

EKSTRAK DAUN KAPULAGA MENURUNKAN INDEKS ATHEROGENIK DAN KADAR GULA DARAH TIKUS DIABETES INDUKSI ALLOXAN

Cardamom Extract Leaves Decreased Atherogenic Indexs and Blood Glucose Level of Diabetic Rats Alloxans-Induced

Hery Winarsi¹, Nurtjahjo Dwi Sasongko², Agus Purwanto³, Indah Nuraeni¹

¹Jurusan Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Suparno Karangwangkal, Purwokerto 53123

²Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Suparno Karangwangkal, Purwokerto 53123

³Rumah Sakit Margono Soekarjo, Purwokerto, Jl. Dr. Gumberg 1, Purwokerto, 53146

Email: winarsi12@gmail.com

ABSTRAK

Daun kapulaga (*Amomum Cardomomum*) memiliki potensi antioksidan *in vitro*, yang didukung oleh tingginya kandungan flavonoid dan vitamin C di dalamnya. Senyawa antioksidan diketahui mampu memperbaiki indeks atherogenik dan sekresi insulin. Penelitian ini bertujuan untuk eksplorasi potensi ekstrak daun kapulaga sebagai pengendali atherogenesis dan kadar glukosa darah tikus diabetes hasil induksi *alloxan*. Sebagai hewan percobaannya digunakan 45 ekor tikus (*Rattus norvegicus* L.) galur Sprague Dawley, jantan, umur 2-3 bulan, berat badan antara 210-310 g. Setelah dilakukan aklimatisasi selama 1 minggu, tikus dipuasakan semalam, lalu keesokan harinya diinduksi *alloxan* monohidrat dengan dosis 120 mg/kg berat badan (BB). Satu minggu kemudian, tikus di uji kadar glukosa darahnya menggunakan Nesco Multi Check Glucose, Kemel Int'l Corp. Melalui vena lateralis ekor tikus, darah dicucukkan ke alat check glucose, dan setelah 5 detik kadar glukosanya terbaca. Indeks aterogenik (IA) ditentukan berdasar rumus: (Kolesterol total-HDL)/HDL. Sampel darah untuk analisis kolesterol dan HDL diambil dari vena mata, setelah tikus dianestesi menggunakan ketamin. Tikus dengan kadar glukosa darah > 200 mg/dL, dipilih sebagai hewan percobaan, kemudian dibagi menjadi 3 kelompok masing-masing 15 ekor. Kelompok I, diberi pakan standar dan ekstrak daun kapulaga; kelompok II, diberi pakan standar dan glibenklamid; sedangkan kelompok III, hanya diberi pakan standar selama 2 minggu. Saat awal diabetes, berat badannya turun dari 247,63±28,5 menjadi 220,9±26,6 g ($P < 0,05$). Akan tetapi setelah 2 minggu diberi ekstrak daun kapulaga, berat badannya menjadi stabil ($P > 0,05$), kadar glukosa darahnya menurun dari 199,25±100,5 menjadi 102,88±17 mg/dL ($P < 0,05$), dan indeks atherogenik menurun dari 0,61 menjadi 0,38 ($P < 0,05$). Kesimpulannya, ekstrak daun kapulaga berpotensi sebagai antiatherogenik, menurunkan kadar glukosa darah, dan mempertahankan berat badan tikus diabetes.

Kata kunci: Ekstrak daun kapulaga, diabetes- *alloxan*, tikus

ABSTRACT

Cardamom (*Amomum Cardomomum*) leaves has antioxidant *in vitro*, which was supported by a high flavonoids and vitamin C contents. It has been reported that antioxidants improved atherogenic index and insulin secretion. The aims of this study were to explore the potential of cardamom leaves extracts as atherogenicity and blood glucose levels controlling in *alloxan*-induced diabetic rats. The animal experiments were 45 rats (*Rattus norvegicus* L.) Sprague Dawley strain, male, aged 2-3 months, weighing 210-310 g. After acclimatization for 1 week, rats were fasted overnight and then induced *alloxan* monohydrate at a dose of 120 mg/kg body weight. One week later, the rats in the test blood glucose levels using the Nesco Multi Check Glucose, Kemel Int'l Corp. via the lateral tail vein of rats, blood glucose check attached to the equipment, and after 5 seconds glucose levels was read. Atherogenic index was determined by the formula: $\{(Chol-tot) - HDL\} / HDL$. Blood samples for analysis of total-cholesterol and chol-HDL taken from the eye vein, after the rat anesthetized using ketamine. Rats with blood glucose levels > 200 mg / dL, were selected as experimental animals, and then divided into 3 groups of 15 each. Group I, fed standard and cardamom leaves extract; Group II, fed standard and glibenclamide, whereas group III, only fed standard for 2 weeks. At the beginning diabetic, their weight dropped from 247.63±28.5 to 220.9±26.6 g ($P < 0.05$). However, after feeding cardamom leaves extract for

2 weeks their body weight were stable ($P > 0.05$), the blood glucose levels decreased from 199.25 ± 100.5 to 102.88 ± 17 mg/dL ($P < 0.05$), and the atherogenic index decreased from 0.61 to 0.38 ($P < 0.05$). Based on the result, it could be concluded that cardamom leaves extract is potential as anti-atherogenic, lowers blood glucose levels, and maintain weight loss in diabetic rats.

Keywords: Cardamom leaves extract, diabetic-*alloxan*, rats

PENDAHULUAN

Kejadian Diabetes Melitus (DM) di Indonesia meningkat dari tahun ke tahun. WHO (2008) mencatat Indonesia menempati urutan ke-4 terbesar, setelah India, China dan Amerika, dengan prevalensi sebesar 8,6% dari total penduduk. Salah satu pemicu DM adalah stres oksidatif di dalam tubuh (Winarsi dkk., 2010). Stres oksidatif, berkaitan dengan tingginya resiko penyakit kardiovaskuler (PKV), yang ditunjukkan oleh rendahnya kadar HDL. Hal ini berkaitan dengan sifat ateroprotektif HDL, termasuk dalam menghambat oksidasi fosfolipid LDL, *down regulation* sitokin inflamasi endotel dan *vascular cellular adhesion molecules* (VCAMs), antioksidan, bahkan mengarah ke antiaterogenik (Ansell dkk., 2007). HDL juga melindungi LDL dari stres oksidasi dalam jaringan, sekaligus sebagai peredam lipid teroksidasi. Dengan cara mencegah teroksidasinya LDL ini, HDL memperlambat perkembangan aterosklerosis ataupun resiko PKV.

Baru-baru ini Winarsi dkk. (2012a) menemukan daun kapulaga memiliki potensi antioksidan *in vitro* lebih tinggi dibandingkan batang kapulaga. Potensi tersebut tercermin dari kandungan flavonoid dan vitamin C. Beberapa peneliti melaporkan bahwa senyawa antioksidan mampu memperbaiki indeks atherogenik (Muruganandan dkk., 2005) dan sekresi insulin (Winarsi dan Purwanto, 2010), sehingga dapat mengendalikan kadar glukosa dalam darah. Nair dkk. (1998) melaporkan bahwa *Cardamum* mengandung senyawa antioksidan fenolat dan flavonoid sebesar 50-100 mg, berbentuk quercetin, kaempferol, luteolin dan pelargonidin. Umumnya kandungan antioksidan tersebar di seluruh bagian tanaman, baik di akar, batang, buah maupun daun. Minyak volatil buah (biji) *Elettaria Cardamomum* (L.) mengandung sedikit waxes, alpha-terpinyl acetate 42.3%, 1,8-cineole 21.4%, linalyl acetate 8.2%, limonene 5.6%, dan linalool 5.4%; limonene, 36.4%, 1,8-cineole 23.5%, terpinolene 8.6%, dan myrcene, 6.6%, serta mineral Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu dan Zn dalam berbagai konsentrasi (Al Bataina dkk., 2003). Minyak kapulaga dilaporkan dapat mengurangi *oedem* kaki tikus yang diinduksi karagenan. Minyak esensial kapulaga juga telah diuji potensinya dalam enzim microsomal, dapat menekan pembentukan DNA *adduct* yang diakibatkan aflatoksin B1. Modulasi enzim tersebut berkaitan dengan potensi minyak kapulaga sebagai antikanker. Temuan ini meyakinkan bahwa komponen dalam kapulaga memiliki

potensi antioksidan. Namun demikian, apakah antioksidan dalam daun kapulaga dapat mengendalikan kadar glukosa darah dan menurunkan indeks atherogenik pada tikus diabetes induksi *alloxan*, perlu diuji dalam penelitian.

METODE PENELITIAN

Hewan Percobaan

Penelitian eksperimental yang menggunakan rancangan acak lengkap ini merupakan lanjutan temuan Winarsi dkk. (2013). Sebagai hewan percobaan digunakan 45 ekor tikus (*Rattus norvegicus* L.) galur Sprague Dawley (SD), jantan, berat 210-310 g, umur 2-3 bulan, yang diperoleh dari Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Bidang Layanan Penelitian Pra-Klinik dan Pengembangan Hewan Percobaan, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Setelah dilakukan aklimatisasi satu minggu, hewan tersebut dipuasakan semalam, kemudian diinduksi dengan *alloxan* monohidrat 120-125 mg/kg BB yang dilarutkan ke dalam larutan fisiologis, intraperitoneal. Satu minggu kemudian, tikus dipuasakan semalam, dan pagi harinya di uji kadar glukosa darahnya menggunakan Nesco Multi Check Glucose, Kemel Int'l Corp. Sampel darah diambil melalui vena lateralis ekor tikus. Tikus dengan kadar glukosa > 200 mg/dL, sebagai hewan percobaan.

Intervensi Hewan Percobaan

Tikus yang telah hiperglikemia dibagi menjadi 3 kelompok, masing-masing 15 ekor. Kelompok I, diberi pakan standar plus ekstrak daun kapulaga (*Edaku*); II, diberi pakan standar plus glibenklamid; dan III, diberi pakan standar. Intervensi *Edaku*, glibenklamid, dan pakan standar dilakukan selama 2 minggu berturut-turut, dengan dosis 100 mg/kg BB dan 2 mg/kg BB per oral, sedangkan pakan dan air minum *ad libitum*.

Penimbangan Berat Badan, Pengambilan Sampel Darah, dan Penentuan Indeks Atherogenik

Penimbangan BB dan pengambilan sampel darah tikus dilakukan 3 kali yaitu *baseline* (saat tikus dinyatakan menderita diabetes), dilanjutkan 1 dan 2 minggu setelah intervensi. Sampel darah sebanyak 1 mL diambil melalui vena di mata kanan atau kiri, setelah tikus dianestesi menggunakan ketamin. Darah disentrifuge dengan kecepatan 3.000 rpm,

selama 10 menit. Bagian plasma dilakukan pengujian kadar kolesterol total dan HDL dengan metode enzimatik (Kayamori dan Igarashi, 1994) guna menghitung indeks atherogenik (IA). Menurut Astawan dkk. (2005) IA dihitung berdasar rumus:

$$IA = \frac{(\text{Kolesterol total} - \text{HDL})}{\text{HDL}} \dots\dots\dots (1)$$

Keterangan:

IA : Indeks Atherogenik

HDL : High Density Lipoprotein

Analisis Statistik

Data ditampilkan sebagai rata-rata±SD. Data yang diperoleh dalam penelitian ini diuji secara statistik menggunakan *one way analysis of variance* (ANOVA) dan Duncan’s Multiple Range Test (DMRT). Perbedaan signifikan diantara perlakuan ditentukan dengan tingkat kepercayaan 95%.

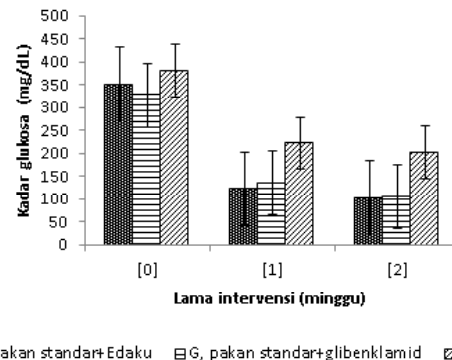
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Glukosa Darah Tikus Diabetes Induksi *Alloxan*

Dalam penelitian ini, induksi *alloxan* 120 mg/kg intra peritoneal (i.p) secara signifikan meningkatkan glukosa darah puasa tikus SD dari 110,3±26,6 menjadi 349,4±117,2 mg/dL ($P<0.05$). *Alloxan* biasa digunakan untuk membuat hewan coba hiperglikemik (Bartosikova dkk., 2003), karena senyawa kimia tersebut cepat masuk ke dalam sel β pankreas, kemudian tereduksi menjadi asam dialurat, tetapi dapat teroksidasi kembali menjadi *alloxan*. Mekanisme kerjanya dalam merusak sel β pankreas menunjukkan bahwa *alloxan* merupakan agen oksidator kuat yang menghasilkan radikal bebas dalam jumlah besar sehingga menimbulkan keadaan stres oksidatif. Dengan demikian meningkatnya kadar glukosa darah akibat pemberian *alloxan* dapat disebabkan oleh dua hal yaitu terbentuknya radikal bebas dan terganggunya permeabilitas membran sel yang mengakibatkan terjadinya kerusakan sel beta pankreas penghasil insulin. Peran insulin adalah mendorong glukosa masuk ke dalam sel untuk di metabolisme, tetapi karena sel beta rusak maka glukosa tidak dapat di metabolisme, melainkan tertumpuk di dalam darah.

Punitha dkk. (2005) menambahkan bahwa tingginya glukosa darah pada penderita diabetes, karena aktivitas enzim dalam jalur glukoneogenesis meningkat, dan secara simultan mempercepat jalur glikogenolitik dan lipolitik. Jelas bahwa proses metabolisme dalam tubuh penderita diabetes terganggu, karena aktivitas enzim jalur glikolitik dan pentosa posfat menurun, sehingga meningkatkan kadar glukosa darah. Meskipun demikian, *Edaku* terbukti menurunkan kadar glukosa dari 221,6 menjadi 122,2 mg/dL ($P<0,05$) setelah 1

minggu diberikan kepada tikus diabetes. Seminggu kemudian, kadar gulanya menurun lagi dari 199,25 menjadi menjadi 102,8 mg/dL ($P<0,05$) (Gambar 1).



Gambar 1. Efek *Edaku* terhadap kadar glukosa darah tikus diabetes induksi *alloxan*

Daun kapulaga mengandung flavonoid 129,6±6,9 mg/g ekstrak, dan vitamin C 19,22±1,1 mg/g ekstrak. Kemungkinan flavonoid dalam *Edaku* bekerja *extra-pancreatic*, mengingat kerja *alloxan* merusak sel pankreas secara efektif dan menyebabkan hiperglikemia persisten. Flavonoid merupakan senyawa kimia yang dilaporkan banyak peneliti sebagai antioksidan, antikanker, antimikrobia, antiaterosklerotik, imunomodulator, antidiabetes, dan antiinflamasi (Winarsi dkk., 2012; Middleton dkk., 2000). Flavonoid dapat menstimulir pemanfaatan glukosa perifer, dengan cara meningkatkan jalur glikolitik dan glikogenik, yang secara simultan menekan jalur glikogenolisis dan glukoneogenesis. Melalui mekanisme seperti tersebut diatas flavonoid dalam *Edaku* memungkinkan dapat mengendalikan glukosa darah, sehingga kadar glukosa darah tikus diabetes menurun.

Selain karena flavonoid, vitamin C mungkin juga ikut berperan dalam menurunkan kadar glukosa tikus diabetes. Radikal bebas merupakan salah satu penyebab patologi diabetes mellitus. Saat ini, obat hipoglikemik oral yang tersedia tidak menunjukkan perubahan nyata dalam stres oksidatif pada pasien diabetes. Karena itu perlu dicari alternatif yang dapat dikombinasikan dengan obat modern, yang tentunya yang berpotensi antioksidan.

Asam askorbat (vitamin C), antioksidan non enzimatis, berperan penting dalam melindungi kerusakan sel akibat radikal bebas. Penelitian sebelumnya melaporkan adanya penurunan kadar vitamin C dalam DM tipe 2. Vitamin C secara struktural mirip dengan glukosa, dan dapat menggantikan glukosa dalam berbagai reaksi kimia, sehingga efektif untuk pencegahan glikosilasi protein non-enzimatik (Ardekani dan Ardekani, 2007).

Hasil yang bertentangan terkait dengan suplementasi vitamin C, Sargeant dkk. (2000) menyatakan bahwa vitamin

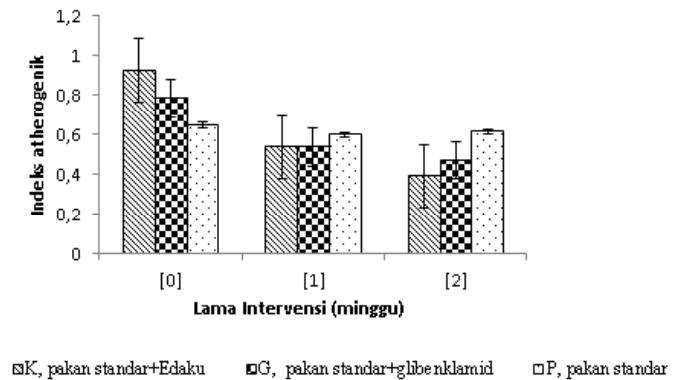
C meningkatkan kadar glukosa darah dan hemoglobin glikosilasi (HbA1c), tetapi Fadupin dkk. (2007) menemukan adanya penurunan kadar glukosa darah puasa (GDP) dan HbA1c setelah suplementasi vitamin C. Hasil penelitian ini mendukung temuan sebelumnya bahwa vitamin C memperbaiki kontrol glikemik. Mekanisme vitamin C mengubah kadar glukosa darah tidak diketahui dengan pasti. Namun yang jelas auto oksidasi glukosa, glikosilasi protein, laju pembentukan produk akhir glikasi, dan jalur poliol terlibat dalam pembentukan stres oksidatif dan etiologi DM tipe 1 dan 2. erlindungan terhadap kerusakan tersebut dilakukan oleh antioksidan sebagai radikal bebas *scavenging*. Asam askorbat kadar tinggi secara langsung dapat menghambat aldosa reduktase eritrosit, sehingga pemberian vitamin C lewat oral bermanfaat bagi penderita diabetes. Vitamin C mengurangi toksisitas glukosa yang berkontribusi mencegah penurunan massa sel β dan kadar insulin. Berkurangnya kadar glukosa darah karena vitamin C plasma berperan dalam modulasi kerja insulin pada penderita diabetes. Peningkatan kerja insulin yang dimediasi vitamin C terutama disebabkan oleh peningkatan metabolisme glukosa non-oksidatif.

Insulin merupakan hormon protein yang berinteraksi dengan reseptor sel organ target untuk meningkatkan permeabilitas membran sel terhadap glukosa, sehingga glukosa dapat masuk ke dalam sel-sel otot (disimpan sebagai glikogen), dan juga ke dalam sel jaringan lemak (disimpan sebagai trigliserida). Namun, karena sekresi insulin terganggu maka profil lipid termasuk kolesterol total dan HDL tikus diabetes juga terpengaruh, demikian pula indeks atherogenik dalam plasmanya.

Indeks Atherogenik Tikus Diabetes

Awalnya, indeks atherogenik ketiga kelompok tikus diabetes tidak berbeda ($P>0.05$), tetapi lebih tinggi dibanding indeks sebelum diinduksi *alloxan* ($P<0.05$). Artinya, bahwa induksi *alloxan* mengakibatkan tikus diabetes dan meningkatnya IA. Hormon yang berkaitan dengan kondisi diabetes adalah insulin, yaitu hormon yang berperan penting dalam proses metabolisme gula dan lemak untuk diubah menjadi energi. Dengan demikian, terganggunya sekresi dan fungsi insulin, tidak hanya mempengaruhi kadar glukosa darah, tetapi juga kolesterol dan trigliserida. Selain itu, dalam kondisi diabetes terjadi penurunan kadar HDL (Ahmed dkk., 2010), suatu bentuk kolesterol baik yang berperan membersihkan darah dari kelebihan lemak. Dengan kata lain dalam kondisi diabetes terjadi peningkatan indeks atherogenik. Kadar HDL yang rendah berpasangan dengan tingginya kadar trigliserida mampu meningkatkan pembentukan plak dalam dinding arteri, lambat laun menyumbat, hingga menyebabkan serangan jantung dan stroke. Karena itu meningkatnya IA perlu diwaspadai, dan harus segera diturunkan.

Setelah 1 minggu intervensi, IA ketiga kelompok tikus percobaan tersebut juga tidak menunjukkan perbedaan ($P>0,05$). Akan tetapi setelah 2 minggu intervensi, IA menurun dari $0,61\pm0,16$ menjadi $0,39\pm0,12$ ($P<0,05$) terjadi pada kelompok yang diberi pakan plus *Edaku*, yang ternyata tidak berbeda dengan kelompok yang diberi pakan plus glibenklamid ($P>0,05$) (Gambar 2). Artinya bahwa potensi antiatherogenik senyawa yang terdapat dalam *Edaku* sama kuatnya dengan glibenklamid.



Gambar 2. Efek *Edaku* terhadap indeks atherogenik tikus diabetes induksi aloksan.

Lipid memainkan peran penting dalam perubahan patologis pada kondisi diabetes, yang berkaitan dengan produk imun penderita. Aterosklerosis adalah penyebab utama dari penyakit jantung dan stroke. Oleh karena itu, tingginya kadar lipid darah mungkin penyebab utama terhadap perkembangan penyakit kardiovaskular.

Daun kapulaga mengandung komponen alami yang penting, termasuk asam askorbat $19,22\pm1,1$ mg/g dan flavonoid $129,6\pm6,9$ mg/g ekstrak. Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa flavonoid memiliki bermacam-macam fungsi biologis termasuk antioksidan, anti-inflamasi, antialergi, antivirus, antiproliferatif, antimutagenik dan antikarsinogenik (Winarsi dkk., 2012).

Tingginya kadar kolesterol total dan rendahnya HDL, menggambarkan tingginya indeks atherogenik. Keadaan seperti ini menjadi salah satu faktor risiko utama penyakit jantung koroner. Kondisi diabetik meningkatkan kejadian hiperlipidemia dan aterosklerosis, karena hati dan beberapa jaringan lain berpartisipasi dalam konversi hasil oksidasi dan metabolisme asam lemak, sintesis kolesterol dan fosfolipid, serta sekresi lipoprotein tertentu dalam plasma.

Menurunkan kadar lipid plasma dengan terapi obat tampaknya mengurangi risiko penyakit vaskular dan komplikasinya. Akan tetapi tidak ada obat yang benar-benar aman dan bebas dari efek samping. Oleh karena itu berbagai upaya penting dilakukan untuk mendapatkan agen yang aman dan efektif yang bermanfaat dalam memperbaiki metabolisme

lemak dan mencegah penyakit jantung. Di antara bahan alami, daun kapulaga menjanjikan sebagai komponen obat baru.

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini adalah menurunnya IA oleh *Edaku*, yang mungkin berkaitan dengan efek antioksidan vitamin C memperbaiki fungsi endothelial pembuluh darah koroner dan perifer. Menurunnya IA pada tikus diabetik yang diberi *Edaku* dapat diartikan bahwa proses aterosklerosis dapat diperlambat oleh suplementasi *Edaku*. Oleh sebab itu *Edaku* dapat dipertimbangkan sebagai suplemen pencegah penyakit jantung koroner. Kadar HDL yang rendah dalam darah meningkatkan risiko terjadinya penyakit jantung koroner, karena itu meningkatnya HDL sangat diharapkan. Studi epidemiologis juga menunjukkan bahwa tingginya HDL dapat berperan sebagai anti-atherogenesis, termasuk menghambat LDL-oksidasi (Assmann dan Nofer, 2003). Asam askorbat dan flavonoid dapat meningkatkan kadar HDL.

Flavonoid memberikan berbagai efek bermanfaat termasuk antidiabetes, antihipertensi, dan kardioprotektif. Mekanisme molekuler yang mendasari efek flavonoid belum dipahami, tetapi berdasarkan struktur kimianya, kemungkinan berkaitan dengan sifat antioksidan dan anti radikal bebas. Kebanyakan flavonoid sulit diserap, tetapi dimetabolisme secara ekstensif, dan cepat diekskresikan dari tubuh. Akibatnya, konsentrasinya dalam serum dan jaringan sangat rendah, apalagi bila ditargetkan untuk aktivitas antioksidan di jaringan perifer pasti sangat kecil. Kadarnya yang relatif tinggi dalam saluran pencernaan, menyebabkan flavonoid dapat bertindak sebagai antioksidan dan antipatogenik. Meskipun demikian, flavonoid pada kadar rendah cukup mempengaruhi aksi enzim, reseptor dan faktor-faktor transkripsi, bahkan dapat bertindak di luar saluran pencernaan *in vivo*. Semakin banyak bukti studi *in vivo* dan *in vitro* yang menunjukkan bahwa polifenol dari makanan dapat berfungsi secara sinergis, bekerja pada target yang sama ataupun berbeda.

Buah kapulaga mengandung senyawa fenolat, flavonoid, minyak volatil, dan mineral, yang berpotensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Kemungkinan dalam daun kapulaga juga mengandung senyawa yang sama meskipun dengan kuantitas yang berbeda.

Diabetes mellitus secara konsisten dicirikan dengan profil lipid abnormal dan meningkatnya indeks aterogenik. Karena itu diabetes mellitus diyakini sebagai faktor resiko utama cardiovascular diseases (CVD), seperti aterosklerosis, serangan jantung, dan stroke. *Alloxan* menginduksi diabetes dengan merusak sel pankreas pensекреksi insulin dan mengawali terjadinya hiperglikemia (Lenzen, 2008). *Alloxan* menyebabkan kerusakan dan kematian sel islet pankreas dalam hewan percobaan, menyebabkan diabetes dan menurunkan atau menghentikan sekresi insulin. Kerja sitotoksik *alloxan* ini diperantarai oleh senyawa oksigen reaktif (SOR), dimana

alloxan dan produk reduksinya (asam dialurat) memasuki siklus redoks, dan membentuk produk samping radikal superoksida. Radikal ini mengalami dismutasi menjadi H_2O_2 , kemudian radikal hidroksil yang sangat reaktif, yang terbentuk melalui reaksi Fenton. Kerja SOR simultan dengan meningkatnya kadar kalsium sitosol yang menyebabkan cepat rusaknya sel-beta.

Dosis oral *Edaku* (100 mg/kg) secara signifikan menurunkan kadar glukosa pada tikus diabetes yang diinduksi *alloxan*. Pengamatan ini sesuai dengan laporan dari Adaramoye dan Adeyemi (2006). Flavonoid *Edaku* mempromosikan masuknya glukosa ke dalam sel, menstimulasi enzim glikolitik dan enzim glikogenik, dan sebaliknya menghambat glukosa 6-fosfatase dalam hati, sehingga menurunkan glukosa dalam darah. Kemungkinan flavonoid daun kapulaga, mirip dengan naringenin, salah satu jenis flavonoid, yang terlibat dalam efek hipoglikemik *extra-hepatic*, kemudian merangsang penggunaan glukosa pada jaringan extra-hepatic, atau meningkatkan ekspresi reseptor insulin di membran plasma hati.

Diabetes juga sering berkaitan dengan meningkatnya dislipidemia. Saat awal diabetes, kolesterol, dan indeks aterogenik dari tikus yang diinduksi *alloxan* meningkat secara signifikan bila dibandingkan dengan kontrol normal, sedangkan plasma HDL-kolesterol tikus diabetes secara signifikan berkurang bila dibandingkan dengan kontrol normal (Ahmed dkk., 2010). Konsentrasi lipid serum yang tinggi ini terutama disebabkan oleh bertambahnya mobilisasi asam lemak bebas dari jaringan perifer, akibat aktivasi lipase yang sensitif terhadap insufisiensi insulin. Kurangnya insulin pada diabetes juga diketahui berkaitan dengan peningkatan sintesis kolesterol yang mungkin disebabkan oleh meningkatnya aktivitas HMG CoA reduktase. Resistensi insulin pada tikus diabetik dapat meningkatkan penyerapan asam lemak dari hati, yang kemudian dikeluarkan melalui lipolisis jaringan adiposa, sintesis trigliserida intrahepatic, serta produksi dan sekresi partikel VLDL, yang pada gilirannya menyebabkan kadar Trigliserid plasma meningkat.

Mekanisme yang mendasari penurunan lipid oleh *Edaku* dapat dengan cara memperlambat penyerapan lemak oleh adanya flavonoid dan vitamin C atau menghambat kolesterol esterase, aktivasi asam lemak sintase, asetil-CoA karboksilase dan produksi prekursor trigliserida, seperti asetil-CoA dan fosfat gliserol (Sharmila dkk., 2007). Mekanisme lainnya, dapat karena modulasi flavonoid. Flavonoid dari tanaman terlibat dalam berbagai pengurangan kadar lipid dengan caramenghambat HMG-CoA reduktase hati. Flavonoid menurunkan trigliserida dan kolesterol total dalam darah tikus. Penurunan kadar LDL dapat terjadi karena pengurangan pembersihan VLDL hati dan peningkatan prekursor LDL. Temuan ini menunjukkan bahwa pemberian *Edaku* secara oral

memfasilitasi metabolisme lipid dan karenanya dapat berperan sebagai *antiatherogenic*. Peningkatan HDL-kolesterol plasma dalam kelompok perlakuan tentu saja merupakan peningkatan potensi anti-atherogenisitas, yang menguntungkan, mengingat HDL-kolesterol bertanggung jawab untuk transportasi kolesterol dari jaringan perifer ke hati untuk dimetabolisme. Dengan demikian efek anti-aterogenik tersebut dimediasi oleh peningkatan HDL. HDL merupakan bagian dari efek anti-aterogenik yang menghambat teroksidasinya LDL (misalnya oksidasi oleh ion logam transisi), tetapi juga mencegah pembentukan lipid hidroperoksida. Oleh karena itu tepat, bahwa penggunaan *Edaku* berpotensi *antiatherogenic* yang kuat, dan karenanya dapat berperan *cardioprotective* dan mengurangi risiko PJK pada tikus diabetes mellitus.

Berat Badan Tikus Diabetes

Sebanyak 45 tikus yang telah dipuaskan diinduksi *alloxan* monohidrat, yang lebih dahulu dilarutkan dalam larutan garam fisiologis, dengan dosis 120 mg/kg berat badan, intra peritoneal. Satu minggu kemudian, tikus yang telah mengalami diabetes dengan kadar glukosa darah > 200 mg/dL, berat badannya menurun dari 247,63±28,5 menjadi 220,9±26,6 g ($P < 0.05$).

Fungsi pankreas adalah memproduksi insulin untuk memproses glukosa sebagai sumber energi. Penderita diabetes, pankreasnya gagal mengubah glukosa menjadi energi, akibatnya terjadi resistensi insulin. Namun demikian, karena tubuh memerlukan energi maka sebagai alternatifnya adalah memecah lemak untuk menjadi energi. Bila energi tidak mencukupi, maka protein otot dipecah, sehingga lama-lama berat badan menurun. Dengan demikian jelas, bahwa tikus diabetes disertai penurunan berat badan, karena pankreasnya rusak.

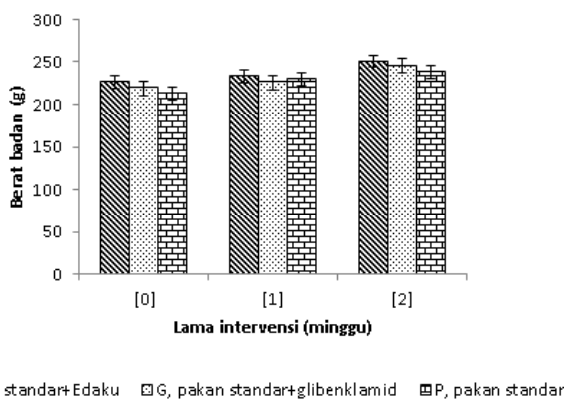
Hasil penelitian ini mendukung Adeyi dkk. (2012) yang melaporkan bahwa rata-rata berat badan tikus yang diinjeksi *alloxan* monohidrat, intraperitoneal, terjadi nekrosis di pulau Langerhans pankreas, sehingga mempengaruhi metabolisme

glukosanya. Kemungkinan kondisi tersebut yang bertanggung jawab terhadap turunnya berat badan. Namun demikian *Edaku* dapat mempertahankan BB tikus diabetes yang telah diberikannya selama 2 minggu ($P > 0.05$) (Gambar 3). Hal ini membuktikan bahwa *Edaku* mampu mengendalikan BB, sehingga penurunan BB tidak terjadi terus menerus.

Beberapa penelitian dengan subyek manusia dan hewan melaporkan bahwa flavonoid bermanfaat untuk mengendalikan berat badan. Nakagawa dkk. (2004) menjelaskan bahwa flavonoid dalam licorice merangsang terjadinya diferensiasi sel adiposa manusia *in vitro*. Hasil ini membuktikan bahwa flavonoid dapat memberikan efek hipoglikemik abdomen, melalui aktivasi peroxisome proliferator-activated receptor- γ (PPAR- γ). Kemungkinan kerja flavonoid *up-regulated* enzim beta-oksidasi dan *down-regulated* enzim sintesis asam lemak. Flavonoid mengatur metabolisme lipid yang berkaitan dengan ekspresi gen dalam hepar, sehingga secara signifikan menurunkan berat badan.

Selain flavonoid, didalam *Edaku* terkandung Vitamin C cukup tinggi yaitu 19,22±1.1 mg/g ekstrak. Vitamin C adalah kofaktor dalam reaksi hidrosilasi yang berfungsi dalam biosintesis kolagen dan komplemen komponen C1q (De Luna dkk., 2003). Kadar vitamin C dalam plasma berbanding terbalik dengan *Body Mass Index* (BMI), persentase lemak tubuh, dan lingkar pinggang pada perempuan dan laki-laki. Schectman dkk. (1989) mencatat adanya hubungan terbalik yang signifikan antara BMI dan kadar vitamin C plasma pada 11.592 peserta NHANES II. Obesitas abdominal, yang diukur pada lingkar pinggang-pinggul juga berbanding terbalik dengan kadar vitamin C plasma 19.000 orang dewasa yang berpartisipasi dalam *The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Norfolk cohort study* (Canoy dkk., 2005). Demikian pula yang terjadi selama olahraga *moderate*, oksidasi lemak berkurang secara signifikan pada individu dengan keterbatasan vitamin C plasma, dibandingkan dengan individu dengan vitamin C plasma yang memadai. Namun, tidak diketahui penurunan adipositas tersebut karena kadar vitamin C meningkat, perbedaan diet, atau karena akumulasi lipid didalam sel adiposa.

Vitamin C juga merupakan kofaktor yang diperlukan untuk biosintesis karnitin, suatu metabolit yang diperlukan untuk mengangkut asam lemak rantai panjang melintasi membran mitokondria, untuk degradasi dan oksidasi lemak. Defisiensi karnitin berkaitan dengan menurunnya oksidasi lemak, dan menyebabkan lemak terakumulasi dalam otot. Karnitin otot berkurang secara substansial dengan menipisnya kadar vitamin C. Dengan demikian, berkurangnya karnitin otot yang berkaitan dengan berkurangnya kadar vitamin C, dapat menghambat oksidasi lemak, yang pada akhirnya berkontribusi terhadap obesitas pada beberapa individu.



Gambar 3. Efek *Edaku* terhadap berat badan tikus diabetes induksi aloksan.

KESIMPULAN

Ekstrak daun kapulaga dapat mengendalikan kadar glukosa darah dan berat badan. Ekstrak daun kapulaga juga terbukti berpotensi sebagai antiatherogenik pada tikus diabetes. Dengan demikian daun kapulaga memungkinkan sebagai komponen pangan fungsional yang bermanfaat sebagai antidiabetes, antiaterogenik, dan antiobesitas.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, yang telah membiayai penelitian ini dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penugasan Penelitian Prioritas Nasional MP3EI Nomor: 229/SP2H/PL/Dit. Litabmas/V/2012, Tanggal 23 Mei 2012.

DAFTAR PUSTAKA

- Adaramoye, O.A. dan Adeyemi E.O. (2006). Hypoglycemic and hypolipidemic effects of fractins from kolarvim, a biflavonoid from *Garcinia kola* in STZ diabetes mellitus rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **32**: 40-45.
- Adeyi, A.O., Idowu, B.A., Mafiana, C.F., Oluwalana, S.A., Ajayi, O.L. dan Akinloye, O.A. (2012). Rat model of food-induced non-obese-type 2 diabetes mellitus: comparative pathophysiology and histopathology. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology* **4**: 51-58.
- Ahmed, O.M., Moneim A.A., Yazid, I.A. dan Mahmoud, A.M. (2010). Antihyperglycaemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects and the probable mechanisms of action of *Ruta Graveolens* infusion and rutin in Nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetologia Croatica* **39**: 15-35.
- Al Bataina, B.A., Maslat, A.O. dan Al Kofahil, M.M. (2003). Element analysis and biological studies on ten oriental spices using XRF and Ames test. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **17**: 85-90.
- Ansell, B.J., Fonarow, G.C. dan Fogelman, A.M. (2007). The paradox of dysfunctional high-density lipoprotein. *Current Opinion in Lipidology* **18**: 427-134.
- Ardekani, M.A. dan Ardekani, A.S. (2007). Effect of vitamin C on blood glucose, serum lipids and serum insulin in type II diabetes patients. *Indian Journal of Medical Research* **126**: 471-474.
- Assmann, G. dan Nofer, J. (2003). Atheroprotective effects of high-density lipoproteins. *The Annual Review of Medicine* **54**: 321-341.
- Astawan, M., Wresdiyati, T. dan Hartanta, A.B. (2005). Pemanfaatan rumput laut sebagai sumber serat pangan untuk menurunkan kolesterol darah tikus. *Hayati* **12**: 23-27.
- Bartosikova, L., Nieces, J., Succhy, V., Kubinov, R., Vesala, D. dan Benes, L. (2003). Monitoring of antioxidative effect of *morine* in *alloxan*-induced diabetes mellitus in the laboratory rat. *Acta Veterinaria Brno* **72**: 191-200.
- Canoy, D., Wareham, N., Welch, A., Bingham, S., Luben, R., Day, N. dan Khaw, K.T. (2005). Plasma ascorbic acid concentrations and fat distribution in 19,068 British men and women in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Norfolk cohort study. *The American Journal of Clinical Nutrition* **82**: 1203-1209.
- De Luna, R.H., Judson Colley, B., Smith, K., Divers, S.G., Rinehart, J. dan Marques, M.B. (2003). Scurvy: an often forgotten cause of bleeding. *American Journal of Hematology* **73**: 85-87.
- Fadupin, G.T., Akpoghor, A.U. dan Okunade, K.A. (2007). A comparative study of serum ascorbic acid level in people with and without type 2 diabetes in Ibadan, Nigeria. *African Journal of Medicine and Medical Sciences* **36**: 335-339.
- Kayamori, F. dan Igarashi, K. (1994). Effects of dietary nasunin on the serum cholesterol level in rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **58**: 570-571.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of *alloxan* and streptozotocin induced diabetes. *Diabetologia* **51**: 216-226.
- Middleton, E.Jr., Kandaswami, C. dan Theoharides, T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews* **52**: 673-751.
- Muruganandan, S., Srinivasan, K., Gupta, S., Gupta, P.K. dan Lal, J. (2005). Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* **97**: 497-501.
- Nair, S., Nagar, R. dan Gupta, R. (1998). Antioxidant phenolics and flavonoids in common Indian foods. *Journal of the Association of Physicians of India* **46**: 708-710.
- Nakagawa, K., Kishida H., Arai, N., Nishiyama, T. dan Mae, T. (2004). Licorice flavonoids suppress abdominal fat accumulation and increase in blood glucose level in obese diabetic KK-A(y) mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* **27**: 1775-1778.

- Punitha, I.S., Rajendran, K., Shirwaikar, A. dan Shirwaikar, A. (2005). Alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* regulates carbohydrate metabolism and improves antioxidant status in streptozotocinnicotinamide induced diabetic rats. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* **2**: 375-381.
- Sargeant, L.A., Wareham, N.J., Bingham, S., Day, N.E., Luben, R.N., Oakes, S., Welch, A. dan Khaw, K.T. (2000). Vitamin C and hyperglycemia in the European prospective investigation into cancer-Norfolk (EPIC-Norfolk) study: a population based study. *Diabetes Care* **23**: 726-732.
- Sharmila, B.G., Kumar, G. dan Pandian, M.R. (2007). Cholesterol lowering activity of the aqueous fruit extracts of *Trichosanthes dioica roxb* (L.) in normal and STZ diabetic rats. *Journal of Clinical and Diagnostic Research* **1**: 561-569.
- Winarsi, H. dan Purwanto, A. (2010). Soy germed protein plus Zn as an inducer insulin secretion on type-2 diabetes mellitus. *Hayati Journal of Biosciences* **17**: 120-124.
- Winarsi, H., Purwanto, A. dan Dwiyantri, H. (2010). Aktivitas Glutation Peroksidase (GSH-PX) wanita penderita diabetes melitus tipe-2 yang mendapat suplementasi susu kaya protein kecambah kedelai plus Zn. Prosiding Seminar Nasional Hari Lingkungan Hidup se Dunia 2010. Purwokerto, 12 Juni 2010.
- Winarsi, H., Sasongko, N.D., Purwanto, A., Arinton, I.G. dan Nuraeni I. (2012). In vitro antioxidant activity of the stem and leaves *Amomum cardamomum* extracts. *International Conference on Medicinal Plants 2012*. Purwokerto, 11-13 Oct 2012.
- Winarsi, H., Sasongko, N.D., Purwanto, A. dan Nuraeni, I. (2013). Cardomum leaves extract reduced oxidative stress level in plasma alloxan-induced diabetic rats. Proceeding of 13th Asean Food Conference, 9-11 September 2013, Singapore.