

Ekstrak n-Heksana Daun Maja (*Aegle marmelos*) Menurunkan Kadar LDL Mencit Diabetes yang Diinduksi Aloksan

*(n-Hexane Extract of Maja Leaves (*Aegle marmelos*) Decreases LDL Levels on Diabetic Mice Induced by Alloxan)*

Lesti Eko Pangestuti, Fifteen Aprila Fajrin, Diana Holiday
Fakultas Farmasi, Universitas Jember
Jln. Kalimantan No. 37 Jember 68121
e-mail: lestieko@gmail.com

Abstract

Diabetes mellitus is a metabolic disorder which characterized by hyperglycaemia due to abnormalities of carbohydrate, fat and protein metabolism resulting from defects in insulin secretion, insulin action or both. Metabolic disorders are caused by diabetes induce lipolysis, resulting in changes in the levels of LDL in the blood. This research aims to know the effect of n-hexane extract of maja leaves in LDL levels in diabetic mice. Test animals were induced by alloxan 210 mg/kg BW intraperitoneally. Twenty five mice were divided into 5 groups, control negative group (CMC Na 1%), control positive group (glibenclamide suspension 0.65 mg/kg BW), and the treatment group was given 3 suspension of n-hexane extract of maja leaves (dose of 200 mg/kg BW, 400 mg/kg BW, and 800 mg/kg BW) for 14 days. The result showed that the decrease of LDL level due to N-hexane extracts of maja leaves dose 200 mg/kg BW, 400 mg/kg BW, and 800 mg/kg BW was -10,54%; 9,07%; 31,69%; respectively. N-hexane extracts of maja leaves decreases LDL levels on diabetic mice induced by alloxan with the best activity indicated by doses 800 mg/kg BW.

Keywords: *Aegle marmelos, n-hexane, diabetes melitus, LDL, alloxan*

Abstrak

Diabetes melitus adalah termasuk kelompok penyakit metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia akibat abnormalitas pada metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein sehingga berakibat pada gangguan pada sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Gangguan metabolik yang disebabkan oleh diabetes menyebabkan gangguan lipolisis, menyebabkan perubahan kadar LDL dalam darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak n-heksana daun maja terhadap kadar LDL pada mencit diabetes. Hewan uji diinduksi dengan aloksan 210 mg/kg BB secara intraperitoneal. Dua puluh lima mencit dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (CMC Na 1%), kelompok kontrol positif (suspensi glibenklamid 0,65 mg/kg BB), dan 3 kelompok perlakuan yang diberi suspensi ekstrak n-heksana daun maja (dosis 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB, dan 800 mg/kg BB) selama 14 hari. Hasil penelitian menunjukkan penurunan kadar LDL pada dosis 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB, dan 800 mg/kg BB adalah -10,54%; 9,07%; 31,69%. Ekstrak n-heksana daun maja menurunkan kadar LDL pada mencit diabetes yang diinduksi aloksan dengan aktivitas terbesar ditunjukkan oleh dosis 800 mg/kg BB.

Kata kunci: *Aegle marmelos, n-heksana, diabetes melitus, LDL, aloksan*

Pendahuluan

Diabetes melitus termasuk kelompok penyakit metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia akibat abnormalitas pada

metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang menyebabkan gangguan pada sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya [1]. Gangguan metabolik yang disebabkan oleh diabetes menyebabkan lipolisis meningkat,

sehingga meningkatkan jumlah VLDL yang akan diubah menjadi LDL. Jika kadar LDL sudah melebihi ambang batas, maka akan lebih cepat masuk ke pembuluh darah daripada yang dipindahkan oleh HDL maka LDL akan berakumulasi [2]. Ketika LDL terakumulasi, LDL akan mengalami oksidasi. Makrofag tidak dapat mengenali lewat reseptor normalnya, sehingga LDL ditangkap oleh reseptor *scavenger* [3]. Sehingga terbentuk sel busa. Sel busa akan berikatan dan menggumpal, makin lama makin besar dan menutup pembuluh darah, sehingga dapat timbul plak atherosklerosis [4]. Atherosklerosis berkaitan dengan resiko berkembangnya komplikasi makrovaskuler termasuk penyakit arteri koroner, penyakit arteri perifer, dan penyakit serebrovaskular sampai 2-5 kali lipat [5].

Indonesia yang memiliki banyak tanaman obat, salah satunya adalah tanaman maja (*Aegle marmelos*). Ekstrak air *Aegle marmelos* (Famili Rutaceae) dengan dosis 300 mg/kg dapat mempengaruhi profil lipid pada mencit diabetes yaitu adanya penurunan kadar VLDL, TG, dan LDL serta peningkatan kadar HDL [6]. Pengujian menggunakan ekstrak n-heksana daun maja oleh menunjukkan adanya senyawa kardiak glikosida, pseudo tanin, steroid dan triterpenoid [7]. Menurut penelitian, kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, saponin dan sitosterol pada ekstrak daun maja berperan sebagai antihiperlipidemia [8].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak n-heksana daun maja terhadap kadar LDL mencit diabetes yang diinduksi aloksan. Berdasarkan hasil studi pustaka dan optimasi dosis yang telah dilakukan, maka dipilih dosis pelakuan yakni 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB dan 800 mg/kg BB.

Metode Penelitian

Bahan dan Alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan bahan sebagai berikut: serbuk kering daun maja dari Meru Betiri Jember, n-heksana, aloksan, CMC Na 1%, glibenklamid, Akuabides, tween 80, etanol 96%, pereaksi Wagner dan Mayer, NaOH 10%, FeCl₃ 0,1%, H₂SO₄, kloroform, reagen LDL dan reagen kolesterol. Peralatan yang digunakan adalah: maserator, *rotary evaporator*, neraca analitik digital, alat-alat gelas, alat injeksi untuk oral dan intraperitoneal, *Clinical Chemistry Analyzer* (Biolyzer 100), gunting, micropipet.

Prosedur Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan variabel bebas adalah dosis ekstrak n-heksana daun maja sedangkan variabel terikatnya adalah penurunan kadar LDL (%) pada mencit. Tahap pertama penelitian adalah pembuatan ekstrak n-heksana daun maja. Satu kilogram serbuk kering daun maja didapatkan dari Meru Betiri Jember, diekstraksi secara metode maserasi bertingkat dengan menggunakan pelarut pertama yang bersifat non polar yaitu n-heksana. Setelah didapatkan ekstrak cair lalu dipekatkan dengan menggunakan rotary evaporator suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental yang didapatkan dilakukan penapisan fitokimia untuk menguji keberadaan golongan senyawa alkaloid, flavonoid, tripenoid, polifenol, fitosterol, saponin, tanin dan steroid.

Dua puluh lima ekor mencit diinduksi aloksan monohidrat 210 mg/kg BB secara i.p pada keadaan puasa. Setelah itu, mencit diberi makan dan minum dan dipelihara selama 3 hari. Pada hari ke-3 dilakukan pengukuran kadar glukosa darah. Jika kadar glukosa ≥ 176 mg/dL, mencit dapat diukur kadar LDLnya dan dapat digunakan sebagai mencit percobaan. Mencit tersebut kemudian dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol positif, kelompok perlakuan dosis 200 mg/kg BB, 400 mg/kg BB, dan 800 mg/kg BB dan diberi perlakuan selama 14 hari.

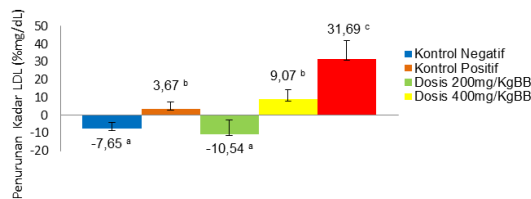
Selanjutnya pada hari ke-15 dilakukan pengambilan darah melalui jantung dengan melakukan proses pembedahan pada mencit kemudian kadar LDL dalam darah diukur secara *clinical chemistry analyzer* (Biolyzer 100). Analisis penelitian ini menggunakan software khusus statistik yaitu SPSS. Metode yang dipakai adalah oneway ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% dan dilanjutkan dengan uji LSD.

Hasil Penelitian

Serbuk daun maja yang berasal dari bagian daun maja muda digunakan untuk pembuatan ekstrak n-heksana daun maja. Ekstrak kental yang diperoleh sebanyak 14,483 gram, sehingga total rendemen yang diperoleh sebesar 1,448%.

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak n-heksana daun maja. Dari hasil penapisan fitokimia diketahui bahwa ekstrak n-

heksana daun maja mengandung flavonoid, triterpen, steroid, dan tanin [9].



Gambar 1. Penurunan kadar LDL (mg/dL) pada kelompok perlakuan ditampilkan dalam rata-rata \pm SD (n=5). Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) berdasarkan uji LSD.

Analisa data menggunakan uji Anova One Way dengan signifikansi $p < 0,05$ dan dilanjutkan dengan pengujian LSD. Hasil uji LSD pada LDL menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada dosis 800 mg/kgBB pada semua kelompok perlakuan. Sedangkan perbedaan yang tidak signifikan ditunjukkan oleh kelompok kontrol negatif dengan dosis 200 mg/kgBB dengan kontrol negatif dan dosis 400 mg/kgBB dengan kontrol positif.

Pembahasan

Peningkatan kadar glukosa terjadi setelah penginduksian aloksan dosis 210 mg/kgBB yang menandakan hewan coba positif diabetes (>176 mg/dL). Aloksan memiliki dua mekanisme yang berbeda. Mekanisme pertama yaitu aloksan secara selektif menghambat sekresi insulin yang diinduksi oleh glukosa melalui penghambatan spesifik pada glukokinase yang merupakan sensor glukosa dari sel β pankreas. Mekanisme kedua, yaitu melalui kemampuan aloksan untuk menginduksi pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang menghasilkan nekrosis selektif dari sel β pankreas [10].

Pada mencit diabetes yang mengalami resistensi insulin terjadi lipolisis, sehingga meningkatkan jumlah asam lemak bebas yang meningkatkan jumlah VLDL. Kandungan trigliserida (TG) yang sebagian besar sudah diubah menjadi sumber energi mengakibatkan VLDL berubah menjadi LDL. LDL kaya akan kolesterol dan mengandung sedikit sekali jumlah trigliserida. LDL menghantarkan kolesterol ke jaringan perifer yang berfungsi untuk sintesis dan memelihara sel membran. LDL merupakan sumber kolesterol untuk jaringan ekstrahepatik. Tidak semua sel ekstrahepatik mampu memetabolisme kolesterol, dan jika jumlahnya

bertambah banyak akan menyebabkan akumulasi kolesterol. HDL berfungsi untuk mengangkut kelebihan kolesterol dari sel ekstrahepatik di jaringan perifer untuk kembali menuju hati [2]. Kondisi diabetes juga memicu stress oksidatif sehingga terjadi penurunan glutathione peroksidase, glutathione reduktase, dan superoksida dismutase (SOD) dan kenaikan lipid peroksidase akibat dari radikal bebas [11].

Pada hasil uji *post hoc* pada LDL pada dosis 200 mg/kgBB menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan kontrol negatif. Dosis 200 mg/kgBB yang tidak berbeda signifikan dengan kontrol negatif menunjukkan bahwa komponen senyawa aktif ekstrak n-heksana daun maja dosis 200 mg/kgBB jumlahnya masih sedikit, sehingga masih belum bisa menghasilkan perubahan pada kadar LDL. Dosis 400 mg/kgBB menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan dosis 400 mg/kgBB memiliki aktivitas yang hampir sama dengan glibenklamid sebagai kontrol positif. Penggunaan glibenklamid sebagai kontrol positif dapat meningkatkan sekresi insulin sehingga mencegah terjadinya lipolisis dan peningkatan LDL dapat dikurangi meskipun dalam jumlah yang sangat kecil. Selain itu, dosis glibenklamid yang digunakan dalam penelitian ini adalah dosis terapi yang paling rendah dari glibenklamid pada manusia (5mg/hari) yang kemudian dikonversikan pada mencit sehingga diperoleh kadar 0,65 mg/kg BB, sedangkan untuk dapat mempengaruhi kadar LDL dan HDL pada hewan yang diabetes dalam masa perlakuan yang sama diperlukan glibenklamid dengan dosis yang lebih tinggi yaitu 100 mg/kg BB [12]. Dosis 800 mg/kgBB menunjukkan presentase tertinggi penurunan LDL sebesar 31,69%. Dosis tertinggi menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap kadar LDL, karena komponen senyawa aktif yang terkandung pada dosis tinggi lebih banyak. Besarnya penurunan LDL yang terjadi setelah perlakuan selama 14 hari belum bisa membuat kadar LDL kembali pada kondisi normal. Sehingga apabila ingin memperoleh pengaruh yang lebih maksimal terhadap kadar LDL hingga kembali normal, dapat dilakukan dengan meningkatkan dosis atau menambah lama waktu perlakuan.

Efek daun maja terhadap metabolisme lipid diduga karena kandungan terpen pada ekstrak n heksana daun maja memiliki aktivitas sebagai HMG-CoA reduktase inhibitor [13], dengan mekanisme penghambatan pada enzim ini, maka terjadi peningkatan densitas reseptor

LDL dalam sel hati, sehingga terjadi penurunan kadar LDL [14]. Dengan menurunnya kadar LDL bisa mencegah terjadinya oksidasi LDL.

Senyawa fitokimia seperti steroid, flavonoid, dan tanin, triterpenoid dari ekstrak daun maja diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. tersebut mampu meningkatkan glutathione peroksidase, glutathione reduktase, dan superoksida dismutase (SOD) dan menurunkan lipid peroksidase [15]. Flavonoid mampu memperbaiki fungsi endotel pembuluh darah, dan dapat mengurangi kepekaan LDL terhadap pengaruh radikal bebas. Fungsi flavonoid sebagai antioksidan secara langsung adalah dengan mendonorkan ion hidrogen sehingga dapat menetralkan efek toksik dari radikal bebas. Fungsi flavonoid sebagai antioksidan secara tidak langsung yaitu dengan meningkatkan ekspresi gen antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme. Salah satu mekanisme peningkatan ekspresi gen antioksidan adalah melalui aktivasi (Nrf2) sehingga terjadi peningkatan gen yang berperan dalam sintesis enzim antioksidan endogen. Antioksidan endogen ini akan menetralkan radikal bebas yang berlebihan sehingga mencegah terjadinya oksidasi LDL [16].

Kesimpulan dan Saran

Ekstrak n-heksana daun maja memiliki pengaruh terhadap penurunan kadar LDL pada mencit diabetes yang diinduksi aloksan dengan aktivitas terbesar ditunjukkan oleh dosis 800 mg/kg BB yakni sebesar 31,69%. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa aktif daun maja yang berperan dalam penurunan LDL darah beserta mekanisme kerja dari senyawa aktif tersebut.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ditlitabmas DIKTI yang telah mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2013; 36 (1) : 67- 74.
- [2] Barter P. The role of HDL-cholesterol in preventing atherosclerosis Disease. *ESC*. 2005; 7 (F): F4- F8.
- [3] Goodman LG, dan Gilman A. *Goodman Dan Gilman dasar farmakologi terapi*. Volume 2. Jakarta: EGC; 2007
- [4] Guyton AC, dan Hall JE. *Fisiologi penyakit dan mekanisme penyakit*. Jakarta: EGC; 2007.
- [5] Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA*. 2002; 19: 2570- 2579.
- [6] Sharma B, Stapathi SK, and Roy P. Hypoglycemic and hypolipidemic effect of *Aegle marmelos* leaf extract on streptozotocin induced diabetic mice. *IJP*. 2007; 3 (6): 444-452.
- [7] Hameed MA, Faheem A, Koay YC, Shaheedha F. Phytochemical screening, antipyretic and antidiarrheal activities of n-hexane and aqueous extracts of the leaves of *Aegle marmelos*. *Archive of Pharmacy Practice*. 2011; 2 (3) : 90-94.
- [8] Bhuvanewari R. dan Sasikumar K. Antihyperlipidemic activity of *Aegle marmelos* (L) Corr., leaf extract in triton Wr-1339 induced hyperlipidemic rats. *Pharmacie Globale*. 2013; 3 (04) : 1- 3.
- [9] Rinawati HD, Holiday D, Fajrin FA. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak n-heksana daun maja (*Aegle marmelos*) pada mencit yang diinduksi aloksan. *Skripsi*: 2014.
- [10] Lenzen S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 2008; 51: 216- 226.
- [11] Matough AF, Budin SB, Hamid ZA, Alwahaibi N, Mohamed J. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Squ Med*. 2011; 12: 518- 532.
- [12] Puniitha D, Angamuthu T, Karuppanan A, Sreenivasapuram N, Uthaman D, dan Madathupatti R. Anti-hyperlipidemic effect of ethanolic leaf extract of *Gmelina arborea* in streptozotocin induced male Wistar albino rats. *IJPR*; 2012. 2 (3): 46-51.
- [13] Cho SY, Jun HJ, Lee JH, Jia Y, Kim KH, Lee SJ. Linalool reduces the expression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coa reductase via sterol regulatory element binding protein-2- and ubiquitin-dependent mechanisms. *Febs Letters*. 2011; 585 (20): 3289- 3296.
- [14] Stancu C, dan Sima A. Statins: mechanism of action and effect. *J Cell Mol Med*. 2001; 5 (4): 378- 387
- [15] Dhankhar S, Ruhil S, Balhara M, Dhankhar S, Chhillar AK. *Aegle marmelos*: a potential source of phytomedicine. *JMP*. 2011; 5(9): 1497- 1507.

- [16] Sumardika IW. dan Jawi IM. Ekstrak air daun ubi jalar ungu memperbaiki profil lipid dan meningkatkan kadar SOD darah tikus yang diberi makanan tinggi kolesterol. *Medicina*. 2012; 43 (2):67- 70.