AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BUAH BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L) TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH MENCIT JANTAN (*Mus musculus*)

Eem Masaenah^{1*}, Inawati¹, Fhima Rizky Annisa¹

¹Program Studi Farmasi Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor

*Korespondensi: masaenaheem@gmail.com, eem@sttif.ac.id

ABSTRAK

Diabetes Melitus (DM) termasuk kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah. Hal ini disebabkan oleh gagalnya pankreas menghasilkan insulin atau kerja insulin yang terganggu (resistensi insulin). Tujuan penelitian untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol 70 % buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit jantan (*Mus musculus*) galur Swiss Webster yang diinduksi aloksan. Sebanyak 30 ekor mencit jantan dibagi dalam 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol normal, kontrol negatif (Na CMC), kontrol positif (Metformin 65 mg/kg bb), kelompok ekstrak buah belimbing wuluh 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb, dan 750 mg/kg bb. Data diperoleh dari pemeriksaan kadar glukosa darah menggunakan glucometer *easytouch*®, yaitu kadar glukosa darah puasa sebelum induksi, setelah diinduksi, dan setelah pemberian ekstrak pada masing-masing kelompok perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan buah belimbing wuluh dengan dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb, dan 750 mg/kg bb dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit jantan yang diinduksi aloksan. Diduga senyawa aktif ekstrak etanol 70 % buah belimbing wuluh berperan dalam meningkatkan sensitifitas reseptor insulin dan mengakibatkan glukosa dapat diambil oleh sel untuk dimetabolisme. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh dengan dosis 750 mg/kg bb merupakan dosis yang paling efektif terhadap penurunan kadar glukosa darah.

Kata kunci: Aloksan, *Averrhoa bilimbi* L, kadar glukosa darah, mencit jantan (*Mus musculus*)

ABSTRACT

Diabetes Mellitus (DM) is a group of metabolic diseases characterized by high blood glucose levels. This is caused by the failure of the pancreas to produce insulin or impaired insulin action (insulin resistance). The purpose of this study was to determine the activity of 70% ethanol extract of starfruit fruit (*Averrhoa bilimbi* L) on the decrease in blood glucose levels in male mice (*Mus musculus*) strain of Webster induced by alloxan. A total of 30 male mice were divided into 6 treatment groups namely normal control group, negative control (Na CMC), positive control (Metformin 65 mg / kg bw), star fruit extract group 250 mg / kg bw, 500 mg / kg bw, and 750 mg / kg bw. Data obtained from examination of blood glucose levels using an *easy touch* ® glucometer, namely fasting glucosadarah levels before induction, after induction, and after administration of extracts in each treatment group. The results showed that starfruit with a dose of 250 mg / kg bw, 500 mg / kg bw, and 750 mg / kg bw can reduce blood glucose levels in male mice that are induced by alloxan. Allegedly the active compound extract of 70% ethanol starfruit fruit plays a role in increasing the sensitivity of insulin receptors and resulting in glucose can be taken up by cells to be metabolized. Based on the results obtained it can be concluded that the ethanol extract of 70% starfruit fruit with a dose of 750 mg / kg bw is the most effective dose to decrease blood glucose levels.

Keywords: Alloxan, *Averrhoa bilimbi* L, blood glucose level, male mice (*Mus musculus*)

PENDAHULUAN

Menurut *American Diabetes Association* (ADA), Diabetes Melitus (DM) termasuk kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah. Hal ini dapat disebabkan oleh gagalnya pancreas menghasilkan insulin atau kerja insulin yang terganggu/resistensi insulin [1].

Laporan WHO pada tahun 2016 menunjukkan bahwa jumlah penderita DM hampir empat kali lipat sejak 1980 sampai 422 juta orang dewasa. Sedangkan menurut Badan Kesehatan Dunia memprediksi kenaikan jumlah penderita DM di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 akan menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 [2]. Maka dari itu perlu dikaji lebih lanjut mengenai diabetes Melitus, serta terapi yang tepat untuk mengurangi diabetes Melitus yang terus mengalami peningkatan [3].

Adanya peningkatan jumlah penderita DM setiap tahunnya serta biaya pengobatan yang mahal terutama jika disertai komplikasi mendorong masyarakat untuk menggunakan obat tradisional yang dapat dipakai sebagai alternatif pengobatan. Oleh sebab itu makin banyak dikembangkan penanganan DM dengan menggunakan tanaman tradisional [3].

Salah satu tanaman yang dapat dipakai untuk mengatasi masalah DM yaitu belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Tanaman ini mudah didapatkan, dikenal banyak orang namun masih sedikit penelitian lebih lanjut mengenai khasiatnya.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, ekstrak etanol 96 % buah dan daun belimbing wuluh mengandung flavonoid dan saponin yang bersifat antihiperglikemik [2]. Penelitian lain, pemberian ekstrak etanol daun belimbing wuluh mampu menurunkan kadar glukosa darah sebesar 50 % pada tikus galur wistar yang diinduksi dengan streptozotocin [4].

Penelitian lain menyebutkan ekstrak etanol 70% batang belimbing wuluh mengandung saponin dan tanin, mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi aloksan dengan dosis 25 mg/kg, 50 mg/kg dan 100 mg/kg [5]. Hasil penelitian lain menyebutkan ekstrak etanol

70 % buah belimbing wuluh dan daun tapak dara dengan dosis 20 g/200 g, 40 g/200 g, dan 80 g/200 g berat tikus galur wistar yang diinduksi aloksan 30 mg/200 g bb mampu menurunkan kadar glukosa darah [6].

Penelitian infusa buah belimbing wuluh dengan dosis 0,756 g/20 g mencit yang diinduksi aloksan dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa [7]. Penelitian lain menyatakan bahwa pemberian ekstrak etanol 96 % buah belimbing wuluh selama 14 hari dengan dosis 750 mg/kg berat badan efektif menurunkan kadar glukosa darah pada tikus wistar [8].

Atas dasar acuan penelitian-penelitian di atas, peneliti ingin membuktikan apakah ekstrak etanol 70 % buah belimbing wuluh dengan perlakuan selama 7 hari juga dapat menurunkan kadar glukosa darah. Peneliti menggunakan mencit jantan galur swiss webster sebagai hewan percobaan dan melakukan induksi aloksan terhadap mencit jantan tersebut untuk menciptakan kondisi hiperglikemia.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan adalah kandang mencit yang terbuat dari kawat dan bak plastik sebanyak 6 kandang, tempat air minum dan makanan mencit, timbangan digital (ACS AD-300i), oven (Memmert), *rotary vacuum evaporator* (IKA RV 10 basic), *waterbath*, lumpang dan alu, masker, gunting, sarung tangan, sonde oral ukuran 1 ml, needle no. 26, spuit terumo 1 ml, botol 50 ml, strip glukotest dan alat pengukur gula darah glucometer *Easy Touch*, dan alat-alat gelas.

Bahan yang digunakan yaitu buah belimbing wuluh yang diperoleh dari daerah lingkungan RSI Cempaka Putih Jakarta Pusat. Bahan lain yang dibutuhkan antara lain HCl, pereaksi Meyer yang terdiri dari HgCl₂ dan larutan KI, pereaksi Wagner terdiri dari larutan iodin dan KI, pereaksi dragendorff terdiri dari larutan bismuth nitrat basa dalam asam asetat glasial dengan KI dalam air, pereaksi FeCl₃, asam sulfat 2 M, kloroform, amil alkohol, serbuk magnesium, asam asetat anhidrat, asam

sulfat pekat, etanol 70 %, aloksan, Na-CMC aqua destilata, pakan ternak, larutan NaCl 0,9%, tablet metformin 500 mg.

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji dipilih sebanyak 30 ekor mencit jantan secara acak yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu 1) kelompok normal, 2) kelompok ekstrak dosis 250 mg/kg bb, 3) kelompok dosis 500 mg/kg bb, 4) kelompok dosis 750 mg/kg bb, 5) kelompok kontrol positif metformin 65 mg/kg bb, dan 6) dan kelompok kontrol negatif Na CMC 0,5 % b/v.

Prosedur Kerja

Pembuatan Simplisia

Sampel berupa buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) yang segar berwarna hijau kekuningan sebanyak 1,7 kg. Buah dicuci dengan air mengalir sampai bersih kemudian ditiriskan untuk membebaskan buah dari sisa-sisa air cucian. Buah dipisahkan dari bijinya lalu dirajang tipis-tipis dengan ketebalan kurang lebih 0,5 cm. Kemudian dikeringkan di dalam oven dengan suhu 50°C selama 5 hari. Simplisia kering disortasi dan dihaluskan dengan blender serta diayak dengan ayakan no. 40 mesh. Serbuk yang sudah jadi disimpan dalam wadah tertutup rapat [9].

Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air serbuk buah belimbing wuluh dilakukan dengan cara menguapkan air yang ada di dalam bahan dengan jalan pemanasan menggunakan oven sehingga air menguap [10].

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{a-b}{a} \times 100\%$$

a = bobot sampel sebelum pemanasan (g)

b = bobot sampel setelah pemanasan (g)

Penapisan Fitokimia [11]

a. Flavonoid

Simplisia serbuk buah belimbing wuluh sebanyak 3 gram ditambah 10 ml air dan dipanaskan selama 5 menit selanjutnya disaring dan filtratnya ditambahkan 500 mg serbuk magnesium dan 2 tetes HCl. Kemudian ditetesi 2 ml alkohol. Hasil

ditunjukkan dengan munculnya warna merah tua pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

b. Saponin

Simplisia serbuk buah belimbing wuluh sebanyak 3 gram ditambahkan 10 ml air dan dipanaskan selama 5 menit selanjutnya disaring dan filtratnya diambil sebanyak 5 ml, dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian larutan dikocok selama 10 detik, dibiarkan selama 10 menit. Uji positif ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil.

c. Alkaloid

Simplisia serbuk buah belimbing wuluh sebanyak 1 gram ditambah 2 tetes NH_3 dan 5 ml kloroform, kemudian disaring. Filtratnya ditambahkan asam sulfat 2 M. Lapisan asam yang terbentuk ditetesi dengan 3 pereaksi. Uji positif alkaloid dengan larutan pereaksi Dragendorff akan menghasilkan warna oranye, larutan pereaksi Mayer akan menghasilkan warna putih, dan pereaksi Wagner akan menghasilkan warna coklat.

d. Tanin

Simplisia serbuk buah belimbing wuluh sebanyak 3 gram ditambah 10 ml akuades, dipanaskan selama 5 menit. Kemudian disaring, filtratnya ditambahkan 3 tetes FeCl_3 10 %. Uji positif tanin ditandai dengan terbentuknya warna hitam.

e. Kuinon

Simplisia serbuk buah belimbing wuluh sebanyak 1 gram ditambahkan metanol, dipanaskan, dan disaring. Filtratnya ditambah 3 tetes NaOH 10 %. Uji positif ditandai dengan terbentuknya warna merah.

f. Steroid dan Triterpenoid

Simplisia serbuk buah belimbing wuluh sebanyak 1 gram ditambah etanol, dan disaring. Filtratnya dipanaskan hingga kering. Kemudian ditambahkan 1 ml dietil eter, aduk hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan 1 tetes asam sulfat, dan 1 tetes asam asetat anhidrat. Hasil uji positif steroid ditandai dengan terbentuknya warna hijau kebiruan. Hasil uji positif triterpenoid

ditandai dengan terbentuknya warna ungu kemerahan.

Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Buah Belimbing Wuluh

Serbuk simplisia buah belimbing wuluh sebanyak 120 gram dimaserasi dengan etanol 70% selama 3x24 jam. Tiap 1x24 jam dilakukan penyaringan dan diremaserasi. Kemudian, filtrat dijadikan satu dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C selama 8 jam sehingga menghasilkan ekstrak kental etanol 70 %. Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang kemudian nilai persentase rendemen dihitung menggunakan rumus berikut:

$$R = \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot simplisia yang diekstraksi}} \times 100\%$$

Pembuatan Suspensi Metformin dan Ekstrak Buah Belimbing Wuluh

- Serbuk metformin ditimbang sebanyak 70 mg, kemudian dilarutkan dalam 10 ml *suspending agent* Na-CMC 0,5 % b/v. Rata-rata berat badan mencit 27 gram. Volume pemberian per oral yang diberikan sebanyak 0,5 ml pada masing-masing mencit.
- Ekstrak buah belimbing wuluh ditimbang masing-masing sebanyak 135 mg, 270 mg, dan 405 mg. Kemudian masing-masing ekstrak dilarutkan dalam 10 ml larutan *suspending agent* Na CMC 0,5 % b/v. Volume pemberian per oral maksimal diberikan sebanyak 1 ml pada masing-masing mencit.

Pembuatan Larutan aloksan

Serbuk aloksan sebanyak 100 mg, dilarutkan dalam larutan NaCl 0,9 % sebanyak 10 ml. Dosis yang diperlukan untuk mencit sebanyak 4,54 mg. Diambil dari campuran larutan tersebut sebanyak 0,45 ml. Volume pemberian injeksi intra peritoneal diberikan sebanyak 0,45 ml pada masing-masing mencit.

Pengujian Kadar Glukosa Darah pada Mencit Sebelum Diinduksi

- Mencit jantan dikelompokkan dalam 6 kelompok penelitian, masing-masing sejumlah 5 ekor. Semua kelompok diadaptasikan selama 7 hari dengan pemberian makanan dan minuman sebanyak satu kali pada pagi hari.
- Di hari ke-8, kelompok perlakuan dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb, 750 mg/kg bb, kontrol negatif NaCMC 0,5% b/v, dan kontrol positif metformin 65 mg/kg bb dipuasakan selama 8 jam, sedangkan kelompok normal tidak dipuasakan.
- Kemudian diukur kadar glukosa darah puasa, yakni antara 50-109 mg/dl [12]. Sampel darah diambil dengan cara dipotong ujung ekor mencit. Darah diletakkan pada test strip, kemudian strip dimasukkan ke dalam alat glukometer untuk diukur kadar glukosa darah awal.

Pengujian Kadar Glukosa Darah Pada Mencit Setelah Diinduksi

- Pada hari ke-8 setelah pengukuran awal glukosa darah, kelompok perlakuan, kontrol negatif, dan kontrol positif diinduksi aloksan (120 mg/kgbb) secara intraperitoneal [13, 14], sedangkan kelompok normal tidak diinduksi.
- Setelah diinduksi, 2 hari kemudian mencit diukur kadar glukosa darahnya dengan menunjukkan kadar glukosa darah hiperglikemia yaitu dengan kadar 200-349 mg/dl [15].

Pengujian Farmakologi Ekstrak Etanol 70 % Buah Belimbing Wuluh

- Setelah mendapatkan kadar glukosa darah mencit yang mencapai hiperglikemia, 6 kelompok mencit jantan diberi perlakuan per oral pada pagi hari selama 7 hari.
- Setelah perlakuan selama 7 hari, kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah di hari berikutnya.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji *Analisis of Variance* (ANOVA) satu arah yaitu RAL (rancangan acak lengkap) dan uji lanjutan LSD (*Least Significant Differences*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Sampel

Buah belimbing wuluh diambil pada pukul 10.00-12.00 WIB karena proses fotosintesis yang maksimal terjadi pada waktu tersebut. Buah yang diambil adalah buah yang masak berwarna hijau kekuningan. Hal ini bertujuan agar buah yang diperoleh dapat menghasilkan metabolit sekunder yang lebih banyak [16]. Buah yang dipilih tersebut dicuci dengan air bersih selanjutnyadirajang untuk membantu mempercepat proses pengeringan. Pengeringan dilakukan dengan mesin oven pada suhu 50°C selama 5 hari. Hal ini dimaksudkan agar tidak merusak kandungan flavonoid di dalam simplisia buah belimbing wuluh.

Penghalusan dan pengayakan bertujuan untuk memperbesar luas permukaan dan penyeragaman ukuran partikel agar kontak antara bahan dan larutan penyari lebih besar. Selanjutnya simplisia disimpan dalam wadah kedap udara untuk

mempertahankan kadar air yang minimal dan menghindari tumbuhnya jamur. Sebanyak 1,7 kg buah belimbing wuluh menghasilkan 120 gram simplisia serbuk.

Hasil penetapan kadar air diperoleh sebesar 17,18%. Seharusnya simplisia dinilai cukup aman bila mempunyai kadar air kurang dari 10%. Sehingga mempengaruhi kualitas dan daya simpan dari simplisia buah belimbing wuluh. Semakin banyak kadar air yang terkandung, umur simpannya semakin cepat, hal ini menyebabkan adanya mikroba yang tumbuh.

Hasil Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk memperoleh informasi awal mengenai senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologis dari suatu tanaman. Hasil penapisan fitokimia secara kualitatif menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh mengandung metabolit sekunder flavonoid.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Buah Belimbing Wuluh

Pengujian Fitokimia	Hasil
Saponin	(-)
Flavonoid	(+)
Alkaloid	(-)
Tanin	(-)
Kuinon	(-)
Steroid/Triterpenoid	(-)

Keterangan :+ = terdeteksi

- = tidak terdeteksi

Hasil yang diperoleh pada pemeriksaan fitokimia menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid. Hal ini ditandai dengan terbentuknya warna kuning pada saat penambahan HCl pekat. Warna kuning yang dihasilkan menandakan adanya flavonoid akibat reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium [17].

Uji saponin dilakukan dengan mengocok kuat-kuat selama 10 detik. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N.

Penambahan HCl berfungsi untuk menghidrolisis senyawa sehingga busa yang terjadi lebih lama. Hasil pemeriksaan menunjukkan bahwa ekstrak tidak mengandung saponin karena tidak terbentuk busa yang stabil.

Pengujian senyawa alkaloid dilakukan dengan menggunakan pereaksi Mayer dan Dragendorff. Prinsip metode ini adalah reaksi pengendapan yang terjadi karena adanya penggantian ligan. Atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid dapat mengganti iod-iod dalam reagen Mayer dan Dragendorff.

Indikator positif dari uji alkaloid adalah terbentuknya endapan merah atau jingga pada pereaksi Dragendorff, endapan putih kekuningan pada pereaksi Meyer dan endapan coklat pada pereaksi Wagner. Hasil negatif yang didapatkan ini kemungkinan dipengaruhi oleh lokasi sampel penelitian yang mempengaruhi laju metabolisme pada buah belimbing wuluh.

Pada uji tanin, indikator positif dilihat dengan terbentuknya larutan berwarna hijau kehitaman atau biru tinta. Berdasarkan hasil identifikasi, tanin negatif ditemukan pada simplisia buah belimbing wuluh karena terbentuk warna larutan kuning keruh. Pada uji kuinon, indikator positif dilihat dengan terbentuknya warna merah dan endapan. Kuinon adalah senyawa berwarna dan mempunyai kromofor dasar yang terdiri atas dua gugus karbonil dengan dua ikatan rangkap karbon-karbon. Warna kuinon beragam, mulai dari kuning pucat hingga kehitaman. Berdasarkan hasil identifikasi, kuinon negatif ditemukan pada uji fitokimia karena hanya terbentuk warna oranye keruh dan tidak ada endapan.

Pada uji triterpenoid dan steroid indikator positif dilihat dengan terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali pada reaksi positif triterpenoid dan selanjutnya terbentuknya larutan biru dan hijau untuk reaksi positif steroid. Hasil negatif pada uji triterpenoid dan steroid, dimana triterpenoid tersusun dari rantai panjang hidrokarbon C₃₀ yang menyebabkan sifat non polar sehingga tidak terekstrak dalam pelarut yang bersifat polar. Aglikon berupa steroid yang bersifat non polar menyebabkan steroid lebih larut pada pelarut non polar.

Hasil Ekstraksi

Pembuatan maserat buah belimbing wuluh dilakukan dengan cara serbuk simplisia belimbing wuluh direndam dengan etanol 70%. Pelarut ini dapat melarutkan senyawa fitokimia lebih maksimal karena etanol 70% masih mengandung air cukup banyak (30%) yang membantu proses ekstraksi sehingga sebagian senyawa tersebut ada yang tertarik

dalam etanol dan ada pula yang tertarik dalam air. Dari simplisia serbuk sebanyak 120 gram, diperoleh ekstrak pekat sebanyak 49,43 gram. Jadi, rendemen ekstrak diperoleh sebanyak 41,19%.

Hasil Uji Farmakologi pada Mencit

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah mencit (*Mus musculus*) jantan galur Swiss webster. Tidak digunakan yang betina karena pada mencit betina terjadi siklus estrus yang melibatkan hormon estrogen. Reseptor estrogen, ER α , merupakan molekul yang berperan dalam metabolisme glukosa, yang berperan dalam regulasi biosintesis insulin, sekresi insulin dan ketahanan sel β pankreas.

Mencit (*Mus musculus*) dipilih sebagai model percobaan karena metabolisme dalam tubuhnya serta rentang kadar glukosa darah normal yang dimiliki mirip dengan manusia. Kadar glukosa darah normal *Mus musculus* berada dalam rentang 85-132 mg/dL, sedangkan kadar glukosa darah puasa normal berada dalam rentang antara 50-109 mg/dl.

Hewan coba yang digunakan adalah 30 mencit jantan yang dibagi dalam 6 kelompok, yaitu kelompok kontrol normal, kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok ekstrak dengan dosis bertingkat. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit, berdasarkan perhitungan rumus Federer. Sebelumnya mencit ditimbang dengan berat rata-rata 27 gram dan dipuasakan selama 8 jam tapi tetap diberi minum *ad libitum* sebelum diberi perlakuan terapi.

Kemudian diukur glukosa darah puasa. Hal ini bertujuan untuk menghindari pengaruh makanan yang dapat mempengaruhi bahkan mempertinggi kadar glukosa darah jika mencit diinduksi aloksan. Pemeriksaan kadar glukosa darah mencit pada penelitian ini menggunakan alat glukometer. Prinsip kerja penggunaan alat ini yaitu oksigen dengan bantuan enzim glukosa oksidase mengkatalis proses oksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan hydrogen peroksida[18].

Gambar 1. Rata-rata Kadar Glukosa Darah Mencit Sebelum dan Sesudah Diinduksi, serta Setelah Terapi (Dosis/kgbb)

Gambar 1 menunjukkan rerata kadar glukosa darah puasa pada tiap kelompok mencit jantan sebelum diinduksi adalah 73,08 mg/dl, masih dalam kisaran normal (60-130 mg/dl). Selanjutnya mencit diinduksi aloksan dengan dosis 120 mg/kg bb untuk membuat kondisi hiperglikemia [19].

Induksi aloksan dosis 120 mg/kg BB dalam larutan NaCl terlihat secara bermakna meningkatkan kadar glukosa darah. Aloksan dipilih sebagai diabetogen karena di dalam tubuh, aloksan mengalami metabolisme oksidasi reduksi yang menghasilkan radikal bebas dan radikal aloksan. Radikal ini mengakibatkan kerusakan sel beta pankreas, sehingga terjadi *insulin dependent diabetes Melitus*

atau disebut *alloxan diabetes* pada hewan percobaan [14].

Meningkatnya kadar glukosa darah pada pemberian aloksan dapat disebabkan oleh dua proses yaitu terbentuknya radikal bebas dan kerusakan permeabilitas membran sel sehingga terjadi kerusakan sel beta pankreas yang berfungsi menghasilkan insulin. Senyawa flavonoid yang terdapat dalam belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) diduga mempunyai kemampuan meregenerasi dan merangsang pelepasan insulin oleh sel beta pankreas[20].

Rata-rata kadar glukosa darah setelah diinduksi adalah 200,67 mg/dl, memenuhi kriteria DM tipe 2 dengan kisaran glukosa darah 200-349 mg/dl [15].Selanjutnya dilakukan perlakuan selama 7 hari, sekali dalam sehari pada pagi hari.

Tabel 2. Rerata Penurunan Glukosa Darah Mencit Setiap Kelompok Penelitian

Kelompok	Rerata Setelah Induksi (mg/dl) (GDP ₁)	Rerata Setelah Perlakuan (mg/dl) (GDP ₂)	Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah
1.Normal Tanpa Induksi	81,75 mg/dl	93,5 mg/dl	-13 %
2. Dosis 250 mg/kg BB	270,75 mg/dl	131,25 mg/dl	106 %

3. Dosis 500 mg/kg BB	182,5 mg/dl	119,75 mg/dl	52 %
4. Dosis 750 mg/kg BB	289,75 mg/dl	115,5 mg/dl	151 %
5. Kontrol Positif Induksi suspensi Metformin	191,25 mg/dl	123,75 mg/dl	55 %
6. Kontrol negatif Induksi Suspensi Na CMC 0,5 % b/v	188mg/dl	143,25 mg/dl	31 %

Persentase penurunan kadar glukosa darah pada kelompok kontrol negatif yang diberi Na CMC sebesar 31 %, kemungkinan karena telah terjadi eliminasi kadar aloksan pada tubuh mencit. Sedangkan pada kelompok dosis 750 mg/kg bb mengalami penurunan yang signifikan sebesar 151 % dibandingkan dengan kelompok dosis 250 mg/kg bb, dengan penurunan 106 %. Pada kelompok dosis 500 mg/kg bb penurunan sebesar 52 %. Sedangkan pada kelompok normal tanpa diinduksi aloksan mengalami kenaikan kadar glukosa darah sebesar 13 %. Hal ini mungkin terjadi karena adanya pengaruh pemberian makanan pada mencit.

Penurunan kadar glukosa darah dengan ekstrak buah belimbing wuluh dosis 750 mg/kg bb lebih baik dari kontrol positif yaitu metformin. Keadaan hiperglikemia yang terjadi pada mencit setelah diinduksi dengan aloksan adalah kerusakan sel beta pankreas, sehingga produksi dan sekresi insulin akan terhambat. Jadi, pemilihan metformin sebagai pembanding dianggap

tepat, karena mekanisme kerja metformin dalam tubuh yaitu dengan cara memperbaiki sensitivitas hepar dan jaringan perifer terhadap insulin tanpa mempengaruhi sekresi insulin [21].

Pada kelompok dosis 500 mg/kg bb memiliki persentase penurunan 52 %. Tidak jauh berbeda dengan kelompok kontrol positif (metformin) memiliki penurunan sebesar 55%. Hal ini disebabkan pada saat penginduksian dengan aloksan, tidak terjadi peningkatan kadar glukosa darah >200 mg/dl.

Berdasarkan hasil uji homogenitas diperoleh nilai signifikansi $0,2 > 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95% sehingga H_0 diterima artinya keenam kelompok perlakuan diambil dari populasi yang terdistribusi normal. Sampel yang terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji *One-way Anova* untuk menguji perbedaan antar kelompok terhadap kadar glukosa darah.

Tabel 3. Ringkasan Anova Penurunan Kadar Glukosa Darah Setelah Terapi

Sumber Variasi	Jumlah Kuadrat	Derajat Bebas	Kuadrat Rerata	F hitung	Probabilitas
Antar Kelompok	5582,333	5	1116,467	6,481	0,001
Dalam Kelompok	3101,000	18	172,278		
Total	8683,333	23			

Berdasarkan uji Anova satu arah (tabel 3), menunjukkan penurunan kadar glukosa darah setelah terapi antar kelompok perlakuan berbeda nyata dengan nilai $p < 0,05$. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol 70 % (P1, P2, P3) mampu menurunkan kadar glukosa darah mencit setelah dikondisikan DM yang

menunjukkan bahwa metformin dan ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh mampu mengembalikan homeostasis glukosa yang terganggu akibat aloksan. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai perbedaan bermakna secara farmakologi, maka dilanjutkan dengan uji

LSD. Ringkasan uji LSD dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Perbedaan Rerata Penurunan Kadar Glukosa Darah Antar Kelompok dari Hasil Uji LSD

LSD	Kelompok Normal Tanpa Induksi	Kelompok dosis 250 mg/kgbb	-37,75000*
		Kelompok dosis 500 mg/kgbb	-26,25000*
		Kelompok dosis obat 750 mg/kg bb	-22,00000*
		Kelompok kontrol positif (Metformin 65 mg/kg bb)	-30,25000*
		Kelompok kontrol negatif (NaCMC 0,5 % b/v)	-49,75000*
	Kelompok dosis 250 mg/kgbb	Kelompok Normal (Tanpa Induksi)	37,75000*
	Kelompok dosis 500 mg/kgbb	Kelompok Normal (Tanpa Induksi)	26,25000*
		Kelompok Kontrol negatif (NaCMC 0,5 % b/v)	-23,50000*
	Kelompok dosis 750 mg/kg bb	Kelompok Normal (Tanpa Induksi)	22,00000*
		Kelompok Kontrol negatif (NaCMC 0,5 % b/v)	-27,75000*
	Kontrol Positif(Metformin 65 mg/kg bb)	Kelompok Normal (Tanpa Induksi)	30,25000*
		Kelompok Kontrol negatif (NaCMC 0,5 % b/v)	-19,50000*
	Kontrol Negatif (NaCMC 0,5 % b/v)	Kelompok Normal (Tanpa Induksi)	49,75000*
		Kelompok dosis 500 mg/kgbb	23,50000*
		Kelompok dosis 750 mg/kg bb	27,75000*
		Kelompok Kontrol positif (Metformin 65 mg/kg bb)	19,50000*

Hasil uji lanjutan LSD menunjukkan kelompok kontrol negatif (NaCMC 0,5 % b/v) memiliki perbedaan yang bermakna pada tingkat kepercayaan 95 % terhadap kontrol positif dan kelompok ekstrak dengan dosis 500 mg/kg bb, 750 mg/kg bb. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol 70 % dengan dosis 750 mg/kg bb berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah. Dosis 750 mg/kg bb mencit memiliki aktivitas yang lebih baik dari kontrol positif bila dibandingkan dengan kontrol negatif. Sedangkan dosis 250 mg/kg bb memiliki aktivitas yang hampir sama dengan kontrol negatif.

Kelompok ekstrak sama dengan kelompok kontrol positif. Ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah.

Kelompok kontrol positif metformin 65 mg/kg bb memiliki perbedaan yang bermakna terhadap kelompok kontrol negatif dan kontrol normal. Hal ini menunjukkan kelompok dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb, dan 750 mg/kg bb memiliki aktivitas yang hampir sama dengan kontrol positif.

Flavonoid memiliki efek hipoglikemik dengan beberapa mekanisme yaitu dengan menghambat absorpsi glukosa, meningkatkan toleransi glukosa, merangsang pelepasan insulin atau bertindak seperti insulin, meningkatkan pengambilan glukosa oleh jaringan perifer serta mengatur enzim-enzim yang berperan dalam metabolisme karbohidrat. Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70 % buah belimbing wuluh memiliki potensi

sebagai alternatif terapi diabetes pelengkap dalam upaya pemeliharaan kesehatan pasien diabetes melitus.

SIMPULAN

Pemberian ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh selama 7 hari dengan dosis 250 mg/kg bb, 500 mg/kg bb, dan 750 mg/kg bb memberikan efek terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi dengan aloksan.

Pemberian ekstrak etanol 70% buah belimbing wuluh dosis 750 mg/kg bb mampu menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan dengan persentase penurunan antara kadar glukosa darah sesudah induksi dan sesudah terapi sebesar 151 %. Hal ini lebih baik dibandingkan dengan kontrol positif yakni metformin 65 mg/kg bb dengan penurunan sebesar 55 %.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Setiawan dan Felix A. 2012. *Makanan dan Herbal untuk Penderita Diabetes Melitus*. B. Prasetya W., Editor. Jakarta: Penebar Swadaya.
- [2] Septhi. 2012. Ekstrak Akar, Batang dan Daun Herba Meniran dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah. *Jurnal Kesehatan* : 51-59.
- [3] Rezchy, D. A. *et al.* 2014. Uji Efektivitas Penurunan Kadar Gula Darah Ekstrak Etanol, Daun Sendok (*Plantago major* L.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Ratus novvergicus*) yang Diinduksi Sukrosa. *Pharmacon*. Vol 3: 135.
- [4] Puspharaj, P., Tan C.H., and Tan BK. 2000. Effects of Avverhoa bilimbi leaf extract on blood glucose and lipids in streptozotocin-diabetics rats, *Journal Ethnopharmacol.* 72 (1-2):69-76.
- [5] Cahyaning, G,A.2012. Efek Ekstrak Batang Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih (*Rattus novvergicus*) yang Diinduksi Aloksan. [Skripsi]. Surakarta. Universitas Sebelas Maret.
- [6] Sutrisna, *et al.*, 2012. Uji Praktinis Efek Hipoglikemi Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Daun Tapak Dara (*Catharanthus roseus* G). *Pharmacon*. Vol 13: 37-40.
- [7] Elsa, *et al.* 2014. Efek Infusa Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Puasa dan 2 Jam Post Prandial Mencit Model Diabet. [Prosiding Pendidikan Dokter]. Universitas Islam Bandung.
- [8] Stefani Candra. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang Diinduksi Aloksan [Karya Tulis Ilmiah]. Semarang: Universitas Diponegoro.
- [9] Ditjen POM, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta :Departemen Kesehatan RI.
- [10] Ditjen POM, 1995. *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI. Jakarta: Departemen Kesehatan RI Hal. 103-113.
- [11] Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- [12] Chaiyatullah *et al.* 2013. Efek Infusa Daun Sirsak (*Annona muricata* L) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus novvergicus*) Jantan Galur Wistar yang Dibebani Glukosa. [Naskah Publikasi] Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
- [13] ReesD, A and Alcolado, J. C. 2005. Animal models of diabetes Melitus, *Diabetic Medicine*. 22 : 359-370.
- [14] Szkudelski, T. 2001. The Mechanism Of Alloxan And Streptozotocin Action In β Cells Of The Rat

- Pancreas, *Physiology Research*, 50: 536-54.
- [15] Masagus, M.T. 2009. Kadar Insulin Plasma Mencit yang Dikondisikan Diabetes Melitus setelah Pemberian Ekstrak Air Daun Nimba. Di dalam: Prosiding Seminar Nasional Penelitian Universitas Negeri Yogyakarta, 16 Mei 2009.
- [16] Purwatresna, E. 2012. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Air dan Etanol Daun Sirsak Secara In Vitro melalui Inhibisi Enzim A-Glukosidase. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 2012.
- [17] Robinson T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. ITB Bandung. Hal. 71 153-156, 191 dan 281.
- [18] Manurung, D.T. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Batang Kayu Raru (*Vatica pauciflora* Blume) sebagai Antidiabetes terhadap Tikus Wistar yang Diinduksi Aloksan. Universitas Negeri Medan. Medan.
- [19] Agung E.N. 2006. Hewan Percobaan Diabetes Melitus: Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*: 378-379.
- [20] Dheer R. dan Bhatnagar P. 2010. A study of the Antidiabetic Activity of Barleria prionitis Linn. *Indian Journal of Pharmacology*. 42 (2): 70-73.
- [21] Suharti dan Suherman. 2007. Insulin dan Antidiabetik Oral dalam Farmakologi dan Terapi edisi ke-5. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, pp:490-495.