

# UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT DAN RIMPANG TEMULAWAK PADA TIKUS DM TIPE-2 YANG MENGALAMI RESISTENSI INSULIN

Mamik Dwi Anggraini<sup>1)</sup>, Yance Anas<sup>2)</sup>, Sumantri<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi S1, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim Semarang

<sup>2)</sup>Departemen Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Universitas Wahid Hasyim

<sup>3)</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

---

## INTISARI

Daun alpukat dan rimpang temulawak terbukti mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, triterpenoid, dan kurkumin, dimana senyawa tersebut berkhasiat sebagai antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan aktivitas antidiabetes kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan rimpang temulawak pada tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin.

Penelitian ini menggunakan metode *pre-test and post test control group design*. Hewan uji 30 ekor dibagi menjadi dua kelompok perlakuan. Lima ekor tikus kelompok kontrol diberi aquabides 1,25 mL/KgBB/hari dan 25 ekor tikus dibagi menjadi lima kelompok dan diberi insulin 1,8 IU/KgBB/hari selama 14 hari. Kelompok I kontrol diabetes CMC-Na 0,5% 12,5 mL/KgBB/hari, kelompok II kontrol positif metformin 150 mg/KgBB/hari, kelompok III ekstrak daun alpukat, kelompok IV ekstrak rimpang temulawak, dan kelompok V kombinasi ekstrak. Kelompok III-V diberikan dosis yang sama, yaitu 200 mg/KgBB/hari selama 14 hari. Pemeriksaan efek antidiabetes dilakukan dengan membandingkan nilai GDP tikus sebelum dan setelah perlakuan. Data perbedaan GDP tikus dianalisis menggunakan uji T-berpasangan dan uji Wilcoxon, serta data perbandingan penurunan GDP diuji menggunakan uji Kruskal Wallis dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya efek antidiabetes kombinasi ekstrak pada tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin sebesar 22,03%. Efek penurunan kadar GDP kombinasi ekstrak perbandingan dosis 1:1 tidak berbeda bermakna dengan ekstrak tunggal rimpang temulawak 200 mg/KgBB/hari.

**Kata kunci:** Daun alpukat, Rimpang temulawak, Uji efek antidiabetes, Perbandingan kombinasi kedua ekstrak dengan ekstrak tunggal.

## ABSTRACT

*Avocado's leaves and Curcuma xanthorrhizrhizoma contain compounds of flavonoids, alkaloids, triterpenoids and curcumin, where the compounds are effective as antidiabetic agents. This study aims to prove the effect of antidiabetic combination of extracts on insulin resistance type-2 diabetic rats then to compare it with a single extract.*

*This research used pre-test and post-test control group design. The 30 test animals were divided into two treatment groups. Five control groups of rats were they given 1,25 mL aquabides/KgBW/day, and 25 rats were divided into five groups and given were given 1,8 IU insulin/KgBW/day for 14 days. Group I was control of 12,5 mL CMC-Na/KgBW/day 0,5%, group II was positive control of 150 mg metformin/KgBW/day, group III was avocado's leaves extract, group IV was extract of Curcuma xanthorrhiza rhizoma, and group V was combination extract. The extracts of group III-V were given the same dose, that was given 200 mg/KgBW/day for 14 days. The measurement of antidiabetic effect was done by comparing the GDP value of rats before and after treatment. The GDP concentrations of rats were analyzed using T-paired test and Wilcoxon test, whereas the comparative data of percentage GDP decrease was tested using Kruskal Wallis test then followed by Mann-Whitney test.*

*The results showed that the effect of antidiabetic combination of extract in insulin resistance type-2 diabetic rats as the percentage GDP decrease was 22.03%. The effect of decreasing GDP concentration at the ratio of 1:1 extract did not differ significantly with the single extract of 200 mg Curcuma xanthorrhizrhizoma/KgBW/day.*

**Keywords:** *Avocado's leaves, Curcuma xanthorrhiza rhizoma, Antidiabetic effect test, Comparison combination of both extracts with single extract.*

## PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan suatu kumpulan gejala klinis (sindromaklinis) yang timbul karena adanya peningkatan kadar glukosa darah kronis akibat kekurangan insulin, baik relatif maupun absolut (Katzung, 2002). *World Health Organization* (WHO) memprediksi kenaikan jumlah pasien DM di Indonesia, dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. (Perkeni, 2011).

Indonesia memiliki banyak spesies tumbuhan berkhasiat, diantaranya adalah daun alpukat dan rimpang temulawak. Daun alpukat sudah dikenal dalam dunia pengobatan memiliki banyak manfaat, baik secara empiris maupun ilmiah. Salah satu khasiat daun alpukat yaitu dapat digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah (Kristinawati, 2010).

Berbagai macam hasil penelitian mengenai daun alpukat dan rimpang temulawak telah banyak diteliti oleh kalangan masyarakat. Salah satu yang meneliti tentang daun alpukat adalah Antia dkk., (2005). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Antia dkk., (2005) menunjukkan bahwa ekstrak air daun alpukat (100-200) mg/KgBB mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan monohidrat. Begitu juga dengan Cahyani, (2014) yang telah berhasil meneliti rimpang temulawak yang berkhasiat sebagai antidiabetes. Dimana dalam penelitiannya, ekstrak etanol rimpang temulawak 17,5 mg/KgBB ternyata efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan hingga ke dalam rentang normal dan sama efektifnya dengan metformin.

Ditinjau dari data praklinis tentang khasiat dari masing-masing tanaman, keduanya dapat dikombinasikan sebagai suatu sediaan obat herbal untuk pengobatan alternatif bagi penderita diabetes mellitus. Kombinasi ini dilakukan karena untuk meningkatkan efektifitas dari pemakaian herbal, dimana dalam dosis yang kecil mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus dibandingkan penggunaannya dalam dosis tunggal dan efeknya setara dengan penggunaan obat sintetik. Selain itu, dengan dilakukannya kombinasi herbal, maka efek terapi lebih besar sekaligus relatif aman

karena 100% menggunakan bahan alami tanpa penambahan bahan-bahan sintetik.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan tanaman yang digunakan pada penelitian ini yaitu daun alpukat diambil dari Jl. Amposari Rt 02 Rw 03 Kel. Kedung Mundu, Kec. Tembalang, Jawa Tengah. Rimpang temulawak didapat dari desa Wonolopo, Roworejo Rt 03 Rw 08, Kec. Mijen, Semarang, Jawa Tengah. Bahankimia yang digunakan adalah metformin (PT. Phapros), aquabidest (PT. Ikapharmindo Putramas), insulin kerja panjang Lantus® 100 IU/mL (PT. Aventis Pharma), CMC-Na 0,5% (PT. Phapros), cairan penyari yang digunakan adalah etanol 96% (Bratacem).

Alat untuk pembuatan sediaan uji: oven (PT. Autonics), timbangan elektrik untuk simplisia (PT. Henner R), blender (PT. Maspion), *moisture balance* (PT. Ohaus), seperangkat alat maserasi, kertas saring, *vacuum pump*, *rotary evaporator* (PT. Heidolph germany), botol tempat hasil ekstrak, dan alat-alat gelas (pirex).

Alat yang digunakan untuk perlakuan dan pengambilan darah: spuit injeksi dan jarum suntik oral, timbangan elektrik untuk ekstrak (PT. Acis), timbangan berat badan tikus (PT. Daema), seperangkat alat pengambilan darah tikus. Alat untuk analisa kadar glukosa darah: alat pengukur glukosa darah *Easy Touch®GCU* dan strip ukur glukosa darah (*Easy Touch®*). Seperangkat Notebook dengan *software* MS. Excel dan SPSS versi 16.00 untuk analisa data.

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih galur Wistar yang berumur 3-4 bulan dengan bobot (200-250 gram). Tikus diadaptasikan selama  $\pm 1$  minggu dalam kondisi laboratorium, diberi pakan standart BR2 (20g/tikus/hari) dan air *ad libitum*.

### Tahapan Penelitian Identifikasi Tanaman

Daun alpukat dan rimpang temulawak diidentifikasi di Fakultas MIPA Universitas Diponegoro Semarang (UNDIP).

### Pembuatan Ekstrak Daun alpukat

Proses pembuatan ekstrak daun alpukat mengacu kepada proses pembuatan ekstrak secara umum yang ada dalam Voigt, (1995). Daun alpukat segar yang telah

disortasi dicuci bersih menggunakan air bersih mengalir. Daun alpukat sebanyak 3 kg yang sudah bersih kemudian diangin-anginkan dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 50°C (kadar air 3%). Daun alpukat yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender, kemudian diayak menggunakan ayakan 40 Mesh. Serbuk daun alpukat diuji kadar airnya menggunakan alat *moisture balance*.

Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia daun alpukat ditimbang sebanyak 900 gram. Maserasi dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama serbuk simplisia daun alpukat direndam dalam toples kaca menggunakan 6,75 liter etanol 96% (1:7). Setelah tiga hari, rendaman simplisia diperas untuk memisahkan filtrat dan ampasnya, sehingga didapatkan maserat satu. Kemudian, dilakukan maserasi tahap kedua (remaserasi) menggunakan sisa cairan penyari sebanyak 2,25 liter (1:3). Setelah dua hari, filtrat dipisahkan dari ampasnya. Hasil maserat tahap satu dan dua dicampur, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental.

#### **Rimpang temulawak**

Proses pembuatan ekstrak rimpang temulawak mengacu kepada proses pembuatan ekstrak secara umum yang ada dalam Voigt, (1995). Rimpang temulawak segar yang telah disortasi dicuci bersih menggunakan air bersih mengalir kemudian diangin-anginkan. Rimpang temulawak yang sudah bersih sebanyak 6 kg kemudian diiris tipis-tipis dengan ketebalan ±1 cm dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C (kadar air 6,8%). Rimpang temulawak yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender, kemudian diayak menggunakan ayakan 40 Mesh. Serbuk rimpang temulawak diuji kadar airnya menggunakan alat *moisture balance*.

Proses ekstraksi dilakukan dengan dengan metode maserasi. Serbuk simplisia rimpang temulawak ditimbang sebanyak 1200 gram. Maserasi dilakukan dalam dua tahap. Tahap pertama serbuk simplisia rimpang temulawak direndam dalam toples kaca menggunakan 9 liter etanol 96% (1:7). Setelah tiga hari, rendaman simplisia diperas untuk memisahkan filtrat dan

ampasnya, sehingga didapatkan maserat satu. Kemudian, dilakukan maserasi tahap kedua (remaserasi) menggunakan sisa cairan penyari sebanyak 3 liter (1:3). Setelah dua hari, filtrat dipisahkan dari ampasnya. Hasil maserat tahap satu dan dua dicampur, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* suhu 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental.

#### **Pembuatan Sediaan Uji**

##### **CMC-Na 0,5%**

CMC-Na 0,5% dibuat dengan cara menimbang sebanyak 2,5 gram serbuk CMC-Na, kemudian dilarutkan dalam 500 mL air hangat menggunakan magnetik stirrer. Dosis CMC-Na 0,5% yang diberikan pada tikus kelompok kontrol diabetes adalah 12,5 mL/KgBB/hari.

##### **Ekstrak Etanol Daun Alpukat dan Rimpang Temulawak**

Dosis sediaan uji dalam penelitian ini adalah sama, yaitu 200 mg/KgBB/hari, baik ekstrak tunggal maupun kombinasi. Sediaan uji dibuat baru setiap hari sebanyak 25 mL. Pembuatan ekstrak etanol daun alpukat dan rimpang temulawak dilakukan dengan cara, menimbang 0,4 gram ekstrak etanol daun alpukat, 0,4 gram ekstrak etanol rimpang temulawak, dan 0,4 gram kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak (perbandingan 1:1). Masing-masing ekstrak dimasukkan dalam mortir yang berbeda kemudian masing-masing disuspensikan dengan 12,5 mL CMC-Na 0,5% sedikit demi sedikit dan diaduk hingga homogen. Masing-masing suspensi dipindahkan ke dalam labu takar 25 mL yang berbeda dan ditambahkan CMC-Na 0,5% hingga tanda batas.

##### **Metformin HCl**

Dosis metformin yang digunakan untuk kelompok kontrol positif adalah 150 mg/KgBB/hari. Dosis ini merupakan hasil konversi penggunaan metformin dari manusia terhadap tikus. Pembuatan stok metformin 12 mg/mL dilakukan dengan menimbang sebanyak 600,0 mg metformin, kemudian digerus dalam mortir dan ditambahkan 25 mL CMC-Na 0,5%, diaduk hingga homogen. Suspensi metformin dimasukkan dalam labu takar 50 mL.

### **Pembuatan Tikus DM Tipe-2 yang Mengalami Resistensi Insulin**

Menurut penelitian Fitriana (2012), tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin dapat dibuat dengan cara pemejangan insulin eksogen 1,8 IU/KgBB/hari selama 14 hari. Penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa kadar gula darah puasa tikus galur Wistar normal adalah  $71,17 \pm 23,60$  mg/dL, untuk menghindari *range* terlalu lebar maka tikus dikatakan mengalami DM tipe-2 bila kadar gula darah puasa  $>85$  mg/dL (Wang dkk., 2010). Sebanyak 30 ekor tikus jantan galur Wistar dibagi menjadi dua kelompok perlakuan. Lima ekor tikus kelompok kontrol normal diberi perlakuan aquabidest (s.c) 1,25 mL/KgBB/hari selama 14 hari dan 25 ekor tikus diberi perlakuan dengan insulin eksogen 1,8 IU/KgBB/hari (s.c) selama 14 hari. Setelah dilakukan pemejangan selama 14 hari, tikus dibiarkan selama tiga hari dan selanjutnya dilakukan pengukuran kadar GDP. Tikus yang diinduksi insulin eksogen dikatakan mengalami DM tipe-2 bila kadar GDP pada hari ke-17  $> 85$  mg/dL.

### **Uji Aktivitas Antidiabetes**

Sebanyak 25 ekor tikus DM tipe-2 yang memiliki kadar GDP  $>85$  mg/dL dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yaitu, kelompok kontrol diabetes (perlakuan CMC-Na 0,5% 12,5 mL/KgBB/hari), kelompok kontrol positif (perlakuan metformin 150 mg/KgBB/hari), kelompok ekstrak etanol daun alpukat 200 mg/KgBB/hari, kelompok ekstrak etanol rimpang temulawak 200 mg/KgBB/hari, dan kelompok kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak 200 mg/KgBB/hari. Sebelum perlakuan sediaan uji, terlebih dahulu dilakukan pengukuran kadar GDP ( $\pm 18$  jam puasa). Sediaan uji diberikan pada tikus DM tipe-2 masing-masing kelompok perlakuan selama 14 hari secara peroral. Setelah akhir pemberian sediaan uji, dilakukan pengukuran kadar GDP untuk melihat adanya efek antidiabetes. Efek antidiabetes dilihat dengan cara membandingkan kadar GDP sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji.

### **Pengukuran Kadar Glukosa Darah**

Tikus yang akan diukur kadar glukosanya dipuasakan  $\pm 18$  jam, setelah itu dicukur bulu pada ekor tikus agar terlihat. Adanya perbedaan bermakna ditandai dengan nilai signifikansi  $<0,05$ .

jelar pembuluh darah venanya. Ekor tikus kemudian diusap dengan kapas alkohol 70%, kemudian digores secara melintang dengan *scalpel* hingga terbentuk luka kecil. Darah yang digunakan adalah darah pada tetesan ke-4 (Anas dkk., 2015). Darah ditetaskan pada ujung strip yang berwarna hitam. Setelah  $\pm 10$  detik, hasil pembacaan kadar glukosa darah akan terlihat dan ditampilkan pada layar glukometer.

### **Analisis Data**

#### **Data kadar GDP induksi DM tipe-2 pada tikus jantan galur Wistar yang mengalami resistensi insulin**

Data GDP perlakuan insulin 1,8 IU/KgBB/hari selama 14 hari diuji dahulu dengan uji normalitas dan uji homogenitas varian. Analisa normalitas menggunakan Shapiro-Wilk dan data dikatakan normal bila nilai signifikansi  $>0,05$ , sedangkan analisis homogenitas menggunakan *Homogeneity of Variance Test* dan varian data dikatakan homogen bila nilai signifikansi  $>0,05$ . Hasil penelitian menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi normal dan data tidak homogen, sehingga analisa data dilanjutkan dengan metode statistik non parametrik, yaitu Mann-Whitney. Adanya perbedaan kadar GDP ditentukan dari nilai signifikansi  $<0,05$  dengan taraf kepercayaan 95%.

#### **Data Kadar GDP Uji Aktivitas Antidiabetes**

Data yang diperoleh dari pengujian adalah data kadar GDP sebelum perlakuan (hari ke-0) dan sesudah perlakuan setelah 14 hari (hari ke-15). Sebelum dilakukan uji beda dua variabel berpasangan, data diuji terlebih dahulu dengan uji normalitas dan homogenitas varian. Hasil uji normalitas menggunakan metode shapiro wilk menunjukkan ada beberapa data (data ekstrak etanol daun alpukat 200 mg/KgBB/hari) yang tidak normal dan uji homogenitas varian menunjukkan bahwa varian homogen (signifikansi  $>0,05$ ). Data selanjutnya dianalisa dengan menggunakan metode statistik non parametrik menggunakan uji Wilcoxon. Taraf kepercayaan yang digunakan adalah 95%.

**Data perbandingan efek antidiabetes kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak dengan masing-masing ekstrak tunggalnya pada tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin**

Data yang dipakai untuk perbandingan efek antidiabetes kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak dengan masing-masing ekstrak tunggalnya adalah penurunan kadar GDP dari ketiga sediaan uji. Sebelum dilakukan uji beda tiga variabel, data penurunan kadar GDP masing-masing sediaan uji, diuji terlebih dahulu dengan uji normalitas dan uji homogenitas varian. Hasil uji normalitas dan uji homogenitas menunjukkan bahwa datanya homogen tetapi tidak terdistribusi normal, sehingga dilanjutkan dengan metode statistik non parametrik Kruskal-Wallis. Taraf kepercayaan yang digunakan adalah 95%. Setelah itu, dilanjutkan dengan uji beda dua variabel untuk melihat perbedaan masing-masing kelompok perlakuan sediaan uji. Uji beda dua variabel yang digunakan adalah uji Mann-Whitney.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Determinasi Daun Alpukat dan Rimpang Temulawak**

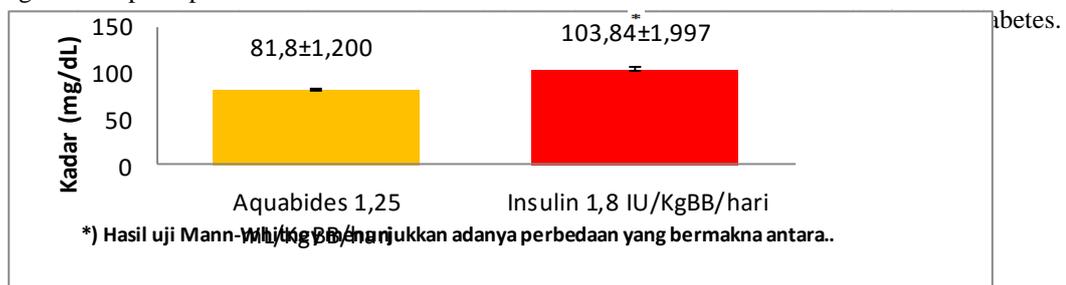
Determinasi bagian tanaman dilakukan dengan tujuan untuk mencegah terjadi kesalahan dalam pengambilan sampel, dimana kebenaran bagian tanaman dalam penelitian merupakan syarat mutlak yang harus dipenuhi. Hasil determinasi bagian tanaman menunjukkan tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah benar

daun alpukat dan rimpang temulawak (*Persea americana* dan *Curcuma xanthorrhiza*).

**Induksi DM Tipe-2 pada Tikus yang Mengalami Resistensi Insulin**

Metode inimerupakan metode yang dikembangkan untuk uji antidiabetes berdasarkan patologi DM tipe-2 karena resistensi insulin. Prinsip metode ini adalah memicu resistensi reseptor insulin karena terjadi hiperinsulinemia dalam waktu lama sehingga dapat menginduksi terjadinya DM tipe-2. Sebelum diberikan sediaan uji, tikus diinduksi menggunakan insulin eksogen kerja panjang dosis 1,8 IU/KgBB/hari selama 14 hari secara subkutan. Tikus yang diinduksi insulin eksogen dikatakan mengalami DM tipe-2 bila kadar GDP pada hari ke-17 >85 mg/dL (Fitriana, 2012). Pengambilan data GDP dilakukan pada hari ke-3 setelah berakhirnya induksi insulin eksogen. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan efek insulin eksogennya, dan mendapatkan data yang tepat. Insulin eksogen yang digunakan termasuk insulin kerja panjang (*Lantus®*) dengan masa kerja 18 – 24 jam (Suherman, 2009).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rata-rata kadar GDP kelompok yang diberikan insulin 1,8 IU/KgBB/hari selama 14 hari adalah 103,84 mg/dL, lebih tinggi dari pada kadar GDP tikus kelompok kontrol (aquabides 1,25 mL/KgBB/hari) ( $p < 0,05$ ). Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa pemberian insulin eksogen selama 14 hari dapat memicu terjadinya DM tipe-2 pada tikus



**Gambar 1. Perbandingan rata-rata kadar GDP Tikus kontrol (aquabides 1,25 mL/KgBB/hari) dan Kadar GDP tikus yang mendapatkan perlakuan insulin 1,8 IU/KgBB/hari pada hari ke-17. Kadar GDP merupakan nilai rata-rata ± SEM.**

Kadar glukosa yang tinggi dalam darah tikus diperkirakan tidak disebabkan karena menurunnya fungsi sel-sel  $\beta$

pankreas. Akan tetapi, keadaan ini disebabkan karena telah terjadinya resistensi insulin di berbagai jaringan perifer. Dalam

keadaan ini, diperkirakan kadar insulin dalam darah tinggi, sedangkan reseptor insulin banyak yang mengalami gangguan sehingga insulin gagal memindahkan glukosa dari ke dalam sel (Thevenod, 2008). Fitriana, (2012), menyatakan bahwa pemberian insulin pada manusia dalam jangka waktu yang lama dapat menginduksi terjadinya DM tipe-2. Hal tersebut dibuktikan dalam penelitian ini bahwa pemberian insulin 1,8 IU/KgBB/hari selama 14 hari, kadar GDP rata-rata tikus akan meningkat drastis menjadi 103,84 mg/dL. Sementara itu, tikus yang tidak mendapatkan perlakuan insulin mempunyai kadar GDP rata-rata sebanyak 81,8 mg/dL.

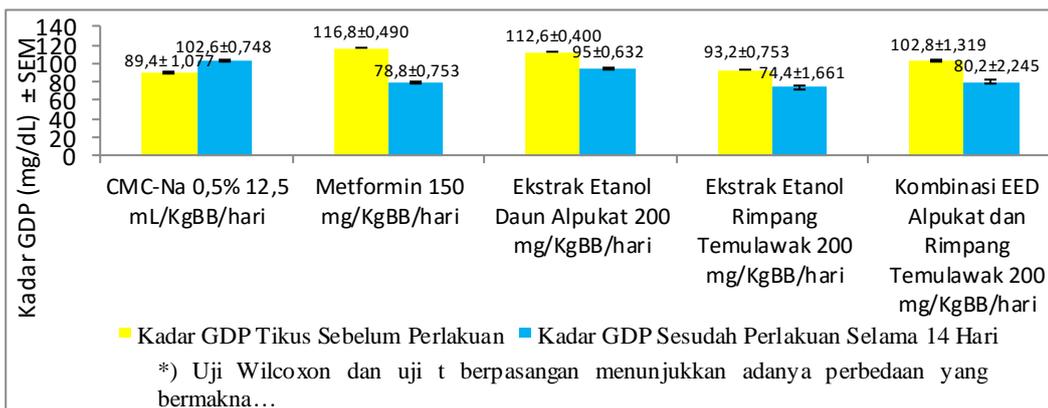
Resistensi insulin pada DM tipe-2 seringkali didahului dengan terjadinya hiperinsulinemia dan gangguan pada reseptor insulin. Kondisi resistensi insulin yang terlalu lama akan menyebabkan terjadinya penurunan sekresi insulin. Selang beberapa lama kemudian, sekresi insulin akan menurun secara bertahap, dan keadaan ini merupakan hasil akumulasi metabolit sementara glukosa pada islet pankreas, sehingga nantinya akan memperkecil ukuran atau massa sel  $\beta$  pankreas (Mahler dan Adler, 1999). Jika tidak ditangani dengan baik maka sel  $\beta$  pankreas akan mengalami kerusakan secara progresif. Keadaan ini sering kali

mengakibatkan penurunan sekresi insulin yang pada akhirnya, penderita DM tipe-2 memerlukan insulin eksogen (Maeley, 2006).

Dalam penelitian ini, resistensi insulin pada tikus jantan galur Wistar diinduksi dengan pemberian insulin kerja panjang (Lantus®) 1,8 IU/KgBB/hari selama 14 hari. Induksi DM tipe-2 dengan menggunakan insulin eksogen mempunyai beberapa keunggulan dibandingkan dengan metode lainnya, antara lain waktu yang dibutuhkan untuk membuat tikus menjadi DM tipe-2 relatif lebih cepat, bahan yang mudah didapat dan biaya yang lebih murah dibanding bahan lain (Fitriana, 2012).

#### Uji Aktivitas Antidiabetes Kombinasi EED Alpukat dan Rimpang Temulawak serta Metformin pada Tikus DM Tipe-2 yang Mengalami Resistensi Insulin

Data yang diperoleh dari uji aktivitas antidiabetes kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak adalah data kadar GDP sebelum dan sesudah perlakuan sediaan uji, setelah 14 hari. Kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak dinyatakan memiliki efek antidiabetes apabila kadar GDP tikus DM tipe-2 setelah mendapatkan perlakuan dengan kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak lebih rendah dari pada sebelum perlakuan, dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2. Perbandingan Kadar GDP Tikus Sebelum (hari ke-0) dan Sesudah Pemberian Sediaan Uji (hari ke-15). Kadar GDP merupakan nilai rata-rata ± SEM (n=5).**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan metformin 150 mg/KgBB/hari dan sediaan uji (ekstrak etanol daun alpukat, ekstrak etanol rimpang temulawak, dan kombinasi EED alpukat dan rimpang

temulawak) 200 mg/KgBB/hari selama 14 hari terbukti mampu menurunkan kadar GDP tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin ( $p < 0,05$ ). Sebaliknya, perlakuan CMC-Na 0,5% 12,5

mL/KgBB/hari pada tikus kontrol diabetes mengakibatkan peningkatan kadar GDP ( $p < 0,05$ ) (dari 89,4 mg/dL menjadi 102,6 mg/dL). Perlakuan sediaan uji (ekstrak etanol daun alpukat, ekstrak etanol rimpang temulawak, dan kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak) 200 mg/KgBB/hari selama 14 hari dapat menurunkan kadar GDP tikus DM tipe-2 dari (112,6; 93,2; dan 102,8) mg/dL menjadi (95; 74,4; dan 80,2) mg/dL. Pada perlakuan dengan metformin 150 mg/KgBB/hari kadar GDP tikus DM tipe-2 dari 116,8 mg/dL menjadi 78,8 mg/dL (Gambar 2). Oleh karena itu, dapat ditarik kesimpulan bahwa perlakuan menggunakan metformin 150 mg/KgBB/hari dan perlakuan menggunakan sediaan uji 200 mg/KgBB/hari ternyata terbukti memiliki efek antidiabetes pada tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin.

Berdasarkan penelitian Putri dkk., (2015), hasil penapisan fitokimia pada ekstrak daun alpukat adalah polifenolat, flavonoid, tanin, polifenol, monoterpen dan sesquiterpen, saponin, serta alkaloid. Begitu juga rimpang temulawak yang telah terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah. Dimana kandungan senyawa aktif dari rimpang temulawak, berdasarkan hasil pengujian skrining fitokimia ekstrak etanol rimpang temulawak yaitu triterpenoid, alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, dan glikosida (Cahyani, 2014).

Senyawa aktif yang dapat berperan sebagai antidiabetes harus mampu mengurangi resistensi insulin dan mencegah kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Misalnya flavonoid adalah salah satu senyawa yang mampu memiliki peran tersebut. Hal tersebut disebabkan karena senyawa flavonoid berperan sebagai

antioksidan yang mampu mengikat radikal bebas sehingga dapat mengurangi resistensi insulin dan mencegah kerusakan sel  $\beta$  pankreas (Stefek, 2011). Begitu juga dengan senyawa lain seperti alkaloid, triterpenoid, dan kurkumin. Alkaloid terbukti mampu meregenerasi sel  $\beta$  pankreas yang rusak (Agrawal dkk., 2013). Triterpenoid dapat mempertahankan massa sel  $\beta$  pankreas (Liu dkk., 2010) dan memiliki aktivitas antidiabetes yang terkait aktivasi jalur enzim *AMP-activated protein kinase*, dimana enzim ini mengatur translokasi glukosa untuk dapat masuk ke dalam sel (Tan dkk., 2008). Golongan fenol khususnya kurkumin dapat menghambat glukoneogenesis di hati (Kim dkk., 2009).

#### **Perbandingan Efek Antidiabetes Kombinasi EED Alpukat dan Rimpang Temulawak dengan Masing-Masing Ekstrak Tunggalnya pada Tikus DM Tipe-2 yang Mengalami Resistensi Insulin**

Data yang digunakan untuk perbandingan efek antidiabetes kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak dengan masing-masing ekstrak tunggalnya adalah penurunan kadar GDP dari ke tiga sediaan uji. Sediaan uji kemudian dianalisis menggunakan uji beda tiga variabel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa data homogen tetapi tidak terdistribusi normal, maka dilanjutkan dengan metode statistik non parametrik Kruskal Wallis. Didapatkan hasil nilai signifikansi 0,008 ( $p < 0,05$ ) maka dikatakan efek penurunan kadar GDP ada perbedaan yang bermakna. Penurunan kadar glukosa darah puasa tikus setelah mendapatkan perlakuan sediaan uji selama 14 hari dapat dilihat pada tabel I.

**Tabel I. Penurunan Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Setelah Mendapatkan Perlakuan Sediaan Uji Selama 14 Hari**

<b>Kelompok</b>	<b>Penurunan Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Setelah Mendapatkan Perlakuan Sediaan Uji Selama 14 Hari <math>\pm</math>SEM (mg/dL)</b>
CMC-Na 0,5% 12,5 mL/KgBB/hari	-
Metformin 150 mg/KgBB/hari	38 $\pm$ 0,6215
Ekstrak Etanol Daun Alpukat 200 mg/KgBB/hari	17,6 $\pm$ 0,516
Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak 200 mg/KgBB/hari	18,8 $\pm$ 1,207
Kombinasi EED Alpukat dan Rimpang Temulawak 200 mg/KgBB/hari	22,6 $\pm$ 1,782

Oleh karena itu, untuk melihat perbedaan masing-masing kelompok perlakuan dilakukan uji beda dua variabel dengan uji Mann-Whitney. Uji beda dua variabel yang menggunakan uji Mann-Whitney pada perbandingan penurunan kadar GDP ekstrak etanol daun alpukat terhadap ekstrak etanol rimpang temulawak 200 mg/KgBB/hari, didapatkan hasil nilai signifikansi 0,009 ( $p < 0,05$ ). Maka dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun alpukat dengan ekstrak etanol rimpang temulawak memiliki efek penurunan kadar GDP yang signifikan (efek antidiabetesnya lebih poten yang ekstrak etanol rimpang temulawak). Arti dari  $p < 0,05$  yaitu nilai signifikansi yang didapat harus dibawah 0,05 agar ada perbedaan yang bermakna antara ekstrak etanol daun alpukat dan ekstrak etanol rimpang temulawak. Begitu juga dengan perbandingan penurunan kadar GDP ekstrak etanol daun alpukat terhadap kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak 200 mg/KgBB/hari, didapatkan nilai signifikansi yang sama, yaitu 0,009 ( $P < 0,05$ ). Hal tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun alpukat dan kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak memiliki efek penurunan kadar GDP yang lebih baik daripada ekstrak etanol daun alpukat.

Sementara itu, pada perbandingan penurunan kadar GDP ekstrak etanol rimpang temulawak terhadap kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak 200 mg/KgBB/hari, didapatkan hasil nilai signifikansi 0,463 ( $p > 0,05$ ). Maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol rimpang temulawak dengan kombinasi ekstrak memiliki efek penurunan kadar GDP yang sama (tidak berbeda bermakna). Arti dari  $p > 0,05$  yaitu nilai signifikansi yang didapatkan lebih dari 0,05, sehingga tidak ada perbedaan efek penurunan kadar GDP antara ekstrak etanol rimpang temulawak dengan kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kombinasi kedua ekstrak memiliki efek penurunan kadar GDP yang sama dengan ekstrak tunggal rimpang temulawak. Oleh karena itu, usaha untuk mengkombinasikan kedua ekstrak dalam formula herbal antidiabetes tidak diperlukan lagi. Penelitian ini lebih merekomendasikan penggunaan

ekstrak tunggal dalam formula herbal antidiabetes.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

1. Kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak memiliki efek antidiabetes pada tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin sebesar 22,03%.
2. Efek penurunan kadar GDP kombinasi EED alpukat dan rimpang temulawak perbandingan dosis 1:1 tidak berbeda bermakna dengan ekstrak etanol rimpang temulawak dosis 200 mg/KgBB/hari, akan tetapi berbeda bermakna apabila dibandingkan dengan ekstrak etanol daun alpukat 200 mg/KgBB/hari.

### Saran

1. Perlu dilakukan pengembangan ekstrak rimpang temulawak sebagai bahan baku antidiabetes atau bahan baku produk herbal antidiabetes.
2. Perlu dilakukan identifikasi atau elusidasi struktur kimia dari senyawa aktif flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid pada ekstrak rimpang temulawak.
3. Perlu dilakukan penelitian dengan perbandingan ekstrak rimpang temulawak 17,5 mg/KgBB/hari : ekstrak etanol daun alpukat 100 mg/KgBB/hari.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, R., Sethiya, N.K., and Mishra, S.H., 2013, Antidiabetic Activity of Alkaloids of *Aerva lanata* Roots on Streptozotocin-Nicotinamide Induced Type-II Diabetes in Rats, *Pharm Biol*, 1-8.
- Anas, Y., Fithria, R.F., Nuria, M.C., Martha, A.P.L., Nugroho, A.E., dan Astuti, P., 2015, Aktivitas Antidiabetes Fraksi n-Heksan Ekstrak Etanol Daun Lengengan (*Leucas lavandulifolia* JE. Smith) Pada Tikus DM Tipe-2 yang Mengalami Resistensi Insulin, *Kartika J. Ilm. Far*, **3** (1), 28-36.
- Antia, B. S., Okokon, J. E., and Okon, P. A., 2005, Hipoglikemic Activity of Aqueous Leaf Extract of *Persea americana* Mill, *Resert Letter*, **37** (5), 325-326.

- Cahyani, M.N., 2014, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diinduksi Aloksan, *Skripsi*, Universitas Tanjungpura, Pontianak.
- Fitriana, M.R., 2012, Pengaruh Lama Perlakuan Human Insulin Terhadap Resistensi Reseptor Insulin Pada Tikus Jantan Galur Wistar, *Skripsi*, Universitas Wahid Hasyim, Semarang.
- Katzung, B.G., 2002, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Buku II, Edisi VIII, Salemba Medika, Jakarta, 449-454.
- Kim, T., Davis, J., Zhang, A.J., He, X., and Mathews, A.T., 2009, Curcumin Activates AMPK and Suppresses Gluconeogenic Gene Expression in Hepatoma Cells, *Biochemical and Biophysical Research Communication*, **388**, 377-82.
- Kristinawati, 2010, Pengaruh Ekstrak Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah pada Tikus Putih Jantan dengan Metode Uji Toleransi Glukosa, *Skripsi*, Unika Widya Mandala, Surabaya.
- Liu, J., He, T., Lu, Q., Shang, J., Sun, H., and Zhang, L., 2010, Asiatic Acid Preserves Beta Cell Mass and Mitigates Hyperglycemia in Streptozocin-induced Diabetic Rats, *Diabetes Metab Res Rev*. **26** (6), 54-448.
- Mahler, R. and Adler, M., 1999. Type-2 Diabetes Mellitus: Update on Diagnosis, Pathophysiology, and Treatment. *J Clin Endocrinol Metab*. **84**(4): 1165-71.
- Maeley, B.L., 2006, Diabetes Pathophysiology, (<http://www.health.m/DB/DiabetesPathophysiology.asp>, diakses pada 18 September 2013).
- Perkeni, 2011, *Konsensus Pengendalian dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe-2 di Indonesia*, PB PERKENI, Jakarta, 1-2.
- Putri, L.W., Yuniarni, U., dan Hazar, S., 2015, Uji Efek Antihiperглиkemia Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Alpukat dan Biji Alpukat (*Persea americana* Mill) terhadap Mencit Jantan (*Mus musculus*) Swiss Webster yang Diinduksi Aloksan, Universitas Bandung.
- Tan, M.J., Ye, J.M., and Turner, N., 2008, Antidiabetic Activities of Triterpenoids Isolated from *Bitter melon* Associated with Activation of AMPK Pathway, *Chem Biol*, **15** (3), 263-273.
- Thevenod, F., 2008, Pathophysiology of Diabetes Mellitus Type-2: Roles of Obesity, Insulin Resistance and  $\beta$  – cell Dysfunction. *Diabetes* **19**(1): 1-18.
- Suherman, S.K., 2009, Insulin dan Antidiabetika Oral, dalam: Gunawan, S.G., Setiabudi, R., Nafriadi dan Elysabeth (Eds), *Farmakologi dan Terapi*, Edisi kelima, Balai Penebit FKUI, Jakarta, 485-486 dan 491-492.
- Stefek, M., 2011, Natural Flavonoids as Potentials Multifungsional Agents in Prevention of Diabetic Cataract, *Interdiscip Toxicol*, **4** (2) 69-77.
- Steenis, C.G.G.J.V, 1981, *Flora Untuk Sekolah Indonesia*, PT. Pradnya Paramita, Jakarta.
- Voigt, R., 1995, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Edisi V, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, 559-570.
- Wang, Z.I., Yang, Y., Xiang, X., Zhu, Y., Men, J. and He, M., 2010, Estimation of the Normal Range of Blood Glucose In Rats, *MEDILINE*, **39** (2), 133-14