

Masagus Mhd. Tibrani/Kadar Insulin Plasma...

KADAR INSULIN PLASMA MENCIT YANG DIKONDISIKAN DIABETES MELLITUS SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK AIR DAUN NIMBA

Masagus Mhd. Tibrani

Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan MIPA
Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan
Universitas Sriwijaya

Abstrak

Diabetes Mellitus (DM) atau kencing manis adalah penyakit kronis yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah akibat dari kurangnya insulin atau tubuh tidak mampu menggunakan insulin. Salah satu tanaman obat yang berpotensi untuk menurunkan kadar glukosa darah penderita DM adalah nimba (*Azadiractha indica* A.Juss). Pengujian pengaruh ekstrak air daun nimba terhadap insulin yang berperan dalam penurunan kadar glukosa darah belum dilakukan. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh ekstrak air daun nimba dan dosis yang paling efektif terhadap kadar glukosa darah, berat badan, dan kadar insulin plasma mencit jantan yang dikondisikan DM.

Perlakuan yang diberikan terdiri dari dua kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan ekstrak air daun nimba. Kelompok kontrol terdiri dari kontrol negatif (DM tanpa perlakuan apapun) dan kontrol obat (DM dengan pemberian metformin 195 mg/kg berat badan). Kelompok perlakuan ekstrak air daun nimba terdiri dari tiga dosis perlakuan, yaitu 65 mg/kg berat badan (P1), 159 mg/kg berat badan (P2), dan 390 mg/kg berat badan (P3). Dalam penelitian ini yang pertama kali dilakukan adalah membuat mencit menjadi DM dengan cara menginjeksikan mencit dengan *alloxan* 70 mg/kg berat badan secara intravena. Setelah mencit jantan menjadi DM dilakukan pengukuran kadar glukosa darah, berat badan, dan kadar insulin plasma terhadap semua kelompok uji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dosis ekstrak air daun nimba P1, P2, P3 menurunkan kadar glukosa darah, serta cenderung meningkatkan berat badan dan kadar insulin plasma. Diduga senyawa aktif ekstrak air daun nimba berperan sebagai antioksidan yang dapat mencegah dan mengurangi radikal bebas sehingga meningkatkan sensitifitas reseptor insulin dan mengakibatkan glukosa dapat diambil oleh sel untuk dimetabolisme. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak air daun nimba berpengaruh terhadap kadar glukosa, berat badan dan kadar insulin plasma dengan dosis P3 merupakan dosis yang paling efektif.

Kata kunci : Diabetes Mellitus, Nimba, Kadar Insulin Plasma, Kadar Glukosa Darah

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) atau kencing manis adalah penyakit kronis yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah akibat dari sedikitnya insulin atau tubuh tidak mampu menggunakan insulin (Majeed & Prakash., 2005). Gejala yang sering timbul akibat penyakit ini adalah mudah haus, mudah lapar, buang air kecil lebih sering, dan berat badan menurun. Komplikasi yang timbul akibat DM di antaranya adalah gangguan pada pembuluh darah besar yang dapat menyebabkan kerusakan jantung, otak, dan kaki, serta pada pembuluh darah kecil yang dapat menyebabkan kerusakan ginjal, mata, dan saraf (Utami, 2004).

Kondisi DM dapat diinduksi pada hewan model dengan cara pemberian zat kimia sebagai induktor DM (diabetogen). Diabetogen yang sering digunakan adalah *alloxan* karena dapat menghasilkan DM dalam waktu dua sampai tiga hari. *Alloxan* secara selektif merusak sel β pankreas dan menurunkan sensitifitas sel-sel yang memiliki reseptor insulin, seperti sel hati, sel otot, sel adiposa (Malaisse *et al.*, 1982).

Di Indonesia, DM menempati posisi ke lima sebagai penyebab kematian (Anonim, 2007a). Upaya untuk mengatasi penyakit DM memerlukan biaya yang cukup besar, sehingga seringkali penderita DM di Indonesia menggunakan pengobatan alternatif seperti jamu yang berpotensi sebagai obat anti-DM. Salah satu tanaman obat yang berpotensi untuk menurunkan kadar glukosa darah penderita DM adalah nimba (*Azadirachta indica* A.Juss). Di India, nimba digunakan sebagai ramuan dalam pengobatan DM (Biswas *et al.*, 2002). Di Indonesia nimba sering digunakan sebagai obat penambah nafsu makan, obat borok, antibakteri, disentri, dan malaria (Anonim, 2005), dan akhir-akhir ini nimba juga sering digunakan sebagai obat DM (Anonim, 2007b).

Bagian tanaman nimba yang sering digunakan dalam penelitian untuk pengobatan DM adalah daunnya. Berdasarkan hasil penelitian yang menggunakan daun nimba, senyawa aktif azadirachtin yang digunakan untuk pestisida tidak ditemukan pada bagian daun bila diekstraksi dengan air maupun etanol. Dengan demikian penggunaan ekstrak daun nimba sebagai bahan obat anti-DM aman bila dibandingkan dengan ekstrak bagian lain dari tanaman nimba (Lapu, 2000).

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa ekstrak air daun nimba memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah tikus (Hussain, 2002; Habib *et al.*, 2005; Mahdi *et al.*, 2003). Penelitian menggunakan ekstrak air daun nimba pada tikus kondisi DM telah banyak dilakukan, namun penelitian terhadap mencit kondisi DM masih sedikit. Artadana (2006) menyatakan bahwa penggunaan ekstrak air daun nimba dengan dosis 70, 140, 280, dan 540 mg/kg berat badan pada mencit normal selama 30 hari cenderung menurunkan kadar glukosa darah.

Pengujian ekstrak daun nimba terhadap sekresi insulin yang berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah secara *in vitro* dilakukan oleh Chattopadhyay (1999), namun secara *in vivo* hingga saat ini belum pernah dilakukan. Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak air daun nimba dan dosis yang paling efektif terhadap kadar glukosa darah, berat badan, dan kadar insulin plasma mencit jantan galur Swiss Webster yang dikondisikan DM.

METODE PENELITIAN

Pembuatan ekstrak air daun nimba kering

Ekstrak air daun nimba kering dibuat dari perendaman simplisia dengan aquades pada suhu 50°C – 60°C selama satu jam, setelah 24 jam hasilnya dipisahkan antara filtrat (cairan) dan residunya (sisa simplisia). Residu yang diperoleh kemudian dimaserasi dengan aquades dan filtrat yang dihasilkan dikentalkan dengan rotavapor evaporator. Ekstrak kental yang diperoleh dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C dan diperoleh ekstrak air daun nimba kering, selanjutnya dari ekstrak kering ini dibuat larutan induk yang akan diencerkan menjadi dosis-dosis perlakuan.

Pembuatan mencit jantan menjadi DM

Pembuatan mencit menjadi kondisi DM dimulai dengan memuaskan 60 ekor mencit jantan selama ± 18 jam, selanjutnya mencit diukur kadar glukosa darah dan berat badannya, serta diambil sampel darahnya untuk pengukuran kadar insulin plasma. Dua jam berikutnya (setelah luka pada ekor mengering) mencit disuntik dengan larutan *alloxan tetrahydrat* 70 mg/kg berat badan secara intravena pada bagian ekor, kemudian mencit diberi makan dan dibiarkan di kandang selama dua hari. Di hari ketiga, setelah mencit dipuaskan ± 18 jam kadar glukosa darah dan berat badan diukur kembali. Hasil pengukuran kadar glukosa darah menunjukkan bahwa mencit telah terkondisi menjadi DM tipe 2. Pada kondisi DM ini, sampel darah mencit diambil kembali untuk pengukuran kadar insulin plasma.

Perlakuan ekstrak air daun nimba

Perlakuan ekstrak air daun nimba pada penelitian ini dilakukan setelah mencit kondisi DM dikelompokkan secara acak menjadi lima kelompok perlakuan dengan lima ulangan, yaitu dua kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan ekstrak air daun nimba. Kelompok kontrol terdiri dari kontrol negatif (tanpa perlakuan apapun) dan kontrol obat anti-DM (metformin 195 mg/kg berat badan). Kelompok perlakuan ekstrak air daun nimba terdiri dari 65 mg/kg berat badan (P1), 159 mg/kg berat badan (P2) dan 390 mg/kg berat badan (P3). Perlakuan ekstrak air daun nimba dan metformin dilakukan menggunakan teknik oral gavage setiap hari selama 31 hari. Selama

perlakuan mencit diberi makan dan minum secara *ad libitum*. Di akhir pengamatan, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah, berat badan, dan kadar insulin plasma.

Pengukuran kadar glukosa darah dan berat badan

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan setelah mencit dipuaskan selama ± 18 jam menggunakan alat *glucometer*. Pengambilan sampel darah untuk pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan melukai vena ekor mencit, kemudian darah yang keluar dari ekor mencit diteteskan pada *stripe* yang sudah terpasang pada *glucometer*. Dalam waktu lima detik, *glucometer* akan menunjukkan kadar glukosa yang terkandung dalam sampel darah. Selain kadar glukosa darah, juga dilakukan pengukuran berat badan mencit dengan menggunakan timbangan elektronik.

Pengukuran kadar insulin plasma

Pengukuran kadar insulin plasma dari sampel darah yang telah diambil sebelumnya dilakukan setelah akhir pengamatan menggunakan *mouse insulin ELISA kit* dan alat *microplate reader*. Sampel darah untuk pengukuran kadar insulin plasma diambil dari vena mata mencit dengan menggunakan pipet Pasteur setelah 1,5 jam mencit diberi makan. Sampel darah yang diperoleh disentrifuga pada suhu 4°C dengan kecepatan 3000xg selama 10 menit dan diperoleh sampel plasma yang mengandung insulin (antigen). Kemudian sampel plasma tersebut direaksikan dengan *monoclonal anti-mouse insulin* (antibodi) yang telah dilapisi pada dasar sumur-sumur *microplate* dan *reagents* yang tersedia dalam *mouse insulin ELISA kit*. Setelah melalui beberapa reaksi tersebut, sampel tersebut diukur dengan alat *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm..

Analisa Data

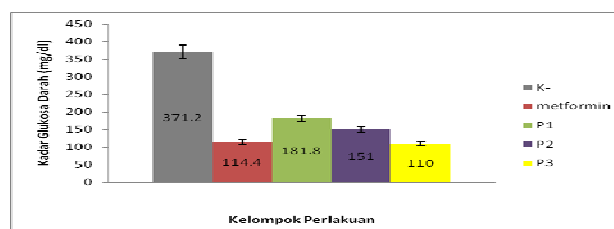
Data hasil pengukuran kadar glukosa darah, berat badan, dan kadar insulin plasma dianalisis dengan analisis variansi (anova) satu arah menggunakan program SPSS versi 13.0.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar glukosa darah

Berdasarkan hasil pengukuran kadar glukosa darah mencit sebelum dan setelah pemberian *alloxan*, rata-rata kadar glukosa darah mencit sebelum pemberian *alloxan* ($\pm 75,6$ mg/dl) masih dalam kisaran normalnya, yaitu 60 – 130 mg/dl (Dodge, 2001), sedangkan rata-rata kadar glukosa darah mencit setelah pemberian *alloxan* meningkat ($\pm 240, 8$). Peningkatan tersebut memenuhi kriteria DM tipe 2 dengan kisaran kadar glukosa darah 200-349 mg/dl (Alarcon-aguilar *et al.*, 2002). Dengan demikian terbukti pemberian *alloxan* dari kondisi sebelum DM meningkatkan kadar glukosa darah.

Hasil pengujian pengaruh pemberian ekstrak air daun nimba terhadap kadar glukosa darah mencit kondisi DM dengan dosis 0 mg/kg berat badan (K-), metformin 195 mg/kg berat badan, nimba 65 mg/kg berat badan (P1), 159 mg/kg berat badan (P2), dan 390 mg/kg berat badan (P3) selama satu bulan, menunjukkan bahwa ekstrak air daun nimba berpengaruh terhadap kadar glukosa darah mencit kondisi DM. Rata-rata dan hasil analisis statistik kadar glukosa darah mencit kondisi DM setelah pengamatan selama satu bulan dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Histogram rata-rata kadar glukosa darah mencit kondisi DM setelah pengamatan selama satu bulan.

Gambar 1 menunjukkan bahwa kadar glukosa darah mencit setelah diberi perlakuan ekstrak air daun nimba selama satu bulan mengalami perbedaan. Rata-rata kadar glukosa darah mencit kelompok K- lebih besar dari kelompok perlakuan metformin dan ekstrak air daun nimba (P1, P2, P3). Rata-rata kadar glukosa darah mencit kelompok K- ini menunjukkan bahwa gangguan terhadap homeostasis glukosa terus terjadi dan kondisi DM terus berlangsung. Hal ini diduga karena pengaruh *alloxan* terhadap kerusakan sel β pankreas dan penurunan sensitifitas reseptor insulin terus terjadi. Rata-rata kadar glukosa darah mencit kelompok metformin, P1, P2, dan P3 lebih kecil dari kelompok K- menunjukkan bahwa pemberian metformin dan ekstrak air daun nimba mampu mempengaruhi homeostasis glukosa yang terganggu pada kondisi DM.

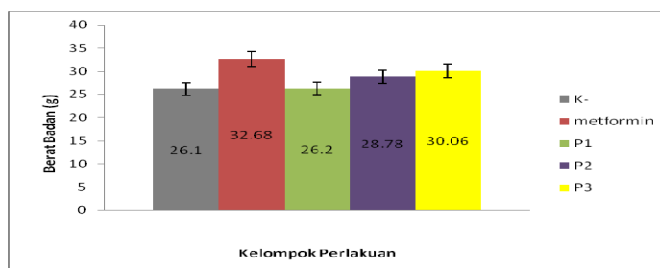
Berdasarkan hasil anova satu arah, kadar glukosa darah mencit antarkelompok perlakuan berbeda nyata ($P < 0,05$). Hal tersebut berarti bahwa pemberian obat atau ekstrak air daun nimba (P1, P2, P3) mampu menurunkan kadar glukosa darah mencit setelah dikondisikan DM yang menunjukkan bahwa metformin dan ekstrak air daun nimba (P1, P2, P3) mampu mengembalikan homeostasis glukosa yang terganggu akibat *alloxan*. Berdasarkan dosis ekstrak air daun nimba yang diberikan, setelah pengamatan selama satu bulan kelompok P3 menurunkan kadar glukosa darah sebesar 54,24 % mendekati penurunan kadar glukosa darah kelompok metformin sebesar 54,45 % Berdasarkan dosis ekstrak air daun nimba yang diberikan, setelah pengamatan selama satu bulan kelompok P3 menurunkan kadar glukosa darah sebesar 54,24 % mendekati penurunan kadar glukosa darah kelompok metformin sebesar 54,45 % . Jika dibandingkan dengan kelompok metformin maka dapat disimpulkan bahwa kelompok P3 merupakan dosis yang paling efektif dari ekstrak air daun nimba dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit kondisi DM.

Mekanisme penurunan kadar glukosa darah yang terjadi dalam penelitian ini diduga sama dengan mekanisme yang disampaikan Hussain (2002) dan Habib *et al.* (2005) yaitu senyawa aktif ekstrak air daun nimba mampu meningkatkan pengambilan glukosa oleh sel otot, adiposa, dan sel tubuh yang lain sehingga glukosa dapat digunakan.

Berat Badan

Berdasarkan hasil pengukuran berat badan mencit sebelum dan setelah pemberian *alloxan*, rata-rata berat badan mencit sebelum pemberian *alloxan* ($\pm 22,64$ g) memiliki perbedaan yang sedikit dengan rata-rata berat badan mencit setelah pemberian *alloxan* ($\pm 22,40$). Hal tersebut menunjukkan bahwa penambahan berat badan mencit mengalami hambatan akibat pemberian *alloxan*. Hambatan penambahan berat badan setelah pemberian *alloxan* (kondisi DM) terjadi karena *alloxan* mampu bersaing dengan glukosa untuk diambil oleh sel-sel yang memiliki glukoreseptor karena kemiripan strukturnya dengan glukosa (Mcletchie *et al.*, 2002). Pengambilan glukosa yang berkurang oleh sel-sel tersebut mengakibatkan cadangan energi berupa lemak dan glikogen juga berkurang sehingga penambahan berat badan tidak terjadi (Sherwood, 2004).

Berdasarkan hasil pengujian pengaruh pemberian ekstrak air daun nimba terhadap berat badan mencit kondisi DM dengan dosis 0 mg/kg berat badan (K-), metformin 195 mg/kg berat badan, nimba 65 mg/kg berat badan (P1), 159 mg/kg berat badan (P2), dan 390 mg/kg berat badan (P3) selama satu bulan, menunjukkan bahwa ekstrak air daun nimba berpengaruh terhadap berat badan mencit kondisi DM. Rata-rata berat badan mencit kondisi DM setelah pengamatan selama satu bulan dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Histogram rata-rata berat badan mencit kondisi DM setelah pengamatan selama satu bulan.

Gambar 2 menunjukkan bahwa rata-rata berat badan mencit setelah diberi perlakuan ekstrak air daun nimba selama satu bulan memiliki perbedaan. Berat badan mencit kelompok K- menunjukkan paling kecil jika dibandingkan dengan kelompok metformin dan ekstrak air daun nimba, walaupun perbedaannya sedikit. Rata-rata berat badan mencit kelompok K- ini menunjukkan bahwa hambatan penambahan berat badan tetap terjadi, sedangkan rata-rata berat badan kelompok metformin dan ekstrak air daun nimba (P1, P2, P3) menunjukkan bahwa metformin dan ekstrak air daun nimba dapat mengurangi hambatan penambahan berat badan.

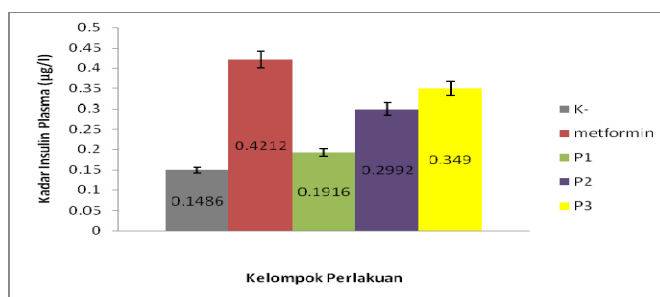
Berdasarkan hasil anova satu arah, berat badan mencit antarkelompok perlakuan berbeda tidak nyata ($P > 0,05$). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak air daun nimba cenderung untuk meningkatkan berat badan mencit kondisi DM seiring peningkatan dosis ekstrak air daun nimba. Berdasarkan dosis ekstrak air daun nimba yang diberikan, setelah pengamatan selama satu bulan kelompok P3 meningkatkan berat badan mencit sebesar 31,73% mendekati peningkatan berat badan kelompok metformin sebesar 43,71%. Jika dibandingkan dengan kelompok metformin maka dapat disimpulkan bahwa kelompok P3 merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan berat badan mencit kondisi DM.

Kecenderungan peningkatan berat badan mencit dalam penelitian ini diduga terjadi karena senyawa aktif daun nimba dapat meningkatkan pengambilan glukosa dari darah ke dalam sel otot, adiposa, dan sel-sel lainnya (Habib *et al.*, 2005). Setelah diangkut glukosa dapat diubah menjadi trigliserida (lemak) di sel hati dan sel adiposa atau menjadi glikogen di sel otot dan hati yang dapat digunakan sebagai cadangan energi (Sherwood, 2004). Diketahui dengan bertambahnya lemak dan glikogen akan mempengaruhi penambahan berat badan.

Kadar Insulin Plasma

Berdasarkan hasil pengukuran kadar insulin plasma mencit sebelum dan setelah pemberian *alloxan*, rata-rata kadar insulin plasma mencit sebelum pemberian *alloxan* ($\pm 0,50 \mu\text{g/l}$) sedangkan rata-rata kadar insulin plasma mencit setelah pemberian *alloxan* ($\pm 0,21 \mu\text{g/l}$). Rata-rata kadar insulin plasma setelah pemberian *alloxan* menunjukkan penurunan bila dibandingkan dengan sebelum pemberian *alloxan*. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian *alloxan* pada kondisi sebelum DM mempengaruhi sel β pankreas sehingga produksi dan sekresi insulin oleh sel β pankreas menjadi berkurang yang merupakan awal terbentuknya kondisi DM.

Dari hasil pengujian pengaruh pemberian ekstrak air daun nimba terhadap kadar insulin plasma mencit kondisi DM dengan dosis 0 mg/kg berat badan (K-), metformin 195 mg/kg berat badan, nimba 65 mg/kg berat badan (P1), 159 mg/kg berat badan (P2), dan 390 mg/kg berat badan (P3) selama satu bulan, menunjukkan bahwa ekstrak air daun nimba berpengaruh terhadap kadar insulin plasma mencit kondisi DM. Rata-rata kadar insulin plasma mencit kondisi DM setelah pengamatan selama satu bulan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Histogram rata-rata kadar insulin plasma mencit kondisi DM setelah pengamatan selama satu bulan.

Gambar 3 menunjukkan bahwa rata-rata kadar insulin plasma mencit kelompok perlakuan setelah diberi ekstrak air daun nimba selama satu bulan memiliki perbedaan. Rata-rata kadar insulin plasma mencit kelompok K- menunjukkan paling kecil jika dibandingkan dengan kelompok metformin dan ekstrak air daun nimba. Rata-rata kadar insulin plasma kelompok K- ini

menunjukkan bahwa sekresi insulin dari sel β pankreas terus menurun karena pengaruh *alloxan* terhadap sel tersebut masih terus terjadi. *Alloxan* dapat mempengaruhi sel β pankreas karena menghasilkan radikal bebas berupa hidrogen peroksida (H_2O_2) dan *superoxide anion* (O_2^-) seperti halnya pada penelitian Okamoto & Takasawa (2002). Rata-rata kadar insulin plasma dari kelompok metformin dan ekstrak air daun nimba (P1, P2, P3) yang meningkat menunjukkan bahwa metformin dan ekstrak air daun nimba mampu menghambat pengaruh *alloxan* pada sel β pankreas.

Berdasarkan hasil anova, kadar insulin plasma mencit antarkelompok perlakuan berbeda tidak nyata ($P>0,05$). Hal ini berarti bahwa pemberian ekstrak air daun nimba cenderung untuk meningkatkan kadar insulin plasma mencit kondisi DM seiring peningkatan dosis. Dari dosis ekstrak air daun nimba yang diberikan, setelah pengamatan selama satu bulan kelompok P3 meningkatkan berat badan mencit sebesar 69,75 % melebihi peningkatan berat badan kelompok metformin sebesar 66,48 %. Jika dibandingkan dengan kelompok metformin maka dapat disimpulkan bahwa kelompok P3 merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan berat badan mencit kondisi DM.

Kecenderungan peningkatan kadar insulin plasma dalam penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak air daun nimba mampu menghambat efek radikal bebas yang ditimbulkan oleh *alloxan* dalam mengakibatkan DM. Chattopadhyay (1999) membuktikan bahwa ekstrak daun nimba sebesar 25 mg/ml dapat mempengaruhi pelepasan insulin dari pankreas karena perannya sebagai antioksidan. Oleh sebab itu, berdasarkan hasil penelitian ini kecenderungan peningkatan kadar insulin plasma diduga terjadi bukan karena senyawa aktif ekstrak air daun nimba mampu meningkatkan sekresi insulin oleh sel β pankreas, tapi karena senyawa aktif ekstrak air daun nimba berperan sebagai antioksidan. Sebagai antioksidan senyawa aktif ekstrak air daun nimba menghambat efek radikal bebas yang disebabkan oleh *alloxan* sehingga sekresi insulin tidak terus menurun seperti yang terjadi pada kelompok K-.

Peranan Ekstrak Air Daun Nimba Dalam Homeostasis Glukosa

Dalam penelitian ini kondisi DM yang timbul disebabkan oleh *alloxan*. *Alloxan* dapat secara selektif bekerja merusak sel β pankreas dan menyebabkan penurunan sensitifitas reseptor pada sel yang memiliki reseptor insulin, seperti sel otot, sel adiposa, sel hati, dan sel tubuh lainnya (Malaisse *et al.*, 1982). *Alloxan* dapat dikenali oleh sel yang memiliki glukoreseptor karena kemiripan strukturnya dengan glukosa (Mcletchie *et al.*, 2002). *Alloxan* dan glukosa bersaing pada lokasi yang sama atau berdampingan pada glukoreseptor untuk bereaksi dengan gugus sulfhidril (-SH) (Wikanta *et al.*, 2000).

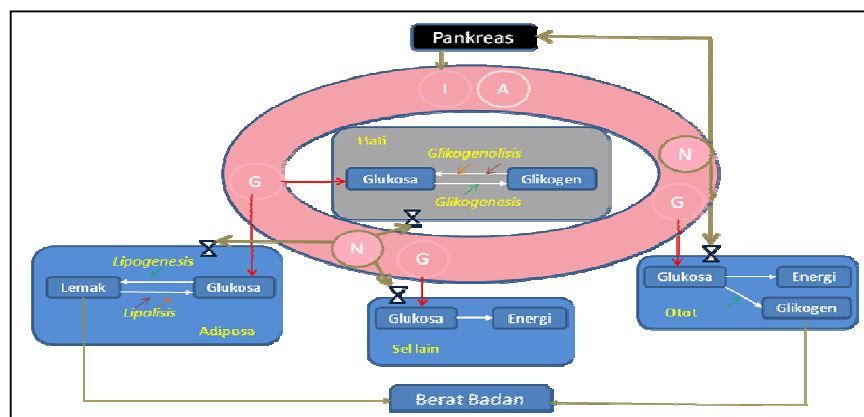
Pada sel β pankreas, reaksi *alloxan* pada gugus -SH akan menimbulkan oksidasi peptida glutathion di dalam sel dan membentuk asam dialurik yang dapat menghasilkan radikal bebas berupa hidrogen peroksida (H_2O_2) dan *Reactive Oxidative Species* (ROS) berupa *superoxide anion* (O_2^-), sehingga merusak rantai DNA sel β pankreas. Rusaknya rantai DNA sel β pankreas menyebabkan nekrosis dan mengakibatkan produksi serta sekresi insulin dari sel tersebut berkurang sehingga kadar insulin plasma menurun (Okamoto & Takasawa, 2002).

Sekresi insulin terjadi bila sel β pankreas dapat mengambil glukosa untuk glikolisis dan menghasilkan ATP. Produksi ATP akan menyebabkan menutupnya *channel* K^+ sehingga terjadi depolarisasi membran yang mengakibatkan *Channel* Ca^{2+} membuka. Pembukaan *Channel* Ca^{2+} mengakibatkan Ca^{2+} masuk ke dalam sel β pankreas yang menyebabkan granula yang berisi insulin bergerak ke membran sel tersebut dan melepaskan insulin secara eksositosis (Anonim, 2006).

Pada sel yang memiliki reseptor insulin, radikal bebas dan ROS yang dihasilkan oleh *alloxan* menyebabkan ROS lebih banyak dalam sel tersebut lebih tinggi (Evans *et al.*, 2003). ROS yang tinggi dalam sel yang memiliki reseptor insulin akan mengaktifasi berbagai jalur sinyal *serin/threonin kinase*. Jalur ini mampu memfosforilasi pada berbagai target termasuk kompleks *Insulin Receptor-Substrate 1* (IRS1) dan reseptor insulin sehingga sensitifitas reseptor insulin menurun karena fosforilasi *tyrosin kinase* oleh insulin di reseptor insulin dan IRS1 menjadi berkurang. Akibatnya *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3K) tidak dapat mengubah *phosphoinositid biphosphat* (PI(3,4)P2) menjadi *phosphoinositid triphosphat* (PI(3,4,5)P3). Hal tersebut





menyebabkan protein kinase B (PKB) tidak dapat bekerja untuk mengaktifkan GLUT-4 menuju transmembran sel sehingga glukosa tidak dapat diambil dari sirkulasi darah ke dalam sel yang memiliki reseptor insulin (Evans, 2007).

Penurunan sensitifitas reseptor insulin pada sel yang memiliki reseptor insulin dan berkurangnya sekresi insulin oleh sel β pankreas mengakibatkan kadar glukosa darah meningkat dan DM tipe 2 terjadi (Adams, 2005). Oleh sebab itu, kondisi DM dalam penelitian ini adalah DM tipe 2 yang terjadi karena adanya gangguan pada sel β pankreas oleh *alloxan* sehingga sekresi insulin ke dalam darah mengalami penurunan dari kondisi sebelum diberi *alloxan* (Gambar 4).



DM setelah perlakuan ekstrak air daun nimba.

Penyuntikan *alloxan* secara intravena dapat mempengaruhi sel β pankreas, sel hati, sel ginjal, sel usus halus atau mempengaruhi sel yang memiliki reseptor insulin seperti sel hati, sel otot, sel adiposa. *Alloxan* menimbulkan radikal bebas dan produksi *Reactive Oxidative Species* (ROS) lebih tinggi, yang dapat menyebabkan berkurangnya sekresi insulin dari sel β pankreas dan menurunnya sensitifitas reseptor insulin pada sel yang memiliki reseptor insulin sehingga terjadilah kondisi DM tipe 2. Pemberian ekstrak air daun nimba dapat menghambat dan mengurangi efek radikal bebas oleh *alloxan* sehingga sekresi insulin tetap terjadi dan meningkatkan sensitifitas reseptor insulin pada sel yang memiliki reseptor insulin. Akibatnya kadar glukosa darah menurun karena dapat diambil oleh sel tersebut untuk digunakan sebagai cadangan energi berupa lemak melalui lipogenesis dan glikogen melalui glikogenesis. Akumulasi lemak dan glikogen ini akan mengakibatkan terjadinya penambahan berat badan.

Keterangan : I () = Insulin, A = Alloxan, N = Nimba, G = Glukosa,
 = glukagon,  = Epinefrin,  = Reseptor insulin

Perlakuan dengan ekstrak air daun nimba diduga mampu berperan dalam mengembalikan homeostasis glukosa yang terganggu akibat DM tipe 2 dengan menurunkan kadar glukosa darah dan cenderung meningkatkan kadar insulin plasma serta berat badan. Senyawa aktif ekstrak air daun nimba yang berperan dalam homeostasis glukosa darah ini belum diketahui secara jelas, namun diduga bahwa senyawa larut air itu adalah *quercetin-3-O-rutinoside* (Rutin / Vitamin P). Senyawa aktif ini berperan sebagai antioksidan yang dapat mencegah dan mengurangi radikal bebas dengan cara bereaksi langsung pada radikal bebas tersebut (Chatopadhyay *et al.*, 2005).

Pada sel β pankreas, diduga penghambatan radikal bebas akibat *alloxan* oleh senyawa aktif ekstrak air daun nimba mengakibatkan sekresi insulin tetap terjadi sehingga kadar insulin plasma dalam penelitian ini cenderung meningkat (Gambar 3). Selain itu, pada sel yang memiliki reseptor insulin, juga diduga bahwa penghambatan radikal bebas oleh senyawa aktif ekstrak air daun nimbi menyebabkan komunikasi dalam sel untuk aktivasi dan sensitifitas reseptor insulin meningkat sehingga GLUT-4 dapat berfungsi mengangkut glukosa dari sirkulasi darah ke dalam sel dan kadar glukosa dalam darah menurun (Gambar 1).

Glukosa darah yang diangkut akan mengalami metabolisme di dalam sel menjadi cadangan energi berupa glikogen di sel hati dan otot melalui proses glikogenesis serta menjadi lemak di sel adiposa melalui proses lipogenesis. Penambahan cadangan energi ini akan mengakibatkan terjadinya penambahan berat badan (Sherwood, 2004). Berdasarkan pembahasan di atas, ekstrak air daun nimba sebagai antioksidan mampu menghambat dan mengurangi pengaruh radikal bebas yang dihasilkan oleh *alloxan*. Pada sel β pankreas, sebagai antioksidan ekstrak air daun nimba cenderung meningkatkan sekresi insulin. Pada sel yang memiliki reseptor insulin, sebagai antioksidan ekstrak air daun nimba juga mampu mengaktifkan dan meningkatkan sensitivitas reseptor terhadap insulin sehingga menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan berat badan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak air daun nimba berpengaruh menurunkan kadar glukosa darah, serta cenderung meningkatkan berat badan dan kadar insulin plasma. Bila dibandingkan dengan kelompok metformin, dosis P3 (nimba 390 mg/kg BB) merupakan dosis yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah serta meningkatkan berat badan dan kadar insulin plasma

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, M. 2005. White flour contains diabetes-causing contaminant alloxan. Organic Consumers Association. www.newstarget.com/008191.htm
- Alarcon-Aguilar, F. J. Roman-Ramos, R. Flores-Saenz, J. L. & Aguirre-Garcia, F. 2002. Investigation on the hypoglycemic effect of extracts of four Mexican medicinal plants in normal and alloxan-diabetic mice. *Phytotherapy Research*, 16, 383-386
- Anonim. 2005. Tanaman obat Indonesia. BPPT dan Ristek. www.IPTEKnet.com
- Anonim. 2006. Blood glucose and diabetes. www.mfi.ku.dk/ppaulev/chapter27/kap%2027.htm.
- Anonim. 2007a. Diabetes sebabkan kematian lebih banyak ketimbang AIDS. <http://menkokesra.go.id/content/view/1118/39>
- Anonim. 2007b. Herbal untuk gairah dan potensi seksual. www.kompascyber media.com
- Artadana, I. B. M. 2006. Pengaruh ekstrak air daun nimba (*Azadiracta indica* A. juss) terhadap kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus* L.). *Skripsi*. Institut Teknologi Bandung
- Biswas, K., Chattopadhyay, I., Banerjee, R.K. & Bandyopadhyay, U. 2002. Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadiractha indica*). *Current Science*, 82(11), 1336-1345
- Chattopadhyay, R.R. 1999. Possible mechanisms of antihyperglycemic effect of *Azadirachta indica* leaf extract : Part V. *Journal of Ethnopharmacology*, 67, 373-376
- Chattopadhyay, R.R. & Bandyopadhyay, M. 2005. Possible mechanism of hepatoprotective activity of *Azadirachta indica* leaf extract against paracetamol induced hepato damage in rat : part III. *Indian J Pharmacol*, 37(3), 184-185
- Dodge, I. 2001. What is the normal blood glucose level of rat/white mouse?, www.MadSci.Network:zoology

- Evans, J. L., Goldfine, I. D., Maddux, B. A. & Grodsky, G. M. 2003. Oxidative stress-activated signaling pathway mediators of insulin resistance and β cells disfunctions ?. *Diabetes*, 52(1), 1-8
- Evans, J. L. 2007. Antioxidant : do they have a role in the treatment of insulin resistance ?. *Indian J Med Res*, 125, 355-372
- Habib, M.Y., Islam, M.S., Awal, M. A., & Khan, M.A. 2005. Herbal products : A novel approach for diabetic patients. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(1), 17-21
- Hadley, M. E. 2000. *Endocrinology*. 5th ed. Prentice Hall International. Inc USA.
- Hussain, H.E.M.A. 2002. Reversal of diabetic retinopathy in streptozotocin induced diabetic rats using traditional Indian anti-diabetic plant, *Azadirachta indica* (L). *Indian journal of Clinical Biochemistry*, 17(2), 115-123.
- Lapu, P. 2000. Pengaruh ekstrak daun nimba (*Azadirachta indica* A. juss) terhadap pertumbuhan bakteri pathogen *Vibrio alginolyticus* (in vitro) dan larva udang windu (*Penaeus monodon*). *Tesis magister* . Institut Teknologi Bandung
- Mahdi, A. A., Chandra, A., Singh, RK., Shukla, S., Mishra, LC. & Ahmad, S. 2003. Effect of herbal Hypoglycemic agent of oxidative stress and antioxidant status in diabetic rats. *Indian journal of clinical biochemistry*, 18 (2), 8-15
- Majeed, M. & Prakash, L. 2005. Diabetes Management: The therapeutic Role of Ayuverdic Herbs, Article. www.drmajeed.com/articles.html
- Malaisse, W. J., Malaisse-Lagae, F., Sener, A. & Pipeleers, D. G. 1982. Determinants of the selective toxicity of alloxan to pancreatic B cell. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 79, 927-930
- Mcletchie, N. G. B. 2002. History Alloxan Diabetes A. discovery Albeit a minor one. *J. R. Coll Physicians Edindb*, 32, 134-142
- Okamoto, H. & Takasawa, S. 2002. Recent advances in the okamoto model : The Cd38 cyclic ADP-Ribose signal system and the regenerating gene protein (Reg)-Reg receptor system in β -cells. *Diabetes*, 51(3), 462-473
- Sherwood, L. 2004. *Human physiology : from cells to systems*. 5th ed. Thomson learning, Inc. Brooks
- Utami, P. 2004. *Tanaman Obat Untuk Mengatasi DM*. Agromedia Pustaka. Jakarta
- Wikanta, T., Khaerani & Lestari. 2000. Pengaruh pemberian natrium alginat terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*, 8(6), 15-20