

Penentuan Aktivitas Fraksi Nonpolar dari Ekstrak Etanol Akar Dadangkak (*Hydrolea spinosa* L.) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Jantan yang Diinduksi Aloksan

Activity Determination of Nonpolar Fraction from Ethanol Extract of Dadangkak Root (*Hydrolea spinosa* L.) to Decrease Blood Glucose Levels of Male Rat Induced by Aloksan

Muhammad Zaini¹, Vivi Shofia², Amalia Ajrina²

¹Program Studi D-III Farmasi Politeknik Unggulan Kalimantan

²Program Studi D-III Analisis Kesehatan Politeknik Unggulan Kalimantan
Jl. P. Hidayatullah No. 10, RT 14. Komplek Upik Futsal, Banua Anyar

Banjarmasin, Indonesia email : zaini.apt@gmail.com

ABSTRAK

Akar Dadangkak (*Hydrolea spinosa* L) secara empiris digunakan oleh masyarakat Kalimantan Selatan sebagai obat antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan efek antidiabetes fraksi nonpolar dari ekstrak etanol akar dadangkak.

Ekstraksi akar dadangkak (250 gram) dilakukan secara maserasi dengan etanol untuk memperoleh ekstrak etanol (16,62 g). Selanjutnya ekstrak etanol difraksinasi dengan n-Heksan dan Petroleum Eter. Uji antidiabetes menggunakan tikus wistar jantan 20 ekor yang dibagi menjadi 4 kelompok Perlakuan. Kelompok I diberi akuades 2 mL/200 g BB ; kelompok II diberi Glibenklamid 0,45 mg/kgBB ; Kelompok III diberi fraksi n-heksan 100 mg/kg BB dan kelompok IV diberi fraksi Petroleum eter 100 mg/kg BB. Sebelum diberi perlakuan, tikus diinduksi Aloksan dengan dosis 150 mg/kg BB secara intraperitoneal. Hari ke-4 setelah induksi, tikus diberi perlakuan kontrol dan fraksi-fraksi selama 7 hari secara peroral. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-1, 4 dan 12 menggunakan Gluco-DR. Kadar glukosa darah diuji dengan SPSS taraf kepercayaan 95 %.

Hasil Penelitian menunjukkan rata-rata penurunan glukosa darah oleh fraksi n-heksan adalah $189,8 \pm 13,59$ mg/dL dan fraksi petroleum eter adalah $437,6 \pm 8,98$ mg/dL. Fraksi n-heksan mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus secara signifikan ($\text{sig} < 0,05$) dibandingkan terhadap kelompok kontrol. Sedangkan pemberian fraksi Petroleum eter tidak menunjukkan penurunan glukosa darah yang signifikan ($\text{sig} > 0,05$).

Kata kunci : akar dadangkak, fraksi n-heksan, fraksi petroleum eter, antidiabetes, aloksan

ABSTRACT

*The roots of Dadangkak (*Hydrolea spinosa* L.) have been used empirically by Kalimantan people to medicate diabetes. The purpose of this research was to determine the effect of antidiabetic of fractions from Dadangkak root ethanol extract.*

Root extraction (250 grams) was carried out by maceration with ethanol to obtain ethanol extract (16.62 g). Furthermore, the ethanol extract was fractionated with n-Hexane and Petroleum Ether. The antidiabetic test used 20 male wistar rats which were divided into 4 treatment groups. Group I was given distilled water 2 mL / 200 g BB; group II was given Glibenclamide 0.45 mg / kgBB; Group III was given a n-hexane fraction of 100 mg / kg BB and group IV was given a fraction of Petroleum ether 100 mg / kg BB. Before being treated, The mice were induced by aloksan at a dose of 150 mg / kg BW intraperitoneally. Day 4 after induction, rats were treated with control and fractions for 7 days orally. Blood glucose levels were measured on days 1, 4 and 12 using Gluco-DR. Blood glucose levels were tested with SPSS 95% confidence level.

The result showed that the average of blood glucose level by the n-hexane fraction was $189,8 \pm 13,59$ mg/dL and petroleum ether was $437,6 \pm 8,98$ mg/dL. n-hexane fraction could decrease the blood glucose level of mice significantly ($\text{sig} < 0.05$) compared to the control group. On the other side, petroleum ether fraction treatment was not showing the decrease of blood glucose level significantly ($\text{sig} > 0.05$).

Keyword : dadangkak roots, n-hexane fraction, petroleum ether fraction, antidiabetic, aloxan

Pendahuluan

Penyakit Diabetes mellitus diperkirakan pada tahun 2030 menempati peringkat ke-7 penyebab kematian dunia. Indonesia pada tahun 2030 diperkirakan akan memiliki penderita Diabetes mellitus sebanyak 21,3 juta jiwa (DepKes RI, 2011). Prevalensi kejadian Diabetes mellitus yang tinggi menyebabkan penyakit tersebut memperoleh perhatian khusus terutama dalam mencari solusi pengobatan yang tepat.

Kalimantan Selatan yang terkenal dengan kawasan lahan basah yang melimpah, dimana kawasan hutan mencapai 1.659.003 ha (Portal Nasional RI, 2010), sangat potensial untuk dikembangkan sebagai daerah dengan sumber tanaman herbal berbasis kearifan lokal. Akar tumbuhan Dadangkak merupakan salah satu contoh pemanfaatan tumbuhan obat yang secara empiris digunakan pada Diabetes Mellitus oleh warga Kalimantan Selatan, meskipun belum pernah dikaji secara ilmiah.

Kajian ilmiah mengenai aktivitas akar Dadangkak (*Hydrolea spinosa* L) dilakukan untuk membuktikan khasiat yang terkandung dari akar dadangkak sebagai antidiabetes. Penggunaan pelarut nonpolar telah dilaporkan sebelumnya mampu menarik kandungan kimia berpotensi

antidiabetes dengan baik. Penelitian oleh Muhammad *et al* (2015) yang menguji fraksi n-heksan dan kloroform dari daun *Ceiba pentandra* menunjukkan efek potensial sebagai agen hipoglikemik dan hipolipidemic pada tikus putih. Penggunaan fraksi petroleum ether (PE) *Phaeranthus indicus* Linn mampu mereduksi secara signifikan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi aloksan (Jha *et al*, 2010).

Akar dadangkak diekstraksi secara maserasi dengan pelarut etanol 70 % sehingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak etanol kemudian difraksinasi dengan pelarut nonpolar secara bertingkat yaitu dengan n-heksan dan PE. Fraksi kental yang diperoleh diujikan terhadap tikus jantan galur wistar yang dibuat diabetes dengan aloksan 150 mg/kgBB (i.p). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian fraksi n-heksan dan PE terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus jantan yang diinduksi aloksan sehingga diketahui efektivitas fraksi nonpolar akar dadangkak sebagai antidiabetes.

Metode Penelitian

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus jantan galur wistar, akar dadangkak, Aloksan, akuades, etanol 70 %, etil asetat teknis,

n-heksan teknis, metanol, pereaksi *Dragendorff*, pereaksi *Mayer*, asam sulfat, asam asetat anhidrat, FeCl_3 .

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah *beaker glass* (pyrex), tabung reaksi, rak tabung reaksi, bunsen, kaki tiga, neraca analitik, Gluco-DR, strip Gluco-DR, bejana maserasi, *Vortex*, *Waterbath*, Corong pisah, S spuit injeksi 1 mL dan 3 mL, sonde oral, *Vacum Rotary Evaporator*, pipet volume, pipet tetes dan kandang tikus.

Jalannya Penelitian

Pengolahan Simplisia

Tumbuhan dadangkak diperoleh dari Kota Marabahan, Kalimantan Selatan. Pengambilan sampel adalah seluruh bagian tumbuhan dadangkak, kemudian dipisahkan antara akar dan bagian lainnya. Akar dadangkak berwarna coklat dengan tekstur lembek dicuci bersih dengan air mengalir. Pencucian ini bertujuan untuk menghilangkan pengotor yang menempel pada bagian akar.

Sampel dipotong kecil dengan alat pemotong dan dikeringkan dengan cara dikering anginkan. Pengeringan ini bertujuan untuk menurunkan kadar air dan mengurangi risiko kerusakan bahan akibat kontaminasi bakteri. Sampel kering dikecilkan menjadi ukuran serbuk kasar dengan *blender*. Hal ini bertujuan untuk mempermudah proses ekstraksi. Simplisia serbuk kemudian disimpan dalam wadah tertutup rapat.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah ekstraksi dingin yaitu secara maserasi. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak

250 gram dan dimasukkan dalam wadah maserasi. Ekstraksi dilakukan selama 3 hari menggunakan pelarut etanol 70 % dengan sesekali dilakukan pengadukan. Ekstrak kemudian dikentalkan dengan *Vacum Rotary Evaporator* yang mampu menguapkan ekstrak dibawah titik didih dari pelarut sehingga diperoleh ekstrak kental akar dadangkak.

Hasil maerasi kemudian difraksinasi secara bertingkat dengan pelarut n-heksan dan PE. Fraksi kemudian dikentalkan dengan *Vacum Rotary Evaporator* dan dipekatkan dengan *waterbath*.

Uji Aktivitas Antidiabetes

Uji aktivitas antidiabetes menggunakan tikus jantan galur wistar, berumur 2 – 3 bulan dengan berat badan 200 – 250 gram. Hewan coba dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing 5 ekor yaitu Kelompok I : akuades 2 mL/200 gBB ; Kelompok II : glibenklamid 0,4525 mg/kg BB ; Kelompok III : fraksi PE akar dadangkak 100 mg/kgBB dan Kelompok IV : fraksi n-heksan akar dadangkak 100 mg/kgBB peroral. Sebelum dilakukan pengukuran kadar glukosa darah, hewan coba dipuasakan selama 16 jam. Selama dipuasakan, sekam dikeluarkan dari kandang, agar tidak dimakan oleh hewan coba.

Semua kelompok diberi aloksan 150 mg/kgBB pada hari pertama perlakuan untuk menaikkan kadar glukosa darah. Pengukuran kadar glukosa dilakukan dengan menggunakan Gluco-DR. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan lagi pada hari ke -4 dimaksudkan untuk mengetahui apakah kadar glukosa

darah sudah naik. Pengambilan darah dilakukan pada pembuluh darah ekor hewan coba. Jika kadar glukosa darah sudah naik (rentang DM) pada hari ke-4. Pemberian sediaan uji pada hewan coba diberikan pada hari ke-5 sampai dengan hari ke-11. Pengukuran glukosa darah selanjutnya dilakukan pada hari ke-12. Kadar glukosa darah yang telah diperoleh masing-masing fraksi dibandingkan dan di analisis dengan SPSS taraf kepercayaan 95 % sehingga diperoleh fraksi yang memberikan efek terbesar sebagai antidiabetes.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi dan Fraksinasi

Akar dadangkak diperoleh dari Kota Marabahan, provinsi Kalimantan Selatan. Serbuk akar dadangkak 250 gram diekstraksi secara maserasi dengan etanol 70 % diperoleh ekstrak kental 16,62 gram dengan rendemen 6,6 %. Hasil fraksinasi terhadap ekstrak etanol 10 gram diperoleh rendemen fraksi n-heksan sebesar 15,5 % dan fraksi PE 14,4 %. Uji kualitatif terhadap fraksi n-heksan dan PE diperoleh fraksi n-heksan positif mengandung saponin dan tanin, sedangkan fraksi PE positif terhadap keberadaan saponin.

Hasil Aktivitas Antidiabetes

Pengujian efek antidiabetes dilakukan dengan alat Gluco-Dr untuk menilai kadar glukosa darah tikus. Induksi DM menggunakan Aloksan yang diberikan secara intraperitoneal dengan dosis 150 mg/kgBB. Penelitian ini merupakan permodelan Diabetes tipe I dimana terjadi kerusakan pankreas akibat senyawa diabetogenik. Aloksan mampu merusak sel β

Langerhans yang menyebabkan limfosit dapat merembes ke Langerhans pankreas. Hal itu mengindikasikan bahwa telah terjadi proses autoimun yang biasa terjadi pada kasus diabetes tipe I (Nugroho, 2006).

Perlakuan pada tikus dilakukan pada 5 kelompok dengan jumlah per kelompok adalah 5 tikus. Pengujian dilakukan terhadap akuades 2 mL/200 gBB sebagai kontrol negatif, glibenklamid 0,45 mg/kgBB sebagai kontrol positif, fraksi n-heksan dan PE 100 mg/kgBB sebagai kelompok uji. Dosis fraksi akar dadangkak yang digunakan dalam penelitian adalah berdasarkan dosis empiris manusia sebanyak 1 genggam serbuk kering yaitu \pm 8 gram. Dosis untuk tikus diperoleh dengan melakukan konversi dosis dengan faktor konversi adalah sebesar 0,72 g/kgBB. Mengacu pada rendemen fraksi rata-rata adalah 15 %, maka diperoleh dosis fraksi sebesar 108,6 mg/kgBB. Dosis fraksi 100 mg/kgBB ditetapkan sebagai dosis uji.

Data yang diperoleh berupa kadar glukosa darah tikus pada hari ke-1, 4 dan 12. Pemberian kelompok kontrol dan uji dilakukan secara peroral dengan dosis yang disesuaikan dengan berat badan tikus diberikan pada hari ke-5 sampai hari ke-11. Hasil uji antidiabetes berupa rata-rata kadar glukosa darah tikus disajikan pada tabel 1.

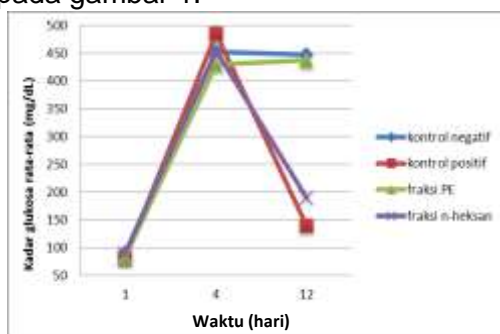
Kelompok kontrol dan kelompok perlakuan menunjukkan kadar glukosa darah rata-rata sebelum pemberian aloksan (hari ke-1) berada pada rentang normal. Pada hari ke-4 semua kelompok

menunjukkan kenaikan kadar glukosa darah yang tinggi.

Tabel 1. Kadar Rata-Rata Glukosa Darah Tikus

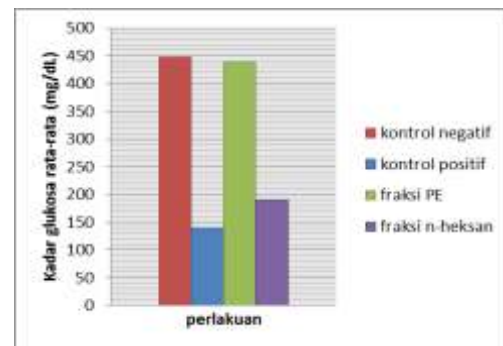
No	Perlakuan	Rata-Rata Kadar glukosa (mg/dL) Hari ke-		
		1	4	12
1	Kontrol Negatif	91	452.2	447.6
2	Kontrol Positif	82.4	485.6	140
3	Fraksi PE 100 mg/kgBB	83.6	430	437,6
4	Fraksi n-heksan 100 mg/kgBB	88.8	454.8	189,8

Kelompok kontrol negatif memperlihatkan kenaikan rata-rata kadar glukosa darah hingga hari ke-12 perlakuan. Kontrol positif mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga 140 mg/dL pada hari ke-12. Fraksi n-heksan menunjukkan penurunan kadar glukosa hingga 189,8 mg/dL dan fraksi PE menunjukkan kadar glukosa darah yang tinggi dan stabil yaitu 437,6 mg/dL pada hari ke-12. Kadar glukosa rata-rata tikus kemudian diolah dalam bentuk grafik untuk menunjukkan perbedaan antar perlakuan. Perbandingan rata-rata kadar glukosa darah tikus dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik kadar glukosa darah rata-rata setiap kelompok

Hasil dari grafik kadar glukosa darah rata-rata setiap kelompok menunjukkan kelompok kontrol negatif dan fraksi PE relatif tidak mengalami penurunan kadar glukosa darah hingga hari ke-12 pengamatan. Rata-rata kadar glukosa darah kelompok kontrol positif menunjukkan hasil penurunan terbesar yang diikuti oleh fraksi n-heksan. Hal ini tergambar pada hasil plot data hari ke-12 pada gambar 2.



Gambar 2. Kadar glukosa rata-rata kelompok perlakuan hari ke-12

Analisis data menggunakan program SPSS versi 20 meliputi data kadar glukosa darah pasca pemberian perlakuan (hari ke-12) dengan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* menunjukkan data yang terdistribusi secara normal ($\text{sig} > 0,05$) dan uji homogenitas *Levene* data yang diujikan homogen ($\text{sig} > 0,05$). Berdasarkan hasil uji tersebut, maka analisis dilanjutkan menggunakan uji *One way*. Hasil Uji *One way Anova* menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan ($\text{sig} < 0,05$). Uji dilanjutkan dengan *Tukey HSD* untuk mengetahui perbedaan antara perlakuan. Ringkasan hasil uji *Tukey HSD* dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji Tukey HSD

Kelompok	Rata-rata kadar Glukosa Darah (mg/dL)
Kontrol Negatif	447,6 ± 9,53 ^c
Kontrol Positif	140,0 ± 13,76 ^a
Fraksi PE	437,6 ± 8,98 ^c
Fraksi n-Heksan	189,8 ± 13,59 ^b

Ket : Notasi yang berbeda menunjukkan adanya pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,05$)

Rata-rata kadar glukosa darah tikus kelompok kontrol dapat dijadikan standar untuk menentukan adanya peningkatan dan penurunan karena pengaruh perlakuan. Hasil uji Tukey HSD menunjukkan terjadi perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif dengan kelompok yang lain ($\text{sig} < 0,05$). Kelompok kontrol negatif dinyatakan tidak berbeda bermakna dengan kelompok fraksi PE ($\text{sig} > 0,05$). Sedangkan kelompok fraksi n-heksan menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol negatif ($\text{sig} < 0,05$). Sehingga dapat dikatakan bahwa kelompok fraksi PE memberikan efek yang sama dengan kontrol negatif dan tidak mampu menunjukkan aktivitas antidiabetes sedangkan fraksi n-heksan mampu memberikan aktivitas antidiabetes yang ditunjukkan dengan nilai glukosa darah rata-rata tikus yang mengalami penurunan dan dinyatakan berbeda dengan kontrol negatif.

Kemampuan fraksi n-heksan dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes diduga merupakan kontribusi senyawa kimia yang berhasil terekstraksi ke dalam fraksi tersebut. Senyawa saponin dan tanin menunjukkan hasil positif pada uji kualitatif. Penelitian sebelumnya

menyebutkan bahwa senyawa saponin dari buah *S. Anguivi* mampu menurunkan kadar glukosa darah (hipoglikemik), hipolipidemik dan bersifat antioksidan (Elekofehinti et al, 2013). Saponin dilaporkan pada berbagai penelitian memiliki mekanisme meningkatkan kadar insulin plasma dengan menginduksi pelepasan insulin, inhibisi aktivitas *diasaccharide*, penghambatan *α -glucosidase* dan menghambat ekspresi mRNA dari *glycogen phosphorylase* dan *glucose 6 phosphat* (Lavle et al, 2016).

Tanin telah banyak diteliti aktivitasnya sebagai antidiabetes. Tanin mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan menghambat enzim *α -amylase* dan *α -glucosidase* dan bersifat antioksidan (Kunyanga et al, 2011). Tanin bersifat sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas yang sangat potensial pada berbagai tumbuhan sebagaimana penelitian Kumari & Jain (2012) tanin dapat memperbaiki keadaan stres oksidatif pada kondisi DM. Tanin dan saponin diduga sebagai senyawa yang berpotensi menurunkan kadar glukosa darah dengan mekanisme antioksidan yang mana dapat menangkap radikal bebas (hidroksil) yang diproduksi ketika terjadi kerusakan sel yang diprantarai oleh aloksan (Studiawan & Santosa, 2005).

KESIMPULAN

Pemberian Fraksi n-heksan 100 mg/kgBB berpengaruh signifikan terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus ($\text{sig} < 0,05$) dibandingkan terhadap kelompok kontrol dengan kadar glukosa darah rata-rata 189,8 ±

13,59 mg/dL. Pemberian fraksi PE 100 mg/kgBB tidak berpengaruh signifikan terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus ($\text{sig} > 0.05$) dibandingkan terhadap kelompok kontrol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terimakasih kepada Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi atas dukungan hibah penelitian sehingga penelitian ini dapat diselesaikan sebagaimana mestinya.

DAFTAR PUSTAKA

- [Depes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. *Konsensus^P Pengelolaan^P dan^P Pencegahan^P Diabetes^P Melitus^P Tipe^P 2^P Di^P Indonesia* 2011. Jakarta: Depkes RI
- Elekofehinti OO, Kamdem JP, Kade IJ, Rocha JBT & Adanlawo IG. 2013. Hypoglycemic, antiperoxidative and antihyperlipidemic effects of saponins from *Solanum anguivi* Lam. fruits in alloxan-induced diabetic rats. *South African journal of botany*. 88:56-61.
- Jha RK, Mangilal BA & Nema RK. 2010. Antidiabetic activity of flower head petroleum ether extracts of *Sphaeranthus indicus* Linn. *Asian J Pharm Clin Res*. 3:9-16.
- Kumar M & Jain S. 2012. Tannins: An antinutrient with positive effect to manage diabetes. *Research Journal of Recent Sciences*. 1(12):1-8.
- Kunyanga CN, Imungi JK, Okoth M, Momanyi C, Biesalski HK & Vadivel V. 2011. Antioxidant and antidiabetic properties of condensed tannins in acetonic extract of selected raw and processed indigenous food ingredients from Kenya. *Journal of Food Science*. 76(4): C560–C567.
- Lavle N, Shukla P & Panchal A. 2016. Role of flavonoids and saponins in the treatment of diabetes mellitus. *J.Pharm Sci Bioscientific Res*. 6(4): 535-541.
- Muhammad HL, Busari MB, Okonkwo US, & Abdullah AS. 2015. Biochemical effects of n-hexane and chloroform fractions of ceiba pentandra leaf used in the folkloric treatment of diabetes. *British Journal of Pharmaceutical Research*. 6(1): 44-60.
- Nugroho AE. 2006. Animal models of diabetes mellitus: Pathology and mechanism of some diabetogenics. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*. 7(4):378-382.
- Portal Nasional Republik Indonesia. 2010. Sumber Daya Alam Provinsi Kalimantan Selatan. <http://www.indonesia.go.id>. [14 maret 2016].
- Studiawan H & Santosa MH. 2005. Test pharmacological effect of ethanolic extract of *Eugenia polyantha* leaves as for decreasing glucose level activity on mice induced by alloxan. *Media Kedokteran Hewan*. 21(2):62-65.