

Ekstrak Air Tapak Dara Menurunkan Kadar Gula dan Meningkatkan Jumlah Sel Beta Pankreas Kelinci Hiperglikemia

*(THE WATER EXTRACT OF TAPAK DARA DECREASES BLOOD GLUCOSE
CONCENTRATION AND INCREASES INSULIN PRODUCTION
BY PANCREATIC BETA-CELLS ON HYPERGLYCEMIC RABBIT)*

Srikayati Widyastuti¹, I Nyoman Suarsana²

¹Laboratorium Penyakit Dalam Hewan Kecil, ²Laboratorium Biokimia
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar, Bali
Telp. (0361) 8423062. Email : suarsana65@yahoo.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui peran ekstrak air tapak dara (*Catharanthus roseus*) menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan jumlah sel beta pankreas pada kelinci hiperglikemia. Penelitian ini menggunakan 15 ekor kelinci jantan lokal, ditempatkan secara acak dan dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan. Kelompok 1 (K-) adalah perlakuan kontrol negatif, kelompok 2 (K+) adalah kelompok positif hiperglikemia, kelompok 3 (KT1) dan kelompok 4 (KT2) adalah kelompok hiperglikemia yang diberi 50% ekstrak air daun tapak dara dosis masing-masing 1 dan 2 g/kg bb dan kelompok 5 (KO) adalah kelompok hiperglikemia yang diberi obat glibenklamid 2 mg/kg bb. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air daun tapak dara dosis 1 g/kg bb belum mampu menurunkan kadar glukosa darah pada kelinci hiperglikemia sedangkan pemberian dosis 2 g/kg bb mampu menurunkan kadar glukosa darah pada kelinci dalam keadaan hiperglikemia dan tidak berbeda nyata bila dibandingkan dengan perlakuan obat glibenklamid ($P>0,05$). Secara imunohistokimia dapat dinyatakan bahwa ekstrak air daun tapak dara mampu menstimulasi sel beta pankreas untuk menghasilkan hormon insulin.

Kata kunci: Glukosa darah, insulin, kelinci, tapak dara (*Catharanthus roseus*)

ABSTRACT

The present study was carried out to investigate the effects of tapak dara (*Catharanthus roseus*) on blood glucose level and insulin profile in hyperglycemic rabbits. Fifteen local male rabbits were used for this study. The rabbits were randomly divided into five groups. Group 1 (K-), a control negative group; group 2 (K+), a control positive hyperglycemia; group 3 (KT1) and group 4 (KT2), were groups hyperglycemia and treated with water extract of tapak dara doses 1 and 2 g/kg bw, respectively; and group 5 (KO), a group hyperglycemia that treated with glibenclamide 2 mg/kg bw. The result showed water extract of tapak dara dose 1 g/kgbw could not decrease the blood glucose level in hyperglycemic rabbits, while dose 2 g/kg bw could decline blood glucose level in rabbits. This decline had no significantly difference compared with glibenclamide treatment ($P> 0.05$). Immunohistochemistry result indicated that water extract of tapak dara could stimulate beta cells pancreas to produce insulin.

Key word: Blood glucose, insulin, rabbit, tapak dara (*Catharanthus roseus*)

PENDAHULUAN

Metabolisme glukosa merupakan proses yang sangat kompleks yang dipengaruhi serta di regulasi oleh diet dan hormon terutama insulin dan glukagon. Glukosa merupakan karbohidrat yang penting oleh karena hampir semua karbohidrat di dalam makanan akan diubah menjadi glukosa dan dioksidasi menghasilkan energi yang sangat penting bagi semua organisme hidup (Murray *et al.*, 2003).

Kadar gula (glukosa) darah merupakan refleksi dari keadaan nutrisi, emosi dan fungsi endokrin. Suatu keadaan ketika kadar glukosa darah sangat tinggi melebihi kadar normal disebut hiperglikemia. Hiperglikemia biasanya terjadi apabila sel beta dalam pulau Langerhans tidak dapat menghasilkan insulin atau mengalami defisiensi insulin (Dominiczak, 2005). Defisiensi insulin menyebabkan gangguan proses biokimia dalam tubuh, yaitu penurunan ambilan glukosa ke dalam sel dan peningkatan pelepasan glukosa dari hati ke dalam sirkulasi. Hiperglikemia disebabkan karena kegagalan sekresi insulin dan atau kerja insulin (El-Soud *et al.*, 2007).

Kerusakan pada sel-sel beta penghasil insulin menyebabkan produksi atau sekresi insulin mengalami penurunan. Keadaan ini dapat menyebabkan kondisi hiperglikemia yang mengakibatkan terjadinya penyakit diabetes. Oleh karena itu, perlu dicari suatu obat alternatif yang mengandung bahan aktif yang berfungsi sebagai penurun kadar glukosa darah dan dapat mempercepat regenerasi sel beta. Akhir-akhir ini, komponen bahan aktif dari beberapa tanaman obat, dan bahan pangan telah dilaporkan mempunyai aktivitas biologis yang berguna untuk pengobatan penyakit diabetes secara empiris. Efek hipoglikemik komponen bioaktif pada tanaman tersebut berkontribusi dalam mengembalikan fungsi sel beta pankreas sehingga menyebabkan peningkatan sekresi insulin (Klein *et al.*, 2007). Dilaporkan pula, kebanyakan tumbuhan yang mengandung flavonoid, glikosida, alkaloid, terpenoid, dan keratenoid mempunyai efek sebagai antidiabetes (Kim *et al.*, 2006).

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah tapak dara (*Catharanthus roseus*). Bagian-bagian tanaman ini baik pada akar, batang, daun hingga bunga mengandung zat kimia, seperti alkaloid, leurosine, vinblastin, vincristine, dan vindoline yang bermanfaat untuk mengobati diabetes

melitus, hepatitis, asma dan bronkitis (Dalimartha, 2003; Sumarsi dan Hutajulu, 2003).

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari peran ekstrak air daun tapak dara menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan jumlah sel beta pankreas penghasil insulin pada kelinci hiperglikemia. Hipotesis penelitian ini adalah ekstrak daun tapak dara dapat mencegah naiknya kadar glukosa darah pada kelinci hiperglikemia sesaat.

METODE PENELITIAN

Penyiapan Ekstrak Daun Tapak Dara.

Ekstrak 50% daun tapak dara dewasa yang digunakan dibuat dengan cara menimbang sebanyak 100 g daun tapak dara segar yang telah ditambahkan 100 ml aquades lalu dilumatkan dengan *blender* dan disimpan selama 24 jam di lemari pendingin. Selanjutnya disaring dengan kertas saring no. 30 (*ekwip filter paper*) dan diambil filtratnya sebagai ekstrak air. Ekstrak air yang diperoleh digunakan untuk penelitian selanjutnya.

Perlakuan Hewan Percobaan

Pada penelitian ini digunakan kelinci jantan lokal sebanyak 15 ekor umur 5 bulan, dengan rata-rata badan 1570 g. Setelah kelinci diadaptasikan terhadap lingkungan kandang percobaan selama kurang lebih 2 minggu, kemudian kelinci dikelompokkan menjadi 5 kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari 3 ekor kelinci. Kelompok 1 (K-), kontrol negatif; kelompok 2 (K+), kontrol positif hiperglikemia; kelompok 3 (KT1), kelompok hiperglikemia dan diberi ekstrak air tapak dara 50% dosis 1 g/kg bb; kelompok 4 (KT2), kelompok hiperglikemia dan diberi ekstrak air tapak dara 50% dosis 2 g/kg bb, dan kelompok 5 (KO), kelompok hiperglikemia dan diberi obat glibenklamid 2 mg/kg bb (obat komersial, generik). Untuk membuat kondisi hiperglikemia, kelinci diberi sukrosa 3 g/kg bb per oral (Efizal *et al.*, 2007). Perlakuan ekstrak air daun tapak dara maupun obat glibenklamid diberikan 15 menit sebelum pemberian larutan sukrosa.

Analisis Kadar Glukosa Darah.

Sebelum pengukuran kadar glukosa darah, hewan coba dipuasakan 12 jam (Aybar *et al.*, 2001). Pengukuran kadar glukosa darah

dilakukan pada menit ke-0, 30, 60, 120, dan 180 menit setelah perlakuan. Pengambilan darah dilakukan di vena telinga (*Vena auricularis*) dengan menusuk vena dengan jarum 23G. Kadar glukosa darah diukur dengan menggunakan *Blood glucose Test Meter GlucoD®* model AGM-2100 sesuai prosedur alat. Kadar glukosa darah akan terbaca di layar *GlucoD®* setelah 11 detik dan kadar glukosa darah dinyatakan dalam mg/dl.

Deteksi Insulin pada Pankreas secara Imunohistokimia.

Jaringan pankreas difiksasi selama 24 jam dalam larutan Bouin, selanjutnya diproses dengan metode standar menggunakan parafin. Pewarnaan imunohistokimia pada preparat jaringan pankreas menggunakan metode tidak langsung dua tahap atau metode antibodi berlabel enzim (Beesley, 1995). Setelah deparafinasi dan rehidrasi, jaringan diinkubasi dengan H₂O₂ dalam methanol untuk menghilangkan aktivitas peroksidase endogen, kemudian jaringan diinkubasi dalam *bovine serum albumin* (BSA) untuk menutupi bagian antigen yang tidak spesifik. Setelah dicuci dengan *phosphat buffer saline* (PBS), jaringan kemudian diinkubasi dalam antibodi primer monoklonal antiinsulin pada suhu 4°C. Kemudian jaringan diinkubasi dalam antibodi sekunder Dako Envision Peroksidase (Dako K 1941). Hasil reaksi antigen-antibodi divisualisasikan dengan menggunakan *diamino benzidine* (DAB) yang selanjutnya dikounterstain dengan hematoksilin. Pengamatan secara kuantitatif dilakukan pada semua sel beta pankreas hewan percobaan, yang jika positif terdapat insulin pada sel beta ditunjukkan

dengan warna coklat. Penghitungan sel-sel beta pankreas dilakukan per lapang pandang pada pembesaran 400x, yang dilakukan pada 5 lapang pandang yang berbeda secara acak pada setiap preparat jaringan.

Analisis Data.

Hasil pengukuran kadar glukosa darah dan jumlah sel beta pankreas kelinci perlakuan masing-masing dianalisis dengan analisis sidik ragam menggunakan rancangan acak lengkap. Untuk melihat perbedaan jumlah sel beta antar kelompok perlakuan dilakukan pengujian lanjut menggunakan uji beda Duncan (Steel dan Torrie, 1993)

HASIL DAN PEMBAHASAN

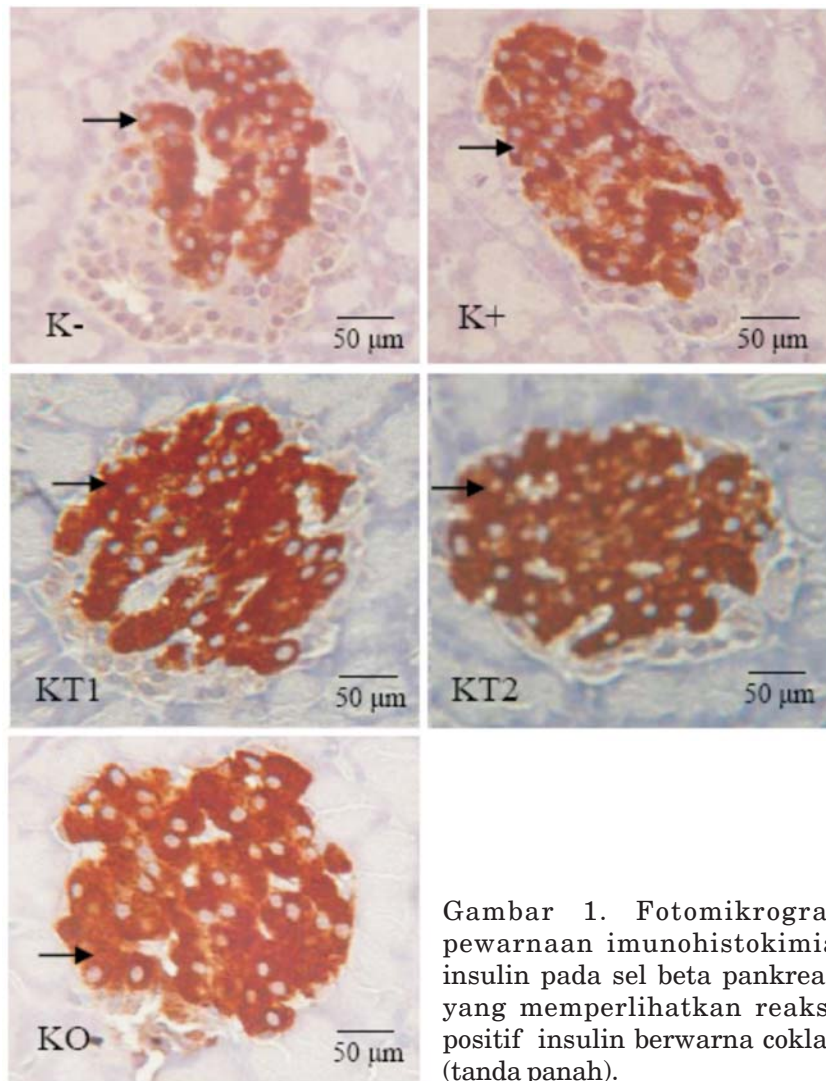
Kadar Glukosa Darah

Hasil uji daya hipoglikemia ekstrak air tapak dara terhadap kadar glukosa darah pada kelinci percobaan disajikan pada Tabel 1. Pada Tabel 1, tersaji bahwa kadar glukosa darah kelinci pada awal percobaan pada semua kelompok berkisar antara 91,7-94 mg/dl dan tidak berbeda nyata (P>0,05). Menurut Malole dan Pramono (1989), kadar glukosa darah normal pada kelinci berkisar antara 75-150 mg/dl. Setelah pemberian sukrosa 3 g/kgbb, kadar glukosa darah kelinci percobaan sangat bervariasi. Data Tabel 1 menunjukkan bahwa respon kadar glukosa darah yang diamati setelah perlakuan hiperglikemia mengalami kenaikan dan terus naik mencapai kadar tertinggi pada menit ke-60 setelah perlakuan. Kemudian perlahan turun hingga mendekati kadar glukosa awal sampai pada menit ke-180.

Tabel 1. Rataan kadar glukosa darah (mg/dl) kelinci percobaan

Perlakuan	Pengamatan Menit ke (mg/dl)				
	0	30	60	120	180
Kontrol Negatif (K-)	91,7 ^a	92,0 ^a	95,0 ^a	91,0 ^a	94,0 ^a
Hiperglikemia (K+)	94,0 ^a	151,0 ^b	203,0 ^c	136,3 ^d	109,0 ^d
KT1	93,0 ^a	159,0 ^c	184,0 ^d	122,0 ^c	104,0 ^c
KT2	93,0 ^a	135,0 ^d	145,0 ^b	125,0 ^c	100,0 ^b
KO	92,0 ^a	118,7 ^e	141,3 ^b	118,0 ^b	97,0 ^a

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf *superscript* yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05). K(-):kontrol negatif; K(+): kontrol positif hiperglikemia; KT1: ekstrak tapak dara dosis 1g/kg bb; KT2: ekstrak tapak dara dosis 2 g/kg bb dan KO: perlakuan glibenklamid 2 mg/kg bb



Gambar 1. Fotomikrograf pewarnaan imunohistokimia insulin pada sel beta pankreas yang memperlihatkan reaksi positif insulin berwarna coklat (tanda panah).

Pada perlakuan kontrol positif hiperglikemia (K^+) kadar gula naik tinggi pada menit ke-60 dan turun kembali pada menit ke-180, sedangkan kenaikan kadar gula pada kelinci yang diberi ekstrak daun tapak dara (KT2) dan obat glibenklamid (KO) tidak setinggi pada perlakuan KT1 dan kontrol positif hiperglikemia. Hal ini menunjukkan bahwa adanya hambatan atau pencegahan naiknya kadar gula darah. Pada Tabel 1 tampak kadar gula kelinci yang diberi ekstrak tapak dara dan glibenklamid menit ke-60, lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol positif hiperglikemia (K^+) dan secara statistika berbeda nyata ($P < 0,05$).

Penghambatan atau pencegahan naiknya kadar gula darah pada pemberian ekstrak tapak dara kemungkinan disebabkan oleh kandungan zat bioaktif pada ekstrak tapak dara. Menurut Dalimarta (2003), senyawa alkaloid seperti

leurosine, catharantine, lochnerine, dan vindoline yang terdapat pada daun tapak dara mempunyai kasiat sebagai hipoglikemik. Kemungkinan cara kerja zat bioaktif ini adalah dengan menstimulasi pelepasan hormon insulin pada pankreas (Sumarsi dan Hutajulu 2003) atau melalui penghambatan kerja enzim α -glukosidase pemecah karbohidrat di usus. Hormon insulin berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah, dengan cara meningkatkan ambilan glukosa ke dalam sel (Dominiczak, 2005).

Pemberian ekstrak tapak dara (KT2) dan glibenklamid mempunyai efek yang sama dalam menurunkan kadar glukosa darah meskipun secara statistika tidak berbeda nyata ($P > 0,05$). Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa ekstrak tapak dara berpotensi mencegah atau menghambat kenaikan kadar glukosa darah

Tabel 2. Rataan jumlah sel beta pankreas kelinci percobaan

Perlakuan	Rataan jumlah sel beta
K(-)	54,87 ± 0,31 ^c
K(+)	59,40 ± 0,53 ^b
KT1	60,20 ± 0,60 ^b
KT2	65,80 ± 0,60 ^a
KO	66,33 ± 0,12 ^a

Keterangan : Angka yang diikuti dengan huruf *superscript* yang sama pada baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (P>0,05). K(-): kontrol negatif; K(+): kontrol positif hiperglikemia; KT1: ekstrak tapak dara dosis 1g/kg bb; KT2: ekstrak tapak dara dosis 2 g/kg bb dan KO: perlakuan glibenklamid 2 mg/kg bb

Pewarnaan Imunohistokimia Insulin Pankreas

Gambaran mikroskopis sel beta secara imunohistokimia dan jumlah sel beta pankreas disajikan pada Gambar 1 dan Tabel 2.

Pada Gambar 1, terlihat sel-sel beta pankreas menunjukkan reaksi positif berwarna coklat. Reaksi positif insulin dengan warna coklat hampir memenuhi pulau Langerhans hal ini menunjukkan bahwa sel-sel beta pankreas mengandung insulin.

Pada Tabel 2 terlihat jumlah sel beta perlakuan ekstrak daun tapak dara (KT2) dan obat glibenklamid lebih tinggi bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya dan berbeda nyata (P<0,05). Jika dihubungkan dengan Gambar 2, tampak hormon insulin memenuhi pulau Langerhans pankreas sehingga terlihat jelas terdapat peran ekstrak air daun tapak dara dalam menstimulasi sel beta untuk membentuk dan mensekresikan insulin.

Menurut Gottesman 2004, glibenklamid merupakan obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea, yang bekerja menurunkan kenaikan kadar gula darah dengan cara meningkatkan kerja insulin untuk menurunkan kadar glukosa darah.

Peran insulin dalam penyerapan glukosa ke dalam sel dimulai dari ditangkapnya insulin oleh reseptor pada membran sel, kemudian kompleks insulin-reseptor akan mengaktifkan ATP-ase membran sehingga memecah ATP menjadi ADP. Kompleks insulin-respetor ini akan memberi signal untuk mengaktifkan tranporter glukosa (GLUT-4) sehingga siap untuk

menerima dan memindahkan glukosa dari luar ke dalam sel (Lienheard *et al.*, 2002).

Berdasarkan pada jumlah sel beta pankreas dan profil hormon insulin secara imunohistokimia dapat dinyatakan bahwa ekstrak air daun tapak dara diduga mampu merangsang sel beta untuk menghasilkan dan melepaskan hormon insulin. Meskipun demikian perlu dilakukan analisis kadar hormon insulin pada serum atau plasma.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak air daun tapak dara mampu mencegah naiknya kadar glukosa darah pada kelinci dalam keadaan hiperglikemia sesaat dan secara imunohis-tokimia mampu menstimulasi sel beta pankreas untuk menghasilkan hormon insulin.

DAFTAR PUSTAKA

Aybar JM, Riera NS, Grau A, Sanchez SS. 2001. Hypoglycemic effect of water extract of *Sallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *J. of Ethnopharmacology*. 74:125-132

Beesley JE. 1995. Immuno-cytochemistry: A Practical Approach. IRL. New York. Press Oxford University Press. P.15-41

Dalimartha S. 2003. Tapak dara (*Catharanthus roseus*) atlas tumbuhan obat Indonesia. Jakarta.

Dominiczak MH. 2005. Glucose homeostasis, fuel metabolism and insulin. In Baynes JW dan Dominiczak MH Editor. *Medical Biochemistry*. Second Edition. Elsevier Mosby. Hlm 273-197

Efizal, Soemiati A, Hanafi M, Dwiyanti I. 2007. Uji aktivitas penghambatan enzim a-glukosidase daun *Kalanchoe kinnata*. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 4(1):37-47.

El-Soud NHA, Khalil MY, Hussein JS, Oraby FSH, Farrag ARH. 2007. Antidiabetic Effects of Fenugreek Alkalioid Extract in Streptozotocin Induced Hyperglycemic Rats. *J of Appl Sci Res*. 3(10): 1073-1083

Gottesman I. 2004. Managing obesity and glycemic control in insulin-using patients: clinical relevance and practice recommendations. *Diabetes Research and Clinical Practice* 65S:17S-22S

- Kim JS, Ju JB, Choi CW, Kim SC. 2006. Hypoglycemic and antihyperlipidemic effect of four korean medicinal plants in alloxan induced diabetic rats. *Am J Biochem and Biotech* 2: 154-16.
- Klein G, Kim J, Himmeldirk K, Cao Y, Chen X. 2007. Antidiabetes and Anti-obesity Activity of *Lagerstroemia speciosa*. *eCAM*. 4(4)401-407
- Lienhard GE, Slout JW, James DE, Mueckler M. 2002. How Cells Absorb Glucose. *J. of Scientific American*. 3:235-238
- Malole MBM, Pramono CSU. 1989. *Penggunaan Hewan-Hewan percobaan di Laboratorium*. Bogor: PAU IPB
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. 2003. *Biokimia Harper* (terjemahan: Andry Hartono). Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Pp. 581-597.
- Steel RGD, Torrie JH. 1993. Prinsip dan Prosedur Statistika, suatu pendekatan biometrik. Terjemahan: Ir. Bambang Sumantri. Jakarta. PT. Gramedia Pustaka utama. Pp. 168-205
- Sumarsi, Hutajulu TF. 2003. Isolasi dan Analisis Vinblastin dan Vincristine dari Tanama Tapak Dara (*Catharathus L*) Berdasarkan Jarak Potong Tanaman. Prosiding Seminar dan Pameran Nasional Tanaman Obat Indonesia XXXIII. Jakarta 25-26 Maret 2003. Pp. 403-407