

Ekstrak Etanol Daun Eboni Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Jantan yang Diinduksi Aloksan

(ETHANOLIC EXTRACT OF EBONI LEAF DECREASE BLOOD GLUCOSE LEVEL IN ALLOXAN INDUCED MALE RATS)

Khairiah Kartini¹, Akhmad Khumaidi²,
Khildah Khaerati², Ihwan²

¹Jurusan Farmasi,
²Laboratorium Biofarmasetika,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Tadulako,
Kampus Bumi Tadulako, Jln Soekarno Hatta,
Palu, Sulawesi Tengah, Indonesia, 94118
Email:

ABSTRACT

Eboni (*Diospyros celebica* Bakh.) leaf is part of the plant which used on empirically to decrease blood glucose levels. This study aims to knowing the activity of ethanol extract of ebony leaf in decrease blood glucose levels and the effective dose equivalent to glibenclamide. The study use 25 white rats male (*Rattus norvegicus* L.) which divided in 5 groups, that is negative control (0.5% NaCMC), positive control (glibenclamide 0.45 mg / kgBW), Etanolic Extarac Eboni Folium (EEDE) 200 mg / kgBW, EEDE 350 mg / kgBW, EEDE 500 mg / kgBW. All groups of white rats were used alloxan induction with dose 140 mg / kgBW intraperitoneal. Three days, after induction, rats with elevated blood glucose levels >200 mg/dL were treated for 21 days orally. Blood glucose measurement was performed 5 times on days 0, 3, 10, 17, and 24. Blood glucose data was analyzed using One Way ANOVA with 95% confidence level. It is revealed that ebony leaf extract had activity in decrease blood glucose level by alloxan induction method where the effective dose equivalent to glibenclamide was dose 500 mg/kgBW.

Keywords: Eboni leaves, Blood Glucose Level, Aloksan

ABSTRAK

Daun eboni (*Diospyros celebica* Bakh) merupakan bagian tanaman yang secara empiris digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun eboni dalam menurunkan kadar glukosa darah serta menentukan dosis efektif yang sebanding dengan *glibenklamid*. Hewan uji yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvegicus* L.) jantan yang terdiri dari 5 kelompok, yaitu kontrol negatif (NaCMC 0,5%), kontrol positif (*glibenklamid* 0,45 mg/kgBB), Ekstrak Etanol Daun Eboni (EEDE) 200 mg/kgBB, EEDE 350 mg/kgBB, EEDE 500 mg/kgBB. Semua kelompok tikus didiabeteskan menggunakan induksi aloksan dengan dosis 140 mg/kgBB secara intraperitoneal. Hari ke-3 setelah induksi, tikus yang mengalami peningkatan kadar glukosa darah di atas 200 mg/dL diberi perlakuan selama 21 hari secara per oral. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan 5 kali yaitu pada hari ke-0, 3, 10, 17, dan 24. Data hasil penurunan kadar glukosa darah dianalisis menggunakan sidik ragam satu arah dengan taraf kepercayaan 95%. menunjukkan bahwa ekstrak daun eboni memiliki aktivitas dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan metode induksi aloksan. Dosis efektif yang sebanding dengan *glibenklamid* adalah dosis 500 mg/kgBB.

Kata-kata kunci: daun eboni; kadar glukosa darah; aloksan

PENDAHULUAN

Glukosa darah merupakan gula yang terdapat dalam darah yang terbentuk dari karbohidrat dan digunakan untuk menghasilkan energi. Peningkatan kadar glukosa darah merupakan gejala awal terjadinya penyakit diabetes mellitus. Diabetes Mellitus (DM) adalah salah satu penyakit tidak menular yang terus mengalami peningkatan prevalensi dan berkontribusi terhadap penyebab peningkatan angka kematian yakni 63% di seluruh dunia, yang artinya diabetes mellitus membunuh 36 juta jiwa per tahunnya. Menurut *International Diabetes Federation* (2015), secara global WHO memperkirakan bahwa kadar glukosa darah yang tinggi menempati urutan ketiga faktor risiko kematian dini setelah tekanan darah tinggi dan akibat penggunaan tembakau.

Efek samping antidiabetika oral yang tidak diinginkan mendorong para ahli mengembangkan sistem pengobatan tradisional untuk menurunkan kadar glukosa darah yang relatif aman (Agoes, 1991). Berdasarkan laporan penelitian sebelumnya (Zulfiani *et al.*, 2013; Megawati *et al.*, 2016), bahwa secara empiris masyarakat suku Kaili Tara, di Desa Binangga, Kecamatan Parigi Tengah dan Suku Kaili Ija di Desa Bora, Kecamatan Sigi Biromaru, Kabupaten Sigi, Sulawesi Tengah memanfaatkan daun eboni (*Diospyros celebica* Bakh) sebagai obat untuk menurunkan kadar glukosa darah.

Berdasarkan uraian tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk melakukan pengujian efek ekstrak etanol daun eboni (*D. celebica* Bakh) terhadap penurunan kadar glukosa darah pada hewan uji tikus jantan (*Rattus norvegicus* L.) penderita DM dengan metode induksi aloksan.

METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini terdapat kelompok perlakuan terdiri dari lima kelompok uji. Kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah tikus percobaan sebelum dan sesudah diinduksikan aloksan. Hewan uji dengan kadar glukosa darah di atas 200 mg/dL setelah pengiduksian aloksan yang selanjutnya dibagi menjadi lima kelompok uji masing-masing terdiri dari lima ekor dan diberikan perlakuan.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan

Januari sampai Mei 2017 di Laboratorium Biodiversitas, Jurusan Biologi, laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Jurusan Farmasi, laboratorium Farmakologi-Biofarmasi Jurusan Farmasi, Universitas Tadulako, Palu, Sulawesi Tengah.

Tahap Persiapan Bahan Uji

Daun eboni (*Diospyros celebica* Bakh) diperoleh dari Desa Ngatabaru, Kecamatan Sigi Biromaru, Kabupaten Sigi, Kota Palu, Provinsi Sulawesi Tengah dan dilakukan identifikasi di Laboratorium Biodiversitas, untuk memastikan bahwa daun eboni adalah benar jenis *D. celebica* Bakh.

Bagian tanaman yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau tua. Daun eboni dipisahkan terlebih dahulu dari kotoran yang menempel selanjutnya dicuci hingga bersih dengan air yang mengalir. Setelah itu daun eboni dirajang hingga terbentuk bagian yang lebih kecil dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Setelah kering rajangan daun eboni dipilah untuk memisahkan kotoran yang mungkin ada pada saat proses pengeringan. Kemudian simplisia daun eboni dibuat serbuk dengan cara *diblender*.

Tahap Ekstraksi

Pembuatan ekstrak etanol daun eboni dilakukan dengan cara ekstraksi. Maserasi. Serbuk simplisia daun eboni yang telah *diblender* dimasukkan dalam wadah maserasi dan ditambahkan etanol 96% hingga serbuk terendam. Didiamkan selama 72 jam lalu ditutup dengan sesekali diaduk. Setelah 72 jam, disaring untuk mendapatkan filtratnya. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental.

Tahap Uji Penapisan Fitokimia (Harbone, 1987)

Ekstrak etanol daun eboni yang telah didapatkan kemudian diuji kualitatif terhadap senyawa flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid, dan tanin

Tahap Pengujian Efek Penurunan Kadar Glukosa Darah

Sebanyak 25 ekor hewan uji (telah diaklimatisasi selama tujuh hari) dipuasakan selama 17 jam dan dilakukan pengukuran kadar glukosa darah awal tikus. Selanjutnya dilakukan induksi menggunakan aloksan dosis 140 mg/kgBB secara intraperitoneal. Pada hari ke-3 setelah induksi aloksan diukur kadar glukosa

darah tikus kembali. Tikus dengan kadar glukosa di atas 200 mg/dL dibagi menjadi lima kelompok dan diberikan perlakuan selama 21 hari sesuai dengan pembagian kelompok. Kelompok 1 diberi perlakuan suspensi NaCMC 0,5%; Kelompok 2 diberi suspensi *glibenklamid* 0,45 mg/kgBB; Kelompok 3 diberi suspensi ekstrak etanol daun eboni dosis 200 mg/kgBB; Kelompok 4 diberi suspensi ekstrak etanol daun eboni dosis 350 mg/kgBB; dan Kelompok 5 diberi suspensi ekstrak etanol daun eboni dosis 500 mg/kgBB. Kadar glukosa darah tikus percobaan diukur setelah 7, 14, 21 hari pemberian sediaan uji.

Analisis Data

Data kadar glukosa darah diuji normalitasnya dengan uji *Shapiro Wilk*. Dikatakan terdistribusi normal jika $p > 0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan uji homogenitas (*uji levene*), nilai $p > 0,05$ berarti data yang didapat homogen. Selanjutnya dilakukan analisis secara statistika, Uji Sidik Ragam Satu Arah pada taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan Tukey HSD untuk melihat adanya perbedaan antar kelompok. Data yang tidak terdistribusi normal dianalisis secara non parametrik yakni menggunakan uji *Mann Whitney*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Hasil Ekstrak Kental dari maserasi 1500 g serbuk daun eboni (*D. celebica* Bakh) dengan 9 L etanol 96% diperoleh *rendemen* 9,43%.

Hasil Penapisan Fitokimia

Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Selama penelitian dilakukan pengamatan terhadap kadar glukosa darah tikus, baik sebelum induksi dan setelah hiperglikemia yang dilanjutkan dengan pemberian perlakuan selama 21 hari. Pada hari ke 0, 3, 10, 17, dan 24 dilakukan pengukuran kadar glukosa darah dalam setiap kelompok. Dapat dilihat pada tabel 4.2.

Terdapat variasi yang besar terhadap data penurunan kadar glukosa darah oleh masing-masing kelompok perlakuan, untuk melihat tingkat penurunan kadar glukosa yang merata, maka berikut disajikan Tabel 4.3

Grafik profil kadar glukosa darah tikus sebelum induksi (hari ke-0), setelah hiperglikemia (hari ke-3), setelah hari ke-10, 17, dan 24 pemberian sediaan *glibenklamid* dan ekstrak etanol daun eboni dengan berbagai dosis.

Penelitian ini menggunakan bahan uji

ekstrak daun eboni yang yang didasarkan pada penelitian etnobotani yang mana daun eboni secara empiris telah digunakan oleh masyarakat untuk menurunkan kadar glukosa darah (Zulfiani *et al.*, 2013; Megawati *et al.*, 2016). Bahan tersebut diidentifikasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa tumbuhan yang diteliti adalah eboni. Metode maserasi dipilih sebagai metode dalam mengekstraksi dan diperoleh *rendemen* ekstrak sebesar 9,43%. Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa pada ekstrak daun eboni memberikan hasil yang positif terhadap golongan senyawa flavonoid, fenolik, saponin, alkaloid, dan tanin (Tabel 1). Sebelum dilakukan pengukuran kadar glukosa darah tikus, terlebih dahulu tikus dipuasakan selama 17 jam. Tujuannya untuk menghindari peningkatan kadar glukosa darah akibat pakan yang dikonsumsi. Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus disajikan pada Tabel 2.

Hasil pengukuran kadar glukosa awal antara 89,40-103,80mg/dL yang menunjukkan bahwa semua hewan uji memiliki kadar glukosa yang normal, yakni berkisar 50-135 mg/dL dan setelah tiga hari *pasca*induksi alokan dosis 140 mg/dL terlihat kadar glukosa darah meningkat menjadi 350,0-403,6 mg/dL (Szkudelski 2001). Tikus yang hiperglikemia dengan kadar glukosa di atas mg/dL kemudian diberi perlakuan sesuai kelompoknya secara oral selama 21 hari dan dilakukan pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke 10, 17, dan 24.

Hasil uji statistika menunjukkan bahwa pada hari ke-10, kadar glukosa darah tikus *pasca* perlakuan kontrol negatif tidak berbeda dengan ekstrak eboni dosis 200 mg/kgBB dan 350 mg/kgBB. Namun, memilik perbedaan yang signifikan dengan dosis 500 mg/kgBB dan kontrol positif *glibenklamid*. Hal ini menunjukkan bahwa pada hari ke-10 ekstrak eboni dosis 500 mg/kg BB telah memberikan efek penurunan kadar glukosa darah namun belum setara dengan kontrol positif.

Hasil analisis hari ke-17 menunjukkan bahwa kadar gula tikus pada perlakuan kontrol negatif nyata berbeda dengan perlakuan ekstrak eboni dosis 200 mg/kgBB, 350 mg/kg BB, 500 mg/kgBB, dan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa ketiga dosis ekstrak telah dapat memberikan efek penurunan kadar glukosa darah namun belum setara dengan kontrol positif.

Hasil analisis hari ke-24 menunjukkan bahwa penurunan kadar glukosa darah kontrol negatif tidak nyata mengalami penurunan

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia ekstrak daun eboni

Golongan Senyawa	Hasil Positif	Hasil Identifikasi
Flavonoid	Larutan berwarna orange/merah/kuning	+
Fenolik	Larutan Berwarna Hijau tua	+
Saponin	Terbentuk busa	+
Alkaloid	Terbentuk endapan putih (mayer)	+
Tanin	Larutan berwarna biru tua/hitam	+

Keterangan : + = Ekstrak mengandung golongan senyawa yang diuji

Tabel 2. Hasil pengukuran secara rata-rata kadar glukosa darah tikus percobaan

Kelompok Perlakuan	Kadar Glukosa Darah (rata-rata \pm SD) mg/dL				
	H0	H3	H10	H17	H24
Kontrol (-)	103,8 \pm 7,85	350,0 \pm 41,50	344,4 \pm 36,44	346,2 \pm 48,01	326,4 \pm 35,13
Kontrol (+)	89,4 \pm 10,59	398,8 \pm 27,86	321,6 \pm 32,34	259,6 \pm 36,56	209,2 \pm 29,76
EEDE 200 mg/kgBB	103,2 \pm 7,12	375,6 \pm 18,66	366,8 \pm 27,04	336,6 \pm 33,12	302,4 \pm 43,17
EEDE 350 mg/kgBB	96,2 \pm 2,04	386,4 \pm 36,71	365,4 \pm 27,60	323,4 \pm 16,04	275,0 \pm 17,27
EEDE 500 mg/kgBB	97,4 \pm 11,01	403,6 \pm 29,64	359,0 \pm 30,52	314,0 \pm 23,45	230,6 \pm 31,67

Keterangan :

- H0 : Kadar glukosa darah sebelum pemberian perlakuan
- H3 : Kadar glukosa darah setelah pemberian aloksan 140 mg/kgBB
- H10 : Kadar glukosa darah setelah 7 hari pemberian sediaan uji
- H17 : Kadar glukosa darah setelah 14 hari pemberian sediaan uji
- H24 : Kadar glukosa darah setelah 21 hari pemberian sediaan uji
- Kontrol (-) : Kelompok perlakuan yang diberi NaCMC 0,5%
- Kontrol (+) : Kelompok perlakuan yang diberi glibenklamid 0,45 mg/kgBB
- EEDE : Kelompok ekstrak etanol daun eboni (sesuai dosis)

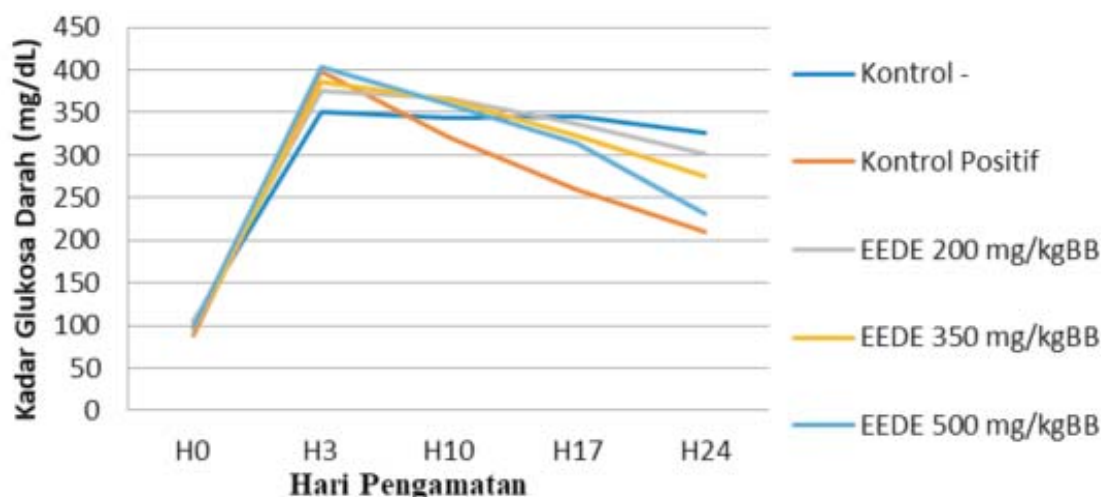
Tabel 3. Selisih rata-rata penurunan kadar glukosa darah tikus percobaan

Kelompok Perlakuan	Penurunan Kadar Glukosa Darah (rata-rata \pm SD) mg/dL		
	$\Delta 1$	$\Delta 2$	$\Delta 3$
Kontrol (-)	5,60 \pm 6,46 ^a	3,80 \pm 24,07 ^a	23,60 \pm 22,09 ^a
Kontrol (+)	77,20 \pm 12,41 ^c	139,20 \pm 20,35 ^d	189,60 \pm 20,81 ^c
EEDE 200 mg/kgBB	8,80 \pm 15,43 ^a	39,00 \pm 21,26 ^b	73,20 \pm 30,97 ^b
EEDE 350 mg/kgBB	21,00 \pm 12,00 ^a	63,00 \pm 27,49 ^{bc}	111,40 \pm 32,50 ^b
EEDE 500 mg/kgBB	44,60 \pm 11,26 ^b	89,60 \pm 28,74 ^c	173,00 \pm 45,01 ^c

dibandingkan dengan kelompok uji lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa NaCMC tidak memberikan efek terhadap penurunan kadar glukosa darah hewan uji setelah induksi aloksan. Kelompok ekstrak eboni dosis 200 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan dengan dosis 350 mg/kgBB, namun nyata berbeda dengan dosis 500 mg/kgBB dan kontrol positif.

Penurunan kadar glukosa darah tertinggi terjadi hari ke-24 pada tikus-tikus kelompok

perlakuan ekstrak eboni dosis 500 mg/kgBB, dan setara dengan perlakuan kontrol positif yang diberi *glibenklamid*. Peningkatan efek terjadi seiring dengan peningkatan dosis ekstrak eboni yang diberikan. Semakin tinggi dosis yang diberikan, maka semakin besar pula efek penurunan kadar glukosa darah. Namun, hasil uji statistika menunjukkan bahwa penurunan kadar glukosa darah pada perlakuan ekstrak 200 mg/kg BB dan 350 mg/kg BB tidak



Gambar 1. Rataan profil kadar glukosa darah pada tikus percobaan

memberikan perbedaan yang nyata.

Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak daun eboni mampu menurunkan kadar glukosa darah. Hal ini disebabkan oleh kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak daun eboni. Senyawa flavonoid secara umum diduga menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan pelepasan insulin (Tapas dan Kakde, 2008) dan diketahui mampu menangkap radikal bebas *reactive Oxygen Spesies* (ROS) atau *Reactive Nitrogen Spesies* (RNS) melalui transfer elektron (Lugasi *et al.*, 2003). Senyawa fenolik diduga memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mengurangi stres oksidatif (Barbosa, 2007).

Kandungan saponin diduga dapat menurunkan kadar glukosa darah melalui perbaikan resistensi insulin, melindungi sel beta pankreas, serta merangsang pengeluaran insulin. Selain itu saponin memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan mengatasi radikal bebas (Barky *et al.*, 2017).

Senyawa tanin diduga bekerja menurunkan kadar glukosa darah dengan cara menangkap radikal bebas dan mengurangi peningkatan stres oksidatif pada penderita DM sehingga mampu mengontrol kadar glukosa darah (Widowati, 2008).

Alkaloid diduga mempunyai kemampuan meregenerasi sel beta pankreas yang mengalami kerusakan. Kerja alkaloid dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu dengan cara meningkatkan transportasi glukosa darah, dan menghambat absorpsi glukosa di usus (Larantuka *et al.*, 2014). Selain itu, alkaloid juga diduga menurunkan kadar glukosa darah dengan mempotensiasi efek

insulin baik dengan meningkatkan sekresi insulin pankreas dari sel beta pulau langerhans atau dengan meningkatkan penyerapan glukosa perifer (Dineshkumar *et al.*, 2011).

Daftar Pustaka

- Agoes A. 1991. Pengobatan tradisional di Indonesia. *Medika* 17(8): 632
- Barbosa DS. 2007. Green tea polyphenolic compounds and human health. *Journal of Consumer Protection and Food Safety* 2: 407-413
- Barky AR, Hussein S, Abeer A, Eldeen H, Yehia A. 2017. Saponins and their potential role in diabetes mellitus, A-review. *Diabetes Manag* 7(1): 148-158
- Dineshkumar B, Mitra A, Mahadevappa M. 2010. Antidiabetic and hypolipidemic effects of mahanimbine (carbazole alkaloid) from *Murraya koenigii* (Rutaceae) leaves. *International Journal of Phytomedicine* 2: 22-30
- Harbone GB. 1987. *Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung. Institut Teknologi Bandung.
- Larantuka SV, Setiasih NLE, Widyastuti SK. 2014. Pemberian ekstrak etanol kulit batang kelor menurunkan glukosa darah tikus hiperglikemia. *Indonesia Medicus Veterinus* 3(4): 292-299

- Lugasi A, Hovari J, Sagi KV, Biro L. 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of disease. *Acta Biologica Szegediensis* 47: 119-125.
- Megawati, Anam S, Pitopang R. 2016. Studi etnobotani tumbuhan obat pada masyarakat Suku Kaili Ija di Desa Bora, Kecamatan Sigi Biromaru Kabupaten Sigi, Sulawesi Tengah. *Biocelebes* 10(1): 76-90.
- Szkudelski. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in b cell of the rat pancreas. *Poland Physiol Res* 50: 536-546
- Tapas ARDM, Kakde RB. 2008. Flavonoid as nutraceuticals: A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 7(3): 1089-1099
- Widowati W. 2008. Potensi antioksidan sebagai antidiabetes. *Jurnal Kedokteran Maranatha* 7(2): 1-9
- Zulfiani, Yuniaty E, Pitopang R. 2013). Kajian Etnobotani Suku Kaili Tara Di Desa Binangga Kecamatan Parigi Tengah Kabupaten Parigi Moutong Sulawesi Tengah. *Biocelebes* 7(1): 67-74.