

Efek Ekstrak Daun Singawalang (*Petiveria alliacea*) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah melalui Peningkatan Ekspresi AMPK- α 1 pada Tikus Model Diabetes Melitus

Arifa Mustika¹, Roostantia Indrawati¹, Gadis M. Sari²

¹Departemen Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia, ²Departemen Ilmu Faal Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

Abstrak

Singawalang (*Petiveria alliacea*) adalah tumbuhan yang banyak ditemukan di Indonesia dan secara empiris digunakan oleh penduduk untuk mengobati diabetes melitus. Hingga saat ini, penelitian tentang pengaruh dan mekanisme ekstrak daun Singawalang dalam menurunkan kadar glukosa darah belum banyak dilakukan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun Singawalang terhadap penurunan kadar glukosa darah dan ekspresi AMPK- α 1 pada hati. Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan rancangan acak lengkap. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga pada bulan April–Agustus 2015. Hewan coba tikus strain *Rattus norvegicus* dibuat model diabetes melitus, diinduksi dengan Streptozotocin. Sebanyak 25 tikus model diabetes melitus dibagi secara acak menjadi 5 kelompok. Kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 adalah kelompok yang memperoleh ekstrak daun Singawalang dengan dosis 90 mg/kgbb, 180 mg/kgbb dan 360 mg/kgbb. Kelompok kontrol positif adalah kelompok yang memperoleh metformin dengan dosis 150 mg/kgbb dan kontrol negatif adalah kelompok tikus yang memperoleh vehikulum. Ekstrak dan metformin diberikan sehari sekali, peronde selama 14 hari. Pada hari ke-15 setelah terapi, tikus diperiksa kadar glukosa darah dan dieuthanasia untuk diambil organnya. Ekspresi AMPK- α 1 dinilai menggunakan imunohistokimia. Data yang terkumpul dianalisis dengan ANAVA dan Wilcoxon ($\alpha=0,05$). Hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan kadar glukosa darah yang bermakna antara kontrol negatif dengan dosis 90 mg/kgbb, dosis 360 mg/kgbb, dan kontrol positif, antara dosis 180 mg/kgbb dengan dosis 360 mg/kgbb dan kontrol positif. Analisis terhadap ekspresi AMPK- α 1 pada hati tikus menunjukkan perbedaan yang bermakna antara dosis 180 mg/kgbb dengan dosis 360 mg/kgbb dan kontrol positif. Simpulan dari penelitian ini adalah ekstrak Singawalang dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus model diabetes melitus melalui aktivasi AMPK- α 1.

Kata kunci: AMPK- α 1, diabetes melitus, kadar glukosa darah, Singawalang

Effect of *Petiveria alliacea* Leaves Extract in Decreasing Serum Level of Blood Glucose Level Through Activation of AMPK- α 1 in Diabetes Mellitus Rat Models

Abstract

Singawalang (*Petiveria alliacea*) is a medicinal herb that is used traditionally as folk medicine for various diseases. The plant has been used as an antidiabetic agent in Indonesian society. Until now, the effect and mechanism of action of *Petiveria alliacea* as antidiabetic agent is not clear. The aim of the study was to determine the effect of *Petiveria alliacea* to blood glucose level and to identify expression of AMPK- α 1 in rat liver. The research was experimental study with randomized and was conducted at Laboratory Pharmacology and Therapy, and Laboratory Patology Anatomy, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, on April until August 2015. Twenty five male rats were injected by Streptozotocin to create diabetic rat models and randomly divided into 5 groups. The group 1, 2 and 3 are treatment groups that were given the ethanol extract of *Petiveria alliacea* at dose 90 mg/kgbw, 180 mg/kgbw, and 360 mg/kgbw, orally, once daily for fourteen days. The fourth group is a negative control who were given distilled water and the fifth group is a positive control who were given metformin at dose 150 mg/kgbw. On the 15th day, blood glucose level were measured by glucometer and the rats were sacrificed to collect the liver. Expression of AMPK- α 1 were assessed by immunohistochemistry. Data were analyzed by ANAVA and Wilcoxon ($\alpha=0,05$). The results have been showed that there were significant differences in glucose blood level between negative control with the group were given the extract at dose 90 mg/kgbw, 360 mg/kgbw and positive control, between dose 180 mg/kgbw with dose 360 mg/kgbw and positive control. A significant differences of expression of AMPK- α 1 showed between dose 180 mg/kgbw with dose 360 mg/kgbw and positive control. The conclusion of this study was the extract ethanol of Singawalang leaves reduce blood glucose level in diabetes mellitus rat models through increase in the expression of AMPK- α 1.

Keywords: AMPK- α 1, blood glucose level, diabetes mellitus, Singawalang

Korespondensi: Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si., Departemen Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya, Jawa Timur 60132, Indonesia, email: mustikaarifa@gmail.com

Naskah diterima: 10 November 2015, Diterima untuk diterbitkan: 12 Januari 2017, Diterbitkan: 1 Maret 2017

Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolik yang ditandai dengan kondisi hiperglikemik yang kronis. Kondisi hiperglikemik disebabkan karena kelainan pada sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. DM merupakan suatu epidemik global yang menyebabkan tingginya angka morbiditas dan mortalitas terutama akibat komplikasi mikro dan makrovaskular.¹ Prevalensi diabetes meningkat dengan cepat dari 2,8% pada tahun 2000 menjadi 4,4% pada tahun 2030. *World Health Organization* (WHO) memperkirakan penderita diabetes dewasa meningkat dari 177 juta orang pada tahun 2000 menjadi 370 juta orang pada tahun 2030. Di Indonesia pada tahun 2000, jumlah penderita diabetes sebesar 8.426.000 orang dan akan menjadi 21.257.000 orang pada tahun 2030.² Hasil Riskesdas tahun 2007 menunjukkan bahwa proporsi penyebab kematian akibat DM pada kelompok usia 45–54 tahun di daerah perkotaan menduduki ranking ke-2 yaitu 14,7% dan daerah pedesaan menduduki ranking ke-6 yaitu 5,8%.³

Penatalaksanaan DM yang paling utama adalah pengendalian kadar glukosa darah karena memegang peranan yang sangat penting dalam mencegah komplikasi DM. Glikemia secara ketat merupakan prioritas utama dalam penatalaksanaan DM, namun kenyataannya selama ini hanya sebagian kecil pasien yang mencapai target glikemik jangka panjang.⁴ Saat ini digunakan strategi baru yang lebih dini dan lebih agresif dalam penggunaan obat antidiabetes dengan target glikemik normal dalam jangka panjang. Salah satu strategi penatalaksanaan untuk mencapai target tersebut adalah dengan cara memperbaiki proses metabolisme glukosa melalui regulasi *enzyme 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK). AMPK mempunyai peran penting dalam mengendalikan homeostasis glukosa,

metabolisme karbohidrat, lemak dan protein, sehingga AMPK memegang peranan penting pada patofisiologi DM tipe 2. Oleh karena itu, AMPK merupakan sasaran terapi yang penting pada penatalaksanaan DM tipe 2.^{1,5,6} AMPK terdiri dari tiga subunit yaitu $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ . Subunit $\alpha 1$ sebagian besar berada dalam sitosol dan berfungsi untuk mengendalikan jalur sinyal, sedangkan $\alpha 2$ berada dalam nukleus dan berfungsi untuk mengatur transkripsi dan ekspresi gen.⁷ Oleh karena itu, penemuan obat baru yang mampu mengendalikan status glikemik melalui regulasi AMPK terutama AMPK- $\alpha 1$, karena subunit tersebut mengatur sinyal proses metabolisme, harus semakin ditingkatkan terutama penggunaan bahan alam sebagai bagian dari terapi nutrigenomik.

Singawalang (*Petiveria alliacea*) adalah jenis tumbuhan yang banyak ditemukan di Indonesia dan secara empiris digunakan oleh penduduk untuk mengobati diabetes melitus. Ekstrak etanol daun Singawalang mempunyai kemampuan untuk menurunkan kadar glukosa darah.^{8,9} Uji toksisitas baik akut maupun subkronis ekstrak daun Singawalang terhadap hewan coba telah dilakukan. Hasil dari uji tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun Singawalang tidak menunjukkan tanda toksisitas akut maupun subkronis pada fungsi ginjal dan hati.¹⁰⁻¹³ Fenomena ini mengindikasikan bahwa tumbuhan tersebut mempunyai potensi untuk mengontrol kadar gula dalam darah sehingga memungkinkan untuk digunakan sebagai terapi DM tipe 2. Hingga saat ini, penelitian tentang pengaruh dan mekanisme ekstrak daun Singawalang dalam menurunkan kadar glukosa darah belum banyak dilakukan, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai khasiat maupun mekanisme kerjanya. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk mengetahui khasiat ekstrak etanol daun Singawalang terhadap regulasi kadar glukosa darah pada tikus model DM tipe 2. Pembuatan

model hewan coba DM tipe 2 dapat melalui berbagai macam cara, antara lain dengan induksi menggunakan streptozotocin (stz) dosis tunggal, aloxan, tikus strain tertentu dan pakan tinggi lemak dan karbohidrat. Pada penelitian ini digunakan stz untuk membuat model hewan coba DM tipe 2 karena berbagai penelitian menunjukkan bahwa cara tersebut efektif.¹⁴⁻¹⁷

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun Singawalang terhadap penurunan kadar glukosa darah melalui peningkatan ekspresi AMPK- α 1 pada tikus model DM tipe 2. Hipotesis penelitian ini adalah ada pengaruh pemberian ekstrak etanol daun singawalang terhadap penurunan kadar glukosa darah melalui peningkatan ekspresi AMPK- α 1 pada tikus model DM tipe 2. Temuan pada penelitian ini memberikan informasi ilmiah berupa konsep baru, yaitu pemanfaatan daun Singawalang sebagai obat herbal untuk terapi komplementer penyakit DM tipe 2 oleh masyarakat.

Metode

Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental pada tikus dengan rancangan penelitian adalah rancangan acak lengkap. Sebanyak 25 tikus model DM dibagi secara acak menjadi lima kelompok dan replikasi sebanyak lima.

Tanaman Singawalang

Tanaman Singawalang diperoleh dari Balai Materia Medica Batu, Malang dan sudah dilakukan determinasi tanaman. Bagian tanaman Singawalang yang digunakan adalah daun.

Hewan coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus* strain wistar) yang diperoleh dari Unit Hewan Coba UGM,

berusia 3–4 bulan dengan berat badan sekitar 150–200 gram dan dalam kondisi sehat.¹⁵

Bahan kimia

Bahan kimia yang digunakan adalah ether (EMS No katalog 1180), alkohol absolut, alkohol 96%, alkohol 80%, alkohol 70% (Brataco), aquadestilata (Brataco), *carboxy methylcellulosanatrium* (Brataco), *phosphate buffer saline* (PBS) (Brataco), Metformin, Streptozotocin (STZ), antibodi primer untuk AMPK- α 1, *Immunohistochemistry Kit* (no. katalog K0673).

Peralatan

Alat yang digunakan antara lain glukometer (*Accu-Check*), strip glukosa, tabung erlenmeyer 2 L, corong Buchner, vakum ekstraktor dan rotavapour, chamber, peralatan bedah minor, timbangan, sendok pengaduk, mortar, stamper, sonde pediatrik no 8, spuit 1 cc dan 5 cc.

Lokasi dan waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi dan Terapi FKUA, Laboratorium Patologi Anatomi FKUA. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April–Agustus 2015.

Ekstraksi daun Singawalang

Daun Singawalang dikeringkan pada suhu kamar dan tidak boleh terkena sinar matahari langsung kemudian dihaluskan. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%.

Metformin

Metformin yang digunakan adalah metformin tablet dari Kalbe Farma. Dosis metformin 150 mg/kgbb tikus, diberikan dalam bentuk suspensi dengan dosis yang sesuai, peroral.

Model tikus diabetes

Hewan coba diadaptasikan dengan lingkungan selama tujuh hari, diberi makan dan minum

secara *ad libitum*. Model tikus DM tipe 2 dibuat dengan menginduksi tikus tersebut dengan streptozotocin (stz). Dosis STZ adalah 50 mg/kgbb dan diberikan secara intraperitoneal. Tikus diberikan larutan sukrosa 10% sepanjang malam pertama setelah induksi untuk menghindari *sudden hypoglycemic post injection*. Dua hari setelah induksi, tikus diperiksa kadar glukosa darah. Tikus dinyatakan menderita DM tipe 2 jika kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dL dan disebut sebagai tikus model DM tipe 2.^{15,16,18}

Perlakuan

Sebanyak 25 tikus DM tipe 2 dibagi secara acak ke dalam lima kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok yang memperoleh ekstrak etanol daun singawalang (EEDS) dengan dosis 90 mg/kgbb, kelompok ke-2 adalah kelompok yang memperoleh EEDS dengan dosis 180 mg/kgbb, kelompok ke-3 adalah kelompok yang memperoleh EEDS dengan dosis 360 mg/kgbb, kelompok ke-4 adalah kelompok yang memperoleh metformin dengan dosis 150 mg/kgbb dan kelompok ke-5 adalah kelompok yang memperoleh vehikulum. Ekstrak etanol daun Singawalang dan metformin diberikan sehari sekali, perorale selama 14 hari. Pada hari ke-15 setelah terapi, tikus diambil darahnya dari ekor dan organ hati untuk dilakukan pemeriksaan. Pada penelitian ini, sebanyak 5 ekor tikus diperiksa kadar glukosa darahnya dan digunakan sebagai dasar kadar glukosa

darah tikus normal.

Pemeriksaan kadar glukosa darah

Kadar glukosa darah diperiksa dari darah yang diambil dari ekor dengan menggunakan glukometer. Kadar gula darah sebelum perlakuan diambil setelah injeksi STZ dan sebelum pemberian ekstrak dan metformin, sedangkan kadar gula darah sesudah perlakuan diambil pada hari ke-15 setelah pemberian ekstrak dan metformin.

Pemeriksaan ekspresi AMPK- $\alpha 1$ di hati

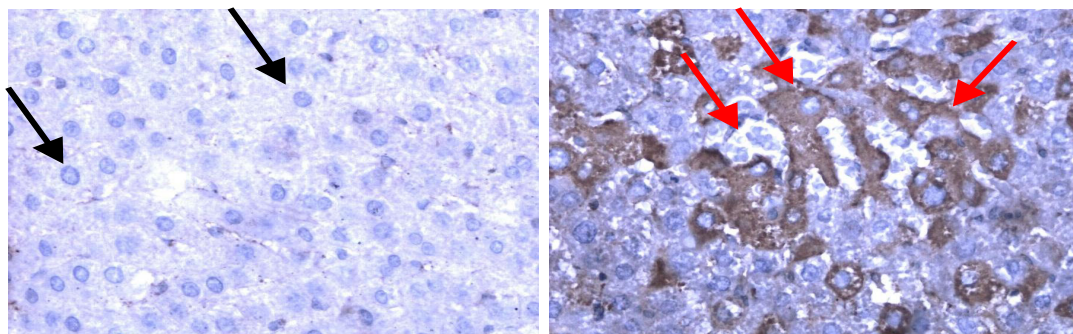
Pemeriksaan ekspresi AMPK- $\alpha 1$ di hati menggunakan imunohistokimia. Ekspresi AMPK- $\alpha 1$ dinyatakan positif jika terdapat noda coklat pada sitoplasma sel hati. Pemeriksaan ekspresi AMPK- $\alpha 1$ di hati menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 400x sebanyak lima lapangan pandang. Penilaian ekspresi berdasarkan perkalian antara skor presentase dan skor intensitas pengecatan. Presentase dinilai dengan skor 1–6 (0–4%=1, 5–20%=2, 21–40%=3, 41–60%=4, 61–80%=5, 81–100%=6). Intensitas dinilai dengan skor 0–3 (0=bila tidak ada pewarnaan, 1=ringan, 2= sedang, dan 3=kuat).^{19,20}

Data berupa kadar glukosa darah dianalisis distribusi dan homogenitasnya. Apabila data berdistribusi normal dan homogen, maka data dianalisis dengan menggunakan *One Way ANOVA* ($\alpha=0,05$). Data ekspresi AMPK- $\alpha 1$ di liver dianalisis dengan menggunakan uji *Wilcoxon*.

Tabel 1 Rerata Kadar Glukosa Darah Tikus, Sebelum dan Sesudah Perlakuan Serta Selisihnya

Kelompok	Sebelum Perlakuan (mg/dL)	Sesudah Perlakuan (mg/dL)	Selisih (mg/dL)
N	109	107,9	1,1
KN	400,6	381	53,2
KP	416,4	186,6	229,8
D90	380	244,2	135,8
D180	399,4	349,8	49,6
D360	426,2	187,6	238,6

Keterangan: Tikus normal (N), Kontrol negatif (KN), Kontrol positif (KP) yang memperoleh terapi metformin, kelompok yang memperoleh ekstrak daun Singawalang dengan dosis 90 mg/kgbb (D90), kelompok yang memperoleh ekstrak dengan dosis 180 mg/kgbb (D180) dan kelompok yang memperoleh ekstrak 360 mg/kgbb (D360)



Gambar 1 Ekspresi AMPK- α 1 dengan Imunohistokimia pada Hati Tikus (Pembesaran 400x)

Keterangan: Ekspresi positif bila sitoplasma berwarna coklat (panah merah) dan negatif bila sitoplasma tidak berwarna (panah hitam)

Keterangan laik etik

Prosedur pada penelitian ini telah mendapat persetujuan etik dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga dengan No. 468-KE.

Hasil

Kadar glukosa darah tikus

Rerata kadar glukosa darah tikus, baik sebelum maupun sesudah perlakuan dapat dilihat pada Tabel 1. Data menunjukkan bahwa pada semua kelompok terjadi penurunan kadar glukosa darah. Kadar glukosa darah normal <200 mg/dL nampak pada kelompok tikus yang memperoleh terapi metformin dan kelompok tikus yang memperoleh ekstrak daun Singawalang dengan dosis 360 mg/dL.

Hasil uji normalitas dan homogenitas kadar glukosa darah menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen, sehingga dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*. Hasil analisis statistik kadar glukosa darah sesudah perlakuan menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis 90 mg/kgbb ($p=0,031$), antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis 360 mg/kgbb ($p=0,04$), antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif ($p=0,04$), antara kelompok dosis 180 mg/kgbb dengan kelompok dosis 360 mg/kgbb ($p=0,012$),

antara kelompok dosis 180 mg/kgbb dengan kelompok kontrol positif ($p=0,012$).

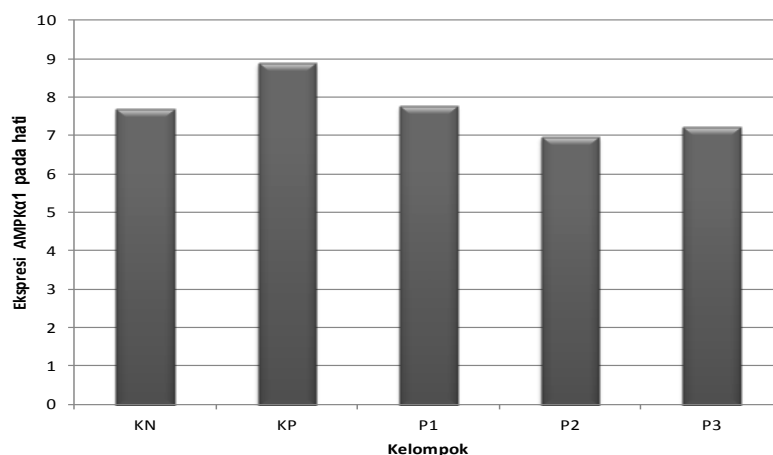
Selisih kadar gula darah sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis 360 mg/kgbb ($p=0,04$), demikian juga selisih antara kelompok dosis 180 mg/kgbb dengan kelompok dosis 360 mg/kgbb menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p=0,03$).

Ekspresi AMPK- α 1 pada hati tikus

Pada hari ke-15, tikus dikorbankan nyawanya untuk diambil organ hati dan dilakukan pemeriksaan imunohistokimia. Analisis terhadap ekspresi AMPK- α 1 pada hati tikus menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok dosis 180 mg/kgbb dengan kelompok dosis 360 mg/kgbb ($p=0,009$), antara kelompok dosis 180 mg/kgbb dengan kelompok kontrol positif ($p=0,43$).

Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan ekstrak daun Singawalang mampu menurunkan kadar glukosa secara bermakna pada dosis 90 mg/kgbb dan 360 mg/kgbb. Efektivitas ekstrak daun Singawalang pada dosis 360 mg/kgbb dalam menurunkan kadar glukosa darah sama dengan metformin. Efek terapi dari suatu obat merupakan hasil interaksi antara



Gambar 2 Hasil Penghitungan Rerata Ekspresi AMPK- α 1 pada Hati Tikus Ekspresi AMPK- α 1 Dinilai dari Perkalian antara Skor Presentase dan Intensitas

Keterangan: Kontrol negatif (KN), Kontrol positif (KP) yang memperoleh terapi metformin, kelompok yang memperoleh ekstrak daun Singawalang dengan dosis 90 mg/kgbb (P1), kelompok yang memperoleh ekstrak dengan dosis 180 mg/kgbb (P2) dan kelompok yang memperoleh ekstrak 360 mg/kgbb (P3)

obat tersebut dengan molekul di dalam tubuh. Sebagian besar obat akan bekerja melalui hubungan dengan makromolekul yang spesifik dan memengaruhi aktivitas biokimia atau biofisik dari makromolekul tersebut. Makromolekul tersebut dikenal dengan istilah zat penerima atau reseptor. Definisi dari reseptor yaitu suatu komponen di dalam sel atau organisme yang berinteraksi dengan obat dan memulai reaksi biokimia yang berantai yang menghasilkan efek terapi.²¹⁻²³ Ekstrak daun Singawalang memiliki lebih dari satu macam bahan aktif, diduga setiap bahan aktif tersebut memiliki mekanisme yang berbeda dalam memberikan efek farmakologis. Berbagai bahan aktif tersebut akan berikatan dengan berbagai reseptor pada berbagai organ sehingga menghasilkan sinyal transduksi yang berakibat memperbaiki kadar glukosa darah.

Pada penelitian ini terdapat fenomena bahwa peningkatan dosis tidak secara linear meningkatkan efek terapi. Pada dosis 90 mg/kgbb terjadi penurunan glukosa darah yang cukup signifikan, pada dosis 180 mg/kgbb tidak terjadi penurunan yang signifikan,

bila dosis ditingkatkan menjadi 360 mg/kgbb terjadi penurunan yang bermakna. Efek terapi yang tidak sejalan dengan peningkatan dosis obat yang diberikan disebut dengan *nonmonotomic dose-response relationship* (NMDR). Kurva yang terbentuk antara peningkatan dosis dan respon farmakologis bisa berbentuk huruf U terbalik (bila respons pada dosis intermediet), huruf U (bila respons pada dosis terendah dan tertinggi), bifasik.²⁴ Penelitian ini membuktikan bahwa hubungan antara dosis dan respons berbentuk huruf U.^{25,26}

Petiveria alliacea mengandung berbagai bahan aktif meliputi *benzaldehyde*, *benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide*, *coumarin isoarborinol*, *isoarborinol acetate*, *isoarborinol cinnamate*, *isothiocyanates*, *polifenol*, *senfol*, *tanin*, dan *trithiolaniacine*.²⁷ Berbagai senyawa tersebut diduga akan berikatan dengan reseptornya secara spesifik dan mempunyai mekanisme kerja obat yang berbeda antara senyawa yang satu dengan lainnya.²⁸ Senyawa tersebut kemungkinan dapat dimasukkan ke dalam *Endocrine Disrupting chemicals* (EDCs),²⁴ akan tetapi untuk membuktikannya, diperlukan penelitian lebih lanjut. Mekanisme

kerja senyawa sehingga menghasilkan *nonmonotomic dose response* disebabkan karena berbagai macam teori yaitu, sitotoksitas, spesifik reseptor dan kofaktor pada sel dan jaringan, selektivitas reseptor, *receptor down regulation and desensitization* dan kompetitif reseptor serta umpan balik negatif.²⁸ Peneliti lain menyebutkan bahwa mekanisme kerja NMDR kemungkinan melalui keberadaan beberapa molekular target yang memiliki berbagai macam afinitas dan efek yang berseberangan, fenomena efek balik negatif, desensitisasi reseptor karena dosis tinggi, modulasi metabolisme yang tergantung dosis, toksisitas pada dosis tinggi, dan protein ionisasi tergantung dosis.²⁴ Pada penelitian ini, belum bisa dijelaskan mekanisme mana yang membuat hubungan antara dosis dan respons tidak linier.

Penelitian ini juga membuktikan bahwa ekstrak daun Singawalang pada dosis 360 mg/kgbb meningkatkan ekspresi AMPK- $\alpha 1$ pada hati secara bermakna bila dibandingkan dengan dosis 180 mg/kgbb. Peningkatan ekspresi AMPK- $\alpha 1$ pada dosis 360 mg/kgbb tidak berbeda bermakna dengan kelompok yang memperoleh terapi metformin. AMPK adalah suatu enzim yang dikenal mempunyai peran utama dalam mengatur metabolisme. Aktivasi AMPK memicu proses pada berbagai organ. Pada otot menyebabkan rangsangan pengambilan glukosa, oksidasi asam lemak, translokasi GLUT 4, biogenesis mitokondria dan menghambat sintesis protein dan glikogen. Pada otot jantung, AMPK menginduksi pengambilan glukosa, oksidasi asam lemak dan glikolisis. Pada hati terjadi peningkatan ambilan glukosa dan oksidasi asam lemak serta menghambat glukoneogenesis. Pada jaringan lemak terjadi lipolisis dan menurunkan sintesis asam lemak.^{5,29} Fungsi AMPK yang luas ini menyebabkan AMPK merupakan target untuk terapi pada DM2.⁶

Metformin merupakan obat antidiabetes yang disintesis dari bahan aktif yang terdapat

pada tumbuhan sehingga pada penelitian ini, peneliti menggunakan obat tersebut sebagai kontrol positif. Metformin adalah obat untuk terapi DM tipe 2 yang mekanisme kerjanya melalui aktivasi AMPK.^{30,31} Pada penelitian ini, data menunjukkan bahwa terjadi peningkatan ekspresi AMPK- $\alpha 1$ di hati baik pada pemberian metformin maupun pada pemberian ekstrak daun Singawalang pada dosis 360 mg/kgbb. Data ini menunjukkan bahwa diduga mekanisme kerja ekstrak daun Singawalang dalam menurunkan kadar glukosa darah adalah melalui AMPK- $\alpha 1$. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa obat herbal seperti panax ginseng,³² curcumin, berberine dari *coptis chinensis*,³³ epigallocatechin gallate dari teh hijau, hispidulin dari *snow lotus* merupakan obat herbal yang digunakan untuk terapi diabetes dan mekanisme kerjanya melalui aktivasi AMPK.³⁴ Senyawa polifenol yaitu Salvianolic acid yang diisolasi dari akar tumbuhan *Salvia miltiorrhiza* juga mempunyai aktivitas sebagai antidiabetik melalui aktivasi AMPK.³⁵

Hasil penelitian ini memberikan bukti ilmiah mengenai khasiat ekstrak daun Singawalang dalam meregulasi kadar glukosa darah. Hal ini memberikan harapan bahwa ekstrak etanol daun Singawalang dapat dijadikan sebagai obat herbal untuk terapi komplementer pada diabetes melitus.

Simpulan

Ekstrak daun Singawalang menurunkan kadar glukosa darah pada tikus model DM tipe 2 pada dosis 90 mg/kgbb dan 360 mg/kgbb. Mekanisme kerja ekstrak daun Singawalang dalam menurunkan kadar glukosa darah melalui aktivasi AMPK- $\alpha 1$.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada tenaga laboratorium di Departemen Farmakologi

dan Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Pendanaan

Penelitian ini dibiayai oleh Dirjen Dikti melalui dana DIPA DITLITABMAS Tahun Anggaran 2015.

Konflik Kepentingan

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan dan atau publikasi artikel.

Daftar Pustaka

1. Ozougwu JC, Obimba KC, Belonwu CD, Unakalamba CB. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Physiol Pathophysiol*. 2013;4(4):46–57. doi: 10.5897/JPAP2013.0001
2. World Health Organization. Diabetes mellitus report. 2013.
3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Prevalensi Diabetes melitus di Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2010.
4. Syahbuddin S. Rational therapy for earlier and more aggressive approach in patients with T2DM. *Proceeding Cardiometabolic Health Toward 2020*. 2010:21–9.
5. Coughlan KA, Valentine RJ, Ruderman NB, Saha AK. AMPK activation: A therapeutic target for type 2 diabetes? *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2014;7:241–53. doi: 10.2147/DMSO.S43731
6. Zhang BB, Zhou G, Li C. AMPK: An emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome. *Cell Metab*. 2009;9(5):407–16. doi: 10.1016/j.cmet.2009.03.012
7. Moffat C, Harper ME. Metabolic functions of AMPK: Aspects of structure and of natural mutations in the regulatory gamma subunits. *IUBMB Life*. 2010;62(10):739–45. doi: 10.1002/iub.387
8. Christie SL, Levy A. Evaluation of the hypoglycaemic activity of *Petiveria alliacea* (Guinea Hen Weed) extracts in normoglycaemic and diabetic rat models. *West Indian Med J*. 2013;62(8):685–91. doi: 10.7727/wimj.2013.142.
9. Christie SLF, Levy ASA. Investigation of hypoglycemic activity of four extracts of *Petiveria alliacea* (Guinea hen weed) in normoglycemic experimental rat models. *FASEB J*. 2012;26(1):1124–6.
10. Zakaria, Mustika A, Ramadhani. Uji toksisitas akut daun singawalang (*petiveria alliacea*) pada mencit jantan (*mus musculus*) (skripsi). Surabaya: Airlangga University; 2010.
11. Pratiwi IA, Mustika A, Anniwati L. Uji toksisitas jangka pendek ekstrak Singawalang (*Petiveria alliacea*) terhadap kadar serum transaminase serum (skripsi). Surabaya: Airlangga University; 2013.
12. Naibaho AH, Mustika A, Rahaju AS. Uji toksisitas jangka pendek ekstrak singawalang (*petiveria alliacea*) terhadap nekrosis ginjal mencit (skripsi). Surabaya: Airlangga University; 2013.
13. Mustika A. Keamanan penggunaan ekstrak etanol *petiveria alliacea* pada fungsi ginjal mencit. *Prosiding Annual Scientific Meeting Universitas Gadjah Mada*; Maret 2014; Yogyakarta, Indonesia. Indonesia: Universitas Gadjah Mada; 2014.
14. King AJ. The use of animal models in diabetes research. *Br J Pharmacol*. 2012;166(3):877–94. doi: 10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x
15. Lukačínová A, Hubková B, Rácz O, Ništiar F. Animal models for study of diabetes mellitus. *InTechOpen*. 2013;13. doi: 10.5772/48325
16. Chatzigeorgiou A, Halapas A, Kalafatakis

- K, Kamper E. The use of animal models in the study of diabetes mellitus. *In Vivo*. 2009;23(2):245–58.
17. Skovso S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. *Journal Diabetes Investig*. 2014;5(4):349–58. doi: 10.1111/jdi.12235
18. Dewi MB, Wulandari M, Setyowati DAI, Mustika A, Purwanto B. Curcumin maintains lens protein solubility in streptozotocin induced rat model. *Prosiding 22nd International Workshop, Symposium and Seminar of Physiology and Exercise Physiology*. Indonesia: Universitas Yarsi; 2013.
19. Hadad SM, Baker L, Quinlan PR, Robertson KE, Bray SE, Thomson G, et al. Histological evaluation of AMPK signalling in primary breast cancer. *BMC Cancer*. 2009;9:307. doi: 10.1186/1471-2407-9-307
20. Quentin T, Kitz J, Steinmetz M, Poppe A, Bär K, Krätzner R. Different expression of the catalytic alpha subunits of the AMP activated protein kinase-an immunohistochemical study in human tissue. *Histol Histopathol*. 2011;26:589–96.
21. Trevor AJ, Katzung BG, Hall MK. *Pharmacodynamics*. In: Katzung. BG, editor. United States: McGraw Hill; 2015
22. Dandan RH, L Brunton L. *Manual of pharmacology and therapeutics*. United States: McGraw Hill; 2015.
23. Aronson JK. Concentration-effect and dose-response relations in clinical pharmacology. *British J Clin Pharmacol*. 2007;63(3):255–7. doi: 10.1111/j.1365-2125.2007.02871.x
24. Lagarde F, Beausoleil C, Belcher SM, Belzunces LP, Emond C, Guerbet M, et al. Non-monotonic dose-response relationships and endocrine disruptors: A qualitative method of assessment. *Environ Health*. 2015;14(13). doi: 10.1186/1476-069X-14-13
25. Zoeller R, Brown T, Doan L, Gore A, Skakkebaek N, Soto A, et al. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: A statement of principles from the Endocrine Society. *Endocrinology*. 2012;153(9):4097–110. doi: 10.1210/en.2012-1422
26. Vandenberg LN. Non-monotonic dose responses in studies of endocrine disrupting chemicals: Bisphenol as a case study. *Dose Response*. 2014;12(2):259–76. doi: 10.2203/dose-response.13-020.Vandenberg
27. Luz DA, Pinheiro AM, Silva ML, Monteiro MC, Prediger RD, Maia CS, et al. Ethnobotany, phytochemistry and neuropharmacological effects of *Petiveria alliacea* L.(Phytolaccaceae): A review. *J Ethnopharmacology*. 2016;185:182–201. doi: 10.1016/j.jep.2016.02.053
28. Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, Heindel JJ, David R, Jacobs J, et al. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: Low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocr Rev*. 2012;33(3):378–455. doi: 10.1210/er.2011-1050
29. Kodiha M, Stochaj U. Targeting AMPK for therapeutic intervention in type 2 diabetes. *InTechOpen*. 2011. doi: 10.5772/20930
30. DeFronzo RA, Eldor R, Abdul-Ghani M. Pathophysiologic approach to therapy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2013;36(2):S127–38. doi: 10.2337/dcS13-2011
31. Ouyang J, Parakhia RA, Ochs RS. Metformin activates AMP kinase through inhibition of AMP deaminase. *J Biol Chem*. 2011;286(1):1–11. doi: 10.1074/jbc.M110.121806
32. Jeong KJ, Kim GW, Chung SH. AMP-activated protein kinase: An emerging target for ginseng. *J Ginseng Res*. 2014;38(2):83–8. doi: 10.1016/j.jgr.2013.11.0

- 14.
33. Xu M, Xiao Y, Yin J, Hou W, Yu X, Shen L, et al. Berberine promotes glucose consumption independently of AMP-activated protein kinase activation. PLoS ONE. 2014;9(7):e103702. doi: 10.1371/journal.pone.0103702.
34. Hardie DG. AMPK: a target for drugs and natural products with effects on both diabetes and cancer. Diabetes. 2013;62(7):2164–72. doi: 10.2337/db13-0368.
35. Qiang G, Yang X, Shi L, Zhang H, Chen B, Zhao Y, et al. Antidiabetic effect of salvianolic acid a on diabetic animal models via AMPK activation and mitochondrial regulation. Cell Physiol Biochem. 2015;36(1):395–408. doi: 10.1159/000430258.