

MAKALAH PENDAMPING : PARALEL C



SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA IV
"Peran Riset dan Pembelajaran Kimia dalam Peningkatan Kompetensi
Profesional"
Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS
Surakarta, 31 Maret 2012



AKTIVITAS HIPOGLIKEMIK MINUMAN STEVIA YANG DIFERMENTASI DENGAN STARTER MADU

Yohanes Martono¹, Hartati Soetjipto¹, dan Hanna Arini Parhusip²

¹⁾ Dosen di Prodi Kimia Universitas Kristen Satya Wacana Salatiga

²⁾ Dosen di Prodi Matematika Universitas Kristen Satya Wacana

Jalan Diponegoro 52-60 Salatiga 50733
yohanes_mart@yahoo.co.id

ABSTRAK

Penelitian optimalisasi proses produksi minuman stevia secara fermentasi dengan starter madu sebagai minuman antidiabetes telah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktifitas hipoglikemia sirup stevia yang difermentasi menggunakan starter madu secara *in vivo*. Pada awal penelitian dilakukan optimasi larutan starter madu dan kadar steviosida untuk menentukan minuman stevia optimal yang akan digunakan dalam uji *in vivo*. Data kuantitatif kadar glukosa darah dibuat kurva hubungan antara glukosa darah per satuan waktu pengamatan. Dari kurva tersebut, dihitung *Area Under Curve*₋₄₅₋₁₈₀ (AUC) menggunakan program Graph 4.3 untuk menentukan prosentase penurunan kadar glukosa darah (% PKGD) setiap perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil uji aktivitas hipoglikemik secara *in vivo* minuman stevia menunjukkan bahwa konsentrasi minuman stevia 12,5% dan 20% memiliki (% PKGD) lebih besar daripada sirup rendah kalori, masing-masing $14,86 \pm 19,27$ dan $55,36 \pm 83,76$. Sedangkan minuman stevia 5% memiliki (% PKGD) yang hampir sama dengan sirup rendah kalori, yaitu sebesar $5,49 \pm 5,49$.

Kata Kunci: stevia, hipoglikemik, madu, fermentasi

PENDAHULUAN

Saat ini, kebutuhan manusia akan bahan pemanis semakin meningkat seiring dengan peningkatan produksi pangan di dunia. Gula merupakan salah satu pemanis alami yang sering digunakan masyarakat umum. Disamping manfaatnya sebagai pemanis, ternyata gula menimbulkan berbagai masalah baru bagi orang-orang tertentu, terutama mereka yang kelebihan kalori, kegemukan, menyebabkan kerusakan pada gigi, dan sangat berbahaya bagi penderita diabetes. Keadaan ini memicu para ahli untuk menemukan pengganti rasa manis setara dengan gula dan tidak berkalori, sehingga aman untuk dikonsumsi.

Stevia rebaudiana (Bert.) merupakan tanaman yang mengandung beberapa senyawa pemanis seperti steviosida, rebaudiosida A, B, C, D, E dan dulkosida A dan B. Beberapa penelitian telah menyebutkan bahwa steviosida mengandung kalori yang rendah sampai dengan nol kalori (Moraes dan Machado, 2001) dengan tingkat kemanisan 200-300 kali sukrosa (Philips, 1987). Selain itu, steviosida tidak memiliki efek teratogenik (Yodyinguard dan Bunyawong, 1991), mutagenik (Suttajit dkk., 1993), atau karsinogenik (Xili dkk., 1992). Kelebihan lain dari stevia adalah memiliki efek hipoglikemik yang sangat penting bagi penderita diabetes (Djas, 2005).

Penelitian sebelumnya telah mengembangkan produk stevia menjadi

minuman secara fermentasi dengan starter madu. Hasil optimasi menunjukkan bahwa massa stevia untuk fermentasi adalah 50 g yang difermentasi dengan starter madu 5% selama 4 hari. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktifitas hipoglikemik minuman stevia yang optimal secara *in vivo* pada hewan percobaan.

PROSEDUR KERJA

Sampel dan Hewan Percobaan

Sampel yang digunakan adalah *Stevia rebaudiana* Bert. yang diperoleh dari daerah Tawangmangu, Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah. Mencit yang digunakan diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, dengan spesifikasi: galur *swiss webster*, jantan, usia antara 2-3 bulan.

Bahan dan Piranti

Bahan

Bahan yang digunakan selama penelitian antara lain akuades, akuabides, methanol (*emerck, HPLC, german*), asetonitril (*emerck, HPLC, german*), reagen GOD-PAP, madu, ragi roti, dan ragi tape.

Piranti

Piranti yang digunakan selama penelitian antara lain erlenmeyer, beaker glass, labu ukur, gelas ukur, pipet ukur, pipet tetes, neraca analitik, toples, spatula, kain saring, kertas saring, botol sampel, *cabynet drying*, grinder, shaker, autoclave (*Tomy, SS-240*), *handrefractometer*(*Atago, N-1*), spektrofotometer (*Shimadzu, UV Mini 1240*), kolom (*Vertex, Eurospher 100-5 C18, 150x4.6 mm*) dan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC)(*Knauer Smartline UV detector, 2500*).

Cara Kerja

Preparasi Sampel

Seluruh bagian tanaman *Stevia rebaudiana* Bert. yang sudah dibersihkan dari tanah, dikeringkan dengan *cabynet drying* selama 24 jam dengan suhu $\pm 50^{\circ}\text{C}$. Sampel yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan grinder.

Pembuatan Starter

Madu ditimbang 37,5 gram, dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1 L kemudian dilarutkan dengan 500 mL akuades. Larutan disterilisasi selama 15 menit dengan suhu 121°C . Setelah dingin, ragi roti dan ragi tape ditambahkan masing-masing 1 gram. Larutan digoyang dengan *shaker* selama 4 jam.

Pembuatan Minuman *Stevia rebaudiana* Bert. Secara Fermentasi

Sebanyak 50 gram serbuk stevia ditimbang dan diekstraksi menggunakan 1 L akuades panas sambil diaduk-aduk selama 30 menit. Larutan stevia disaring kemudian ampas diekstraksi kembali dengan 1 L akuades panas. Ekstraksi ini dilakukan hingga volume larutan mencapai 2 L. Larutan stevia disterilisasi dengan suhu 100°C selama 20 menit. Setelah itu didinginkan dan diberi larutan starter sebanyak 200 mL kemudian difermentasi selama 4 hari.

Uji Toleransi Glukosa (Yulinah dkk., 2001 yang dimodifikasi)

Pengujian toleransi glukosa ini dilakukan menurut metode Varley dan Gowenblock. Kelompok uji terdiri dari 3 (tiga) ekor mencit jantan dan secara keseluruhan terdiri dari 5 kelompok perlakuan sebagai berikut : kontrol negatif (hanya diberi akuabides), kelompok uji sirup "X" rendah kalori dengan konsentrasi 12,5%, kelompok minuman stevia dengan konsentrasi 5%, 12,5% dan 20%.

Subyek uji dipuaskan (12-18jam) terlebih dahulu sebelum perlakuan dengan tetap diberi minum *ad libitum*. Setiap kelompok mendapat pembebanan glukosa 50% secara peroral pada menit ke-45 setelah pemberian perlakuan. Glukosa darah ditentukan -45,45,90 dan 180 menit setelah pemberian glukosa.

Penentuan Konsentrasi Gula Darah

Kadar glukosa ditetapkan dengan metode enzimatik dengan pereaksi *Glucose Oxidase-Phenol-4-Aminoantipirin* (GOD-PAP) diikuti dengan spektrofotometri. Sampel darah diambil dari vena lateralis ekor tikus lebih kurang 0,1 mL kemudian darah disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Pada 0,01 mL serum ditambahkan 0,1 mL larutan deproteinase dan disentrifugasi pada 3000 rpm selama 10 menit. Pada 0,01 mL supernatant ditambahkan 1 mL pereaksi warna GOD-PAP kemudian diinkubasi selama 30 menit dan diukur pada panjang gelombang 546 nm menggunakan spektrofotometri.

Analisis Data

Data kuantitatif kadar glukosa darah dibuat kurva hubungan antara glukosa darah per satuan waktu pengamatan. Dari kurva tersebut, kemudian dihitung "Area Under Curve₋₄₅₋₁₈₀" atau AUC₋₄₅₋₁₈₀ dari masing-masing hewan uji tiap kelompok. Prosentase penurunan kadar glukosa darah (% PKGD) setiap perlakuan dihitung dengan mengurangi nilai AUC₋₄₅₋₁₈₀ kontrol negatif dengan perlakuan, kemudian

hasilnya dibagi $AUC_{-45-180}$ kontrol negatif dikalikan 100%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji aktivitas hipoglikemik pada penelitian ini disajikan pada **Tabel 1**. Data kadar glukosa darah dibuat kurva hubungan kadar glukosa darah (mg/dL) vs waktu (menit). Profil kurva kadar glukosa darah mencit setelah perlakuan dengan minuman stevia disajikan pada **Gambar 1**. **(DISINI LETAK TABEL 1)**

Tabel 1 dan **Gambar 1** menunjukkan suatu pola dimana kadar glukosa darah selalu mengalami kenaikan pada menit ke-45 kemudian mengalami penurunan pada menit ke-90 dan 180. Kenaikan kadar glukosa darah ini disebabkan adanya pembebanan glukosa setelah pemberian perlakuan. Penurunan kadar glukosa pada tiap perlakuan disebabkan efek hipoglikemik dari senyawa steviosida sedangkan penurunan kadar glukosa pada kontrol (+) dipengaruhi oleh kandungan pemanis buatan pada sirup rendah kalori.

(DI SINI LETAK GAMBAR 1)

Hasil purata kadar glukosa darah kemudian dilanjutkan dengan perhitungan *area under curve* ($AUC_{-45-180}$) dan *penurunan kadar gula darah* (PKGD). Nilai AUC dan PKGD dari berbagai perlakuan dapat dilihat pada **Tabel 2**.

(DI SINI LETAK TABEL 2.)

Berdasarkan **Tabel 2**, dibuktikan bahwa semakin tinggi konsentrasi minuman stevia, penurunan kadar glukosanya juga semakin besar. Pada minuman stevia 12,5% dan 20% dapat menurunkan kadar glukosa darah lebih tinggi daripada sirup "X" yang merupakan salah satu sirup rendah kalori yang ada di pasaran. Hasil ini menunjukkan bahwa minuman stevia dengan konsentrasi lebih dari 12,5% dapat menurunkan gula darah lebih besar dibandingkan dengan sirup rendah kalori yang banyak mengandung pemanis sintesis seperti aspartam dan siklamat. Baik steviosida maupun ekstrak stevia dapat digunakan untuk menurunkan gula darah (Chatsudthipong dan Muanprasat, 2009).

Penurunan paling tinggi ditunjukkan pada minuman stevia 20%, yaitu $55,36 \pm 33,71$ (%). Hasil ini sangat berbeda jauh dengan minuman stevia 5% dan 12,5%

yang hanya dapat menurunkan gula darah tidak lebih dari 15%. Dari hasil penelitian lain yang mirip dengan penelitian ini, minuman stevia yang menggunakan starter gula 20% hanya memiliki penurunan kadar gula darah sebesar 25,70%. Perbedaan yang cukup jauh ini terjadi karena adanya interaksi antara senyawa pada madu, yang digunakan sebagai starter, dengan senyawa aktif steviosida.

Mekanisme aksi senyawa steviosida dalam menurunkan kadar gula dalam darah adalah meningkatkan sekresi dan sensitivitas insulin sehingga mengurangi jumlah gula dalam darah. Selain itu, steviosida juga dapat menghambat penyerapan glukosa di usus dan pembentukan glukosa di liver dengan cara mengubah aktivitas enzim kunci yang terlibat dalam sintesis glukosa, sehingga dapat mengurangi penumpukan glukosa pada plasma darah (Chatsudthipong dan Muanprasat, 2009).

Madu merupakan produk alam yang dihasilkan oleh lebah untuk dikonsumsi, karena mengandung bahan gizi yang sangat esensial. Madu bukan hanya merupakan bahan pemanis, atau penyedap makanan, tetapi sering pula digunakan sebagai obat-obatan (Purbaya, 2002). Standar mutu madu salah satunya didasarkan pada kandungan gula pereduksi (glukosa dan fruktosa) total yaitu minimal 60%. Sedangkan jenis gula pereduksi yang terdapat pada madu tidak hanya glukosa dan fruktosa, tetapi juga terdapat maltosa dan dekstrin (Purbaya, 2002).

Fruktosa yang merupakan konstituen utama pada madu ternyata memiliki efek hipoglikemik (Bogdanov dkk., 2008). Mekanisme aksi dari fruktosa ini adalah dengan mengaktifkan glukokinase yang merupakan enzim kunci dalam metabolisme glukosa intraselular. Kemudian glukosa diubah menjadi glukosa-6-fosfat sehingga mengurangi kadar glukosa dalam darah (Watford, 2002).

KESIMPULAN

Hasil uji pra-klinis secara *in vivo* menunjukkan bahwa minuman stevia 12,5% dan 20% memiliki (%) PKGD lebih besar dari sirup rendah kalori sebesar $14,86 \pm 19,27$ (%) dan $55,36 \pm 83,76$ (%). Sedangkan minuman stevia 5% memiliki (%) PKGD lebih kecil dari sirup rendah kalori, yaitu $5,49 \pm 5,49$.

DAFTAR RUJUKAN

- [1] Bogdanov, S., T. Jurendic, and R. Sieber. 2008. Honey for Nutrition and Health: a Review. *J Am Coll Nutr.* 2008; 27(6):677-689.
- [2] Chatsudthipong, V. and C. Muanprasat. 2009. Stevioside and Related Compounds: Therapeutics Benefits Beyond Sweetness. *Pharmacology and Therapeutics*, 121:41-45
- [3] Djas, Harmaini Morse Jazid. 2005. Efek Hipoglikemia Zat Pemanis Dari Stevia rebaudiana Bertoni Pada Kelinci.
- [4] Moraes, Élida de Paula., and Machado. 2001. Clarification of Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni extract by adsorption in modified zeolites. *Maringá*, 23(6):375-1380.
- [5] Phillips, K.C. 1987. Stevia: steps in developing a new sweetener. In: T. H. Grenby (Ed.), *Developments in Sweeteners 3*, Elsevier, New York, p. 1.
- [6] Purbaya, J.R. 2002. Mengenal dan Memanfaatkan Khasiat Madu Alami. Pionir Jaya. Bandung.
- [7] Suttajit, M., U. Vinitketkaumnuem, U. Meevatee, dan D. Buddhasukh. 1993. Mutagenicity and Human Chromosomal Effect of Stevioside, a Sweetener From Stevia rebaudiana Bertoni. *Environmental Health Perspective*, 101 (Suppl.3):53-56.
- [8] Watford, M. 2002. Small Amounts of Dietary Fructose Dramatically Increase Hepatic Glucose Uptake Through a Novel Mechanism of Glucokinase Activation. *Nutr Rev.* 2002; 60:253-257.
- [9] Xili, L., B. Chengjiany, X. Eryi, S. Reiming, W. Yuenming, S. Haodong, and H. Zhiyian. 1992. Chronic Oral Toxicity and Carcinogenicity Study of Stevioside in Rats. *Food and Chemical Toxicology*, 30:957-965.
- [10] Yodyinguard, V. and S. Bunyawong. 1991. Effect of Stevioside on Growth and Reproduction. *Human Reproduction*, 6:158-165.
- [11] Yulinah, E., Sukrasno, dan M.A. Fitri. 2007. Aktivitas Antidiabetika Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees (Acanthaceae). *JMS*, 6(1):13-20.

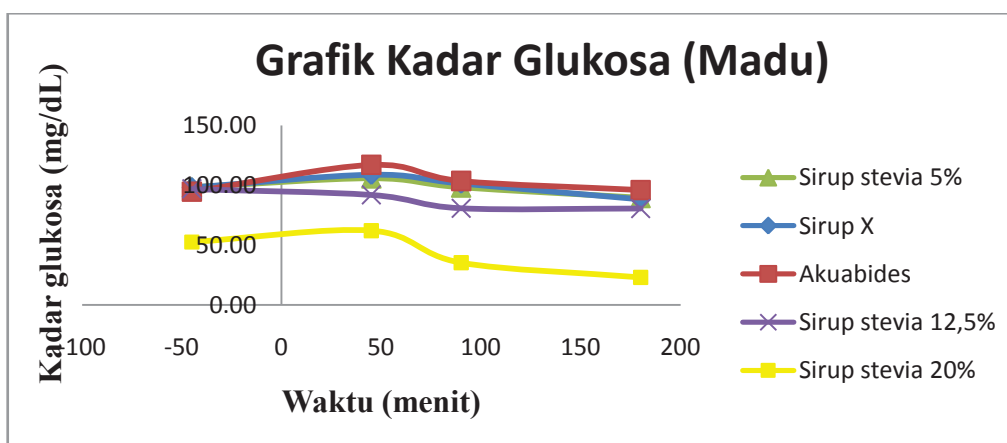
LAMPIRAN

Tabel 1. Purata Kadar Glukosa Darah (mg/dL) Terhadap Waktu (Menit)

Kadar Glukosa Darah Rata-rata ± SE					
Waktu	Kontrol (-)	Kontrol (+)	Perlakuan I	Perlakuan II	Perlakuan III
-45	94,59 ± 39,65	98,10 ± 6,46	98,23 ± 30,23	90,68 ± 35,18	52,36 ± 86,27
45'	116,96 ± 19,50	108,76 ± 29,40	105,64 ± 36,98	102,91 ± 22,89	61,86 ± 114,13
90'	103,49 ± 56,58	101,40 ± 30,52	98,09 ± 43,72	80,76 ± 76,53	35,07 ± 52,59
180'	95,95 ± 44,77	88,17 ± 12,98	89,36 ± 22,74	80,39 ± 55,13	22,80 ± 24,70

Keterangan :

- Kontrol (-) = akuabides
- Kontrol (+) = sirup rendah kalori
- Perlakuan I = minuman stevia 5%
- Perlakuan II = minuman stevia 12,5%
- Perlakuan III = minuman stevia 20%



Gambar 1. Kurva Kadar Glukosa Darah vs Waktu

Tabel 2. Harga Area Under Curve (AUC) dan Prosentase Penurunan Kadar Gula Darah (%PKGD)

Ulangan (N)	Perlakuan	Nilai Purata AUC ± SE (mg.menit/dL)	% (PKGD ± SE)
3	Akuabides	23463,67 ± 6301,09	-
3	Sirup "X"	22576,33 ± 3020,98	5,84 ± 5,35
3	Minuman Stevia 5%	22201,33 ± 6814,84	5,49 ± 5,49
3	Minuman Stevia 12,5%	20103,67 ± 9493,92	14,86 ± 19,27
3	Minuman Stevia 20%	9908,00 ± 15639,66	55,36 ± 83,76