

Profil Glukagon Tikus Diabetik Dengan Perlakuan Ekstrak Daun *A. Altilis* Dan GABA

Glucagon Profile Diabetic Rats with Treatment of *A. Altilis* Leaf Extract and GABA

Meti Indrowati^{1,*}

¹Universitas Sebelas Maret, Jl Ir Sutami 36 A, Surakarta, Indonesia

*Corresponding author: metiindrowati@staff.uns.ac.id

Abstract: Glucagon, along with insulin, is a hormone that has close relationship with diabetes in term of maintaining glucose homeostasis. Glucagon is a peptide hormone that is synthesized from 29 amino acid and released by alfa pancreatic cells. Glucagon production and secretion are important mechanism to prevent hypoglycemia by triggering glycogenolysis and gluconeogenesis in carbohydrate metabolism. The aim of study is to knowing the effect of ethanolic extract of *A. altilis* leaves and GABA on serum glucagon profile of diabetic rats. This study was done by using Completely Randomized Design and male *Sprague Dewley* rats. The rats were divided into normal control group and diabetic rats groups. Levels of serum glucagon were measured in days 7 and 42 treatments with ELISA Enzyme Linked Immunosorbent Assay method. Quantitative data were analyzed using ANOVA at 95% confidence level. The result indicated that 50 mg kg⁻¹ bw GABA, 400 mg kg⁻¹ bw and 800 mg kg⁻¹ bw ethanolic extract of *A. altilis* leaves increased the serum glucagon level. Glucagon profile shows the highest percentage of serum glucagon elevation in the 800 mg kg⁻¹ bw ethanolic extract of *A. altilis* leaves group treatment. The result of the study expected to be one of scientific information that supports further research related to the use of GABA in natural ingredients as antidiabetes.

Keywords: glucagon, diabetes, GABA, *A. altilis*

1. PENDAHULUAN

Glukagon merupakan hormon peptida yang disintesis dari asam amino dan dilepaskan oleh sel α pankreas. Bersama dengan insulin, glukagon berperan dalam mengendalikan mekanisme homeostasis gulosa melalui kontrol umpan balik. Gangguan homeostasis glukosa memiliki keterkaitan erat dengan diabetes. Diabetes sendiri merupakan salah satu gangguan sistem endokrin dengan penanda utama hiperglikemia serta terdeteksi dengan gejala glukosuria, ketonaemia dan keseimbangan negatif nitrogen. Apabila penanganannya diabaikan, diabetes berpotensi menimbulkan komplikasi diantaranya retinopati diabetik, neuropati, gagal ginjal dan aterosklerosis (Are *et al.*, 2011; Kante & Reddy, 2013).

Studi terapi diabetes kebanyakan berfokus pada upaya menurunkan kondisi hiperglikemi. Kajian terkait imbas penurunan kadar glukosa darah diantaranya terkait glukagon belum banyak dilakukan. Penelitian ini dilakukan sebagai upaya menggali informasi, pengaruh pemberian bahan alam dengan kandungan senyawa hipoglikemik terhadap profil glukagon. Produksi dan sekresi glukagon merupakan mekanisme penting mencegah hipoglikemia pada tubuh dengan memicu glikogenolisis dan glukoneogenesis serta menurunkan glikogenesis dalam metabolisme karbohidrat.

Bahan uji penelitian menggunakan ekstrak etanol daun *A.altilis* yang diketahui mengandung senyawa aktif *Gamma Amino Butyric Acid* (GABA). GABA diketahui terdapat pada sistem saraf pusat sebagai neurotransmitter dan bekerja dengan prinsip memicu hiperpolarisasi membran sel. Akibatnya GABA sering digunakan sebagai obat penenang atau antidepresan. Selain itu, GABA juga terdapat dalam konsentrasi tinggi pada sel beta pankreas bersama insulin. Hasil-hasil penelitian yang telah dilaporkan menunjukkan GABA pankreas memiliki keterkaitan dengan diabetes dalam hal menjaga kondisi homeostasis glukosa serta terlibat dalam regulasi sekresi insulin khususnya mengatur sintesis proinsulin (Taneera *et al.*, 2012). GABA memiliki potensi sebagai antidiabetes karena kemampuannya dalam memperbaiki kondisi sel beta pancreas dengan efek regeneratif, meningkatkan proliferasi dan menekan apoptosis sel beta pancreas (Soltani *et al.*, (2011) dan Wang *et al.*, (2013). Pemberian GABA yang dihasilkan oleh *Lactobacillus brevis* berpengaruh pada kadar insulin, berat badan dan kadar glukosa tikus diabetes tipe 1 induksi streptozotocin (Marques *et al.*, 2016)

Fokus penelitian ini adalah studi terkait terapi diabetes dengan memanfaatkan bahan alam yang

mengandung senyawa aktif GABA. Bahan alam tersebut adalah daun sukun atau *A. Altilis*. Asam amino sejumlah 72,5% dengan GABA sebagai salah satu komponennya, dilaporkan terkandung dalam ekstrak daun *A.altilis* bersama dengan steroid, fitosterol, gum dan resin (Sikarwar *et al.*, 2014). Kajian tentang daun *A. altilis* dengan senyawa aktif GABA merupakan tindak lanjut dari rangkaian penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Pada penelitian terdahulu diketahui bahwa dalam ekstrak etanol daun *A.altilis* terkandung GABA (Indrowati *et al.*, 2015), dan terbukti memiliki kemampuan menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan ekspresi insulin di pankreas (Indrowati *et al.*, 2017) serta meningkatkan populasi sel beta pankreas dan kadar insulin serum (Indrowati *et al.*, 2018). Dari rangkaian kajian tersebut, belum diketahui bagaimana pengaruh ekstrak etanol daun *A.altilis* dan GABA terhadap kondisi glukagon, sebagai hormon utama yang juga berperan dalam menjaga homeostasis glukosa bersama dengan insulin. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun *A. altilis* dengan senyawa aktif GABA terhadap profil glukagon serum tikus diabetes. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi salah satu sumber informasi ilmiah yang mendukung penelitian lanjutan terkait pemanfaatan GABA dalam bahan alam sebagai antidiabetes.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Hewan uji tikus jantan *Rattus norvegicus* galur *Sprague Dewley*, sejumlah 25 ekor dibagi dalam lima kelompok. Pembagian kelompok terdiri dari kelompok kontrol normal, kontrol diabetik, kelompok perlakuan GABA 50 mg/kgBB, kelompok perlakuan ekstrak etanol daun *A. altilis* dosis 400 mg/kg BB dan kelompok perlakuan ekstrak etanol daun *A.altilis* dosis 800 mg/kg BB. Induksi diabetes dilakukan dengan injeksi Streptozotocin 50 mg/kg BB intraperitoneal. Bahan uji adalah ekstrak etanol daun *A.altilis* yang telah dideteksi kandungan GABA di dalamnya, serta GABA murni sebagai pembandingan. Justifikasi munculnya kondisi diabetes dilakukan melalui pengukuran kadar glukosa darah dengan *rapid tes*.

Kadar glukagon serum diukur pada hari ke 7 dan 42. Pengukuran kadar glukagon mempergunakan *Glucagon ELISA Kit* dari *Elabscience* mengacu metode Vitzel *et al.*, (2013) dan protocol katalog EK-028-02. Urutan cara kerja diawali dengan penambahan 50 μ L larutan standar, sampel atau kontrol positif, 25 μ L antibodi primer

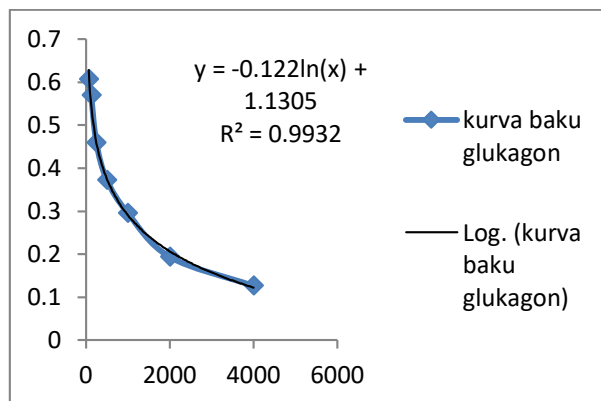


dan 25 µL peptida biotinil dalam sumuran pada *microplate*. *Microplate* diinkubasi pada suhu ruang 20-23°C selama 2 jam. *Microplate* dicuci 4 kali dengan larutan buffer 350 µL /sumuran. Larutan SA-HRP 100 µL ditambahkan ke dalam sumuran kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 1 jam. *Microplate* dicuci larutan buffer 350 µL. Larutan substrat TMB 100 µL ditambahkan dalam sumuran kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 1 jam. Reaksi dihentikan dengan menambahkan *stop solution* yaitu 100 µL HCL 2 N dan dilakukan pengukuran dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 450 nm.

Data kuantitatif kadar glukagon serum dianalisa dengan Anova taraf kepercayaan 95% dan uji lanjut Duncan bila ada perbedaan, dengan bantuan program SPSS 16.00.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam penelitian ini dilakukan pengukuran kadar hormon glukagon dalam serum tikus diabetik dengan perlakuan ekstrak etanol daun *A. altilis* dan GABA. Pengukuran kadar hormon glukagon dilakukan dengan ELISA. Nilai densitas optik /OD dari hasil ELISA digunakan untuk membuat kurva baku glukagon. Berdasar data nilai OD dibuat kurva baku glukagon untuk selanjutnya digunakan dalam penghitungan kadar glukagon serum. Nilai OD dan kurva baku glukagon serum ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva baku glukagon (X=konsentrasi pg/mL, Y =OD)

Hasil pengukuran kadar glukagon pada serum darah tikus diabetik dengan perlakuan GABA

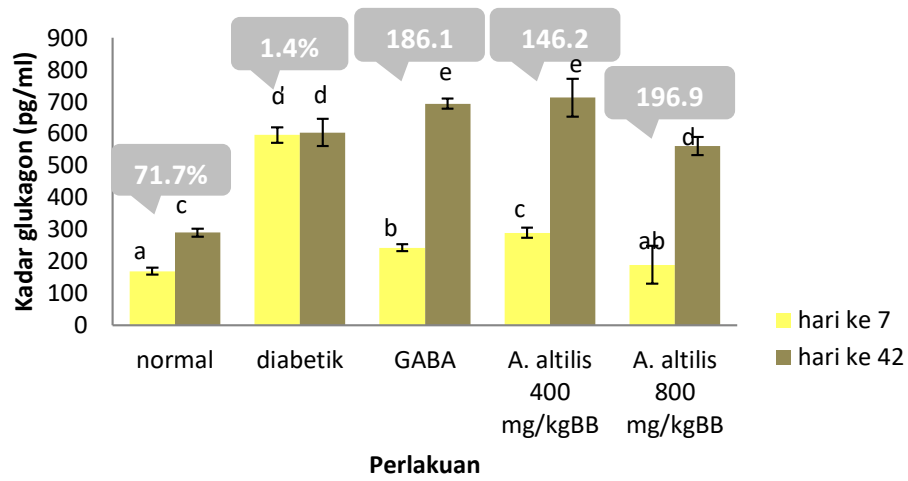
dan ekstrak etanol daun *A.altilis* disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Kadar glukagon serum tikus diabetik dengan perlakuan GABA dan ekstrak etanol daun *A.altilis*

KELOMPOK	Kadar Glukagon Serum (pg/mL) ± SD			
	hari ke-7		hari ke-42	
	Mean	SD	Mean	SD
normal	168,63	± 10,6 ^a	289,50	± 12,8 ^{ab}
Diabetik (STZ)	595,17	± 24,3 ^{ab}	603,20	± 42,8 ^{ab}
GABA 50 mg/kgBB	242,44	± 11,4 ^a	693,63	± 16,2 ^b
daun <i>A.altilis</i> 400 mg/kgBB	289,22	± 16,10 ^{ab}	712,09	± 59,3 ^b
daun <i>A.altilis</i> 800 mg/kgBB	188,89	± 59,10 ^a	560,87	± 28,7 ^{ab}

Keterangan: huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Profil glukagon dalam bentuk perubahan kadar kadar glukagon serum tikus dan persentase perubahan selama perlakuan ditunjukkan dalam Gambar 2.



Gambar 2. Profil glukagon serum tikus diabetik dengan perlakuan ekstrak etanol daun *A. altilis* dan GABA



Data kadar dan profil glukagon yang ditampilkan pada Tabel 1. dan Gambar 2. menunjukkan adanya peningkatan kadar glukagon serum dari hari ke-7 perlakuan menuju akhir perlakuan yaitu hari ke-42. Hal ini terjadi pada semua kelompok perlakuan. Kadar glukagon pada kelompok normal menunjukkan nilai terendah dibanding kelompok lain yaitu $168,63 \pm 10,6$ pg/ml pada hari ke-7, hanya menunjukkan sedikit peningkatan kadar pada hari ke-42 menjadi $289,50 \pm 12,8$ pg/ml. Pada kelompok diabetik, kadar glukagon pada hari ke-7 menunjukkan nilai yang tinggi yaitu $595,17 \pm 24,3$ pg/ml, mengalami sedikit peningkatan menjadi $603,20 \pm 42,8$ pg/ml pada hari ke-42.

Perlakuan GABA dan ekstrak etanol daun *A. altilis* dengan senyawa aktif GABA tidak terbukti menurunkan kadar glukagon, meskipun secara teori GABA dimungkinkan berperan dalam penurunan kadar glukagon, karena GABA memiliki reseptor di sel α sebagai tempat sekresi glukagon dan dapat memicu hiperpolarisasi membran sel α . Hal ini dimungkinkan karena induksi STZ hanya berpengaruh pada sel β dan tidak berpengaruh pada sel α (Nugroho, 2006) yang memproduksi glukagon. Meskipun demikian, peningkatan kadar glukagon dimungkinkan terjadi karena sifat dasar hormon yang dinamis dimana ada faktor lain selain GABA yang berperan di dalamnya. Sebagaimana diketahui, pada membran sel α terdapat kanal-kanal ion selain kanal Cl^- yang merupakan reseptor GABA yaitu GABA_A , diantaranya kanal K^+ serta reseptor hormon lain yaitu insulin, somatostatin dan glukagon sendiri (Quesada *et al.*, 2008).

4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa GABA 50 mg/kg BB, ekstrak etanol daun *A. altilis* dosis 400 mg/kg BB dan 800 mg/kg BB dapat meningkatkan kadar glukagon serum tikus diabetik. Profil glukagon serum tikus diabetik dengan perlakuan ekstrak daun *A. altilis* dan GABA menunjukkan persentase peningkatan glukagon serum tertinggi pada kelompok perlakuan ekstrak etanol daun *A. altilis* 800 mg/kgBB. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi salah satu sumber informasi ilmiah yang mendukung penelitian lanjutan terkait pemanfaatan GABA dalam bahan alam sebagai antidiabetes.

5. DAFTAR PUSTAKA

Bansal, P., Wang, S., Liu, S., Xiang, Y.Y., Lu, W.Y. and Wang, Q. 2011. GABA coordinates with insulin in regulating secretory function in pancreatic INS-1 β -cells. *PloS one*, 6.10: e26225.

Hsu, C.L., Chang, F.R., Tseng, P.Y., Chen, Y.F., El-Shazly, M., Du, Y.C. and Fang, S.C.

2012. Geranyl flavonoid derivatives from the fresh leaves of *Artocarpus communis* and their anti-inflammatory activity. *Planta Med.* 78(10): 995-1001

Indrowati, M., Astuti, P., Pratiwi, R. and Rumiya, R. 2015. Deteksi Gamma Amino Butyric Acid (GABA) pada daun *Artocarpus altilis*. Park. Proceeding of SNPS Seminar Nasional Pendidikan Sains UNS. 2: 595-600.

Indrowati, M., Pratiwi, R., Rumiya, & Astuti, P. 2017. Levels of blood glucose and insulin expression of beta-cells in streptozotocin-induced diabetic rats treated with ethanolic extract of *Artocarpus altilis* leaves and GABA. *Pak.J.Biol.Sci.* 20(1), 28–35.

Indrowati, M., Astuti, P., Pratiwi, R. and Rumiya, R. 2018. Populasi Sel Beta Pankreas Tikus Diabetes Induksi Streptozotocin dengan Perlakuan Ekstrak Daun *Artocarpus altilis* (Park.) Fosberg dan Gamma Amino Butyric Acid (GABA). *Prosiding Seminar Nasional Biologi 2018 UNDIP* 2: 46-52.

Lebovitz, H.E. 2011. Type 2 diabetes mellitus—current therapies and the emergence of surgical options. *Nature Reviews Endocrinology*, 7.7: 408-419.

Marques, T. M., Patterson, E., Wall, R., O'Sullivan, O., Fitzgerald, G. F., Cotter, P. D. and Stanton, C. 2016. Influence of GABA and GABA-producing *Lactobacillus brevis* DPC 6108 on the development of diabetes in a streptozotocin rat model. *Benef. Microbes.* 7(3): 409-420.

Nugroho, A. E. 2006. Hewan percobaan diabetes mellitus: patologi dan mekanisme aksi diabetogenik (Animal Models Of Diabetes Mellitus : Pathology And Mechanism Of Some Diabetogenics). *Biodiversitas*, 7.4: 378-382.

Sikarwar, M.S., Hui, B.J., Subramaniam, K., Valeisamy, B.D., Yean, L.K. and Kaveti. 2014. Plant Review: A Review on *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg (breadfruit). *J. Appl. Pharm. Sci.* 4(08): 091-097.

Soltani, N., Qiu, H., Aleksic, M., Glinka, Y., Zhao, F., Liu, R. and Jin, T. 2011. GABA exerts protective and regenerative effects on islet beta cells and reverses diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108.28: 11692-11697.

Taneera, J., Jin, Z., Jin, Y., Muhammed, S.J., Zhang, E., Lang, S. and Birnir, B. 2012. γ -Aminobutyric acid (GABA) signalling in human pancreatic islets is altered in type 2 diabetes. *Diabetologia*, 55.7: 1985-1994.

Wang, Q and Soltani, N. 2014. Method of ameliorating symptoms of type 1-diabetes using GABA related compounds and GLP-1/exendin-4 compounds. *Patent US8680051*



B2.

<http://www.google.com/patents/US8680051>

Wang, Q., Liang, X. And Wang, S. 2013. Intra-islet glucagon secretion and action in the regulation of glucose homeostasis. *Frontiers in Physiology.*, 3: 485-391.

Diskusi

Penanya: Roimil Latifa

Universitas Muhamadiyah Malang

Pertanyaan:

Bagaimana bentuk ekstrak, proses ekstraksi daun *A.atilis*?

Jawaban:

Dalam proses ekstraksi ada standarnya yaitu mengambil daun kelima dari ujung, kemudian dikeringkan dengan angin dulu, lalu dipotong-potong, kemudian dikeringkan dengan oven, dibuat serbuk, kemudian diekstraksi dengan etanol, lalu diberikannya dengan cekok.

Penanya: Roimil Latifa

Universitas Muhamadiyah Malang

Pertanyaan:

Bagaimana kalau dimasak dengan air? Mana yang lebih baik, diseduh atau diekstrak etanol ?

Jawaban:

Kebetulan, penelitian saya yang sebelumnya menggunakan air, atau ekstrak air, dan membandingkan antara ekstrak air dengan etanol, ternyata kadar GABA nya lebih tinggi dengan ekstrak air, jadi direbus biasanya dengan air lebih bagus.

Penanya: Roimil Latifa

Universitas Muhamadiyah Malang

Pertanyaan:

Kemudian apakah semua bagian daun bisa digunakan berkaitan dengan bentuk daunnya yang bercangap?

Jawaban:

Untuk daun dari pangkal sampai ujung daun tetap digunakan, namun jika daunnya besar, maka tangkai daunnya dipotong.

Penanya: Laksmindra Fitria

Universitas Gadjah Mada

Pertanyaan:

Sudah ada daun *A.atilis* atau daun sukun yang dibuat teh, jika dengan GABA apakah ada perubahan tingkah laku pada tikus ?

Jawaban:

Daun sukun memang sudah terbukti secara klinis menurunkan glukosa dan meningkatkan insulin, tapi karena pada penelitian kali ini profil glucagon ikut naik, maka perlu penelitian lebih lanjut (invitro) terkait aktivitas membrane sel alfa dan beta dalam lalu lintas ion Cl dan K. Karena kebetulan saya tidak melakukan pengamatan pada perilakunya, sehingga tidak tahu, padahal sebenarnya perubahan perilaku sangat mendukung, mungkin ini juga jadi saran untuk penelitian selanjutnya.