



Penapisan Fitokimia Dan Uji Efek Antidiabetes Ekstrak Metanol Daun Brotowali (*Tinospora crispera* L.) Pada Mencit (*Mus musculus*)

Hamsidar Hasan^{1*}, Endah Nurrohwiata Djuwarno², Faramita Hiola³, Fika Nuzul Ramadhani⁴, Ichlasul Oktofandi Halada⁵

^{1,2,3,4,5} Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga Dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: hamsidar.hasan@ung.ac.id (Phone/Whatsapp 082195312988)

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a disease where the patient's body cannot automatically control the level of sugar in the blood. Brotowali contains many chemical compounds that are efficacious to cure various diseases. This plant can reduce blood glucose levels. This research aims to determine the secondary metabolites contained in the methanol extract of brotowali (*Tinospora crispera* L.) leaves and the antidiabetic effect of brotowali leaf methanol extract on mice (*Mus musculus*). This research method uses total maceration method, phytochemical screening, Thin Layer Chromatography analysis using n-Hexan: ethyl acetate with a ratio of (8:2) and antidiabetic effect test. The antidiabetic effect test was tested on male mice, which were divided into 5 treatment groups, group I was a positive control group (Glimepiride of 2 mg), group 2 was a negative control group (Na-CMC 1%), group 3 was test group 1 (Dose of 100 mg/kg BW), group 4 was test group 2 (Dose of 200 mg/kg BW), and group 5 was test group 3 (Dose of 300 mg/kg BW). The results revealed that the methanol extract of brotowali (*Tinospora crispera* L.) leaves contains secondary metabolites such as flavonoids, alkaloids and tannins. In addition, the methanol extract of brotowali leaves proved that the dose of 300 mg/kg BW indicated the activity of the best antidiabetic effect. Where at the time after alloxan blood, glucose levels increased to an average of 236.3 mg/dl. and decreased to 89.3 mg/dL., followed by the positive control group (glimepiride of 2 mg) and the extract test group with a dose of 200 mg/kg BW and 100 mg/kg BW, respectively.

Keywords:

Antidiabetes; Brotowali (*Tinospora crispera* L.) Leaf; Methanol; Mice (*Mus musculus*)

Received:
2024 -02-01

Accepted:
2024 -03-30

Online:
2024 -03-30

ABSTRAK

Diabetes mellitus adalah suatu penyakit dimana tubuh penderita tidak bisa secara otomatis mengendalikan tingkat gula dalam darah. Brotowali mengandung banyak senyawa kimia yang berkhasiat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Dimana tanaman ini dapat menurunkan kadar glukosa darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospra crispa L.*) dan efek antidiabetes ekstrak metanol daun brotowali pada mencit (*Mus musculus*). Metode penelitian ini menggunakan metode maserasi total, skrining fitokimia, analisis Kromatografi Lapis Tipis menggunakan eluen n-Heksan : etil asetat dengan perbandingan (8:2) dan uji efek antidiabetes. Dalam uji efek antidiabetes dilakukan menggunakan hewan uji mencit jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok 1 merupakan kelompok kontrol positif (Glimepirid 2 mg), kelompok 2 merupakan kelompok kontrol negatif (Na-CMC 1%), kelompok 3 merupakan kelompok uji 1 (Dosis 100 mg/kg BB), kelompok 4 merupakan kelompok uji 2 (Dosis 200 mg/kg BB), dan kelompok 5 merupakan kelompok uji 3 (Dosis 300 mg/kg BB). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospora crispa L.*) mengandung senyawa metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, dan tanin. Selain itu juga, ekstrak metanol daun brotowali terbukti bahwa dosis 300 mg/kg BB menunjukkan aktivitas efek antidiabetes yang paling baik dimana pada waktu setelah di induksi aloksan terjadi kenaikan kadar glukosa darah dengan rata-rata 236,3 mg/dL dan terjadi penurunan hingga 89,3 mg/dL. Selanjutnya diikuti oleh kelompok kontrol positif (Glimepirid 2 mg) dan kelompok uji ekstrak dengan dosis 200 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB.

Kata Kunci:

Antidiabetes, Daun Brotowali (*Tinospora crispa L.*), Metanol, Mencit (*Mus musculus*).

Diterima:
01-02-2024

Disetujui:
30-03-2024

Online:
30-02-20xx

1. Pendahuluan

Keanekaragaman flora yang ada di Indonesia sudah tidak diragukan lagi di dunia. Indonesia memiliki iklim tropis yang membuat beberapa tumbuhan-tumbuhan dan tanaman dapat tumbuh dengan subur. Kondisi dari lingkungan ini yang membuat para peneliti untuk melakukan penelitian dan mengambil sampel berupa tumbuhan yang ada di Indonesia yang sangat kaya akan jenis-jenis tumbuhan. Semua suku utama tumbuhan yang hidup di bumi dapat ditemukan di Indonesia. Indonesia memiliki sekitar 38.000 jenis tumbuhan, 3.000 jenis lumut, 4.000 jenis paku, dan 20.000 jenis tumbuhan biji (8% dari dunia). Selain itu di Indonesia banyak jenis-jenis keanekaragaman tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional dari zaman nenek moyang hingga sekarang [1].

Penggunaan tanaman obat masih sangat populer di kalangan masyarakat Indonesia. Hal ini disebabkan oleh melonjaknya biaya pengobatan dan harga obat-obatan yang sangat mahal. Penggunaan obat yang berasal dari bahan alam terbukti ampuh menyembuhkan penyakit dan penggunaannya lebih efektif, efisien, aman dan ekonomis. Selain itu, beberapa kelebihan tanaman obat tradisional antara lain relatif mudah didapat dan memiliki efek samping yang rendah. Sedangkan kelebihan obat tradisional sangat mudah diperoleh, bahan bakunya dapat ditanam di lingkungan sekitar, murah dan dapat diramu oleh setiap orang. WHO pun menyatakan bahwa sekitar 80% penduduk dunia masih menggantungkan dirinya pada pengobatan tradisional termasuk penggunaan obat yang berasal dari tumbuhan karena kelebihan-kelebihan yang dimilikinya tersebut. Meskipun obat modern telah terbukti dapat menyembuhkan penyakit, tetapi dengan harga yang tidak terjangkau dan efek samping yang ditimbulkan menyebabkan

masyarakat Indonesia tetap menggunakan obat tradisional sebagai pengobatan. Salah satu contoh pengobatan jangka panjang yaitu pengobatan penyakit diabetes mellitus [2],[3],[4].

Diabetes Mellitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik gula darah melebihi nilai normal. Diabetes adalah suatu penyakit dimana tubuh penderita tidak bisa secara otomatis mengendalikan tingkat gula dalam darah. Pada tubuh yang sehat pankreas melepas hormon insulin yang bertugas mengangkut gula melalui darah ke otot-otot dan jaringan lain untuk memasok energi. Ada dua tipe DM yaitu DM tipe I (childhood-onset diabetes, insulin-dependent diabetes mellitus, IDDM) adalah diabetes yang terjadi karena berkurangnya rasio insulin dalam sirkulasi darah akibat hilangnya sel beta penghasil insulin pada pulau-pulau Langerhans pankreas. IDDM dapat diderita oleh anak-anak maupun orang dewasa. Diabetes tipe ini hanya dapat diobati dengan menggunakan insulin. Kemudian diabetes tipe 2 adalah kondisi dimana tubuh pasien tidak cukup menerima insulin, sehingga menyebabkan kadar gula dalam darah menjadi tinggi ([5],[6],[7]).

Penderita DM di seluruh dunia diperkirakan sebanyak 285 juta orang. Jumlah ini diperkirakan akan meningkat paling sedikit menjadi 438 juta pada tahun 2030. Hasil survei kesehatan nasional 2013 dan International Diabetes Foundation (IDF) tahun 2015 diperkirakan jumlah penderita DM di Indonesia 9,1 juta orang. Sementara itu, menurut data World Health Organization (WHO) prevalensi 422 juta orang di dunia menderita diabetes melitus atau terjadi peningkatan sekitar 8,5 % pada populasi orang dewasa dan diperkirakan terdapat 2,2 juta kematian dengan presentase akibat penyakit diabetes melitus yang terjadi sebelum usia 70 tahun, khususnya di negara-negara dengan status ekonomi rendah dan menengah. Dan berdasarkan Riskesdas, bahwa wilayah Indonesia tengah terdapat 4 provinsi yang cukup meningkat diabetes melitus yaitu Gorontalo 2,4%, Sulawesi Tengah 2,1%, Sulawesi Selatan 1,7%, Sulawesi Utara 3%. Tingginya prevalensi diabetes mellitus yang belum dapat diatasi sepenuhnya dengan obat-obatan yang telah ada, maka diperlukan obat tradisional atau alternatif dengan efikasi yang lebih baik. Salah satu tanaman yang dapat digunakan yaitu tanaman Brotowali (*Tinospora Crispa L*) [8],[9].

Brotowali merupakan tanaman yang sudah dikenal sebagai obat, tanaman ini memanjat ke atas dan termasuk tumbuhan yang menyukai tempat panas. Batang pada tanaman ini seukuran jari kelingking. Brotowali mengandung banyak senyawa kimia yang berkhasiat untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit. Kandungan senyawa kimia berkhasiat sebagai obat tersebut terdapat diseluruh bagian tanamannya mulai dari akar, batang sampai daun. Secara umum di dalam tanaman brotowali terkandung berbagai macam senyawa kimia antara lain damar lunak, pati, glikosida, pikroretosid, harsa, zat pahit pikroretin, tinokrisposid, berberin, palmatin, kolumbin, kaokulin atau pikrotoksin, terpenoid, flavonoid dan alkaloid [10].

Senyawa flavonoid dan alkaloid merupakan senyawa antioksidan yang dapat menurunkan kadar glukosa darah. Senyawa antioksidan dapat berperan sebagai senyawa yang menetralkan radikal bebas, sehingga dapat mencegah kerusakan sel- sel tubuh terutama sel β pankreas. Senyawa antioksidan ini akan merangsang sel β pankreas untuk memproduksi insulin sehingga mampu mengontrol kadar gula darah [11],[12].

2. Metode Desain penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah desain ekperimental, dimana telah dilakukan

pengujian untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada ekstrak metanol Daun Brotowali (*Tinospora crispa* L.) serta untuk melihat efek antidiabetes pada mencit (*Mus musculus*).

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian yaitu batang pengaduk, bejana maserasi, blender (Maspion®), chamber KLT, disposable (OneMed®), erlenmeyer (Pyrex®), gelas kimia (Pyrex®), gelas ukur (Pyrex®), glucometer (One Touch®), gunting, kain saring, lampu UV 254 nm (CAMAG®), neraca analitik (OSUKA®), pipet tetes, sonde oral, sudip, stopwatch, tabung reaksi, vial, dan wadah pengamatan. Bahan yang digunakan pada penelitian yaitu aquades, aluminium foil, aloksan, CHCl₃, etanol 70% p.a, etil asetat, FeCl₃, glimepiride 2mg, HCl pekat p.a, kertas saring, lempeng KLT, metanol, Na-CMC, n-Heksan, reagen dragendorff, reagen lieberman burchard, sampel daun brotowali (*Tinospora crispa*), serbuk magnesium (Mg), silika gel dan stik glukosa (One Touch®).

Pembuatan Ekstrak Daun Brotowali (*Tinospora crispa* L.)

Daun brotowali (*Tinospora crispa* L.) yang telah dihaluskan kemudian diekstraksi dengan cara maserasi total dengan menggunakan pelarut metanol. Proses maserasi dilakukan dengan menimbang simplisia daun brotowali yang telah keringkan sebanyak 500 g, kemudian dicampurkan ke dalam 2000 mL pelarut hingga sampel terendam sempurna. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam, dan setelah 3 hari ekstrak disaring dengan menggunakan kertas saring. Kemudian hasil filtrat diuapkan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak kental [13]. Kemudian dihitung persen rendemen dengan rumus :

$$\text{Rendamen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental (y)}}{\text{Berat sampel (x)}} \times 100\%$$

Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Brotowali (*Tinospora crispa* L.)

Analisis Senyawa Alkaloid

Sebanyak 2 gram ekstrak daun brotowali dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi Dragendorff. Diamati perubahan yang terjadi setelah 30 menit. Hasil uji dinyatakan positif alkaloid apabila terbentuk endapan warna jingga [14].

Analisis Senyawa Flavonoid

Sebanyak 1 gram ekstrak daun brotowali dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan serbuk Magnesium 2 mg dan 3 tetes HCl pekat, dikocok dan diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil uji dinyatakan positif flavonoid apabila terjadi perubahan warna menjadi merah, kuning atau jingga [14].

Analisis Senyawa Triterpenoid dan Steroid

Sebanyak 2 gram ekstrak daun brotowali dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan dengan 2 tetes larutan CHCl₃, dan 3 tetes pereaksi Lieberman Burchard. Hasil uji dinyatakan positif triterpenoid jika terbentuk warna merah ungu. Sedangkan hasil uji dinyatakan positif steroid jika terbentuk warna merah pada larutan pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau [14]

Analisis Senyawa Saponin

Sebanyak 1 gram ekstrak daun brotowali dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan dengan air panas dan dikocok. Hasil uji dinyatakan positif saponin ditandai dengan terbentuknya busa dan tidak hilang saat penambahan 1 tetes HCl 2 N [14].

Analisis Senyawa Tanin

Sebanyak 1 gram ekstrak daun brotowali dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dan ditambahkan dengan beberapa tetes FeCl₃ 1%. Hasil uji dinyatakan positif tannin ditandai dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan [14].

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak kental daun brotowali (*Tinospora crispa* L) dianalisis menggunakan KLT dengan fase diam silika gel dan fase gerak eluen n-heksan dan etil asetat dengan perbandingan 8:2. Setelah proses elusi selesai, plat KLT dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Kemudian dilihat penampakan noda pada lampu sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm. Proses selanjutnya menganalisa nilai R_f [15].

$$\text{Nilai Rf} = \frac{\text{jarak yang ditempuh analit}}{\text{jarak yang ditempuh eluen}}$$

Uji Efek Antidiabetes Pada Mencit (*Mus musculus*)

Sebelumnya penelitian ini telah dilakukan pengujian kode etik dengan nomor SK 184/UN47.B7/KE/2023 yang telah disetujui oleh ketua komisi etik penelitian kesehatan UNG. Pada penelitian ini hewan uji yang digunakan yaitu sebanyak 15 ekor mencit jantan yang dibagi menjadi 5 kelompok, di mana kelompok negatif (Na-CMC 1%), kelompok positif (Glimepirid 2 mg), kelompok 1 (100 mg/kg BB ekstrak), kelompok 2 (200 mg/kg BB ekstrak), dan kelompok 3 (300 mg/kg BB ekstrak), masing-masing kelompok terdiri 3 ekor mencit. Semua kelompok diukur kadar gula darah sebelum dilakukan induksi (0 menit) sebagai kadar gula darah awal (t₀) dan semua kelompok diinjeksikan suspensi aloksan melalui rute intraperitoneal, namun mencit dipuasakan terlebih dahulu selama 6-8 jam sebelum dilakukan perlakuan.

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS dengan uji statistik *One Way ANOVA* (p<0,05) digunakan untuk melihat apakah terjadi pengaruh signifikan pada pemberian ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospora crispa* L) terhadap kadar glukosa darah mencit.

3. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi Daun Brotowali (*Tinospora crispa* L.)

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa ekstraksi sampel 500 gram daun brotowali (*Tinospora crispa* L.) menggunakan pelarut metanol sebanyak 2000 mL diperoleh ekstrak kental sebanyak 94,5 gram dengan persen rendemen sebesar 18,9%. Hasil rendemen yang didapatkan termasuk dalam rentang nilai rendemen yang baik yaitu tidak kurang dari 10% [16].

Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Metanol Daun Brotowali (*Tinospora crispa* L.)

Pelarut	Volume Pelarut (mL)	Berat Sampel (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Metanol	2000 mL	500 gram	58,5 gram	11,7%

Skринing Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Brotowali (*Tinospora crispa* L.)

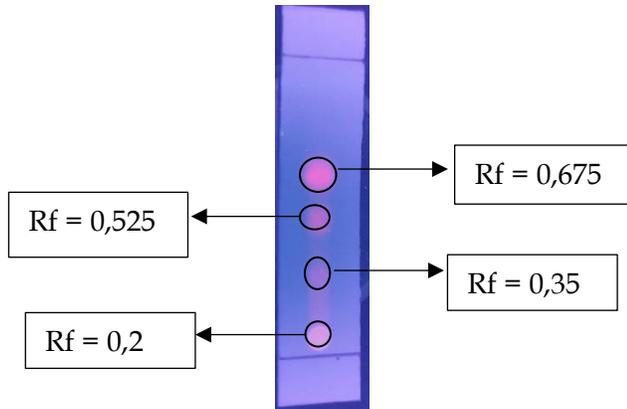
Tabel 2 menunjukkan hasil uji skrining fitokimia ekstrak daun Brotowali (*Tinospora crispa* L.) mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna. Hal penting yang berperan penting dalam skrining fitokimia adalah pemilihan pelarut dan metode ekstraksi [17].

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Daun Brotowali (*Tinospora crispa* L.)

Uji Fitokimia	Reagen	Hasil Positif	Hasil Ekstrak	Ekstrak Daun Brotowali
Alkaloid	HCl dan pereaksi Dragendroff	Adanya perubahan warna menjadi merah jingga	Berubah menjadi warna merah jingga	Positif Alkaloid
Flavonoid	Magnesium dan HCl	Adanya perubahan warna menjadi kuning	Berubah menjadi warna kuning	Positif Flavonoid
Tanin	FeCl ₃	Adanya perubahan warna menjadi biru tua atau hitam kehijauan	Berubah menjadi warna hitam kehijauan	Positif Tanin
Terpenoid / Steroid	Lieberman-Burchard	Adanya perubahan warna menjadi merah atau Biru kehijauan	Tidak terjadi perubahan warna	Negatif Terpenoid
Saponin	Air Hangat dan HCl	Terlihat adanya busa	Tidak terlihat adanya busa	Negatif Saponin

Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Metanol Daun Brotowali (*Tinospora crispa* L.)

Gambar 1. merupakan hasil dari dilakukannya uji kromatografi lapis tipis (KLT) dimana tujuan dari metode KLT ini yaitu sebagai analisis kualitatif digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa metabolit sekunder dari ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospora crispa* L.) [18].



Gambar 1. Profil KLT Ekstrak Metanol Pada Sinar UV 254 nm menggunakan Eluen n-Heksan dan Etil Asetat (8:2)

Ekstrak ditotolkan pada plat KLT dan dielusi menggunakan eluen n-Heksan : etil asetat dengan perbandingan 8:2. Pemilihan eluen didasarkan pada kemampuan fase gerak untuk mengelusi senyawa. Setelah dilakukan proses elusi kemudian dilihat bercak noda pada lampu UV 254 nm. Dari hasil proses tersebut didapatkan bercak noda dengan pemisahan optimum yaitu pada perbandingan 8:2. Pengamatan pada lampu UV didasarkan pada prinsip gelombang panjang 254 nm memberikan keadaan yang sebaliknya noda memberikan fluoresensi dan lempeng berwarna gelap, noda yang tampak timbul karena adanya daya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh aoksokrom yang ada pada noda [19].

Setelah didapatkan noda pada plat KLT, proses selanjutnya yaitu menganalisa nilai Rf dengan menggunakan rumus jarak yang ditempuh oleh komponen dibagi dengan jarak yang ditempuh oleh eluen. Berdasarkan analisis tersebut, bercak noda yang ada pada ekstrak metanol sebanyak 4 noda dengan nilai Rf 0,2, 0,35, 0,525, dan 0,675. Berdasarkan hasil tersebut dapat dilihat bahwa ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospora crista L.*) positif mengandung senyawa metabolit sekunder dengan memberikan hasil bercak noda serta hasilnya konstan setiap dilakukan pengulangan.

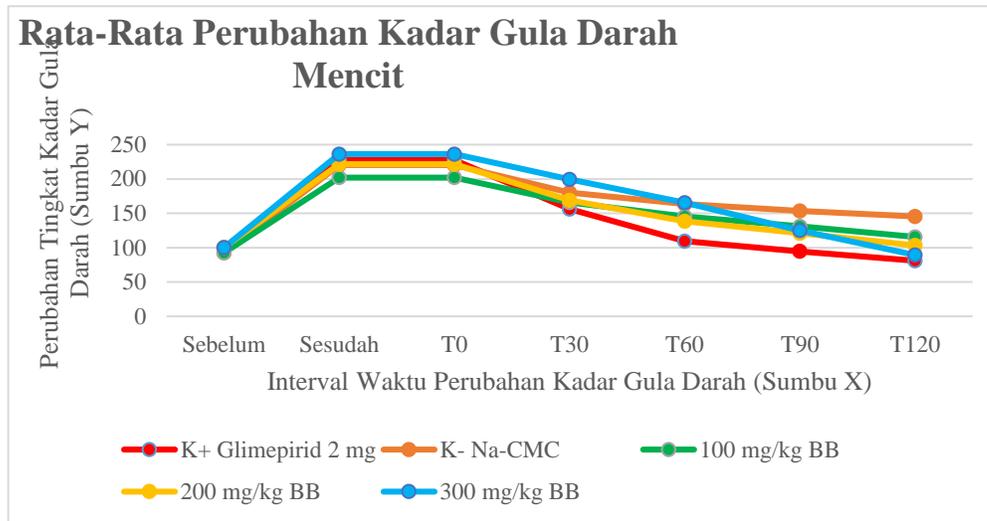
Uji Efek Antidiabetes Ekstrak Metanol Brotowali (*Tinospora crista L.*) Pada Mencit (*Mus musculus*)

Pengukuran awal kadar glukosa darah mencit yaitu setelah mencit dipuasakan selama 8 jam, 10 menit kemudian diberikan suspensi aloksan sebanyak 1 mL melalui intraperitoneal. Selanjutnya diukur kadar glukosa darah pada mencit setelah 3 hari pasca di induksi suspensi aloksan kemudian dilakukan perlakuan sesuai kelompok yang telah ditetapkan dengan rentang waktu menit ke 0, 30, 60, 90, dan 120.

Tabel 3. Hasil Uji Efek Antidiabetes Ekstrak Metanol Daun Brotowali (*Tinospora crista L.*) Pada Mencit (*Mus musculus*)

Kelompok	Replikasi	KGD	KGD	KGD Setelah Perlakuan (mg/dL)				
		Sebelum Induksi (mg/dL)	Setelah Induksi (mg/dL)	T ₀	T ₃₀	T ₆₀	T ₉₀	T ₁₂₀
Kontrol Positif (Glimepiride 2mg)	1	107	259	259	163	87	74	71
	2	101	217	217	156	138	127	96
	3	92	207	207	150	104	83	76
Rata-rata		100	227,6	227,6	156,3	109,6	94,6	81
Kontrol Negatif (Na-CMC)	1	78	213	213	168	156	154	137
	2	92	205	205	186	170	168	162
	3	108	243	243	186	165	139	137
Rata-rata		92,6	220,3	220,3	180	163,6	153,6	145,3
Kelompok Uji 1 (100 mg)	1	87	207	207	174	150	138	112
	2	99	186	186	154	150	129	117
	3	92	213	213	170	137	127	118
Rata-rata		92,6	202	202	166	145,6	131,3	115,6
Kelompok Uji 2 (200 mg)	1	119	243	243	174	138	117	99
	2	69	205	205	168	148	127	104
	3	114	217	217	165	129	119	107
Rata-rata		100,6	221,6	221,6	169	138,3	121	103,3
Kelompok Uji 3 (300 mg)	1	107	213	213	170	143	119	80
	2	95	250	250	243	186	132	92
	3	99	246	246	186	168	124	96
Rata-rata		100,3	236,3	236,3	199,6	165,6	125	89,3

Tabel 3 menunjukkan data hasil pengukuran kadar gula darah mencit pada masing-masing kelompok. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kelompok Uji ekstrak metanol daun Brotowali (*Tinospora crispa L.*) dengan dosis 300 mg/kg BB menunjukkan aktivitas efek antidiabetes yang paling baik pada waktu setelah di induksi aloksan terjadi kenaikan kadar glukosa darah dengan rata-rata 236,3 mg/dL dan terjadi penurunan hingga 89,3 mg/dL. Selanjutnya diikuti oleh kelompok kontrol positif (Glimepirid 2 mg) dan kelompok uji ekstrak dengan dosis 200 mg/kg BB dan 100 mg/kg BB.



Gambar 2. Grafik Perubahan Kadar Gula Darah Mencit Tiap Satuan Waktu

Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok yang diberikan suspensi Na-CMC 1% dan menunjukkan tidak memberikan efek penurunan kadar glukosa darah pada mencit. Hal ini terjadi karena Na-CMC 1% tidak dapat memberikan efek antidiabetes. Selain itu juga, Na-CMC sebagai kontrol negatif tidak memiliki khasiat atau efek antidiabetes melainkan hanya sebagai agen pensuspensi [20],[21],[22].

Kelompok kontrol positif merupakan kelompok yang diberikan suspensi obat Glimepirid 2 mg dan menunjukkan penurunan kadar glukosa darah pada mencit sebesar 81 mg/dL pada menit ke T₁₂₀. Hal ini terjadi karena obat glimepirid merupakan salah satu obat antidiabetika oral golongan sulfonilurea generasi ketiga yang mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan efek samping hipokalemia yang kecil atau sangat kecil kemungkinan terjadi. Pemberian glimepirid dipilih sebagai kontrol positif dikarenakan mekanisme kerja Glimepirid sesuai dengan mekanisme kerja dari ekstrak yang akan diuji yaitu mencegah kerusakan sel-sel tubuh terutama sel β pankreas. Senyawa antioksidan ini akan merangsang sel β pankreas untuk memproduksi insulin [23].

Kelompok perlakuan merupakan kelompok yang diberikan ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospora crispaL.*) dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB, dan 300 mg/kg BB dan menunjukkan memiliki efek antidiabetes yang baik. Aktivitas Antidiabetes dari ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospora crispaL.*) didapatkan dari senyawa metabolit sekunder, pada ekstrak metanol daun brotowali yang diuji dalam penelitian ini positif mengandung senyawa metabolit sekunder berupa senyawa flavonoid, senyawa alkaloid dan senyawa tanin. Dalam beberapa penelitian senyawa flavonoid memiliki efek antidiabetes. Kemampuan flavonoid 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. Selain itu juga, flavonoid dapat menghambat fosfodiesterase yang menyebabkan peningkatan cAMP pada sel β pankreas. Peningkatan cAMP akan menstimulasi pengeluaran protein kinase A (PKA) yang merangsang sekresi insulin semakin meningkat. Selain itu juga, flavonoid dapat menghambat enzim α -amilase, Pengaruh penghambatan α -amilase terhadap absorpsi karbohidrat dan glukosa plasma setelah makan (*postprandial*) telah di uji pada manusia dan menunjukkan bahwa penghambat tersebut memperlambat penyerapan dan mengurangi konsentrasi glukosa plasma. Oleh karena itu penghambat α -amilase dapat dimanfaatkan bagi penderita diabetes mellitus tipe II, meningkatkan insulin serta faktor-faktor yang berhubungan dengan sensitivitas insulin, Flavonoid bersifat protektif terhadap kerusakan sel β sebagai penghasil insulin serta dapat meningkatkan sensitivitas insulin. Antioksidan pada flavonoid dapat menurunkan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dengan cara menyumbangkan atom hidrogennya. Flavonoid akan teroksidasi dan berikatan dengan radikal bebas sehingga radikal bebas menjadi senyawa yang lebih stabil [24],[25],[26]

Senyawa lain yang memiliki efek antidiabetes yaitu alkaloid. Alkaloid terbukti dapat meregenerasi sel β pankreas yang rusak. Selain itu juga, alkaloid dapat merangsang saraf simpatik (simpatomimetik) yang berakibat pada peningkatan sekresi insulin. Mekanisme kerja alkaloid dalam menurunkan gula darah yaitu 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. Selain itu, mekanisme lain dari alkaloid dalam menurunkan kadar glukosa darah adalah dengan menghambat enzim α -glukosidase pada mukosa duodenum sehingga penguraian polisakarida menjadi monosakarida dapat terhambat. Dengan demikian glukosa yang dilepaskan juga lebih lambat dan absorpsinya ke dalam darah kurang cepat dan lebih rendah sehingga puncak kadar gula darah dapat dihindari [27],[28].

Adapun senyawa tanin yang memiliki efek antidiabetes. Mekanisme tanin terhadap penurunan kadar glukosa darah ada beberapa mekanisme yaitu tanin menurunkan absorpsi nutrisi dengan menghambat penyerapan glukosa di intestinal, selain itu menginduksi regenerasi sel β pankreas yang berefek pada sel adipose sehingga menguatkan aktifitas insulin. Tanin merupakan pemangsa radikal bebas dan meningkatkan *uptake* glukosa dalam darah melalui aktifitas mediator insulin sehingga menurunkan glukosa dalam darah. Selain itu, senyawa tanin yang dapat menangkap radikal bebas dan mengurangi peningkatan stress oksidatif pada penderita penyakit diabetes, sehingga mampu mengontrol kadar glukosa darah dan mencegah terjadinya komplikasi. Mekanisme kerja senyawa tanin sebagai astringen untuk melindungi permukaan usus dengan mempresipitasi protein selaput lendir usus, sehingga dapat melapisi usus dan penghambatan absorpsi glukosa yang menyebabkan glukosa darah meningkat tidak terlalu cepat pada penderita diabetes [29],[30].

Analisis Data

Tahap kepercayaan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebesar 95% atau $\alpha = 0,05$. Tingkat kepercayaan 95% sering digunakan dalam penelitian-penelitian, yang mana ini menunjukkan bahwa hanya 5% peluang terjadinya kesalahan, dengan menggunakan analisis *One Way ANOVA*, dan uji *post hoc* LSD didapatkan adanya perbedaan nilai signifikan ditunjukkan

dengan nilai signifikansi yang kurang dari 0,05 uji statistik *One Way ANOVA* dari masing-masing uji efek antidiabetes. Berdasarkan hasil analisis dapat diketahui bahwa ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospora crispa L.*) memiliki aktivitas sebagai antidiabetes. Semua kelompok uji yang menggunakan ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospora crispa L.*) memiliki efek antidiabetes yang ditunjukkan dengan kemampuan menurunkan kadar gula darah pada mencit dengan konsentrasi paling baik yaitu dosis 300 mg/kg BB ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospora crispa L.*).

4. Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa hasil skrining fitokimia ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospora crispa L.*) mengandung metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, dan tannin. Ekstrak metanol brotowali (*Tinospora crispa L.*) juga memiliki aktivitas sebagai antidiabetes, dengan konsentrasi paling baik yaitu dosis 300 mg/kg BB ekstrak metanol daun brotowali (*Tinospora crispa L.*) dengan rata-rata penurunan kadar glukosa darah sebesar 89,3 mg/dL.

Referensi

- [1] Badaring, D.R., Sari, S.P.M., Nurhabiba, S., Wulan, W. and Lembang, S.A.R., (2020). Uji ekstrak daun maja (*Aegle marmelos L.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences*, 6(1), p.16.
- [2] Yassir, M & Asnah, (2018), Pemanfaatan Jenis Tumbuhan Obat Tradisional di Desa Batu Hamparan Kabupaten Aceh Tenggara, *Jurnal Biotik*, vol. 6, no. 1, hal. 17-34
- [3] Nisyapuri, F., Iskandar, J., & Partasasmita, R. (2018). Studi Etnobotani Tumbuhan Obat di Desa Wonoharjo, Kabupaten Pangandaran, Jawa Barat. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 2018 Universitas Padjajaran*. Vol. 4(2).
- [4] Fauziah., Maghfirah, L. dan Hardiana. (2021). Gambaran Penggunaan Obat Tradisional Pada Masyarakat Desa Pulo Secara Swamedikasi. *Jurnal Sains dan Kesehatan Darussalam*. 1(1): 37-50.
- [5] Kartini K, Khumaidi A, Khaerati K, Ihwan. (2018). Ekstrak Etanol Daun Eboni Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Veteriner*, 19. 330-331.
- [6] Rizky Adhi Nugroho, Tarno, Alan Prahutama. (2017). Klasifikasi Pasien Diabetes Mellitus Menggunakan Metode Smooth Support Vector Machine (SSVM). Universitas Diponegoro. *Jurnal Gaussian*. Volume 6. Nomor 3. Halaman 439-448.
- [7] Wirnasari, A. Tumanggor. (2019). Hubungan Self Care dengan Kualitas Hidup Pasien Diabetes Melitus di Rumah Sakit Santa Elisabeth Medan. *Skripsi*. Program Studi Ners Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Santa Elisabeth Medan.
- [8] Kemenkes RI. (2018). Laporan Hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) Indonesia tahun 2018. *In Riset Kesehatan Dasar 2018* (pp. 182–183).
- [9] Siswanto, S. (2018). Pengembangan Kesehatan Tradisional Indonesia: Konsep, Strategi dan Tantangan. *Jurnal Penelitian Dan Pengembangan Pelayanan Kesehatan*, 1(1), 17–31.
- [10] Fatikhurokhmah, H.M. and Agustini, R., (2022). Concentration Effect of Brotowali Stem (*Tinospora Crispa (L.)*) in Ethanol Extracts on the A-Glukosidase Enzyme Inhibition. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 11(3), pp.241-249.

- [11] Isti Fadah & Nugrahaningsih. (2020). Efek Pembeian Ekstak Kulit Buah Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kadar MDA Tikus Hiperqlikemia. *Life Science*. 9 (1).
- [12] Kawatu C., Bodhi W., and Mongi J. (2013). Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Kucing-Kucingan (*Acalypha indica* L.) terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*). *Pharmacon Jurnal Ilmiah Farmasi*. 2(1), 81-87.
- [13] Handayani, Hana., Sriherfyna, F.H dan Yunianta. (2016). Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian rasio Bahan : Pelarut dan Lama Ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Vol. 4 (1): 262-272.
- [14] Purwati, S., Lumowa, S.V.T dan Samsurianto. (2017). Skrining Fitokimia Daun Saliara (*Lantana camara* L) Sebagai Pestisida Nabati Penekan Hama Dan Insidensi Penyakit Pada Tanaman Holtikultura Di Kalimantan Timur. *Pendidikan Biologi FKIP Universitas Mulawarman*: 153-158
- [15] Kusnadi., Egie Triana dan Devi. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Ekstrak Daun Seledri (*Apium graveolens* L) dengan Metode Refluks. *Jurnal. Politeknik Harapan Bersama Tegal*.
- [16] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Farmakope Hebal Indonesia Edisi II*. In Farmakope Herbal Indonesia
- [17] Rissa Laila Vifta, Yustisia Dian Advistasari., (2018). Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan FraksiFraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.) Universitas Ngudi Waluyo, *Ungaran STIFAR "Yayasan Pharmacy" Semarang*.
- [18] Jayanti, R., Aprilia, H., dan Lukmayani, Y. (2015). Analisis Bahan Kimia Obat (BKO) Glibenklamid Dalam Sediaan Jamu Diabetes Yang Beredar Dipasaran. Prosiding Penelitian SPeSIA 2015. Surabaya: *Prodi Farmasi FMIPA Unisba*, hh 649-653
- [19] Maulana, M. (2018). Profil kromatografi lapis tipis (KLT) ekstrak daun bidara arab (*Ziziphus spina cristi* L.) berdasarkan variasi pelarut. *Malang.: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim*.
- [20] Musdja, M.Y., Nurdin, A., & Musir, A. (2020). Antidiabetic effect and glucose tolerance of areca nut (*Areca catechu*) seed ethanol extract on alloxan induced diabetic male rats. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. Vol. 462(1). IOP Publishing.
- [21] Hasballah, Kartini. (2017). In Vivo Antihyperglycemic Agent Evaluation In Mice. *Proceedings of The 1st Syiah Kuala International Conference on Medical Health Science*. Banda Aceh. Indonesia.
- [22] Djuwarno, Endah Nurrohwindita & Abdulkadir, Widy Susanti. (2019). Penurunan Kadar Glukosa Mencit Akibat Pemberian Kombinasi Metformin dan Esktak Bawang Merah. *Journal Syifa Science and Clinical Research*. Vol. 1(1); 8-13.
- [23] Maulidya, Nurul (2021) Profil Penggunaan Obat Antidiabetes Oral Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Di Puskesmas Grabag Periode Oktober-Desember 2020. *S1 thesis*, Universitas Ngudi Waluyo.
- [24] Puspitasari, R.N., Sudjarwo, S.A., Pranoto, A. and Basori, A., (2022). Antioxidant activity of *Tinospora crispa* extracted with different ethanol solvents. *Bali Medical Journal*, 11(3), pp.1107-1110.
- [25] Saidi, I. dkk. (2022). Synthesis of new halogenated glavonoid-based isoxazoles: In vitro and in silico evaluation of a-amylase inhibitory potential, a SAR analysis and DFT studies. *Journal of Molecular Structure*.
- [26] Zang, Y., Igarashi, K., & Li, Y. (2016). Anti-diabetic effect of luteolin and luteolin-7-O-glucoside on KK-A y mice. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 80(8), 1580-1586.

- [27] Larantukan, S. V. M., Setiasih, L. N. E., Widyastuti, S. K., & et al. (2014). Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor Glukosa Darah Tikus Hiperglikemia. *Indonesia Medicus Veterinus*, 3(4), 292-299.
- [28] Sundhani, E. dkk. (2016). Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Adam Hawa (*Rhoeo discolor*) Dan Daun Pucuk Merah (*Syzygium campanulatum* Korth.) Dalam Menurunkan Kadar Gula Darah Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar Dengan Pembebanan Glukosa. *Pharmacy*. Vol.13(2).
- [29] Kumari, M dan Jain, S. 2012. Tannins : An Antinutrient with Positive Effect to Manage Diabetes. *Research Journal of Recent Science*. Vol 1(12) : 70-1
- [30] Indrawati, Sri., Yuliet, Ihwan. 2015. Efek Antidiabetes Ekstrak Air Kulit Buah Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* L.) Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Model Hiperglikemia. *Galenika Journal of Pharmacy* Vol. 2 (1): 133 - 140.