

**KAJIAN AKTIVITAS ANTIDIABETES DARI EKSTRAK ETANOL DAN FRAKSINYA
DARI DAUN SINGAWALANG (*Petiveria alliacea* L.)**

**STUDIES ON THE ANTIDIABETIC ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT AND ITS FRACTIONS
OF SINGAWALANG (*Petiveria alliacea* L.) LEAVES IN MICE**

Elis Susilawati¹, I Ketut Adnyana², Neng Fisher²

¹Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Jl. Soekarno Hatta No. 754 Cibiru, Bandung

²Sekolah Farmasi, ITB, Jl. Ganesha No. 10 Bandung

Email: elisstfb@gmail.com (Elis Susilawati)

ABSTRAK

Tanaman singawalang sebagai obat herbal antidiabetes masih belum banyak dikenal oleh masyarakat dan juga penelitiannya belum cukup mendalam sebagai suatu obat herbal Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktifitas antidiabetes dari ekstrak etanol dan fraksinya dari daun singawalang. Pengujian aktivitas antidiabetes dilakukan dengan metode uji toleransi glukosa dan uji resistensi insulin. Pada Uji Toleransi Glukosa Oral (*Oral Glucose Tolerance Test/OGTT*), mencit dibagi dalam enam kelompok. Kelompok I (kontrol) diberikan glukosa sebanyak 3 mg/kg berat badan (bb). Kelompok II diberikan ekstrak etanol 80 mg/kg bb. Group III, IV, dan V diberikan sebanyak 80 mg/kg bb dari fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air. Kelompok VI diberikan glibenklamida 0,65 mg/kg bb. Pengaruh pemberian ekstrak etanol dan fraksinya terhadap OGTT pada kelompok mencit normal diukur pada rentang waktu 30, 60, 90, dan 120 menit. Pada uji resistensi insulin dievaluasi dengan tes toleransi insulin dimana hewan uji terlebih dahulu diberikan emulsi tinggi lemak selama 14 hari dan dilanjutkan dengan diberikan bahan uji selama 14 hari dan metformin 65 mg/kg bb sebagai pembanding. Pada uji toleransi glukosa menunjukkan bahwa kelompok yang diberikan ekstrak dan fraksi dari daun singawalang pada dosis 80 mg/kg bb memiliki kemampuan untuk menghambat kenaikan kadar glukosa darah akibat pemberian glukosa. Pada uji resistensi insulin, kelompok yang diberikan fraksi n-heksana dan fraksi etil asetat dengan dosis 80 mg/kg bb dan ekstrak etanol dan fraksi air dengan dosis 160 mg/kg bb, mampu meningkatkan nilai K_{TTI} (konstanta tes toleransi insulin). Nilai K_{TTI} paling besar ditunjukkan pada pemberian fraksi air dengan dosis 160 mg/kg bb. Ekstrak etanol dan fraksinya dari daun singawalang dapat menurunkan kadar glukosa darah. Ekstrak etanol dan fraksinya dari daun singawalang dosis 160 mg/kg bb menunjukkan aktivitas antidiabetes yang lebih baik dibandingkan dosis 80 mg/kg bb.

Kata kunci: daun singawalang, diabetes mellitus, sensitivitas insulin, toleransi glukosa.

ABSTRACT

Singawalang (Petiveria alliacea), an Indonesian herbal medicine as antidiabetic is not widely known, but definitive studies on efficacy and mechanism of action are lacking. This study aimed to evaluate the antidiabetic activity of various fractions of ethanol extract from Petiveria alliacea leaves. The effect on the glucose absorption was investigated by the oral glucose tolerance and insulin resistance test. On oral glucose tolerance test (OGTT), the mice were divided into six groups. Group I (control) received glucose 3 mg/kg body weight (bw). Group II received ethanol extract 80 mg/kg bw. Group III, IV, and V were given 80 mg/kg bw of n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction, respectively. Group VI received glibenclamide 0.65 mg/kg bw. The effect of ethanol extract and its fractions on OGTT in normal mice group was assessed at different time intervals (30, 60, 90, and 120 min). On insulin resistance test, mice given high fat emulsion for 14 days and then given ethanolic extract and its fraction for another 14 days and metformin at dose of 65 mg/kg bw as control. On OGTT, the ethanol extract and its fraction at dose of 80 mg/kg bw were able to inhibit increasing of the level of glucose in blood due to feeding of glucose. On insulin resistance test, the fraction of n-hexane and ethyl acetate at dose of 80 mg/kg bw and the ethanol extracts at dose of 160 mg/kg bw were able to increase the value of the K_{TTI} (the rate constant for plasma glucose disappearance). The highest value of K_{TTI} was for water fraction at dose of 160 mg/kg bw. The ethanol extract and its fraction from Petiveria alliacea leave at dose of 160 mg/kg bw able to decreased level glucose in blood significantly.

Key words: diabetes mellitus, glucose tolerance, insulin sensitivity, Petiveria alliacea.

Pendahuluan

Tanaman Singawalang (*Petiveria alliacea*) merupakan famili Phytolaceae dan salah satu tanaman yang tumbuh di Indonesia, tetapi masih belum banyak pemanfaatannya sebagai obat. Padahal di tempat asalnya yaitu di hutan Amazon, Amerika, ramuan obat tradisional yang dikenal dengan nama Anamu atau Apacin telah digunakan. Di Karibia, Amerika Latin, Afrika Barat dan daerah lainnya, selama ratusan tahun digunakan untuk mengobati rasa sakit, flu, antiinflamasi, antitumor, antibakteri, antijamur, antihiperlipidemia, antidiabetes dan penyakit lainnya (Tropical Plant Database, 2013).

Masyarakat Indonesia masih sedikit yang mengetahui bahwa singawalang dapat dijadikan sebagai obat herbal antidiabetes dan penelitian di Indonesia saat ini belum ada yang mengkaji efek singawalang yang tumbuh di Indonesia terhadap kadar glukosa darah. Dalam penelitian terdahulu menunjukkan bahwa tanaman singawalang mengandung senyawa flavonoid, triterpenoid, steroid, dan saponin (Mulyani dkk., 2012).

Saat ini diabetes melitus di Indonesia merupakan ancaman serius bagi pembangunan kesehatan dan

pertumbuhan ekonomi nasional. Oleh karenanya, pengendalian diabetes melitus perlu dilakukan dengan sungguh-sungguh, secara komprehensif dan integritas. Sekitar 382 juta orang di seluruh dunia, diperkirakan menderita diabetes dan 80% berada di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah. Pada 2035, diperkirakan 592 juta orang atau satu dari sepuluh orang dewasa menderita diabetes, setara dengan sekitar tiga kasus baru per 10 detik, atau hampir 10 juta per tahun. Peningkatan terbesar dominan berlangsung di negara-negara berkembang (IDF, 2013).

Perkembangan komunikasi, industri dan lingkungan dapat menimbulkan berbagai perubahan dalam pola hidup manusia yang berdampak pada tingkat kesehatan seseorang baik secara positif maupun negatif. Pola gaya hidup yang tidak sehat berdampak negatif terhadap kesehatan di antaranya adalah penyakit diabetes melitus. Diabetes melitus merupakan kelompok penyakit metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia akibat cacat pada sekresi insulin, aksi insulin atau keduanya serta terjadi perubahan progresif terhadap struktur sel beta

pancreas (American Diabetes Association, 2015).

Selama ini pengobatan yang telah dilakukan untuk penderita diabetes adalah suntikan insulin dan pemberian obat oral antidiabetes yang memiliki efek samping seperti sakit kepala, pusing, mual, dan anoreksia serta membutuhkan biaya yang mahal sehingga banyak penderita yang berusaha mengendalikan kadar glukosa darahnya dengan cara tradisional menggunakan bahan alam seperti tanaman herbal (Prameswari dan Widjanarko, 2014).

Dengan melihat fakta-fakta di atas sehingga peneliti berkeinginan untuk melakukan penelitian terhadap tanaman singawalang terutama yang digunakan adalah bagian daunnya. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji aktifitas antidiabetes ekstrak etanol dan fraksinya dari daun singawalang dan untuk menentukan dosis paling baik yang dapat menurunkan glukosa darah pada hewan yang mengalami resistensi insulin.

Metode Penelitian

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu alat maserasi,

penangas air, batang pengaduk, cawan penguap, beker gelas, gelas ukur, erlenmeyer, tabung reaksi, krus silika, *rotary evaporator*, pipet tetes, kertas timbang, kertas saring, vial, corong pisah, oven, timbangan analitik, timbangan hewan, restrainer mencit, sonde oral, alat suntik, dan glukometer *Easy Touch*[®].

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan antara lain daun singawalang yang diperoleh dari Kampung Cijahe, Kelurahan Curug Mekar, Kecamatan Bogor Barat, Kota Bogor; emulsi lemak dengan komposisi lemak 20 g, kolesterol 5 g, propiltiourasil 1 g, fruktosa 5 g, sukrosa 5 g, natrium glutamat 1 g, propilenglikol 30 mL, tween 20 mL dan akuades ad. 100 mL (Ai dkk., 2005).

Hewan Uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit jantan galur *Swiss Webster* dengan bobot badan 20-30 gram, berumur 2-3 bulan, sehat dan memiliki aktivitas normal yang diperoleh dari Laboratorium Hewan, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung.

Jalannya Penelitian

Pada metode toleransi glukosa, hewan uji dibagi dalam 8 kelompok yaitu kelompok kontrol positif, kelompok

pembandingan glibenklamida 0,65 mg/kg bb, kelompok hewan uji yang diberikan ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dengan dosis 80 mg/kg bb. Kadar glukosa darah awal mencit diukur dengan mengambil sampel darah pada vena ekor (T_0) lalu diberikan bahan uji secara per oral. Setelah 30 menit seluruh mencit diberikan larutan glukosa 3 g/kg bb secara oral. Pengukuran kadar glukosa darah kembali dilakukan pada menit ke-60, 90, 120, dan 150 (Fitriani, 2014).

Metode resistensi insulin, hewan dibagi menjadi 10 kelompok yang terdiri dari kelompok kontrol negatif, positif (kelompok sakit), uji, dan pembandingan metformin 65 mg/kg bb. Hewan uji diberikan emulsi tinggi lemak selama 14 hari untuk menginduksi terjadinya kondisi resistensi insulin kecuali kontrol negatif. Hewan yang telah mengalami resistensi insulin kemudian diberikan sediaan uji selama 14 hari. Pengujian sensitivitas insulin dilakukan dengan memberikan insulin 0,1 U/kg bb secara intraperitoneal kemudian kadar glukosa darah diukur per 15 menit selama 1 jam.

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan alat *Easy Touch*[®].⁷

Hasil dan Pembahasan

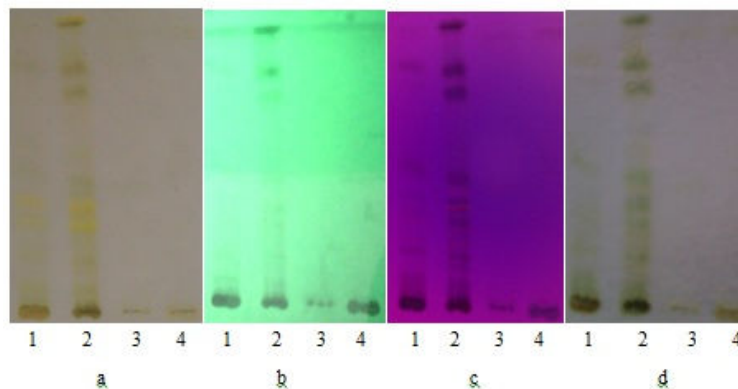
Ekstraksi simplisia daun singawalang (*Petiveria alliacea* L) dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil ekstraksi disaring kemudian filtrat dipekatkan dengan alat *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental, kemudian ekstrak kental dilarutkan metanol 20% sampai larut, kemudian dilakukan fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair secara bertingkat menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan volume fasa air:fasa organik (1:1). Proses ekstraksi cair-cair tiap pelarut dilakukan sebanyak tiga kali. Masing-masing fraksi dipekatkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator*. Karakteristik dilakukan pada ekstrak etanol dan fraksinya meliputi penetapan rendemen, bobot jenis dan pola kromatografi yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil karakteristik ekstrak dan fraksi daun singawalang

Parameter	Ekstrak Etanol	Fraksi n-Heksana	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Air
Rendemen (%)	5,20	56,60	2,00	41,40
Bobot Jenis (g/mL)	1,02	0,78	0,93	1,25

Pemantauan ekstrak dan fraksi (Gambar 1) dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan plat silika gel GF₂₅₄ dengan pendekteksian bercak di bawah sinar

tampak, sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Penampak bercak yang digunakan adalah H₂SO₄ 10% dalam metanol.



Gambar 1. Visualisasi bercak dari ekstrak etanol dan fraksi dari daun singawalang pada plat silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform:metanol (9,75:0,25, v/v); (a) sinar tampak, (b) UV λ 254 nm, (c) UV λ 366 nm, (d) setelah disemprot asam sulfat 10% dalam metanol, di bawah sinar tampak. (1) Ekstrak etanol, (2) Fraksi *n*-heksana, (3) Fraksi etil asetat, dan (4) Fraksi air.

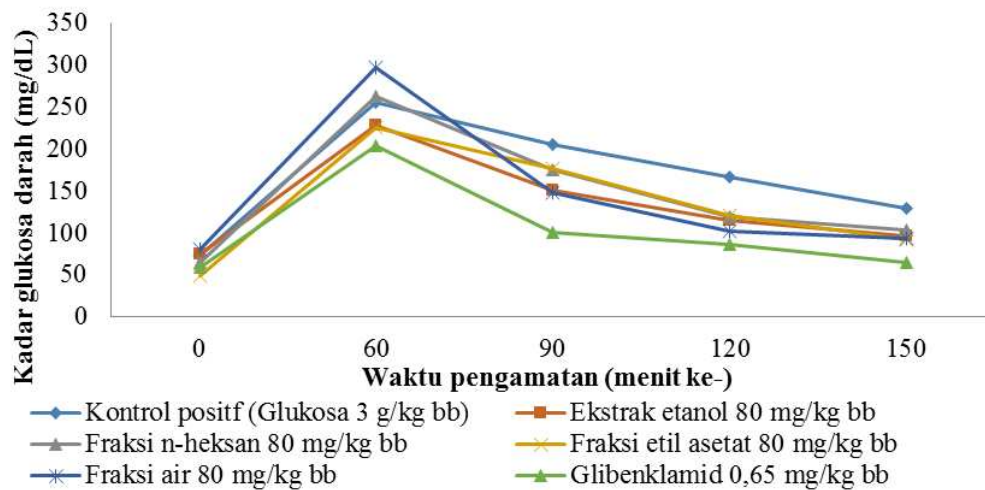
Simplisia kering daun singawalang diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh

ekstrak kental. Proses fraksinasi dilakukan dengan cara menambahkan metanol 20% 400 mL ke dalam ekstrak kental 100 gram. Filtrat kemudian difraksinasi dengan metode ekstraksi

cair-cair secara bertingkat menggunakan pelarut n-heksana dan etil asetat. Masing-masing fraksi dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

Profil kadar glukosa darah (Gambar 2) menggunakan metode toleransi glukosa, menunjukkan bahwa pada menit ke-60 terjadi peningkatan kadar glukosa darah pada setiap kelompok uji karena adanya proses absorpsi glukosa yang diberikan. Berdasarkan data percobaan pada menit ke-60, diketahui bahwa pemberian

ekstrak dan fraksi daun singawalang memiliki kemampuan untuk menghambat kenaikan kadar glukosa. Rata-rata kadar glukosa darah terhadap kondisi awal dari seluruh bahan uji tersebut lebih rendah dan berbeda bermakna ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok kontrol. Hasil dari pembuatan model hewan diabetes dengan metode resistensi insulin, nilai rata-rata K_{TI} mencit yang diinduksi emulsi dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 2. Profil kadar glukosa darah uji toleransi glukosa.

Tabel 2. Profil kadar glukosa darah pada uji toleransi glukosa

Kelompok	Kadar glukosa darah (mg/dl) pada pengamatan menit ke-			
	60	90	120	150
Kontrol positif	255,60±54,68	205,40±45,96	166,20±35,86	129,20±29,57
Ekstrak etanol 80 mg/kg bb	227,80±81,55	150,60±27,05	114,20±18,76*	96,00±11,24*
Fraksi n-heksana 80 mg/kg bb	262,80±118,63	175,20±90,94	119,00±22,37*	102,60±14,50*
Fraksi etil asetat 80 mg/kg bb	225,60±60,60	176,80±49,75	119,80±22,30*	91,80±19,57*
Fraksi air 80 mg/kg bb	296,60±115,72	148,00±56,41	101,20±14,39*	92,60±15,36*
Glibenklamida 0,65 mg/kg bb	203,60±92,72	99,80±28,66*	86,20±28,53*	64,80±10,15*

* = Berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol positif

Tabel 3. Nilai rata-rata K_{TTI} mencit induksi emulsi tinggi lemak dan gula

Kelompok	$K_{TTI} \pm SD$
Kontrol positif	0,15 ± 0,14
Ekstrak etanol 80 mg/kg bb	2,61 ± 2,07
Ekstrak etanol 160 mg/kg bb	3,19 ± 2,72*
Fraksi n-heksana 80 mg/kg bb	4,44 ± 2,86*
Fraksi n-heksana 160 mg/kg bb	1,77 ± 1,83
Fraksi etil asetat 80 mg/kg bb	3,91 ± 1,48*
Fraksi etil asetat 160 mg/kg bb	2,79 ± 2,84
Fraksi air 80 mg/kg bb	2,81 ± 1,41
Fraksi air 160 mg/kg bb	4,82 ± 2,71*
Metformin 65 mg/kg bb	3,22 ± 2,56*

* = Berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol positif

Metode uji toleransi glukosa dilakukan pada mencit jantan normal sebagai salah satu uji pendahuluan untuk mengetahui kemampuan bahan uji dalam mengembalikan kadar glukosa darah setelah pemberian larutan glukosa. Metode uji toleransi glukosa

diawali dengan pengukuran kadar glukosa darah awal (T_0), kemudian diberikan bahan uji. Setelah 30 menit seluruh mencit diberikan larutan glukosa 3 g/kg bb. Pengukuran kadar glukosa darah kembali dilakukan pada menit ke-60, 90, 120, dan 150. Perbandingan yang

digunakan dalam metode ini adalah glibenklamida yang merupakan antidiabetik oral golongan sulfonilurea. Mekanisme kerja utama dari sulfonilurea yaitu meningkatkan pelepasan insulin dari pankreas. Terdapat dua mekanisme kerja tambahan dari sulfonilurea yaitu penurunan kadar glukagon serum dan penutupan kanal kalium di jaringan ekstra pankreatik (Katzung, 2009).

Dari data Tabel 2 pada keadaan normal, peningkatan kadar glukosa darah dapat menimbulkan terjadinya pelepasan insulin oleh sel β pancreas (Katzung, 2009). Keberadaan insulin tersebut akan meningkatkan metabolisme glukosa dalam tubuh sehingga kadar glukosa darah akan turun. Pada menit ke-90 semua kelompok hewan mengalami penurunan kadar glukosa darah yang membuktikan adanya kerja insulin dalam tubuh hewan uji. Penurunan kadar glukosa darah dengan nilai berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol untuk pengukuran pada menit ke-90 hanya ditunjukkan kelompok pembanding glibenklamida 0,65 mg/kg bb. Setelah menit ke-120 dan ke-150, seluruh kelompok uji mengalami penurunan kadar glukosa darah yang berbeda

bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol.

Pada metode uji resistensi insulin, hewan uji diberikan emulsi tinggi lemak dan glukosa selama 14 hari untuk menginduksi terjadinya resistensi insulin atau penurunan sensitivitas insulin. Obat pembanding yang digunakan dalam metode uji ini adalah metformin dari golongan biguanida, dengan mekanisme kerja adalah meningkatkan sensitivitas insulin (Katzung, 2009). Keadaan resistensi insulin dapat dilihat dari kecepatan insulin dalam menurunkan kadar glukosa darah. Semakin cepat insulin menurunkan kadar glukosa darah menunjukkan tingginya sensitivitas jaringan terhadap insulin (American Diabetes Association, 2015).

Pada penelitian ini, penentuan sensitivitas insulin dilakukan dengan metode toleransi insulin intraperitoneal. Kadar glukosa darah diukur per 15 menit selama 1 jam setelah pemberian insulin intraperitoneal 0,1 U/kg bb. Sensitivitas insulin dinyatakan dalam nilai K_{TTI} (konstanta tes toleransi insulin) yang merupakan nilai gradien atau kemiringan kurva dikalikan 100 dari kurva regresi linear logaritma natural kadar glukosa darah terhadap waktu (Fitriani, 2014). Nilai K_{TTI} yang semakin kecil

menunjukkan penurunan kadar glukosa darah yang kecil sehingga menunjukkan adanya resistensi insulin.

Berdasarkan Tabel 3, kelompok ekstrak etanol 160 mg/kg bb, fraksi n-heksana dan etil asetat 80 mg/kg bb, fraksi air 160 mg/kg bb dan kelompok pembanding metformin 0,65 mg/kg bb menunjukkan adanya perbaikan sensitivitas jaringan terhadap insulin berbeda bermakna ($p < 0,05$) dengan kontrol positif, yang paling dominan ditunjukkan pada fraksi air 160 mg/kg bb.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ekstrak etanol dan fraksinya, daun singawalang dapat menurunkan kadar glukosa. Dosis yang menunjukkan adanya perbaikan sensitivitas insulin adalah pada fraksi air ekstrak etanol daun singawalang dosis 160 mg/kg bb.

Daftar Pustaka

- Ai, J., Wang, N., Yang, M., Du, Z.M., Zhang, Y.C., dan Yang, B.F. 2005. Development of wistar rat model Insulin Resistance. *World J. Gastroenterol.*, 11(24):3675-3679.
- American Diabetes Association. 2015. Standards of Medical Care in Diabetes-2015. *Diabetes care*, 38:Suplemen 1.
- Fitriani, N.H.N. 2014. Aktivitas antidiabetes melitus fraksi dari ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap mencit jantan swiss Webster. *Tesis*. Institut Teknologi Bandung.
- International Diabetes Federation. 2013. *IDF Diabetes Atlas*. Sixth edition. Belgium: IDF.
- Katzung, B.G. 2009. *Basic and Clinical Pharmacology*. 11thEd. China, McGrawHill.
- Mulyani, Y., Sukandar, E.Y., Adnyana, I.K. 2012. Aktivitas antibakteri singawalang (*Petiveria alliacea*) terhadap bakteri yang resisten dan peka terhadap antibiotik. *Disertasi*. Bandung: Sekolah Farmasi, ITB.
- Prameswari, O.M., Widjanarko, S.B. 2014. Uji efek ekstrak air daun pandan wangi terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histologi tikus diabetes mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2):16-27.
- Tropical Plant Database entry for ANAMU-*Petiveria alliacea*. 1996. Tersedia dari :<http://rain-tree.com/anamu.htm#>. Diunduh 12 Januari 2015.