



Antihyperglycemia ekstrak daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk) pada tikus putih jantan galur wistar terinduksi aloksan

STERNATAMI LIBERITERA, INDAH SOLIHAH*, DAN YUNI EKA SARI

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan 30862, Indonesia

<p>Kata kunci: ekstrak, hipoglikemi, karamunting</p>	<p>ABSTRAK: Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit endokrin yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa dalam darah secara abnormal. Pencegahan komplikasi DM dapat dihindari dengan menggunakan terapi antihyperglycemia. Hal tersebut dapat meningkatkan risiko efek yang tidak diinginkan. Penemuan senyawa antihyperglycemia dari tanaman obat dilakukan untuk menghindari efek samping tidak diinginkan. Salah satu tanaman obat yang memiliki potensi antihyperglycemia adalah karamunting (<i>Rhodomyrtus tomentosa</i> (Aiton) Hassk). Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antihyperglycemia ekstrak daun karamunting serta senyawa terdapat pada ekstrak dengan aktivitas tertinggi. Uji aktivitas dilakukan secara in vivo menggunakan tikus putih jantan galur wistar. Ekstraksi dilakukan secara maserasi bertingkat menggunakan n-heksan, etil asetat, dan etanol 96% sebagai pelarut. Terdapat 6 kelompok perlakuan, yaitu kelompok normal, kontrol positif, kontrol negatif, ekstrak n-heksan, ekstrak etil asetat, dan ekstrak etanol 96%. Kontrol positif adalah glibenklamid dan kontrol negatif adalah Na CMC 0,5 %. Identifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak dilakukan dengan cara skrining fitokimia. Analisis data statistik menggunakan one Way ANOVA. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun karamunting memiliki aktivitas terbaik menurunkan kadar glukosa darah dengan persen penurunan sebesar 40%. Hasil uji statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan antar masing-masing kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Pada ekstrak etanol 96% daun karamunting teridentifikasi senyawa flavonoid, fenol, tanin dan saponin.</p>
<p>Keywords: extract, hypoglycemia, karamunting</p>	<p>ABSTRACT: Diabetes Mellitus (DM) is an endocrine disease characterized by an abnormal increase in blood glucose levels. Prevention of DM complications could be avoided by using antihyperglycemic therapy. Thus, may increase the risk of adverse effects. The discovery of antihyperglycemic compounds from medicinal plants was carried out to avoid adverse effects. One of the medicinal plants that has antihyperglycemic potential is karamunting (<i>Rhodomyrtus tomentosa</i> (Aiton) Hassk). This study was aimed to examine the antihyperglycemic activity of karamunting leaf extract and the compounds present in the extract with the highest activity. Activity test was carried out in vivo using Wistar strain male white rats. Extraction was carried out by multilevel maceration using n-hexane, ethyl acetate, and 96% ethanol as solvents. There were 6 treatment groups, namely the normal group, positive control, negative control, n-hexane extract, ethyl acetate extract, and 96% ethanol extract. The positive control was glibenclamide and the negative control was 0.5% Na CMC. Identification of the compounds contained in the extract was carried out by phytochemical screening. Statistical data analysis using one way ANOVA. The results showed that 96% ethanol extract of karamunting leaves had the best activity in reducing blood glucose levels with a decrease of 40%. The statistical test results showed a significant difference between each treatment group ($p < 0.05$). In 96% ethanol extract of karamunting leaves, flavonoids, phenols, tannins and saponins were identified.</p>

1 PENDAHULUAN

Penyakit degeneratif merupakan penyakit tidak menular yang masih menjadi masalah di

beberapa negara. Indonesia merupakan salah satu negara dengan jumlah mortalitas tinggi pada pasien penyakit tidak menular. Salah satu penyakit tidak menular yang dapat menyebabkan kematian tinggi

* Corresponding Author: email: indahsolihah@mipa.unsri.ac.id

di Indonesia adalah Diabetes Melitus (DM). Hasil survei *International Diabetes Foundation* (IDF) tahun 2021 menyebutkan Indonesia menempati urutan ke 5 dari negara-negara dengan jumlah penderita diabetes terbanyak di dunia. Angka penderita Diabetes Melitus di Indonesia mencapai 19,5 juta orang [1]. Diabetes Melitus tipe-1 dapat terjadi akibat kerusakan sel beta pankreas ataupun karena berkurangnya sensitivitas insulin. Tatalaksana utama pasien diabetes melitus ditujukan untuk mengontrol kadar gula darah pasien. Hal ini dilakukan untuk mencegah progresivitas penyakit karena diabetes melitus yang tidak terkontrol dapat menyebabkan komplikasi berupa mikrovaskular dan makrovaskular yang dapat menurunkan kualitas hidup dan meningkatkan risiko mortalitas apabila tidak ditangani. Sejauh ini, telah ditemukan beberapa obat sintesis sebagai antihyperglukemia yang bekerja dengan beberapa mekanisme yaitu, meningkatkan sensitivitas insulin, meningkatkan produksi insulin oleh sel beta pankreas, menghambat pembentukan glukosa, menghambat glukoneogenesis, dan menghambat alfa glukosidase. Obat-obat antihyperglukemia dilaporkan memiliki banyak efek samping yang tidak diinginkan[2].

Indonesia merupakan negara sub tropis dengan aneka ragam flora. Beberapa tanaman Indonesia telah banyak diteliti dan memiliki potensi sebagai tanaman obat. Beberapa penelitian merekomendasikan untuk menggali potensi bahan alam sebagai terapi pendukung beberapa penyakit [3]. Tanaman obat memiliki banyak kandungan bermanfaat sebagai antioksidan seperti tannin, flavonoid, vitamin C, dan vitamin E yang dapat memberikan efek untuk menjaga fungsi sel β pancreas dan menurunkan kadar glukosa pada darah [4]. Salah satu tanaman yang dilaporkan memiliki potensi sebagai tanaman obat adalah karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk) yang termasuk ke dalam famili *Myrtaceae*. Tanaman karamunting merupakan salah satu tanaman Indonesia yang telah banyak diteliti sebagai tanaman obat [5]. Hasil penelitian sebelumnya juga mengemukakan bahwa daun karamunting memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi [6]

Eksplorasi terkait aktivitas antidiabetes dari ekstrak dengan berbagai kepolaran dari daun karamunting belum pernah dilaporkan. Diabetes melitus juga merupakan penyakit dengan indikasi peningkatan kadar gula darah yang mengarahkan ke kejadian stress oksidatif yang berperan dalam patogenesisnya [7]. Penggunaan senyawa alam yang memiliki aktivitas antoksidan seperti daun karamunting diperlukan untuk mengatasi penyakit seperti DM

karena antioksidan memodulasi stress oksidatif dengan cara menetralkan molekul reaktif terutama nitrogen dan oksigen [8].

2 BAHAN DAN METODA

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang telah mendapatkan persetujuan etik oleh KEPK RSUP Muhammad Hoesin dan FK Universitas Sriwijaya dengan No. 226/kepkrsmhfkunsri/2017. Uji aktivitas dilakukan secara in vivo pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi aloksan. Efek anti hyperglukemia diuji dari ekstrak n-heksana, etil asetat, dan etanol 96% daun karamunting yang didapat dengan metode maserasi bertingkat. Simplisia kering daun karamunting di dapat dari wilayah Kabupaten Ogan Ilir, Sumatera Selatan.

Terdapat 6 kelompok uji, yaitu kelompok normal, kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak etanol 96%, ekstrak etil asetat, ekstrak n-heksan. Masing-masing kelompok uji terdapat 4 ekor tikus. Hewan uji diinduksi menggunakan aloksan secara intraperitoneal untuk mendapatkan efek hyperglukemia akibat kerusakan sel beta pankreas. Kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini adalah glibenklamid yang merupakan obat hipoglikemia oral golongan sulfonilurea dengan mekanisme kerja merangsang sekresi insulin oleh sel beta pankreas.

2.1 Waktu dan tempat

Penelitian dilakukan mulai bulan April hingga September 2017 di Laboratorium Biologi dan Farmakologi Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, dan UPT Klinik Universitas Sriwijaya.

2.2 Prosedur Penelitian

Ekstraksi daun karamunting

Penelitian ini menguji aktivitas ekstrak dari tiga jenis pelarut yaitu n-heksana, etil asetat dan etanol 96%. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi bertingkat pada 1 kg simplisia kering daun. Simplisia kering ditambahkan pelarut n-heksana sebanyak 18 L pada wadah yang terlindung cahaya selama 2 x 24 jam. Maserat yang didapat disaring menggunakan kertas saring. Remaserasi menggunakan 16 L pelarut etil asetat selama 2 x 24 jam dilakukan pada residu serbuk simplisia yang telah kering dari pelarut n-heksan. Kemudian dilakukan kembali remaserasi pada residu simplisia yang telah kering dari pelarut etil asetat menggunakan 8 L etanol 96% selama 2 x 24 jam. Hasil maserat yang didapat dari masing-masing proses ekstraksi disaring menggunakan

kertas saring. Setiap proses remaserasi dilakukan hingga didapat maserat yang berubah warna menjadi bening. Hasil ekstrak pekat dari masing-masing pelarut didapat dengan menguapkan pelarut menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C [9].

Preparasi Hewan Uji

Tikus putih jantan galur *Wistar* yang digunakan pada penelitian ini dipilih yang berusia 2 – 3 bulan dengan berat badan 180 – 200 g. Perlakuan pada masing-masing kelompok tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1.

Kelompok	Perlakuan
Normal	Suspensi Na CMC 0,5%
Kontrol negatif	Aloksan + Suspensi Na CMC 0,5 %
Kontrol positif	Aloksan + Glibenklamid 0,59 mg/kgBB
I	Aloksan + Ekstrak etanol 280 mg/kg BB
II	Aloksan + Ekstrak etil asetat 280 mg/kg BB
III	Aloksan + Ekstrak n-heksana 280 mg/kg BB

Semua kelompok perlakuan kecuali kelompok normal diinduksi dengan aloksan dosis 130 mg/kgBB dalam larutan NaCl fisiologis secara intraperitoneal. Kadar glukosa dalam darah diukur menggunakan strip glukose-DR, tiga hari setelah penginduksian dengan mengambil sedikit darah melalui ekor tikus. Apabila KGD < 200mg/dL maka dilakukan kembali induksi aloksan 130mg/kgBB sampai KGD konstan > 200mg/dL yang menandakan adanya abnormalitas glukosa darah.

Uji efektivitas anti hiperglikemia daun karamunting

Efektivitas antihiperglikemia diuji dengan cara mengambil darah hewan uji melalui *plexus retroorbitalis* dari vena bagian mata dengan menggunakan pipet hematokrit sebanyak 1 mL. Darah ditampung dalam tabung non-EDTA kemudian disentrifugasi 2500 rpm selama 10 menit untuk mendapatkan serum darah. Kemudian dilakukan penambahan 1 mL reagen pereaksi GOD-PAP (*glucose oxidase phenol aminoantipirin*) dan digojok ad homogen lalu sampel diinkubasi pada suhu 25°C selama 15 menit. Inkubasi sampel dilakukan dengan tujuan memberikan waktu kepada enzim glukosa oksidase dan peroksidase bereaksi secara optimum karena apabila waktu inkubasi kurang dari waktu inkubasi optimum, maka enzim tidak akan bereaksi sempurna. Sedangkan apabila waktu lebih dari waktu optimum, maka senyawa yang terbentuk akan terdegradasi [10]. Prosedur pemeriksaan sampel darah terlampir pada Tabel 2.

Tabel 2. Prosedur Pengukuran KGD GOD-PAP

Larutan	Sampel	Baku	Blanko
Serum darah	10 µL	-	-
Glukosa standar	-	10 µL	-
Pereaksi	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

Uji Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun Karamunting Paling Potensial

a. Flavonoid

Sebanyak 0,1 g sampel ekstrak etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dilarutkan 5 mL etanol, kemudian dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Filtrat yang terbentuk diberi beberapa tetes HCl pekat lalu tambahkan kurang lebih 0,2 mg bubuk magnesium (logam Mg). Flavonoid identifikasi apabila timbul warna merah [11]

b. Fenolik dan Tanin

Sebanyak 0,1 g sampel ekstrak etanol dilarutkan dalam aquades 10 mL, dipanaskan 5 menit dan disaring. Filtrat yang terbentuk ditetesi 4 – 5 tetes FeCl₃. Adanya fenol dan tanin diidentifikasi dengan adanya warna biru tua atau hijau kehitaman [12].

c. Alkaloid

Sebanyak 0,1 g ekstrak etanol dilarutkan dengan 9 mL air suling dan 1 mL HCl 2 N, kemudian dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat yang didapat dilakukan pengujian dengan cara berikut berikut: Sejumlah 1 mL filtrat dipindahkan pada cawan porselein tambahkan 2 tetes pereaksi Wagner. Hasil positif menunjukkan adanya endapan coklat. Sejumlah 1 mL filtrat dipindahkan pada cawan porselin tambahkan 2 tetes pereaksi Mayer. Hasil positif menunjukkan adanya endapan putih. Sejumlah 1 mL filtrat dipindahkan pada cawan porselin tambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorf. Hasil positif menunjukkan adanya endapan jingga [11].

d. Saponin

Sebanyak 0,1 g sampel ekstrak etanol ditambahkan 10 mL air panas. Setelah itu didinginkan dan kocok secara kuat. Saponin diidentifikasi apabila ditemukan busa putih ≥1 cm yang stabil dan busa tidak hilang saat penambahan 1 tetes HCl 2N [11].

e. Steroid dan Triterpenoid

Sebanyak 0,1 g sampel ekstrak etanol dilarutkan dalam kloroform kemudian disaring. Hasil saringan ditetesi pada plat tetes sebanyak 2 – 3 tetes, biarkan mengering. Setelah kering, ditetesi pereaksi Lieberman-Burchard (2 tetes asam asetat anhidrat dan 1 tetes asam sulfat pekat). Hasil positif

mengandung terpenoid apabila terbentuknya warna merah, merah jambu, atau violet, sedangkan jika berwarna hijau atau biru menandakan positif adanya steroid [12].

2.3 Analisis Data

Data kadar gula darah berupa data rasio yang kemudian diuji normalitas menggunakan Shapiro-wilk. Data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$), diuji hipotesis menggunakan *One Way ANOVA* (*Confidence Interval 95%*). Uji statistik dilakukan menggunakan SPSS ver. 21. Selain itu, dilakukan juga perhitungan persen perubahan kadar glukosa darah menggunakan microsoft excel.

3 HASIL

3.1 Ekstraksi daun karamunting

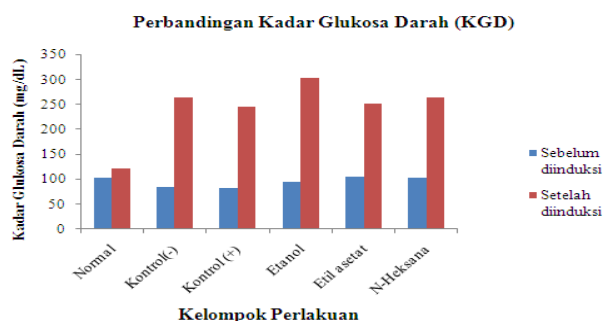
Hasil ekstraksi dari masing-masing pelarut dipresentasikan pada Tabel 3. Berdasarkan data tersebut dapat terlihat rendemen ekstrak paling tinggi diperoleh menggunakan pelarut etanol 96%. Penelitian ini menemukan bahwa pelarut n-heksan paling sedikit memperoleh rendemen.

Tabel 3. Data hasil berat dan % rendemen ekstrak etanol, etil asetat, dan n-heksana daun karamunting

Ekstrak	Berat Ekstrak (g)	% Rendemen
Ekstrak n-heksana	16,62	1,66
Ekstrak etil asetat	19,81	1,98
Ekstrak etanol 96%	44,61	4,4

3.2 Preparasi Hewan Uji

Gambar 3 merupakan profil KGD hewan uji dengan induksi aloksan. Kemudian dilakukan uji statistik untuk memastikan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada KGD antar kelompok hewan uji. Artinya, KGD hewan uji sebelum diujikan ekstrak daun karamunting adalah sama.



Gambar 1. Grafik perbandingan KGD sebelum dan sesudah induksi aloksan.

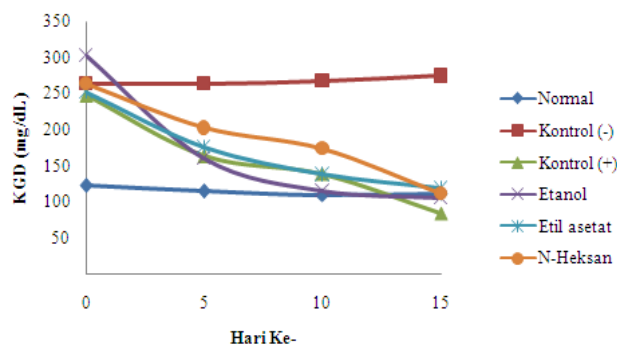
Dari hasil uji t-test berpasangan antar kelompok terhadap kadar glukosa darah didapatkan ada perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok perlakuan baik sebelum mendapatkan aloksan dan setelah mendapatkan aloksan.

3.3 Uji aktivitas anti hiperglikemia daun karamunting

Tabel 4 menyajikan hasil profil KGD hewan uji saat diberikan perlakuan. Setelah pemberian sediaan uji satu kali sehari selama 15 hari pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-5, 10, dan 15 diukur dengan menggunakan spektrofotometer DTN-410-K. Pada data tersebut terlihat bahwa adanya kenaikan KGD pada kontrol negatif, dan penurunan KGD pada kontrol positif. Gambar 2 juga menampilkan grafir KGD mulai hari ke 0 hingga hari ke 15, terlihat bahwa kadar glukosa darah kelompok normal stabil berada pada rentang kadar glukosa darah < 126 mg/dL sedangkan kelompok perlakuan mengalami perbedaan (kenaikan tinggi dan penurunan tinggi) disetiap hari pengamatan KGD dilakukan.

Tabel 4. Data rata-rata kadar glukosa darah pada hari ke-0 sampai hari ke-15

Kel.	Rata-rata kadar glukosa darah (mg/dL)			
	KGD Perlakuan			
	Hari ke-0	Hari ke-5	Hari ke-10	Hari ke-15
Normal	122,48 ± 22,6	114,89 ± 19,6	109,75 ± 2,1	111,89 ± 35,2
Kontrol Negatif	264,30 ± 21,6	264,30 ± 21,5	267,34 ± 20,7	274,56 ± 20,9
Kontrol Positif	247,27 ± 34,9	163,71 ± 0,5	138,76 ± 8,9	85,10 ± 26,1
Etanol 96%	302,27 ± 3,8	160,29 ± 37,6	115,71 ± 28,2	105,86 ± 18,1
Etil asetat	252,48 ± 22,7	176,51 ± 42,4	138,15 ± 29,8	118,73 ± 22,3
N-Heksana	263,21 ± 16,6	202,63 ± 4,8	173,74 ± 9,9	112,40 ± 6,7



Gambar 2. Grafik rata-rata KGD tikus setelah induksi aloksan

Nilai luas daerah dibawah kurva / *Area Under Curve* (AUC) kadar glukosa darah dari hari ke-0 sampai hari ke-15, dihitung untuk mengetahui perubahan kadar glukosa darah dari hari ke-0 sampai hari ke-15. Hasil perhitungan AUC_{0-15} dipresentasikan pada Tabel 5. Nilai AUC_{0-15} berbanding terbalik dengan aktivitas antihiperglikemia. Semakin rendah nilai AUC kelompok perlakuan, maka semakin baik aktivitasnya dalam penurunan kadar glukosa darah. Semakin besar persentase penurunan kadar glukosa maka aktivitas antihiperglikeminya semakin baik. Tabel 5 menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% memiliki aktivitas paling baik dalam menurunkan kadar glukosa darah dilihat dari nilai AUC dan %PKGD.

Tabel 5. Data rata-rata AUC_{0-15} dan % penurunan kadar glukosa darah (% PKGD)

Kelompok	AUC_{0-15}	%PKGD
Normal	1709	
Kontrol Negatif	4007	0
Kontrol Positif	2342,75	41,53
Etanol 96%	2400	40,10
Etil asetat	2500,75	37,59
N-heksana	2820,5	29,62

Tabel 6. Analisis statistik kadar glukosa darah antar kelompok perlakuan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	p
Between Groups	8779379.544	5	1755875.909	22.239	<0,001
Within Groups	947474.834	12	78956.236		
Total	9726854.378	17			

Kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan ekstrak etanol tidak memiliki perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$) karena glibenklamid dan ekstrak etanol daun karamunting mampu menurunkan kadar glukosa darah. Sedangkan kelompok kontrol negatif dan kelompok ekstrak terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) karena pemberian suspensi Na CMC 0,5% pada kontrol negatif tidak mempengaruhi penurunan kadar glukosa darah tikus. Perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar kelompok kontrol positif dan negatif menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah pada pemberian glibenklamid dari pada kontrol negatif karena tidak adanya senyawa yang memiliki aktivitas antidiabetes.

3.4 Uji Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun Karamunting Paling Potensial

Berdasarkan hasil uji aktivitas didapat bahwa ekstrak etanol 96% daun karamunting merupakan ekstrak yang memiliki aktivitas paling baik. Kemudian dilakukan uji skrining fitokimia dari ekstrak daun karamunting untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada ekstrak yang paling potensial tersebut. Hasil pengamatan skrining fitokimia disajikan pada Tabel 4. Tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak etanol 95% daun karamunting mengandung senyawa flavonoid, fenol, tanin dan saponin.

Tabel 7. Data hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 96% daun karamunting

Golongan Senyawa	Hasil Fitokimia
Flavonoid	+
Alkaloid	-
Fenol	+
Tanin	+
Terpenoid	-
Steroid	-
Saponin	+

Keterangan: (+) : Positif (-) : Negatif

4 PEMBAHASAN

4.1 Ekstraksi

Rendemen suatu ekstrak merupakan ukuran jumlah senyawa yang dapat diekstrak dari suatu simplisia. Berat rendemen dapat dipengaruhi oleh sifat polaritas senyawa yang terkandung dalam simplisia juga pelarut yang digunakan dalam menyari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% merupakan pelarut dengan rendemen tertinggi. Etanol merupakan pelarut universal yang dapat digunakan untuk ekstraksi berbagai senyawa [13]. Hal ini dikarenakan etanol bersifat semipolar karena memiliki struktur yang dapat melarutkan molekul polar dan nonpolar [14]. Berdasarkan hasil rendemen juga dapat diduga bahwa senyawa yang bersifat polar pada daun karamunting lebih banyak yang bersifat nonpolar. Pernyataan tersebut dapat didukung dengan hasil penelitian ini yang menunjukkan bahwa ekstrak dengan rendemen paling rendah adalah ekstrak dengan N-heksan. Pelarut n-heksan yang memiliki sifat tidak polar dibandingkan etanol 96%, hal tersebut dapat menjadi latar belakang penyebab ekstrak n-heksan memiliki rendemen paling rendah [15].

Selain polaritas pelarut, hal lain yang dapat memengaruhi berat rendemen adalah proses ekstraksi dan luas penampang simplisia yang berkontak dengan pelarut. Semakin kecil ukuran

partikel simplisia maka akan semakin besar luas permukaan partikel sehingga pelarut semakin mudah menarik komponen senyawa dari simplisia [16]. Hal lain yang dapat memengaruhi persen rendemen adalah lama proses ekstraksi, karena lama durasi ekstraksi berbanding lurus dengan jumlah rendemen yang dihasilkan [17]

4.2 Preparasi hewan uji

Pemilihan hewan uji pada penelitian ini didasari oleh sifat fisiologis hewan uji. Penelitian ini menguji antihiperqlikemia sehingga digunakan tikus jantan karena untuk mengurangi adanya bias pengamatan akibat hormon esterogen pada tikus betina. karena esterogen tersebut yang menjadi alasan diabetes melitus memiliki prevalensi yang lebih tinggi pada jenis kelamin laki-laki [18]. Hal ini dikarenakan estrogen menyebabkan penambahan sel-sel β pada pankreas Langerhans tikus putih diabetes [19]. Hasil penelitian menunjukkan distribusi data KGD yang sama antar kelompok perlakuan yang diinduksi aloksan (tidak terdapat perbedaan yang signifikan). Aloksan merupakan penginduksi hiperqlikemik yang digunakan pada penelitian ini. aloksan bekerja dengan cara untuk berikatan dengan reseptor GLUT 2 dan menyebabkan kerusakan sel sehingga didapat kondisi hiperqlikemi seperti pada pasien diabetes [20]. Selain itu, aloksan juga dapat merusak sel β pankreas sehingga produksi insulin berkurang dan menyebabkan hewan uji pada kondisi diabetes melitus tipe 1 [21]. Prosedur tersebut dilakukan dengan harapan hewan uji akan mengalami peningkatan kadar glukosa darah akibat kurangnya stimulasi transport glukosa.

Pengukuran glukosa darah puasa pada tahapan ini dilakukan untuk mengetahui respon dari induksi yang diberikan dan mengetahui besar respon insulin dalam menyeimbangkan gula darah dan proses ini lebih efektif untuk pengukuran glukosa darah pada penderita DM [22].

Induksi aloksan dilakukan secara berulang hingga didapat terget KGD ≥ 200 mg/dL (kondisi hiperqlikemi) pada tikus[21]. Dosis minimum yang dibutuhkan untuk menginduksi tikus adalah 120 mg/kgBB [23]. Pada penelitian ini dosis yang dipilih pada 130 mg/kgBB difungsikan untuk merusak sel β pankreas secara parsial dan perlahan sehingga sel β Langerhans masih dapat mengasilkan insulin[24]. Hasil menunjukkan bahwa induksi aloksan pada dosis tersebut menjukan kondisi hiperqlikemia yang ditandai dengan kadar GKS ≥ 200 mg/dL. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa induksi aloksan menyebabkan fase peningkatan glukosa darah yang

diikuti dengan kondisi DM yang stabil [25]. Pada awal induksi aloksan terjadi penurunan glukosa darah yang disebabkan oleh mekanisme stimulasi sekresi insulin sementara [26]

4.3 Uji aktivitas anti hiperqlikemia daun karamunting

Menurut teori aktivitas antihiperqlikemia untuk pasien DM dapat dilakukan melalui beberapa cara yaitu meningkatkan produksi insulin, meningkatkan sensitivitas insulin pada reseptornya, menghambat gluconeogenesis, menghambat DPP-4, menghambat SGLT2, dan menghambat enzim glucosidase alfa [27]–[32].

Kelompok kontrol positif mendapatkan Glibenklamid dengan dosis 0,59 mg/200KgBB. Glibenklamid merupakan obat antihiperqlikemia oral golongan sulfonilurea yang bekerja dengan cara merangsang sekresi insulin pada sel β pankreas. Hal ini sesuai dengan kondisi hewan uji dengan aloksan yang telah mengalami kerusakan sel β pankreas parsial sehingga masih terdapat produksi insulin pada jumlah yang sedikit. Grafik hasil uji menunjukkan bahwa ketiga ekstrak daun karamunting yang diuji memiliki aktivitas terhadap penurunan KGD hal ini terlihat pada penurunan grafik pada kelompok perlakuan. Artinya, terdapat aktivitas hipoglikemi yang diberikan oleh ekstrak daun karamunting, baik menggunakan pelarut etanol,etil asetat dan n-heksan. Aktivitas antihiperqlikemia pada ekstrak-ekstrak yang diuji memiliki aktivitas hampir sama dengan kontrol positif. Glibenklamid sebagai kontrol positif bekerja dengan mekanisme stimulasi sekresi hormon insulin dari sel β langerhans pankreas sehingga terjadi depolarisasi membran akibat adanya interaksi Glibenklamid dengan *ATP-sensitive-K-channel* pada membran sel β sehingga kanal kalsium (Ca) terbuka. Kanal Ca yang terbuka menyebabkan ion Ca^{2+} masuk ke dalam sel β dan memberikan stimulasi kepada sel β [33]. Kelompok perlakuan ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan n-heksana dengan dosis sama 280 mg/kgBB mengalami penurunan kadar glukosa darah yang diduga akibat adanya senyawa yang memiliki aktivitas antihiperqlikemia.

4.4 Uji Skrining Fitokimia pada Ekstrak Daun Karamunting Paling Potensial

Penurunan kadar glukosa darah yang ditemukan pada penelitian ini dapat disebabkan oleh adanya senyawa kimia dalam masing-masing ekstrak daun karamunting yang diduga memiliki aktivitas agen hipoglikemia. Hasil penelitian ini menunjukkan

bahwa ekstrak etanol 96% memiliki aktivitas paling baik mengandung senyawa flavonoid, fenol, tanin, dan saponin. Salah satu metabolit sekunder yang diidentifikasi terkandung pada ekstrak etanol 96% daun karamunting adalah flavonoid yang diklasifikasikan menjadi 6 subkelas (flavonols, flavones, flavanones, isoflavones, flavanols, and anthocyanidins) yang masing-masing dari senyawa tersebut memiliki mekanisme sebagai agen hipoglikemi yang berbeda [34].

Beberapa senyawa flavonoid subkelas flavonol seperti kuersetin memiliki mekanisme mirip dengan kerja sulfonilurea dan tiazolidindion dalam sekresi insulin dan sensitivitasnya terhadap insulin [35]. Beberapa senyawa flavonol yang diketahui memiliki aktivitas yang mirip dengan kontrol positif pada penelitian ini (glibenklamid) adalah kuersetin dan kaempferol [35], [36]. Selain itu, terdapat juga rutin yang merupakan senyawa yang golongan flavonol memiliki aksi dalam peningkatan penyerapan glukosa dan menghambat glukoneogenesis jaringan seperti pada kerja obat akarbose dan biguanid [37].

Golongan flavon khususnya hesperidin dan narigin diketahui dapat memberikan efek antihiperglikemia dengan memengaruhi GLUT 4 (Glucose Transporter Type 4) dengan meningkatkan transport glukosanya seperti mekanisme kerja insulin dalam mentransport glukosa [38]. Selain itu, narigin dapat memberikan efek dalam pengaturan produksi enzim yang memengaruhi glikolisis [39]. Senyawa flavon (baikalein) juga ada yang memiliki aktivitas untuk melemahkan resistensi insulin dengan meningkatkan *signaling* AMPK (AMP-activated protein kinase) [40].

Senyawa tanin yang diidentifikasi dari ekstrak etanol 96% daun karamunting pada penelitian ini memiliki efek aktivitas antihiperglikemia [41]. Tanin berperan dalam menstimulasi transport glukosa dan menghambat diferensiasi adiposa pada sel 3T3-L1 [42]. Kemudian saponin yang juga teridentifikasi pada ekstrak penelitian ini juga memiliki aktivitas antihiperglikemia dengan cara meregulasi jalur *signaling* secara bersamaan pada reseptor-reseptor yang terdapat di pancreas, hati, dan saluran cerna. Selain itu, saponin juga memiliki mekanisme kerja menghambat enzim α -glukosidase seperti obat OHO akarbose [43].

Berdasarkan literatur pendukung yang telah diuraikan tersebut maka dapat disimpulkan pada penelitian ini mekanisme antihiperglikemik dari ekstrak etanol 96% daun karamunting bisa didapat dari berbagai mekanisme menyerupai mekanisme kerja OHO yang berkerja sinergis, sehingga pada

hasil uji aktivitas terpresentasikan aktivitas mendekati kontrol positif (sulfonilurea) yang hanya bekerja untuk meningkatkan sekresi insulin oleh sel β pankreas. Namun, hal ini perlu penelitian lebih lanjut terkait senyawa pasti pada ekstrak etanol 96% daun karamunting yang diduga memiliki aktivitas dalam penurunan kadar glukosa darah.

5 KESIMPULAN

Ekstrak daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk) memiliki persentase penurunan kadar glukosa darah tertinggi pertama pada ekstrak etanol 96% (40,10%) mendekati penurunan kadar oleh glibenklamid (41,53%). Pada ekstrak etanol 96% daun karamunting teridentifikasi senyawa flavonoid, fenol, tanin dan saponin.

REFERENSI

- [1] World Health Organization, "Indonesia: diabetes country profile," 2016.
- [2] A. Chaudhury *et al.*, "Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management," *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 8, Jan. 2017, doi: 10.3389/fendo.2017.00006.
- [3] M. A. Lim and R. Pranata, "The insidious threat of jamu and unregulated traditional medicines in the COVID-19 era," *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, vol. 14, no. 5, pp. 895–896, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.dsx.2020.06.022.
- [4] W. Kooti, M. Farokhipour, Z. Asadzadeh, D. Ashtary-Larky, and M. Asadi-Samani, "The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review," *Electron Physician*, vol. 8, no. 1, pp. 1832–1842, Jan. 2016, doi: 10.19082/1832.
- [5] T. Vo and D. Ngo, "The Health Beneficial Properties of *Rhodomyrtus tomentosa* as Potential Functional Food," *Biomolecules*, vol. 9, no. 2, p. 76, Feb. 2019, doi: 10.3390/biom9020076.
- [6] W. Suryadinata *et al.*, "Telaah Fitokimia Senyawa Antioksidan dari Ekstrak dan Fraksi Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.) Fitokimia Studies on Antioxidants from Extract and Karamunting Leaves (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk.," *Prosiding Farmasi Spesial*, vol. 2, no. 2, pp. 664–669, 2016.
- [7] O. O. Elekofehinti, "Saponins: Anti-diabetic principles from medicinal plants – A review," *Pathophysiology*, vol. 22, no. 2, pp. 95–103, Jun. 2015, doi: 10.1016/j.pathophys.2015.02.001.
- [8] M. Kawser Hossain *et al.*, "Molecular Mechanisms of the Anti-Obesity and Anti-Diabetic Properties of Flavonoids," *Int J Mol Sci*, vol. 17, no. 4, p. 569, Apr. 2016, doi: 10.3390/ijms17040569.
- [9] Q.-W. Zhang, L.-G. Lin, and W.-C. Ye, "Techniques for extraction and isolation of natural products: a compre-

- hensive review," *Chin Med*, vol. 13, no. 1, p. 20, Dec. 2018, doi: 10.1186/s13020-018-0177-x.
- [10] N. Yuniarti, R. Nur Maulawati, and S. Pramono, "Effect Of Water Soluble Fraction Of Cotton Banana (*Musa Paradisiaca* L.) Ethanolic Extract On The Blood Glucose Levels In Vivo And Active Compounds Identification Pengaruh Pemberian Fraksi Larut Air Ekstrak Etanolik Pisang Kapas (*Musa Paradisiaca* L.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Secara In Vivo Dan Pelacakan Senyawa Aktifnya," *Traditional Medicine Journal*, vol. 19, no. 2, p. 2014, 2014.
- [11] Departemen Kesehatan Republik Indonesia, *Materia Medika Indonesia*, 4th ed. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995.
- [12] Harborne, *Motode Fitokimia*, 2nd ed. Bandung: Penerbit ITB, 1987.
- [13] N. Jiménez-Moreno, F. Volpe, J. A. Moler, I. Esparza, and C. Ancín-Azpilicueta, "Impact of Extraction Conditions on the Phenolic Composition and Antioxidant Capacity of Grape Stem Extracts," *Antioxidants*, vol. 8, no. 12, p. 597, Nov. 2019, doi: 10.3390/antiox8120597.
- [14] S. Henkel, M. C. Misuraca, P. Troselj, J. Davidson, and C. A. Hunter, "Polarisation effects on the solvation properties of alcohols," *Chem Sci*, vol. 9, no. 1, pp. 88–99, 2018, doi: 10.1039/C7SC04890D.
- [15] P. Subra-Paternault, M. del P. Garcia-Mendoza, R. Savoie, and C. Harscoat-Schiavo, "Impact of Hydro-Alcoholic Solvents on the Oil and Phenolics Extraction from Walnut (*Juglans regia* L.) Press-Cake and the Self-Emulsification of Extracts," *Foods*, vol. 11, no. 2, p. 186, Jan. 2022, doi: 10.3390/foods11020186.
- [16] E. S. Prasedya *et al.*, "Effect of particle size on phytochemical composition and antioxidant properties of *Sargassum cristaefolium* ethanol extract," *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, p. 17876, Sep. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-95769-y.
- [17] A. Abubakar and M. Haque, "Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes," *J Pharm Bioallied Sci*, vol. 12, no. 1, p. 1, 2020, doi: 10.4103/jpbs.JPBS_175_19.
- [18] M. Alemany, "Estrogens and the regulation of glucose metabolism," *World J Diabetes*, vol. 12, no. 10, pp. 1622–1654, Oct. 2021, doi: 10.4239/wjd.v12.i10.1622.
- [19] F. Ghaemmaleki, P. Mohammadi, M. Baeri, M. Navaei-Nigjeh, M. Abdollahi, and S. Mostafalou, "Estrogens counteract tributyltin-induced toxicity in the rat islets of Langerhans," *Heliyon*, vol. 6, no. 3, p. e03562, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03562.
- [20] L. A. D. Queiroz *et al.*, "Endangered Lymphocytes: The Effects of Alloxan and Streptozotocin on Immune Cells in Type 1 Induced Diabetes," *Mediators Inflamm*, vol. 2021, pp. 1–15, Oct. 2021, doi: 10.1155/2021/9940009.
- [21] O. M. Ighodaro, A. M. Adeosun, and O. A. Akinloye, "Alloxan-induced diabetes, a common model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies," *Medicina (B Aires)*, vol. 53, no. 6, pp. 365–374, 2017, doi: 10.1016/j.medic.2018.02.001.
- [22] M. Sinnott *et al.*, "Fasting Plasma Glucose as Initial Screening for Diabetes and Prediabetes in Irish Adults: The Diabetes Mellitus and Vascular Health Initiative (DMVhi)," *PLoS One*, vol. 10, no. 4, p. e0122704, Apr. 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0122704.
- [23] A. Mostafavinia, A. Amini, S. K. Ghorishi, R. Pouriran, and M. Bayat, "The effects of dosage and the routes of administrations of streptozotocin and alloxan on induction rate of type1 diabetes mellitus and mortality rate in rats," *Lab Anim Res*, vol. 32, no. 3, p. 160, 2016, doi: 10.5625/lar.2016.32.3.160.
- [24] S. S. Rahman, N. Yasmin, A. T. M. Mizanur Rahman, A. zaman, M. H. Rahman, and S. M. Abdur Rouf, "Evaluation and Optimization of Effective-dose of Alloxan for Inducing Type-2 Diabetes Mellitus in Long Evans Rat," *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, vol. 51, no. 4s, pp. s661–s666, Dec. 2017, doi: 10.5530/ijper.51.4s.96.
- [25] A. N. Lucchesi, L. L. Cassetari, and C. T. Spadella, "Alloxan-Induced Diabetes Causes Morphological and Ultrastructural Changes in Rat Liver that Resemble the Natural History of Chronic Fatty Liver Disease in Humans," *J Diabetes Res*, vol. 2015, pp. 1–11, 2015, doi: 10.1155/2015/494578.
- [26] P. Rorsman and F. M. Ashcroft, "Pancreatic β -Cell Electrical Activity and Insulin Secretion: Of Mice and Men," *Physiol Rev*, vol. 98, no. 1, pp. 117–214, Jan. 2018, doi: 10.1152/physrev.00008.2017.
- [27] W. Lv, X. Wang, Q. Xu, and W. Lu, "Mechanisms and Characteristics of Sulfonylureas and Glinides," *Curr Top Med Chem*, vol. 20, no. 1, pp. 37–56, Jan. 2020, doi: 10.2174/1568026620666191224141617.
- [28] H. E. Lebovitz, "Thiazolidinediones: the Forgotten Diabetes Medications," *Curr Diab Rep*, vol. 19, no. 12, p. 151, Dec. 2019, doi: 10.1007/s11892-019-1270-y.
- [29] M. Altay, "Acarbose is again on the stage," *World J Diabetes*, vol. 13, no. 1, pp. 1–4, Jan. 2022, doi: 10.4239/wjd.v13.i1.1.
- [30] B. Gallwitz, "Clinical Use of DPP-4 Inhibitors," *Front Endocrinol (Lausanne)*, vol. 10, Jun. 2019, doi: 10.3389/fendo.2019.00389.
- [31] D. S. Hsia, O. Grove, and W. T. Cefalu, "An update on sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors for the treatment of diabetes mellitus," *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, p. 1, Nov. 2016, doi: 10.1097/MED.0000000000000311.
- [32] G. Rena, D. G. Hardie, and E. R. Pearson, "The mechanisms of action of metformin," *Diabetologia*, vol. 60, no. 9, pp. 1577–1585, Sep. 2017, doi: 10.1007/s00125-017-4342-z.
- [33] M. Jadna Silva Frederico *et al.*, "Mechanism of Action of Novel Glibenclamide Derivatives on Potassium and Calcium Channels for Insulin Secretion," *Curr Drug Targets*, vol. 18, no. 6, pp. 641–650, Mar. 2017, doi: 10.2174/1389450117666160615084752.

- [34] AL-Ishaq, Abotaleb, Kubatka, Kajo, and Büsselberg, "Flavonoids and Their Anti-Diabetic Effects: Cellular Mechanisms and Effects to Improve Blood Sugar Levels," *Biomolecules*, vol. 9, no. 9, p. 430, Sep. 2019, doi: 10.3390/biom9090430.
- [35] P. Haddad and H. Eid, "The Antidiabetic Potential of Quercetin: Underlying Mechanisms," *Curr Med Chem*, vol. 24, no. 4, pp. 355–364, Mar. 2017, doi: 10.2174/0929867323666160909153707.
- [36] AL-Ishaq, Abotaleb, Kubatka, Kajo, and Büsselberg, "Flavonoids and Their Anti-Diabetic Effects: Cellular Mechanisms and Effects to Improve Blood Sugar Levels," *Biomolecules*, vol. 9, no. 9, p. 430, Sep. 2019, doi: 10.3390/biom9090430.
- [37] A. Ghorbani, "Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin," *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 96, pp. 305–312, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.biopha.2017.10.001.
- [38] Y. O. Agrawal *et al.*, "Hesperidin Produces Cardioprotective Activity via PPAR- γ Pathway in Ischemic Heart Disease Model in Diabetic Rats," *PLoS One*, vol. 9, no. 11, p. e111212, Nov. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0111212.
- [39] A. K. Singh *et al.*, "Isolated mangiferin and naringenin exert antidiabetic effect via PPAR γ /GLUT4 dual agonistic action with strong metabolic regulation," *Chem Biol Interact*, vol. 280, pp. 33–44, Jan. 2018, doi: 10.1016/j.cbi.2017.12.007.
- [40] Z. Yang, W. Huang, J. Zhang, M. Xie, and X. Wang, "Baicalein improves glucose metabolism in insulin resistant HepG2 cells," *Eur J Pharmacol*, vol. 854, pp. 187–193, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.ejphar.2019.04.005.
- [41] M. Ajebli and M. Eddouks, "The Promising Role of Plant Tannins as Bioactive Antidiabetic Agents," *Curr Med Chem*, vol. 26, no. 25, pp. 4852–4884, Oct. 2019, doi: 10.2174/0929867325666180605124256.
- [42] G. Oboh, O. B. Ogunsuyi, D. O. Adegbola, A. O. Ademiluyi, and F. L. Oladun, "Influence of gallic and tannic acid on therapeutic properties of acarbose in vitro and in vivo in *Drosophila melanogaster*," *Biomed J*, vol. 42, no. 5, pp. 317–327, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.bj.2019.01.005.
- [43] Y. Gu, X. Yang, C. Shang, T. T. P. Thao, and T. Koyama, "Inhibitory properties of saponin from *Eleocharis dulcis* peel against α -glucosidase," *RSC Adv*, vol. 11, no. 25, pp. 15400–15409, 2021, doi: 10.1039/D1RA02198B.