

Hypoglycemic Effect Test of Ethanolic Extract of Baligo Seeds (*Benincasa Hispida* (Thumb.) Cogn.) on White Male Rats Wistar Strain with Alloxan Induction

Dina Maryati¹, Jamilah Sarimanah¹, Wiwin Herdwiani¹, Irfan Zamzani²

ABSTRACT: *Baligo* is native of tropical regions in Indonesia known as a large gourd or pumpkin. *Baligo* among others contain carbohydrates, glycosides, alkaloids, phytosterols, gums and mucilago, saponins, proteins and free amino acids, and flavonoids. Chemical constituents in seed *baligo* which is thought to have anti-diabetic activity of flavonoids and saponins. This study aims to determine the hypoglycemic effect of ethanolic extract of *baligo* seeds (*Benincasa hispida* (Thumb.) Cogn.) and find out what the larger dose of ethanolic extract of *baligo* seeds (*Benincasa hispida* (Thumb.) Cogn.) the greater hypoglycemic effect on white male rats strain wistar with alloxan induction. This study used a method in which alloxan induced rats were divided into five treatment groups that each group consisted of five rats. Group I as a negative control (CMC 0.5%), Group II as a positive control (glibenclamide) at a dose of 0.09 mg/200 g BB rats, and Group III, IV, V given doses of ethanol extract of seeds *baligo* 4.10 mg/200 g BB rats, 8.21 mg/200 g BB rats, 16.42 mg/200 g BB rats. All groups alloxan induced on day 0 (after fasting 16 hours) intraperitoneally. Examination of blood sugar levels performed on days 4 and 8 after administration of the test preparation. Statistical analysis showed that the greater the dose of ethanolic extract of *baligo* seeds (4.10 mg/200 g BB rats, 8.21 mg/200 g BB rats, 16.42 mg/200 g BB rats) was not the greater hypoglycemic effect on white male rats wistar strain with alloxan induced

Keywords: *Benincasa hispida* (Thumb.) Cogn., alloxan, hypoglycemic.

ABSTRAK: *Baligo* merupakan tanaman asli dari daerah tropis yang di Indonesia dikenal dengan sebutan kundur atau labu besar. *Baligo* antara lain mengandung karbohidrat, glikosida, alkaloid, fitosterol, gum dan mucilago, saponin, protein dan asam amino bebas, serta flavonoid. Kandungan kimia pada biji *baligo* yang diduga memiliki aktivitas antidiabetes adalah flavonoid dan saponin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek hipoglikemik ekstrak etanol biji *baligo* (*Benincasa hispida* (Thumb.) Cogn.) dan mengetahui apakah semakin besar dosis ekstrak etanol biji *baligo* (*Benincasa hispida* (Thumb.) Cogn.) semakin besar efek hipoglikemik pada tikus putih jantan galur wistar dengan induksi aloksan. Penelitian ini menggunakan metode induksi aloksan dimana tikus dibagi menjadi lima kelompok perlakuan yaitu masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus. KI sebagai kontrol negatif (CMC 0,5%), K II sebagai kontrol positif (glibenklamid) dengan dosis 0,09 mg/200 g BB tikus, dan K III, IV, V diberikan dosis ekstrak etanol biji *baligo* berturut-turut 4,10 mg/200 g BB tikus, 8,21 mg/200 g BB tikus, 16,42 mg/200 g BB tikus. Semua kelompok diinduksi aloksan pada hari ke-0 (setelah dipuasakan 16 jam) secara intraperitoneal. Pemeriksaan kadar gula darah dilakukan pada hari ke-4 dan ke-8 setelah pemberian sediaan uji. Hasil analisa statistik menunjukkan bahwa semakin besar dosis ekstrak etanol biji *baligo* (4,10 mg/200 g BB tikus, 8,21 mg/200 g BB tikus, 16,42 mg/200 g BB tikus) tidak semakin besar efek hipoglikemik pada tikus putih jantan galur wistar dengan induksi aloksan.

Kata kunci: *Benincasa hispida* (Thumb.) Cogn., aloksan, hipoglikemik.

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi

² Departemen Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Banjarmasin

Korespondensi :

Dina Maryati
dinamaryati17dm@gmail.com

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus atau kencing manis adalah suatu gangguan kronis yang khususnya menyangkut metabolisme glukosa di dalam tubuh. Gangguan metabolisme tersebut disebabkan kurangnya produksi hormon insulin. Insulin adalah salah satu hormon di dalam tubuh manusia yang dihasilkan atau diproduksi oleh sel beta pulau langerhans di dalam kelenjar pancreas (1).

Salah satu tanaman obat yang bisa dijadikan sebagai obat tradisional untuk penyakit diabetes melitus adalah baligo (*Benincasa hispida* (Thumb.) Cogn). Ekstrak etanol biji baligo telah diketahui memiliki aktifitas sebagai antelmintik, antikonvulsan, diuretik, dan depresan saraf pusat. Baligo antara lain mengandung karbohidrat, glikosida, alkaloid, fitosterol, gum dan mucilago, saponin, protein dan asam amino bebas, serta flavonoid. Kandungan kimia yang diduga memiliki aktivitas antidiabetes adalah flavonoid dan saponin (2).

Aloksan adalah derivat pirimidin yang memiliki mekanisme secara spesifik yaitu merusak sel dari pulau Langerhans dalam pankreas yang mensekresi hormon insulin (3). Aloksan lazim digunakan pada percobaan terhadap hewan karena cepat menimbulkan hiperglikemi yang permanen dalam waktu dua-tiga hari (4).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui efek hipoglikemik ekstrak etanol biji baligo (*Benincasa hispida* (Thumb.) Cogn.) pada tikus putih jantan galur wistar dengan induksi aloksan dan mengetahui apakah semakin besar dosis ekstrak etanol biji baligo (*Benincasa hispida* (Thumb.) Cogn.) semakin besar efek hipoglikemik pada tikus putih jantan galur wistar dengan induksi aloksan.

METODE PENELITIAN

Alat

Gelas ukur, corong kaca, gelas beker, kain flannel, botol berwarna gelap, spektrofotometer Star Dust, tabung centrifuge, pipet mikro, kapiler,

timbangan tikus, jarum suntik, neraca analitik, dan alat-alat gelas.

Bahan

Biji baligo, etanol 70%, *aquadest*, aloksan, CMC 0,5%, glibenklamid, dan reagen kit glukosa.

Hewan uji. Tikus putih jantan galur wistar dengan umur \pm 3-4 bulan dengan berat badan 150-200 g.

Prosedur Penelitian : 1. Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Biji Baligo. Biji baligo yang telah dikeringkan, dibuat serbuk kemudian diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil ekstraksi diuapkan dengan penangas air hingga didapat ekstrak kental. 2. Identifikasi Kandungan Kimia Biji Baligo. a. Identifikasi flavonoid Sampel diencerkan dengan sedikit air ditambah serbuk Mg alkohol-HCl (1:1) dan pelarut amil alkohol dikocok kuat agar memisah. Reaksi positif ditunjukkan adanya warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol (5). b. Identifikasi saponin. Sampel dididihkan dengan air kemudian didinginkan lalu dikocok dan didiamkan beberapa menit. Terbentuknya busa yang stabil berarti positif terdapat saponin (6).

Uji Efek Hipoglikemik. 1. Dosis Aloksan. Aloksan dibuat sebanyak 1 gram dalam 100 ml *aquadest* dengan dosis 150 mg/kg BB yang disuntikkan secara intra peritoneal. Volume pemberian sebanyak 3 ml/200 g BB tikus. 2. Dosis CMC 0,5 %. Suspensi CMC 0,5% dibuat sebanyak 500 mg dalam 100 ml *aquadest*. Dosis CMC 0,5% yang digunakan sebagai kontrol negatif adalah 5 mg/ml. Volume pemberian sebanyak 2,5 ml/200 g BB tikus. 3. Dosis glibenklamid. Glibenklamid 5 mg disuspensikan dengan CMC 0,5% dan *aquadest* sampai 100 ml. Dosis glibenklamid yang digunakan sebagai kontrol positif adalah 0,09 mg/200 g BB tikus. Volume pemberian sebanyak 1,8 ml/200 g BB tikus. 4. Dosis sediaan uji ekstrak. Variasi dosis ekstrak etanol biji baligo yang digunakan adalah $\frac{1}{2}$ DE (4,10 mg/200 g BB), 1 DE (8,21 mg/200 g BB), dan 2 DE (16,42 mg/200 g BB). Ekstrak disuspensikan dengan

CMC 0,5% dan aquadest sampai 100 ml.

Kadar glukosa darah ditetapkan secara enzimatik dengan menggunakan reaksi pembentukan warna pada penetapan kadar glukosa darah metode enzimatik dengan pereaksi GOD-PAP. Reaksi yang terjadi adalah glukosa dioksidasi oleh enzim glukosa oksidase (GOD) dengan adanya menjadi asam glukonat disertai pembentukan. Hidrogen peroksida (H_2O_2) yang terjadi dengan adanya enzim peroksidase (PAP) akan membebaskan yang selanjutnya mengoksidasi akseptor kromogen (4-Amino) yang mengandung quinonimin (senyawa berwarna merah). Besarnya intensitas warna tersebut berbanding lurus dengan glukosa yang ada (7).

Tabel 1. Pembuatan larutan standar, blanko, dan sampel.

Komposisi bahan	Standar	Blanko	Sampel
Supernatan	-	-	10 μ l
Glukosa standar	10 μ l	-	-
Aquadest	-	10 μ l	-

Ditambah 1000,0 μ L reagen GOD-PAP (DiaSys). Diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit. Kemudian serapan dibaca dengan spektrofotometer

Cuplikan darah yang diambil dari vena mata tikus dimasukkan dalam tabung kemudian di sentrifuge selama 15 menit dengan kecepatan 2000 rpm untuk mengendapkan protein, kemudian dimasukkan ke dalam masing-masing tabung sebagai berikut (tabel 1).

Bahan-bahan tersebut direaksikan dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Kemudian diukur absorbansi blanko, standar, dan sampel menggunakan spektrofotometer.

Analisa Data

Uji distribusi normal dengan menggunakan informasi dari uji *One-Sample* Kolmogorov-Smirnov. Data memiliki distribusi normal jika nilai $p > 0,05$ kemudian dilanjutkan dengan *One-Way Anova*. Perbedaan tidak bermakna ada antar kelompok apabila $p > 0,05$ sedangkan jika $p < 0,05$ berarti ada perbedaan bermakna antar kelompok sehingga jika terdapat perbedaan yang

bermakna maka dilakukan uji non parametrik menggunakan *Tukey HSD Post Hoc Test*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi kandungan kimia biji baligo. Hasil identifikasi kandungan kimia dalam biji baligo berdasarkan pustaka dan percobaan mengandung saponin dan flavonoid dapat dilihat pada tabel 2.

Hasil perlakuan hewan uji

Penetapan kadar glukosa darah dilakukan dengan metode GOD-PAP menggunakan alat spektrofotometer Star-Dust yang telah

dikonversikan ke harga kadar glukosa darah, sehingga angka yang ditampilkan merupakan harga kadar glukosa darah. Data kuantitatif rata-rata pengukuran kadar glukosa darah pada lima kelompok perlakuan yang masing-masing kelompok terdiri dari lima ekor tikus putih jantan galur wistar dapat dilihat pada tabel 3.

Berdasarkan tabel 3 di atas hasil dari analisis statistik menggunakan uji *One-Sample* Kolmogorov-Smirnov penurunan kadar glukosa darah pada $\Delta T1$ dan $\Delta T2$ memiliki distribusi normal ($p > 0,05$). Varian data sama ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA* yang memiliki perbedaan bermakna ($p < 0,05$) yaitu sig. 0,000 maka dilakukan uji non parametrik menggunakan *Tukey HSD post hoc test*. Bedanya nyata dimiliki oleh kelompok I dengan semua kelompok perlakuan yaitu kelompok II, III, IV, dan V dimana semua kelompok perbandingan tersebut memiliki nilai sig. 0,000 yang artinya bahwa kelompok II, III, IV, V memiliki efek

Tabel 2. Hasil identifikasi kandungan kimia biji baligo.

Kandungan kimia	Tes	Pustaka	Hasil percobaan
Saponin	Sampel dididihkan dengan air, didinginkan, dikocok, diamkan selama beberapa menit.	Terbentuknya busa yang stabil (6).	Terbentuk busa yang stabil
Flavonoid	Sampel diencerkan dengan sedikit air + 0,1 gram serbuk Mg + 2ml larutan alkohol : asam klorida (1:1) + pelarut amil alkohol kocok kuat biarkan memisah.	Reaksi positif ditunjukkan adanya warna merah/kuning/jingga pada lapisan amil alkohol (5).	Warna kuning pada lapisan amil alkohol

Tabel 3. Data kuantitatif rata-rata hasil pengukuran penurunan kadar glukosa darah pada berbagai kelompok perlakuan

Kelompok uji	Rata-rata kadar glukosa darah awal (mg/dl) (T0)	Rata-rata kadar glukosa darah setelah diinduksi aloksan (mg/dl) (T1)	Rata-rata kadar glukosa darah (mg/dl) setelah pemberian larutan uji		Selisih kadar glukosa darah (mg/dl) setelah pemberian larutan uji	
			Hari ke-4 (T2)	Hari ke-8 (T3)	Hari ke-4 ($\Delta T1 = T1 - T2$)	Hari ke-8 ($\Delta T2 = T1 - T3$)
I	85±9,56	165,6±20,52	186,6±10,99	180,4±16,56	-21±24,34	-14,8±34,38
II	79±7,05	152,6±23,57	71,8±9,49	61,2±8,76	80,8±28,73	91,4±25,69
III	90,8±2,86	150,4±32,56	73,2±14,99	59,2±11,65	77,2±24,76	91,2±24,80
IV	87,2±9,20	152,8±32,78	69,6±10,55	57,6±8,50	83,2±35,17	95,2±32,35
V	89±4,85	147,4±37,12	70,6±6,88	57,8±8,32	76,8±30,79	70,6±36,67

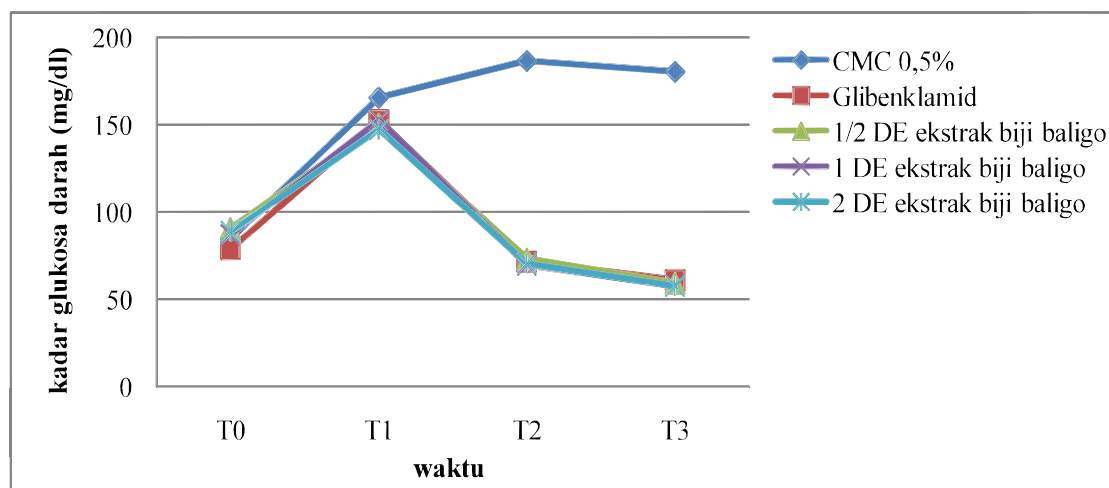
Keterangan:

- I = Kontrol Negatif (CMC 0,5%)
- II = Kontrol Positif (Glibenklamid 0,09 mg)
- III = Perlakuan ½ DE (4,10 mg)
- IV = Perlakuan 1 DE (8,21 mg)
- V = Perlakuan 2 DE (16,42 mg)

Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa semakin besar dosis ekstrak etanol biji baligo (4,10 mg/200 g BB tikus, 8,21 mg/200 g BB tikus, 16,42 mg/200 g BB tikus) tidak semakin besar efek hipoglikemik pada tikus putih jantan galur wistar dengan induksi aloksan.

hipoglikemik. Kelompok II tidak memiliki beda nyata ($p > 0,000$) dengan kelompok III, IV, dan V sehingga efek hipoglikemiknya setara dengan kelompok II.

Hal ini disebabkan karena mekanisme aloksan secara spesifik yaitu merusak sel beta dari pulau langerhans dalam pankreas yang mensekresi

**Gambar 1. Grafik hubungan rata-rata kadar glukosa darah (mg/dl) dengan waktu pemeriksaan kadar glukosa darah**

hormon insulin (3). Fungsi dari reseptor insulin yang bereaksi dengan insulin menjadi terhambat dan kepekaannya berkurang. Semakin besar dosis ekstrak etanol biji baligo yang diberikan artinya kandungan zat aktif juga bertambah banyak namun tidak mengakibatkan efek hipoglikemik yang lebih baik karena perbaikan terhadap sel beta dilakukan oleh zat aktif secara perlahan-lahan. Penyebab lain yaitu jumlah reseptor insulin yang terbatas walaupun ekstrak etanol biji baligo diberikan dalam tingkatan dosis dan sekresi insulin menjadi meningkat, jumlah insulin yang bereaksi dengan reseptor insulin juga terbatas.

Efek hipoglikemik dari ekstrak etanol biji baligo disebabkan karena biji baligo mengandung flavonoid dan saponin. Flavonoid memiliki efek langsung dalam sekresi insulin, mencegah apoptosis sel beta, dan mekanisme lain adalah mungkin melalui modulasi proliferasi. Sampai saat ini, kontribusi dari semua efek flavonoid terhadap peningkatan keseluruhan eksperimental diabetes tetap tidak jelas (8). Mekanisme aksi flavonoid yang utama adalah sifat antioksidan yaitu untuk mengatasi produksi radikal bebas yang secara berlebihan turut berperan dalam mekanisme terjadinya komplikasi diabetes mellitus (9). Senyawa polifenol seperti flavonoid mampu menghambat reaksi oksidasi melalui mekanisme penangkapan radikal (radical scavenging)

dengan cara menyumbangkan satu elektron pada elektron yang tidak berpasangan dalam radikal bebas sehingga banyaknya radikal bebas menjadi berkurang (10).

Saponin dapat menimbulkan efek hipoglikemik karena mekanisme kerja menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase yaitu enzim yang bertanggung jawab pada perubahan karbohidrat menjadi glukosa (11).

Efek hipoglikemik yang ditimbulkan oleh kontrol positif yaitu glibenklamid disebabkan karena glibenklamid menyebabkan hipoglikemik dengan cara menstimulasi pelepasan insulin dari sel beta pankreas serta dapat meningkatkan kadar insulin dengan cara mengurangi bersihan hormon di hati. Glibenklamid dimetabolisme oleh hati dan metabolitnya diekskresikan di dalam urin (12).

KESIMPULAN

Pertama, ekstrak etanol biji baligo (*Benincasa hispida* (Thumb.) Cogn.) memiliki efek hipoglikemik pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi aloksan.

Kedua, semakin besar dosis ekstrak etanol biji baligo (4,10 mg/200 g BB tikus, 8,21 mg/200 g BB tikus, 16,42 mg/200 g BB tikus) tidak semakin besar efek hipoglikemik pada tikus putih jantan galur wistar dengan induksi aloksan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Utami P. Tanaman Obat untuk Mengatasi Diabetes Mellitus. Cetakan Pertama. Jakarta: Agro Media Pustaka. 2003.
2. Qadrie ZL, Anandan R, Ashraf H, Mushtaque. Diuretic and Central Nervous System Depressant Effects of the Ethanolic Extract of *Benincasa hispida* Seeds. Pharmacologyonline. 2011; 3: 1305-1311.
3. Suharmiati. Pengujian Bioaktivitas Antidiabetes Melitus Tumbuhan Obat. Cermin Dunia Kedokteran; 2003. 140. Available form: <http://www.kalbefarma.com/files/cdk/files/06pengujia> nbioaktivitasantidiabetes.pdf/06-pengujianbioaktivitasantidiabeteshtml [18November 2012].
4. Anonim. Kumpulan Kuliah Farmakologi. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2005.
5. Robinson T. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. Padmawinata K, penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: The Organic Constituents of Higher Plants. 1995.
6. Mustikasari K, Ariyani D. Studi Potensi Binjai (*Mangifera caesia*) dan Kasturi (*Mangifera casturi*) sebagai Antidiabetes melalui Skrining Fitokimia pada Akar dan Batang. Sains dan Terapan Kimia. 2008; 2:64 – 73.

7. Baroroh F, Aznam M, Susanti H. Uji Efek Antihiperlikemik Ekstrak Etanol Daun Kacapiring (*Gardenia augusta*, Merr) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2011; 1: 43 – 53.
8. Pinent M et al. Bioactivity of Flavonoids on Insulin-Secreting Cells. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Savety*, 2008; 7: 299-308.
9. Dialetta J. Efek Flavonoid sebagai Antioksidan. Skripsi. Bandung: Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha, 2006.
10. Fidzaro. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Klabet (*Trigonella foenum graecum* L) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Gambaran Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*) yang terpapar Streptozotocin. Skripsi, Malang: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana
11. Makalalag IW, Wullur A, Wiyono W. Uji Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* Steen.) terhadap Kadar Gula Darah pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Sukrosa. *Jurnal Ilmiah Farmasi* 1. 2013; 28-34.
12. Katzung BG. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Edisi II. Jakarta: Salemba Medika, 2002.