya sangat rendah dan reaktifitasnya sangat tinggi. Penentuan radikal bebas dilakukan dengan “footprint”, setelah radikal bebas menyerang komponen sel, misalnya lemak, protein dan DNA. Peroksidasi lipid merupakan radikal bebas rantai reaksi yang dihasilkan pada oksidasi asam lemak tidak jenuh. (Suha *et al.* 2010)

Pengukuran Malondialdehida (MDA) banyak dilakukan oleh para peneliti sebagai indeks tidak langsung dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh peroksidasi lipid. Menurut Tokur *et al.* (2006), prinsip pengukuran Malondialdehida (MDA) adalah reaksi satu molekul Malondialdehida (MDA) dengan dua molekul asam tiobarbiturat (TBA) membentuk kompleks senyawa Malondialdehida (MDA)-TBA yang berwarna pink dan kuantitasnya dapat dibaca dengan spektrofotometer.

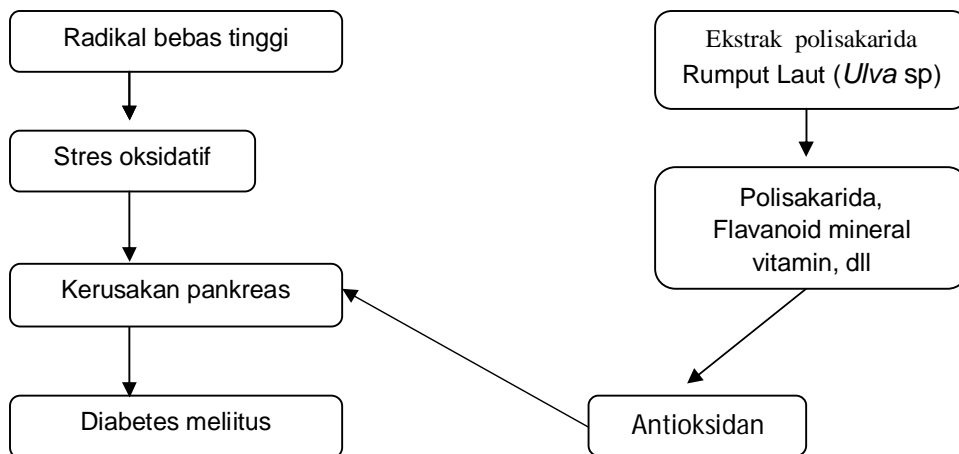
### **H. Spektrofotometri UV-Visible**

Dalam analisis spektrofotometri digunakan suatu sumber radiasi yang menjorok ke dalam daerah ultraviolet spektrum ini, dipilih panjang

gelombang tertentu dengan lebar pita kurang dari 1 nm. Proses ini memerlukan penggunaan instrumen yang lebih rumit dan karenanya lebih mahal. Instrumen yang digunakan untuk maksud ini adalah spektrofotometer, dan seperti tersirat dalam nama ini, instrumen ini sebenarnya terdiri dari dua instrument dalam satu kotak sebuah spektrometer dan sebuah fotometer (Bassett J *et al*, 1994).

Spektrofotometri UV-visible melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometri UV-visible lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif dibandingkan analisis kualitatif (Bassett J *et al*, 1994).

## I. Kerangka Teori



## J. Hipotesis

Ekstrak polisakarida Rumput Laut (*Ulva* sp) di duga memiliki aktivitas antioksidan yang dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus Diabetes Mellitus melalui parameter Malondialdehida (MDA).

## K. Definisi Operasional

1. Pemberian Rumput Laut (*Ulva* sp) diberikan dalam bentuk ekstrak polisakarida yang di bagi dalam beberapa konsentrasi selama 7 hari perlakuan.
2. Diabetes Melitus adalah kenaikan gula darah tikus setelah di induksi dengan aloksan.
3. Aloksan (*2,4,5,6-tetraoxypyrimidine*; *2,4,5,6-pyrimidinetetrone*) adalah suatu substansi yang secara struktural merupakan derivat pirimidin sederhana. Aloksan telah digunakan secara luas untuk menginduksi diabetes pada hewan percobaan.
4. DPPH adalah molekul radikal bebas yang stabil yang dapat diukur serapannya pada spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm.
5. Malondialdehida (MDA) adalah senyawa yang dihasilkan dari peroksidasi lipid.
6. Glukometer adalah alat yang digunakan untuk pengukuran kadar glukosa darah.
7. Glukosa darah yang diukur adalah kadar glukosa darah puasa.