

## Efek Hipoglikemik Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* {Christm.} Swingle) pada Tikus yang Diberi Diet Tinggi Lemak dan Glukosa

Yunita Listiani Imanda<sup>1</sup>, Puji Lestari<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Sekolah Tinggi Ilmu farmasi (STIFI) Bhakti Pertiwi Palembang

Submitted: June 2017 | Accepted: August 2017 | Published: September 2017

### Abstrak

Telah dilakukan penelitian mengenai efek ekstrak daun jeruk nipis terhadap penurunan kadar gula darah puasa pada tikus putih jantan galur wistar. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas dari ekstrak daun jeruk nipis terhadap penurunan kadar gula darah puasa. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan 25 ekor tikus model diabetes yang diberi diet tinggi lemak dan glukosa selama 14 hari. Hewan dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (tween 80), kelompok pembanding (metformin 45 mg/kgbb), kelompok III, IV, V diberi ekstrak dengan dosis 0,6125 g/kgbb; dosis 1,225 g/kgbb dan dosis 2,45 g/kgbb yang masing-masing diberi sediaan uji selama 14 hari. Pada hari ke-15 darah diambil melalui vena orbitalis (mata) dan dilakukan pengukuran kadar gula darah puasa menggunakan alat spektrofotometer UV-VIS dengan reagent GOD-PAP. Hasil menunjukkan persentase penurunan kadar gula darah terbesar pada ekstrak dosis 0,6125 g/kgbb sebesar 24,75%. Hasil analisa statistik ANOVA One Way menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan kontrol negatif ( $p < 0,05$ ), hasil uji Post Hoc (Duncan) menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol negatif dan kelompok perlakuan 3 variasi dosis ekstrak terhadap kelompok pembanding (metformin), tetapi antara kelompok kontrol negatif dan kelompok dosis 1,225mg/kgbb dan dosis 2,45mg/kgbb tidak terdapat perbedaan yang bermakna. Hasil menunjukkan ekstrak dosis 0,6125 g/kgbb merupakan dosis yang efektif menurunkan kadar gula darah puasa tetapi tidak melebihi kelompok pembanding (metformin).

**Kata kunci:** daun jeruk nipis, kadar gula darah puasa, diet tinggi lemak dan glukosa

### Abstract

A research about the effect of lime leaf extract on the decrease of fasting blood sugar level in white male Wistar strain has been done. This research aimed to determine the effectiveness of lime leaf extract on decreasing fasting blood sugar levels. This was an experimental study using 25 mouse of diabetic models which given high-fat and glucose diet for 14 days. The mouse were divided into 5 groups: negative control group (tween 80), comparison group (metformin 45 mg/kgbb), group III, IV, V were given the extract with dose 0,6125 g/kgbb; dose 1,225 g/kgbb and dose 2,45 g/kgbb each of which were given trial test for 14 days. On the 15th day, the mouse's blood was taken through the orbital vein (eye) and the measurement of the fasting blood sugar level were made by using UV-VIS spectrophotometer with GOD-PAP reagent. The results showed that the largest percentage of blood sugar decrease was in the extract with dose 0,6125 g/kgbb with 24,75% percentage. The result of ANOVA One Way statistical analysis showed that there was a significant difference between treatment group and negative control ( $p < 0,05$ ), the Post Hoc (Duncan) test results showed significant differences between negative control group and the group which given the 3 variation of extract dose treatment toward the comparison group (metformin), but between the negative control group and the extract with dose 1,225 mg/kgbb & the dose of 2,45 mg/kgbb group there was no significant difference. The results showed that the extract with dose 0,6125 g/kgbb was an effective dose to lower fasting blood sugar but did not exceed the comparison group (metformin).

**Keywords:** lime leaf, fasting blood sugar, high fat diet and glucose

## Pendahuluan

Diabetes melitus adalah suatu gangguan metabolisme karbohidrat, protein dan lemak akibat dari ketidakseimbangan antara ketersediaan insulin dengan kebutuhan insulin.<sup>1</sup> Seseorang dapat dikatakan diabetes apabila kadar glukosa plasma puasa  $\geq 126$  mg/dl dan kadar glukosa plasma sewaktu  $\geq 200$  mg/dl.<sup>2</sup>

Tingkat prevalensi penderita diabetes melitus di Indonesia pada tahun 2013 berdasarkan faktor resiko yang disebabkan oleh berat badan lebih sebesar 10% terjadi pada laki-laki dan 12,9% terjadi pada perempuan serta sebesar 40,7% yang disebabkan oleh mengkonsumsi makan berlemak lebih dari satu kali sehari.<sup>3</sup>

Berat badan berlebih terjadi akibat peningkatan massa jaringan lemak tubuh karena adanya ketidakseimbangan antara asupan energi dengan keluaran energi, keadaan ini dapat meningkatkan proses lipolisis yang menyebabkan jumlah stress oksidatif yang dihasilkan sangat tinggi. Peningkatan stress oksidatif menyebabkan gangguan metabolisme, baik asupan glukosa pada otot maupun jaringan adiposa yang dapat mengganggu keseimbangan adipositokin yang dilepaskan. Adiposa dapat melepaskan asam lemak bebas yang berpengaruh pada proses pembentukan sinyal insulin dan mempunyai kemampuan mengganggu pelepasan glukosa di hepar.<sup>4</sup> Hal ini ditunjukkan pada hewan coba yang diberi diet tinggi lemak dapat meningkatkan kadar glukosa darah dan

menurunnya kepadatan sel beta pankreas.<sup>5</sup>

Salah satu tanaman yang berkhasiat sebagai antidiabetes adalah jeruk nipis. Daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) diketahui mengandung flavonoid seperti Quersetin serta fenolik yang bersifat sebagai antioksidan<sup>6</sup>, yang dapat menghambat stres oksidatif pada penderita diabetes melitus<sup>7</sup> serta merangsang sekresi insulin dan meregenerasi kerusakan sel beta pankreas.<sup>8</sup>

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa quersetin memiliki efek sebagai antioksidan, antiproliferatif, antinflamasi, antikarsinogenik, antihipertensi serta antidiabetik.<sup>9</sup> Quersetin diketahui dapat menurunkan produksi TNF- $\alpha$  oleh jaringan lemak visceral, menurunkan NOx (*nitrate plus nitrite*) dan meningkatkan konsentrasi adiponektin. Perbaikan status inflamasi akan menghasilkan perbaikan dari resistensi insulin serta bertindak sebagai modulator homeostatis lipid di jaringan lemak dan hati melalui penghambatan terhadap enzim fosfodiesterase.<sup>10</sup>

Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa pada ekstrak daun jeruk nipis dosis 3,5 g/kgbb dapat menurunkan kadar gula darah mencit yang diinduksi aloksan.<sup>11</sup> Pada penelitian ini, peneliti tertarik untuk menguji efek hipoglikemik ekstrak daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) menggunakan dosis yang lebih kecil terhadap tikus putih jantan yang diberi diet tinggi lemak dan glukosa.

## Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu), botol maserasi, seperangkat alat *rotary evaporator*, alat destilasi vakum, timbangan analitik, jarum oral (sonde), spuit 3 ml, botol infus kaca 100 ml, tabung *ependorf*, *sentrifuge*, mikropipet, pipa kapiler herparin (Nesco), kuvet, batang pengaduk, gelas ukur (Pyrex), *beaker glass* (Pyrex), *erlenmeyer* (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), kaca arloji dan corong (Pyrex).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk nipis, etanol destilat, metformin tab (PT. Dexa), pakan diet tinggi lemak (tepung segitiga biru, kuning telur bebek dan lemak sapi), larutan glukosa D40 dan D5, tween 80 (Brataco), aquadest, pereaksi GOD-PAP (*Glucose oxidase Phenol 4-Aminoantipyrine*).

### Prosedur Penelitian

#### Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) yang berada di bagian tengah tangkai (mulai dari daun ke-4 sampai ke-8) sehingga tidak terlalu muda dan tua, diambil di daerah Tanah Abang Utara, Kecamatan Tanah Abang, Kabupaten Penukal Abab Lematang Ilir, Provinsi Sumatera Selatan.

### Proses Ekstraksi Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle)

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi yaitu dengan melakukan sortasi terlebih dahulu, daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) (pisahkan dari tangkainya dan dibersihkan dari pengotor), dikeringkan dengan tidak terpapar sinar matahari langsung selama 2 minggu, dirajang, lalu ditimbang sebanyak 1 kg. Sampel dimasukkan dalam botol gelap, tambahkan etanol destilat sampai semua sampel terendam, kemudian simpan pada tempat yang terlindung dari cahaya selama 5 hari sambil sering diaduk. Setelah 5 hari, pisahkan filtratnya dengan penyaringan yang menghasilkan maserat. Proses ini dilakukan selama 3 kali 5 hari. Semua maserat digabungkan lalu diuapkan pelarutnya dengan destilasi vakum dan dilanjutkan dengan *Rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle).

### Pembuatan Pakan Diet Tinggi Lemak dan Glukosa

Pembuatan diet tinggi lemak mengacu pada penelitian yang dilakukan.<sup>5</sup>

#### 1. Karbohidrat 55,63% b/v

Untuk membuat sediaan karbohidrat dengan konsentrasi 55,63% yaitu dengan mengambil 66,75 g tepung, tambahkan aquades hingga 120 ml.

#### 2. Protein 14,25% b/v

Untuk membuat sediaan protein dengan

konsentrasi 14,25% yaitu dengan mengambil 17,1 g kuning telur puyuh tambahkan aquades hingga 120 ml.

3. Lemak 30,10% b/v

Untuk membuat sediaan lemak dengan konsentrasi 30,10% yaitu dengan mengambil 36,12 g lemak sapi tambahkan aquades hingga 120 ml.

**Pemberian Pakan Diet Tinggi Lemak dan Glukosa**

Setelah proses aklimatisasi selama 7 hari, tikus diberi diet tinggi lemak secara per oral 2 kali sehari dan larutan glukosa 25% sebagai air minum selama 2 minggu, untuk membuat tikus menjadi obesitas dan mengalami hiperglikemia.

**Prosedur Uji Antidiabetes**

1. Tikus di aklimatisasi selama 7 hari
2. Semua tikus diberi diet tinggi lemak (55,63% karbohidrat, 14,25% protein dan 30,10% lemak) dan larutan glukosa 25% secara per oral 2 kali sehari selama 2 minggu serta larutan glukosa 5% sebagai air minum. Kemudian dilakukan penimbangan berat badan dan pengukuran kadar gula darah puasa tikus pasca diberi diet tinggi lemak dan glukosa.
3. Tikus yang kadar gula darah puasa  $\geq$  126 mg/dl dan dikelompokkan sebagai tikus diabetes. Tikus yang diabetes selanjutnya dibagi menjadi 5 kelompok yang diambil secara acak.
4. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok I diberikan tween 80

2%, kelompok II diberikan suspensi metformin (dosis 45 mg/kgbb), kelompok III (dosis 0,6125 g/kgbb), kelompok IV (dosis 1,225 g/kgbb), dan kelompok V (dosis 2,45 g/kgbb). Sediaan uji diberikan dengan dosis tunggal selama 14 hari.

5. Pada hari ke-15 dilakukan pemeriksaan kadar gula darah puasa pada semua kelompok.
6. Data hasil pengukuran kadar gula darah puasa dianalisis secara statistik.

**Pengukuran Kadar Gula Darah Puasa**

Darah tikus diambil melalui pembuluh darah dari *vena orbitalis* (mata), ditampung dalam tabung ependorf (wadah sampel). Darah disentrifuge dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit. Kemudian bagian serum diambil untuk dijadikan sampel. Sampel berupa serum 10  $\mu$ L dicampur dengan reagent kit Glucose GOD-PAP 500  $\mu$ L dan aquadest 500  $\mu$ L. Larutan diinkubasi pada suhu kamar (20-25°C) selama 10 menit, diukur dengan spektrofotometer UV-VIS dengan panjang gelombang 546 nm dan dicatat absorbansinya. Kadar glukosa (dalam satuan mg/dL) didapat dengan memasukkan nilai absorbansi ke dalam rumus :

$$C \text{ (mg/dL)} = \frac{\Delta A_s}{\Delta A_{st}} \times \text{konsentrasi standar (mg/dL)}$$

Keterangan :

- C = Kadar glukosa darah (mg/dL)
- As = Absorbansi sampel
- Ast = Absorbansi standart

Larutan standart dibuat dengan cara mengambil larutan baku glukosa 10 µL ditambahkan *reagent kit glucose* GOD-PAP 500 µL dan aquades 500 µL. Kemudian diinkubasi 10 menit pada suhu kamar (20-25°C).

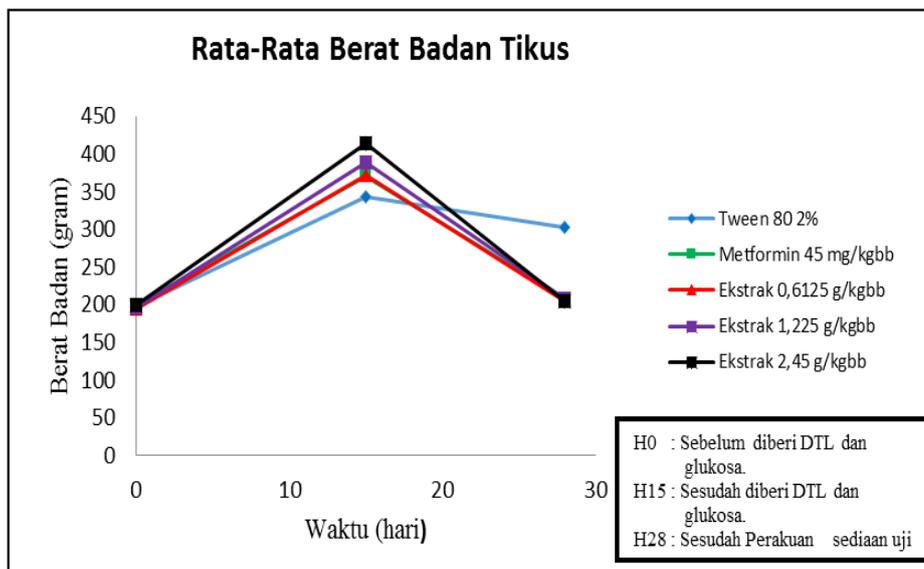
**Analisis Data**

Data hasil penelitian berupa kadar gula darah puasa yang telah diukur pada hari ke-0 dan ke-15. Hasil yang didapat diolah dengan menggunakan SPSS. Distribusi data ditentukan normal tidaknya data yang diperoleh sebelum perlakuan dianalisa dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*. Homogenitas data varians diukur dengan *Levene test*. Jika data terdistribusi secara normal digunakan uji *One Way ANOVA* dan *Post Hoc (Duncan)*. Data disajikan dalam bentuk tabel dan histogram.

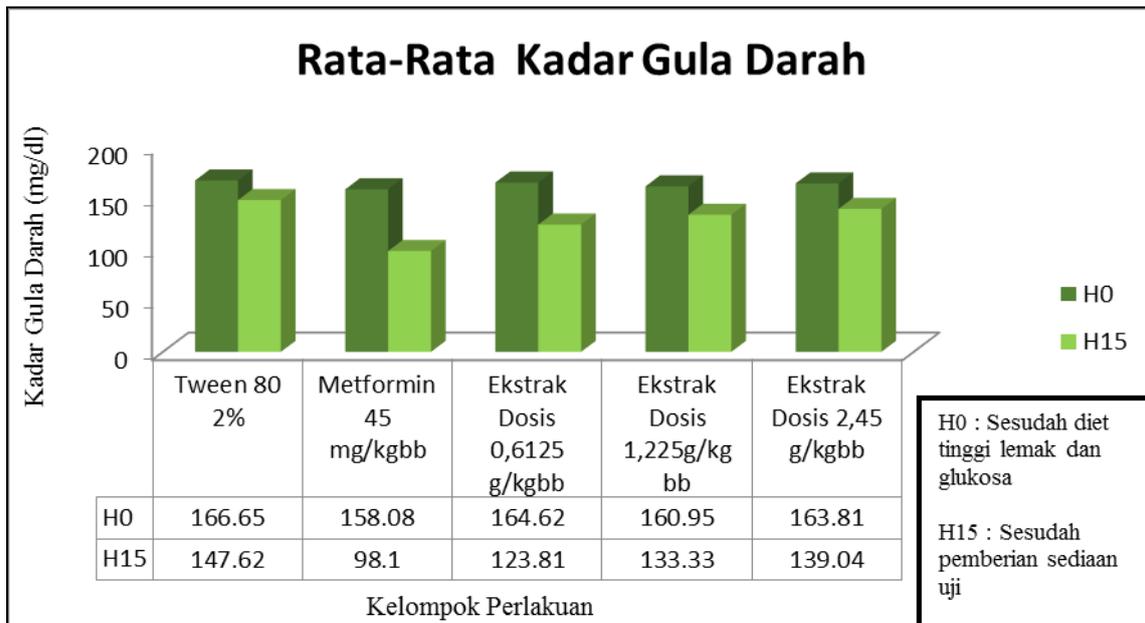
**Hasil dan Pembahasan**

Sampel yang digunakan yakni daun jeruk nipis kering seberat 1000 gram yang diekstraksi dengan metode maserasi, kemudian dilakukan proses penguapan pelarut menggunakan metode destilasi vakum dan dikentalkan dengan *Rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental seberat 209,39 gram. Dari hasil perhitungan bobot simplisia dan bobot ekstrak daun jeruk nipis, maka diperoleh nilai rendemen sebesar 20,939%.

Penginduksian tikus model diabetes dilakukan dengan memberikan pakan diet tinggi lemak dan glukosa selama 14 hari. Pakan diet tinggi lemak tersebut berpotensi untuk meningkatkan berat badan yang cenderung terjadinya obesitas. Hasil menunjukkan adanya peningkatan berat badan tikus untuk semua kelompok perlakuan. Berdasarkan uji T-Berpasangan antara semua kelompok perlakuan sebelum



**Gambar 1.** Kurva rata-rata berat badan tikus jantan semua kelompok perlakuan



**Gambar 2.** Kurva rata-rata kadar gula darah puasa tikus putih jantan dari seluruh kelompok perlakuan pada hari ke-0 dan ke-15

induksi dan sesudah induksi diet tinggi lemak dan glukosa terdapat perbedaan yang signifikan ( $p=0,001$ ). Persentase peningkatan berat badan tertinggi terdapat pada kelompok ekstrak dosis 2,45 g/kgbb sebesar 51,69% dan persentase peningkatan berat badan terkecil terdapat pada kelompok tween 80 sebesar 42,27%. Adanya peningkatan berat badan tikus tersebut dikarenakan asupan karbohidrat dan lemak yang berlebihan, dengan mengkonsumsi karbohidrat terlalu banyak akan menyebabkan hormon insulin cepat diproduksi dan membuat gula darah masuk ke sel otot atau pun sel hati. Jika tempat penyimpanan gula sudah penuh pada sel otot atau hati, gula akan di simpan di dalam sel lemak dan di dalam sel lemak gula akan diubah menjadi lemak.<sup>12</sup>

Lemak merupakan sumber energi terbesar yang dapat meyebabkan obesitas.

Pada orang yang obesitas sel-sel lemak tersebut akan menghasilkan beberapa zat yang digolongkan sebagai adipositoksin. Zat tersebut menyebabkan resistensi terhadap insulin. Akibat resistensi insulin, gula darah sulit masuk ke dalam sel sehingga gula di dalam darah tinggi atau hiperglikemik.<sup>13</sup> Karena adanya penimbunan lemak akibat konsumsi karbohidrat yang berlebihan serta penambahan konsumsi lemak yang berlebihan sehingga terjadi peningkatan berat badan tikus yang berakibat pada obesitas dan resistensi insulin.

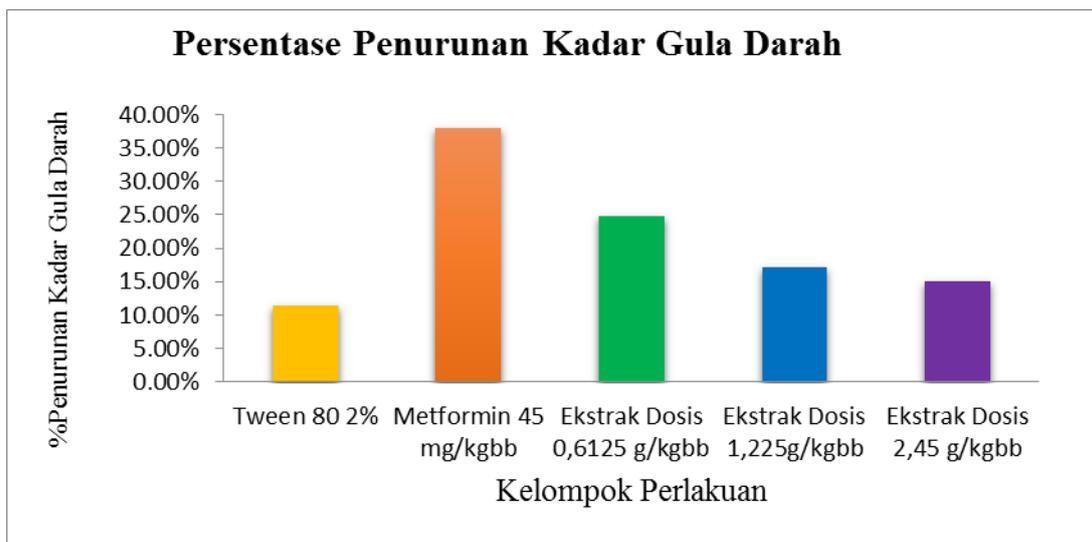
Pada hari ke-15 dilakukan pengukuran kadar gula darah puasa terhadap berbagai kelompok tikus putih jantan yang telah diberikan sediaan uji. Setiap kelompok menunjukkan adanya penurunan kadar gula darah namun hasil yang didapat setiap kelompok menunjukkan respon yang

berbeda. Dilihat dari persentase penurunan kadar gula darah, kelompok metformin (pembanding) menunjukkan persentase terbesar senilai 37,94% dan kelompok tween 80 menunjukkan persentase penurunan kadar gula darah terkecil senilai 11,42%.

Pada kelompok tween 80 2% (kontrol) menunjukkan penurunan kadar gula darah akan tetapi masih dalam keadaan diabetes ( $\geq 126$  mg/dl), persentase penurunan kadar gula darahnya sebesar 11,42%. Hal ini dikarenakan tidak adanya lagi asupan pakan diet tinggi lemak dan glukosa serta sebagian sel pankreas masih dapat berfungsi dan sel tubuh mempunyai kemampuan memperbaiki diri. Persentase penurunan kadar gula darah puasa dari seluruh kelompok perlakuan akan terlihat hasil pada gambar 3.

Pada kelompok yang diberikan ekstrak daun jeruk nipis dengan dosis 0,6125 g/kgbb menunjukkan adanya penurunan

kadar gula darah puasa pada tikus putih jantan galur wistar, persentase penurunan kadar gula darah puasa sebesar 24,79%. Penurunan kadar gula darah puasa dikarenakan adanya senyawa flavonoid yang terdapat pada daun jeruk nipis seperti quersetin<sup>14</sup> yang memiliki efek sebagai antioksidan, antiproliferatif, antinflamasi, antikarsinogenik, antihipertensi serta antidiabetik. Berdasarkan uraian diatas dapat diduga bahwa kandungan senyawa quersetin pada daun jeruk nipis merupakan antioksidan kuat yang dapat menurunkan produksi TNF- $\alpha$  oleh jaringan lemak visceral dan meningkatkan konsentrasi adiponektin. Perbaikan status inflamasi yang akan menghasilkan perbaikan dari resistensi insulin serta bertindak sebagai modulator homeostatis lipid di jaringan lemak dan hati melalui penghambatan terhadap enzim fosfodiesterase. Quersetin ini juga dapat memperbaiki degenerasi sel-sel beta pankreas dan mengurangi stress oksidatif.<sup>15</sup>



**Gambar 3.** Kurva persentase penurunan kadar gula darah puasa tikus putih jantan dari seluruh kelompok perlakuan

Hasil analisa data secara statistik *one way ANOVA* persentase penurunan kadar gula darah didapatkan perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol (tween 80), pembanding (metformin) dan 3 variasi dosis ekstrak daun jeruk nipis ( $p=0,001$ ). Hal ini dipengaruhi oleh respon biologis dari masing-masing hewan coba selama perlakuan sehingga mempengaruhi kadar gula darah puasa yang diukur.

Pada uji *Duncan* dengan tingkat kepercayaan 95% terlihat tidak ada perbedaan yang nyata dari persentase penurunan kadar gula darah puasa kelompok tween 80 (kontrol), ekstrak dosis 2,45 g/kgbb, ekstrak dosis 1,225 g/kgbb, sedangkan ekstrak dosis 0,6125 g/kgbb berbeda nyata dengan metformin (pembanding).

## Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian ekstrak daun jeruk nipis dengan dosis 0,6125 g/kgbb dapat menurunkan kadar gula darah puasa tikus putih jantan galur wistar yang diberi diet tinggi lemak dan glukosa.
2. Dosis yang optimum dalam menurunkan kadar gula darah puasa pada tikus putih jantan galur wistar yang diberi diet tinggi lemak dan glukosa adalah ekstrak dosis 0,6125 g / kgbb.

## Daftar Pustaka

1. Sudoyo, A.W., Setiyohadi, B., Alwi, I., & Setiati, S. 2006. *Buku ajar ilmu penyakit dalam* (Edisi III). Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
2. Perkumpulan Endokrinologi. 2015. *Konsensus pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 di Indonesia*. Jakarta: Pengurus Besar Perkumpulan Endokrinologi Indonesia
3. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2014. *Situasi dan analisis diabetes*. Diakses 20 Maret 2017 dari <http://www.depkes.go.id/infodatin-diabetes.html>.
4. Puspawati. 2007. Obesitas sentral, sindroma metabolik dan diabetes melitus tipe dua. *Universa Medicina*, 26(4), 195-204.
5. Mutiyani, M., Soeatmadji, D.J., & Sunindya, B.R. 2014. Efek diet tinggi karbohidrat dan diet tinggi lemak terhadap kadar glukosa darah dan kepadatan sel beta pankreas pada tikus wistar. *Jurnal of human nutrition*, 1(2), 106-113.
6. Fajarwati, N. 2013. *Uji aktivitas antioksidan pada ekstrak daun jeruk nipis (Citrus aurantifolia) dengan menggunakan metode dpph (1,1-diphenyl-2-2-picrylhydrazyl)*. (Skripsi). Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
7. Winarsi, H. 2007. *Antioksidan alami dan radikal bebas*. Yogyakarta. Kanisius
8. Widowaty, W. 2008. Potensi antioksidan sebagai diabetes. *Jurnal kesehatan masyarakat*, 72(2), 6-7.
9. Bakova, Z., & Kolesarova, A. 2012. Bioflavonoid quercetin-food sources, bioavailability, absorption and effect on animal cell. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2(2), 426-433.
10. Pitoyo, F. L. H., & Fatmawati, H. 2012. The effect of quercetin to reduced triglyceride and blood glucose level in animal model diet-induced obesity. *Jurnal Medica Planta*, 1(5), 36-46.

11. Rohmah, H., Yuke, A., & Yani, D.S. 2016. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) terhadap kadar glukosa darah pada mencit model hiperglikemik akibat induksi aloksan. *Prosiding pendidikan dokter*, 2(2), 285-290.
12. Turoan, P.L., 2012. Fat-loss not weight-loss for diabetes: sakit tapi sehat. Jakarta: Transmedia.
13. Kariadi, S. H., 2009. Diabetes: panduan lengkap untuk diabetes. Jakarta: Mizan Utama
14. Loizzo, M. R., Tundis, R., Bonesi, M., Menichini, F., Luca, D. D., Colica, C., & Menichini, F. 2012. Evaluation of citrus aurantifolia peel and leaves extracts for their chemical composition, antioxidant and anti-cholinesterase activities. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 92, 2960-2967.
15. Pinent, M. Castell., A. Baiges, I., Montagut, G., Arola, L., & Ardevol, A. 2008. Bioactivity of flavonoids on insulin-secreting cells. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 7, 299-308.