

Efek ekstrak batang belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*) terhadap kadar gula darah tikus putih yang diinduksi aloksan

The effect of *Averrhoa bilimbi* stem extract on the blood glucose level of white rats induced by alloxan

CAHYANING GUSTI AGRIANI, KISRINI, RUBEN DHARMAWAN

Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret, Surakarta, Jl. Ir. Sutami 36a Surakarta 57126, Jawa Tengah

Manuskrip diterima: 5 Februari 2016. Revisi disetujui: 7 Juli 2016.

Abstract. Agriani CN, Ksirini, Dharmawan R. 2016. The effect of *Averrhoa bilimbi* stem extract on the blood glucose level of white rats induced by alloxan. *Biofarmasi* 14: 56-62. The purpose of this research is to find out the effect of belimbing wuluh stem (*Averrhoa bilimbi* L.) extract due to the blood glucose level in white rats (*Rattus norvegicus*) induced by alloxan. This research is a laboratory experiment using experimental control group pre-post test design. Subjects of this research are 25 white male rats (*Rattus norvegicus*), 2 months of age and 200 g of body weight. Subjects were divided into five groups. All groups were induced by 25 mg/200 g body weight/day of alloxan for three days. On the day of fourth, blood sample was collected from orbital vein of white rats for the measurement of the first blood glucose level (T1). Furthermore, the positive control group received 12,6 mg/200 g body weight/day of metformin, then the first, second, and third group received of each 25, 50, and 100 mg/200 g body weight/day of belimbing wuluh stem extract. On the fifteenth day of treatment, blood samples were collected again from the orbital vein of white rats for the measurement of the second blood glucose level (T2). The measurement of blood glucose was using spectrophotometer with the Glucose GOD PAP method. Then the data were analyzed by using *One way* ANOVA. Blood glucose rate after induction has subtracted from blood glucose rate after drug given. After that the data would be change in to mean data that represents as: negative control group = 24,4; positive control group 103,4; first given drug group = 83,4; second given drug group = 102,4; and third given drug group = 102,2 (in mg/100 mL unit). The statistical analysis by using *One way* ANOVA shows a significant difference in blood glucose level among the five groups of treatment with $p\text{-value} = 0,000$. Post Hoc Test shows that the first, second, and third group have the same effectively as the positive control group to decrease the blood glucose level with $p > 0,05$.

Keywords: Alloxan, belimbing wuluh stem extract, blood glucose level

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik dengan gejala hiperglikemia (kadar gula darah lebih dari normal) yang disebabkan oleh gangguan sekresi insulin, gangguan kerja insulin, atau keduanya (ADA 2004). Hiperglikemia yang terjadi biasanya berhubungan dengan kerusakan sel-sel beta pankreas penghasil insulin. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh kegemukan, faktor genetik, infeksi virus seperti virus *Coxsackie*, reaksi autoimun berupa serangan antibodi terhadap sel-sel beta, zat diabetogenik seperti streptozotocin dan aloksan, serta radikal bebas (Roivainen et al. 2000; Szkudelski 2001; Koczwara et al. 2004; Robertson et al. 2004). Hiperglikemia yang berlangsung kronis diasosiasikan dengan kerusakan mikrovaskular maupun makrovaskular yang kemudian menyebabkan kerusakan jangka panjang, disfungsi, dan kegagalan berbagai organ tubuh terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (Nagappa et al. 2003; ADA 2004; Gustaviani 2006).

Penatalaksanaan diabetes melitus ialah dengan diet diabetes, latihan fisik, penyuluhan kesehatan masyarakat, cangkok pankreas, dan penggunaan obat antihiperglikemik. Obat antihiperglikemik di antaranya berasal dari golongan

sulfonilurea dan biguanid. Akan tetapi, pada penggunaan jangka panjang, obat-obat ini akan menimbulkan efek samping (Tjokroprawiro 2003; Utami 2003; Walujani 2003). Penggunaan insulin juga dilaporkan dapat menimbulkan efek samping jangka panjang seperti resistensi insulin, anoreksia nervosa, atrofi otak, dan perlemakan hati (Yaryuya-Tobias 2001).

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) telah merekomendasikan dan mendorong penggunaan terapi alternatif terutama di negara di mana akses untuk perawatan diabetes konvensional tidak memadai. Hingga saat ini, sekitar 1200 jenis tanaman terapeutik digunakan untuk menurunkan kadar gula darah pada diabetes. Namun, perlu penelitian lanjutan untuk mengetahui efektivitas tanaman-tanaman itu. Salah satu tanaman terapeutik tersebut ialah tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) (Sudarsono et al. 2002; Fallah-Hosseini 2006).

Penelitian Armenia et al. (2004) dan Agustin (1982) membuktikan bahwa pemberian jus buah belimbing wuluh dapat menurunkan kadar gula darah mencit dan marmut diabetes baik pada kelompok yang diinduksi aloksan maupun yang dibebani glukosa. Pada penelitian yang dilakukan Damayanti (1995) terbukti bahwa infusa daun belimbing wuluh mampu menurunkan kadar gula darah

pada tikus putih jantan diabetes yang diinduksi aloksan. Pada penelitian lain, ekstrak etanol daun belimbing wuluh terbukti mempunyai efek hipoglikemik, hipotrigliseridemic, antilipid peroksidatif dan antiatrogenik pada tikus diabetes yang diinduksi Streptozotocin (Pushparaj 2000). Dalam penelitian tersebut di atas dilaporkan bahwa kandungan daun dan buah belimbing wuluh yang berperan dalam penurunan kadar gula darah ialah flavonoid, saponin, dan tannin. Pada bagian batang belimbing wuluh terdapat saponin dan tannin (Sudarsono 2002).

Tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) secara umum mengandung flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, fenol, kumarin, minyak atsiri, asam oksalat, dan pektin. Tannin berfungsi untuk menghambat asupan glukosa di usus (Suryowiyoto 2005). Alkaloid tannin merupakan suatu polifenol tanaman yang larut air (polar) dan dapat mendenaturasi protein (Westendarp 2006). Saponin lebih bersifat hidrofobik (nonpolar). Saponin mampu menghambat transport glukosa dari lambung ke usus halus (Widowati 2006). Penarikan zat-zat tersebut dari tanaman dapat dilakukan dengan ekstraksi. Dalam penelitian ini dipilih metode ekstraksi perkolasi dengan etanol 70% sebagai pelarut. Karena etanol 70% adalah pelarut yang bersifat semi polar diharapkan zat-zat seperti saponin dan tannin dapat tersari berdasarkan sifat kepolaran masing-masing.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak batang belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap kadar gula darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan.

BAHAN DAN METODE

Metodologi penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian *pre and post test control group design*.

Lokasi penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmasi dan Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta, sedangkan ekstraksi batang belimbing wuluh dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gajah Mada (LPPT-UGM), Yogyakarta.

Subjek penelitian

Subjek penelitian ini diambil dari populasi yaitu sekelompok tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang mempunyai kriteria jenis kelamin jantan, galur Wistar, sehat, umur rata-rata 2 bulan, dan berat badan rata-rata 200 g yang dikembangkan di Laboratorium Farmasi dan Biologi, Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta. Dari populasi tersebut, diambil 25 ekor tikus dengan teknik *simple random sampling* berdasar rumus Federer. Jika terdapat 5 kelompok maka jumlah sampel minimal adalah:

$$(n-1)(t-1) > 15$$

Keterangan:

n = besar sampel

t = jumlah kelompok perlakuan (Federer 1955)

$$(n-1)(t-1) > 15$$

$$(n-1)(5-1) > 15$$

$$4n-4 > 15$$

$$4n > 19$$

$$N > 4,75$$

Alat dan bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah timbangan elektronik, kandang tikus, spuit injeksi, beker *glass* ukuran 100 mL, sonde lambung, dan spektrofotometri. Bahan yang dibutuhkan adalah ekstrak batang belimbing wuluh etanol 70%, NaCl 0,9%, aloksan, metformin, cmc (*carboxymethyl cellulose*) 1%, akuades, alkohol.

Cara kerja

Pembuatan ekstrak batang belimbing wuluh

Pengambilan bahan. Batang belimbing wuluh adalah batang dari tanaman belimbing wuluh yang diambil dari percabangan pertama dari batang utama. Ekstrak batang belimbing wuluh merupakan ekstrak dari batang belimbing wuluh yang diekstrak dan didapat langsung dari LPPT UGM Yogyakarta.

Pembuatan serbuk batang. Belimbing wuluh, Batang belimbing wuluh dicuci bersih pada air mengalir untuk menghilangkan semua kotoran yang melekat. Kemudian, dikeringkan dalam almari pengering pada suhu 400°C, untuk mencegah terjadinya pembusukan oleh bakteri atau oleh cendawan, serta lebih mudah dihaluskan (untuk diserbuk). Batang belimbing wuluh yang telah kering, dihaluskan menjadi serbuk, diayak lalu ditimbang.

Pembuatan ekstrak batang belimbing wuluh. Ekstraksi dilakukan di LPPT UGM Yogyakarta. Bahan serbuk yang telah ditimbang dibasahi dengan pelarut dalam jumlah kecil tetapi tepat agar serbuk mengembang sempurna. Kemudian, serbuk tersebut dimasukkan ke dalam perkolator secara merata dan ditata agar tidak berongga atau ber celah. Dalam keadaan celah perkolator bagian bawah terbuka, pelarut yaitu etanol 70% ditambahkan sedikit demi sedikit ke atas perkolator hingga pelarut mencapai bagian bawah. Kemudian celah ditutup dan dilakukan maserasi (perendaman). Untuk mendapat ekstraksi optimum dapat dilakukan selama beberapa hari. Hasil akhir ekstrak berbentuk gel.

Pembuatan larutan uji yang digunakan

Mengacu pada penelitian sebelumnya, Pembuatan larutan uji ialah sebagai berikut, Dosis I ekstrak batang belimbing wuluh: 25 mg/2 mL/200 g BB tikus/ hari dibuat sebanyak 100 mL sehingga dibutuhkan ekstrak batang belimbing wuluh sebanyak 25 mg x 100/2 = 1250 mg. Kemudian ekstrak dilarutkan dalam 100 mL air dengan *suspending agent Carboxymethyl cellulose* (CMC) 1%.

Dosis II (50 mg/200 g BB) dan dosis III (100 mg/200 g BB) juga dilakukan dengan cara yang sama.

Pembuatan larutan metformin

Pada penelitian ini digunakan metformin dengan dosis 12,6 mg/200 g BB tikus. Pemberian dilakukan secara per oral dengan volume 2 mL (Suhardjono 1995). Pembuatan larutan Metformin adalah sebagai berikut, 12,6 mg/4 mL/200 g BB tikus/ hari dibuat sebanyak 100 mL sehingga dibutuhkan metformin sebanyak $12,6 \text{ mg} \times 100/4 = 315 \text{ mg}$. Kemudian dilarutkan dalam 100 mL air dengan *suspending agent* CMC 1%.

Langkah penelitian

Tikus putih ditimbang dan diuji homogenitasnya dengan penyeragaman galur, berat badan, jenis kelamin, dan umur. Tikus putih sebanyak 25 ekor dikelompokkan dalam 5 kelompok penelitian dengan masing-masing berjumlah 5 ekor. Semua kelompok tersebut kemudian diadaptasi selama 4 hari dengan pemberian makanan dan minuman dua kali sehari yaitu pada pagi dan sore hari.

Pada hari ke-1 dilakukan pengukuran kadar gula darah puasa yang diambil melalui vena orbita sebanyak 1,5 mL yang ditampung dalam gelas ukur yang kemudian diukur dengan spektrofotometri. Setelah pengambilan darah, hewan uji dalam semua kelompok diinduksi menggunakan aloksan secara subkutan dosis 25 mg/200 g BB tikus yang dilarutkan dalam 2 mL aquabides pada hari ke-1 hingga hari ke-3. Pada hari ke-4, dilakukan pengambilan darah kedua. Sebelum tindakan ini dilakukan, tikus dipuasakan selama 10 jam dengan tetap diberi air minum. Pada hari ke-4 hingga ke-13, dilakukan pemberian larutan uji pada masing-masing kelompok: KKN (diberi air yang dilarutkan dengan *suspending agent* CMC 1% sebanyak 2 mL secara per oral). KKP (diberi metformin dosis 12,6 mg/200 g BB tikus yang dilarutkan dalam air dengan *suspending agent* CMC 1% sebanyak 2 mL secara per oral). KP I (diberi ekstrak batang belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dosis 25 mg/200 g BB tikus yang dilarutkan dalam air dengan *suspending agent* CMC 1% sebanyak 2 mL secara per oral). KP II (diberi ekstrak batang belimbing wuluh dosis 50 mg/200 g BB tikus yang dilarutkan dalam air dengan *suspending agent* CMC 1% sebanyak 2 mL secara per oral). KP III (diberi ekstrak batang belimbing wuluh dosis 100 mg/200 g BB tikus yang dilarutkan dalam air dengan *suspending agent* CMC 1% sebanyak 2 mL secara per oral). Pada hari ke-14, dilakukan pengambilan darah ketiga. Sebelum tindakan ini dilakukan, tikus dipuasakan selama 10 jam dengan tetap diberi air minum.

Cara mengukur kadar gula darah dengan spektrofotometer metode Glucose GOD PAP, Pengambilan darah tikus dilakukan dengan menggunakan mikropipiler melalui vena orbitalis. Sampel darah dimasukkan ke dalam tabung reaksi tanpa antikoagulan untuk mendapatkan serumnya. Tabung reaksi yang berisi darah tanpa antikoagulan didiamkan selama 30 menit pada suhu kamar, kemudian disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm selama 15 menit. Serum di atas sel-sel darah yang menggumpal selanjutnya diambil dengan pipet mikro dan dimasukkan ke dalam tabung ependorf. Kemudian dilakukan pengukuran

kadar gula darah menggunakan reagen (kit). Dengan menggunakan kit Glucose GOD, kuvet I sebagai blanko diberi 10 µl akuades dan 1000 µl reagen. Kuvet II dan selanjutnya diberi 10 µl sampel dan 1000 µl reagen. Kemudian, masing-masing kuvet dicampur dan diinkubasi 10 menit pada suhu 37 °C. Setelah itu ditentukan *Optical density* (OD) nya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 500 nm. Hasil yang didapat kemudian dikalikan faktor konversi sebesar 0,05551 untuk mendapatkan kadar gula darah. Kadar normal gula darah pada tikus adalah 60-90 mg/dl (Mitruka dan Rawnsley 1981).

Data analisis

Teknik analisis data yang digunakan tergantung pada hasil distribusi data. Jika distribusi data yang didapatkan normal, maka teknik analisa data yang digunakan adalah uji *One way* ANOVA, di mana jika hasil uji Anova signifikan maka dilanjutkan dengan *post hoc LSD test*. Namun jika distribusi data didapatkan hasil *skewed*, maka teknik analisis data yang akan digunakan adalah uji Kruskall Wallis. Uji *One way* ANOVA adalah uji untuk membandingkan perbedaan *mean* pada kelima kelompok sekaligus sehingga dapat diketahui apakah kelima kelompok memiliki *mean* selisih kadar gula darah yang berbeda secara signifikan atau tidak. Uji *Post Hoc* LSD adalah uji untuk membandingkan perbedaan *mean* antar kelompok perlakuan (Arif dan Mochammad 2008; Dahlan 2008).

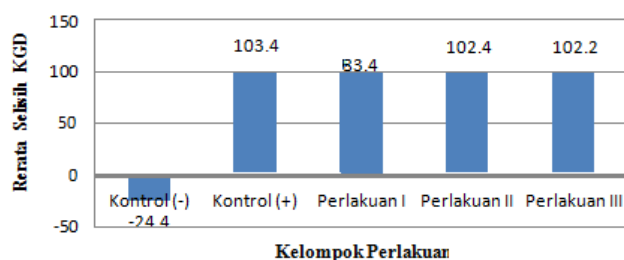
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Hasil penelitian pengaruh pemberian ekstrak batang belimbing wuluh terhadap kadar gula darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan dapat dilihat dalam Tabel 1 dan Gambar 1. Tabel dan gambar tersebut menunjukkan bahwa rerata selisih kadar gula darah paling tinggi terdapat pada kelompok kontrol (+) sebesar 103,40 mg/100 mL. Rerata selisih kadar gula darah paling rendah didapatkan pada kelompok kontrol (-) sebesar -24,40 mg/100 mL. Rerata selisih kadar gula darah kelompok perlakuan 1 sebesar 83,40 mg/dl, kelompok perlakuan 2 sebesar 102,40 mg/dl dan kelompok perlakuan 3 sebesar 102,20 mg/dl. Dari ketiga kelompok perlakuan, kelompok perlakuan 1 memiliki rerata selisih kadar gula darah paling rendah dan kelompok perlakuan 2 memiliki rerata selisih kadar gula darah paling tinggi.

Tabel 1. Rerata hasil pengukuran selisih kadar gula darah pada setiap kelompok perlakuan

Kelompok	N	Rerata ± SD (U/L)
Kelompok kontrol negatif	5	24,40 ± 16,056 α
Kelompok kontrol positif	5	103,40 ± 8,620 β
Kelompok perlakuan 1	5	83,40 ± 15,598 β
Kelompok perlakuan 2	5	102,40 ± 8,204 β
Kelompok perlakuan 3	5	102,20 ± 23,784 β



Gambar 1. Rerata selisih kadar gula darah (KGD) tikus putih

Sebelum dilakukan uji *One way* ANOVA, dari data penelitian harus diketahui apakah terdistribusi secara normal dan memiliki varian data yang sama. Uji normalitas data dilakukan dengan Saphiro Wilk tes. Kriteria ujinya adalah bila nilai signifikansi (p) lebih besar dari 0,05 maka data terdistribusi secara normal. Sebaliknya, bila nilai p lebih kecil dari 0,05 maka data tidak terdistribusi secara normal. Hasil analisis (perhitungan tidak ditunjukkan), dapat diketahui kelima kelompok sampel mempunyai nilai p masing-masing sebesar 0,283; 0,828; 0,392; 0,507 dan 0,868. Nilai p lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan data terdistribusi secara normal.

Syarat selanjutnya sebelum dilakukan uji *One way* ANOVA adalah varian data harus sama. Oleh karena itu perlu dilakukan uji kesamaan varian (*Homogeneity of variances*). Uji kesamaan varian ini dilakukan dengan uji Levene (*Levene test*). Kriteria ujinya adalah varian dikatakan sama bila nilai signifikansinya (p) lebih besar dari 0,05. Sebaliknya, varian dikatakan tidak sama, bila nilai p lebih kecil dari 0,05. Hasil analisis (perhitungan tidak ditunjukkan), nilai p adalah 0,232. Nilai ini lebih besar dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan bahwa varian datanya sama.

Data terdistribusi secara normal dan varian datanya sama maka dapat dilakukan uji *One way* ANOVA. Kriteria ujinya adalah nilai data diantara variasi dalam perlakuan dikatakan ada perbedaan yang nyata, bila nilai p lebih kecil dari 0,05. Sebaliknya tidak ada perbedaan yang nyata bila nilai p lebih besar dari 0,05. Hasil analisis (perhitungan tidak ditunjukkan), diketahui bahwa nilai p sebesar 0,000. Nilai ini lebih kecil dari 0,05 sehingga dapat disimpulkan ada perbedaan nilai selisih kadar gula darah yang nyata diantara kelima kelompok perlakuan yang diteliti.

Setelah uji *One way* ANOVA menunjukkan ada perbedaan yang nyata, maka perlu dilakukan uji lanjutan (*Post Hoc Test*) untuk menentukan kelompok perlakuan yang mampu memberikan nilai selisih kadar gula darah terbaik (paling tinggi). *Post Hoc Test* yang sesuai adalah uji LSD (*Least Significance Difference*). Kriteria ujinya adalah pasangan perlakuan yang diuji dikatakan ada perbedaan nilai selisih kadar gula darah yang nyata bila nilai p lebih kecil dari 0,05. Sebaliknya, dikatakan tidak ada perbedaan nilai selisih kadar gula darah yang nyata, bila nilai p lebih besar dari 0,05. Hasil analisis (perhitungan tidak ditunjukkan), diketahui bahwa selisih kadar gula darah kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 berbeda secara nyata dengan selisih kadar gula darah

kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan dengan pemberian ekstrak etanol batang belimbing wuluh dan metformin mempunyai efek menurunkan kadar gula darah pada tikus diabetes yang diinduksi dengan aloksan. Hasil analisis (perhitungan tidak ditunjukkan), diketahui bahwa nilai selisih kadar gula darah antara kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 tidak berbeda secara nyata satu sama lain ($p > 0,05$). Hal ini berarti dosis ekstrak batang belimbing wuluh pada kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 sama-sama mempunyai efek menurunkan kadar gula darah. Selanjutnya dapat dilihat bahwa selisih kadar gula darah kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 tidak berbeda secara nyata ($p > 0,05$). Hal ini berarti dosis ekstrak etanol batang belimbing wuluh pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 memiliki efektivitas yang sama dengan dosis metformin pada kelompok kontrol positif. Dengan melihat hal tersebut dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 mempunyai efek menurunkan kadar gula darah yang sama efektivitasnya dengan dosis metformin karena nilai selisih kadar gula darah keempat kelompok tersebut tidak berbeda secara nyata ($p > 0,05$).

Pembahasan

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorik dengan pendekatan *pre-post test control group design* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak batang belimbing wuluh terhadap kadar gula darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) diabetes yang diinduksi aloksan. Setelah diinduksi, dilakukan pengambilan sampel darah untuk pemeriksaan kadar gula darah. Data yang diperoleh merupakan data pertama (T1). Kemudian, dilakukan perlakuan pada tikus putih selama 14 hari dan pada hari ke-15 dilakukan pengambilan sampel darah kembali untuk pemeriksaan kadar gula darah. Data ini merupakan data kedua (T2). Selisih kadar gula darah dihitung berdasar kedua data tersebut (T1-T2). Setelah dilakukan analisis statistik melalui beberapa tahapan didapatkan hasil yang mendukung hipotesis peneliti bahwa ekstrak batang belimbing wuluh berpengaruh terhadap kadar gula darah tikus putih yang diinduksi aloksan.

Berdasarkan uji normalitas distribusi didapatkan bahwa nilai signifikansi (p) dari kelima kelompok perlakuan lebih besar dari 0,05 yang berarti data selisih kadar gula darah terdistribusi secara normal. Uji homogenitas dengan *Levene test* menunjukkan nilai p sebesar 0,232 (lebih besar dari 0,05) sehingga dapat diketahui bahwa varian data sama. Kemudian dari uji komparatif *One way* ANOVA didapatkan nilai p sebesar 0,000 (kurang dari 0,05) yang berarti terdapat perbedaan nilai selisih kadar gula darah yang nyata diantara kelima kelompok perlakuan yang diteliti. Dari hasil uji *One way* ANOVA tersebut dapat diketahui bahwa hipotesis alternatif yang diajukan peneliti dapat diterima sehingga untuk mengetahui lebih lanjut tentang kelompok perlakuan yang dapat memberikan hasil selisih kadar gula darah terbaik dilanjutkan dengan *Post Hoc Test* dengan uji *Least Significance Difference* (LSD). Dari *Post Hoc Test* uji LSD didapatkan perbedaan selisih kadar gula darah yang nyata antara kelompok kontrol positif, kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 dengan kelompok

kontrol negatif (perhitungan tidak ditunjukkan). Perbedaan ini menunjukkan bahwa pemberian dosis metformin pada kelompok kontrol positif dan pemberian ekstrak batang belimbing wuluh pada kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 mampu menurunkan tingginya kadar gula darah akibat induksi aloksan pada tikus putih. Peningkatan kadar gula darah akibat induksi aloksan dapat dilihat dari rerata kelompok kontrol negatif yaitu sebesar -24,40 (perhitungan tidak ditunjukkan). Tingginya rerata selisih kadar gula darah pada kelompok kontrol negatif karena tikus putih pada kelompok ini hanya diberi aloksan tanpa diberi dosis metformin maupun ekstrak batang belimbing wuluh.

Aloksan merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil secara cepat dapat merusak pankreas. Mekanisme kerjanya diawali pengambilan cepat oleh sel beta pankreas. Selanjutnya, aloksan mengalami siklus reduksi menjadi asam dialurat yang kemudian teroksidasi menjadi aloksan. Aloksan dan asam dialurat ini menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida yang selanjutnya mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida, berjalan spontan dan kemungkinan dikatalisis oleh superoksida dismutase. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas (Szkudelski 2001; Walde et al. 2002). Selain itu akibat aloksan, terjadi gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler. Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas pada sel beta pankreas yang melalui mekanisme influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, dan eliminasi yang terbatas dari sitoplasma. Influks kalsium mengakibatkan depolarisasi sel beta pankreas yang kemudian membuka kanal kalsium dan semakin menambah masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain kedua faktor tersebut di atas, aloksan juga diduga berperan dalam penghambatan glukokinase dalam proses metabolisme energi (Suharmiyati 2003; Szkudelski 2001).

Hasil *Post Hoc Test* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan selisih kadar gula darah yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif dengan nilai p sebesar 0,000 (perhitungan tidak ditunjukkan). Hal ini disebabkan kelompok kontrol positif selain diinduksi dengan aloksan juga mendapatkan dosis metformin. Metformin merupakan salah satu dari tiga jenis golongan biguanid dengan mekanisme kerja menurunkan produksi glukosa di hepar dan meningkatkan sensitivitas jaringan otot dan adipose terhadap insulin. Efek ini terjadi karena adanya aktivasi kinase di sel (Suherman 2007).

Perbedaan selisih kadar gula darah yang bermakna juga terdapat antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 dengan nilai p yang sama pada setiap kelompok yaitu 0,000 (perhitungan tidak ditunjukkan). Perbedaan yang bermakna ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak batang belimbing wuluh pada kelompok perlakuan 1, 2 dan 3 dapat menurunkan peningkatan kadar gula darah pada tikus putih akibat induksi aloksan.

Ekstrak batang belimbing wuluh merupakan ekstraksi dari batang tanaman belimbing wuluh dengan menggunakan penyari etanol 70%. Batang belimbing

wuluh mengandung saponin, tannin, glukosid, kalsium oksalat, sulfur, peroksidase dan asam format (Sudarsono et al. 2002; Muhlisah 2004). Agen antihiperglikemik utama dalam batang tersebut ialah saponin dan tannin. Alkaloid tannin merupakan polifenol tanaman yang larut air (polar) dan dapat mendenaturasi protein (Westendarp 2006). Saponin lebih bersifat hidrofobik (nonpolar) (Widowati 2006). Etanol 70% merupakan pelarut semipolar sehingga diharapkan dapat menarik saponin dan tannin yang terkandung dalam batang belimbing wuluh (Harborne 1987). Tannin dan saponin memiliki peran sebagai agen antihiperglikemik dengan mekanisme sebagai berikut: tannin dapat mempresipitasi protein selaput lendir usus dan membentuk lapisan pelindung usus, sehingga menghambat asupan glukosa (Suryowinoto 2005), sedangkan saponin memanipulasi *glucose transporter-1* sehingga menghambat transpor glukosa dari lambung menuju usus halus dan *brush border* usus yang selanjutnya menghambat kenaikan kadar glukosa darah (Widowati 2006).

Aktivitas antihiperglikemik tannin dan saponin di dalam ekstrak batang belimbing wuluh dalam penelitian ini selaras dengan beberapa penelitian sebelumnya yang membuktikan aktivitas antihiperglikemik tannin dan saponin di dalam bagian lain tanaman belimbing wuluh. Dalam penelitian yang dilakukan Armenia et al. (2004) dan Agustin (1982) dilaporkan bahwa pemberian jus buah belimbing wuluh dapat menurunkan kadar gula darah mencit dan marmut diabetes baik pada kelompok yang diinduksi aloksan maupun yang dibebani glukosa. Buah belimbing wuluh dilaporkan mengandung alkaloid, saponin, kumarin, karoten, thiamin, riboflavin, niacin, pektin, minyak atsiri, dan asam oksalat baik dalam bentuk kalium oksalat ataupun dalam bentuk enzim isositrat liase (Galvao et al. 2001; Sudarsono et al. 2002). Penelitian lain yang dilakukan Damayanti (1995) melaporkan bahwa infusa daun belimbing wuluh mampu menurunkan kadar gula darah pada tikus putih jantan diabetes yang diinduksi aloksan. Pada penelitian lain, ekstrak daun belimbing wuluh terbukti mempunyai efek hipoglikemik pada tikus diabetes yang diinduksi Streptozotocin (Pushparaj 2000). Daun belimbing wuluh dilaporkan memiliki kandungan tannin, sulfur, asam format, peroksid, alkaloid, kumarin, pektin, minyak atsiri, flavonoid dan saponin (Sudarsono et al. 2002; Muhlisah 2004).

Hasil *Post Hoc Test* menunjukkan perbedaan selisih kadar gula darah yang tidak bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 yang ditunjukkan dengan nilai p yang lebih besar dari 0,05 yaitu berturut-turut 0,055, 0,920, dan 0,904 (perhitungan tidak ditunjukkan). Hal ini menunjukkan bahwa efek antihiperglikemik dosis ekstrak batang belimbing wuluh pada kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 sama dengan efek antihiperglikemik dosis metformin pada kelompok kontrol positif.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak tidak selalu diiringi dengan penurunan kadar gula darah yang signifikan. Hubungan dosis ekstrak dengan efek yang ditimbulkannya akan dijelaskan berdasarkan farmakodinamik obat. Suatu obat dapat menimbulkan efek

apabila terdapat ikatan dengan reseptor membentuk ikatan obat-reseptor. Menurut teori okupansi reseptor yang dikemukakan oleh Alfred Joseph Clark (Setiawati et al. 2007), hubungan dosis obat dengan efek yang ditimbulkan sebanding dengan jumlah reseptor yang diduduki oleh obat tersebut yang digambarkan sebagai grafik berbentuk hiperbola. Terdapat Emax yaitu efek maksimal yang ditimbulkan oleh suatu konsentrasi dosis yang tinggi. Jika Emax telah tercapai, peningkatan dosis obat tidak akan berarti lagi karena menurut prinsip teori okupansi reseptor, pada tahap ini semua reseptor yang ada telah diduduki oleh obat. Kemungkinan ketiga dosis pada penelitian ini telah menimbulkan Emax. Teori okupansi reseptor juga berlaku dalam efek samping obat. Semakin banyak dosis obat akan menimbulkan ikatan reseptor – zat dalam obat yang mampu menimbulkan efek yang tidak diinginkan. Sehingga semakin tinggi dosis akan semakin besar potensinya dalam menimbulkan efek samping. Selain itu, faktor lain seperti variasi kepekaan tikus putih terhadap senyawa saponin dan tannin dalam ekstrak batang belimbing wuluh dapat menyebabkan hasil tidak signifikan antara kelompok perlakuan 1, 2, 3, dan kontrol positif seperti dalam penelitian ini. Variasi ini bersifat individual dan mungkin tergantung pada sistem imun hewan uji dan kondisi psikologis hewan uji. Dalam penelitian ini, kedua hal tersebut termasuk dalam variabel luar yang tidak dapat dikendalikan. Selain itu terdapat faktor-faktor non teknis yang berpengaruh, yaitu keterampilan peneliti dalam melakukan sonde lambung, ketepatan dalam mengukur volume ekstrak yang akan diberikan dan ketelitian dalam mempertimbangkan pengaruh perbedaan berat badan tikus putih terhadap dosis yang diberikan.

Dari hasil tersebut, karena ketiga kelompok perlakuan memiliki efektivitas yang sama dengan metformin dalam menurunkan kadar gula darah, dapat disimpulkan bahwa dosis perlakuan I ialah yang paling efektif dibanding kelompok lainnya. Hal ini dikarenakan dengan penggunaan dosis terkecil, didapatkan hasil penurunan gula darah yang sama efektifnya. Selain itu, dengan penggunaan dosis terkecil dapat meminimalisasi efek samping dari obat. Selanjutnya hasil tersebut dapat dijadikan dasar sementara dalam menentukan dosis ekstrak batang belimbing wuluh yang paling efektif dalam menurunkan kadar gula darah tikus putih akibat induksi aloksan yaitu dengan menggunakan dosis sebesar 25 mg/200 g BB tikus/hari. Agar hasil ini dapat direkomendasikan ke manusia, maka dosis dikonversi dengan dikalikan faktor konversi dari tikus ke manusia. Menurut Suhardjono (1995) faktor konversi dari tikus dengan berat 200 g ke manusia dengan berat 70 kg adalah 56 sehingga dosis yang dibutuhkan menjadi 1400 mg/70 kg BB/hari.

KESIMPULAN

Ekstrak batang belimbing wuluh memiliki efek menurunkan kadar gula darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan

DAFTAR PUSTAKA

- ADA [American Diabetes Association]. 2004. Screening for Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 23: 381-389.
- Agustin Y. 1982. Efek Hipoglikemik Perasan Buah Belimbing Wuluh Muda (*Averrhoa bilimbi* L.) pada Marmut. [Skripsi]. UGM, Yogyakarta.
- Arif TQ, Mochammad. 2008. Pengantar Metodologi Penelitian Untuk Ilmu Kesehatan. LPP UNS dan UNS Press, Surakarta.
- Armenia, Megawati, Rusdi. 2004. Efek penurunan gula darah air perasan buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* Linn) pada mencit diabetes yang diinduksi aloksan dan mencit yang dibebani glukosa. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi* 9 (2): 63-69.
- Dahlan MS. 2008. Statistik untuk Kedokteran dan Kesehatan edisi 3. Salemba Medika, Jakarta.
- Damayanti, M. 1995. Pengaruh Pemberian Infus Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan UGM, Yogyakarta.
- Fallah-Hosseini H, Fakhrzadeh H, Larigani B, Sheikh Samani AH. 2006. Review on therapeutic plant used in diabetes. *J Medicinal Plants Persien* 5: 1-8.
- Galvao de Lima VLA, de Almedia Melo E, Santos Lima LD. 2001. Physicochemical characteristics of bilimbi (*Averrhoa bilimbi* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura* 23 (2): 421-424.
- Gustaviani R. 2006. Diagnosis dan klasifikasi diabetes melitus. In: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. (Ed). *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran Edisi 9*. EGC, Jakarta.
- Koczwaro K, Bonifacio E, Ziegler AG. 2004. Transmission of maternal islet antibodies and risk of autoimmune diabetes in offspring of mothers with Type 1 Diabetes. *Diabetes* 53: 1-4.
- Mitruka BM, Rawnsley HM. 1981. *Clinical Biochemical and Hematological Reference Values in Normal Experimental Animals and Normal Humans 2nd Edition*. Year Book Medical Publishers Inc., Chicago.
- Muhlisah F. 2004. *Tanaman Obat Keluarga (TOGA)*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Nagappa AN, Thakurdesai, P A, Venkat Rao, N, Jiwan Singh. 2003. Antidiabetic activity of *Terminalia catappa* Linn fruits. *J Ethnopharmacol* 88: 45-50.
- Pushparaj P, Tan CH, Tan BK. 2000. Effects of *Averrhoa bilimbi* leaf extracts on blood glucose and lipid in Streptozotocin-diabetic Rats. *J Ethnopharmacol* 72 (1-2): 69-76.
- Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Poitout V. 2004. α -Cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes* 53: S119-S124.
- Roivainen M, Rasilainen S, Ylipaasto S, Nissinen R, Ustinov J, Bouwens L, Eizirik DCL, Hovi T, Otonkoski T. 2000. Mechanisms of Coxsackievirus-induced damage to Human Pancreatic β -Cells. *J Clin Endoc Metab* 85: 432-440.
- Setiawati A, Suyatna FD, Gan S. 2007. Pengantar Farmakologi dalam Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Departemen Farmakologi dan Terapeutik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Sudarsono, Gunawan D, Wahyuno S, Donatus IA, Purnomo. 2002. *Tumbuhan Obat II: Hasil Penelitian, Sifat-Sifat, Penggunaan*. Cet I. Pusat Studi Obat Tradisional, Yogyakarta.
- Suhardjono D. 1995. *Percobaan Hewan Laboratorium*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Suharmiyati. 2003. Pengujian bioaktivitas anti diabetes melitus tumbuhan obat. *Cermin Dunia Kedokteran* 140: 8-10.
- Suherman SK. 2007. Insulin dan antidiabetik oral. In: Gunawan SG (ed). *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Gaya Baru, Jakarta.
- Suryowiyoto S. 2005. Mengenal Beberapa Tanaman yang Digunakan Masyarakat Sebagai Antidiabetik untuk Menurunkan Kadar Gula dalam Darah. <http://www.pom.go.id/default.asp>. (24 Februari 2010)
- Szkudelski T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 50: 536-546.
- Tjokroprawiro A. 2003. *Diabetes Melitus: Klasifikasi, Diagnosis, dan Terapi*. Gramedia, Jakarta.
- Turner CD, Bagnara CD. 1988. *Endokrinologi Umum*. Terjemahan: Harsojo. Edisi ke-6. Airlangga University Press, Surabaya.
- Unger RH, Foster DW. 1992. *Diabetes Melitus*. In: Williams RH. (ed): *Williams Textbook of Endocrinology*. 8th ed. W.B. Saunders Company, USA.

- Utami P. 2003. Tanaman Obat Untuk Mengatasi Diabetes Melitus. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Walde SS, Dohle C, Schott-Ohly P, Gleichmann H. 2002. Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice. *Life Sci* 71: 1681-1694.
- Walujani A. 2003. Ancaman Pandemi Diabetes di Abad Ini. Koran Kompas, Jakarta.
- Westendarp H. 2006. Effects of tannins in animal nutrition. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 113 (7): 264-268.
- Widowati W. 2006. Aktivitas antioksidan dalam menurunkan kadar gula darah. *Wahana Medica Rab Univ* 2: 2-12.
- Yaryura-Tobias JA, Pinto A, Neziroglu F. 2001. Anorexia nervosa, diabetes melitus, brain atrophy, and fatty liver. *Intl J Etiol Disorders* 30: 350-353.