

**UJI AKTIVITAS *INSULIN-SENSITIZER* EKSTRAK ETANOL BUAH MALAKA
(*Phyllanthus emblica* L.) PADA TIKUS JANTAN GALUR WISTAR
YANG DIINDUKSI DIET TINGGI LEMAK**

Novi Irwan Fauzi, Yessi Febriani, Risma Ayu Musthofa

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

Abstrak

Buah malaka (*Phyllanthus emblica* L.) merupakan salah satu tanaman potensial yang dapat digunakan untuk mencegah prognosis buruk penyakit diabetes melitus. Akan tetapi, potensi tersebut belum diketahui jelas mekanismenya. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas *insulin-sensitizer* ekstrak etanol buah malaka dalam rangka karakterisasi mekanisme kerja dalam mengendalikan kadar glukosa darah pada penyakit diabetes melitus. Secara acak, 18 tikus jantan galur Wistar dibagi menjadi 6 kelompok (n=3). Kelompok kontrol tikus normal, kontrol tikus resistensi insulin, kontrol positif (metformin 45 mg/kgbb) dan 3 kelompok dosis ekstrak etanol buah malaka 100, 500 dan 1000 mg/kgbb. Induksi resistensi insulin dilakukan dengan cara pemberian emulsi tinggi lemak pada masing-masing kelompok selama 21 hari, kecuali kelompok kontrol tikus normal. Tes toleransi insulin dilakukan pada hari ke 22 untuk menilai aktivitas *insulin-sensitizer* setelah pemberian perlakuan. Hasil pengujian menunjukkan terjadinya peningkatan sensitivitas insulin yang signifikan pada semua kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol buah malaka ($p \leq 0,05$), dinilai dengan cara membandingkan nilai konstanta tes toleransi insulin (K_{TTI}) kelompok perlakuan terhadap kelompok tikus resistensi insulin. Nilai K_{TTI} pada ketiga kelompok dosis ekstrak etanol buah malaka lebih besar dibandingkan kelompok kontrol tikus resistensi insulin, berturut-turut nilainya adalah 70,29; 76,14; 77,55 dan 38,41. Ekstrak etanol buah malaka menunjukkan aktivitas *insulin-sensitizer* pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi resistensi insulin menggunakan diet emulsi tinggi lemak.

Kata kunci: Buah Malaka (*Phyllanthus emblica* L.), *Insulin-Sensitizer*, Tes Toleransi Insulin, Diabetes Melitus

Abstract

Fruit malacca (Phyllanthus emblica L.) is one of potential plants that can be used to prevent bad prognosis of diabetes mellitus. However, this potential is not known unclear mechanism. This study was conducted to determine the activity of insulin-sensitizer ethanol extract of fruit Malacca in order to characterize the mechanism of action in controlling blood glucose levels in diabetes mellitus. Randomly, 18 Wistar male rats were divided into 6 groups (n = 3). Rats normal control group, insulin resistance rats control group, positive control group (metformin 45 mg/kgbb) and 3 doses of ethanol extract of fruit malacca 100, 500 and 1000 mg/kgbw. Insulin resistance induced by giving high-fat emulsions in each group for 21 days, except for the rats normal control group. Insulin tolerance tests were performed on day 22 to assess insulin-sensitizer activity after treatment. The results showed an increase in insulin sensitivity in all groups of rats given ethanol extract of fruit Malacca ($p \leq 0,05$), was assessed by comparing the value of the insulin tolerance test constant (K_{TTI}) of the treatment group to the insulin resistance rats control group. The K_{TTI} values in the three doses of ethanol extract of malacca were higher than those of insulin resistance rats control group, the values is 70,29; 76,14; 77,55 and 38,41 respectively. Malacca fruit ethanol extract showed activity of insulin-sensitizer in Wistar male rats induced insulin resistance using a diet high in fat emulsion.

Keywords: Fruit malacca (*Phyllanthus emblica* L.), *Insulin-Sensitizer*, *Insulin Tolerance Test*, *Diabetes mellitus*

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin (resistensi insulin), atau keduanya (ADA, 2010). Kondisi hiperglikemia yang tidak terkontrol dalam jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan berbagai sistem tubuh terutama sistem saraf dan pembuluh darah. DM merupakan salah satu jenis penyakit tidak menular yang mendunia dengan prevalensi kejadian yang terus mengalami peningkatan setiap tahunnya (Depkes RI, 2008). Pada tahun 2015, sekitar 415 juta orang dari jumlah populasi penduduk dunia hidup dengan diabetes. Angka tersebut diperkirakan akan meningkat menjadi 642 juta orang pada tahun 2040 (IDF, 2015).

Indonesia sendiri menduduki ranking keempat jumlah penyandang diabetes terbanyak setelah Amerika Serikat, China dan India. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS), jumlah penyandang diabetes di Indonesia pada tahun 2003 adalah 13,7 juta orang dan berdasarkan pola pertumbuhan penduduk diperkirakan pada 2030 akan ada 20,1 juta orang penyandang diabetes.

Obat-obat paten untuk penderita diabetes semakin beragam. Biaya untuk pengobatan diabetes pun juga semakin mahal dan hampir tidak terjangkau. Hal ini dirasakan terutama oleh penderita di negara-negara berkembang seperti Indonesia (Ahkam,

2006). Oleh karena itu, rekomendasi penggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama untuk penyakit kronis, penyakit degeneratif dan kanker sangat dianjurkan sebagai upaya untuk mengatasi hal tersebut (WHO, 2008).

Salah satu tumbuhan yang efektif dalam mengendalikan penyakit diabetes melitus adalah buah malaka (*Phyllanthus emblica* L.). Buah malaka mengandung kromium, seng dan tembaga. Kromium menunjukkan aktivitas antidiabetes yang signifikan pada berbagai model eksperimental diabetes melitus. Senyawa kromium juga dapat meningkatkan metabolisme lemak pada tikus diabetes (Suryanarayan, 2007). Tingginya kadar lemak tubuh inilah yang menyebabkan terjadinya kondisi resistensi insulin pada pasien penyandang diabetes melitus (DeForenzo dkk., 1992).

Percobaan Qureshi dkk., 2009 menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol buah malaka dosis 200 mg/kgbb pada tikus yang diinduksi aloksan dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan kadar hampir mendekati normal yaitu $120,70 \pm 8,02$ mg/dl dibandingkan dengan kadar glukosa darah tikus yang tidak diberikan ekstrak (kadar glukosa $266,85 \pm 16,43$ mg/dl).

Berdasarkan kajian-kajian di atas dapat dibuat suatu hipotesa bahwa buah malaka selain mempunyai efek hipoglikemia juga

mampu memperbaiki sensitivitas terhadap insulin pada penyakit diabetes melitus.

METODOLOGI

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserator, *Rotary evaporator (IKA RV 10 BASIC V[®])*, dan Glukometer (*Easy Touch[®]*).

Bahan

Bahan yang digunakan adalah insulin pen (novomix[®]) dan metformin (PT. Narda Tita). Buah malaka diperoleh dari salah satu perkebunan Cianjur, Jawa Barat. Hewan uji yang digunakan adalah tikus galur *Wistar* dengan bobot 150 – 300 gram, rata-rata usia 3–4 minggu. Serta, insulin pen.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak tumbuhan buah malaka untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder. Pengujian yang dilakukan meliputi penapisan alkaloid, flavonoid, tanin, polifenol, monoterpen dan seskuiterpen, steroid dan triterpenoid, kuinon, dan saponin.

Ekstraksi

Ekstraksi simplisia dilakukan dengan metode maserasi. Simplisia buah malaka dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 500 g dan diekstraksi menggunakan 300 ml pelarut etanol 95%

selama 3x24 jam. Maserat dipisahkan dari residu dan dikentalkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 45⁰C.

Pengujian Aktivitas *Insulin-Sensitizer* Ekstrak Etanol Buah Malaka (*Phyllanthus emblica L.*)

Uji aktivitas *insulin-sensitizer* ekstrak etanol buah malaka dilakukan dengan menggunakan metode tes toleransi insulin. Secara acak, 18 tikus jantan galur *Wistar* dibagi menjadi 6 kelompok (n=3). Kelompok tikus normal, tikus resistensi insulin, kontrol positif (metformin 45 mg/kgbb) dan 3 kelompok dosis ekstrak etanol buah malaka 100, 500 dan 1000 mg/kgbb. Tikus diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari, kemudian induksi resistensi insulin dilakukan dengan cara pemberian emulsi tinggi lemak pada masing-masing kelompok selama 21 hari, kecuali kelompok kontrol tikus normal. Tes toleransi insulin dilakukan pada hari ke 22 setelah tikus dipuasakan selama 18 jam. Kadar glukosa darah puasa (T0) diukur menggunakan glukometer dari vena ekor. Kemudian semua kelompok hewan coba diberi perlakuan sesuai kelompoknya yaitu kelompok kontrol tikus normal diberi akuades, kelompok resistensi insulin diberikan CMC-Na 2%, kontrol positif diberikan metformin dosis 45 mg/kgbb, dan ketiga kelompok dosis ekstrak etanol buah malaka diberikan ekstrak berturut-turut dengan dosis 100, 500 dan 1000 mg/kgbb per oral. Kadar glukosa darah puasa diukur

kembali tiap 30 menit selama 120 menit setelah pemberian insulin 10 U/0,1 ml secara intraperitoneal. Aksis menunjukkan waktu dan ordinat menunjukkan kadar glukosa puasa. Koefisien regresi (r) atau *slope* ditentukan dengan regresi linier. Nilai K_{TTI} diperoleh dari perhitungan dengan rumus:

$$K_{TTI} = r \times 100$$

Aktivitas *insulin-sensitizer* dinilai dengan cara membandingkan nilai K_{TTI} kelompok perlakuan terhadap kontrol negatif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak etanol buah malaka ditunjukkan oleh Tabel 1.

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa semua simplisia dan ekstrak etanol buah malaka mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, fenolat.

Hasil Karakterisasi Simplisia

Karakterisasi simplisia buah malaka meliputi pengujian kadar abu, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, susut pegeringan dan kadar air. Hasil pengujian dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil Ekstraksi Buah Malaka

Proses ekstraksi dilakukan dengan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Cara ini dipilih karena belum diketahuinya senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktivitas

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Simplisia dan Ekstrak Etanol Buah Malaka

| Golongan Senyawa | Simplisia | Ekstrak |
|-----------------------------|-----------|---------|
| Alkaloid | + | + |
| Flavonoid | + | + |
| Tanin | + | + |
| Fenolat | + | + |
| Saponin | - | - |
| Kuinon | - | - |
| Monoterpen dan Seskuiterpen | - | - |
| Steroid dan Triterpenoid | - | - |

Keterangan: (+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Karakteristik Simplisia

| Karakteristik Simplisia | Hasil Dalam % |
|----------------------------|---------------|
| Kadar Abu Total | 3 |
| Kadar Abu Tidak Larut Asam | 1,76 |
| Kadar Abu Tidak Larut Air | 3,05 |
| Kadar Sari Larut Etanol | 7 |
| Kadar Sari Larut Air | 7,6 |
| Kadar Susut Pengeringan | 3,45 |
| Kadar Air | 10 |

insulin-sensitizer pada ekstrak buah malaka. Oleh karena itu, untuk menjaga kestabilan senyawa tersebut dilakukan proses ekstraksi menggunakan cara dingin, maserasi, agar terhindar dari panas yang memungkinkan terjadinya kerusakan jika senyawa aktif bersifat termolabil. Proses ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam dengan pengadukan berkala untuk menghindari memadatnya simplisia yang dapat menyulitkan pelarut menembus jaringan selama proses ekstraksi. Etanol dipilih sebagai pelarut karena memiliki kepolaran yang tinggi sehingga mampu melarutkan sebagian besar senyawa yang terkandung dalam simplisia. Sebanyak 500 gram simplisia buah malaka menghasilkan ekstrak kental 36,55 gram dan rendemen 7,3 %.

Hasil Pengujian Aktivitas *Insulin-Sensitizer* Ekstrak Etanol Buah Malaka (*Phyllanthus emblica* L.)

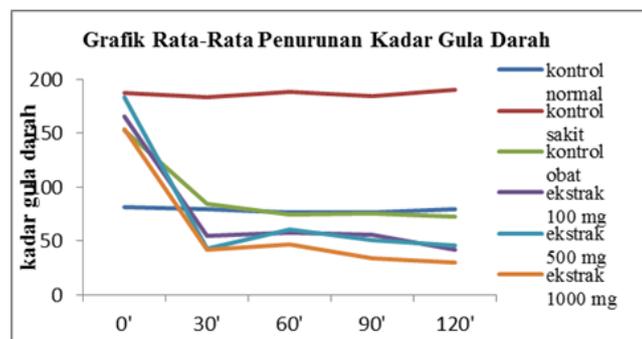
Hewan uji yang digunakan pada pengujian aktivitas *insulin-sensitizer* merupakan hewan yang mengalami resistensi insulin. Induksi resistensi insulin dilakukan dengan cara pemberian emulsi tinggi lemak. Keberhasilan induksi dinilai dengan cara membandingkan kadar glukosa darah puasa kelompok hewan percobaan yang diberi emulsi tinggi lemak dengan kelompok tikus kontrol normal dan dikonfirmasi dengan nilai K_{TTI} . Hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa dapat dilihat pada Tabel 3 dan Gambar 1.

Dari tabel 3 dapat diketahui bahwa semua hewan percobaan mengalami kondisi

Tabel 3. Penurunan Kadar Gula Darah oleh Ekstrak Buah Malaka

| Kelompok | Rata Rata Penurunan Kadar Glukosa Darah Puasa (mg/dl) | | | | |
|--------------------------|---|-----|-----|-----|------|
| | T0 | T30 | T60 | T90 | T120 |
| Kontrol Tikus Normal | 81 | 79 | 76 | 76 | 79 |
| Tikus Resistensi Insulin | 187 | 183 | 188 | 184 | 190 |
| Kontrol Positif | 153 | 82 | 74 | 75 | 72 |
| EBM dosis 100 mg/ kgbb | 165 | 54 | 57 | 55 | 42 |
| EBM dosis 500 mg/ kgbb | 183 | 43 | 60 | 51 | 46 |
| EBM dosis 1000 mg/kgbb | 154 | 42 | 47 | 34 | 30 |

Keterangan: T : waktu (menit), EBM (Ekstrak Buah Malaka)



Gambar 1. Grafik Rata-Rata Penurunan Kadar Gula Darah

resistensi insulin pada tiap kelompok perlakuan (kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl) kecuali kelompok kontrol normal (kadar glukosa darah puasa ≤ 126 mg/dl) dan nilai K_{TTI} yang lebih rendah pada kelompok tikus resistensi insulin dibandingkan kelompok kontrol tikus normal. Dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa kondisi hiperglikemia yang terjadi pada hewan percobaan disebabkan karena terjadinya resistensi insulin akibat pemberian emulsi tinggi lemak.

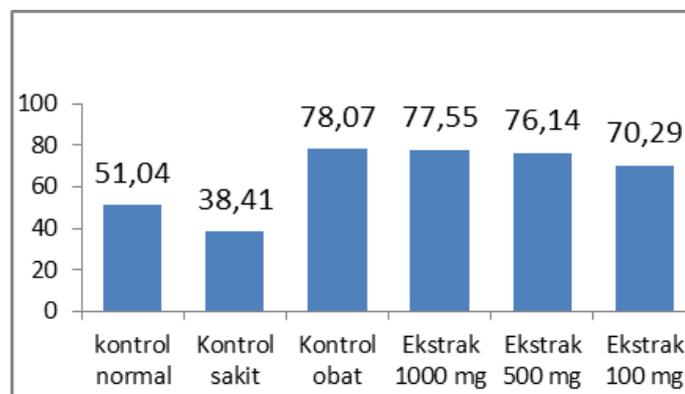
Pada keadaan normal, otot akan menggunakan glukosa dalam darah untuk menghasilkan energi. Namun, karena banyaknya asam lemak bebas dalam darah, menyebabkan otot melakukan oksidasi asam lemak dan akan terjadi peningkatan kadar asetil-KoA di dalam mitokondria. Kondisi ini akan menghambat ambilan glukosa oleh otot sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia). Sel β pankreas pada awalnya akan melakukan kompensasi untuk merespon keadaan hiperglikemia tersebut.

dengan memproduksi insulin dalam jumlah banyak (hiperinsulinemia), sehingga menyebabkan abnormalitas jalur transduksi sinyal insulin pada sel β dan mengakibatkan terjadinya resistensi insulin.

Berdasarkan grafik nilai K_{TTI} (gambar 2) dapat diketahui bahwa ekstrak etanol buah malaka pada dosis 100, 500 dan 1000 mg/kgbb dapat meningkatkan kepekaan terhadap insulin secara signifikan ($p \leq 0,05$). Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai K_{TTI} yang lebih tinggi dibandingkan kelompok tikus resistensi insulin.

Penurunan kadar glukosa darah puasa pada tikus yang diberi ekstrak etanol buah malaka mencapai kondisi hipoglikemia, kondisi tersebut kemungkinan terjadi karena pada ekstrak etanol buah malaka terdapat senyawa yang dapat menstimulasi sekresi insulin endogen.

Peningkatan aktivitas *insulin-sensitizer* terjadi seiring dengan peningkatan dosis. Jika dibandingkan dengan metformin pada dosis 45 mg/kgbb, potensi ketiga dosis ekstrak etanol buah malaka masih relatif lebih rendah.



Gambar 2. Diagram Nilai K_{TTI}

Aktivitas *insulin-sensitizer* ekstrak etanol buah malaka kemungkinan terjadi karena aktivitas dari salah satu atau beberapa golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan fenolat.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol buah malaka pada dosis 100, 500 dan 1000 mg/kgbb dapat meningkatkan sensitivitas insulin secara signifikan pada tikus jantan galur Wistar yang diinduksi resistensi insulin menggunakan diet tinggi lemak. Potensi aktivitas *insulin-sensitizer* ketiga dosis ekstrak buah malaka masih lebih rendah dibandingkan metformin dengan dosis 45 mg/kgbb. Aktivitas tersebut kemungkinan terjadi karena aktivitas dari salah satu atau beberapa golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalamnya yaitu alkaloid, flavonoid, tanin dan fenolat.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahkam, Subroto. 2006. *VCO Dosis Tepat Taklukan Penyakit*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- American Diabetes Association. 2010. "Position Statement: Standards of Medical Care in Diabetes 2010." *Diabetes Care*, 33.
- DeForenzo, R.A., Bonadonna, R.C., dan Ferrannini, E. 1992 "Pathogenesis of NIDDM. A Balanced

Overview." *Diabetes Care*, Vol 15: 318.

- Depkes R.I. 2008. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta.
- International Diabetes Federation. 2015. *IDF Diabetes Atlas – Seventh Edition*. Belgium.
- Qureshi, S.A. and S.N. Hasnain. 2009. "Hypoglycaemic and anti-diabetic activities of aqueous leaf extract of *Azadiracta indica* (Neem) in alloxan-induced diabetic rats." *Proceedings of ISSBP Symposium of Biochemistry and Biophysics*.
- Suryanarayan P., Saraswat M., Petrash J.M and Reedy G.B. 2007. Emblic officinalis and its enriched tannoids delay stertozotocin-induced diabetic cartaract in rats. *Mol J Vis*.
- WHO. 2008. *Integrated Chronic Disease Prevention and Control*. WHO Press.