

**EFEK ANTIHIPERGLIKEMIK EKSTRAK ETANOL DAUN MIMBA
(*Azadirachta indica J*) PADA TIKUS DIABETES YANG DIINDUKSI
ALOKSAN DAN PENGEMBANGANNYA MENJADI SEDIAAN TABLET
MENGUNAKAN METODE GRANULASI BASAH**

(Antihyperglycaemic Effect Of *Azadirachta Indica J* Extract On Alloxan –
Induced Diabetic Rat And Tablet Formulation Used Wet Granulation)

**Bambang Pontjo Priosoeryanto, Bayu Febram Prasetyo, Ietje Wientarsih,
Rini Madyastuti**

Dep. Klinik, Reproduksi, dan Patologi
Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antihyperglukemik ekstrak daun mimba (*Azadirachta indica J*) pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan, indentifikasi senyawa aktif dengan GC-MS, dan pengembangan formulasi tablet. Untuk uji antihyperglukemik menggunakan 18 ekor tikus galur *Sprague Dawley* dibagi menjadi 6 kelompok. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak yang diberikan secara oral dosis 30, 60 dan 90mg /kg bobot badan menunjukkan penurunan kadar glukosa darah mencit diabetes aloksan yang bermakna ($P < 0,05$) sebesar 7%, 8%, dan 14,8% setelah pemberian ekstrak secara berulang pada hari kesepuluh yang dibandingkan dengan hari keenam. Identifikasi golongan senyawa flavonoid menunjukan keberadaan fraksi gabungan 1 yaitu antosianidin yang mempunyai struktur umum ion flavylum (2-fenil-benzopyrylium), sedangkan fraksi gabungan 2 diduga mengandung senyawa golongan flavonoid yaitu antosianidin yang mempunyai struktur umum ion flavylum (2-fenil-benzopyrylium) dan beberapa senyawa yang diduga turunan antosianidin yaitu 7-hidroksi flavylum, 4'-hidroksi flavylum, dan 3,4,7'-trihidroksi flavylum. Ekstrak kental daun mimba dapat dibuat sediaan tablet menggunakan PVP K-30 sebagai pengikat dengan metode granulasi basah.

Kata kunci: *Azadirachta indica J*, antihyperglycaemic, alloxan, ethanol extract.

ABSTRACT

This study was aimed to determine antihyperglycaemic effect of *Azadirachta indica J* extract on alloxan-induced diabetic rat, active compound identification, and tablet formulation. This study used 18 mice *Sprague Dawley* strains are divided into 6 groups. The results of this study indicate that extracts dose given orally 30, 60 and 90mg / kg body weight showed a decrease of blood glucose levels of diabetes mice alloxan significant ($P < 0.05$) by 7%, 8%, and 14.8% after giving repeatedly extracts on the tenth day compared with the sixth day. Identification of flavonoid compound showed antocianidin which have flavylum (2-fenil-benzopyrylium) ion on the first fraction and the second fraction showed antocianidin : ion flavylum (2-fenil-benzopyrylium), 7-hidroksi flavylum, 4'-hidroksi flavylum, and 3,4,7'-trihidroksi flavylum. Mimba extract could be made on tablet formulation used PVP K-30 on wet granulation.

Keywords: *Azadirachta indica J*, antihyperglycaemic, alloxan, ethanol extract.

PENDAHULUAN

Diabetes merupakan penyakit yang disebabkan oleh peningkatan kadar glukosa dalam darah akibat kekurangan hormone insulin baik absolute maupun relatif (Suyono 1999). Hormon insulin dihasilkan oleh sel-sel β pulau Langerhans yang terdapat dalam kelenjar pancreas, kekurangan hormone ini menyebabkan glukosa tidak dapat diubah menjadi glikogen, akibatnya terjadi kelebihan kadar glukosa dalam darah (Rajasekaran et al,2005). Gejala yang ditimbulkan oleh diabetes mellitus antara lain poliurea (banyak mengeluarkan urin), polidipsi (haus terus menerus), berat badan berkurang dengan cepat, polifagia (banyak makan), hiperglikemia, glukosuria, ketosis, gatal-gatal, penglihatan kabur, gairah sex menurun, luka sukar sembuh, cepat lelah, kesemutan pada jari tangan dan kaki, pada wanita hamil dapat menyebabkan bobot bayi diatas 4 Kg (Suyono 1999). Akibat lain yang disebabkan oleh diabetes mellitus adalah kerusakan pada mata, syaraf, jantung, dan pembuluh darah.

Kadar glukosa normal pada manusia adalah 80-110 mg/dL, sedangkan pada penderita diabetes mellitus kadar glukosa darah saat puasa ≥ 126 mg/dL dan setelah makan ≥ 200 mg/dL, ditambah gejala khas diabetes. (Can *et al* . 2004). Faktor yang menyebabkan terjadinya diabetes antara lain keturunan,, obesitas, pola makan yang tidak sehat, malnutrisi, gangguan toleransi glukosa, dan lingkungan (Tjokroprawiro 1989). Penggunaan obat sintetis untuk mengobati diabetes memiliki efek samping seperti mual, muntah, dan pusing, oleh karena itu perlu juga dicari alternatif didalam proses pengobatan untuk menghindari berbagai efek samping yang ditimbulkan. Salah satunya menggunakan tanaman obat yang secara ilmiah dapat digunakan untuk menurunkan kadar gula darah seperti tanaman mimba (*Azadirachta indica* A Juss). Tanaman mimba yang sudah lama dikenal merupakan pohon yang memiliki berbagai manfaat yaitu bijinya untuk obat gatal, daunnya digunakan untuk mengusir lalat pada sapi, batangnyapun dapat digunakan untuk keperluan rumah tangga (Soewita,1995). Tumbuhan ini sangat kaya dengan kandungan kimia antara lain : azadirachtin, minyak gliserida, asetiloksifuranil, oksosiklopentanatolfuran, hidroksitetrametil, fenantenon, nimbol (Wijayakusuma 2000).

METODE PENELITIAN

Bahan

Simplisian daun mimba yang berasal dari BALITRO BOGOR, ethanol 70%, n-heksana, etil asetat, pelarut Mayer, Dragendorf, kloroform, aquadest, asam asetat, n-butanol, NH_4OH , NaOH 1 M, H_2SO_4 2 M, kertas saring, serbuk Mg, HCl pekat, amil alkohol, anhidrida asetat, pereaksi Wagner, AlCl_3 . etanol 95%, aquadest, polivinilpirolidon K 30, amyllum manihot, dekstrin, aerosil, talk, dan Mg stearat.

Metode

Pembuatan ekstrak daun mimba

Ekstraksi daun mimba kering dilakukan dengan metoda refluks. Daun mimba kering sebanyak 25 g dimasukan kedalam erlenmeyer ditambah ethanol 70% dan direfluks selama 4 jam. Disaring dan direfluks kembali dengan 300 ml ethanol 70%. Hasil saringan dicampur dan dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C dan 50 rpm sampai pekat . Setelah itu ditimbang rendemennya.

Analisis Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Mimba

Analisis fitokimia untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, tannin, saponin, dan triterpenoid. (Harborne. 1987)

Uji aktivitas antihiperlikemik dengan tikus putih.

Penelitian mengenai aktivitas hipoglikemik dari daun mimba ini dilakukan dengan menggunakan tikus putih jantan galur *Sparaque dawley* yang diinduksi menderita hiperglikemia dengan aloksan. Untuk uji aktivitas daun mimba pada percobaan ini digunakan 30 tikus sehat yang terbagi dalam 6 kelompok yaitu : Kelompok kontrol normal (kel I) : tikus disuntik dengan NaCl 0.90 % dan dicekok aquades, kelompok kontrol negatif (Kel II) : tikus disuntik aloksan dan dicekok aquades, kelompok kontrol positif (kel III) : tikus disuntik aloksan dan dicekok obat glibenklamid, Kelompok perlakuan (kel IV,V.VI) : tikus disuntik aloksan dan dicekok ekstrak ethanol daun mimba dengan dosis 30,60,90 mg/kgBB .(Sebelum diberi perlakuan, kadar glukosa darah hewan uji diukur terlebih dahulu.

Kelompok II sampai VI ditingkatkan kadar glukosa darahnya dengan cara disuntik aloksan dosis 120 mg/kgBB sampai terjadi hiperglikemia secara intraperitoneal. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan 3 hari setelah penyuntikan aloksan, selanjutnya pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-7,14 dan 21.

Identifikasi dengan Kromatografi Gas – Spektrometri Massa (GC-MS)

Terhadap Fraksi yang didapat dilakukan identifikasi secara kromatografi gas-spektrometri massa. Satu ml fraksi disaring dengan filter ukuran 0,45 μm dan siap diinjeksikan. Untuk GC-MS, volume yang diinjeksikan adalah 1 μl . suhu injektor diprogram konstan pada suhu 290°C, sedangkan suhu detektor diprogram konstan pada 150°C dengan. Helium sebagai gas pembawa di set pada kecepatan tetap 1 ml/menit dan tekanan 8,73 psi. Untuk analisis fraksi daun mimba digunakan kolom Agilent 19091J-433 HP-5 berukuran 0.25mm x 30m x 0.25 μm . Dalam analisis fraksi daun mimba ini suhu kolom di program dari 70°C sampai 290°C dengan 1 tahap kenaikan. Pada tahap awal suhu kolom dinaikkan dari 70°C menjadi 290°C dan kemudian dibuat konstan 290°C selama 30 menit dengan kecepatan kenaikan suhu 15°C/menit. Spektrum massa fraksi yang diperoleh selanjutnya diidentifikasi dengan cara membandingkannya dengan bank data Wiley7Nist05.L yang memuat 62.345 spektrum massa senyawa yang telah diketahui.

Pembuatan dan Evaluasi Sediaan Tablet

Granul yang telah jadi kemudian dicetak dengan menggunakan mesin pencetak tablet *single punch*, kemudian dilakukan pengujian sediaan tablet yang telah jadi meliputi uji penampilan, uji keseragaman ukuran, uji keseragaman bobot, uji kekerasan, uji friabilita dan uji waktu hancur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Aktivitas Antihiperglikemik

Berdasarkan pada Tabel 1, kadar glukosa darah pada kondisi awal, yaitu sesaat sebelum di suntik aloksan dari semua kelompok mempunyai kadar yang

hampir sama. Kadar glukosa darah tikus semua kelompok dalam keadaan normal adalah 84-101mg/dL. Pada penelitian antidiabetes ekstrak daun mimba dengan metode induksi aloksan, semua kelompok tikus yang disuntik aloksan secara intraperitoneal memperlihatkan peningkatan kadar glukosa (hiperglikemia) sebesar 10-82% dibandingkan kadar awalnya, sedangkan pada hari ke-10 pasca induksi aloksan terlihat penurunan pada kadar glukosa darah mencit kontrol positif, kontrol perlakuan dosis 30,60,90 mg/kgBB sebesar 7%, 8%, dan 14,8%.

Tabel 1. Data kadar glukosa darah

Kelompok	Kadar Glukosa Awal (H0)	Kadar Glukosa Induksi (H6)	Kadar Glukosa Perlakuan (H10)
Perlakuan	(mg/dl)	(mg/dl)	(mg/dl)
KN	93,3± 18,505	103,3± 3,21	91,6 ±18,4
K (-)	101 ± 10,81	155,3± 3,05	164,6 ±2,88
K (+)	86,6 ± 5,03	132,3 ± 4,16	112,6 ± 4,04
KP 1	88,5 ± 8,5	147,7± 3,05	136,3 ± 6,11
KP 2	96,3 ± 18,4	139,6 ± 13,57	128,3 ± 8,08
KP 3	84,6 ± 7,57	154,6 ± 3,51	131,6 ± 2,51

Ket :

KN : kontrol normal; disuntik NaCl fisiologis dan diberi larutan aquades

K (-) : kontrol negatif: disuntik aloksan dan diberi larutan aquades

K (+) : kontrol positif: disuntik aloksan dan diberi obat glibenklamid 0,9mg/kgBB

KP1 : kontrol perlakuan 1; disuntik aloksan dan diberi ekstrak etanol daun mimba dosis 30 mg/kgBB.

KP2 : kontrol perlakuan 2; disuntik aloksan dan diberi ekstrak etanol daun mimba dosis 60 mg/kgBB.

KP3 : kontrol perlakuan 2; disuntik aloksan dan diberi ekstrak etanol daun mimba dosis 90 mg/kgBB.

Berdasarkan hasil tersebut kontrol perlakuan yang diberi ekstrak daun mimba pada dosis 90 mg/kgBB memberikan hasil yang sama dengan kontrol positif. Data kadar glukosa dapat dilihat pada Tabel 1. Perbandingan kadar glukosa darah tikus pada hari ke-0, hari ke-6, dan hari ke-10 pasca induksi untuk kontrol positif, dan perlakuan mengalami penurunan tetapi untuk kontrol normal tetap mengalami hiperglikemik karena tidak diinduksi aloksan. Bobot badan tikus untuk kontrol negatif, positif, dan perlakuan pada hari ke-6 pasca induksi mengalami penurunan akibat pemberian induksi aloksan sehingga terjadi kerusakan pada pulau Langerhans sehingga pankreas tidak bisa memproduksi insulin. Rata-rata data bobot badan tikus dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata Data Bobot Badan Tikus

Kelompok Perlakuan	Bobot Awal (gram)	Bobot Sebelum Induksi (gram)	Bobot Setelah Induksi (gram)	Bobot Setelah Perlakuan (gram)
Kontrol Normal	152,3 ± 10,06	192,3 ± 1,5	212,3 ± 19,6	220,3 ± 23,0
Kontrol Negatif	137,0 ± 12,7	159,7 ± 8,14	156,7 ± 8,87	163,7 ± 18,14
Kontrol Positif	134,0 ± 7,1	179,3 ± 24,09	165,7 ± 16,86	177,3 ± 13,7
KP 1	142,3 ± 13,05	177,7 ± 12,58	159,7 ± 9,45	170,7 ± 5,13
KP 2	130,7 ± 4,16	170,0 ± 14,0	159,3 ± 11,23	175,7 ± 7,50
KP 3	141,3 ± 10,01	172,3 ± 5,7	157,0 ± 9,5	171,0 ± 12,52

Ket :

KN : kontrol normal; disuntik NaCl fisiologis dan diberi larutan aquades

K (-) : kontrol negatif: disuntik aloksan dan diberi larutan aquades

K (+) : kontrol positif: disuntik aloksan dan diberi obat glibenklamid 0,9mg/kgBB

KP1 : kontrol perlakuan 1; disuntik aloksan dan diberi ekstrak etanol daun mimba dosis 30 mg/kgBB.

KP2 : kontrol perlakuan 2; disuntik aloksan dan diberi ekstrak etanol daun mimba dosis 60 mg/kgBB.

KP3 : kontrol perlakuan 2; disuntik aloksan dan diberi ekstrak etanol daun mimba dosis 90 mg/kgBB.

Identifikasi Senyawa Flavonoid

Pada pengujian flavonoid, fraksi gabungan hasil kromatografi kilas diperoleh sebanyak 6 buah fraksi, kemudian dilakukan uji flavonoid terhadap 6 buah fraksi gabungan tersebut dengan menggunakan KLTa dengan larutan pengembang yang sama yaitu n-butanol:asam asetat:air (6:1,5:6) dan pereaksi $AlCl_3$ sebagai pereaksi khusus flavonoid. Hasil yang diperoleh menunjukkan fraksi gabungan 1 dan fraksi gabungan 2 bereaksi positif menunjukkan kemungkinan adanya senyawa flavonoid di tandai dengan adanya bercak yang berfluorosensi kuning dibawah sinar UV 366 nm (Gambar 1) sedangkan fraksi gabungan 3,4,5, dan 6 tidak menunjukkan adanya bercak yang berfluorosensi kuning dibawah sinar UV 366 nm.



Gambar 1 Kromatogram fraksi-fraksi hasil kromatografi kilas

Berdasarkan uji kualitatif flavonoid bahwa fraksi gabungan 1 dan fraksi gabungan 2 menunjukkan kemungkinan adanya senyawa flavonoid, maka lebih lanjut fraksi gabungan 1 dan fraksi gabungan 2 diidentifikasi dengan kromatografi gas-spektrometri massa. Kedua buah eluat tersebut disuntikkan secara bergantian ke dalam GC-MS, dari identifikasi secara kromatografi gas-spektrometri massa, setelah dicocokkan dengan senyawa yang terdapat dalam bank data Wiley7Nist05.L, fraksi gabungan 1 diduga mengandung senyawa golongan flavonoid yaitu antosianidin yang mempunyai struktur umum ion flavylum (2-fenil-benzopyrylium) dengan tingkat kemiripan 35%, neoflavonoid dengan struktur umum (4-fenil-2H-1-benzopyran) dengan tingkat kemiripan 27%. Selain itu diduga terdapat senyawa kimia lain dalam fraksi gabungan 1 diantaranya metil palmitat (tingkat kemiripan 99%), asam laurat (tingkat kemiripan 96%), etil linoleat (tingkat kemiripan 94%), asam hexadecanoat (tingkat kemiripan 95%) seperti terlihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil identifikasi kromatografi gas-spektrometri massa fraksi gabungan 1

No.	Waktu retensi (menit)	Nama senyawa	BM	Rumus molekul	Tingkat kemiripan (%)
1.	8.19	Asam Laurat	200,18	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	96%
2.	10.84	Metil Palmitat	270,26	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	99%
3.	11.08	Asam Hexadecanoat	256,24	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	95%
4.	11.99	Etil Linoleat	308,27	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	94%
5.	16.456	Flavylum	207	C ₁₅ H ₁₁ O	35%
6.	20.315	4-fenil-2H-1-benzopyran	208	C ₁₅ H ₁₂ O	27%

Fraksi gabungan 2 diduga mengandung senyawa golongan flavonoid yaitu golongan antosianidin yang memiliki struktur umum ion flavylum (2-fenil-benzopyrylium) dengan tingkat kemiripan 30% dan dari pencarian secara acak dengan bank data Wiley7Nist05.L, diduga terdapat beberapa senyawa flavonoid golongan antosianidin seperti terlihat pada tabel 3. Senyawa kimia lain juga diduga terdapat dalam fraksi gabungan 2 diantaranya metil salisilat (tingkat

kemiripan 70%), asam syringat (tingkat kemiripan 93%), asam stearat (tingkat kemiripan 98%), etil linoleat (tingkat kemiripan 94%) seperti pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil identifikasi kromatografi gas-spektrometri massa fraksi gabungan 2

No.	Waktu retensi (menit)	Nama senyawa	BM	Rumus molekul	Tingkat kemiripan (%)
1.	5.15	Metil Salisilat	152,05	C ₈ H ₈ O ₃	70%
2.	10.21	Asam Syringat	198,05	C ₉ H ₁₀ O ₅	93%
3.	12.35	Asam Stearat	200,18	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	98%
4.	13.52	Etil Linoleat	308,27	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	94%
5.	14.250	Flavylium	207	C ₁₅ H ₁₁ O	30%

Hasil Evaluasi Tablet Menggunakan Metode Granulasi Basah

Dari hasil penelitian daya alir granul untuk ketiga formula tersebut mudah mengalir, hal ini sesuai dengan persyaratan (Aulton 1988) pada daya alir yaitu 4 – 10 g/det dengan kategori mudah mengalir Ketiga formula untuk sudut diam antara 26⁰-37⁰, menunjukkan aliran massa tablet baik. Berdasarkan persyaratan tersebut formula 2 dan 3 secara umum masuk dalam kategori sangat baik yaitu antara 14,4 % - 17,51 % kompresibilitas. Sifat dari ekstrak kering mempengaruhi indeks kompresibilitas dalam tablet. Ketebalan tablet pada ketiga formula memiliki ukuran antara 0,37 cm – 0,42 cm dan diameter 1.01 cm – 1.02 cm, berarti memenuhi persyaratan Farmakope Indonesia Edisi III yaitu diameter tablet tidak lebih dari 3 kali dan tidak kurang dari 1 1/3 kali tebal tablet Pada penelitian ini diperoleh range bobot tablet yaitu untuk formula 1 sebesar 290 – 330 mg, formula 2 sebesar 280 – 310 mg dan formula 3 sebesar 290 – 330 mg. Hasil penelitian formula 1 diperoleh range kekerasan sebesar 4,8 – 7,0 Kp, formula 2 sebesar 2,8 – 3,2 Kp dan formula 3 sebesar 2,6 – 3,0 Kp. Kekerasan tablet hanya formula 1 yang memenuhi persyaratan yaitu antara 4 – 8 Kp. Nilai keregasan untuk formula 1 adalah 0,33 %, formula 2 sebesar 0,51 % dan pada formula 3 sebesar 0,53 %. Dari hasil penelitian nin diperoleh bahwa ketiga formula memenuhi persyaratan. Pada ketiga formula diperoleh waktu hancur yaitu pada formula 1 sebesar 28,31 menit, formula2 sebesar 14,15 menit dan formula 3 sebesar 19,17 menit.

KESIMPULAN

1. Dosis 90 mg/kgBB ekstrak etanol daun mimba memberikan efek antihiperlikemik lebih baik dibandingkan kontrol perlakuan lainnya sebesar 14,8% hampir sama dengan dosis pada pemberian glibenklamid.
2. Fraksi gabungan 1 diduga mengandung senyawa golongan flavonoid yaitu antosianidin yang mempunyai struktur umum ion flavylum (2-fenil-benzopyrylium) neoflavonoid dengan struktur umum (4-fenil-2H-1-benzopyran) dengan tingkat kemiripan 27%.
3. Fraksi gabungan 2 diduga mengandung senyawa golongan flavonoid yaitu golongan antosianidin yang memiliki struktur umum ion flavylum (2-fenil-benzopyrylium) dengan tingkat kemiripan 30% dan beberapa senyawa turunannya.
4. Formula I merupakan formula yang paling baik jika dilihat dari kekerasannya yaitu 4 – 8 Kp, sedangkan pada formula 2 dan formula 3 kekerasannya adalah kurang dari 4 Kp

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kepada Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi-Depdiknas RI. atas program Hibah Bersaing dengan No 318/SP2H/PP/DP2M/III/2008

DAFTAR PUSTAKA

- Can A, A Nuriye, N Ozoy, S Bolkent, BP Arda, R Yanardag, A Okyar. 2004. Affect of Aloe vera leaf gel and pulp extracts on the liver in type II diabetic rat models. *Biol. Pharm. Bull.* 27(5):694-698.
- Harbone, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*, Edisi II, Diterjemahkan oleh Padmawinata, Bandung, ITB, hal.21-7
- Rajasekaran S, K Sivagnanam, S Subramanian. 2005. Antioxidant effect of aloe vera gel extract in streptozocin-induced diabetes in rats. *Pharmac. Rep.* 57:90-96
- Soewita, O.S. 1995. *Ramuan Pusaka Prima Raga, Resep-Resep Pengobatan*

Suyono S.1999. Patofisiologi Diabetes Melitus di dalam Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu, Jakarta : Aksara Buna

Tjokoprawiro A. 1989. Diabetes Melitus Klasifikasi,Diagnosis, dan Dasar-Dasar Terapi, Jakarta : Gramedia

Wijayakusuma H, 2000. Tanaman Berkhasiat obat di Indonesia. Jilid III, Jakarta : Pustaka kartini