



Efek Hipoglikemik Senyawa Bioaktif Biji Petai Cina (*Leucaena leucocephala* (lmc) De Wit Dengan Menggunakan Metoda Toleransi Glukosa Oral Pada Mencit

Hypoglycemic Effects of Bioactive Compound in Petai Cina seeds (Leucaena leucocephala (lmc) De Wit Using Oral Glucose Tolerance Method in Mice

Syamsudin¹, Partomuan Simanjuntak², Ros Sumarny¹

¹Laboratory of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University of Pancasila, Jakarta

²Laboratory of Biotechnology, Indonesian Institute of Sciences, Jakarta

KATA KUNCI KEYWORDS

Leucaena leucocephala (lmc) De Wit
Leucaena leucocephala (CML) De Wit

ABSTRAK

Penelitian ini adalah mengenai efek hipoglikemik dari constituents aktif *Leucaena leucocephala* (LMK) fraksi biji De Wit pada tikus yang diinduksi glukosa. Tikus uji di bagi menjadi tujuh kelompok perlakuan yang masing-masing terdiri dari lima tikus. Setelah diinduksi dengan 1,5 g/berat badan peroral glukosa, tikus diabetes dalam kelompok satu hanya diberikan air suling. Pada kelompok perlakuan lima menerima 10 mg/kg berat badan A - 1 - A - 5 terisolasi . Dalam kelompok tujuh, tikus diabetes diberi 10 mg / kg berat badan Quercetine . Darah tikus diambil dari ekor pada menit ke- 0 , -30 , -60 , -90 , -120 , --150 dan -180. Darah diuji untuk mengukur jumlah glukosa. Dalam percobaan hewan konstituen aktif menekan peningkatan kadar glukosa darah postprandial dibandingkan dengan kontrol ($p < 0,05$) . Struktur galactomannan konstituen aktif ditentukan oleh interpretasi data spektroskopi dan perbandingan data dengan literatur.

ABSTRACT

The study is about the hypoglycaemic effect of the active constituents of *Leucaena leucocephala* (lmc) De Wit seeds fraction on the glucose induced mice. The mice were groups each consisting of seven treatment groups each consisting of five mice. Having been induced with 1,5 g/body-weight glucose peroral, the diabetic mice in group one were only provided with distilled water. In treatment group five received 10 mg/kg body

weight A-1-A-5 isolated. In group seven, diabetic mice were given 10 mg/kg body weight quercetine. The blood of the mice was taken from tails on the minute 0, 30, 60, 90, 120, 150 and 180. The blood was tested to measure the amount of glucose. In animal experiment of active constituent suppressed the increase of postprandial blood glucose level compare to the control ($p < 0,05$). The structure of active constituent galactomannan was determined by spectroscopic data interpretation and by comparison of these data with values in the literature.

Diabetes melitus adalah kondisi dimana konsentrasi glukosa dalam darah secara kronis lebih tinggi dibandingkan normal (hiperglikemi) akibat tubuh kekurangan insulin atau fungsi insulin tidak efektif. Diabetes melitus sangat berbahaya karena komplikasinya dapat menimbulkan kematian (Price and Wilson, 1995).

Jumlah penderita diabetes secara global terus meningkat setiap tahunnya. Penderita diabetes di Indonesia pada tahun 2000 mencapai 8,4 juta orang dan menduduki peringkat ke-4 terbanyak setelah India, Cina dan Amerika Serikat. Jumlah tersebut diperkirakan akan meningkat lebih dari dua kalinya pada tahun 2030, yaitu menjadi 21,3 juta orang (Wild *et al.*, 2004).

Saat ini lebih dari 400 jenis tanaman telah dilaporkan dapat digunakan untuk pengobatan alternatif dan komplementer diabetes, walaupun baru sedikit yang dikaji khasiatnya secara ilmiah (Lee, Jang and Lee, 2006). Salah satu tanaman yang digunakan sebagai pengobatan alternatif dan komplementer diabetes adalah biji petai cina (*Leucaena leucocephala* (Imk) De Wit. Pada penelitian sebelumnya (Syamsudin and Partomuan, 2007), ekstrak metanol yang diekstraksi secara langsung pada dosis 1g/kgBB yang diberikan secara oral pada mencit yang diinduksi dengan aloksan memiliki efek dalam menurunkan kadar glukosa

darah lebih besar dibandingkan dengan ekstrak air, metanol secara sinambung, etilasetat dan n-heksana. Fraksinasi dari ekstrak metanol menghasilkan beberapa fraksi, yang salah satu fraksi mampu menurunkan kadar glukosa darah sebesar 44.7% pada mencit yang diinduksi dengan aloksan (Lesniak and Liu, 1981). Untuk mengetahui senyawa bioaktif fraksi dari ekstrak metanol tersebut, maka perlu dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif fraksi dari ekstrak metanol biji petai cina yang selanjutnya dilakukan uji efek hipoglikemik dengan menggunakan metoda toleransi glukosa oral pada mencit.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan penelitian: Biji petai cina diperoleh dari BALITRO Bogor dan dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bogor. Hewan coba yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*) jenis kelamin jantan dewasa galur Swiss-Webster, bobot badan 30-40 g dan berumur 3-4 bulan. Bahan kimia yang digunakan n-heksana, metanol, etilasetat, kloroform teknis dan bahan untuk analisa KLT.

Correspondence:

Dr. Syamsudin, M.Biomed, Laboratory of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, University of Pancasila, Jakarta, Telephone 021-7864727, HP: 081218196618, E.mail:syamsudin.abdillah@yahoo.co.id

Ekstraksi sampel: Fraksi yang paling aktif pada penelitian sebelumnya (Lesniak and Liu, 1981), dilakukan dianalisis dengan KLT menggunakan fase gerak kloroform-metanol (5:1), kloroform-metanol (2:1), kloroform-metanol-air (5:5:1). Analisis ini bertujuan untuk mengetahui pola kromatogram dan mencari eluen yang sesuai untuk kromatografi kolom, sehingga dapat diketahui eluen yang baik yang akan digunakan untuk kromatografi kolom.

Pemurnian dengan kromatografi kolom

Ekstrak metanol difraksinasi dengan kromatografi kolom menggunakan eluen kloroform-metanol secara gradien dari (5:1), (4:1), (3:1), (2:1) dan (1:1) untuk mengelompokkan senyawa yang terkandung didalamnya berdasarkan kepolarannya.

Metoda (TGO) Toleransi Glukosa Oral

Pada metoda TGO ini, 35 ekor mencit diaklimatisasi terlebih dahulu sebelum dilakukan eksperimental. Mencit dikelompokkan menjadi 7 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit yaitu:

1. Kelompok kontrol negatif: kelompok yang hanya diberikan suspensi CMCNa 0,1% dengan volume 0,1 mL secara oral.
2. Kelompok kontrol positif: kelompok yang diberikan kuersetin dosis 10mg/kgBB secara oral. Satu jam setelah perlakuan diberikan larutan glukosa dosis 1,5g/kgBB.
3. Kelompok isolat A-1: kelompok yang diberikan larutan isolat A-1 dosis 10mg/kgBB secara oral. Satu jam setelah perlakuan diberikan larutan glukosa dosis 1,5 g/kgBB.
4. Kelompok isolat A-2: kelompok yang diberikan larutan isolat A-2

dosis 10mg/kgBB secara oral. Satu jam setelah perlakuan diberikan larutan glukosa dosis 1,5g/kgBB.

5. Kelompok isolat A-3: kelompok yang diberikan larutan isolat A-3 dosis 10mg/kgBB secara oral. Satu jam setelah perlakuan diberikan larutan glukosa dosis 1,5g/kgBB.
6. Kelompok isolat A-4: kelompok yang diberikan larutan isolat A-4 dosis 10 mg/kgBB secara oral. Satu jam setelah perlakuan diberikan larutan glukosa dosis 1,5g/kgBB.
7. Kelompok isolat A-5: kelompok yang diberikan larutan isolat A-5 dosis 10mg/kgBB secara oral. Satu jam setelah perlakuan diberikan larutan glukosa dosis 1,5g/kgBB.

Satu jam setelah pemberian sediaan (jam ke-0) segera dilakukan pengambilan darah mencit melalui vena ekor, dan pengambilan darah diulangi dengan interval 0,5 jam mulai dari jam ke-0,5 hingga ke-2,5 dengan menggunakan alat glukometer.

Analisis dengan KCKT (kromatografi cair kinerja tinggi)

Terhadap isolat yang paling aktif dilakukan analisis dan pemurnian dengan menggunakan KCKT.

Identifikasi senyawa bioaktif

Isolat yang telah murni diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, IR dan RMI.

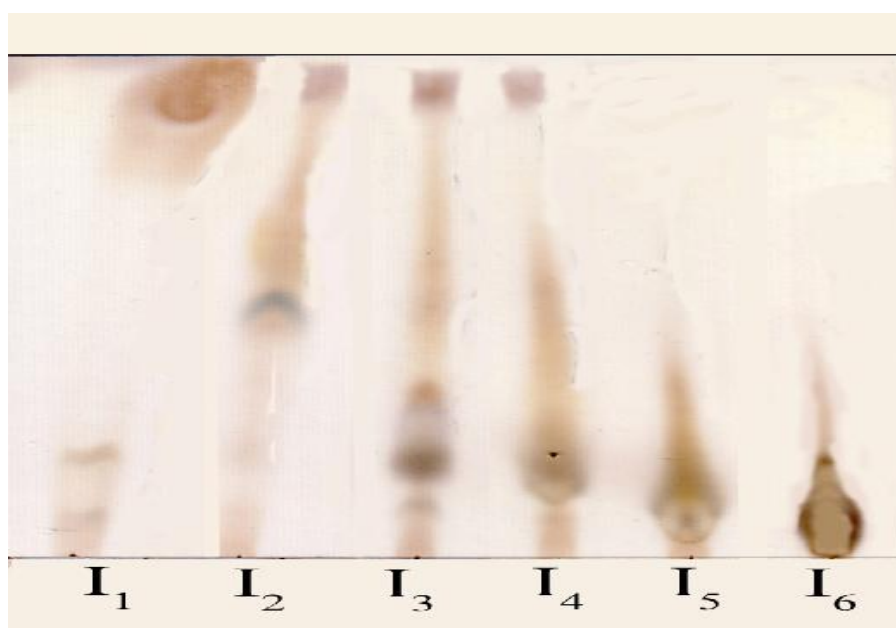
HASIL

Fraksinasi dengan kromatografi kolom dimaksudkan untuk memisahkan senyawa yang terdapat dalam fraksi metanol sehingga diharapkan akan didapat suatu senyawa yang murni. Ekstrak metanol pada uji pendahuluan kemudian dilakukan fraksinasi dengan Kromatografi Kolom

menggunakan eluen yang cocok. Fraksinasi dilakukan menggunakan eluen kloroform metanol secara gradien dengan perbandingan pelarut berturut-turut 5:1, 4:1, 3:1, 2:1, 1:1. Eluat dari masing-masing fraksi ditampung. Terhadap tiap-tiap fraksi dilakukan pemisahan secara KLT. Fraksi dengan pola bercak pemisahan kromatogram yang serupa digabung menjadi satu sehingga diperoleh fraksi-fraksi yang lebih sederhana (Gambar 1).

Dari 6 subfraksi yang diperoleh dilakukan uji Toleransi Glukosa Oral pada mencit yang diberi glukosa dosis 1,5g/KgBB secara oral kemudian diukur kadar glukosa darah melalui vena ekor pada menit ke-0, 30, 60, 90, 120 dan 180 dengan menggunakan glukometer (Gambar 2).

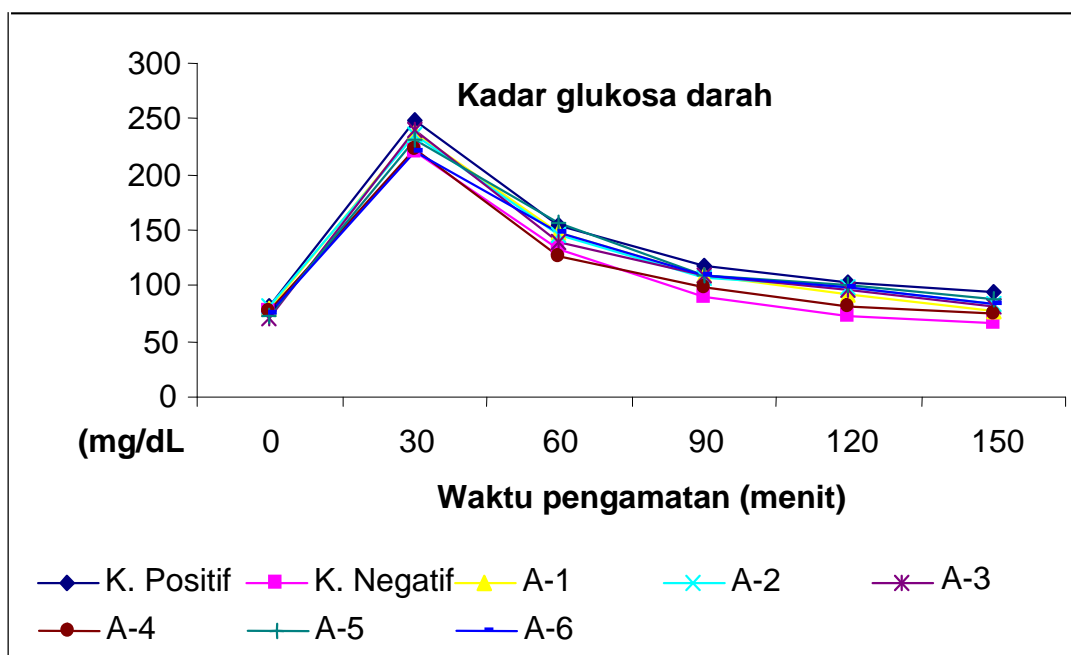
Hasil pemeriksaan KLT penggabungan dapat diringkas seperti ditampilkan pada Tabel 1 dibawah ini.



Gambar 1 . Kromatogram fraksi-fraksi seluruh penggabungan

Tabel 1. Hasil pemeriksaan KLT penggabungan fraksi

Subfraksi	Penggabungan	Warna bercak	Jumlah bercak	Rf
I	1-10	coklat	1	0.88
II	11-17	hijau toska	1	0.48
III	13-27	coklat	3	0.29
		hijau toska		0.19
		coklat		0.097
IV	37-60	hijau muda	3	0.25
		hijau tua		0.19
		coklat		0.097
V	61-90	hijau tua	1	0.19
VI	91-137	hijau tua	1	0.16

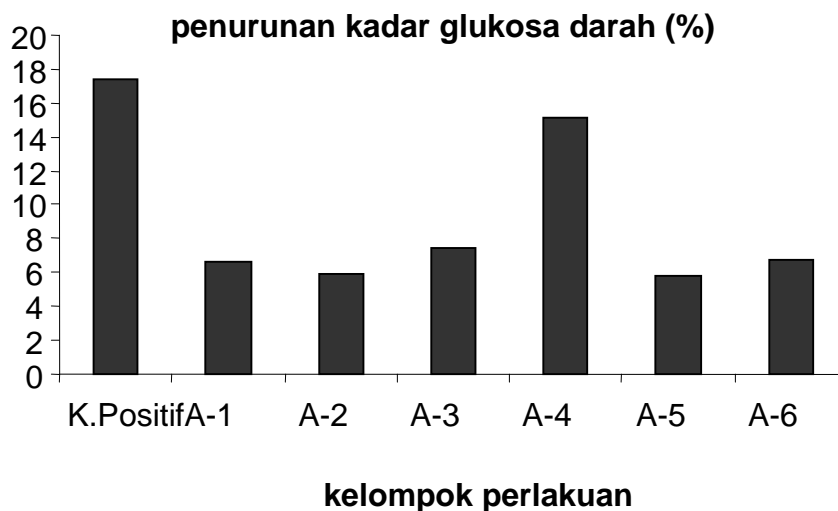


Gambar 2. Grafik hubungan antara waktu pengamatan dengan kadar glukosa darah

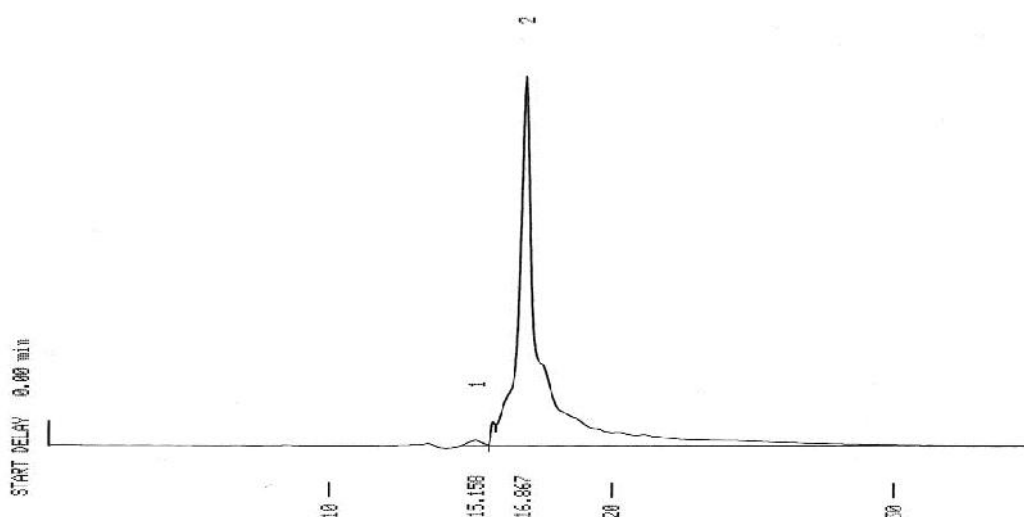
Dari Tabel 1 diatas dapat dilihat A-4 lebih curam dibandingkan dengan isolat lainnya. Untuk mengetahui potensi dalam menurunkan kadar glukosa darah maka dihitung luas daerah dibawah kurva yang selanjutnya digunakan untuk mengetahui kemampuan menurunkan kadar glukosa darah pada hewan coba dari pemberian sediaan uji. Hasil ditampilkan pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan potensi penurunan kadar glukosa darah isolat A-4 lebih tinggi (15,15%) dibandingkan isolat A-1 (6,63%), A-2 (5,90%), A-3 (7,48%), A-5 (5,74%) dan A-6 (7,54%). Analisa statistik menunjukkan tidak ada perbedaan bermakna antara kuersetin (kontrol positif) dan isolat A-

4 dalam menurunkan kadar glukosa darah ($p > 0,05$). Isolat A-4 atau isolat aktif dilakukan pemurnian dengan KCKT menggunakan kolom fase balik C_{18} , dengan fase gerak metanol-air (5:1) sehingga dapat diperoleh senyawa isolat murni. Dalam kromatogram KCKT terlihat pada isolat A-4 (Gambar 4) terdapat 2 peak utama dan peak yang paling tajam adalah peak 2 yang berada pada 16,867 menit, kemudian isolat pada menit tersebut ditampung sesuai dengan kromatogram yang terdeteksi oleh KCKT. Pemurnian dilakukan dengan penginjeksian berulang-ulang. Profil kromatogram isolat A-4 dapat dilihat pada Gambar 4. Isolat murni ini selanjutnya diidentifikasi.



Gambar 3. Diagram potensi penurunan kadar glukosa darah dari sediaan uji



Gambar 4. Kromatogram KCKT dari isolat A-4

Keterangan :

- Fase gerak : metanol - air (5:1)
- Fase diam : YMC Pack ODS-AM 250 x 20 MMI-D (kolom preparatif)
- Kecepatan alir : 3,0 mL/menit
- Detektor : UV
- Panjang gelombang : 254 nm
- Tekanan : 66-67 kg/cm²
- Volume yang diinjeksikan : 50 µl

PEMBAHASAN

Penyidikan spektrum senyawa isolat A-4 dengan RMI proton menunjukkan bahwa pergeseran kimia antara 0,88 bpj ~ 1,27 bpj diperkirakan

terdapat gugus-gugus -CH₃- ; -CH₂- dan -CH- yang berikatan tunggal. Adanya proton anomerik dari suatu glikosida terdapat pada δH 5,10 bpj. Sedangkan proton-proton yang beresonansi dengan oksigen (gugus hidroksil)

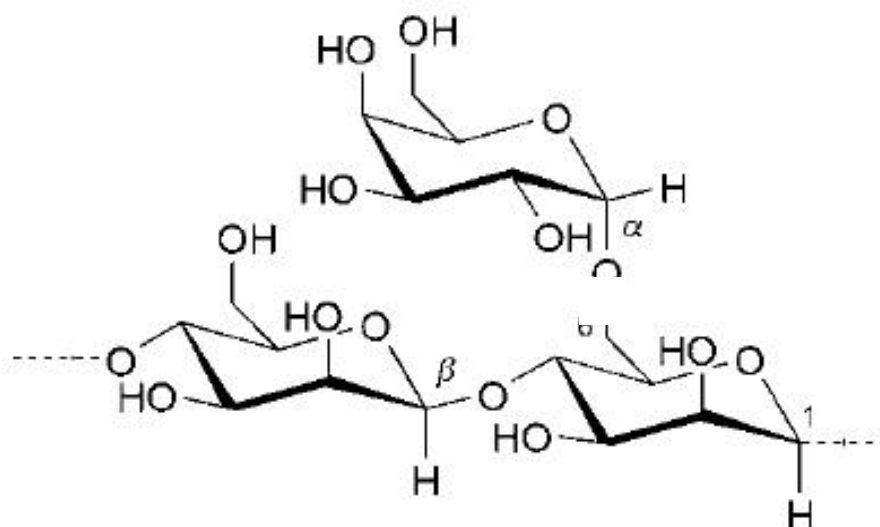
terdapat pada δH 3,20 ~ 4,47 bpj dan 5,37 bpj. Penyidikan spektrum senyawa isolat A-4 pada RMI karbon menunjukkan bahwa sinyal senyawa isolat A-4 mempunyai 40 atom karbon. Pergeseran kimia pada δC 83,84 bpj ~ 105,37 bpj menunjukkan adanya karbon-karbon glikosida sedangkan pada pergeseran kimia δC 54,79 ~ 79,67 bpj memberikan informasi adanya karbon-karbon teroksigenasi.

Penyidikan spektrum senyawa isolat A-4 pada RMI karbon menunjukkan bahwa sinyal senyawa isolat A-4 mempunyai 40 atom karbon. Pergeseran kimia pada δC 83,84 bpj ~ 105,37 bpj menunjukkan adanya karbon-karbon glikosida sedangkan pada δC 54,79 bpj ~ 79,67 bpj memberikan informasi adanya karbon-karbon teroksigenasi. Sehingga berdasarkan data isolat A-4 hanya dapat diprediksi sebagai suatu senyawa glikosida yang mempunyai gugus monosakarida galaktosa dan sakarida-sakarida lain.

Pada penelitian lain biji petai cina (*Leucaena Leucocephala* (Lmk) De Wit) mengatakan bahwa biji petai cina

mengandung galaktomanan (Gambar 5) dan lektin glukomanan yang merupakan suatu glikosida (Ali, Azad and Hassan, 1995). Penelitian yang dilakukan oleh Ali *et al.* (1995) tentang uji antidiabetes pada fraksi aktif biji klabet (*Trigonella foenum graecum*) keluarga Leguminosae dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diberikan streptozotocin. Hasil identifikasi struktur molekul yang bertanggung jawab dalam efek antidiabetes adalah galaktomanan, galaktomanan banyak tersebar pada tanaman keluarga Leguminosae.

Berdasarkan kemiripan antar rumus molekul dari dugaan sementara struktur molekul isolat A-4 dengan galaktomanan hasil isolasi dari biji klabet (*Trigonella foenum graecum*) maka tidak menutup kemungkinan bahwa pada isolat A-4 yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antidiabetes dari biji petai cina adalah galaktomanan. Hal ini dapat dimungkinkan karena kemiripan struktur kimia dari isolat A-4 dengan galaktomanan.



Gambar 5. Struktur galaktomanan

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian diatas dapat disimpulkan biji petai cina memiliki efek dalam menurunkan kadar glukosa darah. Hasil identifikasi dari senyawa bioaktif tersebut senyawa glikosida yang mempunyai gugus monosakarida galaktosa dan sakarida-sakarida lain.

Ucapan terima kasih

Diucapkan terima kasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional yang telah membiayai penelitian ini melalui Hibah Bersaing dengan Surat Perjanjian Pekerjaan Penelitian Tahun Anggaran 2008.

KEPUSTAKAAN

Ali I, Azad Khan AK, Hassan Z 1995. Characterization of the hypoglycaemic effects of *Trigonella*

foenum-graecum seed. *Planta Medica*, 61:358-360.

Lee GY, Jang DS, Lee YM 2006. Naphthopyrone glucosides from the seeds of *Cassia tora* with Inhibitory activity on Advance Glycation ends product formation. *Arch Pharm Res*, 29(7):587-90.

Lesniak AP, Liu EH 1981. Biological properties of *Leucaena leucocephala* (Imk) DeWit seed galactomannans. *Leucaena Reports* 2: 77-78.

Price SA, Wilson LM 1995. Patofisiologi konsep-konsep klinik proses penyakit. Edisi 4. Alih bahasa: Anugrah, P. EGC, hal 531.

Syamsudin, Partomuan Simanjuntak 2007. Efek hipoglikemik fraksi ekstrak metanol biji petai cina (*Leucaena leucocephala* (Imk)DeWit pada mencit yang diinduksi aloksan. *Jurnal Kedokteran YARSI*, 15(2):130-144.

Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R and King H 2004. Global prevalence of diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care*, 27(5):1047-53.