

**Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl.)
pada Tikus yang Diinduksi Insulin Kerja Panjang**

**Antidiabetic Activity of Ethanolic Extract of Cassava (*Manihot utilissima* Pohl.)
Leaves in Long Acting Insulin-Induced Rats**

Achmad Quraisy Aljufri, Kiki Damayanti*, Fasikha

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim, Semarang, Indonesia

*Email Korespondensi: k.damayanti.s@gmail.com

Abstrak

Aktivitas daun singkong sebagai antidiabetes pada tikus DM tipe 1 telah diteliti sebelumnya. Metabolit sekunder yang kemungkinan berperan dalam terapi DM adalah flavonoid. Perlu dilakukan eksplorasi aktivitas daun singkong sebagai terapi DM tipe 2. Penelitian ini bertujuan untuk mengonfirmasi keberadaan flavonoid dalam ekstrak etanol daun singkong (EEDS), dilanjutkan pengujian aktivitas antidiabetes ekstrak pada tikus DM tipe 2 yang diinduksi insulin kerja panjang. Metode maserasi merupakan metode pembuatan EEDS. Keberadaan flavonoid dalam EEDS diketahui melalui reaksi dengan Pb asetat. Tikus sebagai model hewan uji dibuat mengalami DM tipe 2 dengan diinduksi insulin glargine 1,80 IU/kgBB secara subkutan, 1 kali sehari, selama 14 hari. Tikus DM tipe 2 sebanyak 40 ekor dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I merupakan kelompok kontrol negatif yang diberi larutan CMC-Na 0,5% 12,5 mL/kgBB. Kelompok II merupakan kelompok kontrol positif yang diberi metformin HCl dosis 45 mg/kgBB, 2 kali sehari. EEDS dosis 250; 500; dan 750 mg/kgBB diberikan pada tikus kelompok III, IV, dan V. Senyawa uji diberikan pada tikus secara per oral selama 14 hari. Sehari setelah senyawa uji terakhir, kadar glukosa darah 2 jam *postprandial* diukur. EEDS mengandung flavonoid dan punya aktivitas sebagai antidiabetes.

Kata Kunci: antidiabetes, daun singkong, insulin kerja panjang, *Manihot utilissima* Pohl.

Abstract

The antidiabetic activity of cassava leaves in type 1 DM mice has been studied previously. Secondary metabolites that may play a role in DM therapy are flavonoids. It is necessary to explore the activity of cassava leaves as a therapy for type 2 diabetes. This study aims to confirm the presence of flavonoids in the ethanol extract of cassava leaves (EEDS), followed by testing the antidiabetic activity of the extract in type 2 DM rats induced by long-acting insulin. The maceration method is a method for

making EEDS. The presence of flavonoids in EEDS is known through reactions with Pb acetate. Rats as a test animal model were made to experience type 2 DM by being induced by insulin glargine 1.80 IU/kgBW subcutaneously, once a day, for 14 days. A total of 40 rats with type 2 diabetes were divided into 5 groups. Group I was the negative control group which was given 0.5% CMC-Na solution 12.5 mL/kgBW. Group II was the positive control group which was given metformin HCl at a dose of 45 mg/kgBW, 2 times a day. EEDS at a dose of 250; 500; and 750 mg/kgBW was given to rats in group III, IV, and V consecutively. The EEDS was given to rats orally for 14 days. The day after the last EEDS administration, 2-hour postprandial blood glucose levels were measured. EEDS contains flavonoids and has antidiabetic activity.

Keywords: antidiabetics, cassava leaves, long acting insulin, *Manihot utilissima* Pohl.

Diterima: 19 Desember 2023

Disetujui: 29 Juni 2024

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v6i3.2229>



Copyright (c) 2024, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.).
Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia.
This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

Cara Sitasi:

Aljufri, A. Q., Damayanti, K., Fasikha, F., 2024. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) pada Tikus yang Diinduksi Insulin Kerja Panjang. *J. Sains Kes.*, 6(3). 458-463. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v6i3.2229>

1 Pendahuluan

Jumlah penderita DM tipe 2 di Indonesia sebesar 1,5% dari total jumlah penduduk Indonesia [1]. DM tipe 2 yang tidak ditangani dengan baik akan berujung pada kematian. Mortalitas akibat DM tipe 2 di Indonesia cukup tinggi yaitu sebesar 3% [2]. Mortalitas akibat DM tipe 2 dapat ditekan apabila pasien DM tipe 2 dapat menghindari komplikasinya dengan cara pengelolaan DM yang baik.

Pengelolaan DM tipe 2 terdiri dari edukasi, latihan fisik, terapi nutrisi medis, dan pemberian antihiperqlikemia oral maupun injeksi [3]. Terapi DM tipe 2 dengan pemberian antihiperqlikemia merupakan terapi jangka panjang, bahkan dapat berlangsung seumur hidup pasien. Hasil Riset Kesehatan Dasar mengungkapkan bahwa minum obat tradisional merupakan salah satu alasan pasien DM tipe 2 tidak melanjutkan terapi menggunakan

antihiperqlikemia [1]. Penggunaan obat tradisional perlu didukung dengan data ilmiah mengenai khasiatnya.

Obat tradisional di Indonesia sebagian besar menggunakan bahan tanaman, salah satu bahan tanaman yang bisa dimanfaatkan diantaranya daun singkong (*Manihot utilissima* Pohl.) yang telah digunakan masyarakat di Indonesia sebagai sayur, namun dapat juga digunakan sebagai obat tradisional. Pembuktian ilmiah daun singkong menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun singkong mampu menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi aloksan [4]. Aloksan merupakan zat kimia yang menginduksi terjadinya kerusakan sel beta pankreas, sehingga produksi insulin menurun. Secara patofisiologi, aloksan menimbulkan DM tipe 1 [5]. Pembuktian tersebut menjadi acuan dilakukannya penelitian lain yang bersifat eksploratif, yang

relevan yaitu pengujian aktivitas ekstrak yang sama terhadap DM tipe 2. Pengujian *in vivo* aktivitas antidiabetes membutuhkan hewan uji yang dibuat sedemikian rupa, sehingga dapat menggambarkan patofisiologi DM tipe 2 pada manusia. Pemberian makanan tinggi fruktosa pada tikus merupakan salah satu cara untuk membuat hewan uji DM tipe 2. Pembuatan model hewan uji tersebut memerlukan waktu yang cukup lama yaitu selama lebih dari 2 bulan [6]. Metode lain yang dapat digunakan untuk membuat model hewan uji DM tipe 2 adalah pemberian insulin kerja panjang pada tikus. Metode ini mempunyai kelebihan yaitu waktu pemberian induktor yang lebih singkat yaitu 14 hari [7].

Aktivitas farmakologi tanaman dipengaruhi oleh metabolit sekunder yang dikandungnya. Daun singkong dinyatakan oleh Blagbrough *et al* (2010) mengandung flavonoid glikosida yaitu quercetine-3-*O*-rutinoside (rutin) dan kaempferol-3-*O*-rutinoside [8]. Pentingnya keberadaan flavonoid menjadi perlu untuk dikonfirmasi kembali dalam penelitian ini.

2 Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bejana maserasi, rotary evaporator (Heidolph), metal gavage needle (lokal), glukometer (GlucoDR®), dan alat-alat gelas yang lazim.

Bahan tanaman yang digunakan yaitu daun singkong yang diperoleh dari daerah Gunungpati, Semarang. Tanaman yang digunakan telah dipastikan kebenarannya melalui proses determinasi yang dilakukan di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro. Etanol 70% diperoleh dari PT. Multi Kimia Raya. Bahan lain yang digunakan yaitu insulin glargine (Lantus®), metformin (PT. Phapros Tbk), CMC Na (Brataco), dan aquadest. Tikus yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih jantan galur Wistar diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada.

2.2 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan metode

randomized control group pretest and posttest design. Rancangan penelitian telah mendapatkan persetujuan dari Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Sultan Agung Semarang.

2.3 Pembuatan Ekstrak Etanol daun Singkong

Ekstrak etanol daun singkong dibuat dengan menyari simplisia daun salam secara maserasi. Serbuk simplisia daun singkong sebanyak 900 g dengan etanol 70% sebanyak 6,75 L dicampur dalam bejana maserasi selama tiga hari sambil sesekali diaduk. Campuran serbuk simplisia daun singkong disaring, sehingga diperoleh maserat dan ampas. Ampas direndam kembali dengan etanol 70% sebanyak 2,25 L selama dua hari sambil sesekali diaduk. Campuran ampas dan etanol 70% dipisah. Maserat dan hasil remaserasi digabung, kemudian dibiarkan semalaman. Maserat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

2.4 Identifikasi Flavonoid

EEDS sebanyak 50 mg dilarutkan dalam etanol 5 mL, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh ditambah beberapa tetes Pb asetat. Filtrat tanpa penambahan pereaksi juga disiapkan untuk membandingkan warna larutan EEDS sebelum dan sesudah pemberian Pb asetat. Keberadaan senyawa flavonoid ditunjukkan bila timbul flok atau endapan berwarna putih [9].

2.5 Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan untuk penelitian adalah tikus jantan galur Wistar dalam kondisi sehat, berumur 2-3 bulan, dengan berat badan 200-250 gram. Tikus sebanyak 40 ekor dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok I merupakan kelompok kontrol negatif yang diberi larutan CMC-Na 0,5% 12,5 mL/kgBB. Kelompok II adalah tikus yang diberi metformin HCl dosis 45 mg/kgBB, 2 kali sehari. Kelompok III, IV, dan V diberi EEDS dengan dosis berturut-turut 250, 500, dan 750 mg/kgBB. Semua tikus diadaptasi dalam lingkungan laboratorium selama 7 hari. Tikus ditempatkan dalam kandang individu, dengan siklus cahaya 12 jam terang dan 12 jam gelap. Tikus diberi pakan standar BR2 20 g/tikus/hari, sedangkan air diberikan *ad libitum*.

2.6 Pembuatan Tikus DM Tipe 2

Tikus yang digunakan dalam penelitian diukur kadar glukosa 2 jam *postprandial*-nya. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah 2 jam *postprandial* ini disebut kadar glukosa darah 2 jam *postprandial* 1. Tikus diinjeksi dengan insulin glargine dosis 1,80 IU/kgBB secara subkutan, 1 kali sehari, selama 14 hari. Tiga hari setelah pemberian insulin glargine terakhir, dilakukan kembali pengukuran kadar glukosa darah 2 jam *postprandial*. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah 2 jam *postprandial* ini disebut kadar glukosa darah 2 jam *postprandial* 2. Tikus dinyatakan mengalami DM tipe 2 apabila data kadar glukosa 2 jam *postprandial* 2 lebih besar secara bermakna dibandingkan data kadar glukosa 2 jam *postprandial* 1. Taraf kepercayaan 95% digunakan pada uji beda.

2.7 Pengujian Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Singkong

Tikus yang dinyatakan mengalami DM tipe 2 sebanyak 40 ekor dibagi menjadi 5 kelompok. CMC-Na, metformin HCl, dan EEDS dalam 3 peringkat dosis diberikan secara per oral selama 14 hari. Sehari setelah pemberian CMC-Na, metformin HCl, dan EEDS terakhir, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah 2 jam *postprandial*. Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah 2 jam *postprandial* ini disebut kadar glukosa darah 2 jam *postprandial* 3. EEDS dinyatakan mempunyai aktivitas sebagai antidiabetes bila data kadar glukosa 2 jam *postprandial* 3 lebih kecil secara bermakna dibandingkan data kadar glukosa 2 jam *postprandial* 2. Uji beda dilakukan pada taraf kepercayaan 95%.

3 Hasil dan Pembahasan

Maserasi dan remaserasi serbuk simplisia daun singkong menghasilkan maserat sebanyak 6.141 mL. Maserat yang didapatkan berwarna hijau tua gelap. Serbuk simplisia daun singkong sebanyak 900 g menghasilkan EEDS sebanyak 202,82 g, sehingga rendemennya 22,53 %. EEDS yang dihasilkan berbentuk kental, berwarna hijau pekat, serta memiliki bau khas daun singkong. Keberadaan flavonoid dalam EEDS terkonfirmasi dengan terbentuknya endapan putih setelah penambahan Pb asetat. mekanisme flavonoid untuk penanganan DM yaitu menghambat produksi glukosa oleh hati,

meningkatkan penggunaan glukosa oleh otot, meningkatkan sekresi insulin, dan menurunkan resistensi insulin. Efek flavonoid terhadap sel beta pankreas yaitu peningkatan proliferasi dan penurunan apoptosisnya [10].

Pemberian insulin kerja panjang menyebabkan keadaan hiperinsulinemia yang justru menjadi pemicu terjadinya resistensi reseptor insulin. Setiap reseptor insulin mempunyai dua sisi tempat berikatan dengan insulin yaitu sisi dengan afinitas yang tinggi dan rendah. Satu molekul insulin berikatan dengan sisi reseptor insulin yang afinitasnya tinggi, diikuti dengan molekul insulin lain yang berikatan dengan sisi reseptor insulin yang afinitasnya rendah. Keadaan hiperinsulinemia malah menyebabkan penurunan afinitas reseptor insulin. Selain itu hiperinsulinemia juga menyebabkan berkurangnya sisi reseptor insulin yang afinitasnya tinggi, dengan mekanisme yang belum dapat dijelaskan secara pasti. Paparan insulin terus menerus menyebabkan berkurangnya jumlah reseptor insulin pada sel [11].

Data utama penelitian ini adalah data kadar glukosa *postprandial* 1, 2, dan 3. Data kadar glukosa darah *postprandial* terangkum pada tabel 1.

Tabel 1. Kadar glukosa darah *postprandial* pada berbagai kelompok

Kelompok	Rata-rata kadar glukosa darah post prandial (mg/dl) ± SD		
	1	2	3
I	114,57 ± 11,6	118,57 ± 12,4 ^a	119,43 ± 22,9 ^b
II	84,50 ± 4,6	119,00 ± 33,5 ^a	98,17 ± 7,6 ^b
III	87,14 ± 5,6	106,57 ± 8,1 ^a	88,29 ± 10,5 ^b
IV	99,20 ± 5,2	107,80 ± 5,5 ^a	83,60 ± 9,9 ^b
V	90,83 ± 12,4	108,17 ± 10,1 ^a	80,67 ± 8,6 ^b

Keterangan: I = kelompok kontrol negatif (CMC Na 0,5% 12,5 mL/kgBB), II = kelompok kontrol positif (metformin 45 mg/kgBB, 2 kali sehari), III = EEDS 250 mg/kgBB, IV = EEDS 500 mg/kgBB, V = EEDS 750 mg/kgBB, ^a = terdapat perbedaan yang bermakna kadar glukosa darah *postprandial* 1 dan 2, ^b = terdapat perbedaan yang bermakna kadar glukosa darah *postprandial* 2 dan 3.

Tikus kelompok kontrol negatif diberi CMC Na 0,5% yang terdiri dari campuran air sebagai pembawa dan CMC Na sebagai *suspending agent* pada EEDS. Air maupun CMC Na seharusnya bersifat netral dalam arti tidak mempunyai efek atau pengaruh pada kadar glukosa *postprandial* tikus. Penelitian ini menunjukkan rata-rata kadar glukosa *postprandial* 3 pada kelompok I

lebih besar dibandingkan rata-rata kadar glukosa *postprandial* 2, namun tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$). Hasil analisa statistika ini menunjukkan bahwa CMC Na 0,5% tidak mempunyai efek terhadap perubahan kadar glukosa darah *postprandial*.

Metformin HCl merupakan obat hipoglikemia oral yang menjadi pilihan penanganan DM tipe 2. Metformin HCl diberikan pada kelompok kontrol positif dengan mempertimbangkan kemiripan mekanisme aksi flavonoid yang menjadi target dalam EEDS dengan metformin HCl. Secara teoritis, kadar glukosa darah *postprandial* 3 tikus kelompok II lebih kecil dibandingkan kadar glukosa darah *postprandial* 2. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa rata-rata kadar glukosa darah *postprandial* 3 lebih kecil secara signifikan dibandingkan rata-rata kadar glukosa darah *postprandial* 2. Signifikansi tersebut diperoleh melalui analisa statistik menggunakan uji Wilcoxon dengan nilai $< 0,05$. Adanya perbedaan yang signifikan pada kadar glukosa darah *postprandial* 2 dan 3 ini menunjukkan bahwa prosedur pelaksanaan uji aktivitas antidiabetes yang dilakukan dalam penelitian ini sudah benar.

EEDS dosis 250, 500, dan 750 mg/kgBB diberikan pada tikus kelompok III, IV, dan V. Rata-rata kadar glukosa darah *post prandial* 3 pada kelompok III, IV, dan V lebih kecil dibandingkan rata-rata kadar glukosa darah *post prandial* 2 dan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) diantara keduanya. Perbedaan yang signifikan ini menunjukkan bahwa EEDS pada berbagai dosis beraktivitas sebagai antidiabetes.

Aktivitas antidiabetes EEDS berkaitan erat dengan kandungan metabolit sekunder, terutama flavonoid yang telah terkonfirmasi keberadaannya. Rutin merupakan jenis flavonoid yang terkandung dalam daun singkong dengan jumlah yang signifikan [12]. Ghorbani (2017) mengungkapkan mekanisme aksi rutin sebagai antidiabetes yaitu menurunkan absorpsi glukosa di usus halus, menghambat glukoneogenesis di jaringan, meningkatkan ambilan glukosa di jaringan, menstimulasi sekresi insulin dari sel beta, dan menghambat degenerasi islet Langerhans [13]. Rutin diketahui menurunkan absorpsi glukosa melalui penghambatan beberapa enzim yaitu

aldose reductase, α -glukosidase, dan α -amilase [14].

4 Kesimpulan

EEDS mengandung flavonoid. EEDS mempunyai aktivitas sebagai antidiabetes pada tikus DM tipe 2 yang diinduksi insulin kerja panjang.

5 Pernyataan

5.1 Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT. Phapros Tbk yang telah memberikan bahan dalam penelitian ini berupa metformin HCl.

5.2 Penyanggah Dana

Penelitian ini mendapatkan dukungan dana dari DIPA Universitas Wahid Hasyim.

5.3 Kontribusi Penulis

Semua penulis berkontribusi dalam penulisan artikel ini.

5.4 Etik

Ethical clearance dikeluarkan oleh Komisi Bioetika penelitian Kedokteran/Kesehatan, Fakultas kedokteran, Universitas Islam Sultan Agung Semarang, nomor 52/II/2022/Komisi Bioetik.

5.5 Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan dalam penelitian dan publikasi artikel penelitian ini.

6 Daftar Pustaka

- [1] Kemenkes, *Laporan Nasional RISKESDAS 2018*. Lembaga Penerbit Balitbangkes, 2019.
- [2] WHO, *Noncommunicable Disease Country Profiles 2018*. Geneva: World Health Organization, 2018. doi: 10.1002/9781119097136.part5.
- [3] S. A. Soelistijo *et al.*, *Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa di Indonesia 2021*. PB PERKENI, 2021.
- [4] N. K. Warditiani, L. P. F. Larasanty, dan I. Damanik, "Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl) terhadap Kadar Gula Darah Mencit Jantan Galur Balb/C yang Diinduksi Aloksan," *J. Farm. Udayana*, vol. 4, no. 1, hal. 61–64, 2015.
- [5] O. M. Ighodaro, A. M. Adeosun, dan O. A. Akinloye, "Alloxan-induced diabetes, a common

- model for evaluating the glycemic-control potential of therapeutic compounds and plants extracts in experimental studies," *Med.*, vol. 53, no. 6, hal. 365–374, 2017, doi: 10.1016/j.medic.2018.02.001.
- [6] A. E. Nugroho, "Review: Animal Models of Diabetes Mellitus: Pathology and Mechanism of Some Diabetogenics," *Biodiversitas J. Biol. Divers.*, vol. 7, no. 4, hal. 378–382, 2006, doi: 10.13057/biodiv/d070415.
- [7] Y. Anas, R. Rositasati, M. R. Fitriani, dan Suharjono, "Pengembangan Model Hewan Percobaan Tikus Diabetes Mellitus Tipe 2 Karena Resistensi Insulin yang Diinduksi dengan Human Insulin Jangka Panjang," *J. Ilmu Farm. dan Farm. Klin.*, vol. 12(2), hal. 16–23, 2015.
- [8] I. S. Blagbrough, S. A. L. Bayoumi, M. G. Rowan, dan J. R. Beeching, "Cassava: An appraisal of its phytochemistry and its biotechnological prospects," *Phytochemistry*, vol. 71, no. 17–18, hal. 1940–1951, 2010, doi: 10.1016/j.phytochem.2010.09.001.
- [9] A. C. Kumoro, *Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif dari Tanaman Obat*. Yogyakarta: Plantaxia, 2015.
- [10] F. Sok Yen *et al.*, "Hypoglycemic Effects of Plant Flavonoids: A Review," *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2021. Hindawi Limited, 2021. doi: 10.1155/2021/2057333.
- [11] M. H. Shanik, Y. Xu, J. Skrha, R. Dankner, Y. Zick, dan J. Roth, "Insulin resistance and hyperinsulinemia: is hyperinsulinemia the cart or the horse?," *Diabetes Care*, vol. 31 Suppl 2, 2008, doi: 10.2337/dc08-s264.
- [12] S. O. Salawu, M. Innocenti, C. Giaccherini, A. A. Akindahunsi, dan N. Mulinacci, "Phenolic Profiles of Four Processed Tropical Green Leafy," *Nat. Prod. Commun.*, vol. 3, no. 12, hal. 2043–2048, 2008.
- [13] A. Ghorbani, "Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin," *Biomed. Pharmacother.*, vol. 96, no. August, hal. 305–312, 2017, doi: 10.1016/j.biopha.2017.10.001.
- [14] T. Maradesha *et al.*, "Multiprotein Inhibitory Effect of Dietary Polyphenol Rutin from Whole Green Jackfruit Flour Targeting Different Stages of Diabetes Mellitus: Defining a Bio-Computational Stratagem," *Separations*, vol. 9, no. 9, 2022, doi: 10.3390/separations9090262.