

Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Daun Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) sebagai Penurun Kadar Glukosa Darah pada Tikus Hiperglikemia

(Ethanol Extract Activity Test of 70% *Calliandra calothyrsus* Meisn. Leaves as a Lowering of Blood Glucose Levels in Hyperglycemic Rats)

DWITIYANTI*, HAYATI, SINDI ANGGRAENI

Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. Hamka,
Jl. Limau II, Kramat Pela, Jakarta Selatan 12130.

Diterima 26 September 2020, Disetujui 8 Februari 2021

Abstrak: Diabetes Melitus (DM) adalah peningkatan kadar glukosa darah akibat gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Daun kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) memiliki kandungan senyawa tokoferol, karotenoid, flavonoid, saponin, dan tanin merupakan sumber antioksidan non-enzimatis alami. Senyawa aktif tersebut memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim α -glukosidase sehingga dapat berpotensi sebagai antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol 70% daun kaliandra merah terhadap penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan galur sprague dawley hiperglikemia. Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari kontrol normal (pakan standar), kontrol negatif (induksi aloksan), kontrol positif (metformin HCl dosis 51,38 mg/kg), kelompok dosis I (50 mg/kg), dosis II (100 mg/kg), dan dosis III (200 mg/kg). Data dianalisis menggunakan one way ANOVA dan dilanjutkan uji Tukey. Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis 1, 2 dan 3 mampu menurunkan glukosa darah. Dosis 3 memiliki presentase penurunan sebesar 58,08 % yang sebanding terhadap kontrol positif (metformin HCl dosis 51,38 mg/kg) sebesar 63,85%.

Kata kunci: *Calliandra calothyrsus* Meisn., hiperglikemia, kadar glukosa darah.

Abstract: Diabetes mellitus (DM) is an increase in blood glucose levels due to impaired metabolism of carbohydrates, fats, and proteins. Red kaliandra leaf (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) contains tocopherol, carotenoid, flavonoid, saponin, and tannin compounds are natural sources of non-enzymatic antioxidants. The active compound has inhibitory activity against the α -glucosidase enzyme so that it can be potential as an antidiabetic. This study aims to determine the activity of 70% ethanol extract of red kaliandra leaves on the decrease in blood glucose levels in male white rats Sprague Dawley hyperglycemia strain. Test animals were divided into 6 groups consisting of normal controls (standard feed), negative controls (alloxan induction), positive controls (metformin HCL dose 51.38 mg/kg), group I dose (50 mg/kg), dose II (100 mg/kg), and dose III (200 mg/kg). Data were analyzed using one way ANOVA and continued by Tukey test. The results showed that doses 1, 2, and 3 can reduce blood glucose. Dose 3 had a decrease in the percentage of 58.08% which was comparable to a positive control (metformin HCl dose 51.38 mg/kg) of 63.85%.

Keywords: *Calliandra calothyrsus* Meisn., hyperglycemia, blood glucose levels.

PENDAHULUAN

DIABETES mellitus adalah sekumpulan dari gangguan metabolik yang ditandai oleh hiperglikemi dan abnormalitas metabolisme dari karbohidrat, lemak, dan protein. Diabetes mellitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dari hasil defectsekresi insulin baik mutlak atau relatif, dan berkurangnya sensitifitas jaringan terhadap insulin atau keduanya⁽¹⁾.

Tanaman kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat salah satunya digunakan sebagai obat herbal. Kaliandra mempunyai potensi sebagai antelmintik, antidiare, antikonvulsan, analgesik dan antimikroba⁽²⁾. Daun dan akar kaliandra merah mengandung senyawa aktif yaitu asam galat, metil galat, miristin, kuersetin, mirisetin 3-O- β -D-4C1-lukopiranosida, afzelin, isokuersetin, asam benzoat, asam kafeat, asam betulinat, glikosida digital, glikosida, saponin, steroid, asam lemak, alkaloid, polifenol, antrakuina⁽³⁾. Senyawa aktif kuersetin juga ditemukan mempunyai aktifitas α -glukosidase yang mampu menurunkan kadar glukosa darah sehingga dapat berpotensi sebagai antidiabetes⁽⁴⁾.

Flavonid berperan sebagai antioksidan mampu menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stres oksidatif, stres oksidatif berkurang maka dapat mengurangi kerusakan sel beta pankreas sehingga mampu menurunkan resiko diabetes dan bermanfaat dalam mengurangi resistensi insulin⁽⁵⁾. Flavonoid secara umum dapat meregenerasi kerusakan sel beta pankreas akibat induksi aloksan⁽⁶⁾. Flavonoid dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan merangsang sel beta pankreas untuk memproduksi insulin⁽⁷⁾.

Penelitian lainnya telah dilakukan tentang karakteristik kimia, aktivitas antioksidan dan antihepatotoksik dari daun *Calliandra haematocephala*⁽⁸⁾. Berdasarkan penelitian sebelumnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap daun kaliandra merah untuk membuktikan adanya aktifitas penurunan kadar glukosa darah. Daun kaliandra merah diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70%. Ekstrak etanol 70% daun kaliandra merah, kemudian diuji aktivitas sebagai penurun kadar glukosa darah pada tikus jantan hiperglikemia dengan metformin HCl sebagai kontrol positif. Hasil berupa presentase penurunan kadar gula darah menggunakan uji Tukey dan analisis one way ANOVA.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Bahan yang akan diujikan adalah daun kaliandra merah (*Calliandra calothyrsus* Meisn.) yang diperoleh dari IPB (Institut Pertanian Bogor). Bahan yang digunakan untuk menginduksi diabetes adalah aloksan monohidrat (Sigma-Aldrich), HCl, metanol, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorf, pereaksi Bouchardat (Indo Reagen), asam asetat anhidrat, asam sulfat, kloroform, NaOH, FeCl₃, logam Mg, ekstrak etanol 70% daun kaliandra, metformin HCl, alkohol, natrium klorida, NaCl 0,9% (Otsu), etanol 70% (One Med), ketamin (Hameln), *reagent diagnostic glucose* (Human). Hewan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus jantan galur Sparague Dawley, berumur 2-3 bulan dengan bobot sekitar 150-200 g sejumlah 24 ekor .

Alat. Kandang tikus, tempat pakan dan minum tikus, sekam, kawat ram, mesin *blender*, aluminium foil, gunting, toples maserasi, batang pengaduk, vakum *rotary evaporator*, labu alas bundar, oven, cawan petri, sonde oral, spuit, kapas, beaker glass, pipet tetes, lumpang, alu, mikropipet, timbangan analitik, sentrifugator, vortex dan spektrofotometer klinikal Varta-506.

METODE. Persiapan Hewan Uji Tikus. Hewan uji diaklimatisasi terlebih dahulu di dalam kandang selama kurang lebih 7 hari dengan tujuan hewan uji bisa beradaptasi dengan lingkungan baru.

Rancangan Penelitian. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak lengkap, dengan jumlah minimal perkelompok mengikuti rumus Federer. Hewan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 4 ekor.

Determinasi Tanaman. Determinasi tanaman kaliandra merah untuk mengidentifikasi jenis dan memastikan kebenaran tanaman kaliandra merah dilakukan di Balai Penelitian dan Pengembangan Botani "Herbarium Bogoriense" LIPI, Bogor.

Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun Kaliandra Merah. Daun kaliandra yang telah didapat 7 kg dikumpulkan dan dibersihkan dari zat pengotor dengan air mengalir. Kemudian dirajang dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka dan terhindar dari sinar matahari langsung. Simplisia kering kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk kemudian diayak dengan menggunakan ayakan mesh no.40 untuk mendapatkan derajat kehalusan yang sesuai, kemudian ditimbang dan dicatat hasilnya

dan di simpan di wadah bersih dan kering, tertutup rapat dan terlindung dari cahaya matahari.

Perendaman serbuk daun kaliandra dilakukan selama tiga hari disertai dengan pengadukan yang bertujuan untuk meratakan seluruh bagian serbuk simplisia agar terendam dengan etanol 70%. Setelah tiga hari perendaman kemudian dilakukan penyaringan. Maserat dimaserasi kembali menggunakan etanol 70% dengan menggunakan prosedur yang sama, maserasi dilakukan sebanyak tiga kali sampai filtrat tidak berwarna. Maserat kemudian diuapkan dengan menggunakan vakum *rotary evaporator* hingga didapat ekstrak kental. Ekstrak kental kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50 °C⁽⁹⁾.

Pemeriksaan Makroskopis. Pemeriksaan makroskopis dilakukan secara organoleptik yang meliputi pemeriksaan bentuk, warna, bau dan rasa simplisia dan ekstrak daun kaliandra.

Skrining Fitokimia. Identifikasi Alkaloid. Dimasukkan ekstrak kental 0,5 g ke dalam tabung reaksi, tambahkan 2 mL HCl 2 N dan 9 mL aquadest, dipanaskan di atas penangas air pada suhu 100 °C selama 2 menit, kemudian didinginkan dan disaring. Filtrat dibagi ke dalam 3 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan pereaksi Dragendorf, jika ada endapan berwarna merah, maka menunjukkan adanya alkaloid. Pada tabung kedua ditambahkan pereaksi Mayer, jika ada endapan berwarna putih, maka menunjukkan adanya alkaloid. Pada tabung ketiga ditambahkan pereaksi Bouchardat 2 tetes, jika positif alkaloid akan terbentuk endapan coklat hitam.

Identifikasi Saponin. Dimasukkan ekstrak kental 0,5 g ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 10 mL aquadest panas setelah itu dinginkan, lalu kocok kuat-kuat selama 10 detik, sehingga terbentuk buih yang mantap selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm penambahan 1 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang, maka menunjukkan adanya saponin.

Identifikasi Flavonoid. Dimasukkan ekstrak kental 0,5 g ke dalam tabung reaksi, tambahkan 2 mL metanol, panaskan di atas penangas air pada suhu 100 °C, lalu disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan HCl pekat 1-2 tetes dan logam Mg sebanyak ujung spatel. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya flavonoid⁽¹⁰⁾.

Identifikasi Tanin. Dimasukkan ekstrak kental sebanyak 0,5 g ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL aquadest dididihkan (100 °C) selama 5 menit, kemudian filtrat dibagi dua. Filtrat 1, ditambahkan 1-2 tetes FeCl₃ akan terbentuk warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin. Filtrat 2, ditambahkan gelatin 10% jika terbentuk adanya endapan putih menunjukkan positif tanin.

Identifikasi Triterpenoid dan Steroid. Ekstrak kental 50 mg ditambahkan 5 mL etanol, panaskan kemudian saring dan dinginkan. Filtrat yang didapat diuapkan lalu ditambah 3 tetes eter, 3 tetes asam asetat anhidrat, dan 1 tetes asam sulfat pekat. Apabila menunjukkan warna merah menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan berwarna hijau menunjukkan adanya steroid.

Penetapan Kadar Air. Penetapan kadar air dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah (LABKESDA) dengan metode Karl Fischer, sejumlah metanol P dimasukkan kedalam labu titrasi, dan ditambahkan pereaksi Karl Fischer secukupnya untuk memberikan warna titik akhir yang spesifik. Untuk ketepatan penetapan sejumlah air (lebih dari 1%), digunakan air murni yang diperoleh dari destilasi sebagai baku pembanding. Ditambahkan segera antara 25 mg sampai 250 mg air, dititrasi sampai titik akhir.

Dimasukkan sejumlah 35 mL hingga 40 mL metanol ke dalam labu titrasi, dan titrasi dengan pereaksi Karl Fischer sampai titik akhir. Sejumlah sampel yang diperkirakan mengandung 10 mg sampai 250 mg air ditimbang kemudian ditambahkan segera, dicampur dan dititrasi dengan pereaksi Karl Fischer sampai titik akhir⁽¹¹⁾.

Penetapan Kadar Abu. Penetapan kadar abu dilakukan di Laboratorium Kesehatan Daerah (LABKESDA) dengan metode gravimetri. Bahan uji yang telah dihaluskan ditimbang seksama 2 sampai

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kering}}{\text{Berat serbuk simplisia}} \times 100 \% \dots (2)$$

3 g dan dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang.

Perhitungan Rendemen. Perhitungan rendemen dihitung dengan cara menghitung jumlah ekstrak kering yang didapat dibagi dengan serbuk simplisia kemudian dikalikan 100%.

Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Kaliandra Merah. Ekstrak etanol daun *Calliandra haematocephala* memiliki aktifitas antioksidan pada dosis 100 mg/kg BB Tikus. Dosis ekstrak yang digunakan pada penelitian ini mengacu pada penelitian yang dilakukan. Kemudian dosis divariasikan menjadi:
Dosis I : 1/2 X 100 mg/kgBB = 50 mg/kg BB
Dosis II : 1 X 100 mg/kgBB = 100 mg/kg BB
Dosis III : 2 X 100 mg/kgBB = 200 mg/kg BB

Perhitungan Dosis Pembanding. Dosis lazim metformin HCl yang dipakai untuk manusia adalah 500 mg untuk 2-3 kali pemakaian selama sehari. Dosis konversi manusia ke tikus berdasarkan luas permukaan tubuh :

$$\text{Dosis Manusia} = 500 \text{ mg}/60 \text{ kgBB} = 8,33 \text{ mg}/\text{kgBB}$$

Dosis Tikus = dosis yang diketahui x (Km yang diketahui/Km yang dicari) = $8,33 \text{ mg/kgBB} \times (37/6)$ = $51,38 \text{ mg/kgBB}$.

Dosis Penginduksi. Aloksan yang digunakan pada penelitian ini adalah aloksan monohidrat dengan dosis yang didapatkan berdasarkan orientasi pada uji pendahuluan. Dosis monohidrat pada tikus untuk menimbulkan keadaan hiperglikemia adalah 150 mg/kgBB diberikan secara intraperitoneal⁽¹²⁾.

Dosis ketamin untuk anjing $10\text{-}15 \text{ mg/kgBB}$ (Priade 2015) dalam penelitian ini digunakan dosis 10 mg/kgBB . Dosis untuk tikus harus dikonversikan terlebih dahulu berdasarkan rumus FDA, dengan diketahui nilai faktor Km anjing adalah 20, dan faktor Km tikus adalah $6^{(13)}$.

Dosis tikus = Dosis anjing x (Faktor Km anjing/Faktor Km tikus) = $10 \text{ mg/kgBB} \times (20/6)$ = $33,33 \text{ mg/kgBB}$ tikus.

Pembuatan Sediaan Suspensi Ekstrak Daun Kaliandra Merah. Volume dosis yang diberikan adalah 1 mL per $0,273 \text{ kg}$ BB tikus dan volume yang akan dibuat adalah 15 mL , maka konsentrasi yang dibuat untuk tikus dengan berat badan $0,273 \text{ kg}$, maka ditimbang masing-masing ekstrak daun kaliandra merah dengan dosis 50 mg , 100 mg dan 200 mg dan digerus kemudian ditambahkan Na CMC $0,5\%$ yang telah dibuat sebelumnya, gerus sampai homogen dan masukkan kedalam labu ukur 10 mL . Cukupkan volumenya dengan Na CMC $0,5\%$ sedikit demi sedikit hingga tanda batas dan kocok sampai homogen.

Penelitian Secara Eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap. Penelitian ini dilakukan secara eksperimental dengan rancangan acak lengkap, dengan menggunakan 24 ekor tikus putih jantan yang dibagi menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 4 ekor tikus perkelompoknya pada Tabel 1.

Tabel 1. Tabel perlakuan terhadap hewan uji.

Kelompok	Perlakuan
kelompok I (kontrol normal)	diberi pakan standard an air minum biasa.
kelompok II (kontrol positif)	diberikan aloksan dosis 150 mg/kgBB dan diberikan larutan metformin HCl $51,38 \text{ mg/kgBB}$ dan Na CMC $0,5\%$ sebagai pensuspensi.
kelompok III (kontrol negatif)	dibuat diabetes dengan aloksan dosis 150 mg/kgBB dan diberikan Na CMC $0,5\%$.
kelompok IV (dosis 1)	dibuat diabetes dengan aloksan dosis 150 mg/kgBB dan diberikan ekstrak daun kaliandra merah dosis 50 mg/kgBB dengan Na CMC $0,5\%$ sebagai pensuspensi.
kelompok V (dosis 2)	dibuat diabetes dengan aloksan dosis 150 mg/kgBB dan diberikan ekstrak daun kaliandra merah dosis 100 mg/kgBB dengan Na CMC $0,5\%$ sebagai pensuspensi.
kelompok VI (dosis 3)	dibuat diabetes dengan aloksan dosis 150 mg/kgBB dan diberikan ekstrak daun kaliandra merah dosis 200 mg/kgBB dengan Na CMC $0,5\%$ sebagai pensuspensi

Metode Pengambilan dan Penetapan Kadar Darah Tikus. Pengambilan darah awal dilakukan 16 hari pemberian pakan glukosa darah dan kadar akhir setelah 31 hari pemberian ekstrak daun kaliandra merah. Pengambilan darah dilakukan melalui orbitalis mata terhadap semua kelompok hewan uji yang sebelumnya dipuaskan terlebih dahulu selama ± 12 jam. Sebelum dilakukan pengambilan darah, tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan ketamin secara intramuskular. Pengambilan darah dilakukan dengan menusuk bagian sudut mata tikus dengan pipa kapiler, kemudian putar pipa kapiler. Darah yang mengalir ditampung ke dalam mikrotube. Selanjutnya darah disentrifugasi pada putaran 4000 rpm selama 15 menit untuk memperoleh serum tikus⁽¹⁴⁾.

Pengukuran Kadar Glukosa. Serum darah tikus diambil sebanyak 10 μL dengan menggunakan mikropipet ke dalam mikro tube, lalu dicampur dengan reagen kit glukosa sebanyak 1.000 μL . Disentrifuge dengan menggunakan vortex dan diinkubasi selama 10 menit pada suhu 25 °C. Selanjutnya kadar glukosa dibaca dengan menggunakan fotometer klinikal pada panjang gelombang 500 nm (Reiged *Diagnosics Glucose*).

$$\% \text{ Penurunan} = \frac{A-B}{A} \times 100 \% \dots\dots\dots (3)$$

A = Kadar glukosa darah awal

B = Kadar glukosa darah akhir

Analisa Data. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan analisis *varians one way* (ANOVA) untuk mengetahui apakah ada perbedaan antara kelompok perlakuan, pengujian dilakukan dengan uji Tukey. Sebelum diuji terlebih dahulu dilakukan uji kenormalan menurut Kolmogrov smirnov dan uji homogenitas menurut Levene.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tanaman. Tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kaliandra merah yang didapatkan dari IPB (Institut Pertanian Bogor). Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan kebenaran jenis dari simplisia yang digunakan dalam penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Bogor. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Calliandra calothyrsus* Meisn. dengan suku Fabaceae.

Hasil Ekstraksi Daun Kaliandra Merah. Daun kaliandra merah segar sebanyak 7.000 g yang sebelumnya telah dilakukan pencucian dengan menggunakan air mengalir. Selanjutnya ditiriskan agar

sisa-sisa air dapat dihilangkan. Daun kaliandra merah kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun kaliandra merah yang sudah kering kemudian ditimbang dan didapatkan hasil 2.000 g kemudian diserbuk dengan menggunakan *blender*. Serbuk simplisia kemudian diayak dengan ayakan mesh no. 40, sehingga diperoleh serbuk daun kaliandra merah sebanyak 1.800 g. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Prinsip kerja dari maserasi adalah dimana cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga tanaman yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut karena perbedaan konsentrasi antara di dalam sel dan diluar sel.

Maserat yang didapatkan kemudian diuapkan dengan menggunakan vakum *rotary evaporator*. Penguapan bertujuan untuk memisahkan ekstrak dengan pelarut berdasarkan perbedaan titik didih. Prinsip dari alat ini menggunakan prinsip destilasi atau pemisahan berdasarkan perbedaan titik didih. Penguapan dengan mengurangi tekanan akan menurunkan titik didih cairan penyari. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya dimasukan ke dalam waterbath pada suhu 50 °C hingga diperoleh ekstrak kental dengan bobot konstan yaitu sebanyak 502 g.

Hasil Pemeriksaan Karakteristik Mutu Ekstrak Daun Kaliandra Merah. Pemeriksaan karakteristik mutu ekstrak bertujuan untuk memeriksa dan menjamin mutu ekstrak yang didapat. Uji organoleptis menggunakan panca indra bertujuan memberikan pengenalan awal serbuk simplisia dan ekstrak secara sederhana berupa bentuk, bau, dan warna. Presentase rendemen dihitung untuk mengetahui presentase zat yang didapat setelah dilakukan proses ekstraksi. Hasil rendemen ekstrak etanol 70% daun kaliandra merah pada penelitian ini adalah 27,88%.

Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui besarnya kandungan air di dalam sampel yang digunakan. Pada penelitian ini penetapan kadar air dilakukan dengan metode karl fischer dengan prinsip titrasi. Hasil kadar air yang didapat yaitu sebesar 7,93% hal ini menunjukkan bahwa kandungan air dalam ekstrak masih memenuhi syarat kadar air yang baik yaitu <10%.

Penetapan kadar abu dilakukan dengan metode gravimetri. Prinsip penetapan kadar abu adalah pemanasan bahan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga hanya tersisa unsur mineral dan anorganik. Hasil kadar abu yang didapat yaitu 3,06% hal ini menunjukkan bahwa kandungan kadar abu dalam ekstrak <8% dan memenuhi persyaratan mutu. Hasil pemeriksaan karakteristik mutu diperlihatkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil kadar air, kadar abu, dan rendemen ekstrak.

No	Parameter	Hasil
1	kadar air	7,93%
2	kadar abu	3,06%
3	rendemen ekstrak	27,88%

Hasil Penapisan Fitokimia. Ekstrak etanol 70% daun kaliandra merah positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Skrining alkaloid dilakukan dengan menggunakan tiga pereaksi yaitu mayer, dragendorf dan bouchardat. Prinsip dari skrining alkaloid yaitu reaksi pengendapan karena adanya pergantian ligan. Hasil positif pada pereaksi Dragendroff diduga karena terjadinya kompleks kalium-alkaloid (KI) dengan ion tetraiodobismutat yang membentuk endapan merah kecoklatan. Pada pereaksi Bouchardat memberikan hasil negatif atau tidak berbentuk endapan coklat. Hasil alkaloid menggunakan pereaksi mayer memberikan hasil negatif atau tidak berbentuk endapan putih.

Pada pengujian flavonoid menunjukkan hasil positif ditandai dengan perubahan warna yang terjadi pada saat penambahan logam Mg dan HCl pekat yaitu berwarna merah. Logam Mg dan HCl pekat pada uji ini berfungsi untuk mereduksi inti benzopiron yang terdapat pada struktur flavonoid, sehingga terjadi perubahan warna. Flavonoid merupakan salah satu golongan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh tanaman yang termasuk dalam kelompok besar polifenol. Aktivitas antioksidan dari komponen fenol dan flavonoid dengan cara mereduksi radikal bebas tergantung pada jumlah gugus hidroksi pada struktur molekulernya⁽¹⁵⁾.

Pengujian saponin menunjukkan hasil positif ditandai dengan terbentuknya buih yang stabil selama 10 menit dan tidak hilang setelah penambahan HCl. Saponin adalah sekelompok senyawa dengan struktur triterpen yang mengikat satu atau lebih gula. Struktur itulah yang membuat saponin memiliki gugus hidofilik dan hidrofobik, sehingga pada saat dikocok kuat gugus hidofilik akan berikatan dengan air sedangkan gugus hidrofobik akan berikatan dengan udara, sehingga membentuk buih. Penambahan HCl bertujuan untuk menambah kepolaran sehingga gugus hidrofobik akan berikatan dan buih yang terbentuk menjadi lebih stabil⁽¹⁶⁾.

Pada pengujian tanin dengan penambahan gelatin 10% hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Terbentuknya endapan putih karena tanin akan mengendapkan protein pada gelatin. Tanin bereaksi dengan gelatin membentuk kopolimer yang tidak larut dalam air. Mekanisme kerja tanin yaitu bereaksi dengan protein mukosa dan sel epitel usus sehingga menghambat penyerapan lemak.

Pada pengujian steroid hasil positif ditandai dengan perubahan warna yang terjadi pada saat penambahan asam asetat anhidrat dan H₂SO₄ pekat yaitu warna hijau. Terjadi perubahan warna karena terjadi oksidasi pada golongan senyawa steroid melalui pembentukan ikatan rangkap konjugasi. Hasil penapisan fitokimia daun kaliandra merah diperlihatkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil penapisan ekstrak etanol 70% daun kaliandra merah.

No	Kandungan	Hasil
1	alkaloid	+
2	flavonoid	+
3	saponin	+
4	tanin	+
5	steroid	+
6	triterpenoid	-

Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah.

Penelitian ini tikus yang digunakan sebanyak 24 ekor yang dibagi dalam 6 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor tikus dengan berat badan 150-200 g. Sebelum perlakuan tikus diaklimatisasi terlebih dahulu dikandang hewan selama 7 hari agar hewan percobaan dapat beradaptasi dengan lingkungan yang baru dan untuk mencukupkan bobot hewan percobaan dengan diberi minum dan pakan standar secukupnya.

Pada hari ke-8 hewan uji diinduksi dengan menggunakan aloksan monohidrat secara intraperitoneal dengan dosis 150 mg/kgBB, bertujuan untuk menciptakan kondisi hiperglikemia pada hewan uji. Aloksan dapat menyebabkan diabetes melalui

pembentukan spesies oksigen reaktif. Mekanisme aloksan pada prinsipnya terjadi melalui beberapa proses yang secara stimulan menghasilkan efek kerusakan sel β -pankreas. Oksigen reaktif yang terbentuk dapat mengakibatkan kerusakan sel-sel β -pankreas. Kerusakan sel β -pankreas ini dapat mengakibatkan sekresi insulin menurun⁽¹²⁾.

Penelitian ini menggunakan tiga kelompok kontrol, yaitu kelompok kontrol normal untuk mengetahui kadar glukosa darah normal pada tikus selama percobaan. Kelompok kontrol negatif untuk mengetahui kadar glukosa darah yang sebelumnya diinduksi aloksan dan hanya diberikan Na CMC 0,5% dengan tidak diberikan pengobatan. Kelompok kontrol positif yang sebelumnya diinduksi aloksan diberikan sediaan pembanding yaitu metformin HCl. Metformin HCl mekanisme kerjanya yaitu meningkatkan sensitivitas terhadap insulin dan menekan produksi glukosa hati sehingga kadar glukosa dalam darah menurun dan secara tidak langsung mengurangi pembentukan senyawa oksigen reaktif akibat hiperglikemi⁽¹⁷⁾. Sediaan suspensi diberikan secara oral dengan menggunakan sonde oral.

Pada hari ke-17 sampai ke-30 kelompok kontrol uji diberikan sediaan ekstrak, kelompok positif diberikan sediaan pembanding metformin HCl dan kontrol negatif diberikan sediaan Na-CMC 0,5%. Kelompok dosis terdiri dari 3 kelompok dengan variasi dosis yang berbeda-beda yaitu dosis 1 (50 mg/kgBB), dosis 2 (100 mg/kgBB), dan dosis 3 (200 mg/kgBB).

Pengambilan darah dan pemeriksaan kadar glukosa darah dilakukan sebanyak 2 kali yaitu setelah induksi pada hari ke-16 untuk mengetahui apakah bahan uji berhasil meningkatkan glukosa darah, kemudian pengambilan darah akhir setelah perlakuan pada hari ke-31 untuk mengetahui ada tidaknya penurunan kadar glukosa setelah diberikan pengobatan. Sebelum pengambilan darah dilakukan puasa terlebih dahulu selama ± 12 jam dengan tujuan untuk menghindari efek peningkatan kadar glukosa setelah makan.

Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbital karena darah yang didapatkan lebih banyak dalam waktu singkat dibandingkan dengan pengambilan darah melalui ekor⁽¹⁸⁾. Tikus dianestesi dengan menggunakan ketamin karena ketamin mempunyai aktivitas analgesik, menginduksi terjadinya amnesia dengan mengganggu fungsi system syaraf pusat melalui *over* stimulasi SSP. Serum yang diperoleh kemudian dipisahkan kedalam tabung *microtube* dan ditambahkan reagen kit glukosa, kemudian di vortex. Sampel dibaca pada spektrofotometer klinikal untuk dilihat kadar glukosa darahnya.

Grafik presentase penurunan kadar glukosa darah pada kelompok normal, negatif, positif, dosis 1, dosis 2, dan dosis 3 dapat dilihat pada Gambar 1. Tabel presentase penurunan kadar glukosa darah pada kelompok normal, negatif, positif, dosis 1, dosis 2, dan dosis 3.



Gambar 1. Grafik presentase penurunan kadar glukosa darah pada kelompok normal, negatif, positif, dosis 1, dosis 2, dan dosis 3.

Dari data pengambilan darah awal dan akhir yang diperoleh kemudian dibuat persentase penurunan kadar glukosa darah. Rata-rata persentase penurunan kadar glukosa darah yaitu, kelompok kontrol negatif sebesar $-5,43 \pm 2,1304$, kelompok kontrol positif sebesar $63,85 \pm 5,7101$, dosis 1 (50 mg/kgBB) sebesar $21,53 \pm 1,9179$, dosis 2 (100 mg/kgBB) sebesar

$45,92 \pm 5,3732$ dan dosis 3 (200 mg/kgBB) sebesar $58,08 \pm 1,8971$. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa kelompok dosis 3 memiliki kemampuan menurunkan kadar glukosa darah dengan persentase lebih besar dari dosis 1 dan 2 serta sebanding dengan kontrol positif.

Kelompok kontrol normal dan negatif menunjukkan persen penurunan kadar glukosa darah yang paling

kecil dibandingkan kelompok lainnya. Pada kelompok kontrol normal terjadi karena dilakukan diet rendah gula. Sedangkan kelompok kontrol negatif terjadi peningkatan kadar glukosa darah karena hanya diberikan pakan standar dan Na CMC 0,5% pada saat perlakuan. Pada saat pemberian sediaan uji tikus hanya diberikan pakan standar. Kelompok dosis 1 dan dosis 2 menunjukkan persen penurunan yang lebih kecil dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan dosis 3.

Data persentase pengukuran glukosa darah yang telah dihitung selanjutnya diuji normalitas dan homogenitasnya. Hasil uji normalitas pada kedua data tersebut menunjukkan nilai Asymp. Sig (2-tailed) masing-masing $0,408 > 0,05$ hal ini menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Hasil uji homogenitas diperoleh nilai sig masing-masing $0,164 > 0,05$ hasil ini menandakan bahwa data memiliki varian yang sama atau homogen. Dari hasil *one way* ANOVA kedua data tersebut didapatkan nilai $P=0,000$. Nilai $p \leq 0,05$ menunjukkan terdapat pengaruh perlakuan antar kelompok. Presentase penurunan glukosa darah diperlihatkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Presentase penurunan glukosa darah hasil uji Turkey.

Penurunan glukosa	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
kontrol negatif	4	-5.4250			
dosis 1	4		21.5275		
dosis 2	4			45.9200	
dosis 3	4				58.0850
kontrol positif	4				63.8550
sig.		1.000	1.000	1.000	.258

Hasil uji Tukey data tersebut menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok dosis 1, 2 dan 3. Dosis 3 menunjukkan perbedaan bermakna dengan dosis 1 dan 2 namun tidak menunjukkan perbedaan bermakna dengan kelompok kontrol positif. Dosis 3 memiliki persentase penurunan kadar glukosa darah sebesar 58.0850 dan kontrol positif sebesar 63.8550. Artinya dosis 3 memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar glukosa darah sebanding dengan kontrol positif.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kelompok dosis 1, 2, dan 3 yang diberi ekstrak etanol 70% daun kaliandra merah dengan dosis 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB memiliki aktivitas menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan hiperglikemia. Hasil analisis uji Tukey menunjukkan bahwa kelompok dosis 3 memiliki presentase penurunan sebesar 58,08% yang sebanding dengan kelompok kontrol positif (metformin HCl dosis 51,38 mg/kgBB) dengan persentase penurunan sebesar 63,85%.

DAFTAR PUSTAKA

- DiPiro JT, Wells BG, Schwinghammer TL, DiPiro CV. *Pharmacotherapy handbook*. 9th ed. McGraw-Hill Education Companies; 2015. doi:10.2514/6.2010-8193
- Orishadipe AT, Okogun JI, Mishelia E. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of the hexane extract of *Calliandra portoricensis* and its antimicrobial activity. *African J Pure Appl Chem*. 2010;4(7):131-134.
- Moharram FA, Marzouk MSA, Ibrahim MT, Mabry TJ. Antioxidant galloylated flavonol glycosides from *Calliandra haematocephala*. *Nat Prod Res*. 2006;20(10):927-934. doi:10.1080/14786410500378494.
- Zhang R, Yao Y, Wang Y, Ren G. Antidiabetic activity of isoquercetin in diabetic KK -A y mice. *Nutr Metab*. 2011;8(1):85. doi:10.1186/1743-7075-885.
- Ruhe RC, McDonald RB. Use of antioxidant nutrients in the prevention and treatment of type 2 diabetes. *J Am Coll Nutr*. Published online 2001. doi:10.1080/07315724.2001.10719169.
- Dheer R, Bhatnagar P. A Study of the antidiabetic activity of *Barleria prionitis* Linn.; 2010. doi:10.4103/0253-7613.64493.
- Tr TA, Sutriana A, Aliza D, et al. Uji efek ekstrak etanol daun kucing-kucingan (*Acalypha Indica* L.) terhadap kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*). *J Ilm Farm*. Published online 2010.
- Abo-elhamd AM, Aboul-enein AM, Mohamed SM, et al. Chemical characterization, antioxidant and antihepatotoxic activities of *Calliandra haematocephala* (Hassk.), growing in Egypt. *J Chem Pharm Res*. 2016;8(4):828-845.
- Depkes R. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. Vol Cetakan 1. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; 2000.
- Hanani E. Analisis fitokimia. Buku Kedokteran EGC; 2015.

11. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia Edisi V.; 2014. doi:10.1590/S1984-82502011000100002
12. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*. Published online 2001.
13. Reagan Shaw S, Nihal M, Ahmad N. Dose translation from animal to human studies revisited. *FASEB J*. Published online 2008. doi:10.1096/fj.07-9574lsf
14. Dwitiyanti H, Sunaryo I, Resty K. Uji aktivitas antihiperkolesterolemia fraksi etil asetat ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) terhadap kadar kolesterol total dan LDL kolesterol pada hamster hiperkolesterolemia. *Pharmacy*. Published online 2015.
15. Zuraida Z, Sulistiyani S, Sajuthi D, Suparto IH. Fenol, flavonoid, dan aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit batang pulai (*Alstonia scholaris* R.Br). *J Penelit Has Hutan*. 2017;35(3):211-219. doi:10.20886/jphh.2017.35.3.211-219.
16. Kumalasari E, Sulistyani N. Aktivitas Antifungi batang binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap *Candida albicans* serta skrining fitokimia. *J Ilm Kefarmasian*. 2011;1(2):51-62.
17. Tatto D, Dewi NP, Tibe F. Efek antihiperkolesterol dan antihiperglikemik daun ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) hiperkolesterol diabetes. *J Farm Galen (Galenika J Pharmacy)*. 2017;3(2):157-164. doi:10.22487/j24428744.0.v0.i0.8769.
18. Hoff J. Methods of blood collection in the mouse. *Lab Anim (NY)*. 2000;29(10):47-53.