

Pengaruh Pemberian Kombinasi Metformin dan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona Muricata L.*) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Jantan (*Mus Musculus*)

Devi Naya Ade Kuntari¹, Andy Susbandiyah Ifada^{1*}, dan Sofian Hadi¹

¹Jurusan Ilmu Farmasi, Universitas Nahdlatul Wathan, Mataram, Indonesia
*email : diyah.ifada@gmail.com

Abstrak: Penanganan umum Diabetes Mellitus (DM) adalah dengan menggunakan antidiabetika oral. Obat herbal juga sering digunakan sebagai alternatif pengobatan oleh pasien. Beberapa kasus ditemukan pasien mengkombinasikan obat kimia dan obat herbal untuk mempercepat penyembuhan, salah satunya daun sirsak. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi metformin dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) pada mencit jantan (*Mus musculus*). Metode yang digunakan adalah tes toleransi glukosa oral. Sebanyak 12 ekor mencit dibagi dalam 4 kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol positif, kelompok kombinasi metformin dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) dan kelompok yang hanya diberikan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*). Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada menit 30,60,90,120, dan 150 setelah pemberian glukosa. Berdasarkan hasil analisis *Kruskal Wallis* di dapatkan nilai signifikan $p < 0,05$ menunjukkan bahwa kombinasi metformin dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) memiliki aktivitas antihiperlikemia pada hewan uji mencit jantan (*Mus musculus*).

Kata Kunci: Daun sirsak (*Annona muricata*), Diabetes mellitus, Kombinasi, Metformin

1. Pendahuluan

Diabetes Melitus (DM) merupakan penyakit metabolik akibat gangguan sekresi insulin, gangguan kerja insulin, maupun keduanya (ADA, 2014). Diabetes dapat dibagi menjadi dua grup berdasarkan kebutuhan atas insulin, yakni Diabetes Melitus tergantung insulin (IDDM/ *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* atau Tipe 1) dan Diabetes Melitus tidak tergantung insulin (NIDDM/ *Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus* atau Tipe 2) (Mycek dkk, 2001).

Jumlah penduduk dunia yang terkena diabetes mellitus semakin mengkhawatirkan. Menurut *World Health Organisation* (WHO), jumlah penduduk dunia yang terkena diabetes mellitus pada tahun 2015 mencapai 415 juta orang lebih dan pada tahun 2040 diperkirakan jumlah penderita diabetes di dunia akan semakin meningkat hingga mencapai jumlah 642 juta orang atau naik 70% dalam kurun waktu 25 tahun. Indonesia menempati urutan ke empat terbesar dari jumlah penderita diabetes mellitus dengan prevalensi 6,67% dari total penduduk sebanyak 258 juta. Sedangkan posisi urutan diatasnya yaitu India, China, dan Amerika Serikat dan WHO memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 9,1 juta pada tahun 2016 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 (IDF, 2015).

Dari berbagai penelitian epidemiologis di Indonesia yang dilakukan oleh pusat-pusat diabetes sekitar tahun 1980-an prevalensi diabetes mellitus pada penduduk usia 15 tahun ke atas sebesar 1,5-2,3 %. Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2013 melakukan wawancara untuk menghitung proporsi diabetes mellitus pada usia 15 tahun ke atas, yang terdiagnosis dan merasakan diabetes mellitus di Indonesia khususnya di provinsi Nusa Tenggara Barat dari jumlah penduduk berusia > 14 tahun 3.202.734 orang diperkirakan pernah

didiagnosis menderita diabetes mellitus oleh dokter sebanyak 0,9 % (Kemenkes RI, 2014). Tindakan umum yang dilakukan dalam penanganan Diabetes Melitus tipe II adalah diet, gerak badan dan penurunan berat badan. Jika tindakan ini tidak atau kurang efektif untuk menormalkan glukosa darah, perlu digunakan terapi insulin, atau antidiabetika oral (ADO) atau kombinasi keduanya. Selain antidiabetika oral, pasien Diabetes Melitus tipe II ini juga banyak menggunakan obat herbal sebagai obat komplementer *alternative* penyembuhan. Selama kurun waktu 2000-2006 terjadi peningkatan penggunaan obat tradisional, yang dilakukan untuk pengobatan sendiri (swamedikasi), dari 15,2% menjadi 38,3% (Adhitia, 2012).

Terapi Diabetes Melitus yang memakan waktu lama memungkinkan terjadinya pemakaian bersama obat herbal dan antidiabetika oral. Berdasarkan penelitian di 11 Puskesmas Kota Depok 2012, dari 101 orang responden, sebanyak 52,47% menggunakan antidiabetes herbal dan 47,53% menggunakan ADO saja. Pasien sebanyak 54,27% sebagai pengguna antidiabetes herbal, ternyata menggunakan kombinasi ADO dan antidiabetes herbal sebesar 71,70%, sedangkan 28,30% menggunakan antidiabetes herbal saja. Salah satu antidiabetes herbal yang paling banyak digunakan adalah daun sirsak (Adhitia, 2012).

Pada penelitian sebelumnya mengenai manfaat Ekstrak Daun Sirsak (*Annona Muricata*) Sebagai Antihiperlikemia Pada Tikus Wistar Diabetik Yang Diinduksi Aloksan, telah terbukti bahwa ekstrak etanol daun sirsak pada dosis 200 mg/kg, 400mg/kg, 800mg/kg dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi aloksan. Penurunan kadar glukosa terbesar terjadi pada kelompok ekstrak 800 mg/kg. (setyawati dkk, 2015).

Salah satu obat antidiabetes oral sintetis yang menjadi pilihan adalah metformin yang bekerja

menghambat glukoneogenesis dan meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan. *American Diabetes Association/European Association for the Study of Diabetes* (ADA/EASD) dan *the American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology* (AACE/ACE) merekomendasikan pemberian metformin sebagai monoterapi lini pertama pada penderita Diabetes Mellitus Tipe II. Rekomendasi ini terutama berdasarkan efek metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah, harga relatif murah, efek samping lebih minimal dan tidak meningkatkan berat badan. (Rodbard *et al*, 2009)

Belum dilakukannya penelitian mengenai penggunaan bersama antidiabetes herbal daun sirsak (*Annona muricata*) dan obat antidiabetes oral (ADO) Metformin, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi metformin dan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) terhadap kadar glukosa darah mencit jantan (*Mus musculus*) dengan metode tes toleransi glukosa oral.

2. Metode Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimen sungguhan (*true experiment*) dengan rancangan penelitian *pretest posttest* dengan kelompok kontrol (*pretest – posttest with control group*). Dalam rancangan ini dilakukan randomisasi, artinya pengelompokan anggota – anggota kelompok kontrol dan kelompok eksperimen dilakukan berdasarkan acak atau random. Dengan randomisasi, maka kedua kelompok mempunyai sifat yang sama sebelum dilakukan intervensi (perlakuan).

Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah daun sirsak (*Annona muricata*) yang diperoleh pada bulan Maret 2018 dari Desa Bangket Dalam Kecamatan Kediri Kabupaten Lombok Barat.



Gambar 1. Sampel Daun Sirsak

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara *beaker glass*, bejana maserasi, cawan porselin, evaporator, gelas ukur, glucometer, kandang mencit, mortir, sonde atau spuit tumpul, stempet, timbangan analitik, dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan yang digunakan, aquadest, etanol, glukosa, metformin, dan strip test glukosa.

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan yang sehat dan aktivitas normal, usia 2-3 bulan dengan berat 20-30 g.

Pembuatan Ekstrak

Daun sirsak (*Annona muricata*) dimasukkan dalam bejana dan diekstraksi dengan cara maserasi dengan pelarut etanol, yakni merendam simplisia daun sirsak kering dengan etanol 70% dengan perbandingan 1:10, lalu dilakukan pengadukan kemudian ditutup. Maserasi dilakukan selama 1 minggu dan terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Semua maserat yang diperoleh dikumpulkan. Maserat kemudian diuapkan dan dipekatan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 40^o C sampai diperoleh sampel ekstrak etanol 70% daun sirsak.

Pengujian Kadar Glukosa Darah dengan Metode Tes Toleransi Glukosa Oral

Disiapkan sejumlah mencit yang telah diadaptasikan selama 7 hari pada suhu kamar dengan diberi minum dan pakan standar. Hewan uji dipuaskan semalam dengan tetap diberikan air minum. dilakukan pengukuran kadar glukosa darah awal (glukosa darah puasa). Metformin dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) diberikan secara oral menggunakan sonde atau spuit tumpul. Setelah diberikan perlakuan, masing-masing kelompok tersebut dilakukan pengukuran kadar glukosa darah. Penentuan kadar glukosa darah menggunakan alat glucometer. Pengambilan dan pengukuran darah dilakukan tiap 30 menit sampai 150 menit.

3. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Hasil rendemen ekstrak yang diperoleh adalah sebagai berikut :

Tabel 1. Rendemen ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*)

Berat Kering	Berat Ekstrak	% Rendemen
118 gram	13 gram	$\frac{13 \text{ gram}}{118 \text{ gram}} \times 100 \% = 11 \%$

Berat basah daun sirsak (*Annona muricata*) yang digunakan pada penelitian ini sejumlah 500 gram, kemudian daun sirsak (*Annona muricata*) dikeringkan dan diperoleh hasil berat kering 118 gram. Berat ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol yaitu 13 gram dengan persentase rendemen sebesar 11 %.



Gambar 2. Ekstrak Etanol Daun Sirsak

Aktivitas antihiperglikemia yang dihasilkan oleh kontrol positif yakni metformin dan kombinasi dari metformin dan daun sirsak (*Annona muricata*) akan terlihat dengan adanya penurunan glukosa darah pada

mencit. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah tes toleransi glukosa oral dimana metode ini dapat digunakan untuk menguji kemampuan hewan uji dalam menggunakan glukosa setelah diberikan bahan uji. Pemberian glukosa secara oral dapat memicu kenaikan insulin plasma, hal ini dipengaruhi oleh adanya hormon-hormon pencernaan dalam metabolisme glukosa (Syah dkk, 2015).

Dosis ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) yang digunakan adalah 22,4mg/20 g BB. Pada mencit dengan berat 20 gram adalah ditimbang sebanyak 400 mg ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) dan ditambah aquadest hingga 5 ml. Dari larutan stok tersebut diberikan kepada hewan sebanyak 16 mg/ 0,2 ml per ekor mencit.

Adapun pengukuran kadar glukosa yang pertama dilakukan adalah pengukuran glukosa darah puasa (T_0) pada tiap hewan uji didapatkan nilai rata-rata untuk kelompok kontrol negatif sebesar 58,66 mg/dl, kelompok kontrol positif sebesar 31,74 mg/dl, kelompok kombinasi metformin dan daun sirsak sebesar 86,66 mg/dl, dan kelompok ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) sebesar 61,66 mg/dl (Tabel 2). Kadar glukosa darah puasa (T_0) pada tiap kelompok sesuai dengan kadar glukosa darah puasa normal yakni ≤ 110 mg/dl. Perbedaan hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa (T_0) pada tiap hewan uji dapat dikarenakan oleh faktor genetik dan respons fisiologis tiap mencit yang berbeda-beda. Untuk memperkecil variabilitas biologis antara hewan uji yang digunakan dan memberikan respon yang relatif lebih seragam dilakukan pemilihan hewan uji menggunakan mencit jantan dengan alasan kondisi biologisnya stabil bila dibandingkan dengan mencit betina yang kondisi biologisnya dipengaruhi masa siklus estrus. Disamping keseragaman jenis kelamin, hewan uji yang digunakan

memiliki berat badan antara 20-30 gram dengan usia 2-3 bulan.

Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah 30 menit setelah pemberian bahan uji (T_1) (Tabel 2) belum mengalami peningkatan dikarenakan hewan uji belum diberikan larutan glukosa. Tujuan dilakukan pemberian induksi obat 30 menit sebelum pemberian glukosa agar obat dapat terabsorpsi terlebih dahulu. 30 menit setelah pemberian obat mencit diberikan induksi glukosa dan terlihat adanya peningkatan kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dl pada menit ke 30 (T_{30}) dan menit ke 60 (T_{60}) setelah pemberian glukosa. Penurunan kadar glukosa darah terlihat pada menit ke 90 (T_{90}), menit ke 120 (T_{120}) dan menit ke 150 (T_{150}) setelah induksi glukosa (Tabel 5.3). Nilai rata-rata penurunan kadar glukosa darah pada pada menit ke 150 (T_{150}) kelompok kontrol negatif sebesar 108 mg/dl, kelompok kontrol positif sebesar 74 mg/dl, kelompok pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) sebesar 60 mg/dl dan penurunan kadar glukosa darah terbesar berada pada kelompok kombinasi metformin dan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) sebesar 35,66 mg/dl, namun penurunan tersebut terlalu rendah dan dapat membahayakan hewan uji.



Gambar 3. Proses Pengambilan Darah Mencit

Hasil Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah

Hasil kadar glukosa darah pada hewan uji mencit jantan setelah diinduksi glukosa.

Tabel 2. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah

KELOMPOK PERLAKUAN	KADAR GLUKOSA DARAH mg/dl							
	Hewan Uji	T0	T1	T30	T60	T90	T120	T150
KI(Kontrol negatif) Aquadest	Mencit 1	56	69	162	158	152	147	153
	Mencit 2	51	28	199	198	132	110	98
	Mencit 3	69	37	163	199	120	122,3	75
	Rata-rata	58,66	44,66	174,66	185	134	97,66	108
	SD	19,00	7,09	18,90	10,11	13,52	15,69	13,27
KII (Kontrol +) Metformin	Mencit 1	57	111	133	173	105	88	95
	Mencit 2	105	48	310	132	103	51	47
	Mencit 3	45	34	256	103	100	92	80
	Rata-rata	69	64,33	233	136	102,67	77	74
	SD	31,74	41,01	90,71	35,17	2,51	22,60	24,55
KIII (Kombinasi Metformin+ Daun sirsak.	Mencit 1	87	80	260	192	82	46	31
	Mencit 2	63	72	141	54	44	37	28
	Mencit 3	110	92	128	88	62	49	38
	Rata-rata	86,66	81,33	176,33	111,33	62,66	44	35,66
	SD	23,50	10,06	72,74	71,89	19,00	6,24	10,78
KIV (Daun sirsak)	Mencit 1	31	77	107	154	82	53	45
	Mencit 2	103	102	310	217	151	92	86
	Mencit 3	51	45	202	195	88	60	49
	Rata-rata	61,66	74,66	251	188,67	107	68,33	60
	SD	37,16	28,57	173,76	31,97	38,22	20,79	22,60

Keterangan :

T_0 = Kadar glukosa darah puasa
 T_1 = Kadar glukosa darah 30 menit setelah pemberian bahan uji
 T_{g30} = Kadar glukosa darah 30 menit setelah induksi glukosa
 T_{g60} = Kadar glukosa darah 60 menit setelah induksi glukosa
 T_{g90} = Kadar glukosa darah 90 menit setelah induksi glukosa
 T_{g120} = Kadar glukosa darah 120 menit setelah induksi glukosa
 T_{g150} = kadar glukosa darah 150 menit setelah induksi glukosa

Hasil pengukuran kemudian dianalisis dengan statistik non parametrik *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai signifikan $0,004 < 0,05$ (Tabel 3) yang artinya ada perbedaan yang bermakna antar kelompok dalam menurunkan kadar glukosa darah. Hal ini disebabkan karena mekanisme kerja metformin dan daun sirsak yang sama-sama bekerja dalam penurunan kadar glukosa dalam darah sehingga terjadi perbedaan yang signifikan dalam penurunan kadar glukosa di dalam darah hewan uji mencit.

Tabel 3. Hasil Uji *Kruskal Wallis*

Test Statistics^{a,b}

	Kadar Glukosa
Chi-Square	13.282
df	3
Asymp. Sig.	.004

a. Kruskal Wallis Test

Adapun analisis lanjutan menggunakan analisis *Post hoc* dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan yang bermakna 2 kelompok penelitian. Hasil perbandingan kelompok kontrol positif dengan kelompok kombinasi metformin dan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) menunjukan nilai signifikan $0,045 < 0,05$ (Tabel 4) yang artinya ada perbedaan yang bermakna dalam menurunkan kadar glukosa darah dikarenakan kombinasi metformin dan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata*) memiliki penurunan yang lebih baik dibandingkan kelompok yang hanya diberikan metformin saja.

Tabel 4. Hasil Uji *Mann Whitney* antara Kontrol positif dengan Kombinasi Metformin dan Daun Sirsak

Test Statistics^b

	Kadar Glukosa
Mann-Whitney U	37.500
Wilcoxon W	115.500
Z	-1.992
Asymp. Sig. (2-tailed)	.046
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.045 ^a

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Steffie Liem, Akhmad Khumaidi dan Yuliet dengan judul “Uji Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Glibenklamid dan Ekstrak Daun Salam (*Syzgium polyanthum* Wight.) Terhadap Mencit Jantan yang Diinduksi Alokan” di dapatkan hasil kelompok kombinasi memiliki efek penurunan kadar glukosa darah yang lebih besar daripada sediaan tunggal glibenklamid, sehingga dapat dikatakan bahwa beberapa jenis tanaman obat dapat

bekerja secara sinergis dengan obat sintetis dalam menimbulkan efek.

Metformin telah diketahui memiliki aktivitas antihiperglikemia yang bekerja menghambat glukoneogenesis dan meningkatkan penggunaan glukosa di jaringan, sedangkan daun sirsak (*Annona muricata*) diduga aktivitas antihiperglikemia didapatkan dari kandungan flavonoidnya yang mempunyai kemampuan merangsang pengeluaran insulin, di mana sangat perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data maka pemberian kombinasi metformin dan ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata*) pada mencit jantan (*Mus musculus*) dengan metode tes toleransi glukosa oral dapat menurunkan kadar glukosa darah lebih baik daripada kelompok sediaan metformin tunggal.

Daftar Pustaka

- Adhitia. 2012. *Efek Perseptif Penggunaan Antidiabetes Herbal Bersamaan Dengan Penggunaan Obat Antidiabetes Oral Pada Pasien Diabetes Melitus Tipe 2 Di Puskesmas Kotamadya Depok*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- American Diabetes Association (ADA). 2009. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care*, 27 (1), S5-S10.
- American Diabetes Association (ADA). 2014. *Diagnosis and Clasification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care*.
- American Diabetes Association (ADA). 2015. *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, Diabetes Care*, 38:8-16.
- Departemen Kesehatan. *Pharmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Melitus*. 2005. Diabetes Care
- Gunawan D. & Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Bogor: Penebar Swadaya.
- International Diabetes Federation (IDF). 2015. *IDF Diabetes Atlas Sixth Edition Update, International Diabetes federation*
- International Diabetes Federation (IDF). 2014. *IDF Diabetes Atlas*
- Kemenkes RI. 2014. *Profil Kesehatan Indonesia*. Jakarta
- Liem, S dkk 2015 *Uji Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Glibenklamid dan Ekstrak Daun Salam (Syzgium polyanthum Wight.) Terhadap Mencit Jantan yang Diinduksi Alokan*. Journal of pharmacy Volume I.: Palu

- Lien, N.M. 2015. *Uji Aktivitas Antianemia Ekstrak Daun Cincau Hijau (Cocculus orbiculuslatus (L.) Yang Diberikan Secara Oral Pada Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus) Dengan Diinduksi NaNO₂*. Mataram Prodi Farmasi DIII FIK UNW
- Mycek, M. J., Harvey, R. A., & Champe, P. C. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar (Vol.2)*. Jakarta: Widya Medika. November 2016).Pustaka.
- Rodbard HW, Jellinger PS, Davidson JA,et al. 2009. *Statement by an American association of clinical endocrinologists/American college of endocrinology consensus panel on type 2 diabetes mellitus. An algorithm for glycemic control. Endocr Pract* ,15(6):540–559.
- Setyawati, et. al., 2015 *Manfaat Ekstrak Daun Sirsak (Annona Muricata) Sebagai Antihiperglikemia Pada Tikus Wistar Diabetik Yang Diinduksi Aloksan*. Jurnal Ilmiah Kedokteran, Vol. 2
- World Health Organization. 2014. *Prevention of Blindness from Diabetes Mellitus: Switzerlan* .