

# Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat

Suharmiati

*Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan  
Pusat Penelitian dan Pengembangan Pelayanan dan Teknologi Kesehatan  
Departemen Kesehatan RI, Surabaya*

## PENDAHULUAN

Masa transisi demografi akibat keberhasilan upaya menurunkan angka kematian, dapat menimbulkan transisi epidemiologis, dimana pola penyakit bergeser dari infeksi akut ke penyakit degeneratif yang menahun. Salah satu diantaranya yang berkaitan erat dengan penyakit metabolisme dan cenderung akan mengalami peningkatan sebagai dampak adanya pergeseran perilaku pola konsumsi gizi makanan adalah diabetes mellitus.

Diabetes mellitus merupakan sekumpulan gejala yang timbul pada seseorang, ditandai dengan kadar glukosa yang melebihi nilai normal (hiperglikemia) akibat tubuh kekurangan insulin baik absolut maupun relatif. Penyakit ini bersifat menahun alias kronis, dan penderitanya dari semua lapisan umur serta tidak membedakan orang kaya ataupun miskin. Dalam keadaan tak terkendali penyakit ini ditandai oleh trias 3 P yaitu: poliuri, polidipsi dan polifagi. Secara klinis diabetes mellitus dibedakan menjadi Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) atau diabetes mellitus tergantung insulin (DMTI) dan Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM) atau diabetes mellitus tidak tergantung insulin (DMTTI) (Suryohudoyo, 1996).

Penyebab Diabetes Mellitus adalah aktivitas insulin yang tak memadai baik karena sekresi insulin yang berkurang (DMTI) atau karena adanya resistensi insulin pada jaringan-jaringan yang peka insulin (DMTTI).

Akhir-akhir ini pada sebagian penderita DMTTI yang disebut MODY (*maturity onset diabetes of the young*), selain terdapatnya resistensi insulin juga ditemukan pula cacat (*defect*) pada sekresi insulin. Namun pada MODY sekresi insulin masih dapat ditingkatkan dengan pemberian obat hipoglikemik oral (OHO), sedangkan pada DMTI kekurangan insulin hanya dapat diatasi dengan pemberian insulin eksogen.

Beberapa cara mengendalikan hiperglikemia pada diabetes mellitus adalah sebagai berikut (Tjokroprawiro, 1996): melalui tractus gastro-intestinalis, sekresi insulin, menekan produksi glukosa hepar, meningkatkan ambilan glukosa di perifer (tergantung/tidak tergantung adanya insulin).

Pada uji farmakologi/bioaktivitas pada hewan percobaan, keadaan diabetes mellitus dapat diinduksi dengan cara pankreatomi dan pemberian zat kimia. Zat kimia sebagai induktor (diabetogen) bisa digunakan aloksan, streptozotzin, diaksosida, adrenalin, glukagon, EDTA yang diberikan secara parenteral. Diabetogen yang lazim digunakan adalah aloksan karena obat ini cepat menimbulkan hiperglikemi yang permanen dalam waktu dua sampai tiga hari. Aloksan (2,4,5,6-tetraoxypyrimidin) secara selektif merusak sel  $\beta$  dari pulau Langerhans dalam pankreas yang mensekresi hormon insulin.

## OBAT ANTI DIABETES MELLITUS YANG BERASAL DARI TUMBUHAN OBAT

Tumbuhan obat terbukti merupakan salah satu sumber bagi bahan baku obat anti diabetes mellitus karena diantara tumbuhan tersebut memiliki senyawa-senyawa yang berkhasiat sebagai anti diabetes mellitus. Senyawa anti diabetes mellitus yang berasal dari tumbuhan obat diantaranya christinin A, xanthone, bellidifolin, thysanolacton, TAP (suatu polisakarida asam dari tanaman *Tremella aurantia*) dll. (**Tabel 1**) serta masih banyak lagi yang masih dalam tahap pengujian. Diantara 250.000 spesies tumbuhan obat di seluruh dunia diperkirakan banyak yang mengandung senyawa anti diabetes mellitus yang belum diketemukan. Untuk mendapatkan obat anti diabetes mellitus dari tumbuhan diperlukan suatu cara-cara pengujian yang memadai mulai dari uji pre skrining, uji skrining dan berakhir pada uji klinik.

**Tabel 1. Daftar nama tumbuhan obat beserta metode pengujian bioaktivitas anti Diabetes Mellitus**

No.	Nama Tanaman	Nama Daerah	Familia	Kandungan	Bagian yang digunakan	Metode	Hasil Percobaan	Sumber Pustaka
1.	<i>Momordica charantia</i>	Pare / Paria	Cucurbitaceae	albuminoid, karbohidrat, zat warna	daging buah, biji & seluruh tanaman	1	Efek hipoglikemik positif (+)	Ali et al, 1993
2.	<i>Juniper communis</i> L.	-	Cupressaceae	flavonoid, kumarin, antron zat pahit & minyak atsiri	buah (berries)	2	Efek hipoglikemik positif (+)	Sanchez de Medina et al, 1994
3.	<i>Zizyphus spina-christi</i>	Bidara cina	Rhamnaceae	christinin-A	Daun	2	Efek hipoglikemik positif (+)	Glombitza et al, 1994
4.	<i>Swertia japonica</i>	-	Gentianaceae	xanthones, bellidifolin, methylbellidifolin, swerti anin, methylswertianin, 1-Hydroxy-3,7-dimethoxyxanthone	seluruh tanaman	1	Efek hipoglikemik positif (+)	Basnet et al, 1994
5.	<i>Allium cepa</i>	Bawang merah	Liliaceae	SMCS (S-methylcysteinesulphoxide)	umbi	3	Efek hipoglikemik positif (+)	Kumari & Augusti, 1995
6.	<i>Allium sativum</i>	bawang putih	Liliaceae	SACS (S-allyl cysteinesulphoxide)	umbi	3	Efek hipoglikemik positif (+)	Sheela, et al 1995
7.	<i>Trigonella foenum graecum</i>	Kelabet	Papilionaceae	alkaloida, trigonelin, kolin, M. atsiri, lendir, diosgenin	biji	1	Efek hipoglikemik positif (+)	Ali et al, 1995
8.	<i>Tremella aurantia</i>	-	Tremellaceae	TAP (an acidic polysaccharide)	buah	2	Efek hipoglikemik positif (+)	Kiho et al, 1995
9.	<i>Salacia macroserma</i>	-	Hippocrataceae	Quinone compounds	Akar	3	Efek hipoglikemik positif (+)	Venkateswarlu et al, 1993
10.	<i>Aralia elata</i>	-	Araliaceae	clatocide E, clatocide F, dan oleanolic acid glycoside (8 macam)	kulit akar	1	Efek hipoglikemik positif (+)	Yoshikawa et al, 1996
11.	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge	-	Liliaceae	Seishin-kanro-to (SK)	rimpang	2	Efek hipoglikemik positif (+)	Miura et al, 1997
12.	<i>Rehmania glutinosa</i> Liboschietz	-	Scrophulariaceae	Seishin-kanro-to (SK)	akar	2	Efek hipoglikemik positif (+).	Miura et al, 1997
13.	<i>Cimifuga simplex</i> Wormskjold	-	Ranunculaceae	Seishin-kanro-to (SK)	rimpang	2	Efek hipoglikemik positif (+)	Miura et al, 1997
14.	<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schischkin	-	Umbelliferae	Seishin-kanro-to (SK)	akar	2	Efek hipoglikemik positif (+).	Miura et al, 1997
15.	<i>Prunus persica</i> Batsch	-	Rosaceae	Seishin-kanro-to (SK)	biji	2	Efek hipoglikemik positif (+).	Miura et al, 1997
16.	<i>Prunus armeniaca</i> Linne	-	Rosaceae	Seishin-kanro-to (SK)	biji	2	Efek hipoglikemik positif (+).	Miura et al, 1997
17.	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisher	-	Leguminosae	Seishin-kanro-to (SK)	akar	2	Efek hipoglikemik positif (+)	Miura et al, 1997
18.	<i>Sinomenium acutum</i> Rehder et Wilson	-	Menispermaceae	Seishin-kanro-to (SK)	rimpang	2	Efek hipoglikemik positif (+)	Miura et al, 1997
19.	<i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa	-	Umbelliferae	Seishin-kanro-to (SK)	akar	2	Efek hipoglikemik positif (+)	Miura et al, 1997
20.	<i>Bupleum falcatum</i> Linne	-	Umbelliferae	Seishin-kanro-to (SK)	akar	2	Efek hipoglikemik positif (+).	Miura et al, 1997
21.	<i>Notopterygium</i> sp. Ting.	-	Umbelliferae	Seishin-kanro-to (SK)	rimpang	2	Efek hipoglikemik positif (+).	Miura et al, 1997
22.	<i>Scutellaria baicalensis</i> Geogi	-	Labiatae	Seishin-kanro-to (SK)	akar	2	Efek hipoglikemik positif (+).	Miura et al, 1997
23.	<i>Croton cajucara</i> Benth	-	Euphorbiaceae	trans-dehydrocrotonin (t-DTCN)	batang	3	Efek hipoglikemik positif (+).	Farias et al, 1997
24.	<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	-	Ranunculaceae	Paeoniflorin dan 8-Debenzoylpaeoniflorin (glukosida)	akar	1	Efek hipoglikemik positif (+).	Hsu et al, 1997
25.	<i>Myrcia multiflora</i> DC	-	Myrtaceae	aldose reductase dan $\alpha$ -Glucosidase	daun	3	Efek hipoglikemik positif (+).	Yoshikawa et al, 1998
26.	<i>Aesculus hippocastaman</i>	-	-	triterpen oligoglycosides	biji	1	Efek hipoglikemik positif (+)	Yoshikawa et al, 1998
27.	<i>Polygala senega</i> var. <i>latifolia</i>	-	-	triterpen oligoglycosides	akar	1	Efek hipoglikemik positif (+).	Yoshikawa et al, 1998
28.	<i>Beta vulgaris</i>	-	-	triterpen oligoglycosides	akar	1	Efek hipoglikemik positif (+)	Yoshikawa et al, 1998
29.	<i>Gymnema sylvestre</i>	-	-	triterpen oligoglycosides	daun	1	Efek hipoglikemik positif (+).	Yoshikawa et al, 1998
30.	<i>Kochia scoparia</i>	-	-	triterpen oligoglycosides	buah	1	Efek hipoglikemik positif (+)	Yoshikawa et al, 1998

Keterangan:

Metode 1 : Uji Streptozotocin I

Metode 2 : Uji Streptozotocin II

Metode 3 : Uji Aloksan

## TINJAUAN TENTANG UJI BIOAKTIVITAS ANTI DIABETES MELLITUS

### 1. Toleransi Glukose

Pengaturan kadar glukosa yang stabil dalam darah adalah mekanisme homeostatik yang merupakan kesatuan proses ikut berperannya hati, jaringan ekstra hepatic dan beberapa hormon. Pada kondisi kadar glukosa darah normal (80-100 mg %), hati ternyata merupakan satu-satunya penghasil glukosa. Pada keadaan pasca aborsi, kadar glukosa darah pada manusia bervariasi antara 80-100 mg %, sedangkan pada kondisi puasa, kadarnya menurun menjadi sekitar 60-70 mg %. Dalam keadaan normal kadar glukosa darah terkontrol pada batas-batas tersebut.

Kemampuan tubuh dalam memanfaatkan glukosa dapat ditentukan dengan mengukur toleransi glukosa yang dapat ditunjukkan dengan sifat kurva glukosa darah setelah pemberian glukosa. Diabetes mellitus ditandai dengan berkurangnya toleransi tubuh terhadap glukosa yang disebabkan berkurangnya sekresi insulin. Hal ini dimanifestasikan dengan kadar glukosa darah yang makin meningkat (hiperglikemik) disertai glikosuria dan perubahan pada metabolisme lemak.

### 2. Aloksan

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Efek diabetogeniknya bersifat antagonis dengan glutathion yang bereaksi dengan gugus SH nya.

Mekanisme aksi dalam menimbulkan perusakan yang selektif belum diketahui dengan jelas. Beberapa hipotesis tentang mekanisme aksi yang telah diajukan antara lain: pembentukan khelat terhadap Zn, interferensi dengan enzim-enzim sel  $\beta$  serta deaminasi dan dekarboksilasi asam amino. Perusakan sel  $\beta$  pankreas secara selektif oleh aloksan belum banyak diketahui. Penelitian terhadap mekanisme kerja aloksan secara invitro menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria ini mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel.

### 3. Tolbutamid

Senyawa tolbutamid dapat menurunkan kadar glukosa darah karena mampu merangsang sekresi insulin. Mekanisme kerjanya adalah dengan cara berikatan dengan membran sel, maka permeabilitas membran terhadap ion kalsium menjadi menurun, terjadi depolarisasi dari sel dan ion kalsium memasuki sel, selanjutnya terjadilah sekresi insulin. Aktivitas hipoglikemiknya ditunjukkan pada 6-12 jam setelah pemberian.

### 4. Uji Kadar Glukosa Darah

Glukosa darah dapat ditentukan dengan berbagai cara baik secara kimiawi maupun secara enzimatik. Prinsip penentuannya didasarkan pada kemampuan glukosa untuk mereduksi ion anorganik seperti  $\text{Cu}^{2+}$  atau  $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ . Penentuan glukosa secara reaksi reduksi kurang spesifik dibanding cara enzimatik, terutama bila dalam darah terdapat bahan yang dapat mereduksi misalnya kreatinin, asam urat dan gula-gula lain selain glukosa

(manosa, galaktosa dan laktosa) yang akan memberikan hasil pemeriksaan yang lebih tinggi daripada kadar glukosa yang sebenarnya. Sebagai pedoman dapat diperkirakan bahwa hasil penentuan glukosa secara reduksi akan memberikan hasil 3,6 - 10,8 mg % lebih tinggi daripada cara enzimatik. Perbedaan ini akan lebih besar lagi bila terdapat peningkatan kreatinin dan asam urat.

## METODE UJI DIABETES

### 1. Metode Uji Diabetes Streptozotocin I

#### A. Prinsip metode

Induksi diabetes dilakukan pada hewan percobaan yang diberi suntikan streptozotocin secara intraperitoneal. Untuk menstimulasi Insulin Dependen Diabetes Mellitus (IDDM) digunakan dosis 65 mg/kg berat badan, dengan binatang percobaan tikus (umur 3-4 bulan). Sedangkan untuk Non Insulin Diabetes Mellitus digunakan dosis 90 mg/kg berat badan, dengan binatang percobaan anak anjing (umur 48 jam).

#### B. Bahan dan alat

Sediaan uji berupa larutan/suspensi ekstrak (250 mg/2 ml air) untuk semua ekstrak, kecuali ekstrak yang bebas saponin (150 mg/2 ml air) dengan atau tanpa glukosa, Streptozotocin, glukosa, anestesi ringan, jarum suntik dan alat sentrifuse.

#### C. Prosedur

Ada beberapa tahap eksperimen (4 tahap):

##### a. Toleransi glukosa secara oral

Latar belakang penelitian ini adalah perbedaan beban glukosa oral (1,25-4,0 g per kg berat badan) dan bermacam-macam waktu pengambilan sampel (0-90 menit, dengan interval 15 menit).

##### b. Efek pada kadar gula puasa

Ekstrak dari beberapa bagian dari tanaman yang berbeda, secara terperinci ada pada tabel, di mana ekstrak diberikan pada malam hari pada tikus puasa pada menit ke 0, contoh darah digambarkan pada 0, 60 dan 120 menit. Sebagai kontrol hanya diberikan 2 ml air. Tikus-tikus dijaga untuk tidak makan selama periode yang ditetapkan.

##### c. Efek pada kadar glukosa darah ketika ekstrak diberikan secara simultan dengan glukosa.

Ekstrak dengan atau tanpa glukosa diberikan malam hari pada tikus puasa pada menit ke 0, dan contoh darah dilukiskan pada menit ke 0, 15 dan 45. Kelompok kontrol hanya diberi 2 ml larutan glukosa.

##### d. Efek kadar glukosa darah ketika ekstrak diberikan 45 menit sebelum beban glukosa

Ekstrak diberikan semalam pada tikus puasa pada menit ke 0 dan beban glukosa diberikan pada menit ke 45. Kadar glukosa darah digambarkan pada menit ke 45, 60 dan 90.

Untuk standarisasi kurva toleransi glukosa oral pada penelitian binatang percobaan, ditemukan bahwa beban glukosa 2,5g/kg BB menghasilkan level glukosa darah tertinggi. Periode waktu dan beban glukosa yang disebutkan di atas dipilih untuk mengamati efek dari ekstrak pada tingkat glukosa darah pada tikus yang diberi gula.

Sampel darah dikumpulkan dengan cara memotong ekor

binatang percobaan dengan anestesi ringan. Serum dipisahkan dengan cara sentrifuse dan kadar glukosa dalam serum diamati pada hari yang sama dengan metoda GOD-PAP dengan cara mengukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer (DU-70, Beckman) pada panjang gelombang 510 nm. Kurva standar untuk glukosa digambarkan paralel untuk setiap eksperimen dan nilai glukosa darah dihitung dari hasil tersebut di atas.

## 2. Metode Uji Streptozotocin II

### A. Prinsip metode

Induksi diabetes dilakukan pada hewan percobaan yang diberi suntikan streptozotocin secara intraperitoneal. Untuk menstimulasi digunakan dosis 60mg/kg berat badan, dengan binatang percobaan mencit betina Webster (180-200g)

### B. Prosedur

Ada dua aktivitas yaitu aktivitas pada binatang dengan glukosa normal dan aktivitas antidiabetik

#### Aktivitas 1: Aktivitas pada binatang dengan glukosa normal

Pada aktivitas ini ada 4 metode yaitu:

##### a. Metode glukose oksidase oksigen

Metode ini digunakan untuk determinasi kadar glukose. Bahan dan alat yang digunakan adalah sediaan uji berupa Dekoktum (serbuk obat 10% b/v, menurut FE IX (residu kering  $2,75 \pm 0,01$  g/100 ml), diet standar (Panlab A 04) dengan komposisi protein 17,0%, lipida 3,0%, karbohidrat 58,7%, selulose 4,3%, mineral 5%, moisture 12%, dengan nilai 2900 kal/kg). Disamping itu juga digunakan sodium pentobarbitone (20 mg/kg BB), glibenklamid, air suling dan alat yang digunakan berupa oesophageal catheter. Prosedurnya adalah sebagai berikut:

Binatang yang telah dipuasakan semalam (diet standar Panlab A.04), diberi dekoktum Juniper dengan dosis yang berbeda (vol. 2 ml) dengan menggunakan 'oesophageal catheter'. Kemudian dianestesi dengan Sodium pentobarbitone (20mg/kg BB). Sampel darah dikumpulkan dari jugular vein (urat merah), segera setelah dianestesi (90 - 150 menit kemudian). Sebagai kontrol binatang percobaan diberi air suling, dan glibenklamid (3 mg/kg BB) digunakan sebagai reference. Metode Glukose oksidase-oksigen (dibentuk pada Beckman Glucose Analyzer II) digunakan untuk determinasi kadar glukose, dengan satuan mg/dl.

##### b. Metode perfusi usus

Metode perfusi usus digunakan untuk meneliti efek dekoktum pada absorpsi glukosa pada usus tikus yang telah dipuasakan. Bahan dan alat yang digunakan berupa sediaan uji dekoktum (serbuk obat 10% b/v, menurut FE IX (residu kering  $2,75 \pm 0,01$  g/ 100 ml), sodium pentobarbiton (20 mg/kg), larutan perfusi terdiri dari (g/l): 7,37 NaCl, 0,20 KCl, 0,065 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. 6H<sub>2</sub>O, 1,02 CaCl<sub>2</sub>, 0,6 NaHCO<sub>3</sub>, dan 54,0 glukosa, pada pH 7,5. Alat yang digunakan adalah jarum dan alat suntik, termometer dan stop watch. Prosedurnya adalah sebagai berikut:

Tikus dipuasakan selama 36 jam dan dianestesi dengan Sodium pentobarbiton (20 mg/kg). Dekoktum ditambahkan pada larutan perfusi untuk mendapatkan konsentrasi 5 mg/ml. Jadi sejumlah ekstrak Juniper pada perfusi usus setara dengan dosis 250 mg/kg. Sistem diatur pada temperatur konstan yaitu 37°C, dan angka perfusi adalah 0,5 ml/menit. Waktu perfusi adalah 30 menit. Hasil dinyatakan sebagai persentase dari absorpsi glukosa, dihitung dari jumlah glukosa dalam larutan sebelum dan sesudah perfusi.

##### c. Metode sediaan diafragma tikus

Metode sediaan diafragma tikus digunakan untuk meneliti pemakaian glukosa perifer. Bahan dan alat yang digunakan adalah sediaan uji berupa dekoktum (serbuk obat 10% b/v, menurut FE IX (residu kering  $2,75 \pm 0,01$  g/ 100 ml), larutan nutrisi disiapkan dengan formula: 125 ml 1,3% NaHCO<sub>3</sub>, diisi selama 3 menit dengan karbogen, kemudian ditambahkan 750 ml larutan salin. Larutan salin terdiri dari (g/l): 9,50 NaCl, 0,40 KCl, 0,30 CaCl<sub>2</sub>, 0,35 NaHCO<sub>3</sub>, 0,35 MgSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O dan 0,20 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Ditambahkan glukosa untuk memperoleh konsentrasi akhir 300 mg/dl dan alat yang digunakan adalah inkubator. Prosedurnya adalah sebagai berikut:

Sediaan diafragma tikus yang dibuat dari tikus yang dipuasakan selama 36 jam untuk dibunuh. Diafragma dibagi menjadi 2 bagian, kemudian diinkubasi menurut tehnik Vallance-Owen pada suhu 37°C, dengan oksigenasi konstan selama 90 menit, dan dikocok 90 kali permenit., diisi selama 3 menit dengan karbogen, kemudian ditambahkan 750 ml larutan salin. Larutan yang dihasilkan dibiarkan selama 10 menit, dan segera digunakan. Hasil dinyatakan sebagai pemberian glukosa per 10 mg diafragma kering (dengan cara mengurangi konsentrasi glukosa sesudah dan sebelum inkubasi). Berat kering ditentukan sesudah pengeringan bahan pada suhu 105°C selama 120 menit. Angka absolut yang diperoleh digunakan untuk menghitung penambahan persentase pemberian glukosa ketika hemidiafragma diinkubasi (ada atau tidaknya kontrol) dengan penambahan (10, 10, 10 mg/ml) dekoktum.

##### d. Metode Kolagenase (Wortington, 169U/mg)

Metode kolagenase digunakan untuk meneliti aksi pankreatik. Bahan dan alat yang digunakan adalah sediaan uji berupa dekoktum (serbuk obat 10% b/v, menurut FE IX (residu kering  $2,75 \pm 0,01$  g/ 100 ml), Larutan buffer bikarbonat Krebs-Hanseleit yang dimodifikasi yang berisi 2,7 mmol/l glukosa (basal), suplemen dengan 0,5% bovin albumin dan keseimbangan suatu cairan yang terdiri dari 95% O<sub>2</sub> dan 5% CO<sub>2</sub>. Alat yang digunakan adalah inkubator, dan radio immuno assay (RIA).

Prosedurnya adalah sebagai berikut:

Pankreatic islets diisolasi dengan menggunakan metode kolagenase (Wortington, 169U/mg), dan diinkubasi seperti diterangkan sebelumnya. Media yang digunakan untuk inkubasi adalah buffer bikarbonat Krebs-Hanseleit yang dimodifikasi yang berisi 2,7 mmol/l glukosa (basal), suplemen dengan 0,5% bovin albumin dan keseimbangan suatu cairan yang terdiri dari 95% O<sub>2</sub> dan 5% CO<sub>2</sub>.

Pelepasan insulin ditentukan dengan Radio Immunoassay sebelum dan sesudah inkubasi dari islets dengan bertambahnya konsentrasi dekoktum (0,2, 0,4 dan 0,8 mg/ml), dan hasil di-

nyatakan dalam ng/ml.

## Aktivitas 2: Aktivitas antidiabetik

Pada aktivitas ini ada beberapa metode yaitu:

### a. Metode uji streptozotocin

Metode ini digunakan untuk meneliti aktivitas anti diabetic. Bahan dan alat yang digunakan adalah sediaan uji berupa dekoktum (serbuk obat 10% b/v, menurut FE IX (residu kering  $2,75 \pm 0,01$  g/ 100 ml), streptozotocin, larutan buffer sitrat (0,05M Sodium sitrat pada pH=4,5), glibenklamid dan air suling dengan alat jarum dan alat suntik.

Prosedurnya adalah sebagai berikut:

Binatang percobaan dengan diabetic diperoleh dengan pemberian streptozotocin (60 mg/kg) secara intraperitoneal, yang sebelumnya dilarutkan dalam buffer sitrat (0,05M Sodium sitrat pada pH=4.5). Binatang-binatang ini dipertahankan dibawah pengawasan selama 48 jam, periode waktu dialokasikan untuk binatang menerima keadaan diabetic, dan kemudian diberikan dekoktum Juniper secara per oral (1,25 mg total berries/kg) sehari selama 24 hari. Dua kelompok yang lain, yaitu kelompok kontrol dan standar masing-masing diberi air suling dan glibenklamid (1 mg/kg). Berat tikus diukur 3 kali seminggu. Tikus-tikus dipuaskan semalam dan dibunuh pada hari ke-24 dari perlakuan dan pankreas diekstraksi, dan ditimbang untuk menentukan isi insulin. Sampel darah dipakai untuk menentukan *glycemic level*.

### b. Metode isi insulin pankreas

Metode isi insulin pankreas ditentukan seperti sebelumnya (a). Pankreas dihomogenkan dalam Potter-Evelhjeim glass dengan 10 ml larutan segar dengan 75 ml etanol, 1,5 ml 12N HCl, dan 23,5 ml air suling. Untuk menghomogenkan dikocok sebanyak 72 kali permenit, selama 16 jam pada 4°C, kemudian disentrifuse pada 500 g selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh ini disimpan pada suhu -20°C, sampai insulin level ini ditentukan dengan radioimmuniassay. Insulin content dinyatakan dalam nanogram insulin per miligram jaringan pankreas.

## 3. Metode Uji Aloksan

### A. Prinsip metode

Induksi diabetes dilakukan pada hewan percobaan yang dengan diberi suntikan aloksan monohidrat secara sub kutan. Binatang percobaan tikus jantan albino (Sprague-Dawley strain) dengan berat 130-150 gram. Pemberian obat antidiabetik secara oral dapat menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan terhadap hewan percobaan positif diabet (kontrol positif).

### B. Bahan dan alat

Bahan dan alat yang digunakan adalah sediaan uji berupa SMCS (250 mg/kg), dengan dosis terkecil 200 mg/kg, Aloksan monohidrat, glibenklamid, insulin dan normal salin. Alat yang digunakan adalah jarum dan alat suntik.

### C. Prosedur

Tikus jantan albino diinduksi dengan aloksan monohidrat secara subkutan. Setelah 2 minggu, tikus-tikus dengan kadar gula darah puasa antara 200-2550 mg/100 ml dipilih dan dibagi menjadi 4 kelompok, tiap kelompok 6 ekor. Berat badan dan

intensitas gula pada urin (glycosuria) dan kadar gula darah puasa ditentukan sebelum eksperimen. Pengaruh dosis tunggal secara per oral SMCS (250 mg/kg) dan perlakuan jangka panjang dengan dosis yang lebih kecil (200 mg/kg) yang diteliti dibandingkan dengan pengaruh dosis standar glibenklamid dan insulin (40 units/ml). Darah dikumpulkan dari vena mata dari tikus untuk perkiraan glukosa dan dari ekor tikus untuk serum insulin. Kelompok I, sebagai kontrol hanya diberikan normal salin. Kelompok II, diberi SCMS yang dilarutkan dalam normal salin (250 mg/kg BB). Kelompok III, diberi glibenklamid yang dilarutkan ke dalam normal salin (2mg/kg BB). Dan sebagai kelompok IV, diinjeksi dengan insulin secara subkutan (5 unit/kg BB).

Gula darah ditentukan setelah 4 jam. Serum insulin ditentukan pada kelompok yang lain setelah waktu 4 jam. Setelah satu minggu, dilakukan tes toleransi glukosa setelah pemberian obat. Waktu 1,5 jam diperbolehkan untuk absorbsi obat dan kemudian pemberian glukosa secara per oral (3g/kg BB) dalam larutan diberikan kepada masing-masing kelompok. Selanjutnya glukosa darah ditentukan dengan interval waktu 30 menit untuk 2,5 jam. Tes selanjutnya diberikan obat yang diuji yaitu SCMS (200 mg/kg BB/hari), glibenklamid (200 Mg/kg/hari) dan insulin (5 unit/kg/hari) untuk 45 hari. Pada hari terakhir perlakuan berat badan, kadar glukosa darah puasa, glukosa urin, dan tes toleransi glukosa dianalisa seperti sebelumnya. Kurva toleransi glukosa digambarkan untuk tiap-tiap kelompok.

## PENUTUP

Telah diuraikan tentang pengujian bioaktivitas anti diabetes mellitus yang berasal dari tumbuhan obat. Pada uji farmakologi/bioaktivitas pada hewan percobaan, keadaan diabetes mellitus dapat diinduksi dengan cara pankreatomi dan pemberian zat kimia. Zat kimia sebagai induktor (diabetogen) bisa digunakan aloksan, streptozotocin, diaksosida, adrenalin, glukagon, EDTA yang diberikan secara parenteral, tetapi yang lazim digunakan adalah aloksan karena obat ini cepat menimbulkan hiperglikemi yang permanen dalam waktu dua sampai tiga hari. Aloksan (2,4,5,6-tetraoxypyrimidin) secara selektif merusak sel  $\beta$  dari pulau Langerhans dalam pankreas yang mensekresi hormon insulin.

## KEPUSTAKAAN

1. Ali L et al. Studies on Hypoglycemic Effects of Fruit Pulp, Seed, and Whole Plant of *Momordica charantia* on Normal and Diabetic Model Rats. *Planta Medica*, 1992; 59 (5) : 408-12.
2. Ali L et al. Characterization of the Hypoglycemic Effects of *Trigonella foenum graecum* Seed. *Planta Medica*, 1995; 61 (4) : 358-60.
3. Basnet P et al. Bellidifolin: A Potent Hypoglycemic Agent in Streptozotocin (STZ)-Induced Diabetic Rats from *Swertia japonica*. *Planta Medica*, 1994; 60 (6) : 507-11.
4. Farias RAF et al. Hypoglycemic Effect of trans-Dehydrocrotonin, a NorClerodane Diterpene from *Croton cajucara*. *Planta Medica*, 1993; 63 (6) : 558-60.
5. Glombitza KW et al. Hypoglycemic and Antihyperglycemic Effects of *Zizyphus spina-christi* in Rats. *Planta Medica*, 1993; 60 (3) : 244-7.
6. Kato A and Miura T. Hypoglycemic Action of the Rhizomes of *Polygonatum officinale* in Normal and Diabetic Mice. *Planta Medica*, 1993; 60 (3) : 201-3.
7. Kiho T et al. Polysaccharides in Fungi. XXXV. Anti Diabetic Activity

- of an Acidic Polysaccharide from the Fruiting Bodies of *Tremella aurantia*. Biol. Pharm. Bull., 1995; 18 (12) : 1627-9.
8. Kim DH et al. Metabolism of Kalopanaxsaponin B and H by Human Intestinal Bacteria and Antidiabetic Activity of Their Metabolites. Biol. Pharm. Bull., 1998; 21 (4) : 360-5.
  9. Kumari K, Augusti KT. Antidiabetic Effects of S-Methylcysteine Sulphoxide on Alloxan Diabetes. Planta Medica, 1993; 61 (1) : 72-5.
  10. Miura T et al. Antidiabetic Effect of Seishin-kanro-to in KK-Ay Mice. Planta Medica, 1997; 63 (4) : 320-5.
  11. Sanchez de Medina F et al. Hypoglycemic Activity of Juniper "Berries". Planta Medica, 1993; 60 (3) : 197-200.
  12. Sheela CG ; Kumari K, Augusti KT. Anti-Diabetic Effects of Onion and Garlic Sulfoxide Amino Acids in Rats. Planta Medica, 1995; 61 (4) : 356-7.
  13. Suryohudoyo P, Purnomo SU. Dasar Molekuler Diabetes Mellitus (DM), Naskah Lengkap Surabaya Diabetes Update-I, 1996; 71.
  14. Tjokroprawiro A. Acarbose. Clinical Use in Patients with Diabetes Mellitus, Naskah Lengkap Surabaya Diabetes Update-I, 1996; 56 .
  15. Venkateswarlu V et al. Antidiabetic Activity of Roots of *Salacia macroserma*. Planta Medica, 1993; 59 : 391-3.
  16. Yoshikawa M et al. Bioactive Saponins and Glycosides VII. On the Hypoglycemic Principles from the Root Cortex of *Aralia elata* SEEM : Structure Related Hypoglycemic Activity of Oleanolic Acid Oligoglycoside. Chem. Pharm. Bull., 1996; 44 (10) : 1923-7.
  17. Yoshikawa M et al. Antidiabetic Principles of Natural Medicines. II. Aldose Reductase and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitors from Brazilian Natural Medicine, the Leaves of *Myrcia multiora* DC (Myrtaceae) : Structures of Myrciacitrins I and II and Myrciaphenones A and B. Chem. Pharm. Bull., 1998; 46 (1) : 113-9.
-