



AKTIFITAS ANTIDIABETES *Cell-Free SUPERNATANT DARI MIKROBA ENDOFIT UBI JALAR UNGU (Ipomea batata) TERHADAP MENCIT JANTAN (mus musculus)*

Mahdalena Sy. Pakaya¹, Endah Nurrohwiata Djuarno^{2*}, Mohamad Reski Manno³, Fatimah Azzahra⁴

^{1,2,3,4} Jurusan farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri. Gorontalo,
Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: endah@ung.ac.id (Phone/Whatshapp : 082188552327)

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a degenerative disease that is a health problem throughout the world, including in Indonesia. DM occurs due to metabolic disorders that are genetically and clinically heterogeneous with manifestations in the form of loss of carbohydrate tolerance. If it has fully developed clinically, DM is characterized by hyperglycemia. The ability of endophytic microbes to produce the same bioactive compounds as their host plants is an opportunity to obtain a natural, cheap and environmentally friendly source of anti-diabetes medicines. The benefits of endophytic bacteria have the opportunity to replace raw material resources for herbal plants. Supernatant is a culture that has the potential to reduce the risks posed by the application of live bacterial cells which are capable of spreading uncontrollably and disrupting the balance of the ecosystem, especially if applied in large volumes. The aim of this study was to test the antidiabetic activity of cell free supernatant of purple sweet potato (*Ipomea batata*) in mice by measuring the decrease in blood sugar per unit of time. The antidiabetic activity test used 25 mice divided into 5 groups. Group I (Negative Control: Na-MC), Group II (Positive Control: Glibenclamide), Group III: (Cell Free Supernatant NB Leaves), Group IV: (Cell Free Supernatant GDP Root), Group V: (Cell Free Supernatant PDB Leaf). Results obtained: All test groups were induced with Cell Free Supernatant from purple sweet potato endophytic microbes which had antidiabetic properties in mice.

Keywords:

Endophytic Microbes, Antidiabetic, Ipomea Batata, Cell-Free Supernatant

Received:

20xx -01-04

Accepted:

20xx -02-07

Online:

20xx -02-07

ABSTRAK

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit degeneratif yang menjadi masalah kesehatan diseluruh dunia termasuk di Indonesia. DM terjadi karena gangguan metabolisme yang secara genetik dan klinis termasuk heterogen dengan manifestasi berupa hilangnya toleransi karbohidrat, jika telah berkembang penuh secara klinis maka DM ditandai dengan hiperglikemia. Kemampuan mikroba endofit dalam menghasilkan senyawa bioaktif yang sama dengan tumbuhan inangnya merupakan peluang untuk mendapatkan sumber bahan obat antidiabetes yang alami, murah dan ramah lingkungan. manfaat yang dimiliki bakteri endofit berpeluang sebagai pengganti sumber daya bahan baku tanaman herbal. Supernatan merupakan kultur yang berpotensi mengurangi resiko yang ditimbulkan oleh aplikasi sel bakteri hidup yang mampu menyebar secara tidak terkendali dan mengganggu keseimbangan ekosistem, terutama jika diaplikasikan dalam volume besar. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk

menguji aktifitas antidiabetes dari *cell free supernatant* ubi jalar ungu (*Ipomea batata*) pada mencit dilakukan dengan pengukuran penurunan gula darah tiap persatuan waktu. Uji aktifitas antidiabetes menggunakan 25 ekor mencit dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I (Kontrol Negatif : Na-MC), Kelompok II (Kontrol Positif : Glibenclamide), Kelompok III: (*Cell Free Supernatant* NB Daun), Kelompok IV : (*Cell free Supernatant* PDB Akar), Kelompok V : (*Cell Free Supernatant* PDB Daun). Hasil yang didapatkan Semua kelompok uji yang diinduksi dengan *Cell Free Supernatant* dari mikroba endofit ubi jalar ungu berkhasiat sebagai antidiabetes pada mencit.

Kata Kunci:

Mikroba Endofit, Antidiabetes, Ipomea Batata, Cell-Free Supernatant

Diterima:
04-01-20xx

Disetujui:
07-02-20xx

Online:
07-02-20xx

1. Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit degeneratif yang menjadi masalah kesehatan diseluruh dunia termasuk di Indonesia. DM terjadi karena gangguan metabolisme yang secara genetik dan klinis termasuk heterogen dengan manifestasi berupa hilangnya toleransi karbohidrat, jika telah berkembang penuh secara klinis maka DM ditandai dengan hiperglikemia [1].

Hiperglikemia merupakan salah satu tanda khas penyakit diabetes mellitus (DM), meskipun juga mungkin didapatkan pada beberapa keadaan yang lain hiperglikemia merupakan awal dari ketidakmampuan sel-sel tubuh untuk merespon sepenuhnya terhadap insulin, kondisi ini disebut 'resistensi insulin'. Selama keadaan resistensi insulin, hormon tidak efektif dan, pada waktunya, mendorong peningkatan produksi insulin. Seiring waktu, produksi insulin yang tidak memadai dapat berkembang sebagai akibat dari kegagalan sel beta pankreas untuk memenuhi kebutuhan.

Diabetes melitus terdapat dua kategori utama yaitu DM tipe 1 dan tipe 2. DM tipe 1 ditandai dengan kurangnya produksi insulin. DM tipe 2 disebabkan penggunaan insulin yang kurang efektif oleh tubuh Pada DM tipe 1 hormon insulin tidak diproduksi karena kerusakan sel β pankreas, sedangkan pada DM tipe 2 terjadi gangguan progresif sekresi insulin oleh sel β pankreas dan penurunan sensitivitas insulin pada target jaringannya [2].

WHO memprediksikan kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. Laporan ini menunjukkan adanya peningkatan jumlah penyandang DM sebanyak 2-3 kali lipat pada tahun 2035. Sedangkan International Diabetes Federation (IDF) memprediksi adanya kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 9,1 juta pada tahun 2014 menjadi 14,1 juta pada tahun 2035 [3].

Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* poiret) merupakan sumber karbohidrat yang baik dan juga berperan sebagai sumber serat pangan dan sumber beta karoten. Mengandung karbohidrat, protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A, vitamin C, vitamin B1 dan pigmen antosianin yang lebih tinggi dibanding varietas lain. Karbohidrat yang terkandung pada ubi jalar ungu termasuk dalam Low Glycamix Index sehingga bila dikonsumsi tidak akan menaikkan glukosa darah secara drastis. Ekstrak ubi jalar ungu mengandung prebiotik dan antioksidan yang mampu menurunkan kadar gula darah dan melindungi sel dari pengaruh buruk radikal bebas untuk memperkecil terjadinya komplikasi DM. Sementara budidaya tanaman ini tidak sulit untuk dikembangkan dan mudah untuk didapatkan [5].

Menurut penelitian, menyatakan bahwa manfaat yang dimiliki mikroba endofit berpotensi sebagai pengganti sumber daya bahan baku tanaman herbal. Pemanfaatan bakteri endofit dapat mereduksi kerusakan alam yang disebabkan penebangan tanaman herbal yang berangsur terus menerus, maka dapat dikatakan produksi bahan baku herbal dari kultur bakteri endofit merupakan peluang yang besar. Bakteri endofit dapat diambil dengan cara diisolasi dari jaringan akar, batang, daun dan buah.

Kemampuan mikroba endofit memproduksi senyawa metabolit sekunder yang sama dengan tanaman inangnya merupakan peluang yang sangat besar dan dapat diandalkan untuk memproduksi metabolit sekunder melalui mikroba endofit yang diisolasi dari tanaman inangnya tersebut.

Berdasarkan uraian di atas, penulis tertarik untuk mengangkat judul “Aktifitas Antidiabetes Cell-free Supernatant Dari Mikroba Endofit Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) Terhadap Mencit Jantan (*mus musculus*)” dan ingin mengetahui apakah mikroba endofit ubi jalar ungu (*Ipomea batata*) berkhasiat sebagai antidiabetes.

2. Metode

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang meneliti tentang Aktifitas antidiabetes menggunakan *cell-free supernatant* dari mikroba endofit ubi jalar ungu (*Ipomea batata*) dengan menggunakan mencit jantan (*mus musculus*).

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan Autoklaf (*Hirayama*;Japan), Bunsen, Batang Pengaduk, Cawan Petri, Cawan Porselin, Centrifuge, Erlenmeyer, Gelas Ukur, Gelas Kimia, Gunting, Inkubator (*Climacell*;Amerika), Jarum Ose, *Laminar air flow* (Mess; China), Oven (*Memmert*; German), Pipet, Pinset, Penangas, Sendok Tanduk, Shaker Incubator (*centurion scientific*), Timbangan analitik (*Osuka*;Japan), dan Tabung Reaksi, tabung sentrifugasi, dan bahan-bahan yang digunakan dalam ponkubatorenelitian ini yaitu Alkohol 70%, Alkohol 95%, Aluminium foil, Aquades, Aqua Pro Injeksi (*Otsuka*; Jepang), Kertas Label, Kapas, Kertas perkamen, *Nutrient Broth* (*Himedia*;India), *Potato Dextrosa Broth* (*Himedia*;India), Spritus, dan Tisu.

Pembuatan Media

a. *Natrium Broth* (NB)

Media *Natrium Broth* (NB) ditimbang sebanyak 3,25 gram media dan dilarutkan pada 250 ml aquadest kemudian di aduk hingga homogen lalu ditutup dengan kapas dan aluminium foil agar tidak terkontaminasi. Media cair kemudian disterilkan menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 1-3 jam [8].

b. *Potato Dextrose Brtoth* (PDB)

Media *Potato Dextrose Brtoth* (PDB) ditimbang sebanyak 5,52 gram dan dilarutkan pada 230 ml aquadest kemudian adi aduk hingga homogeny lalu di tutup dengan kapas dan aluminium foil agar tidak terkontaminasi. Media kemudian disterilkan menggunakan autoclave dengan suhu 121°C selama 1-3 jam [9].

Produksi Metabolit Sekunder Dari Mikroba Endofit

Masing-masing isolat bakteri endofit diinokulasikan pada media NB steril, kemudian disimpan pada inkubator shaker pada suhu 37 °C dengan kecepatan 240 rpm selama 72 jam atau sampai 3 hari. Dan masing masing isolate jamur endofit diinokulasi pada media PDB steril lalu disimpan pada incubator shaker pada suhu 37 °C dengan kecepatan 200 rpm selama 14 hari [10].

Pembuatan *Cell free Supernatant* Mikroba Endofit Ubi Jalar Ungu (*ipomea batata*)

Media yang mengandung metabolit sekunder disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 60 menit agar terjadi pemisahan metabolit sekunder (supernatan) dengan Cell Bakteri (Residu) [10].

Uji Metabolit Sekunder

Senyawa Alkaloid

Sebanyak 2 mL ekstrak diuapkan di atas cawan porselin. Residu yang dihasilkan kemudian dilarutkan dengan 5 mL HCl 2 M. Larutan yang diperoleh dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama berfungsi sebagai blanko, ditambahkan dengan 3 tetes HCl 2 M. Tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff dan tabung ketiga ditambahkan 3 tetes

pereaksi Mayer. Pada pereaksi Dragendorff akan terbentuk endapan berwarna jingga sedangkan pereaksi Mayer akan terbentuk endapan kuning yang menandakan positif adanya alkaloid [11].

Senyawa Saponin

Sebanyak 2-3 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik, kemudian didinginkan lalu ditambahkan 1 tetes HCl 2 N. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil setinggi 1-10 cm selama tidak kurang dari 10 menit [11].

Senyawa flavonoid

Sebanyak 2 mL ekstrak ditambahkan dengan air panas secukupnya, kemudian dididihkan selama 5 menit lalu disaring. Filtrat sebanyak 5 mL ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 mL HCl pekat, kemudian dikocok kuat-kuat. Uji positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga [11].

Senyawa Tanin

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan dengan beberapa tetes larutan besi (III) klorida 10%. Jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tannin [11].

Uji Aktivitas Antidiabetes

Hewan uji yang digunakan sebanyak 25 ekor mencit. Hewan uji yang telah dipilih dikelompokkan menjadi 5 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok 1 (kontrol negatif), kelompok 2 (kontrol positif), kelompok 3 (BI 01), kelompok 4 (JI 01), kelompok 5 (JI 02). Masing-masing hewan uji diadaptasi dengan lingkungan sekitar selama 7 hari. Pada hari ke-8, hewan uji dipuasakan selama 8 jam. Setelah dipuasakan, setiap kelompok hewan uji diukur kadar glukosa darah normal sebagai data awal. Setelah itu, setiap hewan uji diberikan perlakuan. Adapun pembagian perlakuan masing-masing kelompok sebagai berikut:

Kelompok I terdiri dari 5 ekor mencit jantan yang dibuat diabetes menggunakan aloksan secara intraperitoneal yang sebelum itu mencit telah dipuasakan 8 jam sebelum perlakuan. 3 jam kemudian diukur kadar glukosa darah dan diberi suspensi Na-CMC secara oral dengan volume pemberian 1 mL, kemudian diukur kadar gula darah mencit pada menit ke 30, 60, dan 90.

Kelompok II terdiri dari 5 ekor mencit jantan yang dibuat diabetes menggunakan aloksan secara intraperitoneal yang sebelum itu mencit telah dipuasakan 8 jam sebelum perlakuan. 3 jam kemudian diukur kadar glukosa darah dan diberi suspensi Glibenclamide secara oral dengan volume pemberian 1 mL, kemudian diukur kadar gula darah mencit pada menit ke 30, 60, dan 90.

Kelompok III terdiri dari 5 ekor mencit jantan yang dibuat diabetes menggunakan aloksan secara intraperitoneal yang sebelum itu mencit telah dipuasakan 8 jam sebelum perlakuan. 3 jam kemudian diukur kadar glukosa darah dan diberi supernatan tanaman ubi jalar ungu (*ipomea batatas*) IB 01, secara oral dengan volume pemberian 1 mL, kemudian diukur kadar gula darah mencit pada menit ke 30, 60, dan 90.

Kelompok IV terdiri dari 5 ekor mencit jantan yang dibuat diabetes menggunakan aloksan secara intraperitoneal yang sebelum itu mencit telah dipuasakan 8 jam sebelum perlakuan. 3 jam kemudian diukur kadar glukosa darah dan diberi supernatan tanaman ubi jalar

ungu (*ipomea batatas*) IJ 01 secara oral dengan volume pemberian 1 mL, kemudian diukur kadar gula darah mencit pada menit ke 30, 60, dan 90.

Kelompok V terdiri dari 5 ekor mencit jantan yang dibuat diabetes menggunakan aloksan secara intraperitoneal yang sebelum itu mencit telah dipuasakan 8 jam sebelum perlakuan. 3 jam kemudian diukur kadar glukosa darah dan diberi diberi supernatan tanaman.

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil Pembuatan *Cell-Free Supernatant* Mikroba Endofit Ubi Jalar Ungu (*Ipomea Batata*).

Tabel 4.1 Hasil Pembuatan *Cell-Free Supernatant*

Isolat	Sebelum (mL)	Sesudah (mL)
BI 01	200 mL	180 mL
JI 01	200 mL	150 mL
JI 02	200 mL	150 mL

Sumber : Data primer yang diolah, 2023

Ket:

BI = Bakteri endofit

JI = Jamur endofit

Skrining Senyawa Tanaman Ubi Jalar Ungu (*Ipomea Batata*)

Tabel 4.2 Skrining Senyawa Tanaman Ubi Jalar Ungu (*Ipomea Batata*)

Isolat	Senyawa			
	Alkaloid	Saponin	Tanin	Flavonoid
BI 01	+	-	-	+
JI 01	+	+	-	+
JI 02	+	+	-	+

Sumber : Data primer yang diolah, 2023

Ket:

BI = Bakteri endofit

JI = Jamur endofit

Uji Aktifitas *Cell Free Supernatant* Mikroba Endofit Tanaman Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batata*) Sebagai Antidiabetes Pada Mencit jantan (*Mus musculus*).

Tabel 4.3 Hasil Uji Aktifitas *cell free supernatant* Mikroba

Kelompok	Replikasi	KGD Sebelum Induksi Aloksan (mg/dL)	KGD Setelah Induksi Aloksan (mg/dL)	KGD Setelah Pemberian Sampel		
				Menit ke-30	Menit ke-60	Menitke-90
Kontrol Negatif (Na-CMC)	1	77	162	144	106	102
	2	73	151	133	111	136
	3	57	120	105	153	115
	4	36	120	134	106	122
	5	59	189	101	100	140
Rata-rata		60,4	148,4	123,4	115,2	123
Kontrol Positif (Glibenclamide)	1	92	189	74	72	101
	2	89	141	85	69	78
	3	63	255	46	83	70
	4	41	294	82	65	104
	5	78	189	56	52	53
Rata-rata		72,6	213,6	68,6	68,2	81,2
Kelompok Uji 1 (<i>Cellfree Supernatant</i> BI 01)	1	109	167	72	65	67
	2	68	176	85	69	78
	3	68	167	46	83	71
	4	65	167	82	65	104
	5	100	189	77	89	97
Rata-rata		82	173,2	72,4	74,2	83,4
Kelompok Uji 2 (<i>Cellfree Supernatant</i> JI 01)	1	79	183	73	74	87
	2	70	179	62	93	87
	3	93	130	75	79	72
	4	59	159	74	99	95
	5	26	154	117	102	92
Rata-rata		65,4	161	80,2	89,4	86,6
Kelompok Uji 3 (<i>Cellfree Supernatant</i> JI 02)	1	70	138	69	41	38
	2	71	180	102	90	87
	3	107	177	95	72	69
	4	58	177	89	87	74
	5	114	176	46	83	70
Rata-rata		84	169,6	80,2	74,6	67,6

Sumber: data pribadi yang diolah, 2023

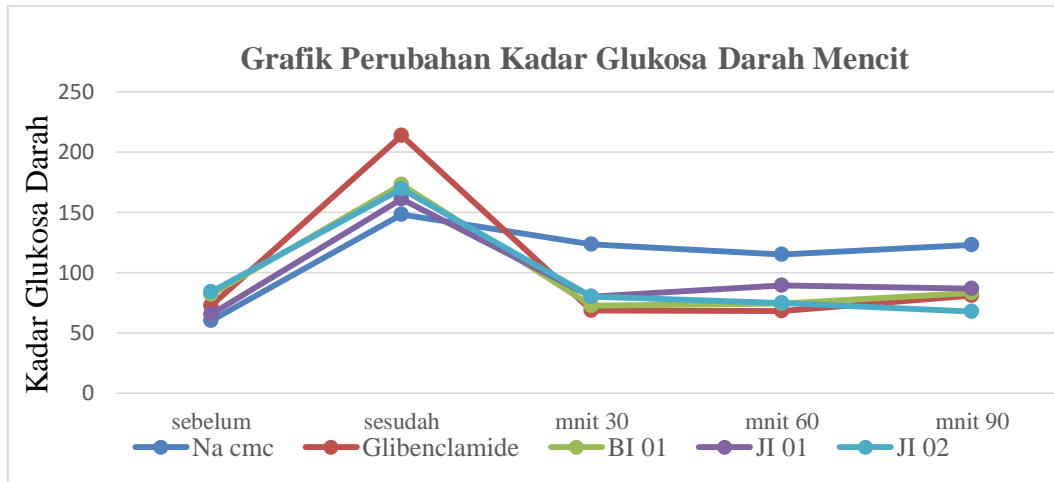
Keterangan:

KGD = Kadar Gula Darah

BI = Bakteri Endofit

JI = Jamur Endofit

Tabel 4.1 menunjukkan hasil uji aktifitas antidiabetes mikroba endofit ubi jalar ungu (*Ipomea batata*) lima kelompok tersebut memperoleh bahwa kelompok uji 3 (*Cell free supernatant* JI 02) yang paling efektif sebagai antidiabetes pada mencit dapat dilihat data penurunan kadar gula darah mencit.



Gambar 4.1 Grafik Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Mencit Tiap Satuan

Keterangan:

BI = Bakteri Endofit

JI = Jamur Endofit

Hasil Analisis Data Penelitian

Tabel 4.4 Hasil Analisis Data Penelitian

Kelompok	Kontrol Negatif (Na-CMC)	Kontrol Positif (Glibenklamid)	BI 01	JI 01	JI 02
Kontrol Negatif (Na-CMC)	-	0.000	0.000	0.002	0.001
Kontrol Positif (Glibenklamid)	0.000	-	0.002	0.035	0.054
BI 01	0.000	0.758	-	0,529	0.758
JI 01	0,002	0,352	0,529	-	0.746
JI 02	0.001	0.540	0.035	0,005	-

Sumber: Data pribadi yang diolah 2023

Pembahasan

Cell Free Supernatant Mikroba Endofit Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batata*)

Dalam pembuatan *cell free supernatant* dilakukannya sentrifugasi, Sentrifugasi merupakan teknik lain untuk pemisahan sampel heterogen. Pemisahan sentrifugal digunakan untuk pemisahan cairan dari padatan. Selama sentrifugasi 2 jenis gaya bekerja pada partikel dari sampel heterogen yaitu medan gravitasi dan gaya sentrifugasi. Gaya gravitasi bersifat

homogen pada sebagian besar sampel dan secara umum jauh lebih kecil dibandingkan gaya sentrifugasi [12].

Cell free supernatant mikroba endofit ubi jalar ungu (*Ipomea batata*) disentrifugasi dengan dengan kecepatan 3000 rpm selama 60 menit. Tujuannya adalah untuk memisahkan sel dari padatan. Hasil sentrifugasi yang mengendap dibagian bawah tabung sentrifugasi berupa padatan (sel) sedangkan cairan yang berada di bagian atas berupa supernatant.

Hasil dari sentrifugasi kemudian dipisahkan dengan menggunakan kertas saring. Kertas saring digunakan untuk menyaring suatu larutan agar terpisah dari partikel kasar (ampas). Karena kertas saring terbuat dari serat, maka ampas dari larutan akan tertahan di dalam kertas saring. Nantinya kertas akan menahan partikel padat besar dan menyediakan jalur untuk larutan cair [13].

Skrining Senyawa Tanaman Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batata*)

Skrining Senyawa dilakukan untuk mengidentifikasi metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, steroid, dan flavonoid yang ada pada tanaman ubi jalar ungu (*Ipomea batata*). Hasil uji Skrining senyawa mikroba endofit tanaman ubi jalar ungu menunjukkan hasil positif pada senyawa alkaloid, saponin, dan flavonoid.

1. Uji Kandungan Alkaloid

Uji kandungan alkaloid terhadap mikroba endofit ubi jalar ungu (*Ipomea batata*) diperoleh hasil positif. Menurut penelitian, pengujian alkaloid menggunakan pereaksi *Dragendroff*, dikatakan positif ketika membentuk endapan berwarna oranye [14]. Senyawa alkaloid merupakan senyawa aktif bahan alam yang memiliki aktivitas hipoglikemia, Endapan yang terbentuk merupakan kalium-alkaloid, karena senyawa alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam [15]. Nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap [16].

Mekanisme kerja Alkaloid dalam menurunkan kadar glukosa darah adalah bekerja dengan cara meningkatkan transportasi glukosa di dalam darah, menghambat absorpsi glukosa di usus, merangsang sintesis glikogen dan menghambat sintesis glukosa dengan menghambat enzim glukosa 6-fosfatase, fruktosa 1,6-bifosfatase yang merupakan enzim yang berperan dalam glukoneogenesis, serta meningkatkan oksidasi glukosa melalui glukosa 6-fosfat dehidrogenase. Penghambatan pada enzim 6-fosfatase dan fruktosa 1,6-bifosfatase ini akan menurunkan pembentukan glukosa dari substrat lain selain karbohidrat. Hasil positif alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan kuning atau oranye [16].

2. Uji Kandungan Saponin

Uji kandungan saponin terhadap mikroba endofit ubi jalar ungu (*Ipomea batata*) diperoleh hasil positif. Uji saponin dilakukan dengan cara memasukan 2 ml sampel kedalam tabung reaksi lalu ditambahkan aquadest panas kemudian dikocok akan terbentuk busa. Menurut Parawansah (2015), Mekanisme kerja saponin dalam menurunkan kadar glukosa adalah dengan mengubah membran usus menjadi lebih permeabel sehingga absorpsi glukosa menjadi terhambat [17]. Timbulnya buih pada uji saponin, menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya [18].

3. Uji kandungan Flavonoid

Uji kandungan flavonoid terhadap mikroba endofit ubi jalar ungu (*Ipomea batata*) diperoleh hasil positif. Hasil pengujian flavonoid ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga atau kuning. Penambahan klorida pekat untuk memprotonasi flavonoid sehingga terbentuk garam flavonoid. Setelah penambahan bubuk magnesium, terbentuknya warna jingga, kuning atau hijau menandakan adanya kandungan flavonoid akibat terjadinya reduksi oleh HCL dan magnesium [19]. Penambahan HCl pekat digunakan untuk menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Glikosil akan tergantikan oleh H^+ dari asam karena sifatnya yang elektrofilik. Reduksi dengan Mg dan HCl

pekat dapat menghasilkan senyawa kompleks yang berwarna merah atau jingga pada flavonol, flavanon, flavanonol dan xanton [20].

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Senyawa flavonoid dapat berfungsi sebagai antioksidan, antidiabetik, antikanker, antiseptik, dan anti-inflamasi. Mekanisme kerja flavonoid dalam menurunkan kadar glukosa darah adalah kemampuan flavonoid terutama quercetin dalam menghambat GLUT 2 mukosa usus sehingga dapat menurunkan absorpsi glukosa. Hal ini menyebabkan pengurangan penyerapan glukosa dan fruktosa dari usus sehingga kadar glukosa darah turun. GLUT 2 diduga merupakan transporter mayor glukosa di usus pada kondisi normal [19].

Uji Aktifitas Mikroba Endofit Tanaman Ubi Jalar Ungu (*Ipomea batata*) Sebagai Antidiabetes Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*).

Uji aktifitas mikroba endofit tanaman ubi jalar ungu (*Ipomea batata*) menggunakan hewan coba mencit jantan. Menurut penelitian, mencit banyak digunakan sebagai hewan coba karena memiliki kelebihan seperti siklus hidup relatif pendek, banyaknya jumlah anak per kelahiran, mudah ditangani, memiliki karakteristik reproduksi mirip dengan mamalia, struktur anatomi, fisiologi serta genetik yang mirip dengan manusia [21]. Mencit jantan dipilih karena mencit jantan tidak mempunyai hormon estrogen, jika ada jumlahnya pun relatif sedikit serta kondisi hormonal pada mencit jantan lebih stabil jika dibandingkan dengan mencit betina karena pada mencit betina mengalami perubahan hormonal pada masa-masa estrus, masa menyusui, dan kehamilan [22].

Pengukuran kadar glukosa darah hewan coba menggunakan alat pengukur darah *glucometer*. Salah satu pemeriksaan glukosa darah dengan menggunakan glukometer dilakukan lebih cepat, mudah dan akurat maka pemeriksaan metode ini banyak digunakan oleh para dokter maupun edukator untuk mengetahui kadar glukosa darah pasien DM. Teknik pemeriksaannya dengan cara menusukan alat yang terdapat jarum pada ujungnya pada jari yang biasa disebut dengan lanset device. Glukometer memiliki prinsip kerja yaitu oksigen dengan bantuan enzim glukosa oksidase mengkatalis proses oksidase glukosa menjadi asam glukonat dan *hydrogenperoksida*. Dalam reaksi yang kedua, enzim peroksidase mengkatalis reaksi oksidasi kromogen (akseptor oksigen yang tidak berwarna), kemudian oleh hydrogen peroksidase membentuk suatu produk kromogen teroksidasi berwarna biru yang diukur dengan glukometer [23].

Pada penelitian ini penginduksi yang diberikan kepada hewan coba mencit yaitu penginduksi aloksan. Aloksan adalah turunan asam urat, dapat merusak sel pankreas secara selektif melalui mekanisme stres oksidatif. Aloksan menyebabkan penurunan glikogen hepatik dalam 24- 72 jam dan efek sitotoksitasnya terutama disebabkan oleh karena konversi anion radikal yang menyebabkan kerusakan pankreas yang akhirnya menurunkan kadar insulin [24]. Mekanisme kerja dari aloksan yaitu, aloksan menyebabkan kerusakan permeabilitas membran sel sehingga terjadi kerusakan sel beta pankreas yang berfungsi menghasilkan insulin [25].

Dari hasil perhitungan dan pengamatan pada gambar 4.3 menunjukkan adanya perbedaan pada hasil pengukuran darah pada masing-masing kelompok. Perbedaan ini didasarkan pada penurunan kadar glukosa darah yang berbeda-beda pada setiap kelompok uji. Pada kelompok kontrol negatif yaitu diberikan Na CMC. Pada kelompok kontrol negatif tidak memberikan efek yang besar terhadap penurunan kadar glukosa darah pada mencit jika dibandingkan dengan kelompok lainnya. Menurut penelitian, karena Na-cmc merupakan pensuspensi yang tidak memberikan efek antidiabetes pada mencit [26]. Dan Na- CMC tidak memiliki aktifitas farmakologi sehingga tidak dapat menurunkan kadar glukosa darah pada mencit setelah diinduksi aloksan [27].

Pada kelompok positif yaitu diberikan obat glibenclamide, Pada kelompok kontrol positif yang diberi glibenklamid terjadi penurunan kadar glukosa darah tikus yang signifikan. Glibenklamid merupakan obat hipoglikemik oral golongan sulfonilurea yang memiliki efek terapeutik menurunkan kadar glukosa darah sehingga dipilih sebagai senyawa pembanding dalam penelitian [28], Hal ini disebabkan karena glibenklamid bekerja terutama dalam

meningkatkan sekresi insulin [29]. Mekanisme kerja glibenklamid yaitu merangsang sekresi hormon insulin dari granula sel-sel β pulau-pulau Langerhans pankreas. Interaksinya dengan ATP - sensitive K channel pada membran sel-sel β menimbulkan depolarisasi membran dan keadaan ini akan membuka kanal Ca. Setelah terbukanya kanal Ca, maka ion Ca^{2+} akan masuk ke dalam sel β kemudian merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin [30]. Dosis efektif glibenklamid pada manusia adalah 5 mg/kg BB. Dosis ini kemudian dikonversi ke dosis untuk hewan uji yaitu tikus putih [1].

Kontrol positif ini setelah mencit diinduksi aloksan kadar glukosa rata-rata pada mencit sebesar 213,6 mg/dL, dan setelah diberi suspensi glibenclamide pada menit 30 terjadi penurunan kadar glukosa darah rata-rata sebesar 68,6 mg/dL, pada menit ke 60 terjadi penurunan mencapai 68,2 mg/dL, dan pada menit ke 90 kadar glukosa darah mencapai rata-rata 81,2 mg/dL.

Pada kelompok 3, *cell free supernatant* BI 01, setelah diinduksi aloksan rata-rata kadar glukosa pada mencit sebesar 173,2 mg/dl pada menit ke 30 kadar glukosa rata-rata sebesar 72,4 mg/dl pada menit ke 60 terjadi penurunan kadar glukosa rata-rata sebesar 74,2 mg/dl dan pada menit ke 90 kadar glukosa rata-rata 83,4 mg/dl. Pada kelompok 4, *cell free supernatant* JI 01 setelah diinduksi aloksan kadar glukosa darah mencit rata-rata sebesar 161 mg/dl pada menit ke 30 terjadi penurunan rata-rata 80,2 mg/dl pada menit ke 60 rata-rata kadar glukosa darah mencit sebesar 89,4 dan pada menit ke 90 rata-rata kadar glukosa darah mencit yaitu sebesar 86,6 mg/dl. Pada kelompok 5, *cel free supernatant* JI 02 setelah diinduksi aloksan terjadi kenaikan kadar glukosa dengan rata-rata sebesar 169,6 mg/dl, pada menit ke 30 terjadi penurunan dengan rata-rata sebesar 80,2 mg/dl, pada menit ke 60 kadar glukosa darah mencit rata-rata sebesar 74,6 mg/dl dan pada menit ke 90 kadar glukosa darah mencit rata-rata 67,6 mg/dl.

Pemanfaatan supernatan kultur bakteri yang bebas sel sebagai pengganti aplikasi sel hidup dinilai mampu menjadi alternatif penerapan pengendalian biologis yang lebih aman. Aplikasi supernatan kultur ini berpotensi mengurangi resiko yang ditimbulkan oleh aplikasi sel bakteri hidup yang mampu menyebar secara tidak terkendali dan mengganggu keseimbangan ekosistem, terutama jika diaplikasikan dalam volume besar [31]. Supernatan kultur umumnya mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder hasil sekresi bakteri yang berperan penting dalam mekanisme pertahanan terhadap cekaman biotik dan abiotik. Produksi senyawa metabolit sekunder ini umumnya berlangsung di fase akhir pertumbuhan bakteri dimana proses biosintesisnya sangat tergantung pada rangsangan dari faktor lingkungan, salah satunya pH [32].

Cellfree supernatant adalah cairan yang mengandung metabolit hasil pertumbuhan mikroba dan sisa nutrisi dari media yang digunakan. *Cellfree supernatant* dari bakteri endofit tanaman insulin menghasilkan suatu senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya. Menurut penelitian, Ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* poiret) merupakan sumber karbohidrat yang baik dan juga berperan sebagai sumber serat pangan dan sumber beta karoten. Mengandung karbohidrat, protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A, vitamin C, vitamin B1 dan pigmen antosianin yang lebih tinggi dibanding varietas lain. Karbohidrat yang terkandung pada ubi jalar ungu termasuk dalam Low Glycamix Index sehingga bila dikonsumsi tidak akan menaikkan glukosa darah secara drastis. Ekstrak ubi jalar ungu mengandung prebiotik dan antioksidan yang mampu menurunkan kadar gula darah dan melindungi sel dari pengaruh buruk radikal bebas untuk memperkecil terjadinya komplikasi DM. Sementara budidaya tanaman ini tidak sulit untuk dikembangkan dan mudah untuk didapatkan [33].

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan pada kelompok percobaan 2, 3, 4, dan kelompok 5, kelompok yang bagus dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit yaitu pada kelompok 5 (*Cell free supernatant* JI 02), hal ini dikarenakan hasil metabolisme dari pdb daun efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit. Media PDB (*Potato Dextrose Broth*) digunakan karena media tersebut memiliki kandungan nutrisi berupa glukosa yang bermanfaat pada kapang endofit untuk tumbuh. Proses kultur yang dilakukan selama 14 hari tersebut dikarenakan pada hari tersebut metabolit sekunder sudah keluar dari kapang endofit tanaman

tin dengan melihat perubahan warna suatu media cair dan karakteristiknya yang terjadi pada media PDB. Perubahan warna menjadi sebuah tanda dikarenakan metabolit sekunder akan disekresikan di dalam sel (intraseluler) atau keluar ke lingkungan mediana (ekstraseluler). Perubahan warna yang terjadi membuktikan bahwa kapang tersebut mensekresikan metabolit sekunder ke lingkungan mediana atau yang disebut ekstraseluler [34].

Hasil Uji Statistik *One-way Anova*

Hasil yang diperoleh dari besar kenaikan kadar gula darah pada mencit menggunakan analisis variasi satu arah (*One Way ANOVA*). Untuk melihat perbedaan antara masing-masing kelompok, hal ini sesuai dengan literatur [35], Anova atau *Analysis of Varians* (Anova) merupakan bagian dari metode analisis statistika yang tergolong analisis komparatif lebih dari dua rata-rata. Tujuannya adalah untuk membandingkan lebih dari dua rata-rata guna untuk menguji kemampuan generalisasi artinya data sampel dianggap memiliki populasi.

Dari hasil uji *One Way Anova*, didapatkan bahwa adanya perbedaan antara masing-masing kelompok dengan taraf kepercayaan yang digunakan adalah 95%. Menunjukkan hasil $\text{sig} = 0,000$ yang dapat diartikan bahwa adanya perbedaan signifikan karena nilai probabilitas (signifikan) kurang dari 0,05. Berdasarkan hasil uji *One Way Anova* dapat disimpulkan bahwa *cell free supernatant* dari mikroba endofit tanaman ubi jalar ungu (*Ipomea batata*) dapat berefek sebagai antidiabetes. Setelah dilakukannya uji *One Way Anova*, kemudian dilanjutkan pada uji *post hoc* menggunakan *Least Significant Difference* (LSD) terhadap masing-masing kelompok uji. Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa antara kelompok yang memiliki nilai signifikansi kecil dari 0,05 menunjukkan adanya perbedaan secara signifikan sebagai antidiabetes pada mencit. Sedangkan antara kelompok yang memiliki nilai signifikansi besar dari 0,05 menunjukkan tidak ada perbedaan secara signifikan sebagai antidiabetes pada mencit. Berdasarkan hasil tersebut, semua kelompok uji yang menggunakan *cell free supernatant* dari mikroba endofit tanaman ubi jalar ungu (*Ipomea batata*) berkhasiat sebagai antidiabetes pada mencit. Namun, yang lebih cepat menurunkan kadar glukosa darah adalah kelompok uji 3 yaitu *cell free supernatant* JI 02.

4. Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan pada mikroba endofit ubi jalar ungu (*ipomea batata*), terdapat 3 isolat yakni, isolat BI 01 untuk bakteri dan, JI 01, JI 02 untuk jamur endofit, ketiga isolat tersebut menunjukkan aktifitas yang berkhasiat sebagai antidiabetes.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih saya ucapkan kepada pembimbing satu saya ibu mahdalena Sy. Pakaya M. Si. Apt. dan pembimbing dua saya yaitu ibu Endah N. Djuarno M. Sc. Apt. serta tak lupa kepada orang tua saya yang selalu berdoa yang terbaik untuk saya dan berjuang untuk saya sampai di tahap ini serta tak lupa pula sahabat-sahabat saya Kelas B Retinol 2020 dan orang-orang yang saya cintai dan saya sayangi yang telah banyak berpartisipasi dalam penelitian ini, serta tak lupa berterima kasih kepada diri sendiri.

Referensi

- [1] Lestari, Zulkarnain and Sijid, S.A. (2021) '*Diabetes Melitus: Review Etiologi, Patofisiologi, Gejala, Penyebab, Cara Pemeriksaan, Cara Pengobatan dan Cara Pencegahan*', UIN Alauddin Makassar, (November), pp. 237-241.
- [2] Petersmann, A. et al. (2018) '*Definition, classification and diagnostics of diabetes mellitus*', *Journal of Laboratory Medicine*, 42(3), pp. 73-79.
- [3] Ijaola, T.O. et al. (2014) '*Antidiabetic Effect of Ipomea Batatas in Normal and Alloxan Induced Diabetic Antidiabetic Effect of Ipomea Batatas in Normal and Alloxan- Induced Diabetic Rats Abstract*', (June 2017). Available at: <https://doi.org/10.9790/5736-07521625>.
- [4] Sarjono, P.R. et al. (2020) '*AKTIVITAS ANTIDIABETES METABOLIT SEKUNDER BAKTERI*

- ENDOFIT ASAL KULIT KAYU MANIS (*Cinnamomum burmannii*), *Jurnal Penelitian Saintek*, 25(2), pp. 143-
- [5] ADA. (2015). *Diagnosis and Clasification of Diabetes Mellitus*. American Diabetes Care, 38
- [6] Iqlima, D., Ardiningsih, P. and Wibowo, M.A. (2017) 'Aktivitas antibakteri isolat bakteri endofit b2d dari batang tanaman yakon (*smallanthus sonchifolius* (poepp. & endl.) H. Rob.) Terhadap bakteri *staphylococcus aureus* dan *salmonella thypimurium*', *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 7(1), pp. 36-43. Available
- [7] Hasiyani, V.V., Ahmad, I. and Rijai, L. (2015) 'Isolasi Jamur Endofit dan Produksi Metabolit Sekunder Antioksidan dari Daun Pacar (*Lawsonia inermis* L.)', *Jurnal Sains dan kesehatan*, 1(4), pp. 146-153.
- [8] Ji, H. et al. (2015) 'Analysis on the Nutrition Composition and Antioxidant Activity of Different Types of Sweet Potato Cultivars', (January), pp. 161-167.
- [9] Pakaya, M.S. et al. (2022) 'Isolasi, Karakterisasi, dan Uji Antioksidan Fungi Endofit dari Tanaman Batang Kunyit (*Curcuma domestica* Val.)', *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 5(2), pp. 220-231.
- [10] Amrani, M. et al. (2012) 'Farinomalein derivatives from an unidentified endophytic fungus isolated from the mangrove plant *Avicennia marina*', *Tetrahedron Letters*, 53(49), pp. 6721-6724. at: <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2012.10.011>.
- [11] Ergina., S. Nuryanti dan I. D. Pursitasari. 2014. "Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol". *Jurnal Akademika Kimia*. Vol 3(3) : 165-172
- [12] Afriani, N., Yusmarini, Y., & Pato, U. (2017). *Aktivitas antibakteri lactobacillus plantarum 1 yang diisolasi dari industri pengolahan pati sagu terhadap bakteri patogen escherichia coli FNCC-19 dan staphylococcus aureus FNCC-15* (Doctoral dissertation, Riau University).
- [13] Agung, S. N., Sumardi, S., & Salman, F. (2018). *Uji Daya Antibakteri Isolat Bakteri Asam Laktat Dari Kefir dengan Inokulum Ragi Tape Terhadap Escherichia coli*. *Jurnal Tadris Pendidikan Biologi*, 9, 217-223
- [14] Erlidawati., Safrida dan Mukhlis. 2018. *Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes*. Syiah Kuala University Press. Banda Aceh.
- [15] Hidayah, N. 2016. "Pemanfaatan Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman (Tanin dan Saponin) dalam Megurangi Emisi Metan Ternak Ruminasia". *Jurnal Sains Peternakan Indonesia*. Vol 11(2) : 89-98
- [16] Ikalinus, R., Widyastuti, S., & Eka Setiasih, N. (2015). *Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (Moringa Oleifera)*. *Indonesia Medicus Veterinus*. Vol 4(1) : 71-79.
- [17] Illing, I., W. Safitri dan Erfiana. 2017. "Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengen". *Jurnal Dinamika*. Vol 8(1) : 66-84.
- [18] Julianto, T. S. (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9). Universitas Islam Indonesia. <http://library.uui.ac.id>; e-mail: perpustakaan@uui.ac.id
- [19] Jun, M.H.Y., J. X. Fong, dan C.S. Wan. 2003. "Camparison of Antioxidant Activities of Isoflavones Form Kudzu Root (*Puerarua labata* O)", *Journal Food Science Institute of Technologist*. Vol. 68 (1) : 2117-2122.
- [20] Mangiwa, S. dan A. E. Maryuni. 2019. *Skrining Fitokimia ddan Uji Antioksidan Estrak Biji Kopi Sangrai Jenis Arabia (Coffea arabica) Asal Wamena dan Moanemani, Papua*. *Jurnal Biologi Papua*. Vol 11(2) :103-109.
- [21] Cappuccino, J.G. and Suherman, N. (2013) *Manual Laboratorium Mikrobiologi Edisi 8*, Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- [22] aeedi, P. et al. (2019) 'Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition', *Diabetes Research and Clinical Practice*, 157, p. 107843.
- [23] Firgiansyah, A. (2016). *Perbandingan kadar glukosa darah menggunakan spektrofotometer dan glukometer* [UNIMUS]. In UNIMUS. <http://lib.unimus.ac.id>

- [24] Ahangarpour, A., Sayahi, M., & Sayahi, M. (2019). *The Antidiabetic and Antioxidant Properties of Some Phenolic Phytochemicals: A Review Study*. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, 13(1), 854–857. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.11.051>
- [25] American Diabetes Association (ADA), 2017. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus*. *Diabetes Care* volume 35 Supplement 1 pp. 64-71
- [26] Djunaidi, C. S., Affandi, D. R., & Praseptianga, D. P. (2014). *Efek Hipoglikemik Tepung Komposit Ubi Jalar Ungu , Jagung Kuning, dan Kacang Tunggak) Pada Tikus Diabetes Induksi Streptozotocin*. *Jurnal Gizi Klinik Indonesia*, 10(03), 119–126.
- [27] Fu Z, Gilbert ER, Liu D. 2013. *Regulation of insulin synthesis and secretion and pancreatic beta-cell dysfunction in diabetes*. *Current Diabetes Reviews* (9): 25- 53
- [28] Honma A, Koyama T, Yazawa K. 2015. *Antihyperglycemic effects of japanese maple (Acer amoenum) leaf extract and its constituent corilagin*. *J Wood Sci* (56): 507-512.
- [29] Adhitia. (2016). *Efek Perseptif Penggunaan Antidiabetes Herbal Bersamaan Dengan Penggunaan Obat Antidiabetes Oral Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 Di Puskesmas Kotamadya Depok*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- [30] International Diabetes Federation (IDF) 2021. *International Diabetic Federation Diabetic Atlas* 10th edition. IDF
- [31] Susanti S, Bistara DN. *Hubungan Pola Makan Dengan Kadar Gula Darah Pada Penderita Diabetes Mellitus*. *J Kesehat Vokasional*. 2018;3(1):29–34.