

**PERBAIKAN KADAR INSULIN TIKUS JANTAN GALUR WISTAR TERINDUKSI
STREPTOZOTOCIN (STZ) AKIBAT PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BATANG BROTOWALI**

Ayu Ashari¹, Eva Nurinda^{2*}, Annisa Fatmawati³

¹Program Studi Sarjana Farmasi; Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan; Universitas Alma Ata

²Program Studi Sarjana Farmasi; Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan; Universitas Alma Ata

³Program Studi Sarjana Farmasi; Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan; Universitas Alma Ata

Email: ayuashari759@gmail.com; evanurinda@almaata.ac.id; annisafatma20@almaata.ac.id;

Korespondensi:

Eva Nurinda

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Alma Ata
evanurinda@almaata.ac.id

Abstrak

Batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) memiliki kandungan flavonoid yang berperan sebagai antioksidan diharapkan berpotensi menurunkan kadar glukosa darah serta meningkatkan kadar insulin pada tikus akibat induksi STZ. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol batang brotowali (EEBB) terhadap kadar insulin pada tikus wistar jantan yang diinduksi STZ. Pengukuran kadar insulin tikus dengan menggunakan metode *mouse insulin ELISA kit*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol batang brotowali dosis 450 mg/kgBB tikus berbeda signifikan dengan $p\text{-value} < 0,05$ antara kelompok kontrol hiperglikemik dan kelompok perlakuan EEBB. Hasil ini ditunjukkan dengan adanya peningkatan rerata kadar insulin tikus setelah diberikan EEBB selama 10 hari. Dosis pemberian ekstrak etanol batang brotowali yang direkomendasikan hasil dari penelitian ini sebesar 450 mg/kgBB selama 10 hari, telah membuktikan potensinya dalam meningkatkan kadar insulin pada tikus wistar jantan yang diinduksi STZ. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa batang brotowali berpotensi sebagai pengobatan pendamping kontrol glikemik berbahan alami dengan kandungan flavonoid pada pasien dengan diabetes.

Kata Kunci: batang brotowali; diabetes melitus; kadar insulin; *Tinospora crispa* L.

**IMPROVEMENT OF WISTAR RAT INSULIN LEVELS MALE STREPTOZOTOCIN (STZ)
INDUCED DUE TO GIVING ETHANOL EXTRACT FROM BROTOWALI STEM**

Abstract

Brotowali stems (Tinospora crispa L.) contain flavonoids which act as antioxidants and are expected to have the potential to reduce blood glucose levels and increase insulin levels in mice due to STZ induction. The purpose of this study was to determine the effect of brotowali stem ethanol extract (EEBB) on insulin levels in STZ-induced male Wistar rats. Measurement of mouse insulin levels using the mouse insulin ELISA kit method. The results showed that the ethanol extract of brotowali rods at a dose of 450 mg/kgBW rats were significantly different with $p\text{-value} < 0.05$ between the hyperglycemic control group and the EEBB treatment group showing an increase in the mean insulin levels of the rats after being given EEBB for 10 days. Brotowali stem ethanol extract at a dose of 450 mg/kgBB for 10

days has the potential to increase insulin levels in STZ-induced male Wistar rats. Brotowali stems can be used for the treatment of natural ingredients with flavonoid content.

Keywords: *brotowali stem; diabetes mellitus; insulin levels; Tinospora crispa L.*

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus adalah gangguan metabolisme yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar glukosa dalam darah¹. Berdasarkan data dari *World Health Organization* (WHO) angka kejadian penyakit tidak menular pada tahun 2019 mencapai 48,30% sedangkan angka kejadian penyakit menular sebesar 47,50%. Jumlah penderita diabetes terus meningkat, menurut perkiraan WHO terdapat 422 juta orang dewasa dengan diabetes di seluruh dunia pada tahun 2014. Prevalensi yang disesuaikan dengan usia pada orang dewasa naik dari 4,7% pada tahun 1980 menjadi 8,5% pada tahun 2014, dengan kenaikan terbesar di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah dibandingkan dengan negara-negara berpenghasilan tinggi². Empat puluh tiga persen dari 3,7 juta kematian yang disebabkan oleh diabetes mellitus terjadi sebelum usia 70 tahun di negara-negara berpenghasilan menengah kebawah dibandingkan negara-negara yang berpenghasilan tinggi³.

Prevalensi diabetes mellitus di Indonesia berdasarkan diagnosis dokter pada penduduk usia ≥ 15 tahun di Provinsi Daerah Istimewah Yogyakarta sebesar 2,6% pada tahun 2013 dan mengalami peningkatan sebesar 0,5% pada tahun 2018 menjadi 3,1%, Yogyakarta menempati urutan ke-2 setelah DKI Jakarta yaitu 3,4%³. Pengobatan diabetes mellitus yang telah digunakan saat ini diantaranya: pemberian insulin untuk diabetes tipe 1 dan pemberian tablet antihiperglikemi untuk diabetes mellitus tipe 2 yang tersedia di Indonesia seperti golongan sulfonilurea, biguanid, glinid, penghambat α -glukosidase, tiazolidindion⁴. Pemilihan obat-obat kimia memerlukan pertimbangan dalam memilih terapi yang tepat, selain memerlukan biaya yang besar, obat kimia juga dapat menimbulkan efek yang tidak diinginkan seperti efek samping dari obat (*Advers Drug Reaction*). Beberapa peneliti menyatakan, penggunaan obat antidiabetik dapat menyebabkan efek samping seperti gangguan pencernaan, mual dan diare, serta jika digunakan dalam jangka panjang dapat menyebabkan efek samping lainnya seperti kekurangan vitamin B12 dan peningkatan resiko kanker⁵.

Adanya efek samping terhadap penggunaan obat antidiabetik mendorong motivasi para ahli untuk menghasilkan obat alternatif dari bahan alam yang efektif dan dapat dijangkau

oleh masyarakat serta memiliki efek samping yang lebih minimal dibandingkan dengan obat kimia. Brotowali (*Tinospora crispa* L.) merupakan salah satu bahan obat tradisional yang paling banyak digunakan secara empiris oleh masyarakat Indonesia untuk menurunkan kadar gula darah. Hal ini karena kandungan senyawa metabolit sekunder dari batang brotowali seperti flavonoid, alkaloid, damar, lemak, glikosida prikoretosid, pati, berberin, harsa, zat pahit pikroretin dan palmitan⁷.

Penelitian Ruli Kuswati, *et al* (2017), menyebutkan bahwa sensitivitas insulin pada penderita DM meningkat dengan pemberian ekstrak etanol batang brotowali (EEBB). Hal ini dikarenakan, pada batang brotowali terdapat kandungan flavonoid yang dapat melawan radikal bebas, sehingga dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah⁸. Flavonoid juga mampu meregenerasi sel beta β pankreas, sehingga dapat meningkatkan sensitivitas insulin⁹. Berdasarkan uraian diatas penulis tertarik untuk melakukan penelitian pada pengaruh pemberian ekstrak etanol batang brotowali terhadap kadar insulin pada tikus wistar jantan yang telah diinduksi streptozotocin (STZ).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Batang brotowoali, alkohol 70%, glibenclamid, STZ- Na, larutan buffer sitrat 0,1 M (pH 4,5)

Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *pretest and post-test with control group design*.

Pembuatan Ekstrak Batang Brotowali

Pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi dengan cara batang brotowali dihaluskan hingga menjadi serbuk, kemudian ditimbang sebanyak 100 gram dan dilarutkan dalam 1000 mL etanol 70%. Maserasi dilakukan selama 1x24 jam, kemudian dilanjutkan remaserasi selama 1x24 jam. Kemudian dilakukan penguapan sampai menjadi ekstrak kental. Selanjutnya dihitung rendemen ekstrak menggunakan rumus di bawah ini.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak (g)}}{\text{Berat serbuk (g)}} \times 100\%$$

Pengukuran Kadar Insulin

Pengambilan sampel darah tikus dilakukan sebanyak 3 kali yaitu pengambilan sampel darah 3 hari setelah masa adaptasi, pengambilan sampel darah 3 hari setelah induksi STZ dan

pengambilan sampel darah pada hari ke-11 setelah pemajanan EEBB¹⁰. Pengambilan sampel darah tikus digunakan untuk mengukur kadar gula darah dan kadar insulin. Pengukuran kadar insulin tikus dilakukan pada hari ketiga setelah induksi STZ dan pada hari terakhir perlakuan dengan cara mengambil serum darah dari vena mata tikus¹¹, serum darah disentrifuge pada suhu 4°C dengan kecepatan 1000 rpm selama 20 menit. Serum sampel di reaksi dengan *monoclonal anti-mouse insulin*, kemudian diukur dengan alat *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm¹².

Analisis Data

Data hasil rerata kadar insulin pada kelompok penelitian yang dianalisis dengan *one-way* Anova menggunakan program aplikasi statistika.

Etik Penelitian

Pengajuan proposal hingga keseluruhan proses penelitian ini telah sesuai dengan kode etik penelitian pada hewan uji yang didapatkan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Universitas Alma Ata dengan Nomor: KE/AA/III/1014/EC/2020.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Ekstrak Etanol Batang Brotowali

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh hasil perhitungan rendemen ekstrak etanol batang brotowali (EEBB) sebanyak 33,9% (Tabel 1). Rendemen diukur dalam penelitian ini karena menggambarkan persentase bahan baku serbuk batang brotowali yang dapat dimanfaatkan untuk dijadikan ekstrak. Semakin besar rendemen yang didapatkan menunjukkan kualitas yang baik serta menggambarkan kebutuhan sampel yang diperlukan dalam pembuatan ekstrak¹³.

Tabel I. Hasil Persentase Rendemen Ekstrak Etanol Batang Brotowali

Simplisia	Berat Ekstrak (gram)	Berat Serbuk (gram)	Rendemen (%)
Batang Brotowali	33,9	100	33,9

Hasil Uji *One-way Anova* Rerata Kadar Insulin Tikus *Pretest* dan *Post-test*

Hasil uji *One Way Anova* (Tabel 2), menunjukkan paling tidak terdapat dua kelompok yang mempunyai rerata kadar insulin yang berbeda bermakna dengan nilai signifikansi sebesar $p=0,001$ ($p<0,05$). Oleh karena itu, untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan bermakna rerata kadar insulin antar kelompok, maka dilakukan *post hoc least significant difference* (LSD) test.

Tabel II. Hasil Uji *One-way Anova* Rerata Kadar Insulin Tikus Pretes dan Postes

Kelompok	n	Kadar Insulin Hari ke 3 (<i>Pretest</i>)	Kadar Insulin Hari ke-11(<i>Post-test</i>)	Nilai p
		Rerata	Rerata	
		(<i>Mean ± SD</i>)	(<i>Mean ± SD</i>)	
K1	6	569,82 ± 5,59 ^a	563,62 ± 3,72 ^a	0,001
K2	6	399,08 ± 7,13 ^b	393,59 ± 9,81 ^b	
K3	6	395,54 ± 6,74 ^{bc}	505,59 ± 8,26 ^c	
K4	6	388,28 ± 7,95 ^c	491,61 ± 6,43 ^c	

Keterangan: SD= Standar deviasi; K1= Kelompok hewan uji normal; K2= Kelompok Hiperglikemik; K3= Kelompok pembanding yang diberikan glibenclamid; K4= Kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak etanol batang brotowali dosis 450 mg/kgBB

Berdasarkan hasil uji *post hoc* LSD pada Tabel 2 (*pretest*), diketahui bahwa rerata kadar insulin kelompok tikus K1 berbeda signifikan dengan kelompok K2, K3 dan K4. Hal ini menunjukkan hanya kelompok K1 yang tidak mengalami DM. Setelah semua kelompok tikus dalam kondisi DM (kecuali K1), pada kelompok tikus hiperglikemik (K2) hanya diberikan Pakan AIN-93M dan air, kelompok perlakuan (K4) diberikan ekstrak etanol batang brotowali dengan dosis 450 mg/kgBB tikus/hari selama 10 hari, dan kelompok pembanding (K3) diberikan glibenclamid dosis 0,09 mg/200 g BB tikus/hari selama 10 hari.

Berdasarkan hasil uji *post hoc* *Tamhane's* pada Tabel 2 (*Post-test*) menunjukkan perbandingan rerata kadar insulin kelompok kontrol hiperglikemik dibandingkan dengan kelompok tikus yang diberikan EEBB dosis 450 mg/KgBB tikus, memiliki nilai probabilitas 0,001 ($p < 0,05$), dapat diartikan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara kelompok tikus kontrol hiperglikemik dengan kelompok tikus yang diberikan diberikan EEBB dosis 450 mg/kgBB tikus. Hasil ini membuktikan bahwa ekstrak etanol batang brotowali dapat berpotensi dalam meningkatkan kadar insulin pada tikus wistar yang diinduksi STZ. Hal ini dibuktikan dengan adanya peningkatan kadar insulin pada kelompok tikus yang diberikan EEBB pada dosis 450 mg/kgBB selama 10 hari.

Berdasarkan hasil analisis *post hoc* pada kelompok tikus yang diberikan glibenclamid dosis 0,09mg/200gBB tikus dan kelompok tikus yang diberikan EEBB dosis 450 mg/kgBB tikus menunjukkan nilai probabilitas $p = 0,053$ ($p > 0,05$), artinya bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok tikus glibenclamid dan kelompok tikus yang diberikan EEBB. Hal ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol batang brotowali dosis 450 mg/

kgBB memiliki aktivitas antidiabetes yang sebanding dengan glibenclamid sebagai obat antidiabetes sintetis oral.

Hal ini merujuk pada penelitian Ruli Kuswati, *et al* (2017), yang menyatakan bahwa sensitivitas insulin pada penderita diabetes dapat meningkat dengan pemberian ekstrak etanol batang brotowali, hal ini dikarenakan pada batang brotowali terdapat kandungan flavonoid yang dapat melawan radikal bebas, sehingga dapat menurunkan glukosa darah dengan aksi meningkatkan sensitivitas insulin⁸. Flavonoid dapat meningkatkan sensitivitas insulin dengan cara mengikat radikal bebas penyebab *resistensi* insulin¹⁴. Flavonoid memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang mampu menekan apoptosis sel β pankreas tanpa mempengaruhi proliferasi sel β *pancreas*¹⁵. Selain itu antioksidan juga dapat menurunkan *reactive oxygen species* (ROS) yang dihasilkan dari reaksi antara oksigen dan elektron bebas dalam mitokondria¹⁶.

Flavonoid mampu meregenerasi sel β pankreas pada tikus diabetes, sehingga dapat meningkatkan sensitivitas insulin¹⁷. Ada beberapa mekanisme kerja obat antihiperglikemik oral, diantaranya meningkatkan sekresi insulin (golongan sulfonilurea), meningkatkan kepekaan insulin jaringan otot, jaringan lemak dan hati serta menghambat penguraian polisakarida menjadi sakarida¹⁸. Dalam hal ini, flavonoid memiliki potensi yang sama dengan obat antihiperglikemik oral golongan sulfonilurea dalam menurunkan kadar gula darah dengan cara meningkatkan sekresi insulin pada *organ pancreas*^{19,20}.

Berdasarkan pengalaman peneliti dalam proses penelitian ini, ada beberapa keterbatasan yang dialami oleh peneliti diantaranya adalah penggunaan dosis hanya satu, sehingga tidak ada perbandingan kemampuan ekstrak etanol batang brotowali dalam meningkatkan kadar insulin. Selain itu, peneliti tidak dapat menguji jenis flavonoid spesifik dan menetapkan kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol batang brotowali, karena keterbatasan pada alat dan bahan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Pemberian ekstrak etanol batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) dosis 450 mg/kgBB selama 10 hari memiliki potensi dalam meningkatkan kadar insulin pada tikus wistar jantan yang diinduksi STZ.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait uji antihiperglikemik ekstrak etanol batang brotowali (*Tinospora crispa* L.) dengan beberapa variasi dosis untuk mempertegas kemampuan ekstrak etanol batang brotowali

sebagai antihiperlikemik. Selain itu perlu dilakukannya uji histopatologi organ pankreas tikus untuk mengetahui adanya kerusakan sel β pankreas akibat induksi STZ dan adanya perbaikan sel β pankreas setelah pemberian ekstrak etanol batang brotowali (*Tinospora crispa* L.).

KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kharroubi AT. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes* [Internet]. 2015;6(6):850–67. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4478580/>.
2. World Health Organization (WHO). Classification of diabetes mellitus [Internet]. World Health Organization. Geneva; 2019. Available from: <https://www.who.int/health-topics/diabetes>.
3. Atlas IDFD. International Diabetes Federation [Internet]. 9th Editio. International Diabetes Federation. Avenue Herrmann-Debroux 54 B-1160 Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2019. 10–15 p. Available from: https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/material/20200302_133351_IDFATLAS9e-final-web.
4. Riskesdas K. Hasil Utama Riset Kesehata Dasar (RISKESDAS). Jakarta; 2018.
5. Perkeni. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia. Vol. 71. 2015. 730.
6. Muhlishoh A, Wasita B, Patriado Nuhriawangsa AM. Antidiabetic effect of *Centella asiatica* extract (whole plant) in streptozotocin nicotinamide-induced diabetic rats. *J Gizi dan Diet Indones (Indonesian J Nutr Diet)*. 2019;6(1):14.
7. Dalimartha S. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jakarta: Puspa Swara; 2008. 10 p.
8. Kuswati R, Nurmita, Rijai L. Uji in Vivo Aktivitas Ekstrak Etanol Batang Brotowali (*Tinospora Crispa*) Sebagai Penurun Kadar Glukosa Darah. *Proceeding 6th Mulawarman Pharm Conf*. 2017;78–83.
9. Fatmawati A, Bachri MS, Nurani LH. Combination Effects of *Moringa oleifera* Leaf Ethanol Extract and *Andrographis paniculata* Herb on Blood Glucose Levels and Pancreas Histopathology of Diabetic Rats Induced by Streptozotocin. *Maj Obat Tradis*. 2019;24(2):85.
10. Nurinda E, Hadi H, Lestari AP. Porang flour with keji beling maceration reduced total cholesterol levels in diabetic rats male wistar rats. *J Gizi dan Diet Indones (Indonesian J Nutr Diet)*. 2019;6(2):64.
11. Qinna NA, Badwan AA. Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic rats. *Drug Des Devel Ther*. 2015;9:2515–25.
12. Tibrani MM. Kadar Insulin Plasma Mencit yang Dikondisikan Diabetes Mellitus Setelah Pemberian Ekstrak Air Daun Nimba. *Pros Semin Nas Penelitian, Pendidik dan Penerapan MIPA, Fak MIPA, Univ Negeri Yogyakarta*. 2009;112–20.
13. Kusumawardani N. Antiinflamasi Macaranga Tanarius [Internet]. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta; 2015. Available from: <https://repository.usd.ac.id/2536/>

14. Al-Ishaq RK, Abotaleb M, Kubatka P, Kajo K, Büsselberg D. Flavonoids and their anti-diabetic effects: Cellular mechanisms and effects to improve blood sugar levels. *Biomolecules*. 2019;9(9).
15. Anggi V, Tandi J, Veronika V. Total Flavonoid Dan Efektivitas Ekstrak Etanol Biji Kelor (*Moringa oleifera* L) Asal Kota Palu Sulawesi Tengah terhadap Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Streptozotocin. *J Ilm Manuntung*. 2020;6(1):24.
16. Prawitasari DS. Diabetes Melitus dan Antioksidan. *Keluwih J Kesehat dan Kedokt*. 2019;1(1):48–52.
17. Ghorbani A, Rashidi R, Shafiee-Nick R. Flavonoids for preserving pancreatic beta cell survival and function: A mechanistic review. *Biomed Pharmacother*. 2019;111(December 2018):947–57.
18. Sola D, Rossi L, Schianca GPC, Maffioli P, Bigliocca M, Mella R, et al. Sulfonylureas and their use in clinical practice. *Arch Med Sci*. 2015;11(4):840–8.
19. Chen J, Mangelinckx S, Adams A, Wang ZT, Li WL, De Kimpe N. Natural flavonoids as potential herbal medication for the treatment of diabetes mellitus and its complications. *Nat Prod Commun*. 2015;10(1):187–200.
20. Li J, Bai L, Li X, He L, Zheng Y, Lu H, et al. Antidiabetic potential of flavonoids from traditional Chinese medicine: A review. *Am J Chin Med*. 2019;47(5):933–57.