

AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN *Calophyllum inophyllum* Linn TERHADAP KADAR GULA DARAH MENCIT (*Mus musculus*) MODEL DIABATES MELLITUS

Antidiabetic Activity Of Ethanol Extract Of *Calophyllum inophyllum* Linn Leaves Against Blood Sugar Levels Of Mice (*Mus musculus*) Model Diabetes Mellitus

Abdul Mahid Ukratalo^{1*}, Martha Kaihena², Muhammad Reza Ramadhany³

^{1*,2} Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pattimura

*Correspondensi Author e-mail: abdulalmusaad@gmail.com

Informasi	Abstrak.
Kata kunci: <i>Calophyllum inophyllum</i> , diabetes mellitus, gula darah	Penggunaan obat herbal dalam mengobati penyakit diabetes mellitus telah digunakan secara turun-temurun karena selain efek sampingnya relatif kecil juga harga lebih ekonomis. Bintangur (<i>Calophyllum inophyllum</i> Linn) merupakan tumbuhan yang memiliki multi manfaat. Bintangur mengandung senyawa turunan xantona, kumarin, flavonoid, benzodipiranon, triterpenoid dan steroid. Senyawa flavonoid dalam daun bintangur diduga mampu menangkap radikal bebas yang menyebabkan kerusakan pada sel β pankreas penyebab diabetes mellitus. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun <i>Calophyllum inophyllum</i> Linn terhadap penurunan kadar gula darah mencit diabetes mellitus. Mencit sebanyak 20 ekor dibagi dalam 5 masing-masing kelompok KN, K (-), K (+), P1 = dosis 0,2 ml/ekor/hari dan P2 = dosis 0,4 ml /ekor/hari. Pada kelompok K(-), K(+), P1 dan P2 induksi STZ dan diamati kadar gula darah. Setelah terjadi peningkatan kadar gula darah pada kelompok K(+) diberikan obat metformin, P1 dan P2 diberikan ekstrak daun bintangur sesuai dosis yang telah ditentukan. Pengamatan kadar gula darah pasca induksi diamati pada hari ke 7 dan ke 14. Data hasil penelitian kemudian dianalisis menggunakan uji ANOVA. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai F hitung sebesar 177,503 dengan probabilitas F sebesar 0,000 (sig<0,05) yang berarti bahwa pemberian ekstrak etanol daun bintangur berpengaruh terhadap KGD mencit.
Information	Abstract.
Key words: <i>Calophyllum inophyllum</i> , diabetes mellitus, blood sugar	The use of herbal remedies in treating diabetes mellitus has been used for generations because in addition to the relatively small side effects, the price is more economical. Bintangur (<i>Calophyllum inophyllum</i> Linn) is a plant that has multiple benefits. Bintangur contains compounds derived from xantona, coumarins, flavonoids, benzodipiranones, triterpenoids and steroids. Flavonoid compounds in star leaves are thought to be able to capture free radicals that cause damage to cells β the pancreas that causes diabetes mellitus. The purpose of this study was to determine the potential of ethanol extract of <i>Calophyllum inophyllum</i> Linn leaves against decreasing blood sugar levels of diabetes mellitus mice. Mice of 20 heads divided into 5 groups KN, K (-), K (+), P1 = dose 0.2 ml / head / day and P2 = dose 0.4 ml / head / day. In the K(-), K(+), P1 and P2 groups STZ induction and blood sugar levels were observed. After an increase in blood sugar levels in the K (+) group, metformin drugs were given, P1 and P2 were given stargur leaf extract according to a predetermined dosage. Observation of post-induction blood sugar levels was observed on days 7 and 14. The research data were then analyzed using the ANOVA test. The results of the ANOVA test showed that the calculated F value was 177.503 with an F probability of 0.000 (sig<0.05) which means that the administration of stargur leaf ethanol extract had an effect on kgd mice.

Received: 25 Agustus 2022

Accepted: 3 November 2022

©2022 Jurusan Biologi FMIPA Unpatti, IAIFI Cab. Ambon

A. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan penyakit kronis, heterogen yang mengancam jiwa berupa gangguan metabolik biasanya dikarakteristikan dengan hiperglikemi, glikosuria, keseimbangan nitrogen negatif dan terkadang ketonemia. Sindrom diabetes yang ditandai dengan berkurangnya jumlah insulin atau menurunnya sensitivitas insulin atau kombinasi keduanya (Anastassios *et al.*, 2017). Gangguan hormonal ini dilain sisi mendorong terjadinya pembentukan lemak. Penumpukan lemak secara berkelanjutan atau dikenal sebagai hyperlipidemia akan mengaktifasi system inflamasi (Nugroho *et al.*, 2015). System inflamasi ini diaktifkan oleh NF- κ B melalui regulasi *cyclooxygenase*, *lipooxygenase*, *cytokine*, *chemokine* dan proses adesi molekul (Putra *et al.*, 2012). Pada keadaan diabetes, kegiatan NF- κ B akan memicu disfungsi sel β pankreas sehingga terjadi apoptosis yang progresif pada sel tersebut (Yuniarti *et al.*, 2021).

Menurut Anissa *et al.*, (2014), pada penyakit autoimun kronik, fagosit sel juga memproduksi ROS dan sitokin yang memperberat kerusakan oksidatif sel β . Peningkatan radikal bebas akibat diabetes mellitus juga akan mengaktifkan *nuclear factor* yang dapat meningkatkan sitokin *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α) (Sunarto, 2022). TNF- α dapat menginduksi signal kematian sel (*cell death signaling*) sebagai proses apoptosis sel (Kresno, 2001).

Penggunaan obat herbal dalam mengobati penyakit diabetes mellitus telah digunakan secara turun-temurun karena selain efek sampingnya relatif kecil juga harga lebih ekonomis. Pengobatan secara tradisional ini lebih menekankan pada keluhan-keluhan subyektif (Hapsari, 2008). Salah satu tumbuhan yang biasanya digunakan oleh masyarakat Maluku yang menderita penyakit diabetes mellitus adalah bintangur (*Calophyllum inophyllum* Linn). Bintangur merupakan tumbuhan yang memiliki multi manfaat. Tumbuhan ini bernilai ekonomi tinggi seperti bijinya yang dapat diekstrak untuk menghasilkan bahan baku biofuel (Leksono *et al.*, 2010).

Secara empiris, masyarakat sering menggunakan daun bintangur untuk mengobati gula darah. Penggunaan daun bintangur sebagai obat dalam menurunkan kadar gula darah dengan cara direbus, kemudian airnya diminum. Bintangur mengandung senyawa turunan xantona, kumarin, flavonoid, benzodipiranon, triterpenoid dan steroid. Senyawa flavonoid dalam daun bintangur diduga mampu menangkap radikal bebas yang menyebabkan kerusakan pada sel β pankreas penyebab diabetes mellitus tipe 1 (Suryani *et al.*, 2013). Flavonoid memiliki kemampuan antidiabetik yang bekerja dalam proses regenerasi dari sel β pankreas dan meningkatkan pengeluaran insulin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun *Calophyllum inophyllum* Linn terhadap penurunan kadar gula darah mencit diabetes mellitus.

B. METODE PENELITIAN

Objek Penelitian

Objek yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit dengan umur 2-3 bulan dengan berat 20-30 gr sebanyak 20 ekor.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat- alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu: kandang pemeliharaan hewan, mencit, botol minum, alat-alat gelas, blender, ayakan *mesh* 65, timbangan analitik, kertas saring, oven, vacuum evaporator, pipet, gunting, kamera, alat glukotest, dan strip glukotest.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu: daun bintangur, etanol, streptozotocin, aquades, pakan ternak, aluminium foil dan tissue.

Prosedur Kerja

Penyiapan Bahan uji

Daun bintangur diambil pada lingkungan kampus Universitas Pattimura Ambon dan di kering anginkan dalam oven dengan suhu 50°C. Setelah kering dihaluskan dengan blender dan serbuk yang telah halus tersebut ditimbang.

Ekstraksi

Pembuatan ekstrak etanol daun bintangur dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Serbuk daun bintangur sebanyak 200 g ditimbang dan dilarutkan dengan 1000 ml etanol. Setelah 24 jam, larutan tersebut disaring menggunakan kertas saring whatman untuk mendapatkan ekstrak cair dari daun bintangur. Residu ekstraksi diulangi hingga larutan berwarna bening yang menandakan bahwa semua metabolik telah tersaring. Ekstrak cair dari etanol daun bintangur kemudian dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan penguap putar (rotavapor) pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak pekat etanol dari daun bintangur.

Penentuan dosis STZ

Induksi diabetes pada hewan percobaan menggunakan streptozotocin dosis 500 mg/50 ml buffer sitrat 0,02 M sebanyak 2ml/g BB secara interperitoneal selama 3 hari, setelah itu kadar gula darah di ukur dengan menggunakan glukotest.

Penentuan Dosis Ekstrak Daun Bintangur

Berdasarkan pemakaian dalam masyarakat secara empiris diketahui dosis pemakaian daun bintangur adalah ± 80 ml untuk bobot badan manusia sesuai tabel konversi adalah 70 kg. Jika menggunakan hewan model mencit sebagai hewan model penelitian maka nilai konversi bobot badannya adalah 0,0026. Faktor konversi untuk manusia dengan bobot badan 70 kg ke mencit dengan bobot badan ± 20 gr adalah $0,0026 \times$ dosis daun bintangur pada manusia. Sehingga $0,0026 \times 80 \text{ ml} = 0,2$. Berdasarkan hasil diatas digunakan dosis I sebanyak 0,2 ml/ekor/hari, kemudian dibuat dosis bertingkat sehingga didapat dosis II sebanyak 0,4 ml/ekor/hari.

Pengujian Antidiabetes

Sebelum perlakuan semua mencit diukur kadar glukosa awal. Setelah itu pada kelompok K (-), K (+), P1 dan P2 diinjeksi STZ pada hari ke 1, 2 dan 3. Setelah 3 hari, diukur lagi kadar glukosa darahnya (glukosa darah post STZ), lalu dibandingkan dengan kadar glukosa darah pada hari pertama sebelum diberi STZ. Apabila terjadi kenaikan kadar glukosa darah mencit yaitu menjadi ± 129 mg/dL maka mencit dianggap sudah diabetes (kadar gula darah normal pada mencit yaitu 75-128 mg/dl) (Santos *et al.*, 2016). Kemudian

pada kelompok K (+) diberi obat Metformin, P1 dan P2 diberi ekstrak sesuai dosis yang sudah ditentukan. Perlakuan diberikan selama 7 hari.

Analisis Data

Data kadar gula darah akan dianalisis dengan *Analisis of Varians* (ANOVA) menggunakan program SPSS.

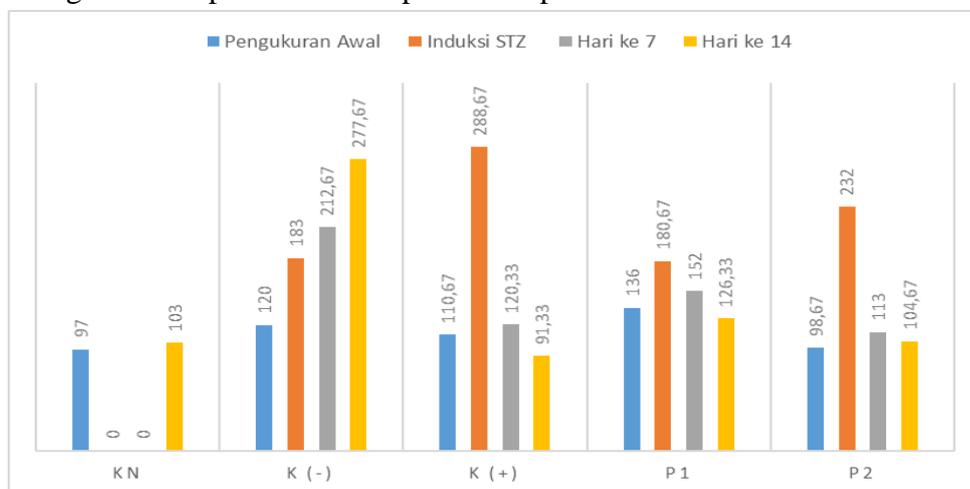
C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan terhadap kadar gula darah (KGD) pada kelompok mencit kontrol negatif (tanpa perlakuan), kelompok kontrol positif (diberi perlakuan STZ), P1 (perlakuan STZ dan diberi ekstrak etanol daun bintanggur dosis 0,2 ml/ekor/hari) dan P2 (perlakuan STZ dan diberi ekstrak etanol daun bintanggur dosis 0,4 ml /ekor/hari) dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran Kadar Gula Darah mencit

Perlakuan	Kadar Gula Darah				
	Pengukuran Awal	Induksi STZ	Hari ke 7	Hari ke 14	Total
KN	97,00± 21,93	0	0	103 ± 13,53	50,00±53,41 ^a
K (-)	120,00±15,71	183,00±3,61	212,67±5,51	277,67±10,51	198,33±59,86 ^b
K (+)	110,67±9,29	288,67±17,95	120,33±29,02	91,33 ± 9,45	152,75±84,14 ^c
P1	136,00±15,72	180,67±7,23	152,00±17,09	126,33±13,58	148,75±24,56 ^c
P2	98,67±3,06	232,00±25,36	113,00±9,85	104,67±5,51	137,08±58,70 ^d

Berdasarkan hasil pada Tabel 1 terlihat bahwa pada pengukuran awal, rata-rata kadar gula darah mencit dalam keadaan normal. Kemudian pada kelompok K-, K+, P1 dan P2 diinduksi STZ dengan dosis yang telah ditentukan dan dilakukan pengukuran KGD mencit pasca induksi. Hasil pengukuran terlihat bahwa KGD pada kelompok K- sebesar 183,00±3,61, K+ sebesar 288,67±17,95 mg/dl, P1 sebesar 180,67±7,23 mg/dl dan P2 sebesar 232,00±25,36 mg/dl. Setelah terjadi peningkatan KGD, pada kelompok P1 diberi ekstrak etanol daun bintanggur sebesar 0,2 ml/ekor/hari dan P2 diberi ekstrak etanol daun bintanggur sebesar 0,4 ml/ekor/hari. Pada hari ke-14 pengukuran KGD menunjukkan bahwa pada kelompok KN sebesar 103 ± 13,53 mg/dl, K- KGD sebesar 277,67±10,51 mg/dl, K+ sebesar 91,33 ± 9,45 mg/dl, KGD pada P1 sebesar 126,33±13,58 mg/dl dan pada P2 sebesar 104,67±5,51 mg/dl. Hasil pada tabel 1 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rata-rata kadar gula darah mencit

Dari gambar 1 menunjukkan bahwa rata-rata KGD pada kelompok K+ lebih rendah jika dibandingkan dengan rata-rata KGD pada kelompok P1 dan P2. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai F hitung sebesar 177,503 dengan probabilitas F sebesar 0,000 ($\text{sig} < 0,05$) yang berarti bahwa pemberian ekstrak etanol daun bintanggurr berpengaruh terhadap KGD mencit. Hasil Uji BNT menunjukkan bahwa rata-rata KGD pada kelompok KN, K- dan P2 berbeda nyata sedangkan rata-rata KGD pada K+ dan P1 tidak berbeda nyata. Dari hasil ANOVA juga terlihat bahwa waktu pengamatan berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan KGD dengan nilai F sebesar 62,159 dengan probabilitas F sebesar 0,000 ($\text{sig} < 0,05$).

Dari hasil yang telah diperoleh dapat dijelaskan bahwa pemberian streptozotocin (STZ) dalam penelitian ini menyebabkan terjadi peningkatan KGD. Hal ini dapat dilihat dengan tingginya pada kelompok K-, K+, P1 dan P2 setelah induksi STZ. Injeksi STZ pada mencit mengakibatkan terjadinya diabetes mellitus dalam penelitian ini. Hal ini dikarenakan STZ merupakan bahan toksik yang mampu degenerasi sel β pankreas secara langsung dengan perubahan bentuk inti sel sehingga dapat menghambat produksi dan pengeluaran insulin (Saputra *et al.* 2018).

Pada mencit yang diberi obat metformin (K+), akan menyebabkan penurunan produksi glukosa di hepar dan meningkatkan sensitifitas jaringan otot dan adipose terhadap insulin karena adanya aktivasi kinase di sel *AMP-Activated Protein Kinase* (AMPK) melalui proses yang dimediasi oleh *liver kinase B1* (LKB1) (Kusuma *et al.*, 2022). Metformin yang dibawa oleh sel hepar mengganggu aktivitas yang terjadi di mitokondria dan menyebabkan penurunan ATP. Metformin lalu memediasi pengikatan LKB1 pada AMPK, sehingga terjadi aktivasi AMPK oleh LKB1 melalui proses fosforilasi Thr172 (Lamoia dan Shulman, 2021). Pengaktifan AMPK yang mengubah keadaan sel dari anabolik menjadi katabolik menyebabkan peningkatan absorpsi glukosa dan penurunan aktivitas jalur biosintesis seperti sintesis glukosa, glikogen, dan lipid di hati (Hardie *et al.*, 2012).

Pemberian ekstrak etanol daun bintanggurr pada kelompok P1 dan P2 dapat menurunkan KGD mencit. Hal ini dapat dilihat dengan rendahnya KGD pada P1 dan P2 (Tabel 1). Terjadinya penurunan KGD mencit setelah diberi ekstrak daun bintanggurr disebabkan karena pada daun bintanggurr terdapat kandungan senyawa flavonoid. Menurut Fadly (2022), flavonoid menstimulasi 16 % peningkatan pengeluaran insulin dari sel β pancreas. Senyawa flavonoid dapat melindungi membran sel dari stres oksidatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan cara meningkatkan fluiditas membran dan mencegah masuknya molekul yang dapat mempengaruhi integritas membrane. Selain itu, flavonoid juga mampu menstimulasi peningkatan pengeluaran insulin dari sel β pankreas. Aksi tersebut melalui pengaturan *peroxisome proliferators activated receptors* (PPAR- α dan PPAR- γ) (Dewi *et al.*, 2011). Hardiningtyas *et al.*, (2014) juga menambahkan bahwa flavonoid diduga bersinergi dan meningkatkan aktivitas antioksidan dengan meningkatkan enzim antioksidan seluler seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* dan *glutathione peroxidase*. Hal ini berperan dalam mencegah kerusakan DNA sel β pankreas yang diakibatkan alkilasi DNA oleh *streptozotocin*

Aksi dari flavonoid yang bermanfaat pada diabetes mellitus adalah melalui kemampuannya untuk menghindari absorpsi glukosa atau memperbaiki toleransi glukosa. Flavonoid dapat berperan dalam mengatur penurunan glukosa darah dan meningkatkan perbaikan distribusi sel β penghasil insulin pulau Langerhans melalui pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE), Peningkatan afinitas pada reseptor insulin, peningkatan jumlah reseptor insulin, aktivasi IRTK serta penghambatan dari IR Tyrosine Phosphatase, akan menyebabkan peningkatan sensitivitas reseptor insulin (Alfisyahri, 2015).

D. KESIMPULAN

1. Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa nilai F hitung sebesar 177,503 dengan probabilitas F sebesar 0,000 ($\text{sig} < 0,05$) yang berarti bahwa pemberian ekstrak etanol daun bintanggur berpengaruh terhadap KGD mencit.
2. Dosis efektif ekstrak etanol daun bintanggur dalam menurunkan KGD adalah 0,4 ml/hari.

E. UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih memuat apresiasi yang diberikan oleh penulis kepada pihak-pihak yang telah berperan dalam penelitian, baik dalam bentuk support dana, perizinan maupun konsultan.

F. DAFTAR PUSTAKA

- Anastassios GP, Joseph, L. F., Bess, DH. 2017. Review: The Role of Vitamin D and Calcium in Type 2 Diabetes. A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 92(6):2017-29.
- Annisa F, Viryawan C dan Santoso F. 2014. Hipoksia Berpeluang Mencegah Kerusakan Sel β Pankreas pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2: Tinjauan Biologi Molekular. *CDK-214*, 41(3):197-201
- Dewi M, Wijaya I dan Wijayahadi N.2011. Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) dan Ekspresi Insulin serta Derajat Insulinitis Pankreas Tikus Sprague-dawley yang Diinduksi *Streptozotocin*. *Media Medika Indonesiana*, 45(2):105-12.
- Fadly AA. 2022. Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) Terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi *Streptozotocin*. *Jurnal Medika Hutama*, 03(02):1739-1744.
- Hapsari RD. 2008. Uji Efek Penurunan Kadar Glukosa Darah Ekstrak Etil Asetat Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Pada Kelinci Jantan. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Hardiningtyas SD, Purwaningsih S dan Handharyani E. 2014. *Antioxidant Activity and Hepatoprotective Effect of Green Mangrove Leaves*. *JPHPI*, 17(1):80-91
- Kresno, S.B., 2001, *Imunologi: Diagnosis dan prosedur Laboratorium* Edisi IV, Fakultas Kedokteran UI Press, Jakarta.
- Kusuma IY, Samodra G, Komala YI, Apriliansa EP, Piri JPA dan Fauqina AA. 2022. Glucose Lowering Agent Effect Dapaglifozine Adds on Metformin Therapy in Mice. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 13(1):72-80.
- Leksono, B. A, Widyatmoko. S, Poedjiono. E, Rahman dan K. P, Putri. 2010. Pemuliaan Nyamplung (*Calophyllum inophyllum* L.) untuk Bahan Baku Biofuel. *Laporan Hasil Penelitian*. Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Pemuliaan Tanaman Hutan. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Kementerian Kehutanan, Yogyakarta.
- Nugroho FA, Ginting RMS dan Nurdiana. 2015. Kadar NF- $\text{K}\beta$ Pankreas Tikus Model *Type 2 Diabetes Mellitus* dengan Pemberian Tepung Susu Sapi. *Indonesian Journal of Human Nutrition*, 2(2):91-100.
- Putra HB, Ratnawati,R.,Yudani, T. 2012. Efek Polifenol Buah Tin (*Ficus carica* L.) terhadap Kadar Nuclear Factor Kappa B (NFKB) pada Aorta Tikus (*Rattus norvegicus* L.) Galur Wistar Jantan yang Diberi Diet Atherogenik. Research Report.
- Santos EW, de Oliveira DC, Hasteiter A, da Silva GB, de Oliveira Beltran JS, Tsujita M, Crisma AR, Neves SMP, Fock RA and Borell P. 2016. Hematological and

- Biochemical Reference value C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice). *Braz J. Vet. Res. Anim. Sci*, 53(2):138-145.
- Saputra NT, Suartha IN dan Dharmayudha AAGO. 2018. Agen Diabetagonik Streptozotocin untuk Membuat Tikus Putih Jantan Diabetes Mellitus. *Buletin Veteriner Udayana*, 10(2): 116-121.
- Sunarto. 2022. Analisis Hubungan Indeks Obesitas Dengan Kadar *Tumor Necrosis Factor-Alpha* Pada Subjek Dewasa Non Diabetes Melitus. Tesis. Sekolah Pascasarjana. Program Studi S2 Ilmu Biomedik. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Suryani, N.M, Wirasuta, I.M.A.G, Susanti, N.M.P, 2013, Pengaruh Konseling Obat dalam *Home Care* terhadap Kepatuhan Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 dengan Komplikasi Hipertensi, *Jurnal Farmasi Udayana*, 6-11.
- Yuniarti E, Elfita R, Putri DH, Fitri R, Pasimura L dan Korprina S. 2021. Korelasi Kadar Gula Darah dengan Kadar NF- κ B pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 Etnis Minangkabau. *Prosiding SEMNAS BIO 2021*, Universitas Negeri Padang Volume 01 2021, hal 1075-1089