

## AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMI DAN PENINGKATAN AKTIVITAS ENZIM ANTIOKSIDAN DARI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KERSEN (*Muntingia calabura*) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN-NIKOTINAMID

Septian Maulid Wicahyo <sup>1)</sup> | Kharisma Jayak Pratama <sup>2)</sup> |

<sup>1)</sup> S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa

<sup>2)</sup> S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa

\* Penulis Korespondensi: Septian\_Maulidwicahyo@udb.ac.id

### ABSTRAK

Kadar glukosa darah dan aktivitas antioksidan yang normal adalah kunci yang dapat mencegah Diabetes Melitus dan komplikasinya. Beberapa tanaman herbal memiliki aktivitas tersebut. Daun kersen (*Muntingia calabura*) adalah tumbuhan di sekitar kita yang memiliki kegunaan empiris, salah satunya menurunkan glukosa darah. Tujuan penelitian untuk mengetahui aktivitas fraksi etil asetat daun kersen dalam menurunkan glukosa darah, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan SOD dan GPx dan menurunkan kadar MDA. Empat puluh dua tikus galur Wistar Jantan berumur 8 minggu dengan berat 180-200 g diinduksi diabetes menggunakan streptozotosin dan dibagi secara acak. Kelompok I kontrol normal, kelompok II kontrol negatif, kontrol III kontrol positif menggunakan glibenklamid, kelompok IV dan V uji fraksi etil asetat 250 dan 350 mg/kg BB. Perlakuan dilakukan secara oral sekali sehari selama 18 hari. Kadar glukosa diukur pada hari ke-1, ke-4, ke-11 dan ke-18. Hasil penelitian menunjukkan Fraksi etil asetat dapat menurunkan kadar glukosa darah dan dapat meningkatkan aktivitas enzim SOD dan GPx dan menurunkan kadar MDA. Kesimpulannya fraksi etil asetat daun kersen memiliki aktivitas antihyperglikemia, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan.

**Kata kunci:** antihyperglikemia, antioksidan, *Muntingia calabura*, fraksi etil asetat.

### ABSTRACT

*Balance blood glucose concentration and antioxidant activity are keys to prevent Diabetes Melitus and its complications. Kersen leaves (*Muntingia calabura*) a plant that have empirical usage for reducing glucose blood that can do both. This study's purposes are for observing ethyl acetate fraction of kersen leaves effects in reducing blood glucose and langerhans islet regeneration. Forty two Wistar male white rats of 8 weeks with weight 180-200 g were made diabetes with streptozotosin and randomly divided into 7 groups. Group I as normal rats, group II diabetic rats, group III diabetic with glibenclamid treatment, group IV and V diabetic rat treated by ethil acetate fraction 250 dan 350 mg/kg BW respectively. treatment had done orally once a day within 18 days. Blood glucose was measured on the 1st, 4th, 11th and 18th day. Ethyl acetate fraction were able reducing blood glucose whereas the 350 mg/kg BW dose has the highest activity ( $p > 0,05$  with Positive control) and both could improved SOD and GPx activity, reducing MDA concentration and regenerating pancreatic langerhans islet.*

**Keyword:** antihyperglycemic, regeneration, pancreatic  $\beta$ -cell, *Muntingia calabura*, ethyl acetate fraction

## PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah penyakit sindroma metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah, resistensi insulin, kekurangan insulin dan gula darah puasa tidak terkontrol. Kelainan metabolik tersebut mengakibatkan komplikasi-komplikasi yang berbahaya seperti gangguan makrovaskular, mikro-vaskular, fungsi ginjal dan lainnya. Stres oksidatif adalah salah satu komplikasi akibat diabetes melitus. Stres oksidatif didefinisikan sebagai ketidakseimbangan antara oksidan-oksidan dan antioksidan dalam tubuh. Oksidan atau radikal bebas dapat bersumber dari dalam dan luar tubuh. Pada keadaan diabetes produksi radikal menjadi tinggi karena tingginya gula dalam darah mengaktifkan jalur-jalur metabolisme yang memproduksi radikal bebas lebih banyak (Olokoba et al. 2012). Penambahan antioksidan perlu dilakukan agar kadar radikal bebas bisa menurun dan mencegah faktor resiko komplikasi lebih lanjut (Pinen et al., 2008).

Tanaman kersen (*Muntingia calabura*) adalah tanaman yang selalu berbuah sepanjang tahun dan bisa tumbuh pada lingkungan yang ekstrim. Pohon kersen berada di sekitar kita dan dijadikan sebagai tempat berteduh karena tingginya yang bisa lebih dari 5 meter. Daun pada tanaman ini mengandung flavonoid yang memiliki efek penurunan gula darah dan antioksidan (Zakaria et al.2014; Yadav et al. 2013). Quercetin adalah salah satu flavonoid golongan flavonol yang berkontribusi dalam aktivitas tersebut. Mekanisme quercetin sebagai penurun gula darah melalui peningkatan jumlah islet langerhans pankreas, meningkatkan kadar insulin plasma, proteksi sel  $\beta$  dari kerusakan, menurunkan tingkat oksidatif stress marker dengan meningkatkan

aktivitas enzim antioksidan (Lakhanpal dan Rai. 2007; Pinen et al., 2008).

Penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas antihiperlipidemia, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan regenerasi sel beta pankreas dari fraksi etil asetat daun kersen.

## METODE

Penelitian ini menggunakan post test only control group design. Dalam desain ini terdapat 2 jenis kelompok yang masing-masing kelompok tikus akan dipilih secara acak. Penelitian ini menggunakan tikus jantan strain Wistar berumur 2 bulan yang dibuat diabetes dengan streptozotisin-nikotinamid. Kelompok eksperimen dibagi 2 yaitu kelompok dengan variasi dosis fraksi etil asetat dan kelompok yang tidak diberi perlakuan disebut kelompok kontrol. Jika ada perbedaan yang signifikan antara kelompok eksperimen terhadap kelompok kontrol, maka perlakuan yang diberikan berpengaruh secara signifikan.

Fraksi etil asetat daun kersen dibuat dengan memisahkan ekstrak etanol 96% daun kersen kental menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan kepolaran pelarut yang bertingkat yaitu Heksan : etil asetat : air. Fraksi etil asetat yang masih cair kemudian dikentalkan menggunakan oven pada suhu 50o C.

Pemberian kepada tikus uji dalam bentuk sediaan suspensi menggunakan suspensi Na CMC 0,5 %. Pembuatan suspensi menggunakan alat Homogenizer.

Tikus penelitian diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Gadjah Mada, berumur kira-kira 2 bulan dengan berat badan kira-kira 150-250 gram. Perlakuan uji terhadap tikus dilakukan di PAU (Pusat Antar Universitas) Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi

UGM. Perlakuan uji dilakukan selama 2 minggu.

Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan perangkat lunak statistik SPSS melalui komputer. Uji statistik yang digunakan yaitu ANOVA satu arah yang dilanjutkan post hoc. Data yang diuji hanya data glukosa darah dan aktivitas enzim antioksidan (SOD, GPx dan konsentrasi MDA).

#### **Alat**

Penelitian ini menggunakan alat berupa spektrofotometer dan gambaran histopatologis islet langerhans pankreas yang diamati menggunakan mikroskop kamera LEICA laboratorium Anatomi dan Fisiologi Universitas Setia Budi.

#### **Bahan**

Bahan yang digunakan adalah cairan etanol 96%, Etil asetat, N-Heksan, aquadest, darah hewan percobaan, reagen kit Analisa kualitatif dan kuantitatif.

#### **Prosedur Penelitian**

Tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok (I-V) dengan tiap kelompok terdiri atas 6 ekor tikus dan 4 kelompok (II-V) dibuat diabetes melitus (DM) dengan dengan menginjeksikan secara intraperitoneal streptozotosin 65 mg/kg BB dan nikotinamid 230 mg/kg BB 15 menit sebelum streptozotosin. Kelompok I adalah kontrol normal; kelompok II adalah kelompok kontrol negatif; kelompok III adalah kontrol positif dengan induksi DM dan diberikan glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus; kelompok IV adalah kelompok perlakuan uji fraksi etil asetat dosis 250 mg/kg BB pada tikus DM; kelompok V adalah kelompok perlakuan uji fraksi etil asetat dosis 350 mg/kg BB pada tikus DM.

Data yang dikumpulkan adalah kadar glukosa darah yang diperoleh dengan metode enzymatic colorimetric test menggunakan reagen GOD PAP. Penentuan aktivitas SOD, kadar Gluthation peroksidase (GPx) dan kadar MDA menggunakan spektrofotometer dan gambaran histopatologis islet langerhans pankreas yang diamati menggunakan

mikroskop kamera LEICA laboratorium Anatomi dan Fisiologi Universitas Setia Budi.

Pengambilan darah tikus dilakukan pada hari ke-1, ke-4, ke-11 dan ke-18. Tikus dipuasakan semalaman sebelum diambil darah tikus. Kadar gula hari ke-1 (T1) adalah kadar gula sebelum induksi DM; kadar gula hari ke-4 (T2) adalah kadar gula DM setelah injeksi peritoneal streptozotosin 65 mg/kg BB dan nikotinamid 230 mg/kg BB pada hari ke-1 yang kemudian dibiarkan 2 hari tanpa perlakuan; kadar gula darah hari ke-11 (T3) adalah kadar gula darah setelah seminggu perlakuan uji; kadar gula darah hari ke-18 (T4) adalah kadar gula darah setelah 2 minggu perlakuan uji. Penentuan aktivitas SOD, GPx dan penurunan MDA dilakukan dengan menggunakan supernatan organ hati tikus yang diambil pada hari ke-18.

#### **Analisa Data**

Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan perangkat lunak statistik SPSS melalui komputer. Uji statistik yang digunakan yaitu ANOVA satu arah yang dilanjutkan post hoc. Data yang diuji hanya data glukosa darah dan aktivitas enzim antioksidan (SOD, GPx dan konsentrasi MDA).

## **HASIL DAN DISKUSI**

### **Kadar glukosa darah tikus**

Pengambilan dan penentuan kadar glukosa darah dilakukan di PAU (Pusat Antar Universitas) Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM. Darah tikus diambil pada hari ke-1 (T1), ke-4 (T2), ke-11 (T3) dan ke-18 (T4). Data yang dianalisis berupa rata-rata kadar glukosa darah dari kelima kelompok uji. Grafik rata-rata kadar glukosa darah terhadap hari pengambilan darah masing-masing kelompok bisa dilihat pada gambar 1.

Tabel 1. Berisi data rata-rata kadar gula darah tikus T1, T2, T3 dan T4. Berdasarkan tabel dan grafik pada kelompok II-V terjadi kenaikan kadar gula

darah pada T2. Kenaikan terjadi akibat induksi DM menggunakan streptozotosin-nikotinamid yang menandakan induksi DM berhasil karena kadar gula darah semua kelompok melebihi 200 mg/dl. Penurunan kadar gula darah terjadi pada T3 dan T4 yaitu saat perlakuan dilakukan.

Kelompok III, IV dan V berturut-turut menurunkan kadar gula darah sebesar 51,45%, 40,94% dan 48,75%. Berdasarkan uji statistik ANOVA terdapat beda antara kelompok uji (signifikansi  $p < 0,05$ ) yang kemudian dilakukan uji post hoc. Uji post hoc yang digunakan adalah Games-Howell karena varian tiap kelompok tidak sama (diuji menggunakan Levene Statistic dan hasil signifikansi  $< 0,05$ ). Post hoc yang dilakukan menunjukkan ada perbedaan signifikan antara semua kelompok uji terhadap kontrol negatif. Perlu diketahui juga antara kelompok III dan V menunjukkan tidak ada beda pada setelah uji post hoc (signifikansi  $p > 0,05$ ). Hal tersebut menunjukkan bahwa kelompok V, perlakuan fraksi etil asetat dosis 350 mg/kg BB tidak berbeda signifikan secara statistik terhadap kelompok III, kontrol positif. Efek penurunan kadar gula darah berbanding lurus terhadap peningkatan dosis fraksi etil asetat daun kersen.

Efek penurunan gula darah oleh fraksi etil asetat terjadi karena fraksi tersebut mengandung flavonoid. Salah satu flavonoid yang terkandung adalah quercetin. Quercetin adalah flavonoid yang memiliki efek penurunan gula darah melalui mekanisme menambah jumlah islet langerhans pankreas, meningkatkan kadar insulin plasma, proteksi sel  $\beta$  dari kerusakan, menurunkan tingkat oksidatif stress marker dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan (Kuo et al. 2014; Pinent et al. 2008; Sridhar et al. 2011; Yadav et al. 2013).

### **Aktivitas enzim antioksidan**

Penentuan aktivitas enzim antioksidan dilakukan di PAU (Pusat Antar Universitas) Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM. Penentuan aktivitas SOD, GPx dan MDA dilakukan menggunakan supernatan hati tikus yang diambil pada hari ke-18. Data hasil penentuan dapat dilihat pada tabel 2. Dari tabel 2 menunjukkan perbedaan aktivitas enzimatis pada tiap kelompok. Aktivitas SOD dinyatakan dalam (%), aktivitas GPx dinyatakan dalam (U/mg) dan MDA dinyatakan dalam (nmol/g). Kelompok I memberikan data aktivitas enzimatis yang normal. Kelompok II memiliki aktivitas SOD dan GPx paling rendah disertai kadar MDA yang tinggi. Hal tersebut terjadi karena tikus hanya diinduksi DM tanpa perlakuan. Pada keadaan DM terjadi stres oksidatif karena kadar gula darah tinggi yang menyebabkan stres oksidatif kemudian ditandai dengan penurunan aktivitas enzim antioksidan seperti SOD dan GPx diikuti kenaikan aktivitas peroksidasi lipid ditandai tingginya kadar MDA. Kadar gula yang tinggi mengakibatkan produksi ROS (Reactive Oxygen Species) menjadi tinggi. ROS seperti anion superoksida dan hidrogen peroksida merupakan radikal reaktif yang bisa berikatan dengan molekul fungsional dalam sel seperti protein, asam amino, membran lipid dan DNA. ROS yang sangat tinggi kadarnya dalam sel bisa mengganggu aktivitas fisiologis sel bahkan dapat menyebabkan kematian pada sel (Mohammed et al. 2015; Birhen et al. 2012).

Kelompok III, IV dan V memberikan data yang mendekati ke kontrol normal. Perlakuan yang diujikan memberikan efek peningkatan aktivitas enzim SOD dan GPx diikuti rendahnya produksi MDA. Perlakuan uji fraksi etil asetat meningkatkan aktivitas enzimatis bergantung pada dosis yang diberikan. Semakin tinggi dosis maka efek

yang diberikan akan semakin tinggi. Terlihat pada tabel 2 dimana dosis 250 mg/kg BB menunjukkan SOD 38,89 %, GPx 34,97 U/mg dan MDA 4,44 nmol/g sementara dosis 350 mg/kg BB menunjukkan SOD 45,75 %, GPx 65,39 U/mg dan MDA 3,66 nmol/g. Secara statistik ANOVA ada perbedaan signifikan antar semua kelompok yang kemudian dilanjutkan uji post hoc LSD memberikan hasil semua nilai kelompok berbeda

signifikan. Glibenklamid memiliki aktivitas paling tinggi.

Fraksi etil asetat daun kersen dapat meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan menurunkan kadar MDA karena mengandung flavonoid quercetin. Quercetin adalah metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan, menetralkan radikal bebas secara langsung dan mengurangi oksidasi lipid (Kuo et al. 2014; Pinent et al. 2008; Lakhnopal dan Rai. 2007; Yoon. 2015).

Tabel 1. Rata-rata kadar glukosa darah tikus T1 – T4 beserta persen nilai (%) penurunan kadar glukosa darah.

Kel	Kadar glukosa (mg/dl)± SD				% Penurunan
	T1	T2	T3	T4	
I	69,47 ± 2,25	70,14 ± 2,2	70,92 ± 2,1	71,49 ± 2,3	-
II	70,49 ± 2,22	221,04 ± 5,2	222,24 ± 4,7	223,69 ± 4,9	-1,46
III	71,17 ± 3,02	219,05 ± 3,5	193,82 ± 4*	142,97 ± 4*	51,45
IV	71,24 ± 3,1	223,42 ± 2,9	198,56 ± 2,4*	161,11 ± 2,2*	40,94
V	72,88 ± 2,76	222,33 ± 1,8	196,94 ± 2*	149,46 ± 2,2*	48,75

Nilai minus menunjukkan peningkatan kadar gula darah

\*menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kelompok kontrol negatif (p<0,05).

Tabel 2. Hasil rata-rata pengukuran aktivitas enzim SOD, GPx dan penurunan kadar MDA.

Kelompok	Hasil rata-rata aktivitas SOD, GPx dan MDA ± SD		
	SOD (%)	GPx (U/mg)	MDA (nmol/g)
I	77,12 ± 3,87	73,18 ± 1,18	1,93 ± 0,21
II	18,63 ± 5,16	11,85 ± 0,36	9,28 ± 0,30
III	59,48 ± 5,95*	67,61 ± 0,85*	3,01 ± 0,18*
IV	38,89 ± 5,48*	34,97 ± 0,67*	4,44 ± 0,13*
V	45,75 ± 3,87*	65,39 ± 0,38*	3,66 ± 0,11*

\* menunjukkan berbeda signifikan (p < 0,05) terhadap kelompok kontrol negatif.

## KESIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antihiperlipidemia, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan SOD dan GPx, menurunkan kadar MDA.

## DAFTAR PUSTAKA

- Birhen E et al. 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. WAO Journal 5:9-19.
- Ghasemi A, Khalifi S, Jedi S. 2014. Streptozotocin-Nicotinamide-Induced Rat

Model of Type 2 Diabetes (Review). *Acta Physiologica Hungaria* 101 (4):408-420.

Kuo WL, Liao HR, Chen JJ. 2014. Biflavans, Flavonoids and A Dihydrochalcone From The Stem Wood of *Muntingia calabura* and Their Inhibitory Activities on Neutrophil Pro-Inflammatory Responses. *Molecules* 19:20521-20535.

Lakhanpal P, Rai DK. 2007. Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal Of Medical Update* 2(2):22-37.

Mohammed MT, Kadhim SM, Jassimand AMN, Abbas SI. 2015. Free Radicals and Human Health. *International Journal of Innovation Sciences and Research* 4(6):218-223.

Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. 2012. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review Of Current Trends. *Oman Medical journal*.27(4):269-273.

Pinent M et al. 2008. Bioactivity of Flavonoids on Insulin-Secreting cells. *Comprehensive Review In Food Science and Food Safety* 7:299-308.

Sridhar M, Thirupathi K, Chaitanya G, Kumar BR, Mohan BK. 2011. Antidiabetic effect of leaves of *Muntingia calabura* L., in normal and alloxan-induced rats. *Pharmacology online* 2: 626-632.

Yadav DB, Aruna SM, Chandrashekar A. 2013. Antioxidant and in vivo anti-hyperglycemic activity off *Muntingia calabura* leaves extract. *Der Pharmacia Lettre* 5(3):427-435.

Yoon SO. 2015. Plant-Derived Compounds Targeting Pancreatic Beta Cells for the Treatment of Diabetes. *Hindawi*: 1-12.

Zakaria ZA et al.2014. *Muntingia calabura*: A review of its traditional uses, chemical properties and pharmacological observations. *Pharmaceutical Biology*.

Zakaria ZA et al.2016. Mechanism(s) of action underlying the gastroprotective

effect of ethyl acetate fraction obtained from crude methanolic leaves extract of *Muntingia calabura*. *BMC Complementary and alternative medicine* 2016 16:78.