

**Efek Hipoglikemik Perasan Buah Labu Siam (*Sechium edule*):
Analisis Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi
Aloksan (2,4,5,6-tetraoxypyrimidine; 5,6-dioxyuracil)**

Ayi Furqon, SKM., M.Biomed

Departemen Kimia Klinik Program Studi Analisis Kesehatan (D-III)

Korespondensi : ayifurqon@stikesayani.ac.id

Abstrak

Diabetes melitus adalah penyakit metabolik yang memerlukan penanganan dan pengendalian secara intensif. Hampir 80% faktor risiko non-IDDm atau diabetes tipe 2 adalah buruknya gaya hidup. Pengobatan mereka biasanya mengkonsumsi obat penurun glukosa darah, bahkan menu makanan pun biasanya mengkonsumsi makan seperti labu hanya untuk mengendalikan konsentrasi gula darahnya. Tujuan: penelitian ini adalah untuk mengetahui seberapa besar penurunan glukosa darah setelah konsumsi perasan buah labu siam dalam waktu 14 hari (dua minggu) secara invivo pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan 100 mg/kg BB. Hasil: konsentrasi glukosa kelompok tanpa perlakuan, diabetes dan diabetes dengan pengobatan ekstrak buah labu siam berurutan $113 \pm 8,7$ mg/dl, $421 \pm 69,3$ mg/dl, $365,3 \pm 9,3$ mg/dl. Konsentrasi glukosa kelompok yang sama setelah 14 hari adalah $113 \pm 8,7$ mg/dl, $365,7 \pm 70,8$ mg/dl ; $450,7 \pm 26,3$ mg/dl. P-value selisih 98 mg/dl ekstrak labus siam adalah 0,236. Kesimpulan: tidak ada pengaruh yang signifikan penurunan glukosa darah oleh dosis 30 ml ekstrak akuades perasan buah labu siam in vivo pada tikus *Rattus norvegicus*.

Kata kunci: diabetes, cekaman oksidatif, aloksan

A. Pendahuluan

Diabetes Melitus (DM) adalah salah satu penyakit metabolik yang ditandai adanya peningkatan konsentrasi glukosa darah yang diakibatkan gangguan sekresi insulin, gangguan kerja insulin atau keduanya (DiabetesCare, 2004). DM terdiri dari dua jenis yaitu yang disebabkan keturunan dan tipe kedua disebabkan *life style* atau gaya hidup. Secara umum, hampir 80 % prevalensi diabetes melitus adalah DM tipe 2. Riset kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 menunjukkan bahwa proporsi penyebab kematian akibat DM pada kelompok usia 45-54 tahun di daerah perkotaan menduduki ranking ke-2 yaitu 14,7%, sedangkan di daerah pedesaan, DM menduduki ranking ke-6 yaitu 5,8%. Pada kelompok usia penduduk > 10 tahun, prevalensi kurang makan buah dan sayur sebesar 93,6%, sedangkan prevalensi kurang aktifitas fisik pada penduduk >10 tahun sebesar 48,2% (Kemenkes, 2013). Pada tingkat pencegahan yang paling baik adalah

dengan mempromosikan pola hidup sehat di kalangan masyarakat, sedangkan upaya menjaga kondisi kesehatan pada penderita adalah dengan mengoptimalkan aneka jenis makanan yang relatif rendah glukosa diantaranya labu siam.

Tanaman labu siam (*Sechium edule*) bahasa sunda “waluh” adalah tanaman keluarga yang mudah tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia (6° LU – 11° LS dan 95° BT - 141° BT). Buah dan bijinya kaya akan beberapa asam amino penting. Senyawa lektin (protein pengikat karbohidrat) telah dapat dimurnikan dari buahnya (Vozari-Hampe, et al., 1992). Pada kesempatan yang lain delapan senyawa flavonoid termasuk di dalamnya tiga senyawa C-glikosil dan lima senyawa O-glikosil flavon pun telah berhasil terdeteksi (Siciliano, et al., 2004). Daun dan buah labu siam diketahui memiliki sifat merangsang kencing, menurunkan tekanan darah dan anti radang. Daunnya telah digunakan dalam pengobatan arterosklerosis dan hipertensi, bahkan dapat menghancurkan batu ginjal (Kamble, et al., 2008); (Gordon, et al., 2000). Buah labu *S. edule* dilaporkan telah dapat melindungi hati (Firdous, et al., 2012), mencegah kerusakan sel hati (Firdous, et al., 2012), menghancurkan radikal bebas dan memiliki aktivitas antioksidan (Ordonez, et al., 2006).

Dalam bidang kedokteran telah dikenal bahan kimia yang bernama aloksan (2,4,5,6-tetraoxypyrimidine; 5,6-dioxyuracil) dan streptozotocin (STZ, 2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose) adalah dua bahan yang sering digunakan untuk perlakuan pada hewan coba yang bertujuan merusak pankreas terutama sel beta. Namun demikian, STZ bahkan dapat merusak organ ginjal dan berujung *diabetic nephropaty*. Beberapa peneliti menyebutkan secara sederhana bahwa aloksan dapat digunakan untuk pemodelan tikus layaknya pengkondisian IDDM (*Insulin-dependen Diabetes Mellitus*), sedangkan STZ untuk pemodelan IDDM dan NIDDM (*non Insulin-dependen Diabetes Mellitus*).

Mengingat labu siam memiliki potensi untuk menjaga atau mengendalikan glukosa darah, maka pada penelitian ini akan dilakukan penelitian awal mengenai efek perasan buah labu siam yang terlarut dalam air terhadap tikus yang diinduksi aloksan sebagai model diabetes jenis IDDM.

B. Metode Penelitian

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen yang akan membandingkan pengaruh perlakuan antara kelompok. Data akan dianalisis menggunakan uji *analysis of varians* (Anova) dua jalur dengan variabel terikat konsentrasi glukosa serum dan dua variabel bebas lama perlakuan

dan dosis pemberian perlakuan. Pengumpulan dan analisis data menggunakan perangkat lunak *SPSS 18 for window*.

Pemilihan sampel hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah *Rattus norvegicus* dengan berat badan 200-300 gram berusia 3-5 bulan.

$$n = 2 + C \left(\frac{s}{d} \right)^2 \text{ (Snedecor, et al., 1989)}$$

n = Jumlah sampel

C = konstanta yang bergantung α dan β , (pada penelitian ini $\alpha=0,05$ $\beta=0,9$; maka $C = 10,52$)

s = simpangan baku gabungan antar dua kelompok (7,73 mg/dl)

d = selisih rata-rata antar kelompok (21,20 mg/dl)

menggunakan rumus tersebut akhirnya jumlah hewan coba adalah 3 ekor tikus putih per kelompok, karena ada kelompok kontrol normal, kontrol diabetik dan perlakuan perasan labu siam, maka jumlah keseluruhan 9 tikus yang akan diperiksa glukosa darahnya pada hari ke 1, 12 dan 26 secara berturut-turut.

Cara pembuatan air perasan buah labu siam, dipilih buah labu siam yang mengkal seberat 50 gram, dicuci bersih, dihaluskan, diperas, airnya (sekira 30 ml) dan ditampung dalam 1 wadah bersih. Air perasan kemudian diberikan secara peroral sebanyak 1 kali sehari dengan dosis 1 mL/ ekor (setiap kali pemberian ekstrak labu siam selalu diberikan dalam bentuk segar). Perlakuan diberikan selama 14 hari setelah diketahui perlakuan aloksan menunjukkan tikus hiperglikemi.

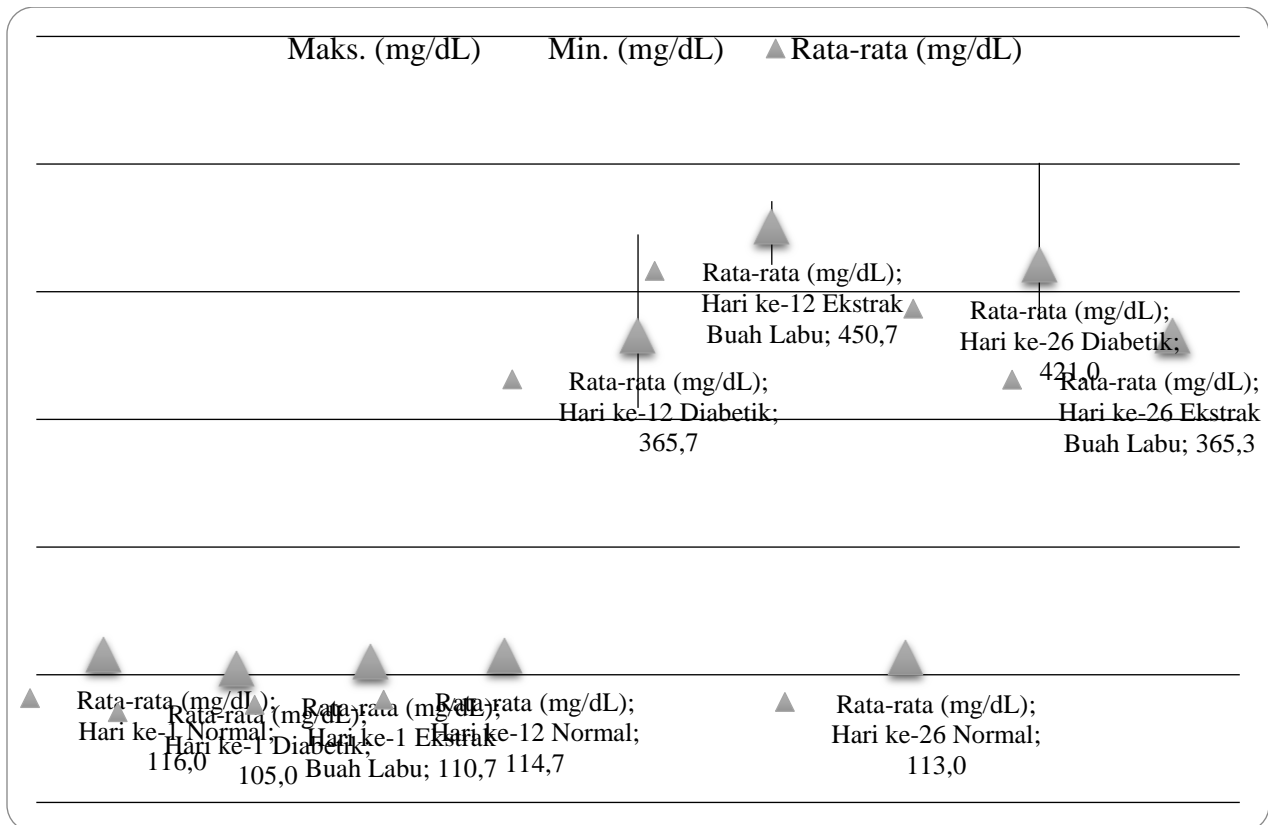
Cara induksi aloksan, dosis aloksan disiapkan 100 mg/kg BB, disuntikkan secara intraperitoneal, penyuntikkan dilakukan pada hari ke-1, ke-4 dan ke-8 pada kelompok 3 tikus hiperglikemi tanpa ekstrak buah labu siam dan 3 tikus hiperglikemi yang akan diberikan ekstrak buah labu siam.

Cara pengambilan darah dan analisis glukosa serum, darah diambil dari ekor tikus menggunakan jarum yang dilengkapi sayap pengikat (*wing needle*), diperoleh sekira 1 ml yang akan diolah menjadi serum. Analisis glukosa darah menggunakan metode modifikasi Trinder pada reagen *Prodia International Glucose LS*. Serum kontrol normal *Human Serodos Lot. 6872*, serum kontrol tinggi *Human Serodos Plus Lot. 6799*. Photometer Boehringer Mannheim Clinicon 401

C. Hasil Penelitian dan Diskusi

Pemodelan hewan coba tikus diabetes melibatkan 9 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus*) dari hari pertama sampai hari ke-26 tersaji pada gambar 1.

Gambar 1. Gambaran konsentrasi glukosa dari hari pertama sampai hari ke 26 pada 3 kelompok kohort Normal, Diabetik dan antidiabetik.



Dari gambar 1 terlihat bahwa hampir semua tikus pada hari pertama berada dalam rentang nilai rujukan normal sekitar 100 mg/dL. Pada hari ke-12, dua kelompok tikus yang mengalami perlakuan aloksan mengalami kerusakan pancreas terlihat dari nilai glukosa yang tinggi atau hiperglikemi sampai 450,7 mg/dl. Pada hari ke-26 terlihat kelompok normal masih menunjukkan rata-rata glukosa darah 113 mg/dl. Kelompok yang diberi aloksan tanpa ekstrak labu siam terlihat mengalami peningkatan glukosa darah sampai 421 mg/dl, namun sebaliknya terjadi pada kelompok tikus yang diberi ekstrak buah labu siam mengalami penurunan sampai 365,3 mg/dl. Secara statistik selanjutnya dilakukan uji anova dengan mengontrol variabel hari untuk tiap fase perlakuan, mengontrol kelompok normal untuk menginterpretasi post hoc terhadap kelompok diabetic dan ekstrak buah labu (lihat table 1, diberi nilai *p-value* 1,000).

Tabel 1. Analisis Anova dua Jalur Perlakuan Aloksan, Ekstrak Buah Labu Siam terhadap glukosa darah Tikus menurut Waktu dan Kelompok.

Waktu dan Kelompok		Maks. (mg/dL)	Min. (mg/dL)	Rata-rata (mg/dL)	Simpangan Baku (mg/dL)	Selisih Rata-rata (mg/dL)	<i>p-value</i>
Hari ke-1	Normal	117	115	116.0	1.0	0.0	1.000
	Diabetik	111	101	105.0	5.3	11.0	0.020
	Ekstrak Buah Labu	113	109	110.7	2.1	5.3	0.293
Hari ke-12	Normal	117	113	114.7	2.1	0.0	1.000
	Diabetik*	445	309	365.7	70.8	-251.0	0.001
	Ekstrak Buah Labu	471	421	450.7	26.3	-336.0	0.000
Hari ke-26	Normal	119	103	113.0	8.7	0.0	1.000
	Diabetik	501	378	421.0	69.3	-251.0	0.001
	Ekstrak Buah Labu	373	355	365.3	9.3	-336.0	0.000
	Diabetik	501	378	421.0	69.3	0.0	1.000
	Ekstrak Buah Labu	373	355	365.3	9.3	-85.0	0.163

*Ket.p-value untuk interaksi hari dan kelompok tikus 0,000; *p-value =0,236 bila dibanding ekstrak buah labu.*

Terlihat pada tabel 1, pada hari pertama pengukuran glukosa darah, semua tikus ada dalam batas nilai rujukan normal, namun bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal yang memiliki diet pakan pellet dan air, kelompok diabetik memiliki selisih 11 mg/dl secara bermakna pada $\alpha=0,05$. Namun selisih tersebut dianggap tidak akan bermakna klinis pada saat perlakuan dengan aloksan karena tidak mencapai 20% dari nilai rata-ratanya. Pada hari ke-12, kelompok diabetik dan kelompok ekstrak buah labu siam sama-sama mengalami hiperglikemi akibat induksi aloksan, bahkan ada selisih glukosa darah diantara keduanya sekira 26 mg/dl namun secara statistik tidak bermakna ($p = 0,236$). Dengan demikian kondisi diabetes telah berlaku sebelum perlakuan selanjutnya.

Pada hari ke-26, bila dibandingkan dengan kontrol normal, glukosa darah mengalami peningkatan sampai 501 mg/dl pada tikus yang tidak diobati dengan apapun bahkan meningkat terus dengan selisih 56 mg/dl bila disbanding hari ke-12. Lain halnya dengan kelompok tikus yang diberi ekstrak buah labu siam mengalami penurunan sebesar 98 mg/dl. Namun penurunan ini belum menunjukkan penurunan yang signifikan secara statistik. Pada penelitian ekstrak buah labu siam dengan dosis 0,1 g/mL yang diberikan selama 15 hari dapat menurunkan kadar glukosa tikus *wistar* dari 118.40 mg/dl \pm 10.69 mg/dl menjadi 97.20 mg/dL \pm 4.32 mg/dl (Dire, 2009).

Keadaan hiperglikemi pada tikus yang sama sekali tidak diberi pengobatan terlihat peningkatan yang cukup besar namun lebih besar lagi bila dibanding kondisi hari-1. Kerusakan pancreas telah berhasil terbentuk secara permanen. Hal ini terbukti pula bahwa cekaman oksidatif oleh radikal bebas hasil reaksi aloksan dapat menyebar secara luas di pankreas, bahkan organ hati dapat berwarna hitam karena tingginya cekaman oksidatif yang merusak sel hati pada proses detoksikasi (Firdous, et al., 2012)

Penurunan glukosa darah ini telah dibuktikan bahwa terdapat beberapa senyawa turunan flavonoid yang dapat menurunkan kadar gula darah, diantaranya: *Kaemferol-3 neohesperidoside*, *6-hydroxyapigenin (scutellarein)*, dan *6-hydroxyluteolin-7-O-β-D-glucopyranoside*. Baru-baru ini, dilaporkan bahwa cara kerja flavonoid meliputi mekanisme seluler dan molekuler. Pada penelitian yang dilakukan oleh Cazarolli disebutkan bahwa beberapa efek dari flavonoid adalah menghambat penyerapan glukosa atau meningkatkan toleransi glukosa. *Non-glycosylate* flavonoid terbukti dapat menurunkan absorpsi glukosa. Selain menurunkan absorpsi glukosa, mekanisme lain yang mungkin dilakukan oleh flavonoid adalah dengan mengendalikan kadar glukosa darah dengan cara menghambat aktifitas *α-glucosidase* dalam usus. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Kim *et al* menunjukkan adanya penghambatan *α-glucosidase*, disebutkan pula bahwa *luteolin*, *amentoflavone*, *luteolin 7-O-glucoside*, dan *daidzein* merupakan senyawa penghambat (inhibitor) terkuat dari senyawa yang diuji.

Selain itu, flavonoid juga dapat meniru insulin, menstimulasi pengambilan glukosa pada jaringan perifer, dan meregulasi aktifitas atau pengeluaran enzim yang terlibat pada metabolisme karbohidrat. Ditemukan juga bahwa *epigallocatechin 3-gallate* meniru efek insulin pada pengurangan pengeluaran *phosphoenolpyruvate carboxykinase* dan *G-6-Pase* dalam hati tikus. Seperti halnya dengan insulin, flavonoid meningkatkan fosforilasi tirosin dari reseptor insulin dan *insulin receptor substrate-1 (IRS-1)*. Pada penelitian lain, pemberian flavonoid secara oral dan rutin pada tikus yang diabetes menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa plasma dan peningkatan kadar insulin serta mengembalikan kadar glikogen dan aktivitas *hexokinase*. Aktifitas enzim *G-6-Pase* dan *fructose-1,6-biphosphatase* secara signifikan mengalami penurunan dalam hati dan otot tikus yang secara rutin diberi perlakuan.

Kaemferol-3-neohesperidoside terbukti memiliki khasiat untuk merangsang sintesis glikogen pada otot tikus hingga 2,38 kali lipat lebih cepat. Pemberian flavonoid secara oral juga menunjukkan jalur *phosphatidylinositol-3-kinase (P13K)*, *glycogen synthesa kinase-3 (GSK-3)* dan

jalur *Mitogen-activated protein kinase* (MEK), *protein phosphatase-1* (PP-1) terlibat dalam P13K yang berpengaruh pada sintesis glikogen. Flavonoid juga menstimulasi sintesis glikogen pada otot tikus dengan mekanisme yang dikenal dengan transduksi sinyal insulin, yaitu dengan memberikan dua efek, *apigenin-6-C- β -L-fucopyranoside* sebagai antihiperqlikemik (sekresi insulin) dan sebagai *insulino-mimetic* (sintesis glikogen) (Brahmachari, 2011)

Untuk dapat membuktikan seberapa besar cekaman oksidatif oleh aloksan meluas, perlu adanya pengujian bersama STZ sebagai bahan kimia bersumber mikroba yang mampu menginduksi tikus hiperqlikemi IDDM dan non-IDDM. Pengukuran beberapa enzim antioksidan endogen seperti katalase atau beberapa biomarker oksidatif lainnya seperti MDA dan GSH. Selain itu perlu adanya inisiasi untuk menentukan dosis konversi dari hewan coba kepada manusia (human equivalent dose (HED) yang terstandar seperti FDA.

D. Kesimpulan

Dari hasil analisis glukosa darah terlihat bahwa pemodelan hewan coba untuk diabetes tipe 1 (IDDM) berhasil dilakukan. Perasan ekstrak buah labu siam terbukti dapat menurunkan konsentrasi glukosa darah sampai 98 mg/dl belum secara signifikan menurunkan secara cepat kurang dari 14 hari. Adanya interaksi yang bermakna antara waktu perlakuan, dosis dan jenis perlakuan penting untuk dipertimbangkan pada saat ini akan ditransfer untuk kebutuhan industri.

E. Daftar Pustaka

Brahmachari Goutam 6. Bio-flavonoid with promising anti-diabetic potentials: A critical survey [Journal]. - [s.l.] : Research Signpost, 2011. - 661 : Vol. 37. - pp. 187-212.

DiabetesCare Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus [Journal]. - [s.l.] : American Diabetes Association (ADA), 2004. - S6 : Vol. 27.

Dire G.F., Evaluation of Biological of a Chayotte Extract: an Experimental Analysis on Wistar Rats [Journal]. - New York : New York Science Journal, 2009. - 45 : Vol. 2.

Firdous SM. [et al.] Evaluation of antiulcer activity of ethanolic extract of *Sechium edule* fruits in experimental rats [Journal]. - [s.l.] : Int J Pharm Pharm Sci., 2012. - Vol. 4. - pp. 374-377.

Firdous SM. [et al.] Protective effect of ethanolic extract and its ethylacetate and n-butanol fractions of *Sechium edule* fruits against carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats. [Journal]. - [s.l.] : Int J Pharm Pharm Sci., 2012. - Vol. 4. - pp. 354-459.

Gordon E.A., Guppy L.J. and Nelson M. The antihypertensive effects of the Jamaican Cho-Cho (*Sechium edule*) [Journal]. - [s.l.] : West Ind Med J., 2000. - Vol. 49. - pp. 27-31.

Kamble M.B., Dumbre R.K. and Rangari V.D. Hepatoprotective activity studies of herbal formulation [Journal]. - [s.l.] : Int. J. Green Pharm., 2008. - Vol. 2. - pp. 147-151.

Kemendes RI Kementerian Kesehatan Republik Indonesia [Online] // Press Release Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. - 2013. - March 31, 2013. - <http://www.depkes.go.id/index.php/berita/press-release/414-tahun-2030-prevalensi-diabetes-melitus-di-indonesia-mencapai-213-juta-orang.html>.

Ordonez A.A., Gomez J.D. and Isla M.A. Antioxidant activities of *Sechium edule* (Jacq.) Swartz extracts [Journal]. - [s.l.] : Food Chem., 2006. - Vol. 97. - pp. 452-458.

Siciliano T and De Tommasi N Study of Flavonoids of *Sechium edule* (Jacq) swartz (Cucurbitaceae) Different Edible Organs by Liquid Chromatography Photodiode Array Mass Spectrometry [Journal]. - [s.l.] : J. Agric. Food Chem., 2004. - Vol. 52. - pp. 6510-6515.

Snedecor GW and Cochran WG Statistical Methods [Book]. - Iowa : Ames:Iowa State Press, 1989. - Vol. 8.

Vozari-Hampe MM [et al.] A lectin from *Sechium edule* fruit exudates [Journal]. - [s.l.] : Phytochem, 1992. - Vol. 31. - pp. 1447-1480.