

**PENGARUH VARIASI LAMA PEREBUSAN DAN KADAR ASAM KLOOROGENAT
DAUN YAKON TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH
RATTUS NORVEGICUS**

**THE EFFECT OF VARIATION BOILING TIME AND CHLOROGENIC
ACID LEVELS OF YACON LEAVES TOWARDS DECREASE
BLOOD GLUCOSE LEVELS OF RATTUS
NORVEGICUS**

Alfian Fajar Fahrobi* dan Leny Yuanita

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya, Jl. Ketintang, Surabaya, 60231

*Email: alfianfajar9999@gmail.com

Abstrak. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh variasi lama perebusan dan kadar asam klorogenat daun yacon terhadap kadar glukosa darah *Rattus norvegicus*. Desain penelitian yang digunakan adalah *only posttest factorial design*. Analisis data menggunakan ANAVA dua arah. Variasi lama perebusan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0 menit, 5 menit, 10 menit, dan 15 menit. Variasi kadar asam klorogenat daun yacon sebesar 1 mM, 2,5 mM, dan 4 mM. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin banyak daun yacon yang direbus maka semakin besar kadar asam klorogenat yang terlarut dalam air. Pada lama perebusan yang berbeda, perebusan akan melarutkan asam klorogenat lebih banyak, akan tetapi semakin lama waktu yang digunakan dalam perebusan, rata-rata penurunan kadar glukosa darah semakin menurun yang dikarenakan terdekomposisinya asam klorogenat. Berdasarkan hasil uji ANAVA dua arah ($\alpha = 0,05$), terdapat perbedaan yang signifikan antar variasi lama perebusan dan antar variasi kadar asam klorogenat, serta terdapat interaksi antara variasi lama perebusan dengan kadar asam klorogenat dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Kata Kunci: lama perebusan, kadar asam klorogenat, daun yacon.

Abstract. The main of this research is to know the effect of variation boiling time and chlorogenic acid levels of yacon leaves towards decrease blood glucose levels of *rattus norvegicus*. Research design was used *only posttest factorial design*. Data analysis used in this research was two way ANAVA. Variation of boiling time in this research was 0 minute, 5 minute, 10 minute, and 15 minute. Variation of chlorogenic acid levels of yacon leaves was 1 mM 2,5 mM, and 4 mM. The results showed that the more yacon leaves are boiled, the greater levels of chlorogenic acid are dissolved in water. On a different boiling time, boiling will dissolve more chlorogenic acid, but the longer it is used in boiling, the average of reduction in blood glucose levels decrease because chlorogenic acid decomposes. Based on the results of the two way ANAVA ($\alpha = 0,05$), there are significant differences between boiling time variation and between variation of chlorogenic acid levels, and there is interaction between boiling time and chlorogenic acid levels to decrease blood glucose levels.

Keywords: boiling time, chlorogenic acid levels, yacon leaves.

PENDAHULUAN

Pada zaman modern saat ini, masalah kesehatan menjadi suatu hal yang sangat penting. Perkembangan teknologi yang sangat pesat membuat semua serba instan dan praktis. Hal inilah yang menjadi alasan supaya tetap menjalankan pola makan yang sehat. Semua yang instan dan praktis terkadang menyebabkan masyarakat hanya melihat makanan yang dikonsumsi dari penampakan dan cita rasa yang

menarik tanpa melihat komposisi gizi. Mengonsumsi makanan yang mengandung banyak karbohidrat dapat memicu naiknya kadar glukosa dalam darah yang menyebabkan terjadinya hiperglikemia.

Hiperglikemia adalah suatu kondisi dimana kadar glukosa dalam plasma darah melebihi batas normal yaitu lebih dari 140 mg/dl. Hiperglikemia dapat menjadi faktor predisposisi diabetes dan juga dapat mempengaruhi nilai

biokimia darah lainnya, seperti kadar kolesterol dan lipoprotein darah [1]. Hiperglikemia kronis dapat menimbulkan kerusakan, gangguan fungsi pada beberapa organ tubuh, khususnya mata, saraf, ginjal, dan komplikasi lain akibat gangguan mikro dan makrovaskular [2]. Melihat adanya dampak yang serius, maka hiperglikemia harus segera diatasi. Tindakan yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah hiperglikemia adalah dengan mengetahui faktor penyebab terjadinya hiperglikemia.

Hiperglikemia terjadi karena defisiensi insulin secara absolut atau relatif. Defisiensi insulin akan menyebabkan gangguan proses biokimia dalam tubuh yaitu menurunnya pemasukan glukosa ke dalam sel dan peningkatan pelepasan glukosa dari hati ke dalam sistem sirkulasi [3]. Mengatasi hiperglikemia dapat dilakukan dengan menghambat peningkatan pelepasan glukosa dari hati ke dalam sistem sirkulasi. Kemampuan dalam menghambat pelepasan glukosa dari hati dimiliki oleh suatu zat yang terkandung dalam daun yakon yang mempunyai nama latin *Smallanthus sonchifolius*. Daun yakon mengandung asam klorogenat [4]. Kandungan asam klorogenat ini dapat menghambat hidrolisis glukosa-6-fosfat yang merupakan enzim pengkatalis glukoneogenesis dan glikogenolisis sehingga dapat mengurangi pelepasan glukosa dari hati [5, 6]. Ketika glukoneogenesis dan glikogenolisis terhambat maka pembentukan glukosa juga terhambat, sehingga menurunkan kadar glukosa yang dilepaskan dari hati. Optimalitas asam klorogenat yang terkandung di dalam daun yakon dapat dipengaruhi oleh beberapa hal yaitu kadar dan lama perebusan.

Lama perebusan menentukan unsur-unsur zat aktif yang akan terlarut dalam air pada saat air dididihkan [7]. Konsentrasi unsur zat aktif yang terlarut mempengaruhi efektivitas tanaman yang berfungsi sebagai preventif hiperglikemia. Lama perebusan dapat melarutkan asam klorogenat yang terkandung dalam kopi dari 7,60% menjadi 0,80% [8]. Pemberian perlakuan lama perebusan dapat melarutkan kadar asam klorogenat yang terkandung dalam kentang sebesar 43,79% [9]. Data empiris hasil penelitian beberapa ahli menunjukkan pengaruh penggunaan daun yakon dalam menurunkan kadar glukosa

darah tikus. Kadar glukosa darah menurun secara signifikan pada kelompok terapi dengan kadar daun yakon 300 mg/kgbb sebesar 29,0% [10]. Perbedaan kadar daun yakon dapat diartikan memiliki kadar asam klorogenat yang berbeda, sehingga efek penurunan kadar glukosa darah juga berbeda. Kandungan asam klorogenat pada daun yakon sebesar $9,9 \pm 1,7$ mg/g [4]. Asam klorogenat dengan kadar 1 mM dapat menghambat glukosa-6-fosfatase sebesar 40-50% [11]. Hal ini membuktikan bahwa lama perebusan dan kadar asam klorogenat mempengaruhi optimalitas penurunan kadar glukosa darah.

Berdasarkan permasalahan yang telah dipaparkan di atas dan dukungan ilmiah tentang penggunaan daun yakon, maka peneliti berharap hiperglikemia dapat diatasi dengan mengetahui perbedaan pengaruh variasi lama perebusan dengan kadar asam klorogenat daun yakon dalam menurunkan kadar glukosa darah.

METODE

Jenis penelitian yang digunakan adalah *true experiment* dengan desain penelitian menggunakan rancangan *only posttest factorial design*. Variasi faktor lama perebusan daun yakon yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan perebusan selama 0 menit, 5 menit, 10 menit, dan 15 menit. Variasi faktor kadar asam klorogenat yang diberikan adalah 1 mM, 2,5 mM, dan 4 mM. Jumlah kelompok dalam penelitian ini adalah 13 kelompok, yaitu 1 kelompok kontrol dan 12 kelompok perlakuan dengan pemberian larutan daun yakon yang direbus dengan waktu dan kadar yang berbeda-beda.

Alat Penelitian:

Alat-alat yang disiapkan untuk penelitian ini antara lain adalah kandang tikus, neraca analitik, jarum sonde, kertas label, kamera, *cutter*, *tissue*, botol minum tikus, "On-Call Plus" *Blood Glucose Monitoring System*, "On-Call Plus" *Blood Glucose Stick*.

Bahan Penelitian:

Bahan utama untuk penelitian ini adalah daun yakon (*Smallanthus sonchifolius*). Bahan kimia untuk induksi kondisi diabetes mellitus pada tikus adalah glukosa 50%, alkohol 70%, dan aquades.

Prosedur Penelitian

Pemberian Glukosa

Pada hari ke-8 setelah diadaptasi, tikus pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 1 sampai 12 mendapat pembebanan glukosa dengan pemberian glukosa 50%, 5 ml/kgbb selama 7 hari. Kemudian dilakukan pengujian kadar glukosa darah tikus.

Pemberian Larutan Daun Yakon

Pemberian larutan daun yakon pada kelompok perlakuan 1 sampai 12 dilakukan selama 14 hari. Pembuatan larutan dimulai dengan menentukan banyaknya daun yakon yang diperlukan agar diperoleh kadar asam klorogenat 1 mM, 2,5 mM, dan 4 mM. Hal ini berdasarkan data bahwa kandungan asam klorogenat pada daun yakon sebesar $9,9 \pm 1,7$ mg/g [4]. Sebanyak 35,76 mg; 89,49; dan 143,13 mg daun yakon direbus per mili air untuk per ekor tikus. Jumlah tikus setiap perlakuan adalah 11 ekor, sehingga dibutuhkan 11 ml. Untuk menghindari agar tidak terjadi kekurangan, maka peneliti membuat 20 ml larutan untuk setiap perlakuan. Untuk membuat 20 ml larutan, maka dibutuhkan 715,2 mg; 1789,8 mg; dan 2862,6 mg daun yakon yang kemudian direbus dengan lama perebusan yang telah ditentukan. Hasil perebusan disaring dan didiamkan pada suhu ruang. Setelah pembuatan larutan daun yakon, maka tahap selanjutnya adalah pemberian larutan daun yakon pada kelompok perlakuan 1 sampai 12 sesuai yang telah ditetapkan.

Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Pengambilan darah tikus yaitu dengan menyiapkan darah yang diambil pada ekor tikus. Pengukuran kadar glukosa darah tikus dilakukan setelah pembebanan glukosa dan setelah perlakuan pemberian larutan daun yakon. Sebelum pengambilan darah, tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 8 jam. Kemudian, bagian ekor disterilkan dengan alkohol 70% kemudian dipotong kira-kira 5 mm dari ujung menggunakan *cutter* yang dibersihkan dengan alkohol. Setelah darah keluar, ditetaskan dalam *glucometer stick* ± 1 μ l dan didiamkan selama 10 detik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran kadar glukosa darah diambil sampel secara acak sebanyak lima ekor tikus pada masing-masing kelompok kemudian

diambil nilai rata-rata penurunan kadar glukosa darah yang terjadi dan ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1 Rata-Rata Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus pada Kelompok Perlakuan (mg/dl)

Lama Perebusan (menit)	Kadar Asam klorogenat (mM)			Nilai Sig.
	1	2,5	4	
0	$10 \pm 0,6^a$	$12 \pm 0,4^a$	$13 \pm 0,8^a$	0.000
5	$13 \pm 0,2^a$	$19 \pm 0,4^a$	$24 \pm 0,6^a$	
10	$11 \pm 0,2^a$	$14 \pm 0,4^a$	$16 \pm 0,2^a$	
15	$6 \pm 0,6^a$	$8 \pm 0,6^a$	$9 \pm 0,8^a$	
Nilai Sig.	0.000			0.000

Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat bahwa rata-rata penurunan kadar glukosa darah untuk setiap kelompok perlakuan berbeda. Pada tingkat lama perebusan yang sama, rata-rata penurunan kadar glukosa darah dari kadar 1 mM hingga kadar 4 mM semuanya mengalami kenaikan. Pada tingkat lama perebusan yang berbeda, rata-rata penurunan kadar glukosa darah tidak menentu. Lama perebusan 5 menit mengalami rata-rata penurunan kadar glukosa darah yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan lama perebusan 0 menit. Rata-rata penurunan kadar glukosa darah kemudian semakin menurun dari lama perebusan 10 menit hingga lama perebusan 15 menit. Perbedaan rata-rata penurunan kadar glukosa darah tikus hiperglikemia pada kelompok perlakuan dengan kadar asam klorogenat berbeda namun lama perebusan sama, dikarenakan kadar asam klorogenat yang berhasil terlarut berbeda-beda. Kandungan asam klorogenat dalam daun yakon ini dapat menurunkan kadar glukosa darah dikarenakan asam klorogenat dapat menghambat enzim glukosa 6-fosfatase.

Enzim glukosa 6-fosfatase adalah salah satu enzim yang berperan dalam 4 reaksi pengendali pada reaksi glukoneogenesis. Enzim glukosa 6-fosfatase juga berperan dalam reaksi glikogenolisis. Pada reaksi glukoneogenesis dan glikogenolisis, enzim glukosa 6-fosfatase berperan dalam mengubah glukosa 6-fosfat menjadi glukosa bebas yang kemudian diangkut dari hati ke dalam darah. Ketika kandungan asam klorogenat dapat menghambat enzim glukosa 6-fosfatase, maka reaksi glukoneogenesis dan glikogenolisis yang terjadi dalam tubuh juga akan terhambat. Terhambatnya reaksi glukoneogenesis

dan glikogenolisis akan menghambat pengeluaran glukosa dari hati ke dalam darah, sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah.

Pada keadaan lama perebusan yang sama, semakin banyak daun yakon yang direbus maka semakin sedikit kemungkinan asam klorogenat yang tertinggal dalam daun yakon dengan arti semakin besar kadar asam klorogenat yang berhasil terlarut ke dalam air. Perbedaan kadar asam klorogenat inilah yang mempengaruhi terjadinya perbedaan rata-rata penurunan kadar glukosa darah tikus hiperglikemia. Semakin besar kadar asam klorogenat yang berhasil terlarut maka semakin besar pula kemampuan dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus hiperglikemia. Hal ini dikarenakan kadar asam klorogenat yang berbeda akan mempengaruhi optimalitas asam klorogenat dalam menghambat glukosa 6-fosfatase.

Perbedaan waktu perebusan daun juga mempengaruhi optimalitas asam klorogenat dalam menghambat enzim glukosa 6-fosfatase. Semakin lama waktu perebusan maka semakin banyak asam klorogenat yang berhasil terlarut, sehingga semakin optimal dalam menghambat glukosa 6-fosfatase dan menurunkan kadar glukosa darah. Akan tetapi, hal ini hanya terlihat pada lama perebusan 0 menit dengan lama perebusan 5 menit. Rata-rata penurunan kadar glukosa darah pada lama perebusan 5 menit lebih tinggi dibandingkan dengan lama perebusan 0 menit karena asam klorogenat lebih banyak yang terlarut ketika dipanaskan. Rata-rata penurunan kadar glukosa darah kemudian semakin menurun setelah lama perebusan 5 menit, yaitu pada lama perebusan 10 menit dan 15 menit. Penurunan ini kemungkinan dikarenakan pada perebusan dengan waktu yang cukup lama dapat menyebabkan asam klorogenat terdekomposisi, sehingga mempengaruhi keoptimalannya dalam menghambat enzim glukosa 6-fosfatase. Hal ini didukung penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa asam klorogenat dapat terdekomposisi menjadi *quinic acid* dan *caffeic acid* [12]. Hasil penelitian lainnya juga menyatakan hal yang sama bahwa penurunan kadar asam klorogenat yang terekstrak disebabkan karena pemanasan yang berlangsung lama akan menyebabkan senyawa-senyawa polifenol khususnya asam klorogenat terdekomposisi [13].

Untuk menguji lebih lanjut apakah penurunan kadar glukosa darah tikus hiperglikemia pada berbagai variasi lama perebusan dan kadar asam klorogenat dalam daun yakon itu signifikan, maka perlu dilakukan uji secara statistik. Teknik statistika yang digunakan adalah anava dua arah menggunakan SPSS. Berdasarkan hasil uji menunjukkan pada variasi lama perebusan nilai sig < 0.05 sehingga H_0 ditolak yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara variasi lama perebusan. Pada kadar asam klorogenat juga didapatkan hasil nilai sig < 0.05 sehingga H_0 ditolak yang artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara variasi kadar asam klorogenat. Pada keterkaitan antara variasi lama perebusan dengan kadar asam klorogenat didapatkan hasil sig < 0.05 sehingga H_0 ditolak yang artinya terdapat interaksi antara variasi lama perebusan dengan kadar asam klorogenat dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus hiperglikemia.

PENUTUP

Simpulan

Pada lama perebusan yang sama, semakin banyak daun yakon yang direbus semakin banyak kadar asam klorogenat yang terlarut dalam air. Pada lama perebusan yang berbeda, perebusan akan melarutkan asam klorogenat lebih banyak, akan tetapi semakin lama waktu yang digunakan dalam perebusan, rata-rata penurunan kadar glukosa darah semakin menurun yang dikarenakan terdekomposisinya asam klorogenat.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, yang dapat disarankan peneliti sebagai masukan adalah:

1. Pada setiap variasi pemberian larutan daun yakon sebaiknya kandungan *chlorogenic acid* tidak hanya dihitung secara teori saja akan tetapi dibuktikan lebih lanjut secara kimia.
2. Pada penelitian selanjutnya sebaiknya memeriksa lebih lanjut sampai ke histopatologi jaringan pada kelompok hewan kontrol maupun kelompok hewan perlakuan.

DAFTAR PUSTAKA

1. El-Soud, dkk. 2007. "Antidiabetic Effects of Fenugreek Alkaloid Extract in Streptozotocin Induced Hyperglycemic Rats". *J. of App Sci Research*, 3(10): 1073-1083.

2. Sudoyo, AW., Setyohadi B., Alwi I., dan Setiati S. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV. Jilid III*. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.
3. Willard, MD., Tvedten, H., dan Turnwald, GH. 1994. *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. ED ke-2. W. B. London: Saunders.
4. Valentová & Ulrichová. 2003. "Smallanthus Sonchifolius and Lepidium Meyenii-Prospective Andean Crops for the Prevention of Chronic Diseases." *Biomed. Papers*. 147(2),119–130.
5. Dam & Feskens. 2002. "Coffee Consumption and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus." *The Lancet*. Vol 360.
6. Ong, Hsu, A., dan Tan B. 2013. "Anti Diabetic and Anti Lipidemic Effect of Chlorogenic Acid are Mediated by AMPK Activation." *Biochemical Pharmacology*. Vol. 85 (9): 1341-1351.
7. Dalimartha, S. dan Adrian. 2013. *Ramuan Herbal Tumpas penyakit*. Jakarta: Penebar Swadaya.
8. Mulato, S. 2001. *Pelarutan Kafein Biji Robusta dengan Kolom Tetap menggunakan Pelarut Air*. Jakarta: Pelita Perkebunan.
9. Sari, Yuce. 2013. "Analisis Asam Klorogenat dalam Kentang (*Solanum tuberosum L.*)". *Skripsi*. Bandung: ITB.
10. Ardanareswari, Laras. 2014. "Pengaruh Ekstrak Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolia*) terhadap Berat Badan, Glukosa Darah, serta Kadar Kolesterol Tikus Diabetes Strain Sprague Dawley yang Diinduksi dengan Aloksan." *Skripsi*. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
11. Hemmerle, dkk. 1997. "Chlorogenic Acid and Synthetic Chlorogenic Acid Derivatives: Novel Inhibitors of Hepatic Glucose-6-phosphate Translocase." *Journal of Medicinal Chemistry*. Vol. 40 Number 2.
12. Rakshit, dkk. 2010. "Involvement of ROS in Chlorogenic Acid-Induced Apoptosis of Bcr-Abl⁺ CML Cells". *Journal of Biochemical Pharmacology*. Vol. 80.
13. Anggraini, Silvia, dan Kurniawan, Fredy. 2015. "Pengaruh Waktu Infusi pada Kadar Asam Klorogenat dalam Sampel Teh Hitam dan Teh Hijau". *Jurnal Sains dan Seni*. Vol. 4, No. 2.