

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
MODEL DIABETES MELITUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

(Skripsi)

Oleh

REIMMA EMILY RACHMAN

2218011143



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN BINAHONG
(*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP GAMBARAN
HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
MODEL DIABETES MELITUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN**

Oleh

REIMMA EMILY RACHMAN

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA KEDOKTERAN**

Pada

**Jurusan Pendidikan Dokter
Fakultas Kedokteran Universitas Lampung**



**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2026**

Judul Skripsi

: **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK
ETANOL 70% DAUN BINAHONG (*Anredera
cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP
GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR
PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
MODEL DIABETES MELITUS YANG
DIINDUKSI ALOKSAN**

Nama Mahasiswa

: **Reimma Emily Rachman**

No. Pokok Mahasiswa

: **2218011143**

Program Studi

: **Pendidikan Dokter**

Fakultas

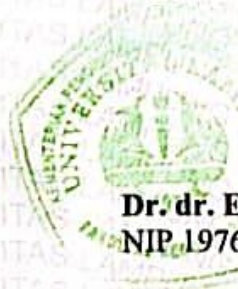
: **Kedokteran**



dr. Waluyo Rudiyanto, S.Ked., M.Kes., Sp.KKLP.
NIP 19761029 200312 1 002

dr. Septia Eva Lusina, S.Ked., Sp.F.
NIP 19860916 202321 2 038

2. Dekan Fakultas Kedokteran



Dr. dr. Eyi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP 19760120 200312 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: dr. Waluyo Rudiyanto, S.Ked., M.Kes.,
Sp.KKLP.



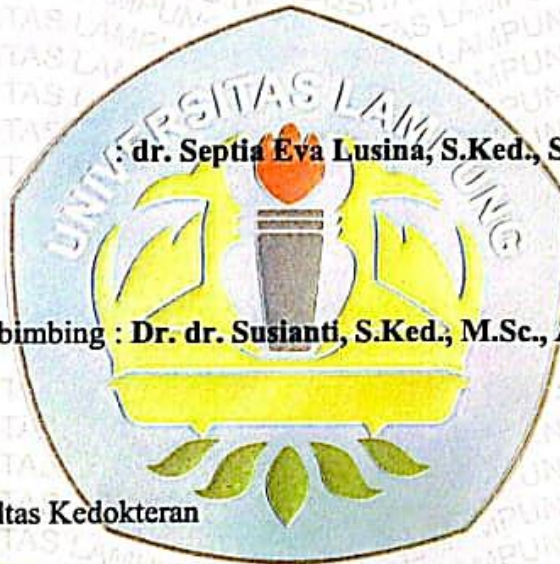
Sekretaris

: dr. Septia Eva Lusina, S.Ked., Sp.F.

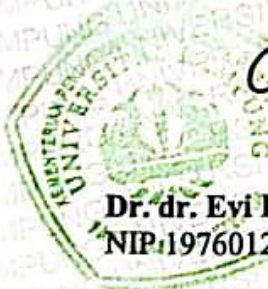


Penguji

Bukan Pembimbing : Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc., AHK(K)



2. Dekan Fakultas Kedokteran




Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc.
NIP.19760120 200312 2 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 9 Januari 2026

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Reimma Emily Rachman

NPM : 2218011143

Program Studi : Pendidikan Dokter

Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Diabetes Melitus yang diinduksi Aloksan

Dengan ini menyatakan bahwa karya ilmiah Skripsi ini merupakan **HASIL KARYA SAYA SENDIRI**. Apabila di kemudian hari terbukti adanya plagiarisme dan kecurangan dalam karya ilmiah ini, maka saya bersedia diberi sanksi.

Bandar Lampung, 9 Januari 2026

Mahasiswa,



REIMMA EMILY RACHMAN

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Reimma Emily Rachman, lahir di Bekasi, 31 Mei 2004, merupakan anak keempat dari sembilan bersaudara, putri dari pasangan Bapak Alm. Erick Arrachman dan Ibu Amalia Fitriyah. Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-Kanak di TK Kartini Kota Tangerang pada tahun 2010. Pendidikan Sekolah Dasar dilanjutkan di SDS Kartini Kota Tangerang dan lulus pada tahun 2016. Selanjutnya, penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 5 Tangerang pada tahun 2019, dan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 6 Tangerang pada tahun 2022.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2022. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti kegiatan organisasi, kepanitiaan, asisten dosen, dan perlombaan. Penulis aktif di organisasi seperti CIMSA FK Unila sebagai *Media and Communication Coordinator* SCOPH (2024-2025), LUNAR-MRC FK Unila sebagai Tim Media dan Jurnalistik (2023-2025), CIMSA Indonesia sebagai *Project Assistant Team* (2024-2025), dan tergabung dalam Paduan Suara Mahasiswa FK Unila (2024-2025), serta Paguyuban Karya Salemba Empat Unila (2024-2026). Penulis memiliki pengalaman sebagai Asisten Dosen Histologi pada tahun 2023-2025. Selama perkuliahan, penulis juga aktif mengikuti berbagai kompetisi akademik tingkat fakultas maupun nasional dan pernah memperoleh prestasi sebagai Juara I Poster Nasional Kategori Embriologi FK-KMK UGM, Juara III bidang *Digestive* serta finalis di bidang *Tropical Infectious Disease* pada *Unila Medical Olympiad* tahun 2024-2025. Selain itu, penulis merupakan penerima Beasiswa Karya Salemba Empat (KSE) periode 2024–2026.

وَمَكْرُوا وَمَكَرَ اللَّهُ وَاللَّهُ خَيْرُ الْمَكْرِينَ

“Mereka merencanakan, dan Allah pun merencanakan. Dan Allah adalah sebaik-baik pembuat rencana.”

– (QS. Āli ‘Imrān [3]: 54) –

SANWACANA

Alhamdulillahirrabilalamin puji syukur senantiasa Penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya Penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Skripsi dengan judul “” disusun sebagai pemenuh syarat guna mencapai gelar sarjana di Fakultas Kedokteran di Universitas Lampung.

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan bimbingan, masukan, bantuan, kritik, dan saran dari berbagai pihak. Dengan ini penulis ingin menyampaikan ucapan rasa terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., I.P.M., selaku Rektor Universitas Lampung;
2. Dr. dr. Evi Kurniawaty, S.Ked., M.Sc., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
3. Dr. dr. Indri Windarti, S.Ked., Sp.PA., selaku Ketua Jurusan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dan selaku Dokter Patologi Anatomi yang telah membantu membimbing penulis dalam proses pembacaan preparat histopatologi;
4. dr. Intanri Kurniati, S.Ked., Sp.PK., selaku Kepala Program Studi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung;
5. dr. Waluyo Rudiyanto, S.Ked., M.Kes., Sp.KKLP., selaku Ketua Departemen Anatomi, Histologi, dan Patologi Anatomi dan selaku Pembimbing Pertama penulis yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran untuk membimbing, memberikan kritik dan saran yang konstruktif selama proses penyusunan skripsi ini. Terima kasih atas segala dukungan dan nasihat yang tidak pernah putus diberikan selama proses penyusunan skripsi, penulis sangat menghargai ilmu yang telah dibagikan;

6. dr. Septia Eva Lusina, S.Ked., Sp.F., selaku Pembimbing Kedua, yang bersedia meluangkan waktu dan tenaga, memberikan bimbingan, dukungan, kritik, saran yang membangun dalam penyelesaian skripsi ini. Terima kasih atas segala bimbingan dan ilmu yang telah diberikan kepada penulis;
7. Dr. dr. Susianti, S.Ked., M.Sc., AHK(K), selaku Dosen Pengampu Bidang Ilmu Histologi, dan selaku Pembahas, yang telah meluangkan banyak waktu untuk memberikan masukan, kritik, saran, dan pembahasan yang bermanfaat dalam proses penyelesaian skripsi yang tidak akan pernah saya lupakan. Terima kasih atas arahan dan nasihat yang tidak pernah putus diberikan selama proses penyusunan skripsi ini;
8. Dr. Si. dr. Syazili Mustofa, S.Ked., M.Biomed., selaku Pembimbing Akademik, yang telah memberi nasihat, solusi, dan mengarahkan penulis selama proses perkuliahan;
9. Seluruh dosen Fakultas Kedokteran Universitas Lampung. Terima kasih atas ilmu yang telah diberikan yang sangat bermanfaat selama proses pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
10. Seluruh staf dan karyawan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung atas bimbingan, bantuan, dan arahannya yang telah diberikan selama proses pendidikan di Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.
11. Mas Anggi Suryana, yang telah membantu dalam masa perawatan tikus dan membantu berjalannya penelitian.
12. Pak Bayu Putra Danan Jaya, S.ST., M.Si., yang telah membantu dalam proses pembuatan preparat histologi pada masa penelitian;
13. Mbak Afrita, laboran Laboratorium Kimia Farmasi Analisa, yang telah membantu selama proses persiapan dan pengenceran senyawa aloksan pada masa penelitian;
14. Ayah, Ibu, Kakak, Adik, serta seluruh keluarga besar. Terima kasih atas doa, dukungan, cinta, dan kepercayaan yang telah diberikan, serta tanpa lelah mendengar keluh kesah penulis hingga di titik ini. Semoga Allah SWT. memberikan keberkahan di dunia serta tempat terbaik di akhirat kelak, karena telah menjadi figur orang tua dan keluarga terbaik bagi penulis.

15. Teman-teman satu bimbingan dan penelitian, Arini dan Dela, terima kasih atas kerja sama dan dukungan yang saling menguatkan dalam menyelesaikan skripsi ini.
16. Teman-teman seperjuangan penulis. “Caffeinase”, “Lceria”, “Absen Bang”, “KKN Sumber Agung 1”, “Gas”, dan “CSL 20mbie” yang telah memberikan dukungan, kebersamaan, serta semangat yang tidak pernah putus. Penulis bersyukur atas kehadiran kalian yang selalu memberikan energi positif selama perjalanan akademik ini.
17. Asisten dosen histologi angkatan 2022, yang telah menjadi rekan, tempat berdiskusi, dan sumber semangat selama menjalani kegiatan akademik maupun praktikum. Saya sangat menghargai kebersamaan dan kerja sama yang telah terjalin;
18. Teman-teman sejawat angkatan 2022 (Troponin-Tropomiosin), terima kasih untuk segala memori indahnyanya selama 7 semester ini. Semoga perjuangan yang sudah kita lalui dapat membantu kita menjadi dokter yang profesional;
19. Terima kasih kepada segala pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah mendukung dan membantu dalam penyusunan skripsi ini. Terima kasih juga kepada diri saya sendiri yang selalu memilih berusaha dengan jujur dan tidak menyerah sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak ketidaksempurnaan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, Penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberi kebermanfaatan bagi para pembacanya.

Bandar Lampung, 9 Januari 2026

Penulis



REIMMA EMILY RACHMAN

ABSTRACT

THE EFFECT OF 70% ETHANOL EXTRACT OF BINAHONG LEAVES (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) ON LIVER HISTOPATHOLOGICAL FEATURES IN ALLOXAN-INDUCED DIABETIC WHITE RATS (*Rattus norvegicus*)

By

REIMMA EMILY RACHMAN

Background: Diabetes mellitus causes chronic hyperglycemia, which increases oxidative stress and may lead to liver damage. Binahong leaves (*Anredera cordifolia*) contain antioxidant compounds that potentially exert hepatoprotective effects. This study aimed to determine the effect of administering 70% ethanol extract of binahong leaves and its dose escalation on the liver histopathological features of alloxan-induced diabetic male rats.

Methods: This experimental study employed a *post-test only control group design*. A total of 25 male Sprague-Dawley rats were divided into five groups: normal control (KN), negative control (K(-)) induced with alloxan, and treatment groups P1, P2, and P3 induced with alloxan and administered 70% ethanol extract of binahong leaves at doses of 25 mg/kgBW, 50 mg/kgBW, and 100 mg/kgBW, respectively. Liver histopathological assessment was performed using the Manja Roenigk scoring system in the perivenular zone (zone 3). Data were analyzed using One-way ANOVA followed by Tukey's HSD Post-Hoc test.

Results: The mean liver damage scores were 1.076 in the KN group, 1.796 in the K(-) group, 1.364 in P1, 1.250 in P2, and 1.136 in P3. Significant differences were observed among groups ($p < 0.05$), except between the KN and P3 groups ($p > 0.05$).

Conclusions: Administration of 70% ethanol extract of binahong leaves improves the liver histopathological features of alloxan-induced diabetic male rats. Increasing doses of the extract tended to enhance hepatoprotective effects, with the 100 mg/kgBW dose providing the most optimal outcome.

Keywords: alloxan, *Anredera cordifolia*, binahong, diabetes mellitus, liver histopathology

ABSTRAK

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) MODEL DIABETES MELITUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Oleh

REIMMA EMILY RACHMAN

Latar Belakang: Diabetes melitus menyebabkan hiperglikemia kronik yang meningkatkan stres oksidatif dan dapat menimbulkan kerusakan hepar. Daun binahong (*Anredera cordifolia*) mengandung senyawa antioksidan yang berpotensi memberikan efek hepatoprotektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong serta peningkatan dosisnya terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan model diabetes melitus yang diinduksi aloksan.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan *Post Test Only Control Group Design*. Sebanyak 25 ekor tikus putih jantan galur Sprague-Dawley dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kontrol normal (KN), kontrol negatif K(-) yang diinduksi aloksan, serta kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 yang diinduksi aloksan dan diberi ekstrak etanol 70% daun binahong dengan dosis 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB, dan 100 mg/kgBB. Penilaian histopatologi hepar dilakukan menggunakan Skor Manja Roenigk pada zona perivenular (zona 3). Data dianalisis menggunakan uji *One-way ANOVA* dan *Post-Hoc Tukey's HSD*.

Hasil: Rerata skor kerusakan hepar pada kelompok KN sebesar 1,076; K(-) sebesar 1,796; P1 sebesar 1,364; P2 sebesar 1,250; dan P3 sebesar 1,136. Terdapat perbedaan bermakna antar kelompok ($p < 0,05$), kecuali antara kelompok KN dan P3 ($p > 0,05$).

Kesimpulan: Pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong berpengaruh dalam memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan model diabetes melitus yang diinduksi aloksan. Peningkatan dosis ekstrak menunjukkan kecenderungan efek hepatoprotektif yang lebih baik, dengan dosis 100 mg/kgBB memberikan hasil paling optimal.

Kata Kunci: aloksan, *Anredera cordifolia*, binahong, diabetes melitus, histopatologi hepar

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
 BAB I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti	5
1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat	5
1.4.3 Manfaat Bagi Institusi.....	6
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 7
2.1 Hepar	7
2.1.1 Anatomi Hepar.....	7
2.1.2 Fisiologi Hepar	9
2.1.3 Histologi Hepar.....	11
2.2 Diabetes Melitus (DM)	13
2.2.1 Definisi dan Epidemiologi DM.....	13
2.2.2 Klasifikasi DM.....	14
2.2.3 Etiologi dan Faktor Risiko DM	15
2.2.4 Patofisiologi DM.....	16
2.2.5 Komplikasi DM	17

2.3 Kerusakan Hepar secara Histologi	18
2.3.1 Kerusakan Sel Hepatosit	18
2.3.2 Nekrosis	19
2.3.3 Degenerasi Sel	21
2.4 Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i>)	22
2.4.1 Deskripsi dan Klasifikasi Daun Binahong (<i>A. cordifolia</i>)	22
2.4.2 Komponen Aktif pada Daun Binahong (<i>A. cordifolia</i>)	24
2.4.3 Aktivitas Farmakologis Daun Binahong (<i>A. cordifolia</i>)	26
2.4.4 Manfaat Hepatoprotektif Daun Binahong (<i>A. cordifolia</i>)	28
2.4.5 Ekstraksi dan Rendemen	29
2.5 Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i> Galur Sprague-Dawley)	34
2.5.1 Deskripsi dan Klasifikasi Tikus (<i>R. norvegicus</i>)	34
2.5.2 Galur Sprague-Dawley	36
2.5.3 Kesamaan Hepar Manusia dan Tikus (<i>R. norvegicus</i>)	37
2.5.4 Histologi Hepar Tikus (<i>R. norvegicus</i>)	37
2.6 Alokasan	40
2.7 Kerangka Teori	42
2.8 Kerangka Konsep	45
2.9 Hipotesis Penelitian	45
BAB III METODE PENELITIAN	46
3.1 Desain Penelitian	46
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	46
3.2.1 Waktu Penelitian	46
3.2.2 Tempat Penelitian	46
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian	47
3.3.1 Populasi Penelitian	47
3.3.2 Sampel Penelitian	47
3.3.3 Teknik Sampling	49
3.4 Identifikasi Variabel Penelitian	50
3.4.1 Variabel Bebas (<i>Independent Variable</i>)	50
3.4.2 Variabel Terikat (<i>Dependent Variable</i>)	50
3.5 Kriteria Sampel	50

3.5.1 Kriteria Inklusi	50
3.5.2 Kriteria Eksklusi	50
3.6 Definisi Operasional	51
3.7 Instrumen dan Bahan Penelitian	51
3.7.1 Instrumen Penelitian	51
3.7.2 Bahan Penelitian	52
3.8 Prosedur dan Alur Penelitian	53
3.8.1 Determinasi Tumbuhan.....	53
3.8.2 Pembuatan Ekstrak Daun Binahong	53
3.8.3 Uji Fitokimia.....	54
3.8.4 Persiapan dan Aklimatisasi Hewan Uji	55
3.8.5 Penentuan dan Pemberian Dosis Aloksan	55
3.8.6 Pengambilan Darah Hewan Uji	56
3.8.7 Penentuan dan Pemberian Dosis Ekstrak Daun Binahong	57
3.8.8 Pengambilan Organ Hepar	58
3.8.9 Pembuatan Preparat Histologi Hepar.....	59
3.8.10 Pengamatan Preparat Histopatologi Hepar	61
3.9 Pengelolaan Tikus Setelah Penelitian	62
3.10 Alur Penelitian	63
3.11 Analisis Data	64
3.11.1 Pengolahan Data	64
3.11.2 Analisis Penelitian	64
3.12 Etika Penelitian	65
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	66
4.1 Hasil	66
4.1.1 Rendemen Ekstrak Daun Binahong.....	66
4.1.2 Hasil <i>Screening</i> Fitokimia Daun Binahong	67
4.1.3 Hasil Rerata Kadar Gula Darah Tikus Perlakuan	70
4.1.4 Gambaran Histopatologi Hepar Tikus	71
4.1.5 Analisis Statistik Histopatologi Hepar Tikus.....	77
4.2 Pembahasan.....	80
4.3 Kelebihan Penelitian	86

4.4 Keterbatasan Penelitian.....	86
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	88
5.1 Simpulan	88
5.2 Saran	89
DAFTAR PUSTAKA	90
LAMPIRAN	101

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 2.1 Taksonomi Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) ..	23
Tabel 2.2 Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)	24
Tabel 2.3 Daftar Pelarut dan Polaritasnya	32
Tabel 2.4 Taksonomi Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	35
Tabel 3.1 Definisi Operasional	51
Tabel 3.2 Kriteria Penilaian Histologi Sel Hepar Skor Manja Roenigk	62
Tabel 4.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Binahong	67
Tabel 4.2 Rerata Kadar Glukosa Darah Tikus Setiap Kelompok	71
Tabel 4.3 Rerata Berat Badan Awal Tikus Setiap Kelompok	71
Tabel 4.4 Hasil Rerata Skoring Manja Roenigk	77
Tabel 4.5 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> Rerata Skoring Manja Roenigk	78
Tabel 4.6 Hasil Uji Homogenitas <i>Levene's Test</i>	79
Tabel 4.7 Hasil Uji <i>One-way ANOVA</i>	79
Tabel 4.8 Hasil Uji <i>Post-Hoc Tukey's HSD</i>	79

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Anatomi Hepar Bagian Anterior	8
Gambar 2.2 Anatomi Hepar Bagian Posterior	8
Gambar 2.3 Struktur Mikroskopis Hepar	11
Gambar 2.4 Mikrograf Fotomikroskopis dari Preparat Hepar Tikus (Pewarnaan H&E; Perbesaran 400×).....	20
Gambar 2.5 Daun Binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis).....	22
Gambar 2.6 Tikus Galur Sprague-Dawley	36
Gambar 2.7 Struktur Mikroskopis Hepar Tikus (Pewarnaan H&E; Perbesaran a: 40×, b: 200×, dan c: 400×)	38
Gambar 2.8 Potongan Histopatologi Hepar Tikus (Pewarnaan H&E; Perbesaran 100×)	39
Gambar 2.9 Struktur Kimia Aloksan	41
Gambar 2.10 Kerangka Teori.....	44
Gambar 2.11 Kerangka Konsep	45
Gambar 3.1 Teknik Sampling	49
Gambar 3.2 Alur Penelitian	63
Gambar 4.1 Hasil Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid	67
Gambar 4.2 Hasil Uji Fitokimia Senyawa Fenol	68
Gambar 4.3 Hasil Uji Fitokimia Senyawa Tanin	68
Gambar 4.4 Hasil Uji Fitokimia Senyawa Saponin	69
Gambar 4.5 Hasil Uji Fitokimia Senyawa Alkaloid Reagen Mayer, Dragendorff, dan Bouchardat	69
Gambar 4.6 Hasil Uji Fitokimia Senyawa Steroid/Terpenoid	70
Gambar 4.7 Struktur Histologi Hepar Tikus Kelompok Kontrol Normal (KN) (Pewarnaan H&E; Perbesaran 400×).....	72
Gambar 4.8 Struktur Histologi Hepar Tikus Kelompok Kontrol Negatif (K(-)) (Pewarnaan H&E; Perbesaran 400×).....	73
Gambar 4.9 Struktur Histologi Hepar Tikus Kelompok Perlakuan 1 (P1) (Pewarnaan H&E; Perbesaran 400×).....	74
Gambar 4.10 Struktur Histologi Hepar Tikus Kelompok Perlakuan 2 (P2) (Pewarnaan H&E; Perbesaran 400×).....	75
Gambar 4.11 Struktur Histologi Hepar Tikus Kelompok Perlakuan 3 (P3) (Pewarnaan H&E; Perbesaran 400×).....	76
Gambar 4.12 Grafik Perbandingan Rerata Skor Manja Roenigk pada Setiap Kelompok	77

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Surat Persetujuan Etik Penelitian
Lampiran 2	Surat Keterangan Hewan Coba
Lampiran 3	Surat Izin Penelitian Laboratorium FMIPA Unila
Lampiran 4	Surat Izin Penelitian Laboratorium Patologi Anatomi dan Histologi FK Unila
Lampiran 5	Surat Determinasi Tanaman
Lampiran 6	Surat Uji Fitokimia
Lampiran 7	<i>Certificate of Analysis</i> Aloksan
Lampiran 8	Berat Badan Tikus Awal Penelitian
Lampiran 9	Hasil Pengukuran Gula Darah Tikus Hari 1-24
Lampiran 10	Gambaran Histopatologi Hepar Tikus
Lampiran 11	Penilaian per Lapang Pandang Skoring Manja Roenigk
Lampiran 12	Uji Statistik
Lampiran 13	Foto-foto Penelitian

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit metabolik kronis yang ditandai oleh hiperglikemia akibat gangguan sekresi atau kerja insulin. DM diklasifikasikan menjadi DM tipe 1, DM tipe 2, DM gestasional, serta tipe lain seperti diabetes monogenik dan diabetes sekunder akibat kondisi atau obat tertentu (PERKENI, 2021). Kondisi ini merupakan masalah kesehatan global serius karena hiperglikemia kronis yang tidak terkontrol dapat menyebabkan komplikasi sistemik, termasuk gangguan pembuluh darah, saraf, jantung koroner, stroke, nefropati, retinopati, neuropati perifer, dan kerusakan fungsi hepar, sehingga memicu kerusakan multiorgan bila tidak ditangani optimal (American Diabetes Association, 2021; Hartini *et al.*, 2024).

Prevalensi DM terus meningkat secara signifikan. Pada tahun 2021, terdapat sekitar 536,6 juta orang dewasa (usia 20–79 tahun) dengan DM dan diperkirakan mencapai 783,2 juta pada 2045 (International Diabetes Federation, 2021). Di Indonesia, hampir 2% penduduk telah terdiagnosis, dengan variasi dipengaruhi faktor demografis dan sosial ekonomi. Angka tertinggi tercatat pada usia 65–74 tahun (6,7%), perempuan (2,0%), masyarakat perkotaan (2,1%), pendidikan tinggi (2,9%), pekerjaan formal (4,1%), serta status ekonomi tinggi (2,5%). Provinsi dengan prevalensi tertinggi adalah DKI Jakarta (3,1%), Yogyakarta (2,9%), dan Kalimantan Timur (2,3%), sedangkan terendah di Papua Pegunungan (0,2%) (Kementerian Kesehatan RI, 2023).

Pada tingkat daerah, Profil Kesehatan Provinsi Lampung 2023 melaporkan bahwa jumlah penyandang diabetes melitus pada penduduk usia ≥ 15 tahun mencapai 91.693 jiwa dari total populasi 6.626.202 jiwa, dengan prevalensi sekitar 1,38%. Peningkatan prevalensi DM di tingkat global, nasional, dan regional ini menunjukkan beban kesehatan yang semakin besar dan meningkatkan risiko komplikasi serius, termasuk kerusakan hepar, sehingga diperlukan upaya pencegahan dan pengelolaan yang lebih efektif (Dinas Kesehatan Provinsi Lampung, 2023).

Salah satu organ yang paling rentan terhadap dampak komplikasi DM adalah hepar karena perannya dalam metabolisme glukosa, lipid, dan detoksifikasi. Hiperglikemia kronis memicu stres oksidatif yang menghasilkan radikal bebas, merusak hepatosit, dan menyebabkan perubahan histopatologi berupa degenerasi, nekrosis, inflamasi, hingga fibrosis (American Diabetes Association, 2019). Kondisi ini dapat berkembang menjadi *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD), *non-alcoholic steatohepatitis* (NASH), sirosis, hingga karsinoma hepatoseluler. Oleh karena itu, diperlukan agen hepatoprotektif yang mampu menekan kerusakan sejak fase awal untuk mencegah komplikasi jangka panjang (Tandi *et al.*, 2023).

Penggunaan agen hepatoprotektif alami semakin mendapat perhatian, baik untuk melindungi atau mengurangi derajat kerusakan pada organ target akibat hiperglikemia pada diabetes melitus. Di Indonesia, obat tradisional masih banyak dimanfaatkan sebagai terapi, pemeliharaan kesehatan, dan pencegahan komplikasi penyakit kronis. World Health Organization (WHO) melaporkan lebih dari 80% populasi dunia menggunakan pengobatan tradisional untuk menjaga fungsi organ, terutama karena ketersediaan bahan alam yang melimpah dan efek samping yang relatif rendah. Namun, WHO juga menekankan perlunya bukti ilmiah untuk memastikan keamanan dan efektivitas penggunaannya sebagai strategi preventif (Sudirman *and* Skripsa, 2020).

Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai hepatoprotektif alami adalah *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis atau daun binahong, tanaman merambat dengan daun hijau gelap yang seluruh bagian tubuhnya dapat dimanfaatkan (Latuhihin *et al.*, 2020). Secara tradisional, binahong digunakan untuk mengobati luka, peradangan, diabetes, hipertensi, dislipidemia, dan penyakit hepar (Salm *et al.*, 2023), serta secara empiris dimanfaatkan masyarakat sebagai ramuan harian melalui konsumsi air rebusan daun untuk menjaga stamina dan mencegah komplikasi kronis, termasuk pada penderita diabetes (Handayani *et al.*, 2022; Salm *et al.*, 2023). Daun binahong mengandung flavonoid, saponin, dan triterpenoid seperti asam ursolat yang bersifat antioksidan sehingga mampu melindungi hepatosit dari kerusakan oksidatif (Alba *et al.*, 2020). Uji toksisitas menunjukkan ekstrak etanol binahong hingga dosis 90 mg/ekor per hari aman bagi hepar (Wijayanti *et al.*, 2019), sedangkan penelitian lain membuktikan efeknya dalam menurunkan glukosa darah dan mendukung fungsi sel β pankreas pada model tikus diabetes, yang memberikan perlindungan terhadap organ vital termasuk hepar (Rahmi, 2021).

Penelitian eksperimental menunjukkan potensi binahong dalam modulasi metabolik dan perlindungan organ. Ekstrak etanol daun binahong (25–100 mg/kgBB) terbukti menurunkan kadar glukosa darah pada tikus model DM tipe 2 yang diinduksi diet tinggi lemak (Dwitiyanti *et al.*, 2021), sedangkan dosis 250 mg/kgBB selama 21 hari menurunkan glukosa plasma dan mendukung fungsi sel beta pankreas (Sulfianti *et al.*, 2023). Efek serupa ditemukan pada tikus DM induksi streptozotocin dengan dosis optimal 80 mg/kgBB (Rollando *et al.*, 2022), dan regenerasi sel beta pankreas ditunjukkan pada model aloksan (Latuhihin *et al.*, 2020). Temuan ini mengindikasikan bahwa aktivitas antidiabetes dan antioksidan binahong berpotensi mencegah perubahan histopatologi dini pada hepar, meskipun kajian spesifik mengenai perlindungan terhadap kerusakan hepar masih terbatas (Tandi *et al.*, 2023).

Aloksan adalah agen diabetogenik yang merusak sel β pankreas melalui pembentukan radikal bebas, digunakan luas untuk menginduksi DM tipe 1 pada hewan percobaan. Meskipun memiliki variabilitas keberhasilan dan risiko hepatotoksik serta nefrotoksik lebih tinggi dibanding streptozotocin (Pratiwi *et al.*, 2022), aloksan tetap relevan sebagai model untuk mengevaluasi efek antidiabetes dan hepatoprotektif karena dapat memicu hiperglikemia melalui stres oksidatif sekaligus menyebabkan perubahan histopatologi hepar (Lucchesi *et al.*, 2015; Dachi *et al.*, 2022). Dengan demikian, model DM induksi aloksan sesuai digunakan untuk menilai potensi protektif daun binahong terhadap kerusakan awal hepar akibat hiperglikemia.

Beberapa penelitian telah mengeksplorasi efek antidiabetes dan antioksidan ekstrak daun binahong, namun kajian spesifik mengenai perlindungannya terhadap histopatologi hepar pada model diabetes melitus induksi aloksan masih terbatas. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi pengaruh ekstrak etanol daun binahong terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. Hepar dipilih karena perannya dalam metabolisme serta sensitivitas parameter histopatologi dalam mendeteksi dampak hiperglikemia kronis (Rodimova *et al.*, 2023). Hasil penelitian diharapkan menjadi dasar ilmiah strategi hepatoproteksi preventif dan pengembangan fitofarmaka dari daun binahong.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley model diabetes melitus yang diinduksi aloksan?
2. Apakah terdapat pengaruh peningkatan dosis ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley model diabetes melitus yang diinduksi aloksan?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley model diabetes melitus yang diinduksi aloksan.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley model diabetes melitus yang diinduksi aloksan.
2. Untuk mengetahui pengaruh peningkatan dosis ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley model diabetes melitus yang diinduksi aloksan.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bagi Peneliti

Penelitian ini diharapkan meningkatkan pemahaman peneliti mengenai potensi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dalam melindungi dan mengurangi kerusakan awal histopatologi hepar pada model tikus diabetes melitus yang terinduksi aloksan. Selain itu, penelitian ini melatih keterampilan peneliti dalam prosedur eksperimental, analisis histologis, dan interpretasi data secara sistematis, yang berguna untuk pengembangan kompetensi sebagai calon tenaga medis maupun ilmuwan biomedis.

1.4.2 Manfaat Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini diharapkan memberi informasi kepada masyarakat tentang potensi tanaman herbal lokal seperti daun binahong (*Anredera*

cordifolia) sebagai agen hepatoprotektif yang dapat melindungi hepar dan membantu menurunkan risiko kerusakan awal pada hepar akibat diabetes melitus. Dengan bukti ilmiah ini, pemanfaatan pengobatan tradisional dapat dilakukan secara lebih bijak, aman, dan efektif, khususnya dalam konteks pencegahan komplikasi metabolik kronis.

1.4.3 Manfaat Bagi Institusi

Penelitian ini memberikan kontribusi akademik kepada institusi pendidikan, khususnya fakultas kedokteran, sebagai referensi berbasis bukti mengenai strategi perlindungan atau pengurangan derajat kerusakan organ hepar pada komplikasi diabetes melitus melalui pemanfaatan tanaman herbal lokal. Selain itu, penelitian ini mendukung pengembangan kurikulum berbasis riset lokal dan memperkuat posisi institusi sebagai pusat penelitian obat herbal berbasis bukti yang relevan untuk penyakit metabolik.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hepar

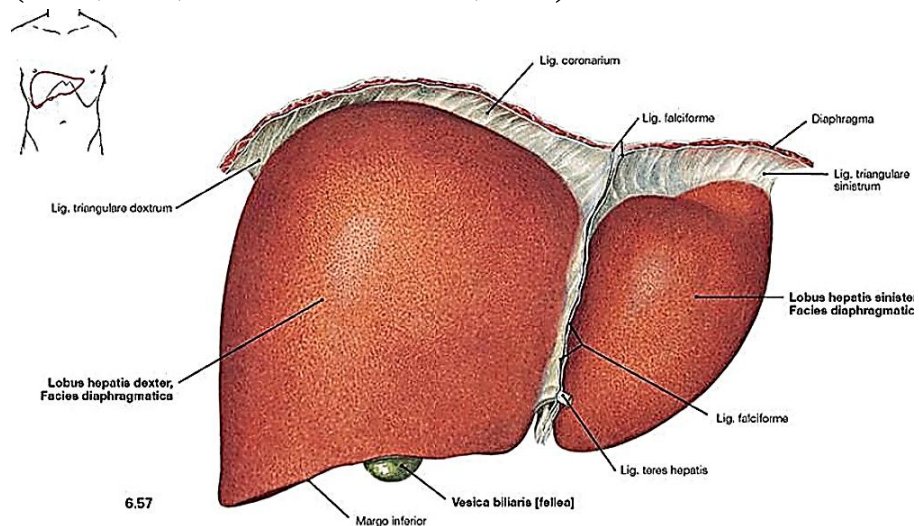
2.1.1 Anatomi Hepar

Hepar atau hati merupakan organ terbesar dalam tubuh manusia dengan berat sekitar 1.200–1.800 gram. Letaknya di kuadran kanan atas abdomen, tepat di bawah diafragma, dan sebagian kecil meluas ke kuadran kiri atas. Permukaan superior hepar cembung mengikuti kontur diafragma, sedangkan permukaan inferiornya cekung dan berhubungan erat dengan organ sekitarnya seperti lambung, duodenum, dan ginjal kanan (Paulsen *and* Waschke, 2018).

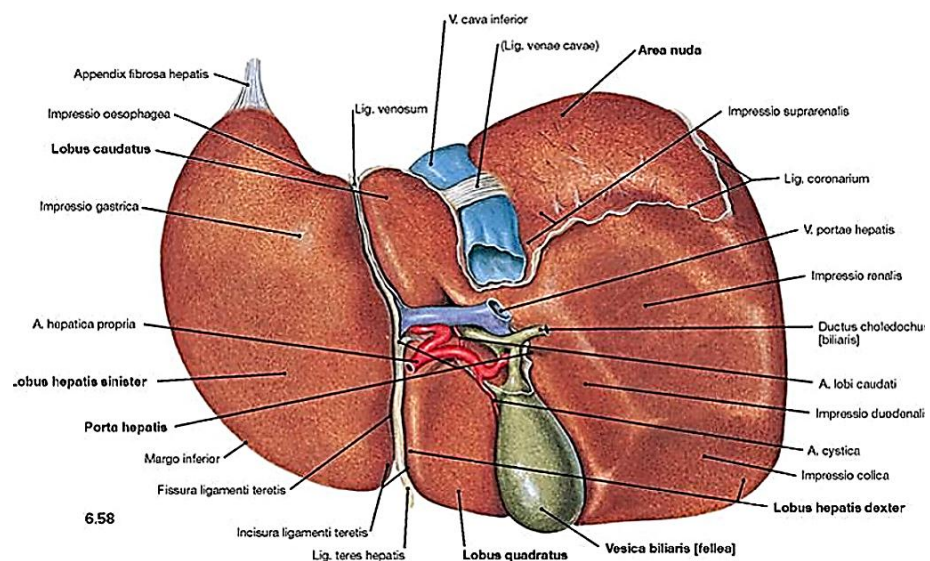
Secara makroskopis, hepar terbagi menjadi dua lobus utama, lobus dexter dan lobus sinister, yang dipisahkan oleh ligamentum falciforme yang merupakan suatu lipatan peritoneum yang menghubungkan hepar dengan dinding anterior abdomen dan diafragma. Selain itu terdapat lobus caudatus dan lobus quadratus pada permukaan inferior (facies visceralis). Pada permukaan ini juga terdapat porta hepatis, yaitu celah transversal yang menjadi pintu keluar-masuk struktur vital meliputi vena porta hepatica, arteria hepatica propria, dan ductus hepaticus communis, serta disertai saraf dan pembuluh limfatik (Ahmi, 2016; Paulsen *and* Waschke, 2018).

Permukaan inferior hepar memperlihatkan lekukan akibat kontak dengan organ sekitar, terutama pada area yang berdekatan dengan vesica fellea, ginjal kanan, dan kelenjar adrenal kanan (Ahmi, 2016). Seluruh permukaan hepar dilapisi oleh peritoneum viscerale, kecuali pada area tertentu seperti area nuda, porta hepatis, dan fossa vesicae

felleae. Lapisan peritoneum viscerale disusun oleh kapsul fibrosa yang dikenal sebagai capsula Glisson, yang meluas ke dalam parenkim untuk membungkus pembuluh darah serta saluran empedu (Ahmi, 2016; Paulsen *and* Waschke, 2018).



Gambar 2.1 Anatomi Hepar Bagian Anterior
(Paulsen *and* Waschke, 2018)



Gambar 2.2 Anatomi Hepar Bagian Posterior
(Paulsen *and* Waschke, 2018)

Hepar merupakan organ yang sangat vaskular dengan suplai darah ganda. Sekitar 25% darah berasal dari arteria hepatica, membawa darah kaya oksigen, sedangkan sekitar 75% berasal dari vena porta hepatica, membawa darah kaya nutrisi dari saluran pencernaan. Kombinasi aliran darah ini mendukung berbagai fungsi vital,

termasuk metabolisme, detoksifikasi, dan sintesis protein plasma (Fortea *et al.*, 2020). Kedua pembuluh darah utama masuk melalui porta hepatis dan bercabang di dalam organ. Drainase vena dilakukan oleh *venae hepaticae dextra, media, dan sinistra* yang mengalirkan darah ke *vena cava inferior* (Afonso *et al.*, 2024; Paulsen and Waschke, 2018).

Sistem bilier intrahepatik terdiri atas jaringan ductus bilifer yang mengalirkan bilis dari hepatosit. Duktus-duktus kecil ini bersatu membentuk ductus hepaticus dexter dan sinister, kemudian bergabung menjadi ductus hepaticus communis. Bilis selanjutnya dialirkan ke vesica biliaris untuk disimpan atau langsung ke duodenum melalui ductus choledochus. Hepar mendapat inervasi dari plexus hepaticus yang terdiri atas serabut simpatik yang berasal dari plexus coeliacus dan serabut parasimpatik yang berasal dari nervus vagus. Inervasi ini berperan dalam mengatur perfusi darah, sekresi bilis, dan aktivitas metabolik hepar (Paulsen and Waschke, 2018).

2.1.2 Fisiologi Hepar

Hepar merupakan organ vital dengan fungsi metabolisme, detoksifikasi, penyimpanan nutrien, imun, dan regenerasi. Organ ini menerima suplai darah ganda dari vena porta hepatica (75%) dan arteri hepatica (25%), memungkinkan aktivitas metabolik sekaligus menjaga viabilitas sel (Manco and Itzkovitz, 2021; Rosida, 2016). Secara mikroskopis, unit strukturalnya adalah lobulus heksagonal dengan vena sentral di tengah dan trias porta di perifer, tempat darah mengalir melalui sinusoid untuk pertukaran zat dengan hepatosit (Manco and Itzkovitz, 2021). Hepatosit merupakan sel utama yang menjalankan fungsi metabolik, termasuk metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein (Trefts *et al.*, 2017).

Dalam metabolisme karbohidrat, hepar mengatur glikogenesis, glikogenolisis, glukoneogenesis, serta konversi galaktosa dan

fruktosa menjadi glukosa. Pada metabolisme lipid, hepar mensintesis asam lemak, kolesterol, lipoprotein, melakukan oksidasi asam lemak dan ketogenesis, sementara gangguan fungsinya memicu steatosis hepatic, umum pada diabetes melitus (Sherwood, 2016; Trefts *et al.*, 2017). Metabolisme protein meliputi deaminasi asam amino, detoksifikasi amonia menjadi urea, serta sintesis albumin, fibrinogen, dan faktor koagulasi, di mana gangguannya dapat menyebabkan hipoalbuminemia dan kelainan pembekuan (Sherwood, 2016).

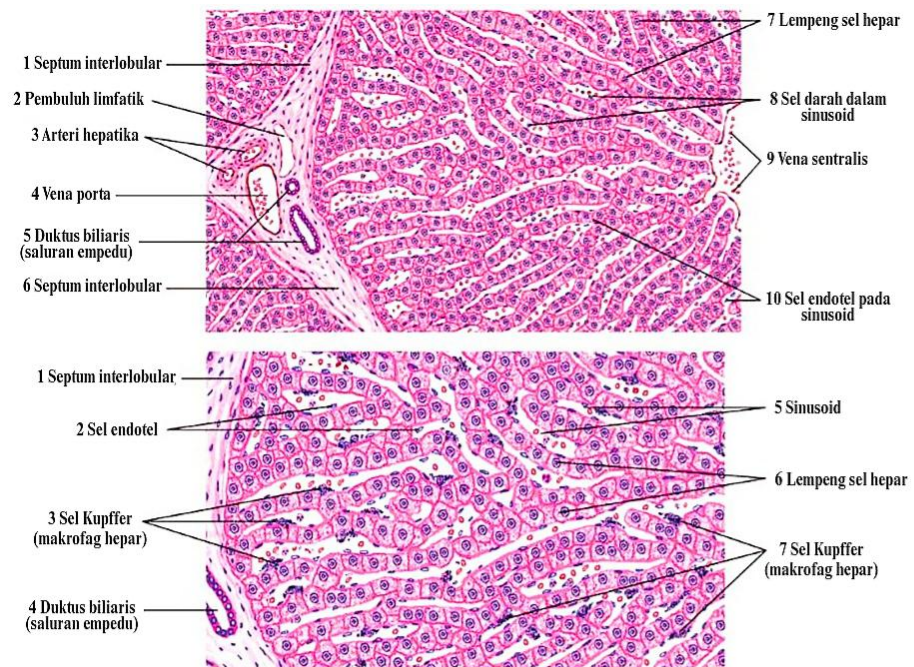
Hepar memiliki berbagai fungsi penting, termasuk detoksifikasi melalui enzim sitokrom P450 yang mengubah senyawa lipofilik menjadi lebih larut air untuk diekskresikan lewat urin atau empedu. Sebagai kelenjar eksokrin, hepar menghasilkan empedu yang mengandung garam empedu, bilirubin, kolesterol, dan elektrolit, berperan dalam emulsifikasi lemak serta penyerapan vitamin larut lemak di usus halus (Trefts *et al.*, 2017). Hepar juga berfungsi sebagai tempat penyimpanan glikogen, vitamin (A, D, E, K, dan B12), serta mineral seperti besi dan tembaga untuk menjaga homeostasis nutrisi (Sherwood, 2016).

Sistem imun hepar meliputi sel Kupffer sebagai makrofag residen, yang berfungsi melakukan fagositosis patogen dan sel mati, serta mensekresi faktor seperti VEGF dan TNF- α yang terlibat dalam angiogenesis dan respon peradangan (Christina *et al.*, 2015). Hepar juga memiliki kemampuan regenerasi yang luar biasa melalui proliferasi hepatosit, yang dipicu oleh faktor pertumbuhan seperti *hepatocyte growth factor* (HGF) dan *epidermal growth factor* (EGF). Namun, pada kondisi cedera kronis, *hepatic stellate cells* (HSC) di ruang Disse dapat teraktivasi menjadi sel profibrotik yang menghasilkan matriks ekstraseluler berlebihan, menyebabkan fibrosis (Grigoraş *et al.*, 2016; Kostallari and Shah, 2019; Luo *et al.*, 2021).

Kerusakan fungsi-fungsi fisiologis ini, baik akibat gangguan metabolisme glukosa maupun stres oksidatif, sering terjadi pada model diabetes melitus yang diinduksi aloksan. Dampak tersebut dapat terlihat baik melalui perubahan histopatologi maupun melalui gangguan metabolisme yang terukur, menjadikan hepar sebagai organ target penting untuk diteliti pada kondisi ini (Tandi *et al.*, 2023).

2.1.3 Histologi Hepar

Secara histologis, hepar tersusun atas parenkim yang terdiri dari hepatosit dan stroma jaringan ikat yang menopang struktur internalnya. Unit struktural dasar parenkim adalah lobulus hepatic klasik yang berbentuk hampir heksagonal, tersusun dari trabekula hepatosit berorientasi radial menuju vena sentralis di bagian tengah. Pada sudut-sudut lobulus terdapat trias porta (Glisson's triad), yang terdiri atas arteriola hepatica, venula porta interlobularis, dan duktus biliaris interlobularis, tertanam dalam jaringan ikat (Paulsen *and* Waschke, 2018).



Gambar 2.3 Struktur Mikroskopis Hepar
(Mescher *and* Junqueira, 2016)

Darah dari arteriola hepatica yang kaya oksigen dan vena porta yang kaya nutrisi mengalir ke dalam sinusoida hepar, bercampur, lalu mengalir perlahan menuju vena sentralis. Kecepatan aliran yang lambat ini memberi waktu bagi hepatosit untuk mengambil nutrisi, memetabolisme zat toksik, dan mensekresikan produk metabolik seperti protein plasma ke sirkulasi (Paulsen *and* Waschke, 2018). Sinusoida dilapisi oleh sel endotel fenestrasi yang memungkinkan molekul besar, seperti protein, berdifusi ke hepatosit (Manco *and* Itzkovitz, 2021). Di dalam sinusoida terdapat sel Kupffer, yaitu makrofag residen yang melakukan fagositosis partikel asing, patogen, dan eritrosit yang rusak, sekaligus berperan dalam modulasi inflamasi dan regenerasi jaringan (Camilla *et al.*, 2023).

Selain lobulus klasik, terdapat lobulus portal yang berpusat pada aliran empedu dan sinus hepatikus, yang menggambarkan zonasi metabolik berdasarkan jarak dari trias porta ke vena sentralis. Sinus dibagi menjadi zona 1 (periportal), zona 2 (intermediat), dan zona 3 (perivenular). Zona 3 merupakan area dengan suplai oksigen terendah sehingga paling rentan mengalami nekrosis akibat hipoksia atau toksisitas, termasuk pada kerusakan hepar akibat stres oksidatif pada diabetes melitus yang diinduksi aloksan (Mescher *and* Junquiera, 2016).

Hepatosit, yang membentuk sekitar 80% sel hepar, berbentuk poligonal dengan satu hingga empat inti. Sel ini mengandung organel yang berperan dalam metabolisme, detoksifikasi, dan penyimpanan glikogen maupun lipid (Camilla *et al.*, 2023; Manco *and* Itzkovitz, 2021). Pada ruang Disse, antara hepatosit dan sinusoida, terdapat sel stelata yang berfungsi menyimpan vitamin A dan memproduksi komponen matriks ekstraseluler. Pada kondisi cedera kronis, sel stelata dapat teraktivasi menjadi fenotipe profibrotik yang berkontribusi terhadap pembentukan jaringan parut (Mescher *and* Junquiera, 2016).

Sistem biliaris intrahepatik dimulai dari kanalikulus biliaris yang dibentuk oleh membran hepatosit bersebelahan. Kanalikulus ini mengalirkan empedu menuju duktus biliaris interlobularis dalam trias porta, bergabung menjadi duktus hepaticus dexter dan sinister, lalu keluar dari hepar. Fungsi sistem ini penting dalam ekskresi bilirubin dan metabolit, serta pencernaan lemak (Paulsen *and* Waschke, 2018).

2.2 Diabetes Melitus (DM)

2.2.1 Definisi dan Epidemiologi DM

Diabetes melitus (DM) adalah kelompok gangguan metabolik kronis yang ditandai oleh hiperglikemia akibat defisiensi sekresi insulin, resistensi terhadap kerja insulin, atau kombinasi keduanya. Hiperglikemia yang berlangsung lama dapat menimbulkan komplikasi kronis berupa kerusakan, disfungsi, dan kegagalan berbagai organ, terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (American Diabetes Association, 2021).

Secara global, prevalensi DM terus meningkat. Data IDF tahun 2021 menunjukkan 536,6 juta orang dewasa hidup dengan DM, dan jumlah ini diproyeksikan mencapai 783,2 juta pada 2045. WHO menempatkan DM sebagai masalah kesehatan global utama (Wijayanti *et al.*, 2019; International Diabetes Federation, 2021). Prevalensi lebih tinggi ditemukan di negara berpenghasilan tinggi (10,4%) dibanding rendah (4,0%), serta lebih besar di wilayah perkotaan (10,8%) dibanding pedesaan (7,2%) (Saeedi *et al.*, 2019). Survei Kesehatan Indonesia 2023 mencatat prevalensi DM sebesar 1,7% atau sekitar 2 dari 100 penduduk (Kementerian Kesehatan RI, 2023). Estimasi IDF memperkirakan penderita DM meningkat dari 8,4 juta pada 2021 menjadi 21,2 juta pada 2030 (Pradana *et al.*, 2023), dengan prevalensi tertinggi di DKI Jakarta (3,1%) dan terendah di Papua Pegunungan (0,2%) (Kementerian Kesehatan RI, 2023).

Distribusi DM bervariasi menurut usia, jenis kelamin, dan sosial-ekonomi. SKI 2023 melaporkan prevalensi tertinggi pada usia 65–74 tahun (6,7%), lebih tinggi pada perempuan (2,0% vs 1,3% laki-laki), serta meningkat pada kelompok berpendidikan tinggi (2,9%), pekerja sektor pemerintahan/TNI/Polri/BUMN/BUMD (4,1%), penduduk perkotaan (2,1% vs 1,2% pedesaan), dan ekonomi tertinggi (2,5%) (Kementerian Kesehatan RI, 2023). Prevalensi DM di tingkat daerah Lampung dilaporkan mencapai 91.693 jiwa yang setara dengan prevalensi sekitar 1,38%. Angka ini bervariasi di tiap kabupaten/kota, seperti di Lampung Timur (1,6%) dan di Kota Metro (3,0%) (Dinas Kesehatan Provinsi Lampung, 2023). Peningkatan prevalensi global dan nasional ini menegaskan pentingnya penelitian untuk mendeteksi dini komplikasi organ, dan mengeksplorasi intervensi yang dapat mencegah progresi penyakit (Elgadir *et al.*, 2023).

2.2.2 Klasifikasi DM

Berdasarkan klasifikasinya diabetes melitus dibagi menjadi beberapa tipe, yaitu:

1. Diabetes melitus tipe 1 (DMT1) merupakan kelainan autoimun yang merusak sel beta pankreas sehingga tubuh tidak mampu memproduksi insulin. Umumnya muncul pada usia muda dengan gejala klasik seperti poliuria, polidipsia, dan penurunan berat badan. Pada dewasa muda dapat ditemukan varian *latent autoimmune diabetes in adults* (LADA), yang ditandai autoantibodi sel islet, onset lambat, serta berkembang menjadi ketergantungan insulin seiring waktu (Ravikumar *et al.*, 2023).
2. Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) merupakan bentuk DM paling umum, ditandai resistensi insulin dan defisiensi insulin relatif. Faktor risikonya meliputi obesitas, diet tidak sehat, dan kurang aktivitas fisik. DMT2 berkembang bertahap dan dikelola dengan perubahan gaya hidup, obat oral seperti metformin, atau insulin. Komplikasi jangka panjangnya mencakup penyakit

kardiovaskular, stroke, dan kerusakan ginjal (Hardianto, 2021).

3. Diabetes melitus tipe lain, mencakup bentuk DM dengan etiologi spesifik, misalnya *severe autoimmune diabetes* (SAID) yang mirip DMT1 namun muncul pada usia dewasa dengan antibodi anti-insulin. Subtipe lain meliputi *severe insulin-deficient diabetes* (SIDD) dan *severe insulin-resistant diabetes* (SIRD), yang memiliki ciri klinis dan genetik berbeda (Hardianto, 2021).
4. Diabetes melitus gestasional (DMG), adalah gangguan toleransi glukosa yang muncul pada trimester kedua atau ketiga akibat resistensi insulin karena perubahan hormonal. Kondisi ini meningkatkan risiko komplikasi seperti preeklampsia, makrosomia, serta kecenderungan berkembang menjadi diabetes tipe 2, sehingga memerlukan pemantauan glukosa, diet khusus, dan bila perlu terapi insulin (Sari *et al.*, 2024).

2.2.3 Etiologi dan Faktor Risiko DM

Peningkatan jumlah kasus diabetes melitus (DM), terutama DM tipe 2, dipengaruhi oleh berbagai faktor, yang terbagi menjadi faktor risiko yang tidak dapat diubah, faktor risiko yang dapat diubah, serta faktor lainnya. Menurut American Diabetes Association (ADA), faktor risiko yang tidak dapat diubah mencakup riwayat keluarga dengan DM pada derajat pertama, usia di atas 45 tahun, faktor etnis, riwayat melahirkan bayi dengan berat lebih dari 4000 gram, pernah menderita DM gestasional, serta riwayat kelahiran dengan berat badan rendah (< 2,5 kg). Sementara itu, faktor risiko yang dapat diubah meliputi obesitas yang diukur dengan indeks massa tubuh (IMT) $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ atau lingkar perut lebih dari 80 cm pada wanita dan 90 cm pada pria, kurangnya aktivitas fisik, hipertensi, gangguan lipid, dan pola makan yang tidak sehat (Pangestika *et al.*, 2022).

2.2.4 Patofisiologi DM

Diabetes melitus (DM) adalah gangguan metabolik kronis yang ditandai oleh hiperglikemia akibat gangguan sekresi insulin, resistensi insulin, atau keduanya. Hiperglikemia kronis dapat menyebabkan disfungsi dan kegagalan berbagai organ, termasuk mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah. DM diklasifikasikan menjadi beberapa tipe, dengan tipe 1 dan tipe 2 sebagai yang paling umum (Banday *et al.*, 2020).

DM tipe 1 merupakan penyakit autoimun yang ditandai oleh destruksi sel β pankreas yang memproduksi insulin. Proses autoimun ini melibatkan infiltrasi limfosit ke dalam pulau Langerhans dan pembentukan autoantibodi terhadap antigen spesifik seperti GAD65 dan IA-2. Faktor genetik dan lingkungan, seperti infeksi virus, berkontribusi terhadap perkembangan penyakit ini (Skyler *et al.*, 2017).

DM tipe 2 ditandai oleh kombinasi resistensi insulin dan disfungsi sel β pankreas. Resistensi insulin menyebabkan penurunan pengambilan glukosa oleh otot dan jaringan adiposa, serta peningkatan produksi glukosa oleh hepar. Disfungsi sel β mengakibatkan penurunan sekresi insulin yang tidak mampu mengimbangi resistensi insulin, sehingga terjadi hiperglikemia (Cornell, 2015). Obesitas, terutama akumulasi lemak visceral, berperan penting dalam perkembangan resistensi insulin melalui pelepasan asam lemak bebas dan adipokin proinflamasi. Kurangnya aktivitas fisik memperburuk kondisi ini dengan mengurangi sensitivitas insulin dan meningkatkan peradangan sistemik. Sebaliknya, aktivitas fisik dapat meningkatkan pengambilan glukosa oleh otot dan meningkatkan sensitivitas insulin (Dey, 2023).

Hiperglikemia kronis pada DM, baik tipe 1 maupun tipe 2, memicu peningkatan produksi ROS yang melebihi kapasitas antioksidan

tubuh. Stres oksidatif ini menyebabkan kerusakan membran sel, protein, dan DNA, termasuk pada hepatosit. Selain itu, hiperglikemia memicu aktivasi respon inflamasi melalui pelepasan sitokin proinflamasi, yang berkontribusi terhadap resistensi insulin dan memperburuk kerusakan jaringan (Banday *et al.*, 2020). Disbiosis atau ketidakseimbangan mikrobiota usus juga berperan dalam patogenesis DM tipe 2 melalui peningkatan permeabilitas usus dan translokasi lipopolisakarida ke dalam sirkulasi, yang memicu inflamasi kronis dan menurunkan sensitivitas insulin (Dey, 2023).

Kerusakan akibat hiperglikemia jangka panjang bersifat persisten meskipun kadar glukosa darah telah dikendalikan, suatu fenomena yang dikenal sebagai “memori metabolik”. Hal ini dipengaruhi oleh perubahan epigenetik, stres oksidatif berkelanjutan, dan akumulasi *advanced glycation end-products* (AGEs) yang merusak protein struktural dan pembuluh darah (Banday *et al.*, 2020). Mekanisme-mekanisme ini relevan dengan penelitian ini karena kerusakan hepar pada model DM yang diinduksi aloksan terutama terjadi melalui jalur stres oksidatif, inflamasi, dan pembentukan AGEs yang mengganggu fungsi hepatosit serta memicu perubahan histopatologis (Banday *et al.*, 2020).

2.2.5 Komplikasi DM

Diabetes melitus (DM) dapat menyebabkan perubahan signifikan pada metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Salah satu dampak metabolik yang sering terjadi adalah penumpukan lemak berlebih di hepar, yang kemudian berkembang menjadi *non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD). Sekitar 2–3% pasien dengan NAFLD dapat mengalami peradangan hepar, nekrosis sel hepatosit, dan fibrosis, kondisi yang dikenal sebagai *non-alcoholic steatohepatitis* (NASH). Risiko terjadinya fibrosis stadium dua ke atas cenderung lebih tinggi pada individu berusia di atas 45 tahun yang juga menderita DM,

obesitas, dan dislipidemia. Selain itu, pasien dengan NAFLD atau NASH memiliki angka komplikasi dan tingkat mortalitas pascaoperasi hepar yang lebih tinggi dibandingkan pasien tanpa kondisi tersebut (Rodimova *et al.*, 2023).

Diabetes melitus yang tidak terkontrol dengan baik dapat menimbulkan berbagai komplikasi jangka panjang yang dibagi menjadi komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular. Komplikasi mikrovaskular meliputi retinopati diabetik yang dapat menyebabkan kebutaan, nefropati diabetik, gagal ginjal kronis, serta neuropati perifer yang sering memunculkan nyeri, kesemutan, atau mati rasa pada ekstremitas (International Diabetes Federation, 2021; Saeedi *et al.*, 2019). Mekanisme terjadinya komplikasi ini berkaitan dengan peningkatan permeabilitas kapiler, pembentukan *advanced glycation end products* (AGEs), dan aktivasi jalur peradangan yang merusak struktur serta fungsi jaringan (Banday *et al.*, 2020).

Komplikasi makrovaskular pada DM terutama berkaitan dengan peningkatan risiko penyakit kardiovaskular melalui proses aterosklerosis. Hiperglikemia, dislipidemia, dan peradangan kronis berperan dalam pembentukan plak aterosklerotik yang dapat mengakibatkan penyakit jantung koroner dan stroke (Cornell, 2015). Pasien diabetes juga lebih rentan mengalami infeksi akibat gangguan fungsi sistem imun, serta memiliki kecenderungan gangguan penyembuhan terutama pada pasien dengan neuropati dan gangguan vaskular perifer (Papatheodorou *et al.*, 2018).

2.3 Kerusakan Hepar secara Histologi

2.3.1 Kerusakan Sel Hepatosit

Hepatosit merupakan sel utama parenkim hepar yang berfungsi dalam metabolisme, detoksifikasi, dan sintesis protein. Kerusakan hepatosit dapat dipicu oleh infeksi virus, paparan toksin, stres oksidatif, dan

gangguan metabolik, yang secara histologis tampak sebagai degenerasi, nekrosis, atau apoptosis (Safithri, 2018). Stres oksidatif menjadi mekanisme utama ketika produksi radikal bebas melebihi kapasitas antioksidan sehingga merusak membran sel, protein, dan DNA, sementara respon inflamasi juga memperparah cedera melalui sitokin proinflamasi dan aktivasi sel imun (Nardo *et al.*, 2021).

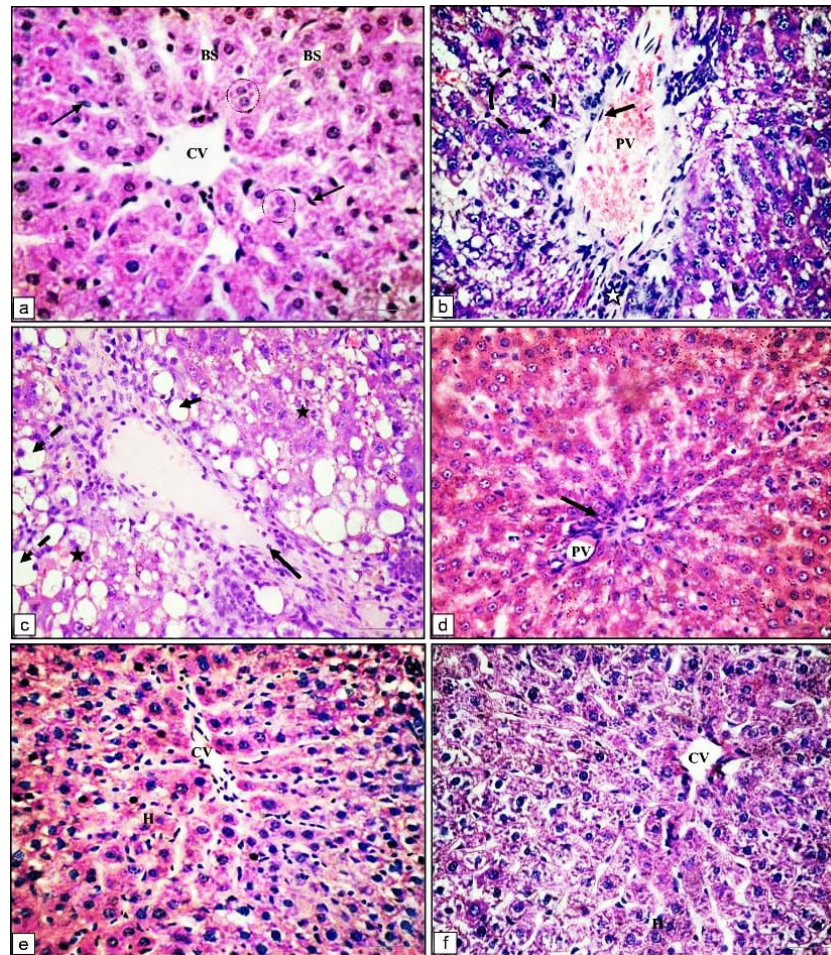
Berbagai penyebab spesifik kerusakan hepatosit antara lain infeksi hepatitis B, hepatitis C, dan SARS-CoV-2 melalui reseptor ACE2 (Ali *et al.*, 2023; Marjot *et al.*, 2021), konsumsi alkohol berlebihan yang memicu steatosis dan sirosis (Moreira *et al.*, 2021), serta obat seperti amiodarone, perhexiline, irinotecan, methotrexate, dan tamoxifen yang menimbulkan steatosis makrovesikular akibat disfungsi mitokondria (Nardo *et al.*, 2021).

Paparan bahan kimia industri seperti polistirena mikroplastik juga terbukti mengganggu metabolisme lipid dan menimbulkan hepatotoksitas pada organoid hepar (Cheng *et al.*, 2022). Dalam kondisi hiperglikemia, kerusakan hepatosit terutama dipicu melalui stres oksidatif dan peradangan yang menimbulkan disfungsi mitokondria, kerusakan membran, serta aktivasi jalur kematian sel yang dapat dikenali lewat pemeriksaan histopatologi (Tandi *et al.*, 2023).

2.3.2 Nekrosis

Nekrosis hepatic adalah kematian sel hepatosit yang tidak terkontrol akibat cedera seluler, ditandai dengan hilangnya integritas membran, peningkatan eosinofilia sitoplasma, vakuolisasi, serta perubahan inti seperti piknosis, karyorrhexis, atau karyolisis. Secara mikroskopis tampak hilangnya detail seluler, kerusakan arsitektur lobulus, dan infiltrasi sel radang akut, khususnya neutrofil dan makrofag. Pola distribusi nekrosis, misalnya sentrilobular (zona 3) akibat hipoksia,

toksin metabolik, atau stres oksidatif, maupun pola zonal atau masif, memiliki nilai diagnostik penting (Essawy *et al.*, 2018).



Gambar 2.4 Mikrograf Fotomikroskopis dari Preparat Hepar Tikus (Pewarnaan H&E; Perbesaran 400×) (Essawy *et al.*, 2018).

Pada Gambar 2.4 ditunjukkan variasi gambaran histopatologi hepar tikus antar kelompok perlakuan. Hepar normal (a) memperlihatkan hepatosit dengan inti binukleus yang tersusun radial dari vena sentral (CV) dan dipisahkan oleh sinusoid darah (BS) serta sel Kupffer. Pemberian CCl_4 (b, c) menimbulkan hilangnya arsitektur normal, dilatasi vena portal (PV), pelepasan endotel (panah), vakuolisasi sitoplasma (lingkar putus), serta infiltrasi leukosit (bintang putih). Nekrosis hepatik tampak dengan degenerasi inti (bintang hitam), pembengkakan hepatosit (panah putus), dan akumulasi droplet lipid

(panah panjang), sedangkan panah pendek menunjukkan infiltrasi leukosit lebih lanjut. Perlakuan dengan CCl₄ yang disertai ekstrak jahe (d) maupun rosemary (e) memperlihatkan kerusakan yang lebih ringan, sementara kelompok kombinasi (f) menunjukkan arsitektur hepar yang lebih mendekati normal (Essawy *et al.*, 2018).

Nekrosis hepatosit berawal dari gangguan mitokondria yang menurunkan ATP, merusak pompa ion dan membran sel, diperburuk stres oksidatif serta inflamasi. Selain nekrosis klasik, terdapat *necroptosis*, yaitu kematian sel terprogram mirip nekrosis yang dimediasi oleh protein kinase *receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 3* (RIPK3) dan protein eksekutor *mixed lineage kinase domain-like protein* (MLKL), sehingga kerusakan hepar umumnya melibatkan berbagai jalur cedera (Essawy *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2020). Secara klinis, nekrosis ditandai peningkatan enzim ALT/AST, penurunan albumin, dan gangguan koagulasi, sedangkan kerusakan berulang mengaktifkan sel stelata hingga memicu fibrosis, sirosis, dan risiko karsinogenesis hepatic (Essawy *et al.*, 2018).

2.3.3 Degenerasi Sel

Degenerasi sel merupakan kerusakan hepatosit ringan akibat hipoksia, toksin, atau stres oksidatif yang bersifat reversibel, ditandai pembengkakan sel dan sitoplasma keruh (*cloudy swelling*). Bentuk utamanya adalah degenerasi parenkimatosia dengan sitoplasma granular akibat denaturasi protein dan degenerasi hidropik dengan vakuola cairan yang mendorong inti ke tepi, keduanya mencerminkan gangguan homeostasis ion (Miller *and* Zachary, 2017). Secara mikroskopis, degenerasi parenkimatosia tampak sebagai pembesaran sel dengan eosinofilia meningkat, sedangkan secara makroskopis hepar membesar, lembek, pucat, dan bertepi membulat. Jika cedera tidak teratasi, perubahan ini dapat berkembang menjadi steatosis (Li *et al.*, 2020; Miller *and* Zachary, 2017).

Degenerasi hidropik merupakan bentuk pembengkakan sel lebih berat yang biasanya mengikuti atau muncul bersamaan dengan degenerasi parenkimatososa, terutama pada paparan toksin dosis tinggi atau hipoksia parah, dan berpotensi berkembang menjadi nekrosis bila penyebab tidak diatasi (Miller *and* Zachary, 2017). Pada model tikus diabetes melitus terinduksi aloksan, stres oksidatif dan hiperglikemia kronis dapat memicu perubahan reversibel seperti degenerasi parenkimatososa dan hidropik pada hepatosit (Gamde *et al.*, 2023).

2.4 Daun Binahong (*Anredera cordifolia*)

2.4.1 Deskripsi dan Klasifikasi Daun Binahong (*A. cordifolia*)

Tanaman herbal telah lama dimanfaatkan sebagai terapi alternatif dalam pengobatan berbagai penyakit. Salah satunya adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), yang juga disebut dengan gendola merah, hempedu bumi, atau *heartleaf madeira vine* dan dikenal kaya akan senyawa metabolit sekunder dan memiliki berbagai khasiat (Wijayanti *et al.*, 2019; Salim *et al.*, 2021).



Gambar 2.5 Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)
(Salim *et al.*, 2021)

Klasifikasi dari tanaman binahong adalah sebagai berikut:

Tabel 2.1 Taksonomi Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Kingdom	: Plantae (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermetophyta
Divisio	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Hammelidae
Ordo	: Caryophyllales
Familia	: Basellaceae
Genus	: Anredera
Spesies	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis

Sumber: (Kurniasih *et al.*, 2019).

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), yang memiliki sinonim seperti *Boussingaultia gracilis*, *Boussingaultia cordifolia*, dan *Boussingaultia cordata*, berasal dari Tiongkok dan dikenal sebagai Dheng Shan Chi menyebar ke Asia Tenggara. Di Inggris disebut *Madeira vine* atau *Mignonette vine*. Hampir seluruh bagian tanaman, mulai dari akar hingga umbi, dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional berkat kandungan senyawa bioaktifnya yang bersifat antioksidan, antijamur, dan antivirus. Secara empiris, binahong digunakan untuk membantu mengatasi gangguan jantung, hipertensi, penyakit ginjal, diabetes, stroke, serta mempercepat pemulihan dan meningkatkan stamina (Sidhartha *et al.*, 2024).

Binahong merupakan tanaman merambat famili Basellaceae yang dapat tumbuh hingga ± 5 m dengan batang lunak berbentuk silindris dan umbi kecil berpermukaan kasar di ketiak daun. Daunnya tunggal, bertangkai pendek, tersusun berselang-seling, dan berbentuk jantung dengan ukuran panjang 5–10 cm dan lebar 3–7 cm. Tanaman ini berpotensi besar sebagai bahan baku fitofarmaka, namun pemanfaatannya di Indonesia lebih sering sebagai tanaman hias, sementara penggunaannya sebagai tanaman obat, khususnya untuk

perlindungan dan pencegahan komplikasi organ pada diabetes melitus, masih jarang dikenal dan memerlukan penelitian lebih lanjut (Kurniasih *et al.*, 2019).

2.4.2 Komponen Aktif pada Daun Binahong (*A. cordifolia*)

Daun binahong mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti flavonoid (vitexin, isovitexin, morin, myricetin), saponin asam ursolat, tanin, saponin, alkaloid, fenolik, glikosida, terpenoid, kuinon, betasianin, kardioglikosida, koumarin, steroid, dan anotosianin, yang berperan sebagai antioksidan, antibakteri, dan antimikroba (Murwani *et al.*, 2022; Rebecca *et al.*, 2022). Uji fitokimia sebagai langkah awal identifikasi senyawa aktif menunjukkan bahwa beberapa komponen tersebut, seperti flavonoid, saponin, steroid, dan alkaloid, memiliki aktivitas biologis penting termasuk antioksidan dan antimikroba (Tandi *et al.*, 2023).

Tabel 2.2 Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

Fitokimia	Metode/Reagen	Ekstrak Daun Binahong
Fenolik	<i>Folin Ciolcelteau</i>	+
Flavonoid	NaOH	+
Tanin	<i>Ferric Chloride</i>	+
Saponin	Foam	+
Alkaloid	Meyer, Wagner	+
Glikosida	Borntrager	+
Terpenoid	Salkowski	+
Kuinon	H ₂ SO ₄	+
Steroid	Liebermen Burchad	+
Antosianin	NaoH	+
Betasianin	NaOH	+
Kardioglikosida	Keller Killiani	+
Koumarin	NH ₃	+

Sumber: (Rebecca *et al.*, 2022).

1. Fenolik

Senyawa fenolik pada daun binahong berfungsi sebagai antioksidan yang menetralkan radikal bebas, sehingga mengurangi stres oksidatif pada hepar akibat hiperglikemia kronis. Selain itu, fenolik juga menghambat peroksidasi lipid pada membran hepatosit (Elgadir *et al.*, 2023).

2. Flavonoid

Flavonoid dalam daun binahong, seperti vitexin dan orientoside (8-glukopiranosilapigenin), memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Mereka dapat menghambat enzim α -glukosidase, yang berperan dalam pemecahan karbohidrat menjadi glukosa, sehingga membantu mengontrol kadar gula darah. Selain itu, flavonoid ini dapat mengurangi stres oksidatif di hepar dengan menetralkan radikal bebas (Djamil *et al.*, 2017).

3. Tanin

Tanin, misalnya asam tanat, bersifat antioksidan yang mampu menetralkan radikal bebas dan mencegah peroksidasi lipid. Mekanismenya melalui aktivasi jalur Keap1-Nrf2/ARE yang meningkatkan SOD, CAT, GSH-Px serta menurunkan MDA, sehingga menekan stres oksidatif dan peradangan hepatik (Li *et al.*, 2020).

4. Saponin

Saponin memberikan efek hipoglikemik dengan meningkatkan sensitivitas insulin dan menekan lipolisis, sehingga mengurangi akumulasi lemak pada hepar. Senyawa ini juga bersifat antiinflamasi yang melindungi jaringan hepar dari peradangan akibat diabetes (Silalahi, 2024).

5. Alkaloid

Alkaloid memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menghambat jalur NF- κ B, sehingga mengurangi peradangan kronis pada hepar. Efek ini mendukung peran alkaloid sebagai hepatoprotektif pada kondisi diabetes (Reddi *et al.*, 2021).

6. Glikosida dan Kardioglikosida

Glikosida dalam binahong membantu menurunkan kadar glukosa dengan meningkatkan sensitivitas insulin dan menghambat penyerapan di usus. Kardioglikosida turut mendukung fungsi hepar dengan meningkatkan perfusi dan mengurangi stres oksidatif (Entezari *et al.*, 2022).

7. Terpenoid dan Steroid

Terpenoid dan steroid berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi yang mencegah kerusakan hepatosit. Keduanya juga mampu meningkatkan aktivitas enzim detoksifikasi, sehingga memperkuat fungsi hepar pada kondisi diabetes (Rebecca *et al.*, 2022).

8. Kuinon

Kuinon, seperti thymoquinone, menunjukkan efek hepatoprotektif pada hepar tikus diabetes yang diinduksi STZ. Senyawa ini meningkatkan enzim antioksidan dan menekan peroksidasi lipid, sehingga mengurangi stres oksidatif hepatik (Hafez *et al.*, 2024).

9. Antosianin dan Betasianin

Pigmen antosianin dan betasianin memiliki aktivitas antioksidan tinggi yang melindungi hepatosit dari kerusakan oksidatif akibat hiperglikemia. Senyawa ini juga menekan peradangan dan mendukung regenerasi sel hepar (Alba *et al.*, 2020).

10. Koumarin

Koumarin bekerja sebagai antikoagulan dan antiinflamasi dengan menekan mediator proinflamasi serta memperbaiki aliran darah di hepar. Dengan demikian, koumarin dapat membantu mencegah kerusakan jaringan hepatik pada diabetes (Saadati *et al.*, 2024).

2.4.3 Aktivitas Farmakologis Daun Binahong (*A. cordifolia*)

Daun binahong memiliki berbagai aktivitas farmakologis yang dibuktikan melalui penelitian, termasuk sifat antimikroba, antiinflamasi, antioksidan, dan potensi antikanker yang relevan dalam

perlindungan organ, termasuk hepar, pada penyakit metabolik seperti diabetes melitus. Ekstrak etanol batang *A. cordifolia* dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* (Maharani *et al.*, 2018), sementara air rebusan daun dosis tinggi dapat menghambat bakteri penyebab infeksi periodontal seperti *Porphyromonas gingivalis* dan *Prevotella intermedia* (Pitaloka and Sukandar, 2018).

Ekstrak dengan pelarut n-heksan, etil asetat, dan etanol juga menunjukkan aktivitas melawan *Mycobacterium tuberculosis*, dengan hasil terbaik pada ekstrak n-heksan (Maharani *et al.*, 2018). Selain itu, air rebusan dan ekstrak kloroform dari akar dapat menghambat *Staphylococcus* spp. dan *Pseudomonas* spp., sedangkan ekstrak etanol daun efektif terhadap *Streptococcus mutans*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Bacillus subtilis*, meski ekstrak metanol tidak efektif pada beberapa bakteri tersebut (Mulaudzi *et al.*, 2015; Alba *et al.*, 2020).

Selain sifat antimikroba, ekstrak daun *A. cordifolia* memiliki aktivitas antiinflamasi yang signifikan. Penelitian menunjukkan kemampuannya menurunkan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan menekan mediator inflamasi pada kultur sel makrofag (Laksmitawati *et al.*, 2017), serta memberikan efek antiinflamasi pada kombinasi dengan *Centella asiatica* melalui uji stabilisasi membran eritrosit (Sutrisno *et al.*, 2016). Formulasi mikroemulsi ekstrak daun 0,5% juga terbukti memiliki efek antipenuaan (Alba *et al.*, 2020). Kandungan bioaktifnya yang mampu menekan mediator inflamasi, melawan infeksi oportunistik, dan melindungi jaringan dari kerusakan oksidatif memberikan dasar ilmiah kuat bagi hipotesis bahwa pemberian ekstrak ini dapat memperbaiki gambaran histopatologi hepar pada tikus model diabetes yang diinduksi aloksan (Akhtar *et al.*, 2022).

2.4.4 Manfaat Hepatoprotektif Daun Binahong (*A. cordifolia*)

Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) memiliki potensi hepatoprotektif, khususnya pada kondisi diabetes melitus (DM) yang ditandai stres oksidatif dan peradangan kronis. Kandungan senyawa aktif seperti flavonoid dan saponin berperan sebagai antioksidan yang mampu menetralkan radikal bebas, sehingga mencegah kerusakan lipid, protein, dan DNA pada hepatosit. Stres oksidatif terjadi ketika produksi *reactive oxygen species* (ROS) melebihi kapasitas antioksidan tubuh, yang dapat memperburuk kerusakan hepar pada DM (Rebecca *et al.*, 2022). Antioksidan bekerja dengan mendonorkan elektron untuk menstabilkan radikal bebas, mencegah peroksidasi lipid membran sel dan kerusakan organel penting. Antioksidan alami seperti flavonoid memiliki bioavailabilitas tinggi, mudah diserap tubuh, dan banyak ditemukan pada bagian tanaman seperti daun, batang, dan akar, termasuk pada binahong (Sidhartha *et al.*, 2024).

Selain aktivitas antioksidan, ekstrak daun binahong berpotensi memperbaiki metabolisme glukosa dan lipid. Pemberian ekstrak etanol daun binahong pada tikus DM dilaporkan mampu menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki profil lipid, yang secara tidak langsung mengurangi beban kerja dan kerusakan pada hepar. Mekanisme ini penting pada model DM terinduksi aloksan, di mana hiperglikemia memicu disfungsi metabolik dan inflamasi hepatoseluler (Rissa *and* Handayani, 2022). Sifat antiinflamasi binahong juga mendukung regenerasi jaringan hepar. Flavonoid menurunkan ekspresi sitokin proinflamasi seperti TNF- α , sedangkan saponin berperan mempercepat perbaikan jaringan. Studi pada model luka bakar menunjukkan sediaan topikal ekstrak binahong mempercepat penyembuhan luka, yang mengindikasikan kemampuan regeneratifnya berpotensi diterapkan pada perbaikan jaringan hepar pascacedera (Heisler *et al.*, 2024; Tandi *et al.*, 2023; Laksmitawati *et al.*, 2017).

2.4.5 Ekstraksi dan Rendemen

Ekstraksi merupakan proses untuk memisahkan suatu komponen dari bahan padat atau cair dengan memanfaatkan pelarut tertentu. Proses ini didasarkan pada perbedaan tingkat kelarutan masing-masing senyawa dalam pelarut yang digunakan (Surani, 2024). Ekstraksi tumbuhan adalah proses untuk memisahkan senyawa aktif atau metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman, seperti alkaloid, flavonoid, terpenoid, saponin, steroid, dan glikosida, dari komponen inert atau tidak aktif. Proses ini dilakukan dengan menggunakan pelarut yang sesuai berdasarkan prosedur ekstraksi yang telah distandarkan (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

2.4.5.1 Metode Ekstraksi

A. Ekstraksi Padat-Cair

Ekstraksi padat-cair adalah proses pemisahan zat terlarut (*solute*) dari material padat yang tidak larut dalam pelarut. Pelarut berdifusi ke pori-pori padatan, melarutkan senyawa aktif, lalu membawa hasil ekstraksi keluar ke dalam larutan. Proses ini berlangsung lambat karena pelarut harus melewati dinding sel (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

B. Ekstraksi Cara Dingin

Metode ekstraksi dengan cara dingin merupakan teknik ekstraksi yang tidak melibatkan proses pemanasan selama pelaksanaannya dengan tujuan menjaga kestabilan senyawa-senyawa aktif agar tidak mengalami kerusakan. Beberapa metode ekstraksi dingin yang umum digunakan antara lain:

1. Maserasi

Merupakan metode yang paling sederhana dan banyak digunakan, baik dalam skala laboratorium maupun industri. Prosedurnya dilakukan dengan merendam

serbuk simplisia dalam pelarut pada suhu ruang hingga tercapai keseimbangan konsentrasi, kemudian dipisahkan melalui penyaringan (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

2. Perkolasi

Teknik ini dilakukan dengan cara pelarut dialirkan terus-menerus melalui serbuk simplisia pada suhu ruang ($\pm 30^{\circ}\text{C}$), melarutkan senyawa aktif hingga jenuh. Suhu stabil membantu menjaga kelarutan dan menghasilkan rendemen optimal (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

C. Ekstraksi Cara Panas

Metode ini melibatkan proses pemanasan selama berlangsungnya ekstraksi. Proses pemanasan ini berfungsi untuk mempercepat laju ekstraksi dibandingkan dengan metode tanpa pemanasan. Beberapa metode ekstraksi panas yang sering digunakan antara lain:

1. Ekstraksi Refluks

Merupakan teknik sederhana, ekonomis, dan menghasilkan rendemen tinggi karena panas membantu pelarut menarik senyawa aktif lebih efektif (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

2. Soxhletasi

Proses ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam kertas saring, lalu diekstraksi secara kontinu dengan pelarut yang dipanaskan. Metode ini hemat pelarut dan waktu, tetapi berisiko merusak senyawa termolabil karena kontak lama pada suhu tinggi (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

D. Ekstrak Cair-Cair

Ekstraksi cair-cair memisahkan zat dari fase air dengan pelarut organik yang tidak bercampur. Proses ini dapat

kontinu maupun tidak, dengan keunggulan pelarut dapat didaur ulang, pemisahan asam karboksilat lebih selektif, dan ekstrak yang dihasilkan lebih murni (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

2.4.5.2 Pelarut dalam Proses Ekstraksi

Pelarut memegang peranan penting dalam proses ekstraksi karena berfungsi melarutkan dan memindahkan senyawa bioaktif dari bahan tanaman ke fase cair. Pemilihan pelarut yang tepat akan menentukan efisiensi, komposisi, dan mutu ekstrak yang dihasilkan. Efektivitas ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti jenis pelarut, ukuran partikel bahan, rasio pelarut terhadap bahan, suhu, serta lama ekstraksi. Prinsip “*like dissolves like*” berlaku dalam proses ini, di mana senyawa polar lebih mudah larut dalam pelarut polar, sedangkan senyawa nonpolar larut dalam pelarut nonpolar (Zhang *et al.*, 2018).

Pelarut dapat dikategorikan menjadi organik dan anorganik. Pelarut organik berbasis karbon dan dapat bersifat polar maupun nonpolar tergantung pada gugus fungsinya. Contoh yang sering digunakan meliputi etanol, metanol, eter, etil asetat, keton, kloroform, dan heksana. Pelarut ini sering dipilih dalam penelitian fitokimia karena mampu melarutkan beragam kelas senyawa bioaktif, meskipun tingkat toksisitas dan kemudahan penguapannya perlu menjadi pertimbangan. Pelarut anorganik, seperti amonia, asam sulfat, dan sulfunik klorid fluorid umumnya bersifat polar dan banyak digunakan untuk melarutkan senyawa hidrofilik. Dalam konteks farmasi, pelarut anorganik yang digunakan harus aman, stabil, dan sesuai dengan sifat senyawa target (Wahyuningsih *et al.*, 2024).

Dalam proses ekstraksi tanaman obat, pelarut dikenal pula dengan istilah *menstruum*. Pemilihan jenis pelarut sangat bergantung pada karakteristik tanaman, bagian tanaman yang digunakan, sifat senyawa bioaktif yang diinginkan, serta ketersediaan pelarut itu sendiri. Tabel 2.3 berikut adalah sebelas jenis pelarut ekstraksi yang disusun berdasarkan tingkat polaritasnya dari yang paling rendah hingga paling tinggi (Abubakar *and* Haque, 2020).

Tabel 2.3 Daftar Pelarut dan Polaritasnya

No.	Pelarut	Polaritas
1	<i>n</i> -Hexane	0.009
2	Petroleum ether	0.117
3	Diethyl ether	0.117
4	Ethyl acetate	0.228
5	Chloroform	0.259
6	Dichloromethane	0.309
7	Acetone	0.355
8	<i>n</i> -Butanol	0.586
9	Ethanol	0.654
10	Methanol	0.762
11	Water	1.000

Sumber: (Abubakar *and* Haque, 2020).

Efisiensi proses ekstraksi akan meningkat seiring bertambahnya waktu ekstraksi hingga mencapai batas tertentu. Setelah tercapai kondisi kesetimbangan antara konsentrasi senyawa terlarut di dalam dan di luar bahan, penambahan waktu tidak lagi memberikan pengaruh signifikan terhadap hasil ekstraksi. Selain itu, semakin tinggi perbandingan pelarut terhadap bahan padat, umumnya hasil ekstraksi juga akan meningkat. Dalam menentukan jenis pelarut untuk proses ekstraksi, terdapat dua hal penting yang harus diperhatikan, yaitu:

- a. Pelarut harus memiliki tingkat kepolaran yang sesuai dengan jenis senyawa yang ingin diambil.

- b. Pelarut yang digunakan harus aman dan tidak bersifat toksik, terutama bila penelitian bertujuan untuk keperluan pengobatan. Oleh karena itu, pelarut seperti etanol, air, atau campuran keduanya menjadi pilihan yang umum digunakan (Ghina *et al.*, 2017).

Etanol (EtOH) dan metanol (MeOH) banyak digunakan dalam penelitian fitokimia karena mampu melarutkan berbagai senyawa bioaktif (Zhang *et al.*, 2018). Etanol 70% dipilih berdasarkan prinsip *like dissolves like*, di mana campuran etanol-air memiliki polaritas optimum untuk melarutkan senyawa polar hingga semipolar seperti flavonoid, saponin, dan fenol, sekaligus meningkatkan kelarutan senyawa hidrofilik dan mempertahankan kelarutan senyawa kurang polar (Plaskova and Mlcek, 2023). Beberapa studi telah menggunakan etanol 70% untuk ekstraksi daun binahong, misalnya pada uji antiinflamasi dan penyembuhan luka dengan hasil biologis signifikan (Paquita *et al.*, 2024), serta literatur menyebutkannya efektif bersama metanol untuk mengekstraksi total fenolik tanaman (Alim *et al.*, 2022).

Etanol memiliki gugus –OH yang membentuk ikatan hidrogen dengan gugus polar senyawa bioaktif, sementara air memperkuat kelarutan dan penetrasi pelarut. Kombinasi ini melepaskan senyawa target tanpa melarutkan banyak komponen nonpolar. Dibanding pelarut lain seperti metanol, eter, atau kloroform, etanol 70% lebih unggul karena efisiensinya, toksisitas rendah, kompatibilitas biologis, dan mudah diuapkan, sehingga ideal untuk uji *in vivo* pada model hewan diabetes (Zhang *et al.*, 2018).

2.4.5.3 Rendemen

Rendemen merupakan perbandingan antara berat ekstrak yang dihasilkan dengan berat simplisia kering yang digunakan sebagai bahan baku. Semakin besar nilai rendemen, semakin banyak jumlah ekstrak yang berhasil diperoleh dari proses ekstraksi (Nahor *et al.*, 2020). Perhitungan rendemen dilakukan menggunakan metode yang telah ditetapkan oleh AOAC (1999). Nilai rendemen diperoleh dengan membandingkan berat hasil ekstraksi dengan berat bahan awal, lalu dikalikan 100% untuk mendapatkan persentase rendemen (AOAC dalam Aristyanti *et al.*, 2017). Adapun rumus perhitungan rendemen adalah sebagai berikut:

$$\frac{\text{berat ekstrak yang diperoleh (gr)}}{\text{berat simplisia sebelum diekstraksi (gr)}} \times 100\%$$

Perhitungan kebutuhan serbuk kering daun binahong dilakukan dengan asumsi rendemen ekstrak etanol 70% sebesar 10–15%, berdasarkan kisaran yang dilaporkan oleh penelitian sebelumnya pada daun binahong menggunakan metode maserasi, yaitu 11–14% (Wijayanti *et al.*, 2019; Latuhihin *et al.*, 2020; Salm *et al.*, 2023). Angka ini digunakan untuk memperkirakan kebutuhan bahan baku secara praktis sebelum diperoleh nilai rendemen aktual pada penelitian ini.

2.5 Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Galur Sprague-Dawley)

2.5.1 Deskripsi dan Klasifikasi Tikus (*R. norvegicus*)

Penggunaan hewan model atau hewan percobaan memegang peran penting dalam penelitian *in vivo*, khususnya di bidang biomedis. Beberapa jenis hewan yang umum digunakan dalam penelitian meliputi tikus, mencit, dan hewan pengerat lainnya. Tikus merupakan hewan model yang banyak digunakan karena siklus hidupnya singkat,

biaya pemeliharaan ekonomis, mudah dirawat, serta didukung oleh basis data yang memadai untuk interpretasi hasil penelitian terkait kondisi manusia. Salah satu spesies yang sering dipakai dalam penelitian biomedis adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*), yang juga dikenal dengan sebutan *Norway Rat* (Rosidah *et al.*, 2020). Menurut klasifikasi yang dijelaskan oleh Berkenhout (1769) dalam Wati *et al.* (2024), tikus putih diklasifikasikan sebagai berikut:

Tabel 2.4 Taksonomi Tikus (*Rattus norvegicus*)

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Subclass	: Theria
Infraclass	: Eutheria
Order	: Rodentia
Suborder	: Myomorpha
Family	: Muridae
Superfamily	: Muroidea
Subfamily	: Murinae
Genus	: Rattus
Species	: <i>Rattus norvegicus</i> (Berkenhout, 1769)

Sumber: (Wati *et al.*, 2024).

Rattus norvegicus (*R. norvegicus*) merupakan jenis hewan pengerat yang umumnya memiliki bulu berwarna cokelat atau abu-abu, dengan panjang tubuh sekitar 25 cm dan ekor yang hampir seukuran tubuhnya. Spesies ini memiliki masa kehamilan sekitar 21 hari, dan dalam sekali reproduksi dapat melahirkan rata-rata 7 ekor anak, yang kemudian mencapai kematangan seksual dalam waktu sekitar 5 minggu. Umur hidup tikus ini berkisar antara 1,5 hingga 2 tahun (Otto *et al.*, 2015). Tikus memiliki kesamaan genetik dengan manusia sehingga sering digunakan sebagai model eksperimental. Salah satu spesies yang paling sering digunakan adalah tikus Norwegia (*Rattus norvegicus*), khususnya pada usia 3–4 bulan ketika telah memasuki

fase dewasa muda. Pada tahap ini, fungsi organ sudah matang dan stabil sehingga menjadikannya model yang ideal dengan respons penelitian yang lebih konsisten. Tikus Norwegia mudah dipelihara dan dapat berkembang biak dengan cepat dalam jumlah besar. Ukuran tubuhnya yang relatif lebih besar memudahkan penanganan selama prosedur pembedahan maupun pengambilan sampel darah berulang, khususnya dalam studi uji coba obat (Otto *et al.*, 2015; Weber *et al.*, 2019).

2.5.2 Galur Sprague-Dawley

Galur tikus laboratorium yang umum digunakan antara lain Sprague-Dawley, Wistar, Biobreeding, Long-Evans, Zucker, Hairless, Royal College of Surgeons, dan Shaking Rat Kawasaki. Di antaranya, Sprague-Dawley paling sering digunakan karena laju reproduksi tinggi, sifat jinak, dan mudah ditangani. Galur ini dikembangkan pada 1925 oleh Robert Worthington Dawley di Universitas Wisconsin melalui persilangan tikus jantan *hooded* dengan enam betina albino. Namanya berasal dari gabungan nama istrinya, Sprague, dan nama belakang Dawley (Wati *et al.*, 2024).



Gambar 2.6 Tikus Galur Sprague-Dawley
(Rosidah *et al.*, 2020)

Secara morfologi, Sprague-Dawley memiliki tubuh lebih besar, kepala panjang-ramping, serta ekor sama atau lebih panjang dari tubuh. Berat betina dewasa 250–300 gram dan jantan 450–520 gram,

dengan umur $\pm 3,5$ tahun. Stabilitas reproduksi dan temperamen jinak menjadikannya sesuai untuk berbagai penelitian *in vivo* (Rosidah *et al.*, 2020; Wati *et al.*, 2024). Saat ini galur ini dibudidayakan luas oleh penyedia hewan laboratorium seperti Charles River Laboratories, Envigo Inc., Taconic Biosciences, dan The Jackson Laboratory (Gileta *et al.*, 2022).

2.5.3 Kesamaan Hepar Manusia dan Tikus (*R. norvegicus*)

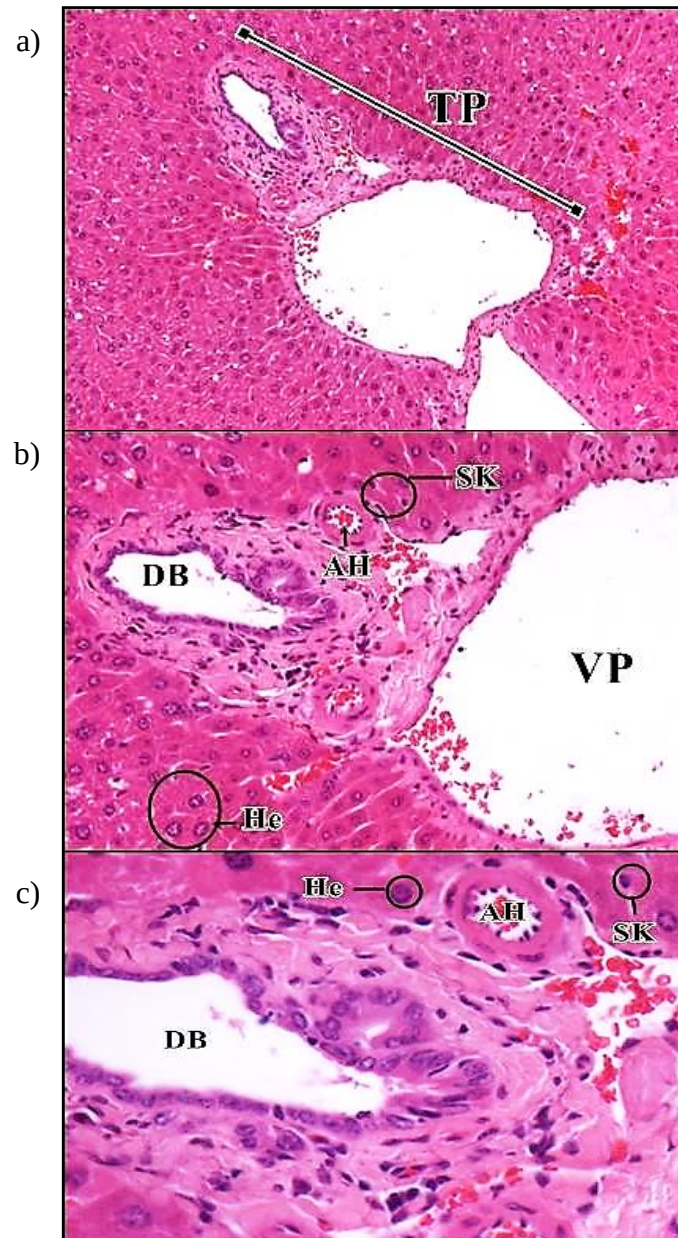
Hepar *Rattus norvegicus* galur Sprague-Dawley memiliki kemiripan anatomi, histologi, dan fisiologi dengan hepar manusia, termasuk arsitektur lobulus, distribusi sel Kupffer, susunan sinusoid, serta aliran darah portal-sentralis (Russomanno *et al.*, 2023; Xu *et al.*, 2021). Hepatosit kedua spesies menunjukkan bentuk dan susunan lempeng sel yang serupa serta hubungan dengan trias porta, mendukung fungsi metabolisme, detoksifikasi, dan produksi empedu. Kesamaan ini juga tampak pada ekspresi enzim sitokrom P450, khususnya CYP2E1, yang berperan dalam metabolisme senyawa hepatotoksik (Xu *et al.*, 2021; Tandi *et al.*, 2023).

Respons hepar tikus dan manusia terhadap stres oksidatif maupun senyawa diabetogenik seperti aloksan serupa, melibatkan perbaikan DNA, regulasi apoptosis, peningkatan TNF- α dan IL-6, serta aktivasi jalur Nrf2 (Xu *et al.*, 2021). Sekitar 76% gen penyakit manusia juga memiliki homolog pada tikus ini, termasuk gen yang mengatur metabolisme glukosa, resistensi insulin, dan komplikasi diabetes. Kesamaan struktural, fungsional, dan genetik tersebut menjadikan tikus Sprague-Dawley model yang relevan dan memiliki validitas translasi tinggi untuk mengevaluasi efek ekstrak etanol daun binahong terhadap gambaran histopatologi hepar, meskipun perbedaan fisiologis antarspesies tetap perlu diperhatikan (Weber *et al.*, 2019).

2.5.4 Histologi Hepar Tikus (*R. norvegicus*)

Secara histologis, lobulus hepar tikus dewasa berbentuk heksagonal dengan vena sentralis di bagian tengah dan area portalis pada sudut-

sudutnya. Area portalis mengandung trias porta yang terdiri atas cabang vena porta, arteri hepatika, dan duktus biliaris, dikelilingi oleh endotel serta jaringan ikat longgar (Maldonado-Rengel *et al.*, 2024).



Gambar 2.7 Struktur Mikroskopis Hepar Tikus (Pewarnaan H&E; Perbesaran a: 40×, b: 200×, dan c: 400×) (*Atlas of Laboratory Mouse Histology*, 2004 dalam Ravif, 2016).

Pada Gambar 2.7 ditunjukkan struktur histologi hepar tikus normal pada berbagai tingkat perbesaran. Pada perbesaran rendah (a, 40×) tampak trias porta (TP) yang terdiri atas vena porta (VP), arteri

hepatika (AH), dan duktus biliaris (DB). Pada perbesaran sedang (b, 200×) terlihat lebih jelas komponen trias porta beserta sel Kupffer (SK) dan hepatosit (He) di sekitarnya. Pada perbesaran lebih tinggi (c, 400×), arsitektur duktus biliaris (DB), hepatosit (He), arteri hepatika (AH), dan sel Kupffer (SK) tampak jelas, memperkuat ciri khas jaringan hepar normal (Ravif, 2016).

Hepatosit tersusun dalam lempeng radial mengelilingi vena sentralis, berbentuk poligonal besar dengan inti bulat pucat, nukleolus jelas, dan kadang binukleasi. Di antara lempeng terdapat sinusoid ber dinding fenestrasi berlapis sel endotel dengan sel Kupffer sebagai makrofag hepar. Area portalis berperan dalam suplai darah dan aliran empedu melalui kanalikuli biliaris di antara membran hepatosit menuju duktus biliaris. Sitoplasma eosinofilik mencerminkan kandungan organel tinggi, dan struktur ini sesuai dengan hepar mamalia normal, termasuk tikus Sprague-Dawley (Vdovíaková *et al.*, 2016; Osman *et al.*, 2017; Maldonado-Rengel *et al.*, 2024).

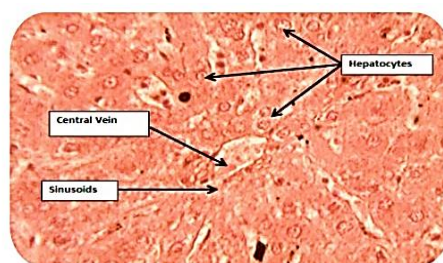


Plate 1: Normal control group (NC)

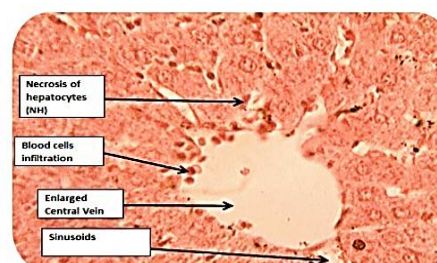


Plate 2: Diabetic control group (DC)

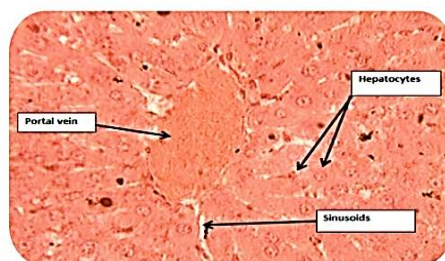


Plate 3: Aqueous extract group (AQE)

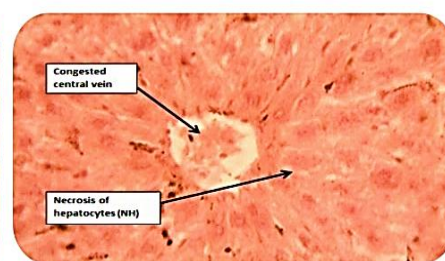


Plate 4: Ethanol extract group (Eth).

Gambar 2.8 Potongan Histopatologi Hepar Tikus (Pewarnaan H&E; Perbesaran 100×) (Alozie *et al.*, 2023).

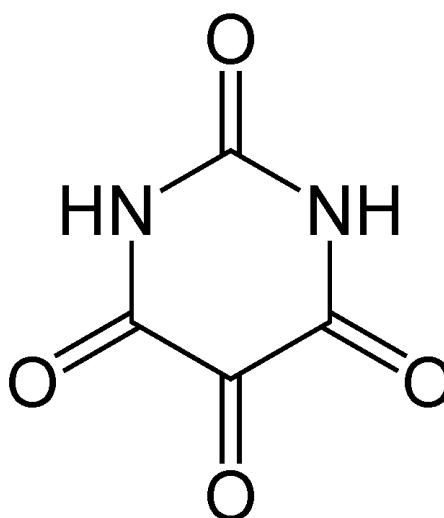
Berdasarkan penelitian oleh Alozie *et al.*, (2023), gambaran histopatologi hepar tikus pada Gambar 2.8 memperlihatkan perbedaan mencolok antara kelompok kontrol dan kelompok yang diinduksi aloksan. Kelompok kontrol normal (Plate 1, NC) menunjukkan struktur lobulus hepar utuh dengan hepatosit poligonal tersusun rapi mengelilingi vena sentralis, sinusoid jelas, sitoplasma homogen, dan inti sel sentral dengan nukleolus yang tampak jelas, tanpa tanda degenerasi maupun infiltrasi radang. Sebaliknya, kelompok kontrol diabetes (Plate 2, DC) menunjukkan degenerasi hidropik berupa pembengkakan hepatosit, vakuolasi sitoplasma, dan pergeseran inti ke tepi, disertai nekrosis fokal, pelebaran sinusoid, dilatasi vena sentralis, infiltrasi sel radang di area portal, serta kongesti intrahepatik. Perlakuan dengan ekstrak air *Vernonia amygdalina* (Plate 3, AQE) memperlihatkan perbaikan struktur hepatosit dan sinusoid yang lebih jelas, sedangkan perlakuan dengan ekstrak etanol *Vernonia amygdalina* (Plate 4, Eth) menunjukkan perbaikan parsial, meskipun masih terlihat kongesti vena sentralis dan nekrosis fokal. Perubahan-perubahan tersebut mencerminkan cedera hepatoseluler akibat stres oksidatif dan peradangan yang dipicu oleh hiperglikemia kronis pascakerusakan sel β pankreas oleh aloksan, serta menyerupai gambaran penyakit hepar berlemak non-alkoholik progresif (NAFLD) yang ditandai steatosis, inflamasi, dan kerusakan jaringan hepatic (Aslam, 2022; Alozie *et al.*, 2023; Tana *et al.*, 2024).

2.6 Aloksan

Aloksan, dikenal secara sistematis sebagai 2,4,5,6(1H,3H)-pyrimidinetetrone, memiliki rumus molekul $C_4H_2N_2O_4$ dan berat molekul 142,07 g/mol. Senyawa ini merupakan turunan dari pirimidin dengan empat gugus karbonil ($C=O$) yang terletak pada posisi 2, 4, 5, dan 6 pada cincin pirimidin, menjadikannya sebagai turunan dari asam barbiturat. Aloksan berbentuk padatan kristal putih, larut dalam air, dan stabil dalam kondisi kering. Secara struktural, aloksan terdiri dari cincin pirimidin dengan dua

atom nitrogen pada posisi 1 dan 3, serta empat gugus karbonil yang berkontribusi pada aktivitas redoksnya di dalam sel. Struktur ini memungkinkan aloksan untuk mengalami reaksi redoks yang menghasilkan radikal bebas, yang berperan dalam mekanisme toksisitasnya terhadap sel β pankreas (Gopalakrishnan *and* Iyer, 2025).

Aloksan adalah senyawa kimia diabetogenik sintetis yang secara spesifik merusak sel β pankreas. Senyawa ini menyerupai glukosa sehingga diambil oleh sel β melalui transporter GLUT2. Di dalam sel β , aloksan mengalami reaksi redoks yang menghasilkan radikal bebas oksigen (ROS), sehingga menimbulkan kerusakan DNA dan organel sel. Akibatnya terjadi nekrosis sel β dan penurunan sekresi insulin, yang memicu hiperglikemia. Dengan kata lain, aloksan menurunkan kapasitas sel β untuk memproduksi insulin melalui aksi toksiknya, sehingga efektif menginduksi model diabetes melitus tipe 1 pada hewan percobaan (Pandey *et al.*, 2023; Wulandari *et al.*, 2024).



Gambar 2.9 Struktur Kimia Aloksan
(American Chemical Society, 2016)

Secara metabolik, aloksan terutama menyerang jalur selular β pankreas adalah sifat kimianya yang memungkinkan masuk ke dalam sel melalui jalur glukosa (GLUT2), lalu berikatan dengan kelompok sulfhidril dalam sel, menghasilkan dialuric acid dan menghasilkan ROS yang memicu kematian sel. Target utama aloksan adalah sel β pankreas, meskipun terdapat efek

samping, ginjal dan hepar juga terpapar aloksan melalui sirkulasi darah, tetapi kerusakan toksiknya jauh lebih kuat pada sel β (Pandey *et al.*, 2023).

Dosis umum aloksan yang umum digunakan untuk menginduksi diabetes pada tikus dewasa berkisar pada rentang 120–170 mg/kgBB yang diinjeksi secara intraperitoneal (Wulandari *et al.*, 2024). Efek aloksan terhadap hepar terutama muncul sebagai akibat stres oksidatif dan hiperglikemia kronis. Beberapa studi histopatologi pada hepar tikus diabetik yang diinduksi aloksan menemukan adanya kerusakan sel hepar seperti nekrosis hepatosit, ditandai dengan inti sel yang menyusut (piknotik), terfragmentasi (karyorrhexis), hingga hilangnya pewarnaan inti (karyolysis). Selain itu, hiperglikemia berkepanjangan dapat menyebabkan akumulasi lemak (steatosis) dan peradangan hepar (Gaol *et al.*, 2024).

2.7 Kerangka Teori

Aloksan merupakan senyawa diabetogenik yang umum digunakan untuk menginduksi diabetes melitus tipe 1 pada hewan coba. Senyawa ini memasuki sel β pankreas melalui *glucose transporter* (GLUT2) karena strukturnya menyerupai glukosa. Di dalam sel β , aloksan mengalami reaksi redoks yang menghasilkan dialuric acid, yang selanjutnya mengalami autooksidasi membentuk spesies oksigen reaktif (ROS) seperti radikal superoksida dan hidrogen peroksida. ROS ini merusak DNA, membran, dan mitokondria, sementara aloksan juga mengikat gugus sulfhidril pada enzim glukokinase sehingga menghambat oksidasi glukosa, menurunkan pembentukan ATP, dan menekan sekresi insulin. Kombinasi efek tersebut menyebabkan apoptosis atau nekrosis sel β pankreas, berujung pada defisiensi insulin dan hiperglikemia persisten seperti diabetes tipe 1 (Kim, 2024; Wulandari *et al.*, 2024).

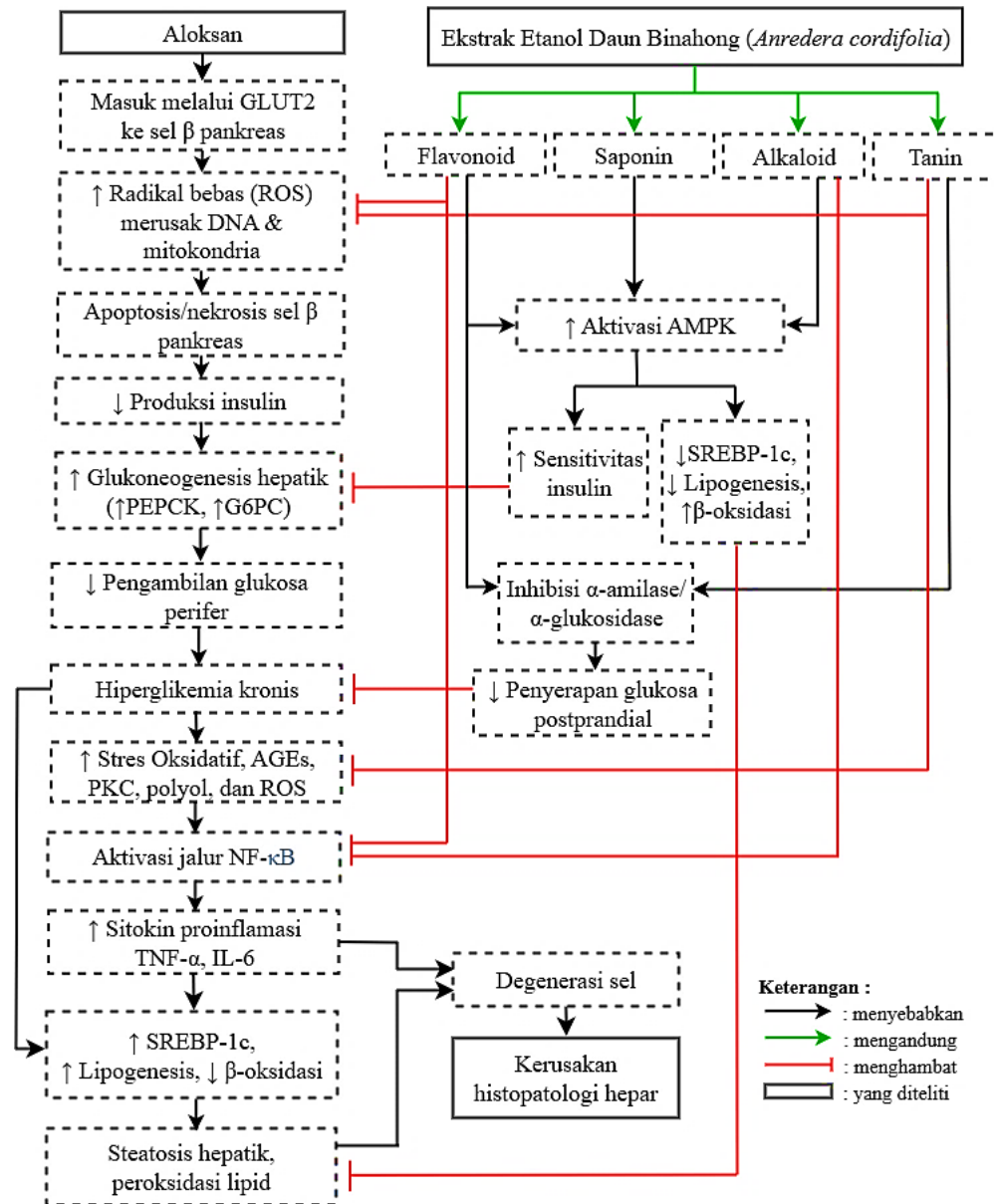
Hiperglikemia kronis akibat defisiensi insulin mengaktifkan berbagai jalur patogenik, termasuk pembentukan *advanced glycation end-products* (AGEs), *polyol pathway*, aktivasi protein kinase C (PKC), serta peningkatan produksi ROS dan sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6 (Caturano

et al., 2023). Siklus berulang antara hiperglikemia, ROS, dan inflamasi ini memicu stres oksidatif sistemik yang merusak berbagai jaringan, termasuk hepar. Pada hepar, hiperglikemia dan dislipidemia dapat meningkatkan lipogenesis melalui aktivasi *sterol regulatory element-binding protein-1c* (SREBP-1c), menurunkan β -oksidasi, dan menyebabkan akumulasi trigliserida (steatosis). Lipotoksitas dan ROS selanjutnya memicu stres retikulum endoplasma/mitokondria, peroksidasi lipid, serta aktivasi sel stelata melalui sinyal TGF- β /NF- κ B yang berujung pada deposisi kolagen dan fibrosis (Bae *et al.*, 2023; Yu and Rupasinghe, 2025).

Daun binahong (*Anredera cordifolia*) mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid yang berperan sebagai antioksidan, antidiabetik, antiinflamasi, dan antifibrotik (Pratiwi *et al.*, 2025). Flavonoid dan tanin berfungsi sebagai *radical scavengers*, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen seperti SOD, CAT, dan GSH, serta mengaktivasi jalur Nrf2 untuk meningkatkan ekspresi gen protektif terhadap stres oksidatif (Huang *et al.*, 2023). Tanin dan flavonoid juga menghambat α -amilase dan α -glukosidase, menurunkan lonjakan glukosa postprandial, sedangkan saponin, flavonoid, dan alkaloid mengaktifkan AMPK atau meningkatkan sensitivitas insulin, sehingga menekan glukoneogenesis hepatic ($\downarrow$ PEPCK, $\downarrow$ G6PC) dan meningkatkan pemakaian glukosa (Yu and Rupasinghe, 2025; Kashtoh and Baek, 2023).

Flavonoid dan alkaloid menekan jalur proinflamasi NF- κ B dan menurunkan produksi sitokin proinflamasi seperti TNF- α dan IL-6 (Huang *et al.*, 2023; Zhong *et al.*, 2024), sementara tanin menunjukkan aktivitas anti-AGEs yang mengurangi dampak jangka panjang AGEs terhadap jaringan. Saponin dan flavonoid juga menghambat SREBP-1c, menurunkan lipogenesis, dan meningkatkan β -oksidasi, sehingga mengurangi steatosis dan menghambat sinyal profibrotik pada sel stelata. Alkaloid turut memperbaiki profil lipid dan meredam inflamasi, sehingga menurunkan risiko progresi ke fibrosis. Dengan mekanisme ini, ekstrak etanol daun binahong terbukti pada model hewan diabetes dapat menurunkan kadar glukosa darah, mempertahankan

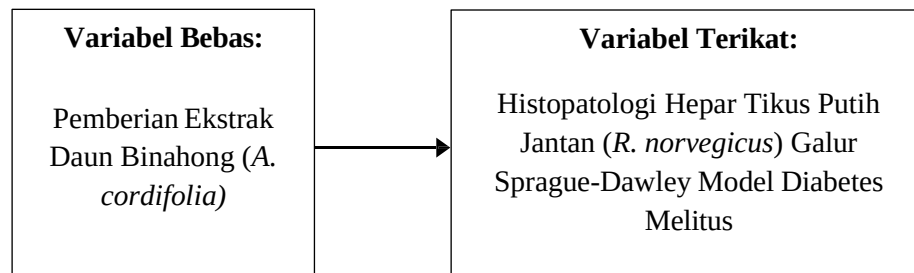
fungsi sel β , dan melindungi hepar dari kerusakan progresif akibat komplikasi diabetes (Cao *et al.*, 2024; Sulfianti *et al.*, 2023; Yu and Rupasinghe, 2025). Berdasarkan penjelasan dan penelitian-penelitian yang telah ada sebelumnya maka dapat disusun kerangka teori sebagai berikut.



Gambar 2.10 Kerangka Teori

(Wulandari *et al.*, 2024; Kim, 2024; Caturano *et al.*, 2023; Yu and Rupasinghe, 2025; Bae *et al.*, 2023; Pratiwi *et al.*, 2025; Huang *et al.*, 2023; Kashtoh and Baek, 2023; Zhong *et al.*, 2024 Sulfianti *et al.*, 2023; Cao *et al.*, 2024)

2.8 Kerangka Konsep



Gambar 2.11 Kerangka Konsep

2.9 Hipotesis Penelitian

Hipotesis pada penelitian ini dirumuskan sebagai berikut:

Ho:

- a. H01: Tidak terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley model diabetes melitus yang diinduksi aloksan.
- b. H02: Tidak terdapat pengaruh peningkatan dosis ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley model diabetes melitus yang diinduksi aloksan.

Ha:

- a. Ha1: Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley model diabetes melitus yang diinduksi aloksan.
- b. Ha2: Terdapat pengaruh peningkatan dosis ekstrak etanol 70% daun binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley model diabetes melitus yang diinduksi aloksan.

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk dalam jenis *true experimental study* yang bertujuan untuk menilai pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong dalam melindungi atau mengurangi derajat kerusakan organ hepar pada tikus putih jantan yang dibuat sebagai model diabetes melitus melalui induksi aloksan. Desain penelitian yang digunakan adalah acak terkontrol dengan metode *post-test only control group design*. Sebanyak lima kelompok hewan uji digunakan dalam penelitian ini, yaitu kelompok normal, kelompok kontrol negatif (tikus yang diinduksi aloksan tanpa diberikan perlakuan), serta tiga kelompok perlakuan yang masing-masing mendapatkan ekstrak etanol daun binahong dengan dosis berbeda untuk mengevaluasi perubahan morfologi hepar.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September–November 2025.

3.2.2 Tempat Penelitian

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) dipelihara dan diberikan perlakuan di *Animal House* Fakultas Kedokteran (FK) Universitas Lampung (Unila). Proses pengenceran aloksan dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Analisa, Jurusan Farmasi, FK Unila. Pembuatan ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dilakukan di Laboratorium Botani, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Unila. Pembuatan preparat jaringan hepar dan proses pembacaan hasil preparat dilakukan di Laboratorium

Histologi dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Lampung.

3.3 Populasi dan Sampel Penelitian

3.3.1 Populasi Penelitian

Populasi pada penelitian ini adalah tikus putih (*R. norvegicus*) jantan berusia 3-4 bulan dengan berat badan 200-250 gram.

3.3.2 Sampel Penelitian

Penentuan besar sampel dalam penelitian ini menggunakan rumus Federer (1991), yaitu:

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

Keterangan:

t = jumlah kelompok perlakuan dalam penelitian

n = jumlah pengulangan pada setiap kelompok perlakuan

Karena jumlah kelompok perlakuan yang direncanakan dalam penelitian ini sebanyak 5, maka berdasarkan rumus tersebut, perhitungan besar sampel adalah sebagai berikut:

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

$$4(n-1) \geq 15$$

$$4n - 4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$n \geq \frac{19}{4}$$

$$n \geq 4,75$$

$$n \geq 5$$

Dari hasil perhitungan, diperoleh bahwa jumlah sampel minimal pada setiap kelompok adalah 5 ekor tikus. Dengan demikian, total jumlah sampel yang diperlukan untuk penelitian ini adalah sebanyak 25 ekor tikus.

Selain itu, perlu dilakukan koreksi terhadap jumlah subjek penelitian untuk mengantisipasi kemungkinan terjadinya *dropout* selama proses penelitian berlangsung. Koreksi jumlah subjek ini dapat dilakukan dengan menggunakan rumus berikut:

$$N = \frac{n}{1-f}$$

$$N = \frac{5}{1-0,1}$$

$$N = \frac{5}{0,9}$$

$$N = 5,56$$

$$N = 6$$

Keterangan:

N = jumlah sampel setelah koreksi

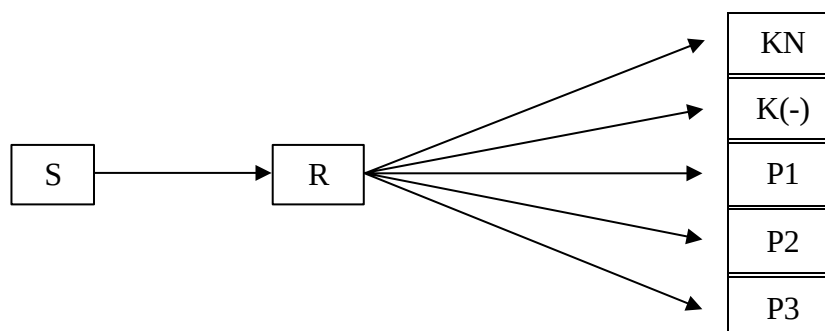
n = jumlah sampel sebelum koreksi

f = perkiraan *dropout*, yaitu sebesar 10%

Berdasarkan perhitungan tersebut, diperoleh bahwa jumlah sampel pada masing-masing kelompok perlakuan adalah sebanyak 6 ekor tikus putih jantan, dengan 1 ekor di antaranya sebagai cadangan. Dengan demikian, total jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebanyak 30 ekor tikus.

3.3.3 Teknik Sampling

Dalam penelitian ini, teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *simple random sampling*, dengan cara membagi hewan uji secara acak ke dalam lima kelompok perlakuan melalui proses randomisasi.



Gambar 3.1 Teknik Sampling

Keterangan:

S = Sampel

R = Randomisasi

K = Kontrol

P = Perlakuan

KN = Kontrol normal sebagai pembanding tikus yang mendapat diet standar tanpa induksi aloksan dan pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong.

K(-) = Kontrol negatif sebagai pembanding tikus yang mendapat diet standar dan induksi aloksan 150 mg/kgBB, tanpa pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong.

P1 = Tikus dengan diet standar dan diinduksi aloksan 150 mg/kgBB, kemudian diberi ekstrak etanol 70% daun binahong 25 mg/kgBB selama 21 hari.

P2 = Tikus dengan diet standar dan diinduksi aloksan 150 mg/kgBB, kemudian diberi ekstrak etanol 70% daun binahong 50 mg/kgBB selama 21 hari.

P3 = Tikus dengan diet standar dan diinduksi aloksan 150 mg/kgBB, kemudian diberi ekstrak etanol 70% daun binahong 100 mg/kgBB selama 21 hari.

3.4 Identifikasi Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas (*Independent Variable*)

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% daun binahong (*A. cordifolia*).

3.4.2 Variabel Terikat (*Dependent Variable*)

Variabel terikat pada penelitian ini adalah histopatologi hepar tikus putih jantan (*R. norvegicus*) galur Sprague-Dawley.

3.5 Kriteria Sampel

3.5.1 Kriteria Inklusi

1. Tikus jantan jenis Sprague-Dawley dari spesies *Rattus norvegicus*.
2. Memiliki kondisi fisik yang baik, ditandai dengan pergerakan yang lincah, bulu yang bersih dan tidak kusam, serta tidak menunjukkan perilaku agresif atau kehilangan bulu.
3. Menunjukkan perilaku dan aktivitas yang normal tanpa adanya kelainan anatomi yang terdeteksi.
4. Bobot tubuh berada dalam rentang 200–250 gram.
5. Berumur antara 3 hingga 4 bulan.

3.5.2 Kriteria Eksklusi

1. Tikus yang mengalami penurunan berat badan lebih dari 10% selama periode adaptasi di *Animal House*.
2. Tikus yang tidak bertahan hidup selama masa adaptasi.
3. Tikus yang menunjukkan tanda-tanda penyakit atau ditemukan memiliki kelainan anatomi selama masa adaptasi di *Animal House*.

3.6 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
Ekstrak etanol daun binahong (<i>A. cordifolia</i>)	Pemberian ekstrak etanol daun binahong (<i>A. cordifolia</i>) secara oral menggunakan sonde (Simangunsong <i>et al.</i> , 2023).	Timbangan digital (untuk ekstrak), timbangan hewan (untuk berat badan tikus), spuit oral sonde.	Dosis ekstrak daun binahong 25 mg/kgBB, 50 mg/kgBB dan 100 mg/kgBB (Dwitiyanti <i>et al.</i> , 2021; Rollando <i>et al.</i> , 2022; Tandi <i>et al.</i> , 2023).	Ordinal
Gambar histopatologi hepar	Pengamatan preparat histopatologi hepar dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Pengamatan dilakukan pada lima lapang pandang terhadap berbagai perubahan yang terjadi, kemudian diskoring berdasarkan rerata perubahan jaringan.	Mikroskop cahaya dengan perbesaran 400x.	Skor histopatologi hepar berdasarkan kriteria Manja Roenigk (1 = normal, 2 = degenerasi parenkim, 3 = degenerasi hidropik, 4 = nekrosis), dihitung dari rata-rata lima lapang pandang (Astitu <i>et al.</i> , 2023).	Numerik

3.7 Instrumen dan Bahan Penelitian

3.7.1 Instrumen Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi set perlengkapan pemeliharaan tikus putih, berupa bak plastik dengan penutup kawat, tempat pakan, dan tempat minum sebanyak 25 buah. Selain itu, digunakan pula seperangkat alat untuk pemeriksaan kadar glukosa darah, yang terdiri atas *lancet pen*, *blood lancet*, kapas, alat glukometer beserta stripnya, serta *alcohol swab*. Proses ekstraksi dilakukan menggunakan peralatan seperti oven, blender, *rotary evaporator* atau *waterbath*, alat timbang analitik, gelas ukur, pipet ukur, gelas beaker, tabung erlenmeyer, saringan kasar atau kain flanel, keras saring Whatman, ayakan, spatula, pisau, mortar, dan pestle.

Penimbangan bahan dilakukan dengan timbangan digital serta penimbangan berat badan tikus menggunakan timbangan hewan. Selain itu, disiapkan tiga buah jarum sonde dan spuit 5 cc untuk pemberian ekstrak etanol daun binahong secara oral, serta jarum suntik 1 cc untuk proses induksi aloksan. Untuk proses nekropsi, digunakan alat berupa pinset, gunting, skalpel, jarum pins, papan bedah, dan tabung sampel. Pembuatan preparat dan pemeriksaan histopatologi menggunakan bak parafin, oven, *embedding cassette*, *rotary microtome*, *object glass*, *cover glass*, *floating bath*, inkubator, kertas label, dan mikroskop cahaya. Perlengkapan pendukung lainnya berupa alat tulis, sarung tangan, masker, dan kamera untuk keperluan dokumentasi.

3.7.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam proses penelitian ini adalah hewan uji tikus (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley berusia 3-4 bulan dengan berat badan antara 200–250 gram sebanyak 25 ekor ditambah lima ekor cadangan, aloksan sebagai agen penginduksi diabetes melitus, serta daun binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai bahan uji. Untuk kebutuhan pemeliharaan hewan uji, disediakan pelet pakan, air minum, sekam padi sebagai alas kandang, serta larutan *dextrose* 10% untuk mencegah hipoglikemia setelah induksi aloksan. Untuk terminasi hewan uji disediakan kloroform.

Proses pelarutan aloksan dilakukan menggunakan aquadest, sedangkan ekstrak daun binahong dilarutkan dengan etanol 70% dan aquadest. Adapun bahan yang digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi hepar meliputi larutan NaCl 0,9%, dan larutan *buffer neutral formalin* (BNF) 10%. Proses pembuatan preparat mikroteknik menggunakan bahan berupa xilol, alkohol bertingkat, parafin, larutan pewarna Harris Hematoxylin Eosin (H&E), dan medium mounting (resin sintetik).

3.8 Prosedur dan Alur Penelitian

3.8.1 Determinasi Tumbuhan

Identifikasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Botani, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung. Tujuannya adalah untuk memastikan bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini benar merupakan daun binahong (*Anredera cordifolia*). Proses ini penting untuk menjamin ketepatan spesies yang digunakan sehingga hasil penelitian valid dan relevan.

3.8.2 Pembuatan Ekstrak Daun Binahong

Pembuatan ekstrak etanolik daun binahong mengikuti langkah-langkah ekstraksi maserasi tumbuhan obat. Secara umum, prosedurnya adalah sebagai berikut:

1. Preparasi Simplisia

Daun binahong segar dicuci bersih, ditiris, lalu dikeringkan dengan diangin-anginkan atau dioven pada suhu rendah hingga kadar air rendah. Daun kering dihaluskan menjadi serbuk menggunakan blender (Rollando *et al.*, 2022).

2. Perendaman (Maserasi)

Daun binahong yang telah kering diblender hingga menjadi serbuk. Serbuk direndam menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:4. Perendaman dilakukan dalam wadah tertutup dan diaduk sesekali. Lama maserasi umum 2–3 hari, kadang diulangi beberapa kali dengan pelarut baru untuk meningkatkan rendemen (Rollando *et al.*, 2022).

3. Filtrasi

Campuran disaring menggunakan kertas saring atau saringan vakum untuk memisahkan ampas (simplisia) dan filtrat. Ampas dapat dimaserasi ulang dengan etanol segar untuk mengekstraksi sisa senyawa. Filtrat pertama dan kedua digabungkan menjadi filtrat total (Hariyanti *et al.*, 2017).

4. Evaporasi Pelarut

Filtrat etanol dikumpulkan dan diuapkan untuk menghilangkan pelarut. Uap etanol awalnya dihilangkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu sekitar 40–50°C sehingga diperoleh ekstrak kental pertama. Selanjutnya ekstrak kental dijemur atau dikeringkan pada *waterbath* (suhu 50–60°C) hingga benar-benar pekat. Hasil akhirnya adalah ekstrak etanolik kental dengan konsistensi pekat (Dwitiyanti *et al.*, 2021).

3.8.3 Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk mengetahui senyawa dalam ekstrak daun binahong (*A. cordifolia*) secara kualitatif. Beberapa senyawa utama yang diamati adalah flavonoid, saponin, tanin, dan alkaloid.

1. Identifikasi Flavonoid

Uji flavonoid secara kualitatif pada ekstrak etanol daun binahong direaksikan dengan magnesium (Mg) dan HCl pekat. Perubahan warna menjadi kuning-jingga atau merah menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid (Sidhartha *et al.*, 2024).

2. Identifikasi Saponin

Uji saponin dilakukan dengan mencocok ekstrak etanol dalam air hingga terbentuk busa stabil selama 10-15 menit. Busa yang tidak hilang setelah penambahan tetesan HCl 2N mengindikasikan adanya senyawa saponin (Sidhartha *et al.*, 2024).

3. Identifikasi Tanin

Tanin diuji dengan menambahkan larutan FeCl₃ 1% ke dalam ekstrak. Terbentuknya warna hijau tua atau biru-hitam menunjukkan keberadaan senyawa tanin (Sidhartha *et al.*, 2024).

4. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak diuji dengan metode Mayer, Dragendorff, dan Bouchardat. Penambahan reagen Mayer (kalium iodida-merkuri) menghasilkan endapan putih kekuningan, reagen Dragendorff (kalium bismut iodida) menghasilkan endapan jingga hingga coklat kemerahan,

dan reagen Bouchardat (iodin-kalium iodida) menghasilkan endapan jingga hingga coklat kehitaman mengindikasikan keberadaan senyawa alkaloid (Sidhartha *et al.*, 2024).

3.8.4 Persiapan dan Aklimatisasi Hewan Uji

Penelitian ini menggunakan hewan coba berupa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) sebanyak 30 ekor, dengan rentang usia 3-4 bulan dan berat badan antara 200–250 gram. Tikus-tikus tersebut dipelihara di *Animal House* Fakultas Kedokteran Universitas Lampung selama proses adaptasi hingga pemberian perlakuan. Sebelum penelitian dimulai, seluruh tikus menjalani aklimatisasi atau masa adaptasi selama satu minggu di lingkungan kandang baru untuk meminimalkan stres yang dapat mempengaruhi kondisi fisiologis dan metabolisme hewan.

Tikus yang digunakan dalam penelitian harus dalam kondisi sehat, ditandai dengan bulu yang bersih dan tidak rontok, mata jernih, serta tidak menunjukkan adanya cacat fisik. Selama penelitian, tikus diberi makan berupa pelet dan air minum secara *ad libitum*, serta alas kandang diganti dua kali seminggu.

3.8.5 Penentuan dan Pemberian Dosis Aloksan

Berdasarkan studi oleh Akhtar *et al.*, (2022) dan Gamde *et al.*, (2023), penggunaan *alloxan monohydrate* 150 mg/kg BB (*single dose*, i.p.) dipilih karena protokol tersebut secara konsisten menghasilkan hiperglikemia yang terkonfirmasi dengan $\text{GDP} \geq 200 \text{ mg/dL}$ pada 72 jam dan perubahan histopatologi dini seperti degenerasi hepatosit ringan dan steatosis awal, tanpa menimbulkan efek toksik berlebihan dalam rentang dua minggu setelah induksi. Selain itu, studi jangka panjang oleh Lucchesi *et al.*, (2015) melaporkan perubahan morfologi hepar pada tikus diabetik yang diinduksi aloksan mulai dari steatosis sampai steatohepatitis dan fibrosis, yang menunjukkan bahwa efek hepatic akibat hiperglikemia dapat muncul dan berkembang dalam

beberapa minggu hingga bulan. Oleh karena itu, penelitian ini menggunakan dosis 150 mg/kgBB sebagai pilihan optimal untuk mengevaluasi efek protektif perubahan histopatologi dini selama 21 hari, sebelum kerusakan lanjut seperti fibrosis berkembang.

Setelah masa adaptasi berakhir, *Alloxan monohydrate* disiapkan sebagai larutan segar tepat sebelum injeksi. Tikus dipuasakan selama 6 hingga 8 jam, lalu dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah puasa. Dua jam setelah pengukuran tersebut, aloksan diberikan sekali secara intraperitoneal pada dosis 150 mg/kg BB. Untuk mengurangi risiko hipoglikemia awal pascainduksi, hewan disediakan larutan *dextrose* 10% *ad libitum* atau pemberian glukosa oral jika diperlukan selama 24–48 jam pertama. Glukosa darah puasa (GDP) diukur secara *baseline* dan 72 jam setelah injeksi untuk memastikan terjadinya hiperglikemia. Penetapan status hiperglikemia mengacu pada standar WHO, yaitu hewan dengan glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dL atau glukosa sewaktu ≥ 200 mg/dL dikategorikan sebagai diabetik dan dimasukkan ke kelompok perlakuan. Untuk memastikan stabilisasi kondisi pascainduksi dan meminimalkan pengaruh fase akut aloksan terhadap respons terapeutik, pemberian ekstrak daun binahong dimulai pada hari ke-3 setelah injeksi (di hari yang sama setelah terkonfirmasi hiperglikemia). Ekstrak daun binahong diberikan secara sonde oral setiap hari selama 21 hari. Selama periode ini, kadar glukosa darah diperiksa secara berkala untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak dalam menurunkan kadar gula darah.

3.8.6 Pengambilan Darah Hewan Uji

Pengambilan darah hewan uji dilakukan melalui ekor tikus. Sebelum pengambilan, ekor tikus dibersihkan menggunakan alkohol 70% untuk mencegah kontaminasi lalu diurut secara perlahan. Darah diperoleh dengan menusuk ujung ekor menggunakan autoklik atau jarum steril, kemudian darah yang keluar diteteskan pada strip glukosa. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan menggunakan

glukometer digital, seperti Easy Touch GCU, yang umum digunakan dalam penelitian hewan laboratorium, kadar glukosa darah akan terbaca secara otomatis dalam waktu sekitar 10 detik. Hasil pengukuran ditampilkan dalam satuan miligram per desiliter (mg/dL), sesuai standar internasional untuk evaluasi glukosa darah. Prosedur ini dilakukan pada hari ke-1 (sebelum induksi), hari ke-3 pascainjeksi (konfirmasi hiperglikemia), serta hari ke-7, 14, dan 21 pascainjeksi untuk memonitor perubahan kadar glukosa darah selama penelitian. Rentang normal kadar glukosa darah puasa pada tikus berkisar antara 50 hingga 135 mg/dL (Wulandari *et al.*, 2021).

Penggunaan satuan mg/dL dalam pengukuran kadar glukosa darah pada manusia dan tikus didasarkan pada standar laboratorium klinis yang diterima secara luas. Perlu dicatat bahwa volume darah total pada tikus sekitar 64 ml/kg berat badan, sehingga untuk tikus seberat 200 gram, volume darah totalnya sekitar 12,8 ml. Oleh karena itu, pengambilan darah harus dibatasi agar tidak melebihi 10% dari volume darah total dalam satu kali pengambilan tanpa penggantian cairan, guna mencegah efek samping seperti hipovolemia atau stres fisiologis. Penggunaan glukometer dalam penelitian hewan efektif untuk memantau kadar glukosa darah pada model hewan diabetes, dengan tetap menjaga kesejahteraan hewan selama proses penelitian (Samsuri *et al.*, 2020).

3.8.7 Penentuan dan Pemberian Dosis Ekstrak Daun Binahong

Pemilihan rentang dosis didasarkan pada konsistensi pemakaian dan hasil pada studi praklinis sebelumnya. Studi eksperimen oleh Tandi *et al.*, (2023) pada tikus diabetes model streptozotocin menemukan aktivitas hepatoprotektif pada protokol 25, 50, dan 100 mg/kg BB dengan efek perbaikan histologi yang paling nyata pada dosis rendah 25 mg/kgBB, sehingga 25 mg/kgBB penting disertakan sebagai titik sensitivitas awal. Sementara studi Dwitianti *et al.*, (2021) pada

model HFD (*high-fat diet*) melaporkan bahwa 50 mg/kg seringkali merupakan dosis optimal untuk efek metabolik, menjadikan 50 mg/kg sebagai dosis menengah rasional. Selain itu, beberapa penelitian dan tinjauan farmakologi menunjukkan 100 mg/kg umum dipakai sebagai dosis tinggi yang menunjukkan efek jaringan yang lebih jelas, sehingga 100 mg/kg berguna untuk menguji apakah efek protektif meningkat seiring dosis (Rollando *et al.*, 2022). Variasi dosis dalam beberapa studi tersebut memberikan gambaran mengenai rentang efektif ekstrak binahong. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan tiga variasi dosis:

1. Dosis untuk tiap tikus pada kelompok perlakuan 1 = $\frac{1}{2} \times 50$ mg/kgBB = 25 mg/kgBB (dosis rendah) sebagai dosis minimal efektif.
2. Dosis untuk tiap tikus pada kelompok perlakuan 2 = 1×50 mg/kgBB = 50 mg/kgBB (dosis sedang) umum digunakan dan terbukti menurunkan glukosa.
3. Dosis untuk tiap tikus pada kelompok perlakuan 3 = 2×50 mg/kgBB = 100 mg/kgBB (dosis tinggi) untuk melihat efek maksimal dalam batas aman.

Pemberian ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) dimulai pada hari ke-3 pascainjeksi, yaitu di hari yang sama setelah tikus terkonfirmasi hiperglikemia oleh induksi aloksan. Selanjutnya, ekstrak diberikan secara oral melalui sonde lambung setiap hari selama 21 hari. Selama periode tersebut, kadar glukosa darah tikus juga dipantau secara berkala guna mengevaluasi efektivitas ekstrak dalam menurunkan kadar glukosa darah.

3.8.8 Pengambilan Organ Hepar

Setelah masa perlakuan selesai, hewan uji dikorbankan untuk pengambilan organ. Euthanasia tikus dilakukan dengan dianestesi general menggunakan kloroform. Setelah tikus tidak menunjukkan tanda-tanda vital, dilakukan nekropsi dengan posisi ventral dan

keempat ekstremitas ditahan menggunakan jarum pentul untuk memudahkan proses pembedahan. Permukaan abdomen dibasahi dengan alkohol 70% untuk mensterilkan area pembedahan. Sayatan dilakukan sepanjang garis tengah abdomen (*linea alba*), mulai dari regio mentalis hingga ke pecten ossis pubis, untuk membuka rongga perut. Organ hepar diidentifikasi dan diangkat dengan hati-hati, kemudian dicuci menggunakan larutan NaCl 0,9% untuk menghilangkan sisa darah dan kotoran. Selanjutnya, organ hepar dipotong dengan ketebalan 3–5 mm dan dimasukkan ke dalam larutan buffer formalin 10% untuk proses fiksasi (Astitu *et al.*, 2023; Liu *et al.*, 2016).

3.8.9 Pembuatan Preparat Histologi Hepar

Adapun prosedur pembuatan preparat dan pewarnaan adalah sebagai berikut (Digambiro *and* Parwanto, 2019).

1. Fiksasi

Sampel jaringan hepar difiksasi dengan menggunakan *neutral buffer formalin* (NBF) 10% selama 12-48 jam. Fiksasi dilakukan selama minimal 24 jam untuk memastikan jaringan terkonservasi dengan baik. Untuk mendapatkan preparat yang sesuai yaitu tidak terlalu tebal, maka pemotongan dilakukan dengan ukuran $\pm 0,5$ cm–1 cm. Lalu, dimasukkan ke *embedding cassette*.

2. Dehidrasi

Setelah proses fiksasi selesai, jaringan hepar menjalani tahap dehidrasi secara bertahap dengan merendamnya dalam larutan etanol dengan konsentrasi meningkat secara progresif (70%, 80%, 90%, hingga 100%). Tujuan dari tahap ini adalah untuk menghilangkan kandungan air dalam jaringan. Setiap perendaman dilakukan selama kurang lebih 1,5 jam.

3. *Clearing*

Tahap selanjutnya adalah *clearing*, yaitu perendaman jaringan dalam xilol atau pelarut organik sejenis guna menggantikan

alkohol dan membuat jaringan tampak lebih transparan. Proses ini juga memakan waktu sekitar 1,5 jam untuk setiap perendaman.

4. Infiltrasi

Infiltrasi bertujuan untuk memasukkan media penanaman berupa parafin ke dalam jaringan. Jaringan direndam dalam parafin cair sebanyak dua kali, masing-masing selama 1 jam, agar parafin dapat meresap sempurna ke dalam struktur jaringan.

5. *Embedding* (Parafinisasi)

Jaringan yang telah melalui proses pembersihan dan pengeringan kemudian ditanam dalam blok parafin cair yang telah dipanaskan. Parafin ini mengisi rongga antar sel, sehingga jaringan menjadi padat dan siap untuk dilakukan pemotongan mikrotom dengan presisi tinggi.

6. *Sectioning* (Pemotongan)

Blok parafin yang mengandung jaringan dipotong tipis menggunakan *rotary microtome*. Ketebalan potongan biasanya sekitar 4–7 μm . Untuk meregangkan hasil pemotongan, potongan dimasukkan ke *floating bath* yang berisi air dengan suhu 49° C. Setelah itu letakkan pada *object glass* dan masukkan ke inkubator selama 2-3 jam agar preparat mengering.

7. Pewarnaan dengan Harris Hematoxylin Eosin

Setelah irisan jaringan hepar ditempatkan pada kaca objek dan dikeringkan, dilakukan deparafinasi dengan merendam slide dalam xilol dua kali, masing-masing selama 5 menit. Kemudian, slide direhidrasi melalui perendaman bertahap dalam etanol dengan konsentrasi menurun (95%, 90%, 80%, dan 70%), masing-masing selama 5 menit, diikuti dengan pembilasan menggunakan air mengalir selama 15 menit dan perendaman dalam akuades selama 5 menit. Pewarnaan dimulai dengan merendam slide dalam larutan hematoksin selama 10 menit untuk mewarnai inti sel, diikuti dengan pembilasan air mengalir selama 30 menit dan perendaman dalam akuades selama 5 menit. Selanjutnya, slide direndam dalam

larutan eosin selama 5 menit untuk mewarnai sitoplasma dan struktur ekstraseluler, kemudian dibilas dengan air mengalir selama 10 menit. Setelah itu, slide didehidrasi kembali melalui perendaman dalam etanol dengan konsentrasi meningkat (80%, 90%, dan 95%), masing-masing selama 5 menit, dan direndam dalam xilol dua kali, masing-masing selama 5 menit, untuk proses *clearing*.

8. *Mounting*

Setelah pewarnaan, preparat dikeringkan, diberi medium mounting (resin sintetik), dan ditutup dengan penutup kaca (*cover glass*) untuk persiapan pengamatan mikroskopis.

3.8.10 Pengamatan Preparat Histopatologi Hepar

Pengamatan histopatologi pada jaringan hepar bertujuan untuk mengevaluasi sejauh mana tingkat kerusakan sel hepatosit yang terjadi. Penilaian terhadap gambaran preparat histopatologi ini dapat menunjukkan progresivitas kerusakan organ hepar. Pada setiap ekor tikus, diambil satu irisan jaringan hepar yang kemudian dibuat preparat dan diamati di bawah mikroskop. Pengamatan dilakukan pada lima bidang pandang berbeda dengan perbesaran 400x. Di setiap lapang pandang tersebut, diamati sebanyak 20 sel secara acak, sehingga total sel yang dianalisis per preparat adalah 100 sel.

Selanjutnya, dilakukan penilaian menggunakan model skoring histopatologi Manja Roenigk. Metode ini menghitung rata-rata dari lima bidang pandang dengan menjumlahkan jumlah sel normal (A), sel yang mengalami degenerasi parenkim (B), degenerasi hidropik (C), serta sel yang mengalami nekrosis (D) dalam tiap lapangan. Skor Manja Roenigk dihitung dengan rumus: $(A \times 1) + (B \times 2) + (C \times 3) + (D \times 4)$, kemudian hasilnya dibagi dengan jumlah total sel yang diamati, yaitu $(A + B + C + D)$. Nilai rata-rata kemudian dihitung berdasarkan skor dari kelima lapang pandang yang telah diamati, lalu dibagi dengan jumlah sampel pada tiap kelompok perlakuan.

$$\text{Rata-rata : } \frac{((A \times 1) + (B \times 2) + (C \times 3) + (D \times 4))}{(A + B + C + D)}$$

Interpretasi dari hasil skoring ini adalah: semakin mendekati nilai 1 menunjukkan dominasi sel normal, mendekati nilai 2 menunjukkan dominasi degenerasi parenkim, mendekati nilai 3 menunjukkan dominasi degenerasi hidropik, dan mendekati nilai 4 mengindikasikan peningkatan jumlah sel yang mengalami nekrosis.

Jenis kerusakan sel hepar yang dinilai dalam penelitian ini meliputi degenerasi parenkim, degenerasi hidropik, dan nekrosis. Evaluasi dilakukan untuk mengetahui seberapa besar tingkat kerusakan sel setelah pemberian berbagai perlakuan, yaitu kontrol normal, kontrol negatif, serta pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong dengan dosis rendah, sedang, dan tinggi.

Tabel 3.2 Kriteria Penilaian Histologi Sel Hepar Skor Manja Roenigk

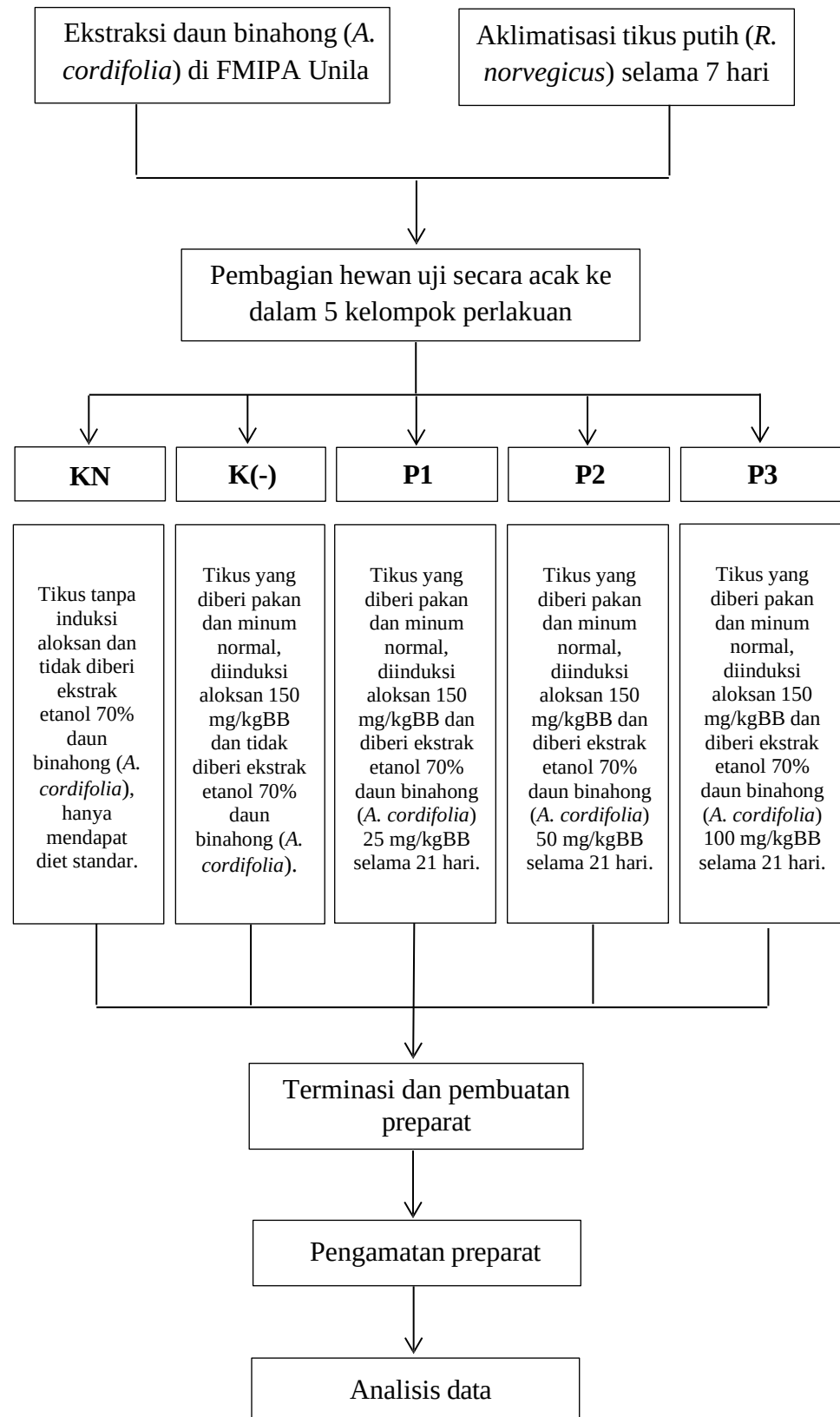
Tingkat perubahan	Skor
Normal	1
Degenerasi parenkimatososa	2
Degenerasi hidropik	3
Nekrosis	4

Sumber: (Astitu *et al.*, 2023).

3.9 Pengelolaan Tikus Setelah Penelitian

Setelah pengambilan hepar, kematian tikus dipastikan melalui pemeriksaan tidak adanya detak jantung, pernapasan, dan refleks kornea. Bangkai tikus selanjutnya dikubur sesuai prosedur dengan kedalaman yang memadai untuk mencegah pencemaran lingkungan dan meminimalkan risiko kontaminasi tanah maupun air. Prosedur ini dilakukan sesuai dengan *AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals* (American Veterinary Medical Association, 2020), yang menekankan pentingnya perlakuan etis terhadap hewan pascapenelitian.

3.10 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur Penelitian

3.11 Analisis Data

3.11.1 Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari hasil pengumpulan kemudian disusun dalam bentuk tabel dan diolah menggunakan program statistik komputer. Proses pengolahan ini meliputi beberapa tahapan, yaitu:

1. *Coding*, data yang telah dikumpulkan diubah menjadi bentuk kode tertentu untuk memudahkan proses analisis.
2. *Entry data*, data yang telah dikode dimasukkan ke dalam perangkat lunak statistik secara sistematis untuk menghindari kesalahan input.
3. *Verification*, data yang sudah di-*entry* diperiksa ulang untuk memastikan tidak ada kesalahan ketik, data ganda, atau ketidaksesuaian.
4. *Output*, data yang telah diverifikasi kemudian disajikan dalam bentuk tabel, grafik, atau diagram sebagai dasar untuk proses analisis.

3.11.2 Analisis Penelitian

Data yang diperoleh dalam penelitian ini dianalisis menggunakan metode statistik dengan program komputer *software* berupa SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) versi 27 dengan jenis analisis bivariat. Analisis bivariat digunakan untuk mengetahui hubungan antara variabel bebas dan variabel terikat. Tahap awal dilakukan uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk*, mengingat jumlah sampel dalam penelitian adalah 30 dan kurang dari 50. Setelah dilakukan uji normalitas data, diperoleh data terdistribusi normal. Selanjutnya, untuk mengetahui kesamaan varians antar kelompok, dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene's test*. Hasil yang didapat adalah varians data homogen dengan $p > 0,05$, maka analisis dilanjutkan dengan uji komparatif parametrik menggunakan *One-way ANOVA* dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$. Hasil uji *One-way ANOVA* menunjukkan

adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok, sehingga uji data dilanjutkan dengan *Post-Hoc Test* menggunakan metode uji *Tukey's Honestly Significant Difference* (HSD) untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan signifikan.

3.12 Etika Penelitian

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan etik oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Lampung dengan nomor surat persetujuan 5690/UN26.18/PP.05.02.00/2025.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan di atas, dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Terdapat pengaruh pemberian ekstrak etanol 70% daun binahong terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Sprague-Dawley yang diinduksi aloksan. Hal ini ditunjukkan oleh penurunan skor kerusakan Manja Roenigk serta perbaikan struktur hepatosit pada kelompok perlakuan dibandingkan kontrol negatif dengan rerata skor kerusakan 1,076 pada kelompok Kontrol Normal (KN), 1,796 pada Kontrol Negatif (K(-)), 1,364 pada Perlakuan 1 (P1), 1,250 pada Perlakuan 2 (P2), dan 1,136 pada Perlakuan 3 (P3), sehingga ekstrak etanol daun binahong terbukti mampu mengurangi derajat kerusakan hepar yang terjadi akibat stres oksidatif pada kondisi hiperglikemia.
2. Terdapat pengaruh peningkatan dosis ekstrak etanol 70% daun binahong terhadap gambaran histopatologi hepar tikus putih yang diinduksi aloksan. Peningkatan dosis memberikan pola perbaikan yang konsisten, di mana dosis tertinggi (100 mg/kgBB) menunjukkan kerusakan paling rendah dan tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol normal, sehingga dapat dinyatakan sebagai dosis paling efektif dalam penelitian ini.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil dan kesimpulan dari hasil penelitian ini maka saran yang dapat diberikan peneliti adalah sebagai berikut:

1. Penelitian lanjutan disarankan untuk mengombinasikan analisis histopatologi dengan pemeriksaan biomarker biokimia fungsi hepar, seperti AST, ALT, dan ALP, serta penanda stres oksidatif (misalnya MDA dan GSH), sehingga hubungan antara perbaikan struktural hepatosit dan perbaikan fungsi hepar dapat dievaluasi secara lebih komprehensif.
2. Diperlukan analisis fitokimia kuantitatif terhadap ekstrak etanol 70% daun binahong guna menentukan kadar spesifik senyawa aktif, khususnya flavonoid dan senyawa antioksidan utama, sehingga mekanisme hepatoprotektif yang diamati dapat dikaitkan secara lebih jelas dengan komponen bioaktif tertentu.
3. Penelitian selanjutnya dianjurkan menggunakan berbagai model induksi kerusakan hepar atau diabetes, seperti karbon tetraklorida (CCl_4), parasetamol, etanol, atau streptozotocin (STZ), untuk mengevaluasi konsistensi efek hepatoprotektif ekstrak daun binahong pada mekanisme kerusakan yang berbeda, khususnya yang berkaitan dengan stres oksidatif dan gangguan metabolik kronik.
4. Penelitian selanjutnya disarankan untuk mempertimbangkan durasi pemberian ekstrak dan masa observasi yang lebih panjang, misalnya hingga ≥ 4 minggu, mengingat kerusakan histopatologis hepar pada model diabetes melitus induksi aloksan bersifat progresif seiring lamanya hiperglikemia (Lucchesi et al., 2015; Gamde et al., 2023).
5. Penggunaan variasi dosis dengan rentang yang lebih lebar antar kelompok perlakuan pada penelitian selanjutnya disarankan agar perbedaan efek biologis antar dosis dapat terlihat lebih jelas. Uji toksisitas subkronik dan kronik juga perlu dilakukan untuk menentukan batas aman serta efektivitas jangka panjang ekstrak daun binahong sebagai agen hepatoprotektif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar A. R., and Haque M. 2020. Preparation of Medicinal Plants: Basic Extraction and Fractionation Procedures for Experimental Purposes. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7(10), 1–5.
- Afonso M. B., Marques V., Van Mil S. W. C., and Rodrigues C. M. P. 2024. Human Liver Organoids: From Generation to Applications. *Hepatology*, 79(6), 1432–51.
- Ahmi F. 2016. Anatomi dan Histologi Hepar, 1(20), 147–54. [Online Journal] [diunduh 27 Mei 2025]. Tersedia dari: <https://e-journal.unizar.ac.id/index.php/kedokteran/article/view/595>
- Akhtar M. F., Ashraf K. M., Saleem A., Sharif A., Zubair H. M., and Anwar, F. 2022. Antidiabetic Potential and Antioxidant Activity of *Olea europaea* subsp. *cuspidata* (Indian Olive) Seed Extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022.
- Alba T. M., de Pelegrin C. M. G., and Sobottka A. M. 2020. Ethnobotany, Ecology, Pharmacology, and Chemistry of *Anredera cordifolia* (Basellaceae): a review. *Rodriguesia*, 7.
- Ali F. E. M., Abd El-Aziz M. K., Ali M. M., Ghogar O. M., and Bakr A. G. 2023. COVID-19 and Hepatic Injury: Cellular and Molecular Mechanisms in Diverse Liver Cells. *World Journal of Gastroenterology*, 29(3), 425–49.
- Alim N., Hasan T., Rusman R., Jasmiadi J., and Zulfitri Z. 2022. Phytochemical Screening, Relationship of Total Phenolic with Antioxidant Activity of Ethanol and Methanol Extracts of Kesambi (*Schleichera oleosa* (Lour.) Oken) Bark. *Jurnal Ilmiah Sains*, 22(2), 118.
- Alozie E. U., Iheanacho K. M. E., Alisi C. S., Asiwe E. S., and Iweala E. 2023. Comparative Hepatoprotective Activity of *Vernonia Amygdalina* Leaf Solvent Extracts in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 7(7), 3517–23.
- American Chemical Society. 2016. Alloxan: Molecule of the Week. [Internet] [diunduh 3 Juni 2025]. Tersedia dari: <https://www.acs.org/molecule-of-the-week/archive/a/alloxan.html>

- American Diabetes Association. 2019. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2019. *Diabetes Care*, 42(January), S13–S28.
- American Diabetes Association. 2021. Standards of Medical Care in Diabetes—2021 Abridged for Primary Care Providers. *Clinical Diabetes*, 39(1), 14–43.
- American Veterinary Medical Association. 2020. American Veterinary Medical Association Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition.
- Aristyanti N. P. P., Wartini N. M., and Gunam I. B. W. 2017. Rendemen dan Karakteristik Ekstrak Pewarna Bunga Kenikir (*Tagetes erecta* L.) pada Perlakuan Jenis Pelarut dan Lama Ekstraksi. *Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 5(3), 13–23.
- Aslam M. 2022. Quercetin Ameliorated the Alloxan Mediated Hepatic Injury in Diabetic Wistar Rats. *Journal of Clinical Toxicology*, 12(3), 1–8.
- Astitu V. E. R., Muktamiroh H., Harfiani E., and Thadeus M. S. 2023. Gambaran Histopatologi Hepar Mencit yang diinduksi Aloksan: Perubahan setelah Pemberian Ekstrak Biji Hijau Kopi Aceh Gayo. *Seminar Nasional Riset Kedokteran (SENSORIK) 2023*, 90–96.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). 2016. Serial The Power of Obat Asli Indonesia Binahong *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. Badan Pengawas Obat dan Makanan, Direktorat Obat Asli Indonesia.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Indonesia (BPOM). 2017. Farmakope Herbal Indonesia Edisi II. Jakarta: BPOM.
- Bae C. S., Lee Y., and Ahn T. 2023. Therapeutic Treatments for Diabetes Mellitus-Induced Liver Injury by Regulating Oxidative Stress and Inflammation. *Applied Microscopy*, 53(1), 1–11.
- Banday M. Z., Sameer A. S., and Nissar S. 2020. Pathophysiology of Diabetes: an Overview. *Avicenna Journal of Medicine*, 10(04), 174–88.
- Camilla P. S., Nurhidayat, Setijanto H., Supratikno, Nisa C., Agungpriyono S., et al. 2023. Karakteristik Morfologi Hati Ayam Cemani (*Gallus gallus domesticus*). *Jurnal Veteriner Dan Biomedis*, 1(2), 77–83.
- Cao S., Liu M., Han Y., Li S., Zhu X., Li D., et al. 2024. Effects of Saponins on Lipid Metabolism: The Gut-Liver Axis Plays a Key Role. *Nutrients*, 16(10), 1–20.
- Caturano A., D'Angelo M., Mormone A., Russo V., Mollica M. P., Salvatore T., et al. 2023. Oxidative Stress in Type 2 Diabetes: Impacts from Pathogenesis to Lifestyle Modifications. *Current Issues in Molecular Biology*, 45(8), 6651–66.

- Cheng W., Li X., Zhou Y., Yu H., Xie Y., Guo H., et al. 2022. Corrigendum to "Polystyrene Microplastics Induce Hepatotoxicity and Disrupt Lipid Metabolism in The Liver Organoids". *Science of the Total Environment*.
- Christina B. B. H., Fransisca C., Kristin K., Caroline, and Sudiono J. 2015. Peran Monosit (Makrofag) pada Proses Angiogenesis dan Fibrosis. *Seminar Nasional Cendekiawan*, 254–59.
- Cornell S. 2015. Continual Evolution of Type 2 Diabetes: An Update on Pathophysiology and Emerging Treatment Options. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 11, 621–32.
- Dachi V. N. O., Rayyan T. A., Utami P. S., Mutia R., Akbar K., Lumbantobing C. J. E., et al. 2022. Pengaruh Variasi Pemberian Dosis Aloksan Terhadap Angka Kadar Gula Darah Hewan Coba. *Jurnal Prima Medika Sains*, 4(1), 33.
- Dey R. 2023. Diabetes Mellitus: A Comprehensive Review of Pathophysiology, Management, and Emerging Therapeutic Approaches. *Journal of Diabetes Medication and Care*, 6(4), 96–100.
- Digambiro R. A., and Parwanto E. 2019. *Panduan Prosesing dan Pewarnaan Jaringan Dalam Histopatologi*. Klaten: Penerbit Lakeisha.
- Dinas Kesehatan Provinsi Lampung. 2023. *Profil Kesehatan Provinsi Lampung 2023*. Bandar Lampung: Dinas Kesehatan Lampung.
- Djamil R., Winarti W., Zaidan S., and Abdillah S. 2017. Antidiabetic Activity of Flavonoid from Binahong Leaves (*Anredera cordifolia*) Extract in Alloxan Induced Mice. *Journal of Pharmacognosy and Natural Products*, 03(02), 2-5.
- Dwitiyanti D., Harahap Y., Elya B., and Bahtiar A. 2021. Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) Leaf Extract Modulates Fatty Acids and Amino Acids to Lower Blood Glucose in High-Fat Diet-Induced Diabetes Mellitus Rats. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2021.
- Elgadir M. A., Chigurupati S., and Mariod A. A. 2023. Selected Potential Pharmaceutical and Medical Benefits of Phenolic Compounds: Recent advances. *Functional Food Science*, 3(7), 108–28.
- Entezari M., Hashemi D., Taheriazam A., Zabolian A., Mohammadi S., Fakhri F., et al. 2022. AMPK Signaling in Diabetes Mellitus, Insulin Resistance and Diabetic Complications: A Pre-Clinical and Clinical Investigation. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 146, 112563.
- Essawy A. E., Abdel-Wahab W. M., Sadek I. A., and Khamis O. M. 2018. Dual Protective Effect of Ginger and Rosemary Extracts against CCl₄-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(20), 19510–17.

- Federer, W. 1991. *Statistics and Society: Data Collection and Interpretation* (2nd ed.). New York: Marcel Dekker.
- Fortea J. I., Puente Á., Cuadrado A., Huelin P., Pellón R., Sánchez F. J. G., et al. 2020. Congestive Hepatopathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24), 1–24.
- Gamde S. M., Ugwah-Oguejiofor C. J., Garba A., Avwioro G. O., Moronkeji A., and Jimoh, A. A. 2023. Histologic and Biochemical Effect of *Balanite aegyptiaca* Fruit Extract on Alloxan-Induced Diabetes in Wistar Rats. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, 33(3), 441–50.
- Gaol A. Y. D. L., Sijabat M., Saragih J., Prasetya E., Ningsih A., and Sipahutar H. 2024. Histopathology of Liver and Cardiac Muscle of Alloxan-Induced Diabetic Rats (*Rattus norvegicus*) After Administration of Bosibosi (*Timonius flavescens* (Jacq.) Baker) Leaves Ethanol Extract. In *Proceedings of the ICIESC 2023. European Alliance for Innovation*.
- Ghina, Nadya, and Tika. 2017. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa. [Internet] [diunduh 26 Mei 2025]. Tersedia dari: <https://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/ekstraksi-dan-indentifikasi-senyawa/>
- Gileta A. F., Fitzpatrick C. J., Chitre A. S., St. Pierre C. L., Joyce E. V., Maguire R. J., et al. 2022. Genetic Characterization of Outbred Sprague Dawley Rats and Utility for Genome-Wide Association Studies. *PLoS Genetics*, 18(5), 1–29.
- Gopalakrishnan P. P., and Iyer G. C. R. 2025. Synthesis, Characterisation, Biological Activities of Transition Metal Complexes Derived from Alloxan. *Oriental Journal of Chemistry*, 41(1), 264–73.
- Grigoraş A., Giuşcă S. E., Avădănei E. R., Amălinei C., and Căruntu I. D. 2016. Pointing at Ito Cell, from Structure to Function (or Cinderella Story in Liver Histology). *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 57(3), 915–23.
- Hafez M. H., Ez Elarab S. M., Tohamy H. G., and El-Far A. H. 2024. Thymoquinone Attenuates Diabetes-Induced Hepatic Damage in Rat via Regulation of Oxidative/Nitrosative Stress, Apoptosis, and Inflammatory Cascade with Molecular Docking Approach. *Scientific Reports*, 14(1), 1–20.
- Handayani F., Hasneli Y., and Utami G. T. 2022. Pengaruh Rebusan Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Kadar Gula Darah Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Coping: Community of Publishing in Nursing*, 10(6), 671.
- Hardianto D. 2021. Telaah Komprehensif Diabetes Melitus: Klasifikasi, Gejala, Diagnosis, Pencegahan, dan Pengobatan. *Jurnal Bioteknologi and Biosains Indonesia (JBBI)*, 7(2), 304–17.

- Hariyanti L. P. D., Wardhana A. A. N. W., Indriyani N. K. S., and Putri I. A. P. Y. 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera scandens* (L.) Moq.) terhadap Histopatologi Hati Mencit Jantan Galur Balb/C Yang Diinduksi dengan Karbon Tertraklorida. *Jurnal Farmasi Udayana*, 39.
- Hartini S., Khotimah C. K., and Kusumawati N. 2024. Gambaran Faal Hati Pada Penderita Diabetes Melitus Berdasarkan Nilai SGOT dan SGPT. *Journal Health and Science: Gorontalo Journal Health and Science Community*, 8(1), 25–33.
- Heisler E. V., Turra B. O., Bonotto N. C. D. A., da Cruz I. B. M., Montano M. A. E., Azzolin V. F., et al. 2024. The Modulatory Effect of an Ethanolic Extract of *Anredera cordifolia* (Ten.) on the Proliferation and Migration of Hyperglycemic Fibroblasts in an In Vitro Diabetic Wound Model. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2024, 2812290.
- Huang W., Zhong Y., Gao B., Zheng B., and Liu, Y. 2023. Nrf2-Mediated Therapeutic Effects of Dietary Flavones in Different Diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 14(September), 1–18.
- International Diabetes Federation. 2021. IDF Diabetes Atlas, 10th edition. Brussels: International Diabetes Federation. [Internet] [diunduh 28 Mei 2025]. Tersedia dari: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK581940/>
- Kashtoh H., and Baek, K. 2023. New Insights into the Latest Advancement in α - Amylase. *Plants*, 12(2944), 1–28.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2023. Survei Kesehatan Indonesia 2023 (SKI). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kim J. M. 2024. Induction of Diabetes Mellitus Using Alloxan in Sprague-Dawley Rats. *Cureus*, 16(6), 6–13.
- Kostallari E., and Shah, V. H. 2019. Pericyte Biology in Different Organs, 1122, 153–67.
- Kurniasih N., Kusmiyati M., Nurhasnah, Sari, R. P., and Wafdan, R. 2019. Potensi Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn), Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis), dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) sebagai Antioksidan Pencegah Kanker. *Jurnal Istek*, 9(1), 162–84.
- Laksmiawati D. R., Widyastuti A., Karami, N., Afifah, E., Rihibiha, D. D., Nufus, H., and Widowati W. 2017. Anti-inflammatory Effects of *Anredera cordifolia* and *Piper Crocatum* Extracts on Lipopolysaccharide-Stimulated Macrophage Cell Line. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 12(1), 35–40.
- Latuhihin Y. G., Watuguly T., Kakisina, P., and Samsuria I. K. 2020. Potential of Binahong *Anredera cordifolia* [Tenore] Steen) in Reducing TNF- α Expression on Regeneration of Pancreas β Cells on White Rats (*Rattus norvegicus*) Diabetes Mellitus Models. *Journal of Biosciences and Medicines*, 8(6), 37–49.

- Li M., Liu P., Xue Y., Liang Y., Shi J., Han X., et al. 2020. Tannic Acid Attenuates Hepatic Oxidative Stress, Apoptosis and Inflammation by Activating The Keap1-Nrf2/ARE Signaling Pathway in Arsenic Trioxide-Toxicated Rats. *Oncology Reports*, 44(5), 2306–16.
- Liu J., Jia M., Yao L., Wang Q., Wang N., Wang J., et al. 2016. The Hepatoprotective Effects of Baicalein Against CCl₄-Induced Acute Liver Injury in Mice. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 9(12), 23206–13.
- Lucchesi A. N., Cassettari L. L., and Spadella C. T. 2015. Alloxan-Induced Diabetes Causes Morphological and Ultrastructural Changes in Rat Liver That Resemble The Natural History of Chronic Fatty Liver Disease in Humans. *Journal of Diabetes Research*, 2015.
- Luo N., Li J., Wei Y., Lu J., and Dong R. 2021. Hepatic Stellate Cell: A Double-Edged Sword in the Liver. *Physiological Research*, 70(6), 821–29.
- Maharani E. S., Puspitawati R., and Gunawan H. A. 2018. Antibacterial Effect of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Leaf Infusion against Black Pigmented Bacteria. *Journal of Physics: Conference Series*, 1073(3).
- Maldonado-Rengel R., Sócola-Barsallo Z., and Vásquez B. 2024. Alterations of Liver Morphology in Senescent Rats. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(18).
- Manco R., and Itzkovitz S. 2021. Liver Zonation. *Journal of Hepatology*, 74(2), 466–68.
- Marjot T., Webb G. J., Barritt A. S., Moon, A. M., Stamataki Z., Wong V. W., et al. 2021. COVID-19 and Liver Disease: Mechanistic and Clinical Perspectives. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 18(5), 348–64.
- Mescher A. L., and Junquiera L. C. 2016. *Basic Histology: Text and Atlas* (13th ed.). McGraw-Hill Education.
- Miller M. A., and Zachary J. F. 2017. Mechanisms and Morphology of Cellular Injury, Adaptation, and Death. *Pathologic Basis of Veterinary Disease Expert Consult*, (January), 2-43.e19.
- Moreira J. L. D. S., Barbosa S. M. B., and Junior J. G. 2021. Pathophysiology and Molecular Mechanisms of Liver Injury in Severe Forms Of Covid-19: An Integrative Review. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, 1–7.
- Mulaudzi R. B., Ndhala A. R., and Van Staden, J. 2015. Ethnopharmacological Evaluation of a Traditional Herbal Remedy Used to Treat Gonorrhoea in Limpopo Province, South Africa. *South African Journal of Botany*, 97, 117–22.

- Murwani R., Kusumanti E., and Naumova E. N. 2022. Areca catechu L. and *Anredera cordifolia* (Ten) Steenis Supplementation Reduces Faecal Parasites and Improves Caecal Histopathology in Laying Hens. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 10(1), 52–63.
- Nahor E. M., Rumagit B. I., and Tou H. Y. 2020. Perbandingan Rendemen Ekstrak Etanol Daun Andong (*Cordyline fruticosa* L.) menggunakan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokhletasi. *Seminar Nasional Tahun 2020*, 40–44.
- Nardo A. D., Schneeweiss-Gleixner M., Bakail M., Dixon E. D., Lax S. F., and Trauner, M. 2021. Pathophysiological Mechanisms of Liver Injury in COVID-19. *Liver International*, 41(1), 20–32.
- Osman A. S., Osman A. H., and Kamel M. M. 2017. Study of the Protective Effect of Ischemic and Pharmacological Preconditioning on Hepatic Ischemic Reperfusion Injury Induced in Rats. *JGH Open*, 1(3), 105–11.
- Otto G. M., Franklin C. L., and Clifford C. B. 2015. Chapter 4 - Biology and Diseases of Rats. *Laboratory Animal Medicine: Third Edition*.
- Pandey S., Chmelir T., and Dvorakova M. C. 2023. Animal Models in Diabetic Research—History, Presence, and Future Perspectives. *Biomedicines*, 11(10), 1–22.
- Pangestika H., Ekawati D., and Murni N. S. 2022. Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Diabetes Mellitus Tipe 2. *Jurnal 'Aisyiyah Medika*, 7(1).
- Papatheodorou K., Banach M., Bekiari E., Rizzo M., and Edmonds M. 2018. Complications of Diabetes 2017. *Journal of Diabetes Research*, 10–13.
- Paquita M. D., Anggitasari W., and Susanti D. 2024. Test of Anti-Inflammatory Activity of 70% Ethanol Extract of Binahong Leaves (*Anredera cordifolia*) in Male White Rats (*Rattus norvegicus*) Induced with Carrageenan. *Indonesian Pharmacopeia Journal*, 1(2), 12–19.
- Paulsen F., and Waschke J. 2018. *Sobotta Atlas of Human Anatomy, Volume 2: Internal Organs* (16th ed.). Munich: Elsevier.
- PERKENI. 2021. Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia 2021. Jakarta: PB PERKENI. [Internet] [diunduh 29 Mei 2025]. Tersedia dari: <https://pbperkeni.or.id/>.
- Pitaloka D. A. E., and Sukandar E. Y. 2018. Synergistic Study on N-Hexane Extract Of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis (Binahong) Leaves Combined with Antituberculosis Drugs Against Drug-Sensitive and Drug-Resistant of Mycobacterium Tuberculosis. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(5), 134–38.

- Plaskova A., and Mlcek J. 2023. New Insights of the Application of Water or Ethanol-Water Plant Extract Rich in Active Compounds in Food. *Frontiers in Nutrition*, 10(March).
- Pradana I. G. P. Y., Yuliani E., and Sujiah. 2023. Pengaruh Pemberian Rebusan Daun Kelor Terhadap Penurunan Kadar Gula dalam Darah pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe II di Wilayah Kerja Puskesmas Rumbia Kecamatan Rumbia Kabupaten Lampung Tengah Tahun 2023. *Nusantara Journal of Multidisciplinary Science*, 1(2), 289–98.
- Pratiwi D. M. N., Yuliani, S. H., and Samirana P. O. 2025. Studies on Anti-Inflammatory Activity and Wound-Healing Property of Secondary Metabolite of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Leaves: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 15(2), 45–56.
- Pratiwi E. C., Trinovita E., and Toemon A. I. 2022. Literature Review: Hubungan Model Hewan Coba (Faktor Jenis Kelamin dan Hormon) pada Sensitivitas Induksi Streptozotocin sebagai Agen Diabetogenik. *Jurnal Surya Medika*, 7(2), 132–41.
- Rahmi S. F. 2021. Literature Review Efek Ekstrak Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Diabetes Melitus. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Ravif F. 2016. Gambaran Histologi Organ Hepar, Pankreas, dan Ginjal Tikus Jantan Strain Sprague Dawley dengan Teknik Perfusi PBS. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Ravikumar V., Ahmed A., and Anjankar A. 2023. A Review on Latent Autoimmune Diabetes in Adults. *Cureus*, 15(10).
- Rebecca, Hendrawan S., and Ferdinal F. 2022. Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis): Analisis Sidik Jari, Uji Fitokimia, Kapasitas Total Antioksidan, Uji Toksisitas dan Kadar Metabolit Sekunder Seminar Nasional XXV Perhimpunan Biokimia dan Biologi Molekuler Indonesia, 1–11.
- Reddi K. K., Li H., Li W., and Tetali S. D. 2021. Berberine, a Phytoalkaloid, Inhibits Inflammatory Response Induced by Lps Through Nf-Kappa β Pathway: Possible Involvement of the Ikk α . *Molecules*, 26(16).
- Rissa M. M., and Handayani Y. O. 2022. Comparison of the Effectiveness of Ethanol Extract and Infusion of Leaf of Binahong (*Anredera cordifolia* Steen) as Antidiabetes In Male Rats Alloxan Induced. *Asian Journal of Health and Science*, 1(2), 50–55.

- Rodimova S., Bobrov N., Mozherov A., Elagin V., Karabut M., Ermakova P., et al. 2023. The Effect of Diabetes Mellitus Type 1 on the Energy Metabolism of Hepatocytes: Multiphoton Microscopy and Fluorescence Lifetime Imaging. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(23).
- Rollando R., Afthoni M. H., Cesa F. Y., Monica E., and Wibawanty N. A. 2022. Efektivitas dari Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) sebagai Kandidat Antidiabetes pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar. *Jurnal Wiyata: Penelitian Sains Dan Kesehatan*, 9(1), 71.
- Rosida A. 2016. Hepatomegaly. *Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati*, 12(1), 123–31.
- Rosidah I., Ningsih S., Renggani T. N., Efendi J., and Agustini K. 2020. Profil Hematologi Tikus (*Rattus norvegicus*) Galur Sprague-Dawley Jantan Umur 7 dan 10 Minggu. *Jurnal Bioteknologi and Biosains Indonesia (JBBI)*, 7(1), 136–45.
- Russomanno G., Sison-Young R., Livoti L. A., Coghlan H., Jenkins R. E., Kunnen S. J., et al. 2023. A Systems Approach Reveals Species Differences in Hepatic Stress Response Capacity. *Toxicological Sciences*, 196(1), 112–25.
- Saadati F., Chahardehi A. M., Jamshidi N., Jamshidi N., and Ghasemi D. 2024. Coumarin: A Natural Solution for Alleviating Inflammatory Disorders. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*, 7(April), 100202.
- Saeedi P., Petersohn I., Salpea P., Malanda B., Karuranga S., Unwin N., et al. 2019. Global and Regional Diabetes Prevalence Estimates For 2019 and Projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 157, 107843.
- Safithri F. 2018. Mekanisme Regenerasi Hati secara Endogen pada Fibrosis Hati. *Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang*.
- Salim A., Kristanto D. F., Subianto F., Sundah J. E., Jamaica P. A., Angelika T., and Maulida N. F. 2021. Phytochemical Screening and Therapeutic Effects of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Leaves. *Indonesian Journal of Life Sciences*, 3(2), 43–55.
- Salm S., Rutz J., Akker M. V. D., Blaheta R. A., and Bachmeier B. E. 2023. Current State of Research on the Clinical Benefits of Herbal Medicines for Non-Life-Threatening Ailments. *Frontiers in Pharmacology*, 14(September), 1–21.
- Samsuri D. A., Samsuri, and Kendran A. A. S. 2020. Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang diberikan Ragi Tape. *Indonesia Medicus Veterinus*, 9(4), 531–39.
- Sherwood L. 2016. *Human Physiology: From Cells to Systems* (9th ed.). Boston: Cengage Learning.

- Sidhartha E., Yang J. J., Dimara R. S. N., Rahmawati F., and Purba S. W. D. 2024. Phytochemical Screening, Antioxidant and Antifungal Activity Test of Binahong Leaf Extract (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *European Journal of Advanced Chemistry Research*, 5(1), 1–8.
- Silalahi M. 2024. Utilization and Bioactivity of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 26(2), 128–34.
- Simangunsong E. M. V., Febriani Y., Saputri M., Arisa D., and Afifah Z. G. 2023. Effectiveness of Butterfly Pea Ethanol Extract on Decreasing Blood Glucose Levels of Male Mice. *Jambura Journal of Health Science and Research*, 5(2).
- Skyler J. S., Bakris G. L., Bonifacio E., Darsow T., Eckel R. H., Groop L., et al. 2017. Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes*, 66(2), 241–55.
- Sudirman, and Skripsa, T. H. 2020. Pemanfaatan Pelayanan Pengobatan Tradisional (Batra) sebagai Role Model Back to Nature Medicine di Masa Datang. *ARSY: Jurnal Aplikasi Riset Kepada Masyarakat*, 1(1), 45–50.
- Sulfianti A., Firdausi N., Nurhadi N., Ngatinem N., Agustini K., and Ningsih S. 2023. Antidiabetic Activity of *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis Extracts with Different Ethanol Percentages: an Evaluation Based on In Vitro, In Vivo, and Molecular Studies. *Pharmacia*, 70(1), 39–47.
- Surani. 2024. Pengaruh Penggunaan Video Tutorial Merangkai Alat Praktikum Terhadap Pemahaman dan Pengetahuan Mahasiswa pada Praktikum Isolasi dan Sintesis Senyawa Organik. *Indonesian Journal of Laboratory*, 1(3), 205.
- Sutrisno E., Adnyana I. K., Sukandar E. Y., Fidrianny I., and Aligita W. 2016. Anti-inflammatory Study of *Anredera cordifolia* Leaves and *Centella asiatica* Herbs and its Combinations Using Human Red Blood Cell-Membrane Stabilization Method. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(5), 78–80.
- Tana S., Mujiono D. S., and Suprihatin T. 2024. Histopatologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Streptozotocin setelah Pemberian Serbuk Rimpang Kunyit (*Curcuma longa*). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 9(2), 175–85.
- Tandi J., Ondja D., Putri W. A., Maryani, Handayani T. W., Susanto Y., et al. 2023. Hepatoprotective Activity of Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) Leaf Extract in Diabetes Mellitus Rats. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal Homepage*, 5(2), 215–20.
- Trefts E., Gannon M., and Wasserman D. H. 2017. The Liver. *Current Biology*, 27(21), 1–10.

- Vdovíaková K., Petrovová E., Krešáková L., Maloveská M., Teleky J., Jenčová J., et al. 2016. Importance Rat Liver Morphology and Vasculature in Surgical Research. *Medical Science Monitor*, 22, 4716–28.
- Wahyuningsih S., Yunita I., Sundari U. Y., Pagalla D. B., Kalinggi S. Y., Alpian, et al. 2024. *Buku Ekstraksi Bahan Alam (Edisi 2024)*. CV. Gita Lentera Redaksi.
- Wati D. P., Ilyas S., and Yurnadi. 2024. *Prinsip Dasar Tikus sebagai Model Penelitian*. USU Press, 1(1), 6–10.
- Weber B., Lackner I., Haffner-Luntzer M., Palmer A., Pressmar J., Scharffetter-Kochanek K., et al. 2019. Modeling Trauma in Rats: Similarities to Humans and Potential Pitfalls to Consider. *Journal of Translational Medicine*, 17(1), 1–19.
- Wijayanti D., Kurnianto E., and Setiatin E. T. 2019. Toxicity Effect by Binahong (*Anredera cordifolia*) Leaf Extract in Histopathology and Liver Weight of Guinea Pigs (*Cavia cobaya*). *Buletin Peternakan*, 43(2), 103–8.
- Wulandari A., Maila N. F. R., and Dewi N. P. 2021. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Jarak Merah Kadar Glukosa Tikus Putih Jantan diinduksi Streptozotocin. *Farmakologika Jurnal Farmasi*, 18(2), 108–16.
- Wulandari N. L. W. E., Udayani N. N. W., Dewi N. L. K. A. A., Triansyah G. A. P., Dewi N. P. E. M. K., Widiastriani I. A. P., et al. 2024. Artikel Review: Pengaruh Pemberian Induksi Aloksan terhadap Gula Darah Tikus. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education (e-Journal)*, 4(3), 2775–3670.
- Xu Z., Kang Q., Yu Z., Tian L., Zhang J., and Wang T. 2021. Research on the Species Difference of the Hepatotoxicity of Medicine Based on Transcriptome. *Frontiers in Pharmacology*, 12(April), 1–11.
- Yu C. H. J., and Rupasinghe H. P. V. 2025. Elucidating the Mechanistic Interplay of AMPK and Nrf2 in MASLD: A Focus on Dietary Phytochemical Modulation of Lipid and Redox Homeostasis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 777(June), 152300.
- Zhang Q. W., Lin L. G., and Ye W. C. 2018. Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26.
- Zhong Y., Ni D., Yang Y., Li Y., Wang L., Tian J., et al. 2024. Inhibitory Effect and Mechanism of Tannic Acid against Two Starch Digestive Enzymes. *Food Quality and Safety*, 8(November 2023), 1–9.