

TEKNIK KROMATOGRAFI KOLOM VAKUM UNTUK PEMURNIAN SENYAWA ANTI-HIPERGLIKEMIK PADA TANAMAN JUWET (*EUGENIA CUMINI*): TANAMAN OBAT TRADISIONAL SUKU SASAK LOMBOK

Sukib*¹ dan Kusmiyati*²

(1) Progd. Kimia FMIPA Unram, Jl. Majapahit No. 62 Mataram (0370) 628406

(2). Progd. Pend. Biologi, FKIP Unram, Jl. Majapahit No. 62 Mataram (0370) 623873

Abstrak : Telah dilakukan penelitian tentang penerapan teknik kromatografi kolom vakum untuk pemisahan senyawa anti-hiperqlikemik dalam ekstrak metanol kulit kayu juwet *Eugenia cumini*. Kondisi pemisahan optimum: fasa pendukung/adsorben silikagel G₆₀ (63-200 mm), F = 3,5 cm, l = 30 cm, laju alir 1 ml per menit, dan komposisi eluen Et-OAc:Me-OH (5 : 5). Penentuan aktivitas anti-hipeqlikemik dilakukan dengan menggunakan mencit normal dan diabetes induksi aloksan 50 mg/kg bb, yang terbagi menjadi 3 kelompok, kontrol, pelakuan ekstrak/fraksi, dan obat standar metformin. Sampel darah diambil pada hari ke - 0, 1, 2, 4, 6, 8, dan 10 sesaat setelah 1 jam perlakuan. Kadar glukosa darah ditentukan dengan metode orto-toluidin. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa persentase penurunan kadar glukosa darah mencit setelah 8 hari perlakuan adalah: untuk kontrol normal 0%, kontrol diabetes 4%. Untuk perlakuan ekstrak dengan dosis 300 mg/kg terhadap mencit diabetes terjadi penurunan kadar glukosa darah masing-masing: heksana 9%, DCM 18%, Me-OH 38%. Untuk perlakuan fraksi Et-OAc:Me-OH (5 : 5) dengan dosis 50 mg/kg bb terjadi penurunan sebesar 34%, dan untuk obat pembanding metformin (5mg/kg) sebesar 42%. Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa ekstrak metanol dari kulit kayu juwet dan fraksi Et-OAc – Me-OH yang diisolasi dengan teknik kromatografi kolom vakum memiliki aktivitas anti-hiperqlikemik. Penurunan kadar glukosa darah mencit diabetes memerlukan waktu sampai 8 hari

Kata kunci : Kromatografi kolom vakum, Juwet, Anti-hiperqlikemik, Glukosa Darah

VACUUM COLUMN CHROMATOGRAPHIC TECHNIQUE FOR SEPARATION OF ANTI-HYPERGLYCEMIC COMPOUND ON JUWET (*EUGENIA CUMINI*). TRADITIONAL MEDICINAL PLANT IN SASAK TRIBE LOMBOK

Abstract : Vacuum column chromatography technique has been developed for separation anti-hyper-glycemic compound on methanol extract from juwet *Eugenia cumini* barks. Optimum condition this method are: the adsorbent is silica Gel G₆₀ (63-200 mm), F = 3,5 cm, l = 30 cm, elution time 1 ml menit⁻¹, and solvent system Et-OAc:Me-OH (5 : 5). Normal and alloxan induced diabetic rats were undertaken to evaluated anti-hyperglycemic activity and divided in to three groups, control, extract/fraction, and standar drug metformin. Blood samples were collected one hour after administration on the day 0, 1, 2, 4, 6, 8, and 10. Blood glucose level was determined by the ortho-toluidine method. Treatment with the extract and fraction was isolated from methanol extract resulted in reduction in blood glucose levels after 8 days: for normal control is 0%, diabetic control is 4%. For treatment with the extract at dose 300 mg/kg to diabetic groups decrease in blood glucose is 9% (extract hexane), 18% (extract dichloro-methane), 38% (extract methanol). For treatment with Et-OAc:Me-OH (5 : 5) fraction at dose 50 mg/kg decrease in blood glucose is 34%, and standard drug metformin at dose 5 mg/kg is 42%. The finding of this study indicated that the methanol extract juwet bark and Et-OAc – Me-OH (5:5) fraction was isolated from methanol extract with Vacuum column chromatography technique have anti-hyperglycemic effect. Reduction in blood glucose levels of diabetics rats happened after treatment 8 days

Key words : Vacuum column chromatography, Juwet, Anti-hyperglycemic, Blood Glucose

I. PENDAHULUAN

Penyakit diabetes dapat berakibat fatal, misalnya serangan jantung koroner, stroke, gagal ginjal, bahkan kematian [1]. Dilaporkan juga bahwa Indonesia merupakan penderita diabetes peringkat ke lima terbesar di dunia dan pada tahun 2025 diperkirakan meningkat menjadi 12 juta orang. Namun demikian sampai saat ini ketersediaan obat anti-diabetes khususnya yang berasal dalam negeri masih sedikit.

Upaya mendapatkan obat anti-diabetes yang bersumber dari tanaman telah banyak dilakukan, misalnya tanaman *Cecropia obtusifolia* [2], tanaman *Momordica charantia* [3], tanaman *Tamarindus indica* [4], tanaman *Bauhinia forficata* [5], dan tanaman *Gentiana oliveri* [6]

Tanaman juwet (*Eugenia cumini*) sering disebut duwet, jambulan atau jamblang secara tradisional terutama

di India dan China telah digunakan sebagai obat penyakit diabetes [7]. Oleh sebab itu berbagai peneliti telah meneliti aktivitas ekstrak berbagai bagian tanaman, yaitu ekstrak air bagian buah [8], ekstrak etanol daun [9], dan ekstrak air bagian biji buah [10]. Berbeda dengan di India, di Lombok penggunaan untuk obat anti-diabetes oleh Suku Sasak adalah bagian kulit kayu atau dikenal dengan nama babag juwet [11].

Penggunaan obat anti-diabetes yang bersumber dari tanaman (kulit kayu juwet) dalam bentuk ekstrak adalah kurang efektif dan belum dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah. Hal ini disebabkan aktivitas yang diperoleh rendah/perlu mengkonsumsi dalam jumlah besar, belum terungkap senyawa apa yang memiliki aktivitas anti-diabet tersebut dan mekanisme kerja aktivitas anti-diabet/anti-hiper-glikemik tersebut.

Oleh sebab itu untuk meningkatkan efektivitas dalam penggunaannya, diperlukan cara untuk pemisahan dan pemurnian senyawa aktif, yaitu teknik kromatografi kolom vakum, dimana teknik tersebut telah berhasil digunakan untuk pemurnian senyawa-senyawa bioaktif [12]. Kelebihan cara ini dibanding kolom gravitasi adalah: lebih cepat, pemisahannya baik, kolom tidak pecah, dan dapat mengatur laju elusi. Tujuan dari penelitian ini adalah ditemukannya jenis pengekstrak dan kondisi kromatografi kolom vakum yang menghasilkan fraksi hasil isolasi ekstrak kulit kayu juwet *Eugenia cumini* yang memiliki aktivitas anti-hiperglikemik optimum

Manfaat dari penelitian ini adalah dengan adanya data aktivitas anti-hiperglikemik secara empiris diharapkan menjadi dasar ilmiah dalam menyatakan kebenaran fungsi kulit juwet *Eugenia cumini* sebagai obat tradisional penyakit diabetes. Selain itu juga dapat dijadikan dasar untuk pengkajian lebih lanjut, yaitu pemurnian dan penentuan struktur senyawa aktif maupun uji klinis dari ekstrak tanaman tersebut.

II. METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas anti-hiperglikemik adalah ekstrak kulit kayu juwet (*Eugenia cumini*) yang tumbuh di perkebunan/pekarangan di Pulau Lombok. Bagian tanaman/kulit kayu Juwet (*Eugenia Cumini*) dikeringkan dalam udara (kering udara) dan ditimbang 2 kg, selanjutnya dihaluskan untuk persiapan ekstraksi.

Persiapan/preparasi ekstrak tanaman

Sebanyak 2 kg serbuk kulit kayu juwet (*Eugenia cumini*) masing-masing diekstrak dengan 3 liter heksan dan didiamkan selama 24 jam, kemudian disaring dan filtrat dipisahkan, selanjutnya dilakukan bioassay. Ampas dari hasil ekstraksi dengan heksan selanjutnya diekstrak dengan 3 liter diklorometana DCM dan didiamkan selama 24 jam (ulang 2 kali). Ekstrak dipisahkan selanjutnya dilakukan bioassay. Hal yang sama selanjutnya dilakukan dengan pelarut metanol.

Induksi Diabetes pada Mencit

Hewan percobaan yang digunakan adalah mencit berumur 2 - 3 bulan dengan berat badan antara 25-30 gram dan diinduksi diabetes secara intraperitoneal menggunakan larutan aloksan monohidrat dengan dosis 50 mg/kg BB. Pemberian aloksan dilakukan 48 jam sebelum perlakuan. Tikus tetap diberi minum dan diberi makanan komersial sebanyak 3 kali sehari.

Desain percobaan/perlakuan

Hewan percobaan dibagi menjadi 3 kelompok yaitu, kelompok I: kontrol mencit normal dan diabetes. Kelompok II: kelompok mencit diabetes dengan perlakuan ekstrak heksan, diklorometana DCM dan metanol dengan dosis masing-masing 300 mg/kg bb. Kelompok III: kelompok perlakuan obat diabetes metformin dengan dosis 5 mg/kg bb. Pemberian ekstrak dan atau obat atau fraksi hasil isolasi dilakukan setiap hari (pagi hari) dari hari ke nol (2 hari setelah induksi aloksan), hari ke - 0, 1, 2, 3, 4,

dan 5 dengan dosis ekstrak per hari sebanyak 300 mg/kg dan 50 mg/kg bb untuk fraksi hasil isolasi. Pengambilan darah dilakukan setiap hari sesaat 1 jam setelah perlakuan dari hari ke - 0, 1, 2, 4, 6, 8, dan 10) melalui ekor sebanyak kurang lebih 0,5 ml untuk selanjutnya dianalisis.

Analisis glukosa darah

Penetapan kadar glukosa darah dilakukan dengan metode ortho-toluidin secara spektrofotometri [13], yaitu sebanyak 1 ml TCA 10% ke dalam vial dan dimasukkan sampel darah 0.2 mL, kemudian disentrifus selama 5 menit pada 3000 rpm. Diambil 1 mL + 3 ml O-Toluidin kemudian dipanaskan dalam air mendidih 8 menit. Setelah dinginkan 20 menit selanjutnya nilai absorbans diukur pada 1 625 nm. Penetapan konsentrasi sampel didasarkan pada hasil pengukuran larutan standar glukosa dengan konsentrasi 0 s/d 140 mg/100 mL.

Fraksinasi ekstrak aktif secara kromatografi kolom vakum

Prinsip kerja fraksinasi dengan kromatografi kolom vakum mengacu pada cara Harwood [8]. Kondisi kolom: 3,5 cm dan L = 30 cm, adsorben silika gel G₆₀ (63 - 200 mm) dan dimampatkan dengan vakum. Sebanyak 5 gram sampel ekstrak aktif dilarutkan dalam diklorometana dan dicampur silika untuk diaplikasikan di bagian atas kolom. Elusi dilakukan dengan sistem polaritas bergradien: heksan-etil asetat (10:0; 8:2; 7:3; 5:5; 3:7; 2:8; 0:10) dan etil asetat-metanol (8:2; 7:3; 5:5; 3:7; 2:8; 0:10) dan metanol-air (8:2 dan 7 : 3). Elusi dilakukan dengan kecepatan 1 ml per menit dan fraksi-fraksi tersebut disatukan berdasarkan data TLC dan fraksi yang sejenis selanjutnya dibioassay.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Anti-hiperglikemik Ekstrak Kulit Juwet (*Eugenia cumini*)

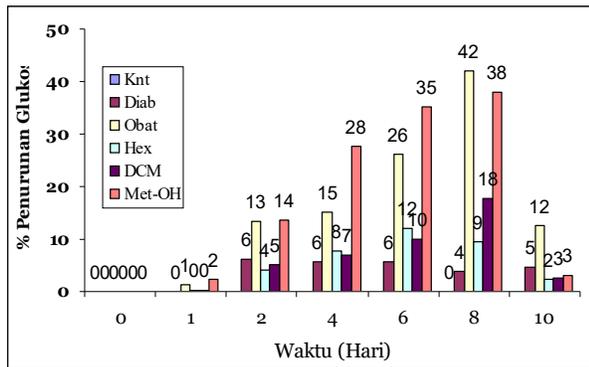
Hasil ekstraksi kulit kayu juwet *Eugenia cumini* dengan pelarut heksan, diklorometana DCM dan metanol Me-OH memberikan kuantitas dan warna yang berbeda. Ekstrak dengan pelarut heksana cenderung berwarna kuning kehijauan, ekstrak DCM berwarna coklat muda dan ekstrak metanol berwarna coklat tua/kemerahan. Kadar glukosa darah mencit pada berbagai waktu dan perlakuan ekstrak ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Data kadar glukosa darah mencit pada berbagai waktu dan perlakuan

Perlakuan*	Kadar glukosa darah (mg/dL) pada berbagai waktu (hari)						
	0	1	2	4	6	8	10
Kontrol	82 ± 4	85 ± 5	84 ± 8	82 ± 3	83 ± 4	83 ± 4	83 ± 3
Diabetes	206 ± 18	206 ± 31	193 ± 21	194 ± 15	194 ± 18	198 ± 17	196 ± 24
D – Obat	195 ± 12	193 ± 14	169 ± 6	165 ± 8	144 ± 15	113 ± 11	171 ± 15
D – Ex-Hex	200 ± 5	200 ± 4	192 ± 13	184 ± 9	176 ± 18	181 ± 17	196 ± 16
D – Ex-DCM	195 ± 17	194 ± 12	185 ± 15	181 ± 6	175 ± 7	156 ± 16	190 ± 17
D – Ex-Me-OH	202 ± 3	198 ± 14	177 ± 8	146 ± 10	130 ± 4	126 ± 6	196 ± 16

Data dalam tabel 1 menunjukkan kadar glukosa darah mencit normal-kontrol, diabetes- kontrol, diabetes-perlakuan dengan ekstrak kulit juwet *Eugenia cumini* dengan pelarut Heksan (Hex), diklorometana DCM dan metanol Me-OH, serta tikus diabetes dengan perlakuan obat metformin. Mencit diabetes dibuat dengan induksi aloksan (50 mg/kg) saat 48 jam sebelum perlakuan [7]. Pemberian ekstrak (dosis 300 mg/kg bb) dan atau obat/metformin (dosis 5 mg/kg bb) dilakukan setiap hari selama 6 hari, sedangkan pengambilan dan pengukuran kadar gula darah dilakukan setiap hari sampai hari ke 10.

Kadar glukosa darah pada hari ke – nol merupakan kadar glukosa darah mencit diabetes aloksan yang memiliki kadar sekitar 200 mg/dL, terkecuali untuk mencit normal, yaitu mencit tanpa induksi aloksan. Kadar glukosa darah pada hari ke – 1 sampai hari ke – 10 merupakan kadar glukosa darah mencit diabetes yang telah diberi perlakuan ekstrak dan atau obat. Untuk lebih jelasnya pola perubahan kadar glukosa mencit setelah perlakuan ekstrak maupun obat metformin dinyatakan sebagai persentase penurunan kadar glukosa darah sebagaimana tercantum dalam Gambar 1.



Gambar 1. Kurva hubungan persentase penurunan kadar glukosa darah mencit Normal, diabetes, dan diabetes setelah perlakuan pemberian ekstrak kulit juwet pada berbagai waktu. Dosis ekstrak sebesar 300 mg/kg bb diberikan setiap hari sampai hari ke 5

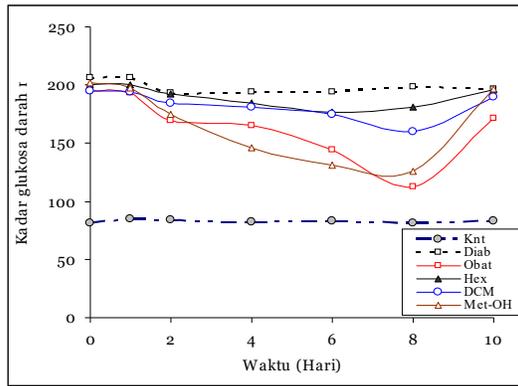
Dari gambar 1 dapat diinformasikan bahwa aktifitas anti-hiperglikemik ketiga jenis ekstrak (heksan, DCM, dan metanol) kulit juwet menunjukkan angka yang berbeda, dimana nilai tertinggi ditemukan pada ekstrak metanol. Hasil ini menunjukkan bahwa aktifitas anti-hiperglikemik ekstrak kulit juwet ditentukan oleh polaritas pengeksrak (polaritas) yang dalam hal ini tergolong pengeksrak polar.

Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil yang ditemukan terdahulu bahwa penggunaan berbagai jenis ekstrak daun juwet. menunjukkan bahwa ekstrak etanol dengan jumlah 400 mg/kg berat badan memberikan penurunan kadar glukosa darah yang cukup signifikan [9].

Selanjutnya juga melaporkan bahwa penurunan kadar glukosa darah tikus diabet dapat dilakukan dengan memberikan ekstrak air dari biji juwet dengan dosis 2,5; 5,0; dan 7,5 gram/kg berat badan [10]. Saravanan dan Leelavinothan juga menemukan adanya aktivitas anti-diabetes dari ekstrak juwet dengan pelarut air [13]. Hal ini ditunjukkan dengan adanya penurunan kadar glukosa darah baik tikus normal maupun tikus diabet. Kadar glukosa darah untuk tikus diabetes – ekstrak air dengan dosis 300 mg/kg sebesar 181 mg/dL pada hari ke 15; 93,65 mg/dL hari ke 30 dan 84,30 mg/dL pada hari ke 45.

Rekha dan kawan – kawan menemukan adanya aktivitas anti-diabetes dalam ekstrak air buah juwet dengan dosis 200 mg/kg bb [8]. Hasil yang ditemukan adalah adanya penurunan kadar glukosa darah tikus, yaitu pada hari -1 sebesar 234 mg/dL, hari ke 5 sebesar 166 mg/kg dan hari ke 10 sebesar 127 mg/kg dan hari ke 15 sebesar 114 mg/dL. Hal yang sama juga dilakukan oleh Kumar dan kawan – kawan [14], dimana dengan menggunakan ekstrak etil asetat dan metanol dari biji juwet, maka kadar glukosa darah tikus dapat menurun secara signifikan pada hari ke 15

Dari hasil penelitian ini dapat ditunjukkan bahwa pengeksrak polar (metanol) memiliki kemampuan untuk mengeksrak senyawa anti-hiperglikemik yang terdapat dalam kulit kayu juwet (*Eugenia cumini*). Di samping itu selain ekstrak metanol, ekstrak DCM juga menunjukkan adanya aktivitas anti-hiperglikemik walaupun cukup rendah dan ekstrak heksan (non-polar) tidak menunjukkan adanya aktifitas. Pengaruh waktu pemberian ekstrak maupun obat terhadap kadar glukosa darah atau persentase penurunan kadar glukosa darah ditunjukkan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Kurva hubungan antara kadar glukosa darah mencit (mg/dL) pada berbagai waktu setelah perlakuan ekstrak kulit juwet (*Eugenia cumini*). Dosis ekstrak sebesar 300 mg/kg bb dan diberikan setiap hari selama 6 hari, sedangkan dosis obat metformin sebesar 5 mg/kg bb

Informasi yang diperoleh dari gambar 2 menunjukkan bahwa kadar glukosa darah mencit normal dan diabetes tanpa perlakuan dari hari ke – 0 hingga hari ke 10 tidak menunjukkan perubahan yang jelas. Berbeda dengan kadar glukosa darah mencit dengan perlakuan ekstrak metanol dan obat pembanding metformin, dimana perubahan terjadi mulai hari ke 2, 4, 6, dan 8.

Perubahan terbesar terjadi setelah hari ke 8 dan pada hari ke 10 terjadi kenaikan lagi. Kondisi tersebut disebabkan pemberian obat maupun ekstrak hanya dilakukan sampai hari ke 5, sehingga dimungkinkan pengaruh obat maupun ekstrak hanya mencapai hari ke 8. Hasil penelitian ini berbeda dengan yang ditemukan oleh Kumar [14] bahwa dengan perlakuan ekstrak etil-asetat biji juwet 200 mg/kg dan 400 mg/kg selama 15 hari, maka kadar glukosa darah tikus diabet induksi streptozotocin menurun pada hari ke 15.

Rekha juga menemukan adanya penurunan kadar glukosa darah mencit sampai hari ke 15 pada perlakuan dengan ekstrak air buah juwet *Eugenia cumini* [8]. Dengan menggunakan dosis 200 mg/kg selama 15 hari kadar glukosa darah menurun dari 234 mg/dL hingga 114 mg/dL. Adanya perbedaan yang ditemukan dalam penelitian ini dapat disebabkan oleh frekuensi pemberian ekstrak, yaitu sampai 15 kali, sedangkan dalam penelitian ini hanya 6 kali. Hal lain juga dapat disebabkan perbedaan bagian tanaman yang digunakan, dimana hasil tersebut menggunakan bagian biji, sedangkan dalam penelitian ini menggunakan bagian kulit kayu.

Selanjutnya tim peneliti yang dipimpin oleh Farsvan juga menemukan adanya penurunan kadar glukosa darah tikus pada perlakuan ekstrak metanol biji juwet *Eugenia cumini* dengan dosis 400 mg/kg [14]. Penurunan kadar glukosa yang ditemukan pada hari ke 21 adalah dari 260 mg/dL hingga 90 mg/dL.

Berdasarkan data hasil penelitian ini dan kajian hasil penelitian para peneliti lain menunjukkan bahwa penurunan kadar glukosa darah mencit diabetes memerlukan waktu yang cukup lama. Hal ini menunjukkan bahwa efek ekstrak maupun obat anti-hiperglikemik adalah berkaitan dengan metabolisme glukosa yang melibatkan

kinerja insulin dan pankreas sebagai organ penghasil insulin.

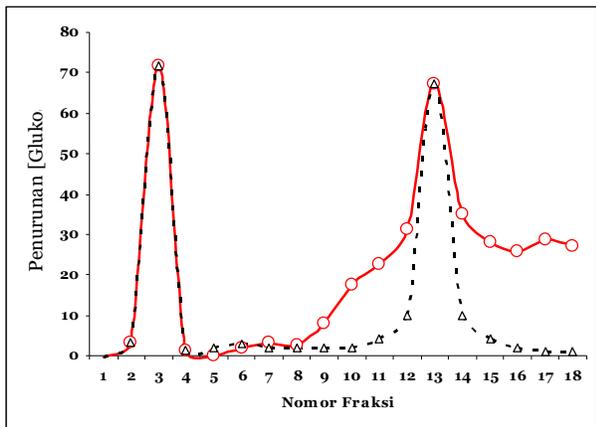
Beberapa literatur menyebutkan bahwa anti-hiperglikemik berfungsi menstimulasi pengeluaran insulin dari sel beta pankreas [16]. Selanjutnya tikus yang mengalami diabetes akan mengalami kerusakan jaringan sel b-langerhans pankreas, sehingga tidak mampu mensintesis insulin, akibatnya kadar glukosa darah menjadi tinggi [17]. Dinyatakan juga bahwa streptozotocin maupun aloksan merupakan senyawa induksi diabetes yang berfungsi merusak sel b-Langerhan pada pankres, sehingga proses sintesis insulin akan terganggu [18]

Berdasarkan efek aloksan sebagai induktor diabetes, maka dapat diduga bahwa mekanisme kerja anti-hiperglikemik ekstrak kulit juwet (*Eugenia cumini*) adalah berkaitan dengan perbaikan sel-sel b-Langerhan pada pankres yang berfungsi dalam sintesis insulin, sehingga membutuhkan waktu yang cukup lama, yaitu 8 hari. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Saravanan dan Leelavinothan (2008) bahwa pemberian ekstrak air buah juwet menunjukkan adanya peningkatan insulin plasma pada tikus diabet. Selanjutnya diungkapkan bahwa ekstrak buah juwet secara tidak langsung memiliki efek anti-hiperglikemik dan diduga melibatkan mekanisme dalam mengaktivasi pelepasan insulin dari pankreas melalui perbaikan sel-sel beta pankreas yang rusak akibat streptozotocin. Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian terdahulu bahwa bubuk ekstrak air dari buah juwet *Eugenia cumini* mampu menstimulasi pelepasan insulin yang dipelajari baik secara *invivo* maupun *invitro* [19]

Namun demikian dengan mengacu pada obat pembanding yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metformin, maka dapat diduga mekanisme kerja ekstrak juwet tersebut tidak hanya dapat memperbaiki fungsi sel beta pankreas. Hal tersebut sesuai dengan kajian literatur yang menyebutkan bahwa obat metformin memiliki fungsi memperbaiki sensitivitas insulin pada jaringan perifer (otot) dan hepatic [20].

Aktivitas Anti-hiperglikemik Isolat Ekstrak Metanol Kulit Juwet

Dari hasil uji aktivitas ekstrak babak juwet/kulit kayu juwet (*Eugenia cumini*) menunjukkan bahwa ekstrak metanol menunjukkan aktivitas tertinggi. Oleh sebab itu dapat dipastikan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas anti-hiperglikemik terdapat dalam ekstrak metanol (senyawa polar). Untuk mendapatkan senyawa dengan kemurnian tinggi selanjutnya ekstrak tersebut dipisahkan dengan teknik kromatografi kolom vakum dengan eluen pelarut heksan – etil asetat – metanol (peningkatan polaritas). Fasa pendukung yang digunakan adalah silikagel G₆₀ (63 – 200 mm) dengan AE 3,5 cm dan L = 30 cm. Komposisi eluen adalah: heksan-etil asetat: (10:0; 8:2; 7:3; 5:5; 3:7; 2:8; 0:10), etil asetat-metanol (8:2; 7:3; 5:5; 3:7; 2:8; 0:10) dan metanol-air (8:2). Kurva hubungan antara penurunan kadar glukosa darah mencit pada perlakuan berbagai fraksi dengan dosis 50 mg/kg setelah 8 hari ditunjukkan dalam Gambar 3.



Gambar 3. Profil penurunan kadar glukosa darah tikus setelah 8 hari:(1) Mencit normal, (2) Diabetes, (3) Diabetes-Obat 5 mg/kg bb, (4) Diabetes-Hex 100%, (5) Diabetes Hex-Et-Oac 80% (6) Diabetes Hex-Et-OAc 20%, (7) Diabetes Hex-Et-OAc 30%, (8) Diabetes Hex-Et-OAc 50%, (9) Diabetes Hex-Et-OAc 70%, (10) Diabetes Hex-Et-OAc 80%, (11) Et-OAc – Me-OH 100%, (12) Et-OAc – Me-OH 80%,(12) Et-OAc – Me-OH 70%, (13) Et-OAc – Me-OH 50%,(15) Et-OAc – Me-OH 30%, (16) Et-OAc – Me-OH 20%, (17) Me-OH – H₂O 100%,(18) Me-OH – H₂O 80% dengan dosis 50 mg/kg bb

Berdasarkan kurva pada Gambar 3 dapat diinformasikan bahwa penurunan kadar glukosa darah tertinggi ditemukan pada fraksi nomor 13, yaitu eluen etil asetat – metanol (50 : 50). Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas anti-hiperglikemik terdapat dalam fraksi 13 dan diduga suatu senyawa cukup polar. Namun demikian aktifitas anti-hiperglikemik juga muncul di fraksi nomor 9, 10, 11, 12.

Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut belum dapat terpisah secara baik, yaitu mulai terelusi keluar kolom oleh eluen heksan etil asetat 70% hingga etil asetat – metanol 80%. Sebaliknya setelah penggunaan eluen etil-asetat – metanol 50% senyawa tersebut juga belum terelusi secara sempurna. Hal ini ditunjukkan oleh munculnya senyawa tersebut dalam fraksi 14 s/d 18.

Berdasarkan jenis eluen yang digunakan untuk mengelusi senyawa anti-hiperglikemik, yaitu Et-OAc – Me-OH 50%, maka dapat diduga bahwa senyawa aktif tersebut tergolong senyawa polar. Hal tersebut didukung oleh peneliti terdahulu yang melaporkan bahwa senyawa flavonoid (senyawa polar) memiliki fungsi menurunkan kadar glukosa darah [20]. Hasil penelitian lain juga mengungkap bahwa quercetin (senyawa polar) merupakan senyawa yang mampu meregenerasi sel-sel pulau Langerhans dan meningkatkan pelepasan insulin [21]. Selain itu juga dilaporkan bahwa senyawa flavonoid mampu menstimulasi pengeluaran insulin yang mampu menurunkan glukosa darah [6]

Adanya senyawa aktif dalam kulit kayu juwet *Eugenia cumini* didukung oleh hasil penelitian terdahulu yang menyatakan bahwa dalam tanaman juwet (buah, daun, biji, akar, dan daun), quersetin, isoquersetin, kaemferol, myrisetin, flavonol glikosida, triterpenoid, dan anthosianin [22].

Berkaitan dengan hal tersebut juga telah tim peneliti yang dipimpin oleh Kumar juga menemukan adanya aktivitas antidiabetes dari senyawa yang diisolasi dari biji *Eugenia cumini* [23]. Senyawa yang ditemukan adalah golongan alkaloid, asam amino, flavonoid, glikosida, fitosterol, saponin, steroid, tanin, dan triterpenoid. Untuk lebih jelasnya aktivitas anti-hiperglikemik fraksi-13 atau fraksi Et-Oac –Me-OH (50:50) dapat ditunjukkan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Nilai persentase penurunan kadar glukosa darah dengan perlakuan fraksi Et-OAc –Me-OH (50:50)

N o	Perlakuan	Δ [glukosa] ₈	% Penurunan [Gluk]
1	Tikus Normal	0	0
2	Tikus Diabet Alokasan	3	2%
3	Obat Metformin 5 mg/kg bb	72	37%
4	Et-OAc – Me-OH (5 : 5) (50 mg/kg bb)	67	34%

Berdasarkan data pada tabel 3 menunjukkan bahwa aktivitas yang dihasilkan masih lebih rendah (34%) dari obat diabet komersial metformin (37%) walaupun dosis penggunaan masih jauh lebih tinggi hampir 10 kali. Hal ini dapat menunjukkan bahwa fraksi hasil isolasi belum merupakan senyawa murni, karena dari data kromatografi lllapis tipis TLC juga menunjukkan jumlah spot lebih dari 1.

IV. KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut: (1) Aktivitas anti-hiperglikemik (persentase penurunan kadar glukosa darah mencit) dalam kulit juwet (*Eugenia cumini*) dapat diperoleh melalui proses ekstraksi pelarut, dimana penggunaan pelarut metanol lebih tepat dibandingkan diklorometana DCM dan heksan. (2) Kadar glukosa darah mencit setelah 8 hari untuk kontrol: normal (83 ± 4) mg/dL, diabetes (198 ± 17) mg/dL, perlakuan ekstrak dengan dosis 300 mg/kg masing-masing: heksana (181 ± 17) mg/dL, DCM (156 ± 16) mg/dL, Me-OH (126 ± 6) mg/dL dan obat metformin 5 mg/kg bb sebesar (113 ± 11) mg/dL. (3) Persentase penurunan kadar glukosa darah mencit setelah 8 hari masing-masing untuk kontrol normal 0%, diabetes 4%, diabetes dengan perlakuan ekstrak dalam dosis 300 mg/kg masing-masing: heksana 9%, DCM 18%, Me-OH 38% dan obat pembanding metformin (5 mg/kg) sebesar 42%, (4) Metode isolasi kromatografi kolom vakum dengan kondisi: Fasa pendukung silikagel G₆₀ (63 – 200 mm), F = 3,5 cm, l = 30 cm, laju alir 1 ml per menit, dan eluen: heksana – Et-OAc – Me-OH dapat memisahkan senyawa anti-hiperglikemik dalam ekstrak metanol kulit kayu juwet *Eugenia cumini* dengan komposisi eluen terbaik adalah Et-OAc- Me-OH (5 : 5). (5) Persentase penurunan kadar glukosa darah mencit setelah 8 hari dengan perlakuan fraksi

Et-OAc- Me-OH (5 : 5) dengan dosis 50 mg/kg bb sebesar 34%, sedangkan obat pembanding metformin 5 mg/kg sebesar 37%.

(6) Senyawa anti-hiperglikemik yang terelusi dengan eluen Et-OAc- Me-OH (5 : 5) belum merupakan senyawa murni.

(7) Proses penurunan kadar glukosa darah mencit diabetes aloksan dengan perlakuan ekstrak maupun fraksi hasil isolasi memerlukan waktu yang cukup lama yaitu 8 hari, sehingga proses tersebut diduga melibatkan suatu mekanisme yang berkaitan dengan proses biokimiawi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada DP2M Dirjen Dikti yang telah memberikan dana Penelitian Fundamental, sehingga penelitian ini dapat terlaksana.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] ADA. 1998. *American Diabetes Association*. Implication of the Diabetes Control and Complications Trial Diabetes Care. 21: 588 – 590
- [2] Andrade-Cetto, A. dan Wiedenfeld H. 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 78 : 145 – 149
- [3] Virdi, J., Sivakami, S. Shahani, S., Shutar A.C., dan Biyani M.K. 2003. Anthi-hyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 88 : 107 – 111
- [4] Maiti, R., Jana D., Das U.K., dan Ghos D. 2004. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus indica* in streptozotocin-induced diabetes rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 92 : 85 – 91
- [5] Silva, F.G., Szpoganicz B., Pizzolatti M.G., dan Sausa E.. 2002. Acute effect of *Bauhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, Vol. 83: 33 – 37
- [6] Sezik, E., Aslan M., Yesilada E., dan Ito S. 2005. Hypoglycemic activity of *Gentiana aliveri* and isolation of the active constituent through bioassay-directed fractionation techniques. *Life Sciences*, Vol. 76 : 1223 – 1239
- [7] Singh N. dan Gupta M., 2007. Effect etanol extract of *Syzygium cumini* (Linn) seed powder on pancreatic islets of alloxan diabetic rats. *Indian Journal of Experimental Biology*. Vol 45: 861 – 868
- [8] Rekha N., Balaji R., dan Deecaraman M., 2008. Effect of aqueous extract of *Syzygium Cumini* pulp on antioxidant defense system in streptozotocin induced diabetic rats. *IJPT* 7: 137 – 145
- [9] Arbab, A.G., Akhtar T., dan Rab T. 1989. Hypoglycaemic activity of *Eugenia jambolana* (E.J) leaves. *Pak. J. Med. Res.*, 28: No.3.
- [10] Prince, P.S., Menon V.P., dan Pari L. 1998. Hypoglycaemic activity of *Syzygium cumini* seeds: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, 61: 1-7.
- [11] Laksmiwati, D. Muti'ah, Andayani Y., dan Bahri S. 1999. *Identifikasi tanaman obat tradisional Suku Sasak Lombok dan khasiatnya sebagai antimikroba*. Laporan Penelitian ADB LOAN. Lemlit. Unram
- [12] Harwood, L. M., Moody, C. J., dan Percy, J. M. 1999. *'Dry Flash' Column Chromatography*. Experimental Organic Chemistry, 2nd ed. Blackwell Science: Oxford,
- [13] Saravanan G, dan Leelavinothan P. 2008. Effects of *Syzygium Cumini* bark on Blood Glucose, Plasma Insulin and C-peptide in Streptozotocin-induced Diabetic rats. *In.. Endocrino. Metab.*; 4: 96-105
- [14] Kumar A., Ilavarasan R., Jayachandran T., Deecaraman I M., Aravindan P., dan Krishan V. 2008. Anti-diabetic activity of *Syzygium cumini* and its isolated compound against streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 2(9), pp. 246-249
- [15] Farsvan M., Mazumder P.M., dan Parcha V. 2009. Modulatory effect of an isolated compound from *Syzygium cumini* seeds on biochemical parameters on diabetes in rats. *International Journal of Green Pharmacy*. November 04: 128 – 133
- [16] Tan Y.M, Johnson G, dan Ashcroft J.H. 1998. Sulfonylureas enhance exocytosis from pancreatic b-cells by a mechanism that does not involve direct activation of protein kinase C. *Diabetes*. 47: 1722–1726.
- [17] Shirwaikar A, Rajendran K, dan Kumar DC. 2004. Oral antidiabetic activity of *Annona squamosa* leaf alcohol extract in NIDDM rats. *Pharm Biol*. 2004; 42: 30-5.
- [18] Kamtchouing P, Kahpui SM, Dzeufiet PDD, Tedong L, Asongalem EA, dan Dimoa T. 2006. Anti-diabetic activity of methanol/methylene chloride stem bark extracts of *Terminalia superba* and *Canarium schweinfurthii* on streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol*; 104: 306-9.
- [19] Achrekar S, Kaklij G.S, Pote M.S., dan Kelkar S.M. 1991. Hypoglycemic activity of *Eugenia jambolana* and *Ficus bengalensis*: mechanism of action. *In Vivo*; 5: 143-7.
- [20] Chakravarthy BK, Gupta S, dan Gode KD. 1982. Functional -cell regeneration in the islets of pancreas in alloxan induced diabetic rats by (-) epicatechin. *Life Sci* 1982; 13: 2693-2697.
- [21] Vessal M, Hemmati M, dan Vasei M. 2003. Antidiabetic effects of quercetin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*; 135C: 357-64.

- [22] Mahmoud II, Marzouk MSA, Moharram FA, El-Gindi MR, dan Hassan AMK. 2001. Acylated flavonol glycosides from *Eugenia jambolana* leaves. *Phytochemistry*; 58: 1239-44.
- [23] Kumar A., Ilavarasan R., Jayachandran T., Decaraman M., dan Krishnan V. 2009. Phytochemicals Investigation on a Tropical Plant, *Syzygium cumini* from Kattuppalayam, Erode District, Tamil Nadu, South India. *Pakistan Journal of Nutrition* 8 (1): 83-85