
UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK N-HEKSANA, ETIL ASETAT, ETANOL DAUN POHPOHAN (*Pilea trinervia* Wight.) PADA MENCIT YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Hendy Suhendy*, Siti Mutaafifah, Tita Nofianti

Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik Prodi S1 Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya, Jalan cilolohan No 36 Tasikmalaya Jawa Barat, Indonesia
Email : radhwa04@gmail.com

Received: 17 April 2021; Revised: 28 April 2021; Accepted: 17 April 2021 ; Available online: 30 April 2021

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is metabolic disorders characterized by a high blood sugar. The treatment can be used by traditional medicine such as pohpohan leaf (Pilea trinervia Wight) who minimize the side effect of conventional drug. The aim of this research is to knowing the best doses of a variant solvent to blood glucose levels decrease. The induced by alloxan with mice as experimental animals. Blood glucose levels were determined at 0, 7, 14 days using glucometer. The doses of n-hexane at 0,83 mg/20 gram BW, ethyl acetate at 1,6 mg/20 gram BW, and ethanol 70% at 2,9 mg/20 gram BW wich is administered by orally every day in the same time until 14th day. The result of a variant solvent Pilea trinervia Wight leaf can decrease blood glucose levels in ethanol 70% solvent significantly 61,10%.

Keywords: Diabetes mellitus, Antidiabetic activity, *Pilea trinervia*, alloxan

ABSTRAK

Diabetes melitus merupakan suatu penyakit kelainan metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah. Pengobatan diabetes dapat dilakukan melalui pengobatan tradisional yang berasal dari alam seperti daun pohpohan (*Pilea trinervia* Wight.) yang mana dapat meminimalisir efek samping dari pengobatan konvensional. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dosis dengan perbedaan pelarut terbaik dalam penurunan angka glukosa darah. Induksi menggunakan aloksan dengan mencit sebagai binatang percobaannya. Pengecekan kadar glukosa darah puasa dilakukan pada hari ke 0, 7, dan 14 dengan menggunakan glukometer. Dosis n-heksana yang digunakan sebesar 0,83 mg/20 gram BB mencit, etil asetat 1,6 mg/20 gram BB, dan etanol 70% 2,9 mg/20 gram BB pemberian dilakukan secara oral setiap hari sampai hari ke 14. Hasil yang diperoleh menunjukkan dengan variasi pelarut, daun pohpohan dapat menurunkan kadar glukosa darah puasa terbaik pada ekstrak etanol 70% sebesar 61,10 %.

Kata kunci : Diabetes melitus, Aktivitas Antidiabetes, *Pilea trinervia* Wight, aloksan

PENDAHULUAN

Pengobatan tradisional atau herbal masih menjadi prioritas dan kepercayaan masyarakat, meskipun disamping pengobatan secara modern telah dikembangkan, kepercayaan masyarakat terhadap pengobatan tradisional telah menjadikannya sebagai kebudayaan yang diturunkan dari generasi ke generasi berikutnya dalam bentuk lisan maupun tulisan (Rostiyati, 2010).

Peningkatan angka penderita diabetes melitus pada tahun 2025 diperkirakan akan mencapai 380 juta jiwa, selain itu juga WHO merevisi angka kejadian diabetes melitus di Amerika Serikat yang tadinya diperkirakan sebanyak 21,9 juta menjadi 30,3 juta. Sampai akhir tahun 2011, penderita DM mencapai 366 juta orang dengan angka kematian sebesar 4,6 juta jiwa (Nicholson dan Hall, 2011).

Salah satu tanaman herbal yang memiliki aktivitas sebagai antidiabetes adalah Pohpohan (*Pilea trinervia* Wight.). Ekstrak etanol daun pohpohan (*Pilea trinervia* Wight.) mengandung senyawa golongan alkaloid, polifenolat, tanin, flavonoid, steroid, kuinon, monoterpenoid dan seskuiterpenoid yang berpotensi sebagai antidiabetes mengetahui aktivitas antidiabetes ekstrak daun pohpohan (*Pilea trinervia* Wight.) pada mencit putih jantan galur swiss webster yang diinduksi aloksan. Dan untuk mengetahui ekstrak yang memiliki aktivitas terbaik sebagai antidiabetes.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah blender (Philips), pisau, 1 set alat bedah, maserator, *waterbath*, erlenmeyer, cawan porselen, kaca arloji, sarung tangan, masker, cawan penguap, gelas ukur, penjepit kayu, plat tetes, kandang mencit, timbangan hewan, timbangan analitik, kertas perkamen, kertas saring, mortir, stemper, corong, tissue, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spatel, batang pengaduk, pipet tetes, jarum dan alat suntik, *stop watch*, *glukometer Dr*, *rotary vacuum evaporator*, sonde oral, botol minum.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun pohpohan (*Pilea trinervia* Wight.), aquadest, n-heksan, etil asetat, etanol 70%, CMC Na 0,5%, aloksan, HCl 2N, pereaksi mayer (larutan raksa (II) klorida, KI), pereaksi dragendorff (bismuth nitrat dalam asam nitrat, KI), FeCl₃, larutan gelatin 1%, serbuk Mg, amil alkohol, amonia, asam asetat anhidrat, kloroform, eter, larutan vanilin 10%, H₂SO₄ pekat, pereaksi liebermann (asam sulfat dalam etanol 95%, asam asetat anhidrida), KOH 5%, alkohol swab, pakan dan minum mencit, metformin.

Penyiapan Bahan

Tahapan awal penelitian dimulai dari pengambilan sampel daun pohpohan, belokasi di Kuningan Jawa Barat, sampel yang didapatkan kemudian dilakukan sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan dan sortasi kering, serta determinasi tumbuhan

Determinasi Tumbuhan

Determinasi dilakukan di Sekolah Tinggi Ilmu Hayati Institut Teknologi Bandung.

Pembuatan Ekstrak

Metode ekstraksi menggunakan maserasi bertingkat. Sebanyak 500 gram serbuk simplisia dimasukan kedalam bejana maserasi dan ditambahkan pelarut sampai terendam. Dilakukan penggantian pelarut 1x24 jam dan pengadukan 8 jam sekali. Ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat, etanol 70%.

Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia sampel untuk mengetahui golongan senyawa kimia yang terkandung dalam daun pohpohan meliputi pemeriksaan alkaloid, flavonoid, polifenol, monoterpen seskuiterpen, kuinon, tannin, saponin, steroid/terpenoid.

Pengelompokan mencit

Mencit yang digunakan sebanyak 25 ekor dengan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit :

- Kelompok kontrol (-) mencit yang diberi CMC-Na 0,5%
- Kelompok kontrol (+) mencit yang diberi Metformin + CMC-Na
- Kelompok Uji I mencit diberi sediaan ekstrak n-heksan 0,83 mg + CMC-Na
- Kelompok Uji II mencit diberi sediaan ekstrak etil asetat 1,6 mg + CMC-Na
- Kelompok Uji III mencit diberi sediaan ekstrak etanol 70% 2,9 mg + CMC-Na

Dilakukan telaah protokol di Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bakti Tunas Husada Tasikmalaya dengan No. 018/kepk-bth/06/2020

Uji Aktivitas Antidiabetes

Pengujian dilanjutkan dengan pengujian aktivitas antidiabetes dengan cara penginduksian mencit menggunakan aloksan kemudian dilakukan pengecekan penurunan kadar glukosa darah pada hari ke 7 hingga hari ke 14.

Analisis data

Analisis data menggunakan SPSS, dengan metode one way anova. Sebelum dilakukan uji analisis menggunakan anova maka dilakukan uji normalitas dan homogenitas.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman dan Ekstraksi

Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang dimaksud benar adalah daun pohpohan sesuai surat hasil determinasi dari SITH ITB dengan No. 6834/I1.CO2.2/P1./2019. Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi, dengan tujuan untuk melindungi senyawa yang bersifat termolabil. Maserasi merupakan suatu proses ekstraksi secara dingin dengan melakukan pengadukan secara berkala pada suhu atau temperatur ruangan. Peningkatan kecepatan ekstraksi dapat dipengaruhi oleh pengadukan secara konstan. Proses ekstraksi berakhir jika sudah tercapai keseimbangan antara konsentrasi metabolit dalam ekstrak dan bahan tanaman (Depkes, 2000; Utami, 2017). Pelarut yang dipakai yaitu n-heksana, etil asetat, etanol 70%. Digunakan ke 3 pelarut berbeda agar dapat mengetahui ekstrak yang terbaik diantara ke 3 ekstrak tersebut dalam penurunan angka glukosa darah puasa pada mencit. Filtrat hasil ekstraksi yang diperoleh, dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga didapatkan ekstrak kental.

Tabel 1. Hasil Bobot Ekstrak, % Rendemen

Pelarut	Ekstrak Kental (g)	Rendemen (%)
n-heksana	8,683	1,7366
Etil asetat	16,9753	3,39506
Etanol 70%	31,8455	6,3691

Berdasarkan hasil randemen dapat diasumsikan bahwa komponen bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etanol lebih banyak dibandingkan pada ekstrak n-heksana, maupun etil asetat. Sama halnya dengan pernyataan (Nuhayati et al, 2009) bahwa nilai randemen yang tinggi menunjukkan banyaknya komponen bioaktif yang terkandung didalamnya.

Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui adanya kandungan metabolit sekunder dan memastikan adanya senyawa aktif yang terdapat di dalam simplisia maupun ekstrak daun pohpohan (*Pilea trinervia* Wight.) Hasil skrining fitokimia daun Pohpohan (*Pilea trinervia* Wight.) adalah sebagai berikut :

Tabel 2. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak daun pohpohan

Senyawa metabolit sekunder	Daun pohpohan (<i>Pilea trinervia</i> Wight.)	
	Simplisia	Ekstrak etanol 70 %
Alkaloid	+	+
Flavonoid	+	+
Polifenol	+	+
Tanin	+	+
Monoterpenoid dan Seskuiterpoid	+	-
Steroid	+	-
Triterpenoid	+	-
Kuinon	+	+
Saponin	+	-

Keterangan:

(+) : mengandung senyawa yang diuji (-) : tidak mengandung senyawa yang diuji

Dari hasil penapisan fitokimia terlihat bahwa baik simplisa maupun ekstrak daun pohpohan mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, polifenol. Flavonoid dapat berubah ketika ditambahkan senyawa basa atau ammonia. Flavonoid dapat diekstraksi dengan menggunakan etanol 70% (Harborne, 1987). Flavonoid bekerja dengan cara menghambat enzim alfa glukosidase melalui ikatan hidrosilasi DNA substitusi pada cincin beta (Ho dan T.M Bray, 1999) juga flavonoid diduga berperan secara signifikan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan mampu meregenerasi sel-sel β pankreas yang rusak sehingga defisiensi insulin dapat diatasi juga flavonoid yang terkandung dalam tanaman dapat memperbaiki sensitivitas insulin (Abdelmoaty dkk, 2009). Sedangkan tanin bekerja dengan cara menghambat penyerapan glukosa di intestinal dan menghambat adipogenesis (Kumari dan Jain, 2012).

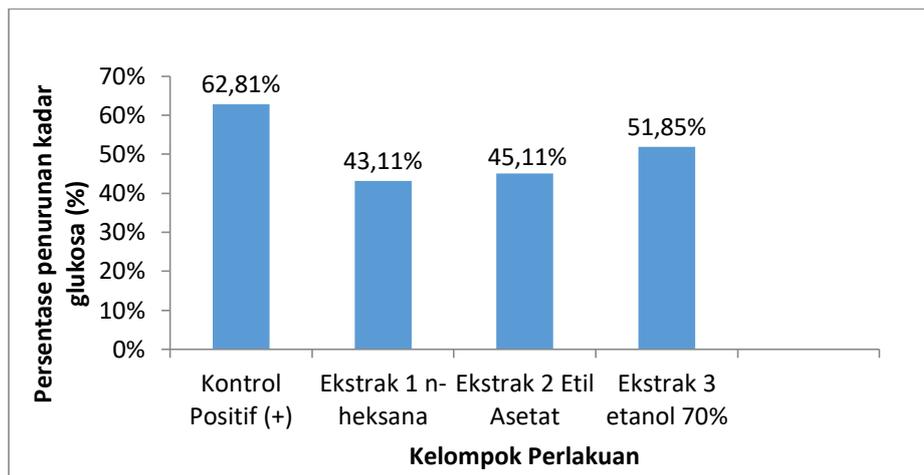
Hasil Kadar Glukosa darah

Kadar glukosa dalam darah ditentukan pada hari ke-7 dan ke-14 dengan menggunakan alat Glucose Test. Induksi menggunakan aloksan monohidrat 170 mg. Aloksan secara cepat dapat mencapai pankreas, aksinya diawali oleh pengambilan yang cepat oleh sel β Langerhans. Pembentukan oksigen reaktif merupakan faktor utama pada kerusakan sel tersebut. Pembentukan oksigen reaktif diawali dengan proses reduksi aloksan dalam sel β Langerhans. Aloksan mempunyai aktivitas tinggi terhadap senyawa seluler yang mengandung gugus SH, glutation tereduksi (GSH), sistein dan senyawa sulfhidril terikat protein misalnya SH-containing enzyme (Wilson dkk, 1984; Szkudelski, 2001; Walde dkk, 2002; Nugroho,2006).

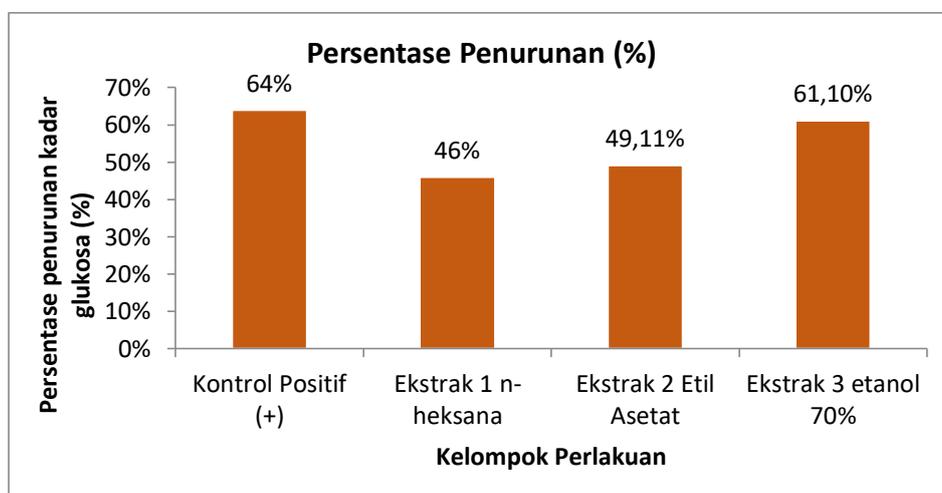
Tabel 3. Rata-rata kadar glukosa darah setiap kelompok (mean \pm SD)

Kelompok	Waktu (hari)		
	Hari ke 0 (mg/dL)	Hari ke 7 (mg/dL)	Hari ke 14 (mg/dL)
Kelompok kontrol Negatif (CMC-Na)	342 \pm 26,53	270 \pm 25,87	237,8 \pm 21,53
Kelompok kontrol Positif (Metformin)	331,8 \pm 57,22	100,4 \pm 29,28	85,6 \pm 20,11
Kelompok uji I (Ekstrak n-heksana)	288,8 \pm 43,67	153,6 \pm 32,25	128,4 \pm 29,26
Kelompok uji II (Ekstrak etil asetat)	323 \pm 29,91	148,2 \pm 39,75	121 \pm 21,99
Kelompok uji III (Ekstrak etanol 70%)	358,6 \pm 112,32	130 \pm 17,22	92,5 \pm 19,4

Kelompok uji III ekstrak etanol memiliki kadar rata-rata yang paling rendah jika dibandingkan dengan kelompok uji I maupun kelompok uji II hal tersebut dapat diasumsikan jika penurunan terbaik kadar glukosa darah berada pada ekstrak etanol 70%. Setiap kelompok terjadi peningkatan yang signifikan setelah diberikan induksi aloksan, hal tersebut sesuai dengan penelitian (Bahman, 2019) bahwa hewan uji dikatakan diabetes ketika kadar glukosanya >200 mg/dL. Kadar glukosa tertinggi yaitu pada kelompok kontrol negatif karena kontrol negatif tidak diberikan perlakuan atau dosis uji sehingga kadar glukosa tidak mengalami penurunan, berbeda halnya dengan kelompok kontrol positif, kelompok uji I,II,III yang diberikan sediaan hingga terdapat penurunan kadar glukosa darah.



Gambar 1. Grafik penurunan kadar glukosa hari ke-7



Gambar 2. Grafik penurunan kadar glukosa hari ke-14

Kelompok uji III ekstrak etanol memiliki persentase penurunan terbaik. Sehingga dapat disimpulkan baik hari ke 7 maupun hari ke 14 kelompok uji III ekstrak etanol memiliki persentase penurunan terbaik jika dibandingkan dengan kelompok uji I maupun uji II. Persentase penurunan glukosa darah pada mencit lebih besar diberikan oleh kelompok ekstrak etanol 70% dibandingkan dengan ekstrak n-heksana ataupun etil asetat, hal tersebut dimungkinkan karena adanya perbedaan senyawa metabolit yang terkandung pada masing-masing ekstrak, metabolit sekunder yang memiliki sifat polar lebih banyak terkandung pada ekstrak etanol karena sifatnya yang polar, metabolit sekunder yang berperan penting pada penurunan kadar glukosa darah mencit adalah flavonoid karena aktivitasnya yang dapat memberikan efek hipoglikemik pada mencit (Bahman, 2019). Flavonoid termasuk golongan fenolik yang bersifat polar akan terlarut pada pelarut yang bersifat polar seperti metanol, etanol, air (Suratmo, 2009). Potensi antidiabetes yang lebih besar diberikan oleh kelompok uji III etanol 70% dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Hal ini bisa diakibatkan karena perbedaan kandungan senyawa metabolit masing-masing ekstrak. Metabolit sekunder yang bersifat polar banyak terkandung dalam ekstrak etanol karena sifatnya yang polar.

Berdasarkan hasil analisis menggunakan SPSS, uji normalitas dan homogenitas data pada hari ke 7 maupun hari ke 14 memiliki nilai signifikansi $>0,05$ yang artinya data bersifat normal dan homogen. Dilakukan uji one way anova yang menghasilkan nilai signifikansi $<0,05$ yang artinya data memiliki perbedaan signifikan antar kelompok. Dilakukan uji lanjutan menggunakan LSD. Kelompok uji III etanol 70% memberikan aktivitas yang paling baik karena dari kadar glukosa darahnya lebih

kecil dan signifikan dibandingkan dengan negatif, kelompok uji I, II, maupun III. meskipun tidak lebih baik jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif metformin.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antidiabetes daun pohpohan (*Pilea trinervia* Wight.) dengan variasi pelarut n-heksana, etil asetat, dan etanol 70% diantara ketiga variasi pelarut didapatkan hasil bahwa kelompok uji III etanol 70% memiliki aktivitas penurunan glukosa darah terbaik. Kelompok uji III etanol 70% memiliki aktivitas bermakna terhadap penurunan kadar glukosa darah dibandingkan dengan kelompok uji ekstrak n-heksana, ataupun etil asetat. Persentase penurunan kadar glukosa darah terbaik dihasilkan oleh kelompok uji ekstrak etanol 70% sebesar 51,85% pada hari ke 7 dan 61,10% pada hari ke 14.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelmoaty, M.A., Ibrahim, M.A., Ahmed, N.S., Abdelaziz, M.A. (2010). Confirmatory Studies on the Antioxidant and Antidiabetic Effect of Quercetin in Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* Agoes, G., 2007, Teknologi Bahan Alam, Serial Farmasi Industri Ed-Revisi, Penerbit ITB, Bandung.
- Bahman, D. S., & Ihwan, Y. (2019). Efek Akar *Garcinia rostrata* Hassk. ex Hook. f Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Alokasan. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 13(1), 21–29. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta : Depkes RI
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Penerbit ITB. Bandung.
- Ho, E. dan Bray, T. M. 1999. Antioxidants, NFKB activation, and diabetogenesis. *Proceeding of The Society for Experimental Biology and Medicine* 222: 205-213.
- Kumari, M dan Jain, S. 2012. Tannins : An Antinutrient with Positive Effect to Manage Diabetes. *Research Journal of Recent Science*. Vol 1(12) : 70-1
- Nicholson, G., & Hall, G. M. (2011). Diabetes mellitus: New drugs for a new epidemic. *British Journal of Anaesthesia*, 107(1), 65–73.
- Nugroho, A.E. (2006). Hewan percobaan diabetes melitus : patologi dan mekanisme aksi diabetogenik. Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Nurhayati, T, D. Aryanti, dan Nurjanah. 2009. Kajian Awal Potensi Ekstrak Spons Sebagai Antioksidan. *Jurnal Kelautan Nasional*. 2(2):43-51.
- Rostiyati, O. A. (2010). *Sistem pengobatan tradisional pada masyarakat giri jaya*. (Balai Pelestarian Sejarah dan Nilai Tradisional Bandung), 111–129.
- Suratmo. (2009). Potensi ekstrak Daun Sirih Merah Sebagai Antioksidan. Diakses dari [http:// fisika. Ub.ac.id](http://fisika.Ub.ac.id).
- Szkudelski, T., (2001). *The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in β Cells of the Rat Pancreas*, *Phystol. Res.* 50, 536-546.
- Utami et al. (2003). *Tanaman Obat untuk Mengatasi Diabetes Mellitus*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Wilson, G.L., Patton, N.J., McCord, J.M., Mullins, D.W., Mossman, B.T., (1984). *Mechanisms of streptozotocin- and alloxan-induced damage in rat β cells*, *Diabetologia.*, 27(6):587-591.
- Walde, S.S., Dohle, C., Schott-Ohly, P., Gleichmann, H., 2002, Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice, *Life Sciences*, 71, 1681–1694.