

AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN KEREHAU (*Callicarpa longifolia* Lamk.)

Elis Susilawati¹ Nita Selifiana² Widhya Aligita³ Christina Betharia P.S⁴ Elvania Fionna⁵
Sekolah Tinggi Farmasi Bandung
Email : elis.susilawati@stfb.ac.id

ABSTRAK

Pada penelitian sebelumnya daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Antioksidan dapat menurunkan stress oksidatif pada diabetes melitus dan menurunkan kadar glukosa darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui arah mekanisme kerja ekstrak etanol daun Kerehau dalam menurunkan kadar glukosa darah. Metode yang digunakan adalah resistensi insulin dan tes toleransi amylum menggunakan mencit Swiss Webster serta penghambatan enzim α -amilase. Metode resistensi insulin dilakukan secara preventif dengan induksi lipofundin 30 ml / kg Kg dan fruktosa 2,52g / KgBB selama 28 hari. Pada tes toleransi amylum mencit diinduksi Amylum manihot 3g/KgBB dan diukur kadar glukosa darah pada menit ke 90, 120, 150, 180, dan 210. Penghambatan enzim α -amilase dilakukan pada konsentrasi ekstrak 50, 100, 150, 200, 250 dan 300ppm berdasarkan reaksi iodine-pati dan diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV/Vis pada 620nm. Pada metode resistensi insulin diperoleh nilai KTTI pada kontrol negatif: 1,56; kontrol positif: 0,22; metformin: 1,11; EEDK 75mg/KgBB: 1,26; 150mg/KgBB: 1,55 dan 300mg/KgBB: 1,10. Sedangkan pada tes toleransi amylum menunjukkan bahwa ekstrak tidak menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan. Pada penghambatan enzim α -amilase diperoleh IC50 ekstrak yaitu 2.324ppm sedangkan acarbose 47ppm. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun kerehau bekerja meningkatkan sensitivitas insulin pada dosis 75mg/KgBB.

Kata kunci : Daun kerehau (*Callicarpa longifolia*, Lamk.), amylum, resistensi insulin

Diterima: 18 Mei 2018

Direvisi: 30 Juli 2018

Dipublikasikan: 1 Agustus 2018

ABSTRACT

*In previous research leaf of Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) has activity as an antioxidant. Antioxidants can reduce oxidative stress in diabetes mellitus and lower blood glucose levels. This study aims to determine the direction of action mechanism of ethanol extract of Kerehau leaf in lowering blood glucose level. Antidiabetic activity was investigated by insulin resistance and amylum tolerance test using Swiss Webster mice and inhibition of the α -amylase enzyme. The method of insulin resistance was carried out preventively by the induction of lipofundin 30ml/KgBB and fructose 2,52g/KgBB for 28 days. In the amylum tolerance test, the mice were induced by Amylum manihot 3g/KgBB and blood glucose levels were measured at 90, 120, 150, 180, and 210 minutes. Inhibition of the α -amylase enzyme was carried out at a extract concentration of 50, 100, 150, 200, 250 and 300ppm based of the iodine-starch reaction and measured absorbance using a UV/Vis Spectrophotometer at 620nm. In insulin resistance method obtained KTTI value on negative control: 1,56; positive control: 0,22; metformin 65mg/KgBB: 1,11; EEDK 75mg/KgBB: 1,26; 150mg/KgBB: 1,55 and 300mg/KgBB: 1,10. While on amylum tolerance test showed that the extract did'nt decrease the blood glucose level significantly. Inhibition of enzyme α -amylase obtained IC50 extract is 2.324ppm while acarbose 47ppm. The conclusion of this research is kerehau leaf ethanol extract work to increase insulin sensitivity at dose 75mg/KgBB.*

Keywords: Leaf of Kerehau (*Callicarpa longifolia*, Lamk.), amylum, insulin resistance

Received:

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi salah satunya ialah hutan. Dimana dari keanekaragaman ini terdapat tanaman-

tanaman yang memiliki senyawa kimia yang dapat bermanfaat bagi pengobatan. Salah satunya adalah tanaman Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) yang berasal dari Kalimantan Timur yang daunnya biasa

digunakan oleh Suku Dayak sebagai bedak dingin untuk menghilangkan bekas jerawat dan bengkak. Selain daun, bagian akar tanaman kerehau dipercaya suku Dayak sebagai obat diare dan menghilangkan sakit perut (Novadiana dkk, 2014) (Supomo dkk, 2016).

Pada penelitian sebelumnya daun kerehau memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Erwin dkk, 2015), antiinflamasi (Semiawan dkk, 2015.), antibakteri dan penyembuh luka (Susilawati dkk, 2018). Aktivitas antioksidan dari daun kerehau ini berpotensi sebagai antidiabetes karena antioksidan mampu mengurangi stress oksidatif pada kasus diabetes melitus (Widowati, 2008). Berdasarkan uji fitokimia daun kerehau mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, tannin, terpenoid, dan steroid (Novadiana dkk, 2014) (Supomo dkk, 2016). Dimana senyawa tannin, saponin, dan terpenoid berpotensi untuk menghambat enzim α -amilase (Wahyuntari, 2011). Di Indonesia belum ada penelitian secara ilmiah tentang aktivitas antidiabetes dari daun kerehau. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui apakah daun kerehau mampu menurunkan glukosa darah pada penderita diabetes guna memperoleh pengobatan alternatif dengan efek samping yang lebih minimum.

Tercatat pada tahun 2017 terdapat 425.000.000 orang dewasa menderita diabetes dan diperkirakan pada tahun 2045 akan mencapai 629.000.000 orang dewasa

yang menderita diabetes. Indonesia sendiri menduduki peringkat ke 6 dari 10 negara dengan jumlah orang dewasa (20-79 tahun) penderita diabetes tertinggi di dunia (International Diabetes Federation, 2017). Sedangkan di wilayah Asia Tenggara pada tahun 2014 tercatat 96 juta kasus pasien dewasa yang menderita diabetes atau sekitar 8.6% (Roglic dan World Health Organization 2016).

Dari banyaknya kasus penderita DM, hampir 90% pasien menderita DM tipe II yang disebabkan asupan karbohidrat dan lemak yang berlebih. Karbohidrat yang masuk dalam tubuh akan diurai menjadi glukosa. Maka dari itu, memperlambat atau mengurangi penguraian karbohidrat mampu mengurangi hiperglikemia postprandial pada kasus diabetes. Menghambat enzim yang terlibat, seperti enzim α -amylase dan α -glucosidase adalah tujuan terapeutik yang kuat untuk mengendalikan kadar glukosa darah. Selain itu, tingginya asupan lemak juga dapat menyebabkan jumlah jaringan adiposa meningkat, dimana pada jaringan ini memiliki tingkat lipolisis yang tinggi sehingga menghasilkan asam lemak yang tinggi pula. Asam lemak ini dilepaskan ke sirkulasi sistemik menuju ke hati, dimana mereka akan merangsang produksi very low density lipoprotein (VLDL) dan mengurangi sensitivitas reseptor insulin pada jaringan perifer (Glantz 2012a).

Pada kasus DM tipe II agen hipoglikemi oral yang digunakan ialah acarbose dan metformin. Mekanisme acarbose ialah

menghambat enzim α -amylase dan α -glucosidase sehingga hidrolisis karbohidrat tertunda. Namun dalam penggunaannya, acarbose memiliki efek samping seperti diare, kembung, dan ketidaknyamanan perut (J. DiPiro dkk. 2011). Sedangkan metformin dari golongan biguanid memiliki mekanisme menurunkan produksi gula hepatic dan dengan meningkatkan aksi insulin pada otot. Penggunaan metformin memiliki efek samping seperti diare, ketidaknyamanan perut, mual, rasa logam, dan anoreksia. Selain efek samping tersebut, golongan biguanid juga dikontraindikasikan pada pasien gagal jantung, gangguan ginjal, riwayat asidosis laktik, dan penyakit paru-paru hipoksia (Glantz 2012b).

METODE PENELITIAN

Alat

Neraca kasar, neraca hewan, erlenmeyer, corong, kain flannel, spuit, labu takar, ayakan, tabung reaksi, gelas kimia, gelas ukur, tabung reaksi, kandang mencit, glucometer, sonde oral, rotary evaporator, spektrofotometer UV/Vis, kuvet, glucometer, pH meter, dan inkubator.

Bahan

Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) yang didapat dari daerah Muara Muntai, Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur, alkohol 96%, emulsi lemak Lipofundin, fruktosa, *Amylum manihot*, pakan normal, metformin, acarbose, strip test, insulin, aquadest, Na-

CMC, buffer phosphate, HCl, iodium, dan enzim α -amilase.

Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah Mencit jantan Swiss Webster dengan bobot rata-rata 20-30 gram yang diperoleh dari peternak D'45 kota Cimahi.

Prosedur Penelitian.

Pengumpulan Bahan:

Tanaman Kerehau diperoleh dari daerah Muara Muntai, Kabupaten Kutai Kartanegara, Kalimantan Timur dan dideterminasi di Universitas Mulawarman Kalimantan.

Karakterisasi simplisia:

Karakterisasi dilakukan pada serbuk daun kerehau yang meliputi kadar air, kadar abu total, kadar abu tak larut asam karsolat, kadar sari larut air, kadar sari larut ethanol dan susut pengeringan.

Skrining fitokimia:

Skrining fitokimia dilakukan pada ekstrak ethanol daun kerehau yang meliputi identifikasi alkaloid, saponin, tannin, terpenoid, dan flavonoid.

Ekstraksi:

Dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:5. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga menjadi ekstrak pekat. Lalu dilakukan skrining fitokimia pada ekstrak pekat menggunakan pereaksi – pereaksi yang sesuai.

Resistensi insulin:

Metode ini dilakukan secara preventif dan model hewan resistensi insulin dibentuk menggunakan induksi emulsi lemak Lipofundin 30mL/KgBB dan fruktosa 2,52g/KgBB secara oral selama 28 hari dengan parameter yang diukur adalah nilai konstanta tes toleransi insulin (K_{TTI}). Mencit yang telah diaklimatisasi dipuaskan terlebih dahulu selama 3 jam lalu diukur kadar glukosa darah awal lalu dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, Metformin 65mg/KgBB, EEDK (ekstrak etanol daun kerebau) 75 mg/kgBB, 150 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB. Setelah itu mencit diberi pengobatan dan induksi secara bersamaan selama 28 hari. Setelah 28 hari mencit dipuaskan selama 3 jam lalu diukur toleransi insulinnya dengan cara memberikan insulin 0,0125 UI/kgBB secara intraperitoneal kemudian kadar glukosa darah diukur per 15 menit selama 60 menit (Susilawati, dkk 2017). Data

glukosa yang diperoleh kemudian dibuat kurva regresi linier logaritma natural kadar glukosa darah terhadap waktu, nilai K_{TTI} merupakan nilai gradien² atau nilai kemiringan kurva regresi dikalikan 100.

Tes toleransi amilum:

Metode ini diawali dengan pengukuran kadar glukosa darah awal (T_0) lalu hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, Acarbose 6,5mg/KgBB, EEDK 75 mg/KgBB, 150 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB. Kelompok kontrol negatif dan positif diberi Na-CMC 0.5% p.o, kelompok Acarbose 6.5mg/KgBB p.o, dan kelompok uji diberi EEDK sesuai dosisnya masing-masing secara p.o. Setelah diberi bahan uji, tunggu selama 30 menit kemudian mencit diberi induksi *Amylum manihot* 3g/KgBB kecuali kelompok kontrol negatif. Lalu ukur kadar glukosa darah pada menit ke 90, 120, 150, 180, dan 210.

Penghambatan enzim α -amilase:

Tabel 1. Sistem reaksi penghambatan enzim α -amilase

Bahan	Volume (ml)					
	BS	KS	S	BP	KP	P
Dapar Posphat pH 6.8	1	-	-	1	-	-
Enzim α -amilase (0.5U/mL)	-	1	1	-	1	1
EEDK	1	1	1	-	-	-
Acarbose	-	-	-	1	1	1
Inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit						
Pati 1%	1	-	1	1	-	1
Dapar posphat pH 6.8	-	1	-	-	1	-
Inkubasi pada suhu 37°C selama 3 menit						
HCl	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Iodium 1%	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Didihkan pada suhu 85°C selama 15 menit						
Aquadest	9	9	9	9	9	9
Volume total	13	13	13	13	13	13
Ukur Absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 620nm						

Keterangan :

BS: Blanko Sampel BP: Blanko Pembanding
KS: Kontrol Sampel KP: Kontrol Pembanding
S: Sampel P: Pembanding

Penghambatan enzim α -amilase berdasarkan reaksi pati-iodin pada konsentrasi ekstrak 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm yang kemudian diukur absorbansinya. Dalam tabung reaksi ekstrak daun Kerehau direaksikan dengan enzim α -amilase lalu diinkubasi selama 30 menit. Setelah inkubasi ditambahkan larutan pati 1% sebagai substrat dan

diinkubasi kembali selama 3 menit yang kemudian diberi pereaksi warna larutan iodium 1% lalu dipanaskan pada suhu 85°C selama 15 menit. Kemudian diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang 620nm (Wardani, 2018) (Kumar, Saleemulla, 2013). Kemudian dihitung %inhibisi dengan rumus :

$$\%inhibisi = \frac{Abs\ sampel - Abs\ kontrol}{Abs\ blanko - Abs\ kontrol} \times 100\%$$

Persen inhibisi yang diperoleh kemudian dibuat kurva regresi linier. Dari persamaan regresi dapat dihitung nilai IC_{50} dengan rumus:

$$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

*keterangan: $a = intercept$

$b = slope$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Simplisia

Berdasarkan hasil karakteristik (Tabel 2), simplisia daun kerehau memiliki kadar air lebih kecil dari 10% yaitu 8,89% dan memenuhi syarat yang ditetapkan pada *Materia Medika Indonesia* edisi IV. Air merupakan media pertumbuhan bagi mikroorganisme dan media terjadinya reaksi enzimatik yang dapat menguraikan senyawa aktifnya. Maka dari itu kadar air pada simplisia haruslah rendah agar menjaga kualitas dan khasiat dari simplisia itu sendiri. Kadar abu total pada simplisia

daun kerehau sebesar 5,25% dan kadar abu tak larut asam sebesar 0,67%. Penetapan kadar abu ini menunjukkan kadar senyawa organik dalam simplisia seperti logam K, Ca, Na, Pb, Hg, dan silika. Dalam simplisia ini juga memiliki kadar sari larut air sebesar 17% dan sari larut etanol sebesar 20%. Penetapan kadar sari larut air dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa polar dalam simplisia, sedangkan kadar sari larut etanol bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa polar maupun non polar yang larut dalam pelarut

polar. Simplisia daun kerehau memiliki nilai susut pengeringan sebesar 8.21%.

Tabel 2. Karakteristik Simplisia Daun Kerehau

Karakteristik Simplisia	Hasil	Penelitian sebelumnya (Supomo dkk, 2015)
Kadar Air	8,89%	9,6%
Kadar Abu Total	5,25 %	6%
Kadar Abu Tak Larut Asam	0,67%	1%
Kadar Sari Larut Air	17 %	17,7%
Kadar Sari Larut Etanol	20 %	11,3%
Susut Pengeringan	8,21 %	-

Skrining Fitokimia
Skrining fiokimia dilakukan terhadap serbuk dan ekstrak etanol daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.) dan

diperoleh bahwa ekstrak etanol daun kerehau mengandung senyawa metabolit yang dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Skrining Fitokimia

Uji Senyawa	Hasil		Penelitian sebelumnya (Supomo dkk, 2015)	
	Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak
	Alkaloid	-	-	-
Flavonoid	+	+	+	+
Tanin	+	+	+	+
Saponin	+	+	+	+
Kuinon	+	+	+	+
Steroid/Triterpenoid	+	+	+	+

Keterangan:

+ : mengandung senyaa metabolit sekunder; - : tidak mengandung senyaa metabolit sekunder

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung pada daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.). Analisis fitokimia yang dilakukan dalam penelitian ini hanya dilakukan secara kualitatif. Skrining fitokimia meliputi pemeriksaan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, kuinon, tanin, dan

steroid/triterpenoid. Dari tabel 3 menunjukkan bahwa pada serbuk dan ekstrak etanol daun kerehau tidak mengandung senyawa alkaloid, ini sebanding dengan penelitian sebelumnya. Senyawa metabolit seperti tannin, saponin dan flavonoid inilah yang berpotensi sebagai antidiabetes.

Resistensi insulin

Pengujian ini dilakukan secara preventif dimana induksi dan pengobatan diberikan secara bersamaan. Obat pembanding yang digunakan ialah antidiabetes oral golongan

biguanid yaitu metformin dengan mekanismenya meningkatkan sensitivitas insulin. Pada metode ini model hewan resistensi insulin dibentuk dengan pemberian emulsi lemak lipofundin 30ml/KgBB dan larutan fruktosa 2,52gr/KgBB secara per oral (Syamsul dkk, 2011). Selama perlakuan hewan uji tetap diberi pakan standar sebagai sumber glukosa. Setelah 28 hari perlakuan, hewan uji dipuaskan selama 3 jam, kemudian diukur kadar glukosa darahnya (T0) lalu dilakukan tes toleransi insulin dengan cara memberikan insulin secara intraperitoneum dengan dosis 0,0125 U/KgBB. Setelah diberi insulin dilakukan pengukuran kadar glukosa darah tiap 15 menit selama 60 menit.

Tabel 4. Nilai konstanta tes toleransi insulin

Kelompok	$K_{TTI} \pm SD$
Kontrol negatif	$1,56 \pm 0,09^*$
Kontrol positif	$0,22 \pm 0,03$
Metformin 65mg/KgBB	$1,11 \pm 0,36^*$
EEDK 75mg/KgBB	$1,26 \pm 0,39^*$
EEDK 150mg/KgBB	$1,55 \pm 0,45^*$
EEDK 300mg/KgBB	$1,10 \pm 0,43^*$

*berbeda bermakna dengan kontrol positif ($p < 0,05$); #berbeda bermakna dengan Metformin; negatif: Na-CMC 0,5%; positif: induksi lipofundin dan fruktosa; EEDK: Ekstrak Etanol Daun Kerehau
Sensitivitas insulin diukur dengan menghitung konstanta tes toleransi insulin (K_{TTI}) dimana semakin kecil nilai K_{TTI} menunjukkan rendahnya sensitivitas insulin. Nilai K_{TTI} yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik *one way* ANOVA dengan metode Bonfferoni dan nilai

signifikansi $P < 0,05$. Dari tabel 4 menunjukkan bahwa kontrol negatif memiliki nilai K_{TTI} yang berbeda bermakna terhadap kontrol positif, hal ini menunjukkan adanya penurunan sensitivitas insulin pada hewan uji. Semua kelompok uji dan metformin menunjukkan perbedaan bermakna terhadap kelompok positif ($p < 0,05$) dan tidak berbeda bermakna terhadap kontrol negatif, ini menunjukkan adanya efek peningkatan sensitivitas insulin oleh bahan uji dan metformin. Dimana tingkat sensitivitas insulin dari kelompok uji dan metformin hampir sama dengan tingkat sensitivitas insulin yang dimiliki kontrol negatif/kontrol hewan sehat. Dari tabel 4 dapat terlihat bahwa kelompok uji tidak memiliki perbedaan bermakna terhadap kelompok metformin sebagai pembanding, hal ini menandakan bahan uji memiliki efektifitas yang sama seperti metformin. Dilihat dari nilai K_{TTI} tiap kelompok, pada hewan sehat (kontrol negatif) memiliki nilai K_{TTI} sebesar 1,56 dimana nilai ini berbeda signifikan dengan kontrol hewan sakit (kontrol positif) dengan nilai K_{TTI} 0,22. Pada kelompok uji EEDK 75mg/KgBB, EEDK 150mg/KgBB, dan EEDK 300mg/KgBB secara berurut diperoleh nilai K_{TTI} sebesar 1,26, 1,55, dan 1,10. Sedangkan kelompok metformin memiliki nilai K_{TTI} sebesar 1,11, dimana nilai ini lebih kecil daripada nilai K_{TTI} bahan uji khususnya EEDK dosis 75mg/KgBB dan 150mg/KgBB. Hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kerehau efektif dalam meningkatkan

sensitivitas insulin dengan dosis terbaik yaitu dosis 75mg/KgBB.

Pemberian emulsi lemak lipofundin akan dilipolisis menghasilkan asam lemak yang tinggi yang kemudian dilepaskan ke sirkulasi sistemik dan mengalir ke hati, dimana mereka akan merangsang produksi *very low density lipoprotein* (VLDL) pada jaringan hati yang dapat merusak reseptor insulin sehingga sensitivitas insulin menjadi berkurang (Wannasiri, dkk 2016) (Glantz 2012a). Sedangkan pemberian fruktosa dapat mengakibatkan resistensi insulin hepatic melalui 2 mekanisme yaitu pembentukan asam urat dan de novo lipogenesis (DNL). Di dalam tubuh, fruktosa akan membentuk asam urat melalui fosforilasi oleh bantuan enzim ketoheksokinase (KHK) dan sejumlah ATP. Asam urat menyebabkan turunnya kadar nitri oksida (NO) sehingga terjadi vasokonstriksi dan penurunan serapan glukosa pada otot. Selain itu, asam urat juga dapat meningkatkan stress oksidatif. Akibat dari kedua efek inilah yang menyebabkan terjadinya resistensi insulin. Mekanisme lain dari fruktosa ialah dengan menginduksi DNL dengan menyediakan atom karbon (gliserol-3 fosfat dan asil-KoA) yang diubah menjadi monoasilgliserol dan diasilgliserol (DAG). Yang selanjutnya DAG akan diubah menjadi trigliserida dan VLDL yang mengakibatkan resistensi insulin (Patonah dkk, 2017). Tingginya DAG juga dapat mengaktifasi novel-PKC. Novel-PKC merupakan protein kinase C yang dapat

menurunkan tirosin terfosforilasi dari IRS (*Insulin Receptor Substrate*) yang menyebabkan penurunan sensitivitas insulin dan peningkatan glukosa darah (Panggabean - 2014).

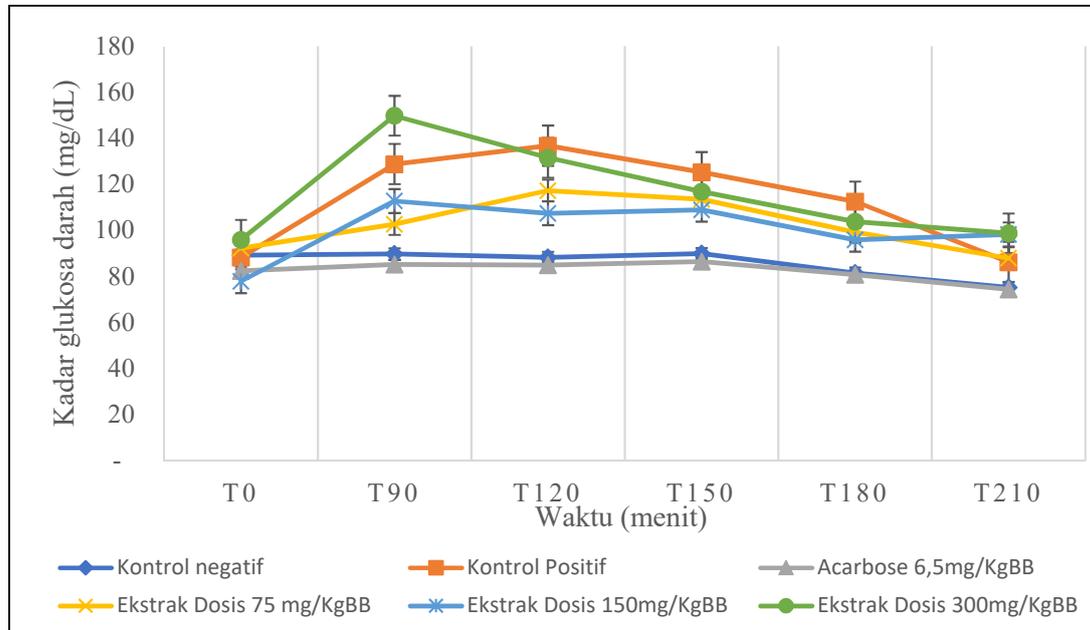
Tingginya kadar lipid pada hewan uji menyebabkan terganggunya keseimbangan metabolisme lemak dan meningkatkan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*). Pembentukan ROS yang tinggi ini akan mengganggu fosforilasi pada IRS dan menginaktivasi GLUT-4. Peningkatan sensitivitas insulin oleh daun kerehau ini terkait dengan aktivitas antioksidan yang dimiliki daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.). Dimana antioksidan akan mengurangi pembentukan ROS sehingga menurunkan resistensi insulin.

Tes toleransi amilum

Tes toleransi amilum merupakan modifikasi dari metode tes toleransi glukosa oral. Metode tes toleransi amilum dilakukan pada mencit jantan galur Swiss Webster sebagai salah satu metode untuk mengetahui kemampuan bahan uji dalam menurunkan kadar glukosa darah setelah pemberian larutan *Amylum manihot* 3gr/KgBB sebagai induksi. *Amylum manihot* atau pati singkong merupakan salah satu karbohidrat yang banyak terdapat dalam bahan pangan, yang akan dihidrolisis menjadi oligosakarida atau disakarida oleh enzim α -amilase yang selanjutnya oleh enzim α -glukosidase dipecah menjadi glukosa. Metode tes toleransi amilum diawali dengan pengukuran kadar glukosa sebelum

perlakuan (T0), lalu diberi bahan uji. Setelah 30 menit seluruh mencit (kecuali kontrol negatif) diberikan *Amylum*

manihot 3gr/KgBB secara per oral, kemudian diukur kadar glukosa darahnya pada menit ke 90, 120, 150, 180, dan 210.



Gambar 1. Grafik kadar glukosa darah pada uji toleransi amilum

Tabel 5. Profil kadar glukosa darah (mg/dL) tes toleransi amilum

Kelompok	Kadar glukosa darah (mg/dL) pada menit ke-					
	T0	T90	T120	T150	T180	T210
Negatif	89,3± 5,4	89,8± 16,7*	88,3± 7,7*	90± 7,4*	81,5± 12,7*	75,3± 5,4
Positif	88,3± 12,6	128,8± 11,3#	136,8± 10,9#	125,3± 14,2#	112,5± 12,6#	86,3± 3,5
Acarbose 6,5mg/KgBB	82,5± 7,3	85,3± 14,4*	85± 17,3*	86,5± 17,4*	80,8± 8,3*	74,5± 15,3
EEDK 75mg/KgBB	92,3± 10	102,8± 28,5	117,3± 15,8	113,5± 24,3	99,3± 18,5	88± 18,8
EEDK 150mg/KgBB	78± 14,7	112,8± 9,5	107,5± 8,3*	109± 4,9	96± 10,4	98,3± 6,7
EEDK 300mg/KgBB	96± 4,9	149,8± 34,6	131,5± 32,6	116,8± 22,1	103,8± 11,3	98,8± 15,9

*berbeda bermakna dengan kontrol positif ($p < 0.05$); #berbeda bermakna dengan Acarbose; negatif: Na-CMC 0,5%; positif: induksi *Amylum manihot* 3g/KgBB; EEDK: Ekstrak Etanol Daun Kerehau
Profil kadar glukosa darah pada tes toleransi amilum (Gambar 1) menunjukkan

bahwa pada menit ke 90 terjadi peningkatan kadar glukosa darah pada kelompok uji akibat terjadinya pemecahan amilum menjadi glukosa. Pada kelompok acarbose juga mengalami peningkatan namun tidak signifikan dari menit sebelumnya. Kadar glukosa kelompok

acarbose lebih rendah daripada kontrol positif dan menunjukkan perbedaan yang bermakna, hal ini menandakan bahwa acarbose mulai bekerja menghambat peningkatan kadar glukosa pada menit ke-90. Acarbose sendiri merupakan agen antidiabetes dengan mekanisme menghambat enzim α -amilase dan α -glukosidase sehingga hidrolisis karbohidrat tertunda (J. DiPiro dkk. 2011). Pada menit ke-90 (Tabel 5) juga terlihat bahwa rata-rata kadar glukosa darah pada bahan uji lebih rendah dari kontrol positif namun tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$). Ini menunjukkan bahwa bahan uji hanya sedikit menghambat peningkatan kadar glukosa darah. Dari semua kelompok uji tidak ada yang berbeda bermakna dengan kontrol positif, kecuali kelompok EEDK 150mg/KgBB pada menit ke-120. Ini menunjukkan bahwa dosis 150mg/KgBB mulai memberikan efek penurunan kadar glukosa darah. Meskipun demikian dosis tersebut tidak lebih efektif dibandingkan pembanding acarbose. Sehingga bisa disimpulkan bahwa EEDK kurang efektif menurunkan kadar glukosa darah pada hewan diinduksi pati. Pernyataan ini juga didukung dengan grafik kadar glukosa darah (Gambar 1), dimana pada grafik menunjukkan rata-rata kadar glukosa darah kelompok uji hampir sama seperti kontrol positif. Sebaliknya bila dibandingkan dengan kelompok

pembanding, kadar glukosa darah kelompok uji lebih besar daripada kelompok pembanding dan kontrol negatif.

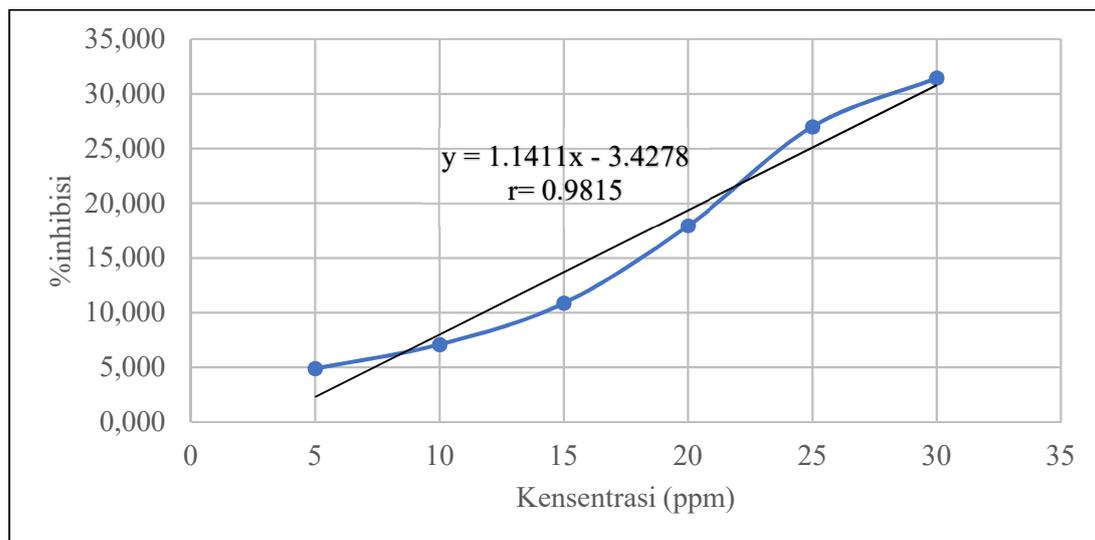
Penghambatan enzim α -amilase

Tahap awal hidrolisis pati dilakukan oleh enzim α -amilase yang mengubah pati menjadi suatu oligosakarida seperti dekstrin dan maltosa, yang selanjutnya akan diubah menjadi monosakarida oleh enzim α -glukosidase. Inhibitor enzim α -amilase berperan dalam menunda penguraian karbohidrat sehingga dapat menurunkan laju absorpsi glukosa dan mencegah peningkatan kadar glukosa darah (Wardani 2018). Pada skrining fitokimia, ekstrak etanol daun kerehau mengandung senyawa tannin, saponin, dan terpenoid, dimana senyawa ini berpotensi untuk menghambat enzim α -amilase (Wahyuntari, 2011). Maka dari itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas inhibisi enzim α -amilase dari ekstrak etanol daun kerehau. Aktivitas penghambatan enzim α -amilase dapat diukur melalui hidrolisis pati oleh enzim α -amilase. Proses ini diukur dengan penambahan iodium, dimana reaksi pati dengan iodium akan menghasilkan warna biru yang kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV/Vis. Semakin pekat warna biru yang terbentuk maka semakin besar pula pati yang tidak terurai karena adanya inhibisi enzim α -amilase.

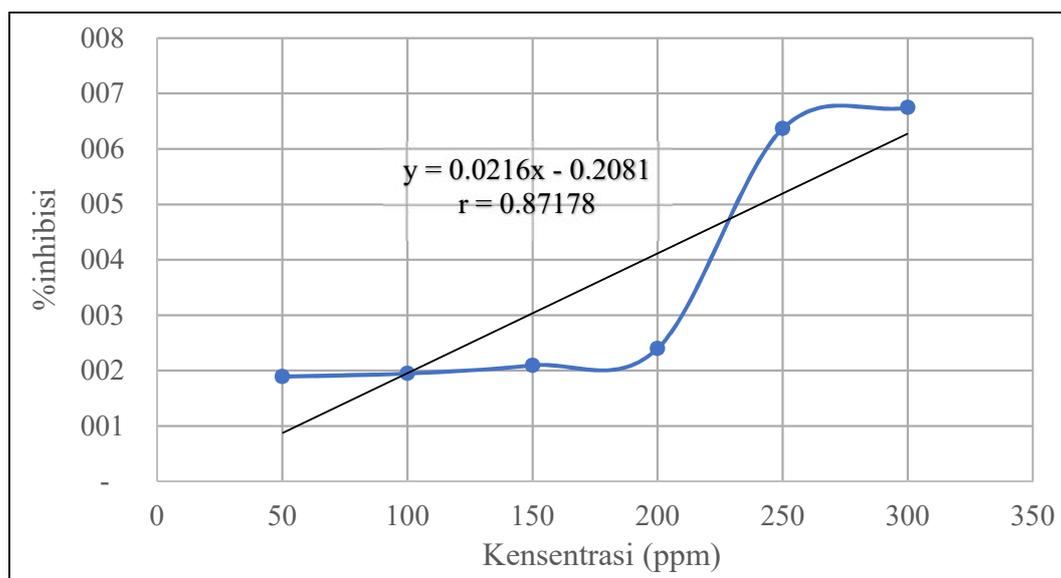
Tabel 6. Nilai IC_{50} Ekstrak Ethanol Daun Kerehau

Konsentrasi (ppm)	%inhibisi	IC_{50} (ppm)
-------------------	-----------	-----------------

Akarbose	5	4,884	47
	10	7,083	
	15	10,861	
	20	17,964	
	25	27,004	
	30	31,448	
EEDK	50	1,894	2.324
	100	1,948	
	150	2,094	
	200	2,401	
	250	6,366	
	300	6,748	



Gambar 2. Kurva persen inhibisi terhadap konsentrasi Acarbose



Gambar 3. Kurva persen inhibisi terhadap konsentrasi EEDK

Dalam tabung reaksi enzim dan sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C untuk memperoleh larutan uji dengan suhu yang sesuai dalam reaksi enzimatis. Kemudian enzim dan sampel direaksikan dengan pati lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 menit, hal ini bertujuan agar reaksi enzimatis terjadi secara optimal. Kemudian diberi HCl dan pereaksi warna iodium 1% lalu dididihkan selama 15 menit, HCl dan proses pemanasan dilakukan untuk menghentikan reaksi agar diperoleh absorbansi yang konstan. Nilai absorbansi kemudian diukur secara triplo dengan spektrofotometer UV/Vis pada panjang gelombang 620nm (Wardani, 2018). Dari tabel 6 dapat terlihat bahwa persen inhibisi ekstrak jauh lebih kecil dibandingkan persen inhibisi acarbose. Hal ini menandakan bahwa ekstrak memiliki aktivitas inhibisi enzim α -amilase yang rendah, ini juga terlihat dari nilai IC50 ekstrak yang besar yaitu 2.324ppm sedangkan acarbose memiliki nilai IC50 47ppm. Nilai IC50 adalah konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% enzim α -amilase. Dari nilai IC50 tersebut dapat disimpulkan bahwa butuh konsentrasi yang sangat tinggi agar ekstrak mampu menghambat enzim α -amilase atau dengan kata lain ekstrak etanol daun kerehau kurang efektif dalam menghambat enzim α -amilase.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun kerehau kurang efektif dalam menghambat enzim α -amilase pada tes toleransi amilum dan penghambatan enzim α -amilase. Ekstrak etanol daun kerehau memiliki aktivitas antidiabetes dengan arah mekanisme

kerja meningkatkan sensitivitas insulin dengan dosis terbaik 75mg/KgBB.

SARAN

Perlu diteliti lebih dalam lagi efek antidiabetes daun kerehau seperti aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dan uji aktivitas antidiabetes dari fraksi ekstrak etanol daun kerehau mengingat masih sedikit sekali penelitian tentang daun kerehau terhadap efek antidiabetes.

DAFTAR PUSTAKA

- Cho, Nam Han and *International Diabetes Federation*. (2017). *International Diabetes Federation eight edition*. IDF, Belgia.
- Dipiro, J.T, Gary R.M, L. Michael P, Robert L.T, Barbara G.W, dan Gary C.Y. (2014): *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*. Mcgraw-Hill Education Llc, New York
- Dipiro, J.T, Gary R.M, L. Michael P, Robert L.T, Barbara G.W, dan Gary C.Y. (2011): *Pharmacotherapy*. Mcgraw – Hill Publishing, New York.
- Erwin, Redda A.N, dan Daniel. (2015): *Phytochemical Test, Toxicity And Antioxidant Activity Leaves Kerehau (Callicarpa longifolia Lam.) With DPPH Method*. Indonesia Chimica Acta 8 (1): 52–59.
- Glantz, Stanton A. (2012a). *Primer Of Biostatistics*. Mcgraw Hill Professional.
- . 2012b. *Primer Of Biostatistics*. Mcgraw Hill Professional, New York.

- Hasimun, P, Agus S, dan Nova F.D. (2017): Potensi Rimpang Bangle Hantu (*Zingiber Ottensii* Val.) sebagai Antihiperqlikemia pada Model Hewan Diabetes yang Diinduksi Fruktosa. *Jurnal Farmasi Galenika* 4 (Edisi Khusus): 54–62.
- Kumar A.B.S, Saleemulla K, Gopi S.S, R. Nandeesh, dan N.K Manjunath. (2013): *In Vitro Antidiabetic Activity of Nisamalaki Churna*. *Sains Malaysiana - Malaysia*.
- Novadiana, Arie, dan Subur P. Pasaribu. (2014): Isolasi dan Identifikasi Senyawa Steroid Fraksi Kloroform dari Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.).” *Jurnal Kimia Mulawarman* 12 (1).
- Panggabean, Fenny K, Efta T, dan Ema P.Y. (2014): Uji Aktivitas Peningkatan Sensitivitas Insulin Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) melalui Pengukuran Konsentrasi Tirosin Terfosforilasi Insulin Reseptor Substrat-1 (Terhadap Tikus Wistar Model Diabetes Mellitus Tipe 2). *Majalah Kesehatan Fkub* Vol.1.
- Roglic, Gojka, dan *World Health Organization*, Ed. (2016). *Global Report On Diabetes*. *World Health Organization*, Geneva-Switzerland.
- Semiawan, Ferry, Islamudin A, dan Muhammad A.M. (2015): Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Daun Kerehau. *Vol 1 (1)*: 4.
- Supriningrum R, Supomo, dan Risaldi J. (2016): Karakterisasi Dan Skrining Fitokimia Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk.). *Jurnal Kimia Mulawarman* 13 (2).
- Susilawati E, Ketut A, dan Neng F. (2017). Kajian Aktivitas Antidiabetes dari Ekstrak Etanol dan Fraksinya dari Daun Singawalang (*Petiveria alliacea* L.). *Pharmacy* 13 (02).
- Susilawati E, Widhya A, dan I Ketut A. (2018). *Activity Of Karehau (Callicarpa longifolia Lamk.) Leaves Ethanolic Extract As A Wound Healing*. *J. Pharm. Sci, Indonesia*. 10: 5.
- Syamsul, Eka S, Agung E.N, dan Suwijiyo P. (2011): Metformin Pada Tikus Dm Tipe 2 Resisten Insulin. *Majalah Obat Tradisional*, 9.
- Wahyuntari, Budiasih. (2011): Penghambat α -Amilase: Jenis, Sumber, Dan Potensi Pemanfaatannya Dalam Kesehatan, 2: 5.
- Wannasiri, Supaporn, Pritsana P, dan Jarinyaporn N. (2016): *Rhinacanthus Nasutus Leaf Improves Metabolic Abnormalities In High-Fat Diet-Induced Obese Mice*. *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine* , Indonesia. 6 (1): 1–7.
- Wardani, Nela A.K. (2018a). Enzim α -Amilase Inhibitor Pada Ekstrak Air Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) untuk Penanggulangan Diabetes Melitus. *Jurnal Ilmu Pangan Dan Hasil Pertanian, Indonesia*. 1 (2): 50.

Widowati, Wahyu. (2008): Potensi Antioksidan
Sebagai Antidiabetes, Jurnal
Kesehatan Maranatha, Indonesia. 7 (2).