

PENGARUH PEMBERIAN METFORMIN KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* L.) TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Ovikariani*¹, Anifatius Sa'adah

¹ Program Studi S-1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu kesehatan Nasional; ovikariani@gmail.com

² Program Studi S-1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu kesehatan Telogorejo; anifatius@stikestelogorejo.ac.id

Korespondensi: ovikariani@gmail.com

penulis koresponden: Ovikariani

Abstrak: Diabetes adalah masalah kesehatan yang masih menjadi beban kesehatan Dunia karena angka prevelensi yang sangat tinggi yaitu, mencapai ½ miliar individu menderita Diabetes Melitus (DM) tipe 2. Daun Kelor adalah tanaman yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan makanan. Kandungan senyawa yang ada di dalam daun kelor memiliki peran sebagai anti-hiperglikemia. Ekstrak etanol daun kelor mengandung flavonoid. Flavonoid memiliki mekanisme menghambat fosfodiesterase sehingga kadar cAMP dalam sel beta pankreas menjadi tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian metformin kombinasi ekstrak etanol daun kelor terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih yang diinduksi aloksan. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium, dengan rancangan *Posttest-only Control Group Design* yang menggunakan binatang percobaan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*). Menggunakan 4 kelompok hewan uji yaitu kelompok 1 (CMC-Na), kelompok 2 (Ekstrak dosis 100 mg/KgBB), kelompok 3 (Metformin dosis 12,5 mg/KgBB Tikus), kelompok 4 (kombinasi ekstrak 100mg/KgBB dan metformin metformin 12,6 mg/kgBB). Hasil penelitian menunjukkan penurunan glukosa darah tikus paling tinggi terjadi pada kelompok perlakuan Ekstrak daun kelor 100 mg/kg BB. Penurunan glukosa darah terjadi karena ekstrak daun kelor mengandung flavonoid yang dapat meningkatkan ekspresi GLUT 4 pada otot dan meningkatkan ambilan glukosa oleh otot soleus melalui jalur PI3K dan PKC pada tikus.

Kata Kunci: Daun kelor; Metformin; Glukosa Darah

1. Pendahuluan

Diabetes adalah masalah kesehatan yang masih menjadi beban kesehatan dunia karena angka prevelensi yang sangat tinggi yaitu, mencapai ½ miliar individu menderita Diabetes Melitus tipe 2. Indonesia menduduki peringkat ke-6 dengan kasus DM sebanyak 10,3 juta jiwa, diprediksikan pada tahun 2045 meningkat sampai 16,7 juta jiwa (Cho *et al.*, 2018). Penderita Diabetes Melitus cenderung mengalami hiperglikemia atau fluktuasi karena faktor-faktor seperti penurunan progresif fungsi organ pankreas, kepatuhan, dan faktor lainnya. Berbagai macam pendekatan terapi dilakukan untuk mengurangi efek hiperglikemia pada pasien DM, salah satunya dengan pengobatan berbasis bahan alam. Dalam beberapa dekade terakhir penggunaan obat bahan alam cenderung mengalami peningkatan, bahkan dari beberapa pengobatan dikombinasikan dengan terapi farmakologi untuk mencapai *outcome* yang optimal.

Kelor (*Moringa oleifera*) adalah tanaman dari India dan luas tersebar di Indonesia. Hampir setiap bagian tanaman kelor bisa dikonsumsi dan berpotensi sebagai obat (Wang, *et al.*, 2016). Daun tanaman kelor telah dilaporkan dapat menurunkan kadar glukosa darah pada kasus DM. Selain daun, salah satu bagian tanaman kelor yang diduga memiliki efek hipoglikemia adalah kulit batang kelor (Aminah, Ramdhan, & Yanis, 2015). Berdasarkan hasil uji fitokimia daun kelor menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan steroid/triterpenoid yang berperan aktif dalam menurunkan kadar gula darah (Trubus Edisi Agustus, 2011). Senyawa kimia yang berasal dari tumbuhan merupakan senyawa metabolit sekunder. Konstituen kimia yang paling banyak

ditemukan dalam *M. oleifera* adalah tanin, dan polifenol yang memiliki fungsi dalam melindungi tanaman dari herbivora dan pengaturan perkecambahan biji, juga dalam pertumbuhan tanaman. Flavonoid utama pada *M. oleifera* adalah quercetin, dan kaempferol yang diperoleh melalui ekstraksi metanol atau etanol (Fidrianny *et al.*, 2021).

Metformin satu-satunya golongan biguanid yang tersedia, mempunyai mekanisme kerja yang berbeda dengan sulfonilurea, keduanya tidak dapat dipertukarkan. Efek utamanya adalah menurunkan glukoneogenesis dan meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan. Karena kerjanya hanya bila ada insulin endogen, maka hanya efektif bila masih ada fungsi sebagian sel islet pankreas. Metformin akan diekskresikan dalam bentuk tidak berubah pada urin. Faktor pemberian obat yang dimulai dengan makan dan dimulai dengan dosis rendah dan tidak melebihi dosis harian maksimum (>2.550 mg/hari) dapat meminimalkan frekuensi efek samping metformin. Kejadian efek samping metformin sering terjadi pada awal penggunaan, yang dapat menyebabkan pasien berhenti mengonsumsi obat, sehingga membuat pengendalian glukosa darah tidak dapat mencapai tujuan pengobatan (Panamuan *et al.*, 2021)

Metformin merupakan obat pilihan pertama pasien dengan berat badan berlebih dimana diet ketat gagal untuk mengendalikan diabetes, jika sesuai bisa juga digunakan sebagai pilihan pada pasien dengan berat badan normal. Penggunaan obat sintesis dengan tradisional dilaporkan menjadi lebih unggul dan populer daripada pengobatan monoterapi saja. Beberapa penelitian telah meneliti tentang flavonoid dalam daun kelor, namun demikian belum dikaji pengaruh kombinasi ekstrak daun kelor dan metformin terhadap profil farmakologi belum banyak diteliti. Berdasarkan latar belakang tersebut, perlu dilakukan pengujian pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kelor dan kombinasi metformin terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi aloksan.

2. Material dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas (Pyrex), neraca digital, mikropipet, sonicator, rotary evaporator, holder tikus, spuit injeksi 3mL dan 5mL, blue tips, yellow tips, white tips, scaple. Bahan yang digunakan adalah daun kelor, metformin, tikus putih jantan galur Wistar, umur kurang lebih 2-3 bulan, berat badan 100-300 gram, pakan ternak BR2, CMC-Na, aquadest, alkohol 96%, n-butanol, asam asetat, aloksan, kloroform p.a, aqua bidestilata.

Teknik Pengumpulan Data

Penelitian ini merupakan penelitian ekperimental laboratorium, dengan rancangan *Posttest-only Control Group Design* yang menggunakan binatang percobaan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai objek penelitian. Perlakuan yang digunakan adalah pemberian berbagai dosis ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera L.*) dikombinasi dengan metformin. Hasil (*outcome*) yang diperoleh berupa kemampuan menurunkan kadar gula darah tikus setelah diinduksi aloksan 120 mg/kgBB

Pembuatan ekstrak etanol daun kelor

Serbuk daun kelor sebanyak 500 gram dimaserasi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 1500 mL selama 3x24 jam pada suhu ruangan (25°C) dan diaduk. Setelah 3x24 jam rendaman disaring untuk mendapatkan filtratnya. Filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C sampai terbentuk ekstrak kental

Uji efek farmakologi

Hewan uji dibagi dalam 4 kelompok yang sebelumnya sudah dirandomisasi. Masing-masing kelompok diberikan perlakuan sebagai berikut:

Kelompok 1 : Kelompok control diberi CMC Na

Kelompok 2 : Diberi perlakuan Ekstrak dosis 100 mg/KgBB Tikus

Kelompok 3 : Diberikan Metformin dosis 12,6 mg/KgBB Tikus

Kelompok 4 : Diberi perlakuan kombinasi ekstrak dan metformin

Dosis aloksan: 120 mg/kgBB

Pengukuran glukosa darah tikus putih galur wistar pada selama penelitian ini diukur sebanyak 3 kali, yaitu sebelum perlakuan, setelah induksi aloksan, hari ke 7 setelah pemberian ekstrak etanol daun kelor Tikus yang digunakan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok normal CMC-Na 0,5 %, kelompok Ekstrak daun kelor 100 mg/kg BB, kelompok Metformin 12,6 mg/200g BB tikus, kelompok Metformin 12,6 mg/200g BB dan ekstrak 100 mg/kg BB.

Pengolahan dan Analisis Data

Pengolahan data untuk uji efek farmakologi menggunakan rumus perhitungan sesuai dengan metode perhitungan pada uji tersebut. Dosis menggunakan perkalian faktor konversi pada hewan uji, Pemeriksaan kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan alat tes strip glukosa darah (Auto Check). Darah untuk mengukur kadar glukosa darah diambil pada vena lateralis ekor tikus putih. Pengambilan darah dari ekor tikus putih didahului dengan membersihkan ekor selanjutnya ujung ekor tikus di tusuk menggunakan lanset steril. Tetesan darah dibiarkan menetes membasahi strip glukosa darah sambil ekor tikus sedikit dipijat. Angka yang terbaca pada alat tes strip glukosa darah ditetapkan sebagai kadar glukosa darah. Pemeriksaan glukosa darah yang dilakukan pada penelitian ini adalah pemeriksaan Tes glukosa darah puasa, yakni tikus dipuaskan sebelum diambil darahnya paling kurang selama 8-12 jam tetapi tetap diberikan minum. Analisis data efektivitas antidiabetes dari daun kelor dihitung dari hasil Rata-rata penurunan kadar glukosa darah (%).

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) menggunakan metode ekstraksi cara dingin yaitu metode maserasi. Pemilihan metode ini berdasarkan kelebihan dari metode yaitu efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas (terdegradasi karena panas), peralatan yang digunakan relatif sederhana, murah, dan mudah didapat. Proses ekstraksi dilakukan dengan cara merendam sampel dalam pelarut ekstraksi (Patel *et al.*, 2019). Ekstraksi serbuk daun kelor (*Moringa oleifera* L.) menggunakan metode ekstraksi cara dingin yaitu metode maserasi. Pemilihan metode ini berdasarkan kelebihan dari metode yaitu efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas (terdegradasi karena panas), peralatan yang digunakan relatif sederhana, murah, dan mudah didapat (Naviglio *et al.*, 2019). Pelarut yang digunakan adalah etanol 96%, karena etanol bersifat polar sehingga mampu mengekstraksi senyawa polar yang terkandung pada sampel (Hidayah *et al.*, 2016).

Senyawa fenol dan flavonoid merupakan senyawa yang polar sehingga mudah tersari dalam pelarut polar, sesuai prinsip *like dissolve like* (Kemit *et al.*, 2010). Proses selanjutnya, menguapkan pelarut pada maserat hasil ekstraksi menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak kental yang diperoleh selama proses ekstraksi sebanyak 52,59 gram dengan hasil rendemen 10,52%. Pengukuran glukosa darah tikus putih galur wistar pada selama penelitian ini diukur sebanyak 3 kali, yaitu sebelum perlakuan, setelah induksi aloksan, hari ke 7 setelah pemberian ekstrak etanol daun kelor Tikus yang digunakan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok normal CMC-Na 0,5 %, kelompok ekstrak daun kelor 100 mg/kg BB, kelompok Metformin 12,6 mg/200g BB tikus, kelompok Metformin 12,6 mg/200g BB dan ekstrak 100 mg/kg BB. Tabel 2 menggambarkan hasil rata-rata perubahan kadar glukosa darah tikus. Tabel di atas menunjukkan setelah dilakukan induksi aloksan, kadar glukosa darah tikus mengalami peningkatan dan sudah terjadi diabetes mellitus. Hasil pengukuran pada hari ke tujuh pemberian terapi menunjukkan penurunan kadar glukosa darah tikus.

Tabel 3. 1. Glukosa darah tikus

kelompok	kadar glukosa darah Awal	kadar glukosa darah setelah Induksi	kadar glukosa darah setelah perlakuan
I (CMC-Na 0,5 %)	103	224	211
II (Ekstrak daun kelor 100 mg/kg BB)	110	193	85
III (Metformin 12,6 mg/200g BB tikus)	95	180	74
IV (Metformin 12,6 mg/200g BB tikus dan ekstrak 100 mg/kg BB)	73	122	84

Pemeriksaan kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan alat tes strip glukosa darah (Auto Check). Darah untuk mengukur kadar glukosa darah diambil pada vena lateralis ekor tikus putih. Pengambilan darah dari ekor tikus putih didahului dengan membersihkan ekor selanjutnya ujung ekor tikus di tusuk menggunakan lanset steril. Tetesan darah dibiarkan menetes membasahi strip glukosa darah sambil ekor tikus sedikit dipijat. Angka yang terbaca pada alat tes strip glukosa darah ditetapkan sebagai kadar glukosa darah. Pemeriksaan glukosa darah yang dilakukan pada penelitian ini adalah pemeriksaan Tes glukosa darah puasa, yakni tikus dipuasakan sebelum diambil darahnya paling kurang selama 8-12 jam tetapi tetap diberikan minum. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun kelor (*moringa oleifera*) terhadap kadar glukosa darah tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

Penelitian ini menggunakan tikus galur wistar yang memiliki kesamaan genetic pada manusia, lebih murah dan memiliki kemampuan metabolic yang cepat sehingga mudah digunakan untuk penelitian mengenai penyakit metabolic. Tikus yang digunakan yaitu tikus jantan sejumlah 12 tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok masing-masing 3 ekor tikus. Pada table 1. Dapat dilihat pada keempat kelompok tersebut mengalami diabetes setelah diinduksi aloksan dengan dosis 100 mg/kgBB Tikus. Hal ini sesuai dengan teori dimana aloksan dapat merusak DNA pada sel beta pancreas sehingga mengalami apoptosis. Sel yang mengalami apoptosis tidak dapat mensintesis insulin yang dapat menyebabkan glukosa darah meningkat. Peningkatan kadar glukosa darah setelah diinduksi aloksan juga disebabkan karena proses stress oksidasi sehingga terbentuk oksigen reaktif yang akan merusak sel β pankreas. Pembentukan oksigen reaktif ini diawali dari reduksi aloksan ke dalam sel β pankreas, akibatnya sel β pankreas mengalami kerusakan sehingga sekresi insulin terganggu .

Tabel 3.2. Rata-rata penurunan kadar glukosa darah tikus (mg/dL) pada hari ke-7

kelompok	Rata-rata penurunan kadar glukosa darah (%)
I (CMC-Na 0,5 %)	13
II (Ekstrak daun kelor 100 mg/kg BB)	103
III (Metformin 12,6 mg/200g BB tikus)	106
IV (Metformin 12,6 mg/200g BB tikus dan ekstrak 100 mg/kg BB)	38

Sedangkan pada kelompok perlakuan menunjukkan adanya penurunan glukosa darah tikus. Penurunan glukosa darah tikus paling tinggi terjadi pada kelompok perlakuan metformin 12,6 mg/kgBB Tikus dan kelompok Ekstrak daun kelor 100 mg/kg BB . Penurunan glukosa darah terjadi karena ekstrak daun kelor mengandung flavonoid yang dapat meningkatkan ekspresi GLUT 4 pada otot dan meningkatkan ambila glukosa oleh otot soleus melalui jalur PI3K dan PKC pada tikus. Pada penelitian olayaki (2015) pemberian ekstrak daun kelor meningkatkan insulin plasma dan glikagon sintase pada hepar sehingga dapat menurunkan glukosa darah. Penurunan berat badan

tikus yang terjadi pada kelompok setiap kelompok diduga juga karena pengaruh pemberian aloksan atau juga karena kontak fisik dan psikis tikus. Tikus yang diinduksi aloksan akan mengalami kerusakan sel β pankreas sehingga menghambat sekresi insulin.

Defisiensi insulin menyebabkan glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel, maka untuk memenuhi kebutuhan energi glukosa diambil dari proses lipolisis. Lipolisis terjadi dengan melibatkan enzim lipase, sehingga menyebabkan terjadinya hidrolisis trigliserida hasil simpanan tubuh menjadi asam lemak dan gliserol kemudian dilepaskan ke dalam sirkulasi darah. Asam lemak bebas ini yang digunakan sebagai sumber energi utama yang dipakai oleh semua jaringan tubuh kecuali otak. Lemak diberbagai jaringan dimobilisasi dan didegradasi melalui proses β -oksidasi untuk menghasilkan energi sehingga terjadi penurunan berat badan tikus, sedangkan tikus yang mengalami kontak fisik dan psikisnya terganggu akan menyebabkan stress fisiologis, sehingga kelenjar adrenal akan mengeluarkan hormon kortisol yang berfungsi meningkatkan kadar glukosa darah melalui proses glikoneogenesis. Penelitian ini, peneliti menggunakan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera*) untuk digunakan sebagai alternatif diabetes melitus. Ekstrak daun kelor ini diberikan secara sonde oral kepada tiga kelompok perlakuan.

Ekstrak etanol daun kelor mengandung flavonoid. Flavonoid memiliki mekanisme menghambat fosfodiesterase sehingga kadar cAMP dalam sel beta pankreas menjadi tinggi. Peningkatan kadar cAMP ini membantu membuat terjadi penutupan kanal K^+ ATP dalam membran plasma sel beta. Keadaan ini mengakibatkan terjadinya depolarisasi membran dan terbukanya saluran Ca tergantung-voltasi sehingga mempercepat masuknya ion Ca ke dalam sel. Peningkatan ion Ca dalam sitoplasma sel beta ini akan menyebabkan sekresi insulin oleh sel beta pancreas. Flavonoid, terutama quercetin juga merupakan penghambat yang kuat terhadap GLUT 2 pada mukosa usus sehingga dapat menurunkan absorpsi glukosa. Hal ini menyebabkan pengurangan penyerapan glukosa dan fruktosa dari usus sehingga kadar glukosa darah turun. Mekanisme ini mengasumsikan bahwa penghambatan GLUT 2 usus dapat menjadi terapi potensial untuk mengontrol kadar gula darah.

4. Kesimpulan

Ekstrak etanol daun kelor (*moringa oleifera*) memiliki aktivitas antidiabetes. Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kelor pada dosis 100 mg/Kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi aloksan.

Daftar Pustaka

- Aminah, S., Ramdhan, T., & Yanis, M. (2015). Kandungan Nutrisi dan Sifat Fungsional Tanaman Kelor (*Moringa Oleifera*). Buletin Pertanian Perkotaan, vol 5, no 2, pp 38.
- Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, Huang Y, Rocha FJD, Ohlorogge AW, et al. IDF diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. Diabetes Research and Clinical Practice. 2018;138:271-81.
- Hidayah, N., Hisan, A., Solikin, A., Irawati, Mustikaningtyas, D. 2016. Uji Efektivitas Ekstrak *Sargassum muticum* Sebagai Alternatif Obat Bisul Akibat Aktivitas *Staphylococcus aureus*.
- Wang, Y., Gao, Y., Ding, H., Liu, S., Han, X., Gui, J., & Liu, D. (2016). Subcritical ethanol extraction of flavonoids from *Moringa oleifera* leaf and evaluation of antioxidant activity. Journal Food Chemistry, 152-158.
- Kemit, N., Widarta, I., & Nocianitri, A. 2010. Pengaruh jenis pelarut dan waktu maserasiterhadap kandungan senyawa flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak daun alpukat (*Persea*
- Naviglio, D., Scarano, P., Ciaravolo, M., & Gallo, M. (2019). Rapid Solid-Liquid Dynamic Extraction (RSLDE): A Powerful and Greener Alternative to the Latest Solid-Liquid Extraction Techniques. *Foods*, 8(7), 245. <https://doi.org/10.3390/foods8070245>

- Olayaki L.A, Irekpita JE, Yakubu MT, Ojo OO. Methanolic extract of Moringa oleifera leaves improves glucose tolerance, glycogen synthesis and lipid metabolism in alloxan-induced diabetic rats. J Basic Clin Physiol Pharmacol. 2015
- Patel, S., Panchal, K., & Ingle, P. (2019). Techniques Adopted for Extraction of Natural Products Extraction Methods: Maceration, Percolation, Soxhlet Extraction, Turbo distillation, Supercritical Fluid Extraction. *International Journal of Advanced Research In Chemical Science*, 6(4). <https://doi.org/10.20431/2349-0403.0604001>
- Trubus Edisi Agustus. (2011). Biology and Medicine. 27-35