

UJI ANTIDIABETIKA INFUS BIJI ALPOKAT (*Punica granatum L.*) TERHADAP KELINCI JANTAN YANG DIBEBANI GLUKOSA DAN PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA

Nunuk Aries Nurullita, Susanti, Sharas Swara Maulita

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Kampus 1 UMP, Jl. Raya Dukuwaluh telp. (0281) 636751

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji antidiabetika infus biji alpokat (*Punica granatum L.*) terhadap kelinci jantan yang telah dibebani glukosa serta profil KLTnya. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui efek antidiabetika infusa biji alpokat dan kandungan kimianya yang terdapat pada infus biji alpokat.

Penelitian ini menggunakan 15 ekor kelinci jantan yang dikelompokkan menjadi 5 kelompok. Kelompok 1 (kontrol negatif) diberi perlakuan aquadest, Kelompok 2 (kontrol positif) diberi perlakuan suspensi glibenklamid dalam CMC-Na 0,5%. Kelompok 3, 4, dan 5 diberi perlakuan infus biji alpokat (*Punica granatum L.*) dengan dosis 0,3289 g/kgBB, 0,6571 g/kgBB, dan 0,9856 g/kgBB. 30 menit kemudian masing-masing kelompok diberi glukosa dengan dosis 1 g/kgBB. Penurunan efek kadar glukosa darah ini menggunakan metode enzimatik. Kadar glukosa darah yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji ANAVA satu arah dengan taraf kepercayaan 95 % dilanjutkan dengan uji LSD.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa infus biji alpokat dengan dosis 0,3289 g/kgBB, 0,6571 g/kgBB, dan 0,9856 g/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah dimana infusa biji alpokat dosis 0,9856 g/kgBB memberikan aktivitas yang lebih tinggi dalam menurunkan kadar glukosa darah. Hasil pengujian KLT menunjukkan bahwa infusa biji alpokat mengandung flavonoid, alkaloid dan saponin.

Kata kunci : Biji alpokat, antidiabetika, KLT

ABSTRACT

*A research had been conducted to test the antidiabetic effect of the avocado fructus infusa (*Punica granatum L.*) to male rabbits preloaded glucose and also TLC profiles. The aim of the research was to know antidiabetic effect of infusa and its active compounds.*

This study applied at 15 male rabbits which classified into 5 groups. Group 1 as negative control was given aquadest, group 2 as positive control was given glibenclamide in CMC-Na 0,5 % . Groups 3, 4, and 5 were given avocado fructus infusa with dose 0,3285 g/kg body weight, 0,6571 g/kg body weight, and 0,9856 g/kg body weight. After 30 minutes all rabbits within groups were given glucose solution with dose 1 g/kg body weight. This research used enzymatic method to determine glucose blood level. The blood glucose levels were analyzed statistically by one way ANOVA at confidence level at 95 % and then continued with LSD test.

The result of this study shows that avocado fructus infusa with dose 0,3285 g/kg body weight, 0,6571 g/kg body weight, and 0,9856 g/kg body weight had hypoglycemic effect and dose 0,9856 g/kg body weight gave higher activity on decreasing of blood glucose

level. The result of TLC test shows that avocado fructus infusa contains flavonoid, alkaloid and saponin.

Key word: Avocado fructus, Antidiabetic, TLC

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) merupakan salah satu penyakit degeneratif. Secara umum DM merupakan sekumpulan gejala-gejala yang timbul pada seseorang, ditandai dengan kadar glukosa darah yang melebihi normal (hiperglikemia) akibat tubuh kekurangan insulin baik absolut maupun relatif. Tanda dan gejala yang sering timbul antara lain rasa haus, banyak kencing, rasa lapar, badan terasa lemas, berat badan menurun, rasa gatal, kesemutan, mata kabur dan kulit kering. Penyakit ini bersifat menahun atau kronis dan dapat diderita pada semua lapisan masyarakat. Tujuh puluh lima persen penderita DM akhirnya meninggal karena penyakit vaskuler. Komplikasi yang paling utama adalah serangan jantung, payah ginjal, stroke, dan gangren. Dampak ekonomi pada Diabetes yang jelas terlihat akibat biaya pengobatan dan hilangnya pendapatan, disamping konsekuensi finansial karena banyaknya komplikasi seperti kebutaan dan penyakit vaskuler (Dalimartha, 2005: 3).

Saat ini terapi tanaman herbal sedang populer di kalangan masyarakat karena dinilai sebagai pengobatan yang mempunyai efek samping sedikit, murah dan mudah didapat. Biasanya, terapi herbal dilakukan sebagai pengobatan alternatif. Salah satu tanaman Indonesia yang populer sebagai obat tradisional dikalangan masyarakat adalah alpokat. Masyarakat lebih mengenal dan memanfaatkannya sebagai buah yang segar dan enak, daunnya dapat dimanfaatkan untuk obat sakit pinggang, batangnya baik untuk bahan bangunan. Selain itu beberapa penyakit yang dapat diobati diantaranya adalah sariawan, melembabkan kulit kering, kencing batu, sakit kepala, darah tinggi (hipertensi), nyeri syaraf (neuralgia), nyeri lambung, sakit ginjal, sakit gigi, Diabetes Mellitus, dan menstruasi tidak teratur (<http://www.arroyan.com>).

Alpokat termasuk dalam suku Punicaceae yang mempunyai kandungan kimia pada buah dan daunnya yaitu saponin, alkaloida, dan flavonoid. Buahnya mengandung tanin dan

daunnya mengandung polifenol, quersetin (Utami, 2003: 37).

Banyak khasiat yang terkandung dalam alpokat, namun khasiat tersebut sebagian besar belum dibuktikan secara ilmiah. Pada penelitian ini akan dilakukan uji antidiabetika biji alpokat yang dibuat bentuk sediaan infus serta analisis golongan senyawa kimianya dengan pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT).

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Biji alpokat, Glibenklamid, aquadest, glukosa, CMC Na 0,5 %, EDTA 10%, TCA 10 %, pereaksi GOD-PAP, butanol, asam asetat, etil asetat, dan metanol.

Alat

Timbangan, kompor listrik, panci infusa, kain flanel, stopwatch, termometer, spektrofotometer visibel, seperangkat alat gelas, spuit injeksi, jarum peroral, pisau bedah, peralatan KLT.

Jalannya Penelitian

1. Determinasi

Biji alpokat (*Punica granatum* L.) diperoleh dari desa Sumbang kecamatan Sumbang. Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Taksonomi

Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Jendral Sudirman Purwokerto.

2. Penyiapan simplisia biji alpokat (*Punica granatum* L.)

Biji alpokat (*Punica granatum* L.), dicuci, dipotong-potong, dipanaskan didalam lemari pengering, dan dilakukan selama beberapa hari sampai diperoleh simplisia biji alpokat yang kering.

3. Pembuatan infus biji alpokat

Simplisia biji alpokat seberat 10 g dicampur dengan air 100 ml dalam panci infus, dipanaskan diatas tangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90 derajat celcius, sambil sesekali diaduk. Diserkai selagi panas dengan kain flanel.

4. Optimasi panjang gelombang

Larutan glukosa standar 100 mg/dl diambil 10 µl, kemudian ditambahkan pereaksi GOD-PAP 1000 µl, dihomogenkan dengan alat stirer selama 10 detik. Diinkubasi selama 20 menit pada suhu 20-25 °C. Diukur absorbansi dengan Spektrofotometri UV-VIS pada panjang gelombang 400-600 nm. Panjang gelombang yang memberikan serapan maksimum selanjutnya digunakan sebagai panjang gelombang

untuk pengukuran absorbansi glukosa darah.

5. Perlakuan hewan uji

Sebelum digunakan untuk penelitian, kelinci dipuasakan selama 24 jam. Kelinci dibagi menjadi 5 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor kelinci. Pada hari percobaan, semua hewan ditimbang dan masing masing diberi tanda pengenal, lalu ditempatkan ke dalam kotak penahan hewan. Kemudian dilakukan pengambilan darah (T=0) dari vena marginalis (darah awal untuk blanko) sebelum pemberian obat.

Kelompok I : Sebagai kontrol negatif, hewan uji diberi aquades

Kelompok II : Sebagai kontrol positif, hewan uji diberi suspensi glibenklamid dosis 5 mg/kg BB dalam CMC-Na 0,5 % peroral.

Kelompok III : Hewan uji diberi infus biji alpokat dosis 0,3285 g/kg BB peroral

Kelompok IV : Hewan uji diberi infus biji alpokat dosis 0,6571 g/kg BB per oral

Kelompok V : Hewan uji diberi infus biji alpokat dosis 0,9856 g/kg BB per oral.

Setelah 30 menit kemudian diberi glukosa 50 % dengan dosis 1 g/kg BB kepada semua kelompok perlakuan. Pengambilan cuplikan darah dari vena marginalis kelinci, dilakukan pada menit-menit ke 90, 120, 150, dan 180. Cuplikan darah ditampung dalam tabung yang berisi EDTA 10 % 1 ml, divortex selama 30 detik untuk mencegah gumpalan yang terdapat dalam campuran dan untuk menghomogenkan campuran tersebut. Kemudian disentrifuge selama 5 menit pada putaran 3000-6000 rpm. Supernatan yang jernih diambil sesuai dengan jumlah volume yang diperlukan yaitu 1 ml ditambah TCA 10 % 1 ml, disentrifuge selama 5 menit pada putaran 3000-6000 rpm. Supernatan yang jernih diambil 10 µl ditambahkan dengan 1000 µl pereaksi GOD-PAP diinkubasi selama 20 menit pada suhu 20°-25°C. kemudian baca serapannya dengan spektrofotometri UV-VIS.

Kadar glukosa darah dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

Kadar glukosa darah (A) = $A_t / A_s \times$ konsentrasi Standar (mg/dl)

dimana:

A = Kadar glukosa darah pada serapan panjang gelombang maksimum

A_t = Serapan larutan uji

As = Serapan larutan baku (larutan glukosa standar)

Konsentrasi standar, yaitu 100 mg/dl (Midian, 1993: 16).

6. Pemeriksaan Kandungan Kimia Dengan Metode KLT

Pada fase diam Silika Gel GF 254, ditotolkan larutan infus biji alpokat (*Punica granatum* L.). Totolan dibiarkan mengering kemudian dikembangkan dalam bejana yang berisi fase gerak yang berbeda untuk tiap golongan senyawa.

a. Golongan Senyawa Flavonoid

Fase diam : Silika Gel GF 254

Fase Gerak : Butanol : Asam Asetat : Air (4: 1 : 5)

Pereaksi Semprot : Sitroborat , Positif bila memberikan warna kuning

b. Golongan Senyawa Alkaloid

Fase diam : Silika Gel GF 254

Fase Gerak : Etil Asetat : Metanol : Air (100 : 13,5 : 10)

Pereaksi Semprot : Dragendroff, Positif bila memberikan warna jingga / coklat

c. Golongan Senyawa Saponin

Larutan infus biji alpokat dikocok vertikal selama 10 menit, kemudian didiamkan selama 10 menit. Terbentuk busa yang stabil pada tabung erlenmeyer menunjukkan adanya saponin.

7. Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan metode analisis varian (Anava) satu jalan dilanjutkan dengan Post Hoc Test LSD dengan taraf kepercayaan 95%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini digunakan kelinci jantan karena kondisinya lebih stabil daripada kelinci betina dimana kelinci betina kondisi biologisnya sangat dipengaruhi oleh masa siklus, masa kehamilan dan masa menyusui. Kelinci jantan yang digunakan dengan berat 1 kg sampai 1,5 kg dibuat hiperglikemik dengan pemberian glukosa secara per oral pada dosis 1 g/kgBB.

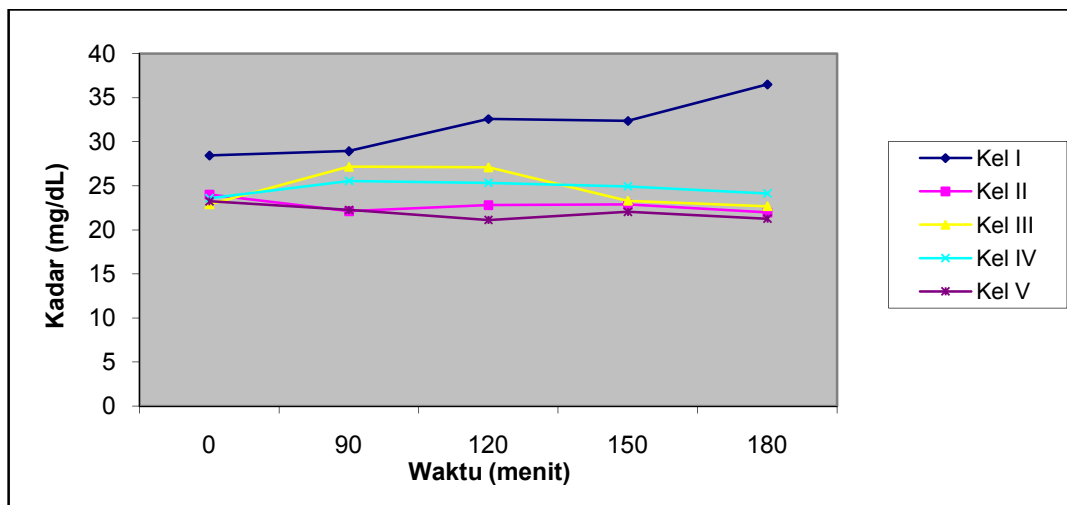
Pereaksi GOD-PAP digunakan untuk mengukur konsentrasi glukosa darah serum atau plasma dalam diagnosa dan pengamatan perlakuan pada diabetes mellitus. Prinsip kerja Pereaksi GOD-PAP yaitu oksidasi enzimatis dari oksidase glukosa. Oleh karena itu membutuhkan waktu untuk berlangsungnya suatu reaksi. Maka perlu didiamkan sampai warna yang dihasilkan stabil. Waktu yang dibutuhkan untuk menstabilkan warna kurang lebih selama 20 menit pada suhu kamar 20^o-25^oC atau 10 menit dalam suhu 37^oC (Anonim, 2000: 2).

Komposisi dari GOD-PAP yaitu dapar phosphate, fenol, 4-aminoantipyrine,

glukosa oksidase (GOD), dan peroksidase (POD). Indikator warna dari GOD-PAP yaitu quinoneimine yang merupakan turunan dari 4-aminoantipyrine dan phenol dari hidrogen peroksida dalam reaksi oksidasi.

Reaksi ini menghasilkan kompleks warna berupa warna merah muda, maka

metode penetapan kadar glukosa darah ini bisa dikategorikan sebagai prinsip dasar kolorimetri. Kolorimetri adalah metode penetapan kadar berdasarkan intensitas warna dan menggunakan spektrofotometer visibel.



Gambar 1. Purata Kadar Glukosa Darah Kelinci (mg/dL) dengan dan tanpa perlakuan infusa biji alpokat

Dari Gambar 1 terlihat bahwa ada kenaikan dan penurunan kadar glukosa darah kelinci pada masing-masing kelompok perlakuan. Kemudian untuk mengetahui kadar glukosa darah total

kelinci selama rentang waktu penelitian (0-180 menit) pada tiap-tiap kelompok perlakuan maka dihitung nilai AUC dari grafik kadar glukosa darah kelinci. seperti yang tercantum dalam Tabel 1.

Tabel 1. Purata AUC Kadar Glukosa Darah Kelinci (mg.jam/dL) dengan dan tanpa Perlakuan Infus Biji Alpokat (*Punica granatum L.*)

Kelompok	AUC Kadar Glukosa Darah (mg.jam/dL)			X ± SD
	1	2	3	
I	116,052	123,789	120,843	120,228 ± 2,255
II	95,107	95,211	86,999	92,439 ± 2,720
III	99,577	97,580	96,999	98,052 ± 0,781
IV	99,313	96,578	98,000	97,964 ± 0,790
V	91,579	85,621	92,156	89,785 ± 2,089

Selanjutnya, data AUC dianalisis dengan menggunakan ANAVA satu arah dengan taraf kepercayaan 95 % dan didapatkan F tabel < F hitung ($3,47 < 39,975$) yang berarti tiap kelompok perlakuan

memberikan perbedaan dalam penurunan kadar glukosa darah seperti pada tabel 2 .

Tabel 2. Tabel Uji Anava AUC Kadar Glukosa Darah tiap-tiap kelompok perlakuan (jam mg/dL)

	Sum of square	df	Mean squares	F	Sig.
Between Groups	1734,456	4	433,614	39,975	,000
Within Groups	108,472	10	10,847		
Total	1842,928	14			

Keterangan : Nilai signifikansi 0,000 ($< 0,005$) berarti terdapat perbedaan kadar glukosa darah dari setiap kelompok perlakuan.

Analisis dilanjutkan dengan metode LSD (*Least Significant Different*), metode ini digunakan untuk menentukan kelompok-kelompok mana yang memiliki perbedaan yang cukup berarti terhadap kelompok-kelompok lainnya (Saleh, 2001: 355).

Tabel 3. Hasil uji LSD dengan taraf kepercayaan 95 %

Kel.	I	II	III	IV	V
I	-	Signifikan	Signifikan	Signifikan	Signifikan
II	Signifikan	-	Tidak Signifikan	Tidak Signifikan	Tidak Signifikan
III	Signifikan	Tidak Signifikan	-	Tidak Signifikan	Signifikan
IV	Signifikan	Tidak Signifikan	Tidak Signifikan	-	Signifikan
V	Signifikan	Tidak Signifikan	Signifikan	Signifikan	-

Keterangan :

I : Kelompok kontrol negatif, glukosa + aquadest

II : Kelompok kontrol positif, glukosa + glibenklamid

III : Kelompok perlakuan, glukosa + infusa biji alpokat dosis 0,3285 g/kgBB

IV : Kelompok perlakuan, glukosa + infusa biji alpokat dosis 0,6571 g/kgBB

V : Kelompok perlakuan, glukosa + infusa biji alpokat dosis 0,9856 g/kgBB

Berdasarkan analisis uji LSD diatas, maka infus biji alpokat dosis 0,3285 g/kgBB, dosis 0,6571 g/kgBB dan 0,9856 g/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah kelinci namun infus biji alpokat dosis 0,9856 g/kgBB mempunyai aktivitas yang

lebih cepat dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Setelah infusa biji alpokat yang diperoleh menunjukkan efek menurunkan kadar glukosa darah kelinci, kemudian dianalisis dengan KLT untuk mengetahui

kandungan senyawa kimia yang terdapat didalamnya.

Tabel 4. Hasil KLT Identifikasi Flavonoid

Cuplikan	rf	UV 254	UV 366	Setelah disemprot
Rutin	0,58	Hijau kekuningan	Kuning	Kuning
Infus biji Alpokat	0,53	Jingga muda	Jingga	Kuning

Dari tabel diatas dapat diambil kesimpulan bahwa infus biji alpokat mengandung flavonoid yang mempunyai harga Rf yang hampir sama dengan pembanding rutin.

Tabel 5. Hasil KLT identifikasi Alkaloid

Cuplikan	rf	UV 254	UV 366	Setelah disemprot
Infus biji alpokat	0,66	Jingga muda	Jingga	Jingga

Dari tabel diatas dapat diambil kesimpulan bahwa infus biji alpokat mengandung senyawa alkaloid yang ditandai dengan adanya bercak berwarna jingga dengan pereaksi Dragendroff.

Selain itu, dilakukan pula uji identifikasi senyawa saponin yang emnunjukkan bahwa dalam infusa biji alpokat terkandung saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil setelah pengojogan vertical selama 10 menit.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat ditarik kesimpulan bahwa :

1. Infus biji alpokat dosis 0,3285 g/kgBB, dosis 0,6571 g/kgBB dan dosis 0,9856 g/kgBB mempunyai efek penurunan kadar glukosa darah kelinci.

2. Dosis 0,9856 g/kgBB mempunyai aktivitas yang lebih tinggi dalam menurunkan kadar glukosa darah yang sebanding dengan glibenklamid.

3. Golongan senyawa kimia yang terkandung dalam infus biji alpokat adalah flavonid, alkaloid, dan saponin.

DAFTAR PUSTAKA

- Backer, CA and B. Van den Brink, Jr. 1963. *Flora of java Vol.I*. Noordhoff NV Groningen. The Netherland
- Corwin, E. J. 2000. *Patofisiologi*. (Terjemahan). Brahm, Pedit. Jakarta : Buku Kedokteran EGC. P. 543.
- Dalimartha, 1996. *Ramuan Tradisional untuk Pengobatan Diabetes Mellitus*. Jakarta : Penebar swadaya.
- Departemen Kesehatan RI, 1979. *Farmakope Indonesia*. Edisi III. Departemen Republik Indonesia, Jakarta, p.12

- Departemen Kesehatan RI, 1986. *Sediaan Galenika*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- Departemen Kesehatan RI, 1978. *Materia Medica Indonesia*. Jilid II. Jakarta: DepKes RI
- Departemen Kesehatan RI, 1989. *Materia Medica Indonesia*. Jilid V. Jakarta.p.15
- Departemen Kesehatan RI, 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta
- Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 2000. *Informatorium Obat Nasional Indonesia*. Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. P.263
- Diasys System Gmbh Alte Strasse, 2000. *Glucose GOD-FS*, Diasys System Gmbh Alte Strasse g 65558 Holzheim. Germany, p. 1-2
- Ganiswara, S,G. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi IV. Jakarta : Fakultas Kedokteran UI Press. p. 471
- Ganong, 1998, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Edisi 17, Buku Kedokteran EGC, Jakarta, p.335
- Kalie, M.B. 1997. *Alpoket, Budidaya dan Pemanfaatannya*. Yogyakarta : Penerbit Kanisius, p. 31
- Midian, S, (Ed). 1993. *Penapisan Farmakologi. Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*. Jakarta: Yayasan Pengembangan dan Pemanfaatan Obat Bahan Alam, p.11
- Mutschler. 1991. *Dinamika Obat Buku Ajar Farmakologi dan Toksikologi* Edisi V. Bandung: ITB press
- Saleh,S. 2001. *Statistik Induktif* . Yogyakarta : UPP AMP YKPN p.355.
- Shargel, L. 1988. *Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan*. (Terjemahan)Dr.Fasich, Apt dan Dra. Siti Sjamsiah, Apt. Surabaya : Airlangga University Press, p 175.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat secara Kromatografi dan Mikroskopi* (Terjemahan). Padmawinata, K. dan Sudiro, I. Bandung: ITB Press. p.3-4.
- Subroto, M.A. 2006. *Ramuan Herbal untuk Diabetes Mellitus*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Tan, T.H. dan Raharja, K. 2002. *Obat-Obat Penting. Khasiat, Penggunaanya, dan Efek sampingnya*. Edisi V. Jakarta: Gramedia
- Thomas, A. N. S. 1992. *Tanaman Obat Tradisional*. Jilid 2. Yogyakarta: Kanisius
- Utami, P. 2003. *Tanaman Obat Untuk Mengatasi Diabetes Mellitus*. Jakarta: Agromedia Pustaka
- (<http://www.arroyan.com>).