

Majalah Obat Tradisional, 16(3), 124 – 132, 2011

AKTIVITAS ANTIDIABETES KOMBINASI EKSTRAK TERPURIFIKASI HERBA SAMBILOTO (*Andrographis paniculata* (Burn.F.) NESS.) DAN METFORMIN PADA TIKUS DM TIPE 2 RESISTEN INSULIN

THE ANTIDIABETICS OF COMBINATION METFORMIN AND PURIFIED EXTRACT OF *Andrographis paniculata* (Burn).F.NESS IN HIGH FRUCTOSE-FAT FED RATS

Eka Siswanto Syamsul^{1,2*}, Agung Endro Nugroho¹, Suwijiyo Pramono¹

¹Program Pascasarjana Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Skip Utara 55281, Yogyakarta

²Akademi Farmasi Samarinda

ABSTRAK

Sambiloto (*A. paniculata*) merupakan tanaman yang dapat digunakan untuk mengatasi penyakit Diabetes Mellitus (DM). Dalam terapi DM terdapat kemungkinan pemakaian bersama-sama dengan Obat Hipoglikemik Oral (OHO), misalnya: metformin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi kombinasi ekstrak terpurifikasi herba sambiloto dan metformin terhadap peningkatan efek penurunan kadar glukosa darah pada tikus DM tipe 2 resisten insulin. Penelitian ini dilakukan menggunakan metode acak lengkap pola searah. Hewan uji yang digunakan dibagi 4 kelompok, kelompok 1: pemberian metformin 45 mg/kg BB (kontrol positif), kelompok 2: pemberian ekstrak terpurifikasi herba sambiloto 434,6 mg/kg BB, kelompok 3: pemberian kombinasi metformin 45 mg/kg BB dengan ekstrak 434,6 mg/kg BB (kombinasi 1), dan kelompok 4: pemberian metformin 22,5 mg/kg BB dengan ekstrak 434,6 mg/kg BB (kombinasi 2). Hewan uji DM tipe 2 resisten insulin dibuat dengan pemberian fruktosa 1,8 g/kg BB dan makanan kaya lemak selama 50 hari. Penetapan kadar glukosa darah menggunakan reagen kit. Pengamatan ekspresi GLUT-4 pada sel otot menggunakan teknik imunohistokimia. Resistensi insulin pada tikus diuji menggunakan 3 parameter, yaitu: (1) uji kadar glukosa darah preprandial dan postprandial; (2) aktivitas hipoglikemik glibenklamid; dan (3) pengamatan ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot. Hasil menunjukkan bahwa hewan uji telah resisten insulin. Hasil uji aktivitas antidiabetes menunjukkan bahwa persen daya hipoglikemik kombinasi 1 dan 2 lebih rendah dibandingkan dengan pemberian metformin atau ekstrak terpurifikasi secara tunggal ($p < 0,05$). Dari hasil di atas disimpulkan bahwa kombinasi ekstrak sambiloto terpurifikasi dengan metformin tidak meningkatkan potensi antidiabetes dari penggunaan tunggalnya.

Kata kunci : *A. paniculata*, metformin, resistensi insulin

ABSTRACT

A. paniculata is a plant that can be used to overcome the disease diabetes. In DM there is a possibility of the use of therapy with oral hypoglycemic drugs, for example: metformin. This research was conducted using a complete random method indirectional pattern. This study aims to determine the potential of the combination of purified extract of sambiloto herbs and enhancement effects of metformin on blood glucose levels decrease in insulin resistant rats. Test animals used were divided 4 groups, group 1: metformin 45 mg / kg (positive control), group 2: purified extract of sambiloto herbs 434.6 mg/ kg, group 3: a combination of metformin 45 mg / kg BW with the extract of 434.6 mg/ kg (combination 1), and group 4: metformin 22.5 mg/ kg body weight with extract 434.6 mg/ kg (combination 2). Test animals are insulin resistant type 2 DM was made by administering 1.8 g fructose / kg body weight and fat diet for 50 days. Assay of glucose using a reagent kit. Observation of GLUT-4 expression in muscle cells by using immunohistochemical techniques. Insulin resistance rats was tested by using three parameters: (1) testing of blood glucose levels preprandial and postprandial (2) the hypoglycaemic activity of glibenclamide, and (3) observations of GLUT-4 protein expression in muscle tissue. Test results show that the animals had insulin resistant. Results, in this research antidiabetic activity assay indicate that the hypoglycaemic for combination 1 and combination 2 lower compared to a single administration of metformin or purified extract ($p < 0,05$). From the above results concluded that the combination of sambiloto extract purified with metformin does not increase the potency of antidiabetic in single use.

Key words : *A. paniculata*, metformin, insulin resistance

PENDAHULUAN

Pengobatan dengan obat tradisional yang diberikan secara tunggal tidak direkomendasikan oleh Komite Etik Departemen Kesehatan Republik Indonesia, karena mengingat Diabetes Mellitus merupakan penyakit kronis yang penatalaksanaannya harus menggunakan Obat Hipoglikemik Oral (OHO) sintetik. Metformin salah satu OHO yang merupakan obat pilihan pertama pada pengendalian DM tipe 2 (DepKes RI, 2009).

Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Ness.) adalah salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat anti diabetes mellitus. Herba dan percabangannya mengandung diterpen lakton yang terdiri dari andrografolid (zat pahit), neoandrografolid, 14-deoksi-11-12-didehidroandrografolid, 14-deoksi-11-oksoandrografolid, 14 deoksi andrografolid, dan homoandrografolid selain itu juga terdapat juga flavonoid antara lain: 5-hidroksi-2',3',7,8-tetrametoksiflavon, 5-hidroksi-2',7,8-trimetoksiflavon, 5-hidroksi-7,2',3'-trimetoksiflavon, 2',5-dihidroksi-7,8-dimetoksiflavon, apigenin, onisilin, mono-O-metilwithin, 3,4-dicaffeoylquinic, dan apigenin-7,4-dimetileter. Terdapat juga andrografen, panikulida A, B, dan C, dan panikulin (Niranjan dkk, 2010; Sudarsono dkk, 2006; Chao dan Lin, 2010).

Penelitian yang menyatakan bahwa tanaman *A. paniculata* sebagai antidiabetes mellitus sebagai berikut: Zhang dan Tan (2000) melaporkan bahwa ekstrak etanolik secara poten menurunkan kadar glukosa darah pada tikus DM tipe 1 yang diinduksi Streptozotocin (STZ) dimana aktivitas enzim hepatic glukosa-6-fosfatase menurun secara nyata, ini membuktikan bahwa efek penurunan glukosa berhubungan dengan peningkatan metabolisme glukosa pada kelompok tikus yang diberikan ekstrak sambiloto 400 mg/kgBB selama 14 hari. Dandu dan Inamdar (2009) menyatakan bahwa ekstrak larut air herba sambiloto menunjukkan aktivitas antioksidan dengan menaikkan aktivitas Superoksida Dismutase (SOD) dan Katalase pada tikus DM tipe

alfaglukosidase dan alfa-amilase (Subramanian dkk, 2008). Dosis 2,0 g/ kg BB ekstrak etanol herba sambiloto merupakan kadar optimal yang dapat menurunkan kadar glukosa tikus (Yulinah dkk, 2011).

Tujuan penelitian ini untuk menilai efektivitas pemberian terapi kombinasi apakah semakin baik dengan bekerja secara sinergis yang akan berefek potensiasi yaitu kedua obat saling memperkuat khasiatnya ataukah efeknya semakin berkurang karena terjadi interaksi obat yang satu mempengaruhi atau mengubah proses absorpsi, distribusi (ikatan protein), metabolisme dan ekskresi dari obat yang lainnya atau bekerja antagonis pada reseptor yang sama.

METODOLOGI

Bahan penelitian

Herba sambiloto dari Desa Girimulyo, Kabupaten Kulonprogo. Ekstrak terpurifikasi *A. paniculata* dari berbagai proses di Fakultas Farmasi UGM. Hewan uji adalah tikus jantan galur Sprague-Dawley dewasa (umur 4-6 minggu) dengan berat badan 80-120 gram, diperoleh dari Bagian Farmakologi, Fakultas Farmasi UGM, Metformin dari PT.Merck,Tbk.

Jalannya Penelitian

Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi Herba Sambiloto

Serbuk Sambiloto sebanyak 2 kg dimaserasi dengan etanol 90% selama 24 jam, lalu sari etanol disaring dengan kain flanel kemudian disimpan (maserat pertama). Residu yang ada diremaserasi dengan etanol 90% hingga didapatkan maserat kedua. Maserat pertama dan kedua digabungkan, lalu diendapkan selama 2 hari dan disimpan untuk selanjutnya dipekatkan di atas penangas air untuk mendapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental ini selanjutnya dimurnikan lagi dengan ditambahkan pelarut *n*-heksana dan divortex, pencucian ini akan mengubah warna pelarut menjadi hijau (pelarut ini dibuang), dilakukan berulang-ulang sampai warna hijau pada pelarut hilang.

Fraksi tak larut heksana dipurifikasi kembali dengan ditambahkan pelarut etil asetat dan divortex kembali sampai warna coklat hilang. Fraksi tak larut etil asetat diduga membawa zat-zat seperti flavonoid dan diterpenoid lakton (termasuk andrografolid) yang merupakan fraksi terpilih yang kita gunakan untuk pengujian. Fraksi tak larut etil asetat tersebut dicuci dengan air panas, kemudian diuapkan hingga kering dan

*Korespondensi Eka Siswanto S

Program Pascasarjana, Fakultas Farmasi UGM

Email : eka8382@gmail.com

1. Dilaporkan juga rebusan herba sambiloto menurunkan kadar glukosa darah pada tikus DM tipe 1 yang diinduksi aloksan (Reyes dkk, 2006). Ekstrak sambiloto juga dapat merangsang pelepasan insulin dan menghambat absorpsi glukosa melalui penghambatan enzim

larutkan dengan alkohol secukupnya serta dipekatkan dan dinamakan ekstrak terpurifikasi.

Penetapan Dosis optimum ekstrak terpurifikasi Sambiloto

Dosis 2,0 g/ kg BB ekstrak kasar etanol yang merupakan kadar optimal yang dapat menurunkan kadar glukosa tikus (Yulinah dkk, 2011).

$$\text{Dosis optimum} = \frac{\text{Berat ekstrak akhir}}{\text{Ekstrak etanol}} \times \text{dosis diketahui}$$

$$\text{Dosis optimum} = \frac{34,24\text{g}}{157,56\text{g}} \times 2 \text{ g/ kg BB}$$

Dosis optimum = 434,6 mg/ kg BB untuk sekali pemakaian

Pakan kaya lemak-fruktosa dan resistensi insulin

Hewan uji akan diberikan pakan kaya lemak dengan komposisi pakan (80%), lemak babi (15%), dan kuning telur bebek (5%). Jumlah kelompok hewan uji yang mendapatkan makanan kaya lemak sebanyak 5 kelompok dan 1 kelompok normal (tidak diberikan). Berdasarkan hasil orientasi, jumlah konsumsi makanan setiap harinya maksimum sebanyak 15 g/ tikus. Fruktosa yang diberikan sebesar 1,8 g/ kg Bb tikus peroral.

Hewan uji DM tipe 2 resisten insulin dapat dilihat dari parameter: (1) uji kadar glukosa darah preprandial dan postprandial; (2) uji aktivitas hipoglikemik dari glibenklamid; dan (3) pengamatan ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot.

Pengujian aktivitas Antidiabetes senyawa uji

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap pola searah dengan hewan uji yang berjumlah tiga puluh enam ekor dibagi menjadi enam kelompok, terdiri dari: 1 kelompok normal dan 5 kelompok lainnya adalah tikus DM (tikus DM RI) sebagaimana disajikan berikut:

kelompok I : kontrol normal, tikus normal diberi aquades peroral; kelompok II : kontrol negatif, tikus DM RI diberi larutan CMC-Na 0,5% dua kali sehari peroral; kelompok III : kontrol positif, tikus DM RI, diberi metformin 45 mg/kg BB dua kali

sehari peroral; kelompok IV : tikus DM RI, diberi ekstrak terpurifikasi herba sambiloto dosis 434,6 mg/kg BB dua kali sehari peroral; kelompok V : tikus DM RI, diberi kombinasi metformin (45 mg/kgBB) + ekstrak terpurifikasi herba sambiloto 434,6 mg/kg BB (kombinasi 1), dua kali sehari peroral; kelompok VI : tikus DM RI, diberi kombinasi ½ dosis metformin (22,5 mg/kgBB) + ekstrak terpurifikasi herba sambiloto 434,6 mg/kg BB (kombinasi 2), dua kali sehari peroral.

Pemberian perlakuan senyawa uji pada tiap – tiap kelompok dimulai pada saat tikus sudah resisten insulin (pada penelitian ini dimulai pada hari ke-50) selama lima hari, pengukuran kadar glukosa darahnya dengan reagen *Glucose Oxidase-Phenol Aminoanti-pyrine* (GOD-PAP) dan diukur dengan microlab 3000 pada hari ke-0, ke-20, ke-30, ke-50, dan ke-55.

$$\text{Glukosa (mg/dl)} = \frac{\text{Absorbansi serum}}{\text{Absorbansi standar}} \times \text{kons. standar}$$

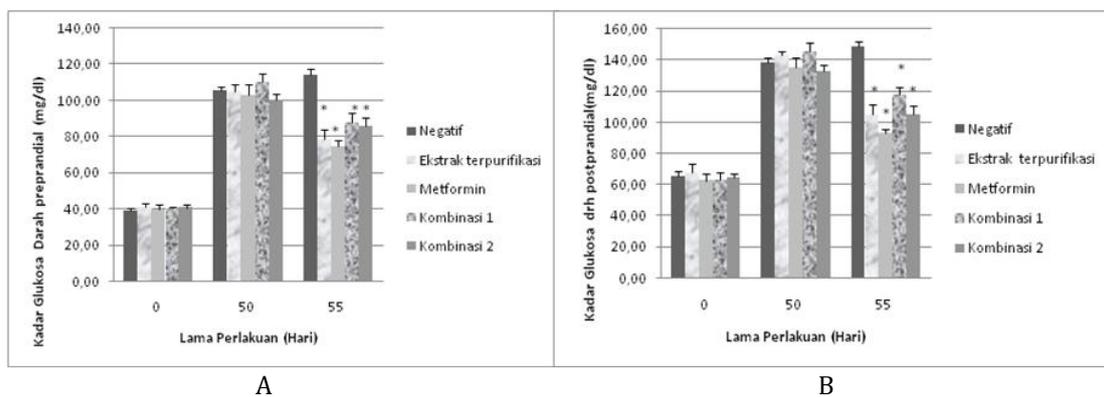
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pemeriksaan organoleptik menunjukkan bahwa ekstrak terpurifikasi merupakan ekstrak kental yang berwarna hijau kehitaman, berbau khas dan berasa sangat pahit. Rasa pahit sambiloto dilaporkan sebesar 2,8 kali rasa pahit dari Kuinin HCl (Ameh dkk, 2010). Pada penelitian ini, kadar andrografolid ditetapkan dengan metode densitometer dari KLT yang berupa luas area. Dari perhitungan diketahui bahwa persentase kandungan andrografolid dalam ekstrak terpurifikasi adalah sebesar 16,13±0,50 %. Ini sudah sesuai dengan ketentuan (DepKes, 2009) bahwa kandungan andrografolid dalam ekstrak Sambiloto sebesar ≥ 15%.

Penelitian ini mengelompokkan hewan uji menjadi dua kategori: kelompok tikus normal dan kelompok tikus yang diberi fruktosa sebanyak 1,8 g/ kg BB tikus dan pakan kaya lemak (terdiri dari: pakan 80%, lemak babi 15% dan kuning telur bebek 5%) yang diberikan selama 50 hari (dinamakan tikus lemak-fruktosa), maka didapatkan hasil seperti disajikan dibawah ini.

Tabel I. Hasil Standardisasi ekstrak terpurifikasi

Parameter	Hasil Ekstrak terpurifikasi	(DepKes 2009)
Organoleptis	Ekstrak kental Warna: hijau kehitaman Bau : khas Rasa: Sangat pahit	-
Rendemen ekstrak	1,71%	-
Kadar andrografolid	16,31±0,50 %	Tidak kurang dari 15%



Gambar 1. Kadar glukosa darah tikus preprandial (A) dan postprandial (B) hari ke-0, 50 dan 55. Pengujian dengan *paired sample t-test*. Keterangan : *(hari ke-55 berbeda bermakna dibandingkan dengan hari ke-50).

Berat badan

Pengukuran berat badan dilakukan 5 hari sekali dimulai pada hari ke-0 sampai hari ke-50. Hasil analisis statistik dengan *independent sample t-test* menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) pada hari ke-30. Hal ini mengindikasikan bahwa diet fruktosa dan pakan kaya lemak mempengaruhi kenaikan BB kelompok tikus lemak-fruktosa secara bermakna dibandingkan kelompok tikus normal.

Kadar glukosa darah preprandial dan postprandial

Berdasarkan pengukuran kadar glukosa darah preprandial dan postprandial pada hari ke-0, 20, 30, dan 50 tampak bahwa terjadi peningkatan kadar glukosa darah lebih tinggi pada kelompok tikus lemak-fruktosa dibandingkan dengan kelompok tikus normal. Hasil analisis statistik dengan *independent sample t-test*, menunjukkan adanya perbedaan yang

bermakna ($p < 0,05$) pada hari ke-20, 30 dan 50. Hal ini mengindikasikan bahwa diet fruktosa dan pakan kaya lemak mempengaruhi kadar glukosa

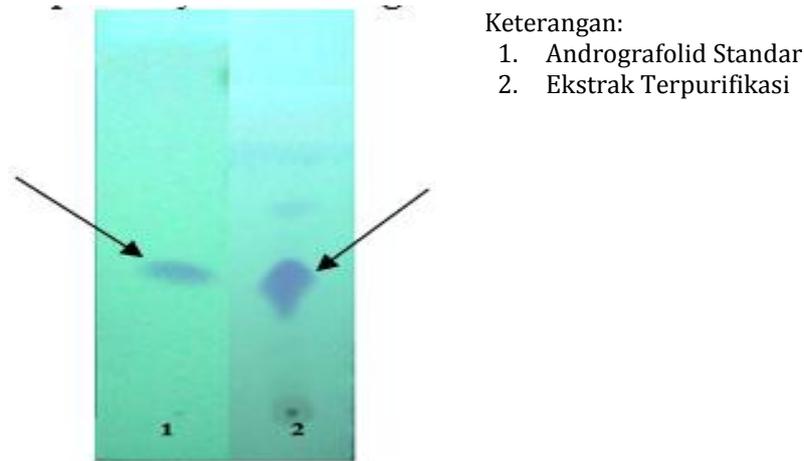
darah preprandial tikus lemak-fruktosa secara bermakna dibandingkan tikus normal.

Hewan uji DM 2 resisten insulin

Hewan uji sudah mengalami DM tipe 2 resisten insulin dapat dilihat dari parameter: uji aktivitas hipoglikemik dari glibenklamid dan pengamatan ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot.

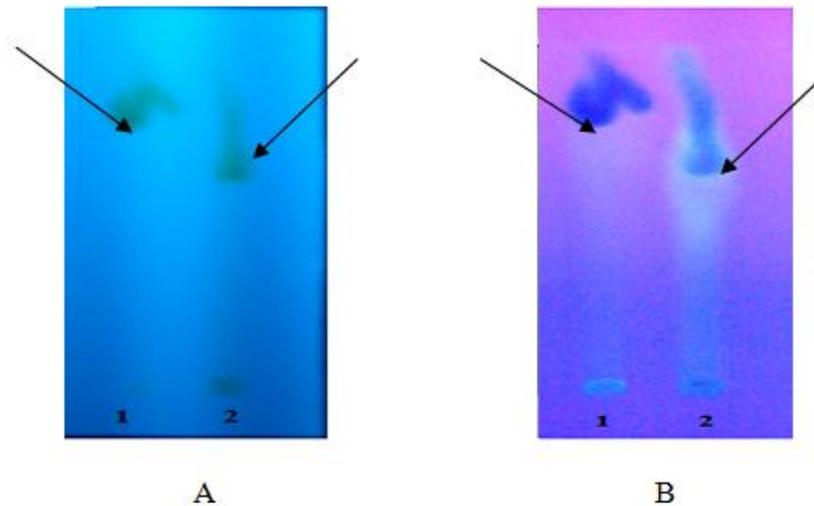
Uji aktivitas hipoglikemik dari gliben-klamid

Uji ini menunjukkan bahwa tikus lemak-fruktosa terbukti memang mengalami resistensi insulin, ini dapat dilihat dengan nilai persen daya hipoglikemik yang lebih kecil dari kelompok tikus normal (Chi dkk, 1999). Perhitungan secara statistik juga didapatkan nilai perbedaan yang signifikan.



Keterangan:
 1. Andrografolid Standar
 2. Ekstrak Terpurifikasi

Gambar 3. Profil KLT ekstrak terpurifikasi, elusi dilakukan dengan kloroform:metanol (9:1), dengan fase diam: silika gel 60F₂₅₄, Jarak elusi sampel 8cm. Pengamatan pada UV₂₅₄.



Gambar 4. Profil KLT untuk melihat flavonoid. 1.ekstrak etanolik dan 2.ekstrak terpurifikasi, dengan fase diam: selulosa, fase gerak: toluen: butanol: asam asetat: air (4:3:2:1) diambil fase atas. A. sebelum disemprot pereaksi sitroborat, B. setelah disemprot Pereaksi sitroborat. Jarak elusi sampel 8 cm. Pengamatan di bawah UV₃₆₆. Hasil positif ditandai dengan bercak yang berpendar setelah disemprot.

Pengamatan ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot

Setelah dilakukan pemeriksaan ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot dengan metode *Immunohistochemistry* (IHC) maka kita dapat melihat perbedaannya. Hasil perhitungan total nilai ekspresi GLUT-4 kelompok tikus normal 121.560, sementara pada tikus lemak-fruktosa hanya sebesar 7.093 (hanya sekitar 1 / 17,3 dari total nilai tikus normal). Ini membuktikan bahwa pada tikus lemak-fruktosa terjadi penurunan

jumlah ekspresi protein GLUT-4 pada otot. Semakin banyak ekspresi GLUT-4 maka dapat dikatakan bahwa penggunaan glukosa oleh jaringan semakin baik, sehingga jumlah glukosa dalam darah menjadi berkurang karena diangkut ke jaringan. Di dalam jaringan glukosa akan diubah menjadi ATP (energi) yang bermanfaat bagi tubuh. Jika dilihat dari parameter pengujian yang dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa hewan yang kita gunakan untuk penelitian ini sudah mengalami resisten insulin.

Pada gambar 1.A dan 1.B setelah dilakukan pengujian dengan *paired sample t-test* memiliki nilai signifikansi ($p < 0,05$) untuk kadar glukosa darah preprandial dan postprandial artinya ada perbedaan secara signifikan kadar glukosa darah kelompok tikus DM RI yang diberi perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif.

Efek sediaan terhadap daya hipoglikemik

Menurut Suryawati (1995) beberapa interaksi obat dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu interaksi farmasetika (interaksi ini merupakan interaksi fisiko-kimiawi antar obat sehingga mengubah aktivitas farmakologiknya), interaksi farmakokinetika (interaksi ini terjadi bila obat B mempengaruhi atau mengubah proses absorpsi, distribusi (ikatan protein), metabolisme dan ekskresi dari obat A. dan interaksi farmakodinamika (pada interaksi ini, terjadi perubahan efek obat A karena pengaruh obat B pada tempat kerja). Harkness (1989) serta Tjay dan Rahardja (2006) menyatakan bahwa efek antagonisme atau sinergisme masuk dalam interaksi kelas ini.

Interaksi farmasetika kemungkinan tidak terjadi, karena pemberian dilakukan tidak melalui penggabungan antara metformin dan ekstrak terpurifikasi dalam satu larutan sediaan. Pemberian sediaan diberikan secara oral berurutan, larutan ekstrak terpurifikasi diberikan terlebih dahulu, kemudian larutan metformin. Interaksi yang memungkinkan terjadi adalah interaksi secara farmakokinetika dan farmakodinamika.

Absorpsi metformin berlangsung relatif lambat dan dapat diperpanjang sampai sekitar 6 jam. Makanan menghambat absorpsi metformin. Metformin diekskresikan tidak berubah kedalam urin dan tidak mengalami metabolisme hepatic/ ekskresi melalui kandung empedu (Sukandar, 2008). Metformin mempunyai waktu paruh ($t_{1/2}$) 1,5-3 jam, tak terikat protein plasma, tidak dimetabolisme, dan diekskresi oleh ginjal melalui sekresi aktif pada tubulus proksimal (Sutanegara, 2006). Data farmakokinetika, bioavailabilitas absolut metformin sebanyak 500 mg yang diberikan dalam kondisi puasa adalah 50-60% (Sukandar, 2008). Ekstrak terpurifikasi sambiloto diduga menurunkan bioavailabilitas metformin dengan cara menghambat absorpsi di saluran cerna (lambung dan atau duodenum), diketahui bahwa absorpsi metformin relatif lambat. Dari hasil pengujian secara kualitatif dengan KLT tidak terdapat tannin dalam ekstrak terpurifikasi. Tannin dapat membentuk kompleks dengan ion logam dan menghambat absorpsinya. Tannin dapat juga bereaksi dengan beberapa obat dan

menurunkan absorpsinya (List and Schmidt, 1989). Dilaporkan oleh Sule dkk, (2010) bahwa ekstrak metanolik *A. paniculata* mengandung alkaloid, asam amino, flavonoid, glikosida, saponin, steroid, terpenoid, dan tannin. Namun pada hasil pengujian pada ekstrak terpurifikasi ini tidak mengandung tannin, diduga tannin terlarut pada proses purifikasi pada waktu pembuatan ekstrak.

Penghambatan pada fase absorpsi ini diduga dikarenakan adanya komponen senyawa dalam ekstrak yang dapat menghambat absorpsi, namun demikian senyawa yang bertanggungjawab perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Sejauh ini belum pernah dilakukan penelitian kombinasi andrografolid dengan metformin untuk terapi DM. Dilaporkan bahwa ekstrak sambiloto juga dapat merangsang pelepasan insulin dan menghambat absorpsi glukosa melalui penghambatan enzim α -amilase dan α -glukosidase. Enzim glukosidase (maltase, isomerase, glukomerase dan sukrase) berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida pada dinding usus halus sehingga inhibisi pada enzim ini dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya (Subramanian dkk, 2008). Dilaporkan bahwa terjadi interaksi akarbose (golongan obat inhibitor α -glukosidase) dengan metformin yang akan menurunkan efek metformin dengan cara memperlambat absorpsi intestinal (Tatro, 2001). Diduga interaksi ekstrak terpurifikasi sambiloto dengan metformin terjadi melalui penghambatan enzim α -glukosidase yang akan menurunkan kecepatan absorpsi dari metformin sehingga menurunkan efeknya.

Setelah diabsorpsi, obat akan didistribusikan ke seluruh tubuh melalui sirkulasi darah. Selain tergantung dari aliran darah, distribusi obat juga ditentukan oleh sifat fisikokimianya. Distribusi dibatasi oleh ikatan obat pada protein plasma, hanya obat bebas yang dapat berdifusi dan mencapai keseimbangan. Derajat ikatan obat dengan protein plasma ditentukan oleh afinitas obat terhadap protein, kadar obat, dan kadar proteinnya sendiri (Agoes dkk, 2009). Metformin tak terikat protein plasma, sehingga tidak memungkinkan terjadi penghambatan/interaksi pada jalur distribusi obat ini.

Metabolisme obat terdiri dari 2 jalur utama dari proses biokimia yang berbeda, yaitu metabolisme fase I dan fase II. Sedangkan pengaruh terhadap "*CYP-mediated metabolism*" adalah mekanisme utama dari interaksi dua obat satu sama lainnya. Meskipun dilaporkan bahwa andrografolid akan menginduksi enzim CYP 1A2, sehingga memungkinkan terjadinya interaksi antara andrografolid dengan obat-obat yang

menjadi substrat enzim CYP 1A2 sehingga menurunkan efek obat tersebut (Chien dkk, 2010). Namun, karena metformin tidak mengalami metabolisme hepatic/ ekskresi melalui kandung empedu maka hal ini tidak mungkin mempengaruhi terjadinya interaksi.

Proses ekskresi bertanggung jawab atas durasi atau lamanya obat berefek dengan cara mengusahakan agar obat dapat segera dikeluarkan dari tubuh, termasuk ke dalam alat ekskresi seperti ginjal, hati dan paru. Obat dikeluarkan dari tubuh melalui berbagai organ ekskresi dalam bentuk metabolit hasil biotransformasi atau dalam bentuk asalnya. Obat atau metabolit yang polar diekskresi lebih cepat daripada obat yang larut baik dalam lemak (Agoes dkk, 2009).

Pada gambar 4 terlihat bahwa ekstrak terpurifikasi positif mengandung flavonoid yang ditandai dengan bercak yang berpendar. Tanaman sambiloto mengandung flavonoid polimetoksisflavon (Niranjan dkk, 2010; Sudarsono dkk, 2006; Chao dan Lin, 2010). Flavonoid polimetoksi flavon dilaporkan berkhasiat sebagai diuretik (Sriningsih dkk, 2002; Thama dkk, 2008). Mekanisme flavonoid polimetoksi flavon dilaporkan bekerja sebagai diuretik dengan jalan menghambat ko-transporter dan menurunkan reabsorpsi ion natrium dan kalium ke dalam urin dan mekanisme peningkatan natriuresis dan kaliuresis (Geurin dan Reveillere, 1989). Kaliuresis menyebabkan terjadinya hipokalemia, yaitu kondisi ion kalium dalam darah kurang dari 3,8 mEq/ L, padahal ion kalium diperlukan oleh β pankreas untuk merangsang sekresi insulin, akibatnya produksi insulin semakin menurun sehingga kadar gula darah meningkat (Saltiel dan Khan, 2001). Namun demikian diperkirakan flavonoid polimetoksi flavon terlarut pada fraksi *n*-heksana pada waktu proses purifikasi ekstrak.

Flavonoid yang ditemukan pada ekstrak (gambar 4) diperkirakan adalah 7-O-metilwogonin, apigenin, onisilin dan 3,4-dicaffeoylquinic yang berkhasiat sebagai antiaterosklerosis (Chao dan Lin, 2010). Kemungkinan besar tidak terjadi interaksi pada fase ekskresi ini, mengingat flavonoid polimetoksi flavon sebagai diuretik yang dapat menyebabkan hipokalemia diperkirakan terlarut pada fraksi *n*-heksana pada waktu proses purifikasi sehingga tidak terdapat pada ekstrak terpurifikasi herba sambiloto yang digunakan sebagai sediaan uji.

Penurunan daya hipoglikemik kombinasi metformin dan ekstrak terpurifikasi sambiloto adalah interaksi yang terjadi pada fase absorpsi. Pada fase ini dikarenakan absorpsi metformin berlangsung relatif lambat dan dapat diperpanjang

sampai sekitar 6 jam. Metformin meningkatkan pemakaian glukosa oleh sel usus sehingga menurunkan glukosa darah dan juga diduga menghambat absorpsi glukosa di usus sesudah asupan makan (Sutanegara, 2006). Diduga interaksi ekstrak terpurifikasi sambiloto dengan metformin terjadi melalui penghambatan enzim α -glukosidase sehingga akan menurunkan kecepatan absorpsi dari metformin dan akan menurunkan efeknya.

Metformin dan ekstrak terpurifikasi memiliki kemampuan yang hampir sama dalam menurunkan kadar glukosa darah baik preprandial maupun postprandial, ini disebabkan oleh adanya andrografolid di dalam ekstrak terpurifikasi. Menurut Yu dkk (2003) andrografolid dapat meningkatkan penggunaan glukosa otot pada tikus yang dibuat diabetes dengan STZ melalui stimulasi transporter GLUT-4 yang berarti bahwa andrografolid dapat meningkatkan penggunaan glukosa pada otot untuk menurunkan kadar glukosa dalam plasma pada tikus. Analog senyawa andrografolid juga menurunkan kadar glukosa darah, meningkatkan insulin, dan merangsang GLUT-4 pada tikus DM tipe 1 yang diinduksi aloksan (Zhang dkk, 2009). Dilaporkan senyawa andrografolid meningkatkan penggunaan glukosa melalui peningkatan ekspresi mRNA maupun level protein GLUT-4, pembawa transport glukosa menembus sel (Yu dkk, 2003)

KESIMPULAN

Daya hipoglikemik kombinasi ekstrak terpurifikasi dan metformin (kombinasi 1 dan 2) lebih rendah ($P < 0,05$) bila dibandingkan pemberian secara tunggal, yaitu: kelompok yang diberikan ekstrak terpurifikasi atau metformin saja, baik pada pengukuran preprandial maupun postprandial.

DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, A., Kamaluddin, Chaidir, Y., Munaf, S., Nattadiputra, S., Yodhian, L., Tanzil, S., Azis, S., Theodorus., 2009, *Kumpulan Kuliah Farmakologi FK Universitas Sriwijaya*. Penerbit EGC, Jakarta. Hal 400-451, 600-617, 710-718.
- Ameh., Sunday., Obodozie., Obiageri., Inyang., Uford., Abubakar., Mujibata., Garba., Makaji., 2007, A Normative Study of Nigerian Grown "Maha Tita" *A. paniculata*, *Int. J. Drug. Dev. & Res.* **2 (2)** : 291-299
- .Chao, W.W., and Lin, B.F., 2010, Isolation and Identification of Bioactive compounds in *Andrographis paniculata* (Chuanxinlian), *Chin. Med. J.* **5**:1-15.
- Chi, T.C., Liu, I.M., Cheng, J.T., 1999, Less of insulin desensitization in sympathetic nerve terminals from Wistar rats with insulin resistance, *J. Auto. Nerv. Sys.*, **80**: 80-84.
- Chien, C.F., Wu, Y.T., Lee, W.C., 2010, Herb-drug Interaction of *A. paniculata* Extract and Andrographolide on the Pharmacokinetics of Theophylline in Rats. *J. Chem-Biol. Interact.*, **184 (3)**: 458-465.
- Dandu, A.M. dan Inamdar, N.M., 2009, Evaluation of beneficial effects of antioxidant properties of aqueous leaf extract of *Andrographis paniculata* in STZ-induced diabetes, *J. Pharm. Sci.*, **22(1)**:49-52.
- Depkes RI., 2009, *Farmakope Herbal Indonesia*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Geurin J.C., and Reveillere H.P., 1989, *Orthosiphon stamineus* as a potent source of methylripario chromene A, *J. Nat. Prod.*, **52(1)**: 171-173
- Harkness, R., 1989, *Interaksi Obat* (terjemahan), Penerbit ITB, Bandung.
- List, P.H., and Schmidt, P.C., 1989, *Phytopharmaceutical Technology*, Florida, CRC Press. p53-56.
- Niranjan, A., Tewari, S.K., Lehry, A., 2010, Biological activities Of Kalmegh (*A. paniculata* Ness) and its active principles, *Ind. J. Nat. Prod. Res.*, **1(2)**: 125-135.
- Reyes, B.A., Bautista, N.D., Tanquilut, N.C., Anunciado, R.V., Leung, A.B., Sanchez, G.C., Magtoto, R.L., Castronuevo, P., Tsukamura, H., Maeda, K.I., 2006, Anti-diabetic potentials of *Momordica charantia* and *Andrographis paniculata* and their effects on estrous cyclicity of alloxan-induced diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* **105 (1-2)**: 196-200
- Saltiel, A.R., Khan, C.R., 2001, Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism, *Nature*, 414: 799-806
- Sriningsih, Adji, S.W., Sumaryono, W., Wibowo, A.E., Caidir, Firdayani, Kusumaningrum, S., Kartakusuma, P., 2002, Analisa Senyawa Golongan Flavonoid Herba Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), *JSTF*. Hal 21-25.
- Subramanian, R., Asmawi, M.Z., Sadikun, A., 2008, In vitro alpha-glucosidase and alpha-amylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *Acta, J. Biochem. Pol.*, **55(2)**:391-398.
- Sudarsono, Pudjoarinto, A., Gunawan, D., Wahyuono, S., Donatus, I.A., Drajad, M., Wibowo, S., Ngatidjan, 2006, *Tumbuhan Obat I*. Pusat Penelitian Obat Tradisional, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Hal 25-28.
- Sukandar, E.Y., Andrajati, R., Sigit, J.I., Adnyana, I.K., Setiadi, A.A.P., Kusnandar, 2008, *ISO-Farmakoterapi*. PT.ISFI Penerbitan, Jakarta.
- Sule, Q.U., Ahmed, O.A., Samah, Omar, M.N., 2010, Screening for Antibacterial Activity of *Andrographis paniculata* Used in Malaysian Folkloric Medicine: A Possible Alternative for the Treatment of Skin Infections. *Malay. J. Med. Sci.*, Pubmed.
- Suryawati, S., 1995, *Efek Samping Obat* Edisi kedua. Pusat Studi Farmakologi Klinik dan Kebijakan Obat UGM, PT. Karipata, Yogyakarta, hal 245-270.
- Sutanegara, D., 2006, *Ilmu Penyakit Dalam Jilid III*, edisi FKUI, Jakarta. Hal: 1034-1042.
- Tatro, D.S, 2001, *Drug Interaction Facts, Facts and Comparison A Wolter Kluwer Company*, St. Louis Missouri, USA.
- Thama, S.Y, Sadikuna, I. Zharia, Haughtonb, P.J., Asmawia, M.Z., 2008, Studies on diuretic and hypouricemic effects of *Orthosiphon stamineus* methanol extracts in rats, *J. Med. Food*, **11(2)**, p. 362-368.
- Tjay, T.H., dan Raharja, K., 2006, *Obat - Obat Penting*, Dirjen POM, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Yu, E.C., Hung, C.R., Chen, W.C., Cheng, J.T., 2003, Antihyperglycemic effect of andrographolide in streptozotocin-induced diabetic rats, *J.Plant. Med.* 69 (12): 1075-1079
- Yulinah, E., Sukrasno, Fitri, M.A., 2011, Aktivitas Antidiabetika Ekstrak Etanol Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees (Acanthaceae)), *JMS ITB* Vol. **6**.
- Zhang, X.F., and Tan, B.K. 2000. Antihyperglycemic and anti-oxidant properties of *Andrographis paniculata* in normal and diabetic rats. *J. Clin. Exp. Pharmacol. J. Physiol.* **27 (3)**: 58-63

Zhang, Z., Jiang, J., Yu, P., Zeng, X., Larrick, J.W.,
Wan, Y. 2009. Hypoglycemic and beta cell
protective effects of andrographolide

analogue for diabetes treatment. *J. Transl.
Med.* **7**: 62-69.