

**STUDI AKTIVITAS ANTIDIABETES TUMBUHAN
CIKARAU (*Enhydra fluctuans* DC.) PADA TIKUS DIABETES YANG
DIINDUKSI ALOKSAN**

DISERTASI



**PROGRAM DOKTOR BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ANDALAS
PADANG
2022**

RINGKASAN

Judul penelitian ini adalah “**Studi Aktivitas Antidiabetes Tumbuhan Cikarau (*Enhydra fluctuans* DC.) pada Tikus Diabetes yang Diinduksi Aloksan**”. Hasil penelitian ini disusun oleh Rina Delfita, dibawah bimbingan dan arahan Prof. Dr. Dahelmi, Dr. Djong Hon Tjong dan Dr. Suhatri, M.Si., Apt.

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit yang umum di dunia dan preferensinya terus meningkat. Menurut International Diabetes Federation (IDF), hampir setengah miliar (9,3% orang dewasa, umur 20-79 tahun) penduduk dunia hidup dengan penyakit diabetes. Penyakit DM ini dicirikan dengan hiperglikemia. Hiperglikemia yang berkelanjutan menyebabkan stres oksidatif sehingga menyebabkan kerusakan saraf, pembuluh darah pada berbagai jaringan yang berbeda sampai kepada komplikasi yang serius. Pengobatan DM umumnya menggunakan terapi insulin dan obat antidiabetes oral. Semua obat oral tersebut belum efektif mengobati diabetes, dan memiliki efek samping. Dengan demikian, diperlukan strategi pengobatan berbeda dan obat yang memiliki mekanisme yang berbeda untuk penanganan DM ini, seperti penggunaan tumbuhan obat yang memiliki aktivitas antihiperglikemik dan sekaligus memiliki aktivitas meregenerasi pankreas. Salah satu tumbuhan obat suku Minangkabau yang dipergunakan untuk mengobati beragam penyakit adalah cikarau (*Enhydra fluctuans* DC.).

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antidiabetes tumbuhan cikarau (*E. fluctuans*) pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan. Penelitian ini terdiri dari tiga tahap. Tahap pertama mengevaluasi pengaruh pemberian ekstrak etanol aerial *E. fluctuans* terhadap penurunan glukosa darah tikus normal dan tikus diabetes dan mengevaluasi pengaruh fraksi n-heksan, etil asetat dan n-butanol aerial *E. fluctuans* terhadap penurunan glukosa darah tikus diabetes. Tahap kedua tentang studi farmakognosi dan standarisasi aerial *E. fluctuans*. Tahap ketiga mengevaluasi efek pemberian fraksi teraktif aerial *E. fluctuans* terhadap penurunan glukosa darah insulin, parameter lipid (total kolesterol, trigliserida, LDL, HDL), parameter biokimia (SGOT, SGPT, BUN dan kreatinin), parameter hematologi, histopatologi (perbaikan jaringan pankreas, hati dan ginjal), berat badan, berat organ pankreas, hati dan ginjal.

Penelitian tahap pertama menggunakan 25 ekor tikus normal dan 25 ekor tikus putih jantan diabetes yang diinduksi aloksan dosis 125 mg/kg.bb. Tikus normal dan tikus diabetes dibagi lima kelompok (n=5). Kelompok 1 diberi Na-CMC 0,5%, kelompok 2 glibenkalmid 0,45 mg/kg.bb, kelompok 3, 4 dan 5 diberi ekstrak etanol masing-masing 250, 500 dan 1000 mg/kg.bb. Fraksi n-heksan, etil asetat dan n-butanol diujikan pada 25 ekor tikus diabetes (5 kelompok, n=5). Dosis fraksi aerial *E. fluctuans* yang digunakan adalah 114,056 mg/kg.bb, etil asetat 81,551 mg/kg.bb dan n-butanol 35,241 mg/kg.bb (dosis masing-masing fraksi ditetapkan dengan cara mengkonversi dosis ekstrak etanol aerial *E. fluctuans* yang terbaik dalam menurunkan glukosa darah dengan rendemen masing-masing fraksi). Penelitian tahap kedua mengkaji karakter makroskopis, mikroskopis aerial, serbuk simplisia, parameter spesifik dan non spesifik aerial *E. fluctuans*. Penelitian tahap ketiga menggunakan 25 ekor tikus diabetes (5 kelompok, n=5). Kelompok 1 diberi Na-CMC 0,5%, kelompok 2 glibenkalmid 0,45 mg/kg.bb, kelompok 3, 4 dan 5 diberi fraksi teraktif masing-masing 57,03, 114,06 dan 171,09 (dosis fraksi n-heksan ditetapkan dengan cara menurunkan dan menaikkan setengah dosis n-heksan pada penelitian tahap 1). Pemberian fraksi n-heksan aerial *E. fluctuans* dilakukan tiap hari selama 21 hari. Glukosa darah, persentase penurunan glukosa darah, selisih penurunan glukosa darah, insulin, parameter lipid, parameter biokimia, parameter hematologi, berat badan, pankreas, hati dan

ginjal dianalisis dengan one-way anova dan dilanjutkan dengan uji DNMRT taraf 5%. Data studi farmakognosi, standarisasi, perbaikan kerusakan pankreas, perbaikan kerusakan hati dan ginjal dianalisis dengan statistik deskriptif.

Hasil penelitian tahap 1 menunjukkan bahwa ekstrak etanol aerial *E. fluctuans* tidak memberikan efek terhadap penurunan glukosa darah tikus normal, tetapi memberikan efek penurunan pada tikus diabetes. Dosis ekstrak etanol 500 mg/kg.bb memperlihatkan penurunan glukosa darah terbaik. Fraksi n-heksan aerial *E. fluctuans* adalah fraksi teraktif yang mampu menurunkan glukosa darah tikus diabetes. Hasil penelitian tahap 2 menunjukkan bahwa data farmakognosi berupa karakter makroskopis, mikroskopis tumbuhan dan simplisia, parameter spesifik dan non spesifik bisa digunakan untuk mengidentifikasi dan mengautentikasi simplisia aerial *E. fluctuans*.

Penelitian tahap 3 menunjukkan bahwa fraksi n-heksan aerial *E. fluctuans* dosis 57,03 mg/kg.bb memiliki aktivitas menurunkan glukosa darah yang berbeda signifikan ($p < 0.01$) dibandingkan dengan kontrol, dengan persentase pengurangan $70,15 \pm 5,12\%$. Level insulin, peningkatan jumlah sel- β pankreas meningkat secara signifikan ($p < 0.01$) pada perlakuan dosis 57,03 mg/kg.bb dan terjadi perbaikan serta regenerasi sel pankreas. Fraksi teraktif aerial *E. fluctuans* mampu menurunkan level kolesterol total, trigliserida, LDL dan meningkatkan level HDL mendekati level tikus normal. Level kolesterol total dan HDL pada tikus diabetes yang diberi fraksi aerial *E. fluctuans* berbeda signifikan ($p < 0,05$), jika dibandingkan dengan kontrol negatif dan berbeda tidak signifikan jika dibandingkan dengan glibenklamid. Fraksi n-heksan melindungi struktur sel hati tikus diabetes. Nilai SGOT dan SGPT pada pemberian fraksi n-heksan berbeda tidak signifikan antar perlakuan dosis. Nilai SGPT pada pemberian fraksi n-heksan lebih rendah tetapi berbeda tidak signifikan ($p > 0,05$) jika dibandingkan dengan kontrol. Pemberian fraksi n-heksan melindungi sel ginjal dari kerusakan dan menurunkan level BUN dan kreatinin secara signifikan ($p < 0,05$) jika dibandingkan dengan kontrol. Pemberian fraksi n-heksan memperbaiki status parameter sel darah merah (SDM) dan sel darah putih (SDP). Pemberian fraksi dosis 57,03 dan 114,06 mg/kg bb mampu meningkatkan berat badan meskipun berbeda tidak signifikan ($p > 0,05$) jika dibandingkan dengan kontrol. Pemberian fraksi n-heksan memberikan pengaruh yang berbeda tidak signifikan pada berat pankreas, hati dan ginjal jika dibandingkan dengan kontrol.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa aerial *E. fluctuans* memiliki aktivitas antidiabetes melalui penghambatan hiperglikemia dan resistensi insulin ditandai dengan peningkatan produksi insulin; penurunan glukosa darah; meregenerasi sel- β pankreas melalui penurunan insulinitis dan peningkatan jumlah sel- β ; menghambat dislipidemia dengan menurunkan level kolesterol dan meningkatkan level HDL; menghambat kerusakan hati melalui penurunan SGOT dan derajat kerusakan hati; menghambat kerusakan ginjal melalui penurunan BUN, kreatinin dan kerusakan glomerulus dan tubulus; dan pemeliharaan status hematologi darah (SDM dan SDP). Dengan demikian, hasil penelitian ini mengungkapkan bahwa aerial *E. fluctuans* memiliki aktivitas antidiabetes, sekaligus memiliki aktivitas antihiperlipidemik, hepatoprotektif, renoprotektif dan memelihara indeks hematologi pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

SUMMARY

The title of this study is “**Study of Antidiabetic Activity of Cikarau (*Enhydra fluctuans* DC.) in Alloxan-Induced Diabetic Rats**”. The results of this study were compiled by Rina Delfita, under the supervision and direction of Prof. Dr. Dahelmi, Dr. Djong Hon Tjong and Dr. Suhatri, M.Si., Apt.

Diabetes mellitus (DM) is a widespread condition that is becoming more prevalent across the world. According to the International Diabetes Federation (IDF), approximately half a billion people (9.3 percent of adults aged 20–79 years) worldwide have diabetes. Hyperglycemia is a symptom of DM. Sustained hyperglycemia generates oxidative stress, which damages neurons and blood vessels in a variety of tissues, leading to complications. Insulin therapy and oral anti-diabetic medications are often used in the treatment of diabetes. All of these oral medications are ineffective in treating diabetes and have negative side effects. As a result, multiple therapeutic techniques and medications with diverse mechanisms are required for the management of DM, such as the use of medicinal plants with antihyper-glycemic and pancreas regeneration activities. One of the medicinal plants of the Minangkabau tribe that is used to treat various diseases is cikarau (*Enhydra fluctuans* DC.).

The purpose of this study was to determine the antidiabetic effect of the cikarau (*E. fluctuans*) in alloxan-induced diabetic rats. This study is divided into three parts. The first part was to assess the effect of *E. fluctuans* aerial ethanol extract on lowering blood glucose levels in normal and diabetic rats, followed by assessments of the effects of n-hexane, ethyl acetate, and n-butanol aerial *E. fluctuans* fractions on lowering blood glucose levels in diabetic rats. The second part focuses on *E. fluctuans* aerial pharmacognosy investigations and standardization. The third part assessed the effect of administering the most active fraction on insulin blood glucose, lipid parameters (total cholesterol, triglycerides, LDL, HDL), biochemical parameters (SGOT, SGPT, BUN, and creatinine), hematological parameters, histology (pancreatic, liver, and kidney tissue repair), body weight, and organ weight of the pancreas, liver, and kidneys.

The first part of the study used 25 normal rats and 25 diabetic rats induced by alloxan at a dose of 125 mg/kg.bw. Normal rats and diabetic rats were divided into five groups (n=5). Group 1 was given 0.5% Na-CMC, group 2 was given glibenclamide 0.45 mg/kg.bw, group 3, 4 and 5 were given ethanol extract of *E. fluctuans* aerial of 250, 500 and 1000 mg/kg.bw, respectively. The fractions of n-hexane, ethyl acetate and n-butanol of *E. fluctuans* aerial were tested on 25 diabetic rats (5 groups, n=5). The doses of fraction of *E. fluctuans* aerial used were 114,056 mg/kg.bw, ethyl acetate 81.551 mg/kg.bw and n-butanol 35.241 mg/kg.bw (dose of each fraction was determined by converting the dose of ethanol extract of *E. fluctuans* aerial was the best in lowering blood glucose with the yield of each fraction). The second part of the study examined the macroscopic, aerial microscopic, simplicia powder, specific and non-specific parameters of *E. fluctuans* aerial. The third part of the study used 25 diabetic rats (5 groups, n=5). Group 1 was given Na-CMC 0.5%, group 2 glibenclamide 0.45 mg/kg.bw, groups 3, 4 and 5 were given the most active fractions of 57.03, 114.06 and 171.09 (The dose is determined by decreasing and increasing the best half the dose of n-hexane in study part 1). The n-hexane fractions of *E. fluctuans* aerial were given every day for 21 days. Blood glucose percentage reduction in blood glucose, difference in reduction of blood glucose, insulin, lipid parameters, biochemical parameters, hematological parameters, body weight, pancreas, liver, and kidneys were analyzed by one-way ANOVA and followed by the 5% level DNMRT test. Data on pharmacognosy studies,

standardization, repair of pancreatic damage, repair of liver and kidney damage were analyzed by descriptive statistics.

The results of the first part of the study showed that the aerial ethanol extract of *E. fluctuans* aerial had no effect on lowering blood glucose in normal rats, but had a lowering effect on diabetic rats. The dose of 500 mg/kg.bw of aerial *E. fluctuans* showed the best reduction in blood glucose. The n-hexane fraction of *E. fluctuans* aerial was the most active fraction that was able to lower the blood glucose of diabetic rats. The results of the second stage of the study showed that pharmacognostic data of *E. fluctuans* aerial in the form of macroscopic, microscopic characteristics of plants and simplicia, specific and non-specific parameters could be used to identify and authenticate simplicia.

Part 3 of the study showed that the n-hexane fraction of *E. fluctuans* aerial at a dose of 57.03 mg/kg.bw had significantly different ($p < 0.01$) blood glucose lowering activity compared with controls, with a percentage reduction of $70.15 \pm 5.12\%$. The insulin level, the increase in the number of pancreatic β -cells increased significantly ($p < 0.01$) at the treatment dose of 57.03 mg/kg.bw and there was an improvement and regeneration of pancreatic cells. The n-hexane fraction of *E. fluctuans* aerial was able to reduce total cholesterol, triglyceride, LDL levels and increase HDL levels close to normal rat HDL levels. Total cholesterol and HDL levels in diabetic rats treated with n-hexane fraction of *E. fluctuans* aerial were significantly different ($p < 0.05$), when compared with negative controls and not significantly different when compared to glibenclamide. The n-hexane fraction protects the liver cell structure of diabetic rats. The values of SGOT and SGPT in the administration of the n-hexane fraction were not significantly different between dose treatments. The SGPT value in the administration of the n-hexane fraction was lower but not significantly different ($p > 0.05$) when compared to the control. Administration of the n-hexane fraction of *E. fluctuans* aerial protected kidney cells from damage and decreased BUN and creatinine levels significantly ($p < 0.05$) when compared with controls. Giving the n-hexane fraction improved the parameters status of red blood cell (RBC) and white blood cells (WBC). Administration n-hexane fraction of 57.03 and 114.06 mg/kg.bw was able to increase body weight although they were not significantly different ($p > 0.05$) when compared with the control. The administration of n-hexane fraction of *E. fluctuans* aerial had no significant effect on the weight of the pancreas, liver and kidneys when compared to the control.

Based on this findings, it can be concluded that *E. fluctuans* aerial has antidiabetic activity by inhibiting hyperglycemia and insulin resistance by increasing insulin production and decreasing blood glucose; regenerating pancreatic β -cells by decreasing insulinitis and increasing the number of β -cells; inhibiting dyslipidemia by lowering cholesterol levels and increasing HDL levels; inhibiting liver damage by reducing SGOT and the degree of liver damage; inhibiting kidney damage through decreased BUN, creatinine, and glomerular and tubular damage; and maintenance of blood haematological status (RBC and WBC). Thus, the results of this study revealed that *E. fluctuans* aerial has antidiabetic activity, as well as antihyperlipidemic, hepatoprotective, and renoprotective activity, and maintains hematological index in alloxan-induced diabetic rats.