

Aktivitas Metabolit Sekunder Bakteri Endofit Tanaman Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) Sebagai Anti Hiperglikemia Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*)

Mahdalena Sy. Pakaya^{1*}, Wiwit Zuriati Uno², Hartati³, Endah Nurrohanta Djuwarno⁴

^{1,2,4} Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Jenderal Sudirman No. 06 Kota Gorontalo 96128, Indonesia

³ Jurusan Farmasi, Poltekkes Kemenkes Gorontalo, Gorontalo, Indonesia

* Penulis Korespondensi. Email: mahdalena@ung.ac.id

ABSTRAK

Bakteri endofit adalah mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman selama periode tertentu dari siklus hidupnya. Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan memungkinkan bakteri endofit berpotensi dapat dimanfaatkan sebagai penghasil metabolit sekunder seperti yang terkandung di dalam tanaman inangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan karakterisasi bakteri endofit yang terdapat pada tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*), serta menguji aktivitas antihiperglikemia pada mencit jantan. Tujuan penelitian ini yaitu mengidentifikasi metabolit sekunder metabolit sekunder yang terdapat pada isolat bakteri endofit pada tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*) yang mempunyai aktivitas sebagai antihiperglikemia pada mencit jantan (*Mus musculus*). Urgensi pada penelitian ini yaitu mencegah terjadinya eksploitasi tanaman yang memiliki potensi dalam pengobatan dan mengetahui aktivitas bakteri endofit pada tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai antihiperglikemia pada mencit jantan (*Mus musculus*). Metode yang digunakan pada tahapan penelitian ini adalah melakukan isolasi bakteri endofit dari tanaman insulin (*smallanthus sonchifolius*) isolat bakteri endofit yang digunakan merupakan koleksi dari kultur laboratorium Mikrobiologi Farmasi UNG, selanjutnya dilakukan peremajaan bakteri; suspensi bakteri endofit; produksi metabolit sekunder bakteri endofit; tahap uji antihiperglikemia pada mencit dilakukan dengan mengukur penurunan gula darah persatuan waktu. Pada tanaman Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) terdapat 1 isolat bakteri endofit yaitu BTI. Aktivitas isolat bakteri endofit BTI menunjukkan aktivitas antihiperglikemia pada mencit jantan. Pada tanaman Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) terdapat 1 isolat bakteri endofit yaitu BTI. Isolat BTI menunjukkan aktivitas antihiperglikemia pada mencit jantan. Dari hasil uji *One Way Anova* menunjukkan hasil sig = 0,000 yang dapat diartikan bahwa adanya perbedaan signifikan karena nilai probabilitas (signifikan) kurang dari 0,05.

Kata Kunci:

Antihiperglikemia; Bakteri Endofit; Metabolit Sekunder; Tanaman Insulin *Smallanthus sonchifolius*

Diterima:
19-06-2024

Disetujui:
29-08-2024

Online:
15-09-2024

ABSTRACT

Endophytic bacteria are microorganisms that live in plant tissue during certain periods of their life cycle. The mutualistic symbiotic relationship between bacteria and plants allows endophytic bacteria to potentially be used as producers of secondary metabolites such as those contained in their host plants. This study aims to isolate and characterize endophytic bacteria found in insulin plants (*Smallanthus sonchifolius*), as well as testing antihyperglycemic activity in male mice. The aim of this research is to identify secondary metabolites secondary metabolites found in isolates of endophytic bacteria on insulin plants (*Smallanthus sonchifolius*) which are has antihyperglycemic activity in male mice (*Mus musculus*). The urgency of this research is to prevent exploitation of plants that have potential in medicine and to determine the activity of endophytic bacteria in insulin plants (*Smallanthus sonchifolius*) as antihyperglycemia in male mice (*Mus musculus*). The method used at this stage of the research was to isolate endophytic bacteria from insulin plants (*Smallanthus sonchifolius*). The endophytic bacterial isolates used were collections from the UNG Pharmaceutical Microbiology laboratory culture, then rejuvenated the bacteria; endophytic bacterial suspension; production of secondary metabolites by endophytic bacteria; The antihyperglycemia test stage in mice is carried out by measuring the decrease in blood sugar per time. In Insulin plants (*Smallanthus sonchifolius*) there is 1 endophytic bacterial isolate, namely BTI. BTI isolate showed antihyperglycemic activity in male mice. From the results of the One Way Anova test, it shows a sig result = 0.000 which can be interpreted that there is a significant difference because the probability value (significant) is less than 0.05.

Copyright © 2024 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:

Antihyperglycemia; Endophytic Bacteria; Plant Insulin; *Smallanthus sonchifolius*

Received:

2024 -06-19

Accepted:

2024 -09-29

Online:

2024 -09-15

1. Pendahuluan

Hiperglikemia adalah suatu kondisi medik berupa peningkatan kadar glukosa dalam darah yang melebihi batas normal. Keadaan ini disebabkan karena stres, infeksi, dan konsumsi obat-obatan tertentu. Hipoglikemia merupakan keadaan kadar glukosa darah dibawah normal, terjadi karena ketidakseimbangan antara makanan yang dimakan, aktivitas fisik dan obat-obatan yang digunakan [1]. Semakin tinggi kadar gula di dalam darah maka mampu menyebabkan timbulnya penyakit Diabetes Mellitus. Diabetes Mellitus merupakan kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kinerja insulin atau keduanya. Diabetes Mellitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi etiologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid dan protein sebagai akibat dari insufisiensi fungsi insulin [2].

Berdasarkan data yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Provinsi Gorontalo pada tahun 2019 terdapat 13.450 jiwa yang didiagnosis menderita Diabetes Mellitus yang tersebar di berbagai daerah diantaranya yaitu Kabupaten Bone Bolango 7.241 jiwa, Kabupaten Gorontalo 4,205 jiwa, Kabupaten Pohuwato 4.069 jiwa, Kabupaten Gorontalo Utara 968 jiwa, Kabupaten Boalemo 166 jiwa dan kota Gorontalo 71 jiwa. Kabupaten Gorontalo berada di urutan ke-2 namun ternyata Kabupaten Gorontalo merupakan Kabupaten dengan peningkatan prevalensi penderita DM yang cukup drastis dibandingkan dengan kabupaten lainnya. Berdasarkan data yang diperoleh dari Dinas Kesehatan Kabupaten Gorontalo penderita diabetes terus meningkat, pada tahun 2018 penderita berjumlah 2.866 jiwa, tahun 2019 naik menjadi 4.205 jiwa dan ditahun 2020 berjumlah 4.562 jiwa [3]. Hal ini menjadi masalah yang cukup serius di dunia kesehatan.

Menurut [4], Diabetes Mellitus di bagi menjadi dua, yaitu DM tipe 1 dan DM tipe 2. Diabetes tipe 1 atau yang disebut Diabetes *Insulin-Dependent* merupakan penyakit autoimun yang disebabkan oleh adanya gangguan pada sistem imun atau kekebalan tubuh yang mengakibatkan rusaknya pankreas. Diabetes tipe 2 atau yang sering disebut Diabetes *Non Insulin-Dependent* merupakan Diabetes yang resistensi terhadap insulin. Keadaan resistensi insulin ini dapat menyebabkan sel β -pancreas mensekresi insulin dalam kuantitas yang lebih besar untuk mempertahankan homeostatis kadar gula darah, sehingga dapat terjadi hiperinsulin.

Sebagian masyarakat telah menggunakan tanaman tradisional sebagai terapi Diabetes Mellitus yaitu tanaman insulin atau biasa disebut Yakon (*Smallanthus sonchifolius*). Tumbuhan yang berasal dari Pegunungan Andes, Peru ini dipercaya dapat mengatasi penyakit diabetes. Berdasarkan penelitian tanaman insulin telah terbukti memiliki bahan kimia aktif seperti fructooligosacarida, karbohidrat dan flavonoid yang bisa menyebabkan penurunan glukosa dalam darah. Keberadaan daun insulin di Provinsi Gorontalo sudah sangat banyak. Kebanyakan masyarakat menanam daun insulin di halaman rumah orang penderita diabetes. Ada juga yang banyak tumbuh liar di pinggir sungai atau pekarangan. Sedangkan untuk pemanfaatan daun insulin di Gorontalo yaitu banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat yaitu sebagai anti diabetes [5], [6].

Pada penelitian sebelumnya menyatakan bahwa ekstrak etanol daun insulin memiliki aktivitas antihiperqlikemia. Hasil uji identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak daun insulin yaitu ekstrak etanol daun insulin mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan saponin. Senyawa-senyawa tersebut berpotensi berkhasiat sebagai antihiperqlikemia. Daun insulin terbukti dapat menurunkan kadar gula darah dan dapat meningkatkan sensitivitas insulin pada tikus yang menderita diabetes [7].

Besarnya potensi metabolit sekunder yang dimiliki oleh tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*) membuat masyarakat berlomba-lomba untuk memanfaatkannya sebagai obat tradisional. Pengambilan tanaman obat secara berlebihan dapat mengurangi populasi tanaman tersebut dan dapat mengurangi ketersediaan tanaman obat di alam. Hal ini dapat menyebabkan menurunnya keanekaragaman hayati dan mengganggu keseimbangan ekosistem. Untuk mencegah hal tersebut maka dilakukan pemanfaatan bakteri yang bersimbiosis dalam jaringan tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*) yang dikenal dengan bakteri endofit.

Hubungan simbiosis mutualisme antara bakteri dan tumbuhan memungkinkan bakteri menghasilkan senyawa bioaktif yang sama seperti terkandung di dalam tumbuhan inangnya [8]. Bakteri endofit mempunyai potensi yang dapat dimanfaatkan sebagai penghasil metabolit sekunder seperti yang terkandung di dalam tanaman inangnya [9]. Kemampuannya menghasilkan suatu senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya sudah terbukti maka, untuk pengobatannya senyawa aktif yang terdapat pada tanaman tersebut tidak harus mengeksploitasi tanaman tetapi cukup mengembangkan mikroba endofit yang bersimbiosis dengan tanaman tersebut.

Oleh karena itu melihat potensi dari tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai antihiperqlikemia, bakteri endofit dari tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*) dapat dimanfaatkan sebagai penghasil senyawa antihiperhlikemia. Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengisolasi dan karakterisasi bakteri endofit pada tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*) serta aktivitas bakteri endofit tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai anti hiperqlikemia Naskah yang ditulis

minimal mengandung materi dengan urutan sebagai berikut: judul, nama penulis, afiliasi dan alamat, abstrak, pendahuluan, metode, hasil dan pembahasan, kesimpulan, ucapan terima kasih (opsional), referensi.

2. Metode

Penelitian ini menggunakan metode ekperimental, dimana penelitian ini melakukan isolasi dan karakterisasi mikroba endofit dari tanaman insulin serta pengujian aktivitas antihyperglikemia terhadap mencit jantan (*Mus musculus*).

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf (Hirayama, Japan), bunsen, cawan petri, cover glass, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, object glass, incubator (Climacell; Amerika), jarum ose, laminar air flow (Mess; China), mikroskop (Nikon Eclipse; Japan), Oven (Mettler; German), pinset, tabung reaksi, timbangan analitik (Ohaus; Japan), Tabung Reaksi, Tabung Koagulasi.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alkohol 70%, alosan, aluminium foil, aquades, aqua pro injeksi, glimepiride, kertas label, kapas, kertas perkamen, Lysin Iron Agar (Oxoid; Amerika), Lugol (Merck; German), Mencit Jantan (*Mus musculus*), Nutrient Agar (Himedia; India), Nutrien Broth (Himedia; India), Safranin (Millipore; German), Spiritus, Simmon's Citrate Agar (Oxoid; Amerika), Tanaman Insulin (*Smallanthus sonchifolius*), Tisu, dan Triple Sugar Iron Agar (Oxoid; Amerika).

Prosedur Kerja

Prosedur kerja dapat dijabarkan dengan singkat dalam satu paragraf. Akan tetapi, jika terdapat banyak tahapan kerja, masing-masing tahap dapat ditulis dalam sub-subbab berbeda.

Pembuatan media

Media NA dibuat dengan cara menimbang media NA yang akan digunakan dan dilarutkan dengan aquadest, kemudian diaduk dan dipanaskan di atas *hot plate* setelah itu dimasukkan ke dalam erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan *aluminium foil* kemudian disterilkan pada autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit [10]

Media NB dibuat dengan cara menimbang media NB yang akan digunakan dan dilarutkan ke dalam banyaknya dengan aquades, kemudian diaduk dan dipanaskan di atas *hot plate* setelah itu dimasukkan ke dalam erlenmeyer ditutup menggunakan kapas dan *aluminium foil* kemudian disterilkan pada autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit [10]

Pembuatan media

Isolasi Bakteri Endofit dari Tanaman Insulin (*Smallanthus sonchifolius*)

Sampel yang digunakan adalah isolat bakteri endofit yang merupakan koleksi dari kultur laboratorium Mikrobiologi Farmasi UNG.

Peremajaan Bakteri Endofit

Bakteri endofit yang digunakan didapat dari penelitian sebelumnya, Sebelum diujikan bakteri endofit harus dilakukan peremajaan terlebih dahulu menggunakan media NA diinokulasi bakteri endofit melalui metode cawan gores dan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam [11]

Suspensi Bakteri Uji

Larutan suspensi bakteri dibuat dengan diambil 1 ose bakteri, dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologi 0,9%, dengan biakan murni didalam tabung reaksi dan dikocok sampai homogen, kemudian disamakan dengan standar Mc Farland [12]

Produksi Metabolit Sekunder dari Bakteri Endofit

Kultur isolat bakteri pada media NA diambil menggunakan ose dan kemudian dimasukkan pada medium cair 10 mL NB steril yang bertujuan untuk memproduksi metabolit sekunder dari bakteri endofit. Setelah itu diinkubasi selama 2-3 hari pada suhu 37°C dalam kondisi stationer, kemudian homogenasi menggunakan vortex. Hasil metabolit di sentrifugasi dengan kecepatan 13.000 rpm selama 15 menit [10]

Pembuatan Cell-free Supernatant

Media yang mengandung metabolit sekunder disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 60 menit agar terjadi pemisahan metabolit sekunder (supernatan) dengan Cell Bakteri (Residu) [10].

Uji Aktivitas Antihiperqlikemia

Hewan uji yang digunakan sebanyak 15 ekor mencit dengan usia 3-4 minggu dengan berat badan 20-25 g. Hewan uji yang telah dipilih dikelompokkan menjadi 5 kelompok, setiap kelompok terdiri dari 3 ekor mencit. Kelompok 1 (kontrol negatif), kelompok 2 (kontrol positif), kelompok 3 (supernatan hari ke-3), kelompok 4 (supernatan hari ke-5), kelompok 5 (supernatan hari ke-7). Masing-masing hewan uji diadaptasi dengan lingkungan sekitar selama 7 hari.

Semua kelompok diukur kadar gula darahnya sebelum diinduksi sebagai kadar gula darah awal dan semua kelompok diinjeksikan larutan aloksan. Aloksan dipilih karena cepat menimbulkan hiperqlikemia, secara efektif merusak sel beta pulau Langerhans ditandai dengan pengecilan diameter sel pulau Langerhans dan gangguan fungsi sel beta sehingga tidak mampu lagi meningkatkan sekresi insulin yang menyebabkan kenaikan kadar glukosa dalam darah [11]

Kelompok I (kelompok kontrol negatif), mencit diukur kadar gula darah awal kemudian diinduksi menggunakan aloksan secara intraperitoneal. Setelah 72 jam, kemudian mencit diberikan suspensi Na-CMC secara oral, dan diukur gula darah mencit selama 90 menit pada menit ke 30, 60, dan 90.

Kelompok II (kelompok kontrol positif), mencit diukur kadar gula darah awal kemudian diinduksi menggunakan aloksan secara intraperitoneal. Setelah 72 jam, kemudian mencit diberikan suspensi glimepirid secara oral, dan diukur gula darah mencit selama 90 menit pada menit ke 30, 60, dan 90.

Kelompok III (kelompok uji 1), mencit diukur kadar gula darah awal kemudian diinduksi menggunakan aloksan secara intraperitoneal. Setelah 72 jam, kemudian mencit diberikan *cellfree supernatant* hari ke-3 dari tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*) secara oral, dan diukur gula darah mencit selama 90 menit pada menit ke 30, 60, dan 90.

Kelompok IV (kelompok uji 2), mencit diukur kadar gula darah awal kemudian diinduksi menggunakan aloksan secara intraperitoneal. Setelah 72 jam, kemudian mencit diberikan *cellfree supernatant* hari ke-5 dari tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*) secara oral, dan diukur gula darah mencit selama 90 menit pada menit ke

30, 60, dan 90.

Kelompok V (kelompok uji 3), mencit diukur kadar gula darah awal kemudian diinduksi menggunakan aloksan secara intraperitoneal. Setelah 72 jam, kemudian mencit diberikan *cellfree supernatant* hari ke-7 dari tanaman insulin (*Smallanthus sonchifolius*) secara oral, dan diukur gula darah mencit selama 90 menit pada menit ke 30, 60, dan 90.

Teknik Analisis Data Statistik

Analisis data dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS dengan uji statistik *One-Way ANOVA* ($p < 0,05$) digunakan untuk melihat apakah terjadi pengaruh signifikan pada pemberian *cellfree supernatant* Tanaman Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) terhadap kadar glukosa darah mencit.

3. Hasil dan Pembahasan

Sebagaimana yang ditunjukkan oleh Tabel 1 bakteri endofit yang berhasil diisolasi sebanyak 1 isolat bakteri yaitu isolat bakteri tanaman insulin (BTI). Dimana bakteri endofit yang tumbuh pada daun terdapat 1 koloni yang diberi kode isolat BTI, sedangkan pada bagian Tanaman akar dan batang tidak terdapat isolat bakteri endofit. Isolat bakteri ini yang akan digunakan pada pengujian aktivitas anti hiperglikemia pada mencit jantan (*Mus musculus*).

Table 1. Hasil isolasi bakteri endofit dari tanaman insulin

Sampel Tanaman Insulin (<i>Smallanthus sonchifolius</i>)	Bakteri Endofit
Batang	-
Daun	BTI
Akar	-

Sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 2 hasil uji aktivitas antihiperglikemik bakteri endofit tanaman insulin lima kelompok tersebut memperoleh hasil bahwa kelompok uji 3 (*Cellfree Supernatant* pada inkubasi hari ke-7) yang paling efektif sebagai antihiperglikemik pada mencit dapat dilihat dari data penurunan kadar gula darah mencit.

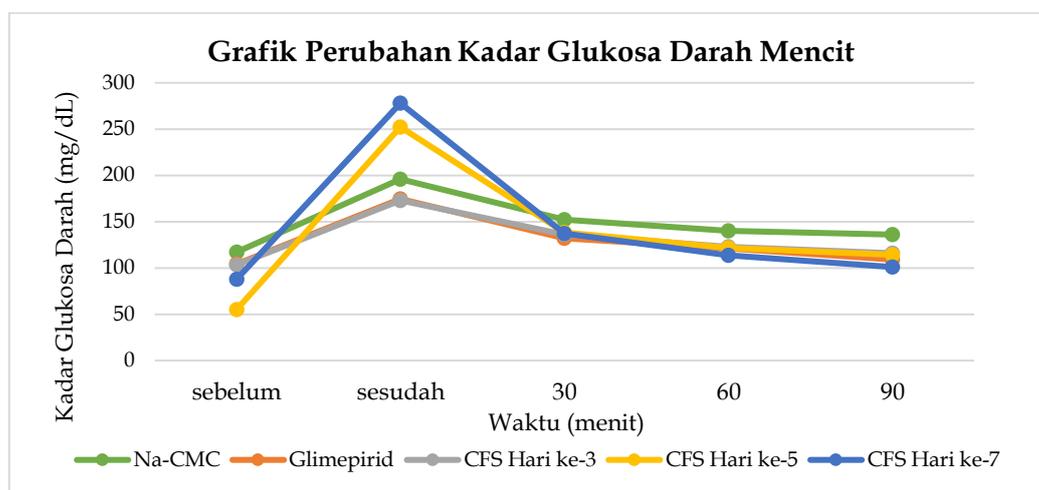
Tabel 2. Hasil uji aktivitas bakteri endofit sebagai antihiperglikemia

Kelompok	Replikasi	KGD Sebelum Induksi Aloksan (mg/dL)	KGD Setelah Induksi Aloksan (mg/dL)	KGD Setelah Pemberian Sampel		
				Menit ke-30	Menit ke-60	Menit ke- 90
Kontrol Negatif (Na- CMC)	1	116	195	145	141	135
	2	113	187	153	139	134
	3	123	206	159	141	139
	Rata-rata	117,3	196	152,3	140,3	136
Kontrol Positif (Glimepirid)	1	99	178	127	120	110
	2	106	187	136	124	108
	3	108	159	134	119	109
	Rata-rata	104,3	174,6	132,3	121	109
Kelompok Uji 1 (<i>Cellfree Supernatant</i>)	1	100	177	136	124	118
	2	107	160	141	127	123

pada inkubasi hari ke-3)	3	103	182	131	118	107
Rata-rata		103,3	173	136	123	116
Kelompok Uji 2	1	44	307	141	124	115
<i>(Cellfree Supernatant</i>	2	96	257	139	118	116
pada inkubasi hari ke-5)	3	26	193	136	123	112
Rata-rata		55,3	252,3	138,6	121,6	114,3
Kelompok Uji 3	1	89	252	134	113	99
<i>(Cellfree Supernatant</i>	2	99	273	136	110	102
pada inkubasi hari ke-7)	3	76	309	141	118	103
Rata-rata		88	278	137	113,6	101,3

Keterangan:

KGD = Kadar Gula Darah



Keterangan: CFS = Cellfree Supernatant

Gambar 1. Grafik penurunan kadar glukosa darah pada mencit tiap satuan waktu

Uji aktivitas bakteri endofit tanaman insulin (*Smallantus sonchifolius*) sebagai antihyperglykemia dilakukan dengan menggunakan hewan uji mencit jantan. Pemilihan hewan uji mencit berdasarkan kelebihanannya seperti siklus hidup relatif pendek, mudah untuk ditangani dibanding hewan coba lain, memiliki karakter reproduksi mirip dengan mamalia, struktur anatomi, fisiologi dan genetiknya mirip dengan manusia [13]. Mencit jantan dipilih dalam penelitian karena lebih baik dari pada mencit betina. Hal ini disampaikan pada penelitian sebelumnya bahwa mencit jantan memiliki respon cenderung lebih stabil dibandingkan dengan mencit betina yang memiliki masa estrus yang dapat mempengaruhi respon yang dihasilkan. Dimana faktor ini dapat mempengaruhi hasil pemberian obat. Tingkat stres pada mencit betina lebih tinggi dibandingkan dengan mencit jantan yang mungkin dapat mengganggu penelitian[14].

Pengukuran dilakukan dengan menggunakan alat pengukuran kadar glukosa darah yaitu glukometer. Glukometer merupakan suatu alat yang digunakan untuk mengukur kadar glukosa darah yang dinyatakan dalam satuan

mg/dL. Prinsip kerja dari glukometer yaitu glukosa dalam darah akan bereaksi dengan enzim yang terdapat pada strip[15]. Reaksi tersebut dapat menciptakan arus listrik yang terhubung ke glukometer. Intensitas arus listrik tersebut setara dengan kadar glukosa dalam darah sehingga hasilnya bisa diketahui [16].

Pada pengujian ini mencit diinduksi dengan aloksan untuk membuat mencit dalam kondisi hiperglikemik. Aloksan merupakan senyawa yang memiliki sifat diabetogenik dan bersifat toksik terutama terhadap sel beta pankreas. Bila diberikan pada hewan percobaan yaitu mencit akan menyebabkan mereka menjadi diabetes. Mekanisme kerja aloksan yaitu secara selektif dapat menghambat sekresi insulin dengan merusak sel pankreas dengan cara kompetisi penyerapan selektif senyawa dengan perantara GLUT 2, Sedangkan yang kedua induksi pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat menghasilkan nekrosis selektif sel pankreas [17], [18].

Adapun perlakuan yang diberikan pada masing-masing kelompok sebagai berikut : Kelompok I (kontrol negatif : Na-CMC), Kelompok II (kontrol positif : glimepirid), Kelompok III (*Cellfree Supernatant* pada inkubasi hari ke-3), Kelompok IV (*Cellfree supernatant* pada inkubasi hari ke-5), dan Kelompok V (*Cellfree supernatant* pada inkubasi hari ke-7). Selanjutnya mencit diukur kadar glukosa darah pada menit ke 30, 60 dan 90 untuk mengetahui penurunan yang terjadi pada setiap kelompok uji. Dari hasil data pengukuran kadar glukosa darah pada gambar 1. menunjukkan adanya perbedaan pada hasil pengukuran darah pada masing-masing kelompok. Perbedaan ini didasarkan pada penurunan kadar glukosa darah yang berbeda-beda pada setiap kelompok uji.

Kelompok kontrol negatif yaitu kelompok hewan uji yang diberikan Na-CMC. Pada kelompok kontrol negatif tidak memberikan efek yang besar terhadap penurunan kadar glukosa darah pada mencit jika dibandingkan dengan kelompok lainnya karena Na-CMC merupakan pensuspensi yang tidak memberikan efek antihiperglikemik pada mencit. Hal ini didukung oleh penelitian yang menyatakan Na-CMC sebagai pensuspensi sediaan uji, sehingga dapat dipastikan bahwa Na-CMC tidak akan berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah[19].

Kelompok kontrol positif yaitu kelompok yang diberikan suspensi glimepirid. Glimepirid merupakan obat antidiabetika oral golongan sulfonilurea generasi ketiga yang mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan efek samping hipoglikemia yang kecil. Glimepirid memiliki mekanisme kerja utama yaitu merangsang sekresi insulin dari sel- β pankreas [20]. Glimepirid dipilih sebagai kontrol positif juga karena memiliki mekanisme yang sama dengan tanaman insulin. Daun tanaman insulin dapat menurunkan kadar gula darah dengan menstimulasi pelepasan insulin dari sel beta pankreas, sehingga ada perlawanan terhadap hormon yang mampu meningkatkan laju pelepasan glukosa, meningkatkan jumlah dan sensitivitas reseptor insulin, serta meningkatkan penyerapan glukosa oleh jaringan dan organ[21]. Pada kelompok

kontrol positif ini setelah mencit diinduksi aloksan kadar glukosa rata-rata pada mencit sebesar 174,6 mg/dL, dan setelah diberi suspensi glimepiride pada menit 30 terjadi penurunan kadar glukosa darah rata-rata sebesar 132,3 mg/dL, pada menit ke 60 terjadi penurunan mencapai 121 mg/dL, dan pada menit ke 90 kadar glukosa darah mencapai rata-rata 109 mg/dL.

Kelompok III (*Cellfree supernatant* pada inkubasi hari ke-3) kadar glukosa darah setelah induksi aloksan mengalami kenaikan sebesar 173 mg/dL, setelah itu diberi *Cellfree supernatant* tanaman insulin pada inkubasi hari ke-3, pada menit ke 30 kadar glukosa darah menjadi 136 mg/dL, pada menit ke 60 kadar glukosa menjadi 121,8 mg/dL, dan pada menit ke 90 kadar glukosa menjadi 124 mg/dL. Sedangkan pada kelompok IV (*Cellfree supernatant* pada inkubasi hari ke-5), diperoleh hasil kadar glukosa darah setelah induksi aloksan mengalami kenaikan sebesar 252,2 mg/dL, setelah itu diberi *Cellfree supernatant* tanaman insulin pada inkubasi hari ke-5, pada menit ke 30 kadar glukosa darah menjadi 138,6 mg/dL, pada menit ke 60 kadar glukosa menjadi 121,6 mg/dL, dan pada menit ke 90 kadar glukosa menjadi 114,3 mg/dL. Pada kelompok V (*Cellfree supernatant* pada inkubasi hari ke-7) setelah induksi aloksan mengalami kenaikan sebesar 278 mg/dL, setelah itu diberi *Cellfree supernatant* tanaman insulin pada inkubasi hari ke-7, pada menit ke 30 kadar glukosa darah menjadi 137 mg/dL, pada menit ke 60 kadar glukosa menjadi 113,6 mg/dL, dan pada menit ke 90 kadar glukosa menjadi 101,3 mg/dL.

Cellfree supernatant adalah cairan yang mengandung metabolit hasil pertumbuhan mikroba dan sisa nutrisi dari media yang digunakan [22]. *Cellfree supernatant* dari bakteri endofit tanaman insulin menghasilkan suatu senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya. Daun tanaman insulin memiliki kandungan protein yang cukup banyak dan senyawa fenolik seperti flavonoid dapat menurunkan glikemia dan meningkatkan konsentrasi insulin pada plasma darah tikus yang menderita diabetes [21]. Selain itu, kandungan protein yang cukup tinggi dalam daun yakon dapat dikaitkan dengan pemicu pengeluaran insulin oleh sel beta pankreas yang dapat menurunkan kadar gula darah penderita diabetes. Berdasarkan hasil pada kelompok II (kontrol positif), kelompok III, IV, dan V, kelompok yang paling bagus dalam penurunan glukosa darah adalah kelompok V (*Cellfree supernatant* pada inkubasi hari ke-7). Dimana pada inkubasi hari ke-7 diduga merupakan fase stasioner dari bakteri endofit. Pada fase stasioner bakteri memproduksi metabolit sekunder sebagai bentuk pertahanan diri terhadap kondisi stress. Hal ini ditandai dengan diproduksinya senyawa atau racun yang menyebabkan beberapa sel bakteri mati, sedangkan yang lain tumbuh dan membelah sehingga jumlah sel yang hidup menjadi tetap [23]. Senyawa metabolit sekunder dihasilkan oleh mikroorganisme pada akhir fase stasioner pertumbuhannya. Hal ini juga membuktikan bahwa bakteri endofit dari tanaman insulin mempunyai potensi yang dapat dimanfaatkan sebagai penghasil metabolit sekunder seperti yang terkandung didalam

tanaman inangnya[24]. Kemampuannya menghasilkan suatu senyawa metabolit sekunder yang sama dengan inangnya sudah terbukti maka, untuk pengobatannya senyawa aktif yang terdapat pada tanaman tersebut tidak harus mengeksploitasi tanaman tetapi cukup mengembangkan bakteri endofit yang bersimbiosis dengan tanaman tersebut.

4. Kesimpulan

Pada tanaman Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) terdapat 1 isolat bakteri endofit yaitu BTI. Aktivitas isolat bakteri endofit BTI menunjukkan aktivitas antihiperqlikemia pada mencit jantan. Dari hasil uji *One Way Anova*, didapatkan bahwa adanya perbedaan antara masing-masing kelompok dengan taraf kepercayaan yang digunakan adalah 95%. Menunjukkan hasil sig = 0,000 yang dapat diartikan bahwa adanya perbedaan signifikan karena nilai probabilitas (signifikan) kurang dari 0,05. Berdasarkan hasil uji *One Way Anova* dapat disimpulkan bahwa *cellfree supernatant* dari bakteri endofit tanaman insulin dapat berefek sebagai antihiperqlikemia.

Referensi

- [1] I. Muslikin, "Studi Kasus Observasi Pasien Diabetes Mellitus Tipe Ii Dengan Ketidakstabilan Kadar Glukosa Darah di Puskesmas Keputih Kota Surabaya," Undergraduate Thesis, Universitas Muhammadiyah Surabaya., Surabaya, 2023.
- [2] World Health Organization, "Global Report on Diabetes: Fact Sheet." 2017.
- [3] I. S. Basir, N. R. Paramatha, and F. D. Agustin, "Self Care Pasien Diabetes Melitus," vol. 4, no. 2, 2022.
- [4] American Diabetes Association, "Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus," *Diabetes Care*, vol. 37, no. Supplement_1, pp. S81-S90, Jan. 2014, doi: 10.2337/dc14-S081.
- [5] P. P. Pahlawan and D. Oktaria, "Manfaat Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolius*) sebagai Antidiabetes.," *Major. Med. J. Lampung Univ.*, vol. 5, pp. 133-137, 2016.
- [6] A. C. DAUD, "Uji Efektivitas Ekstrak Daun Insulin (*Smallanthus sonchifolia*) Sebagai Larvasida Terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*," Skripsi, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo, 2016.
- [7] L. Kurniawati, D. Ningsih, and V. Nopiyanti, "Aktivitas Antihiperqlikemik Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) dan Metformin pada Mencit yang Diinduksi Aloksan Antihyperglycemic Activity of Combination of Yakon Leaves (*Smallanthus sonchifolius*) Ethanolic Extract and Metformin in Mice Induced Alloxan," vol. 11, pp. 168-174, 2014.
- [8] R. Nursanty, "Isolasi, Karakterisasi Dan Uji Antimikroba Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Johar (*Cassia siamea* Lamk.)," *J. Biol. Edukasi*, vol. 4, pp. 7-10, Apr. 2013.
- [9] N. H. Rohmana, "Uji potensi antibakteri dan keberadaan enzim kurkumin sintase bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza roxb*)," Thesis, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang, 2015.
- [10] M. S. Pakaya, J. Akuba, D. R. P. Papeo, and A. A. Puspitadewi, "Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Akar Pare," *J. Syifa Sci. Clin. Res. JSSCR*, vol. 4, pp. 301-309, 2022.
- [11] D. A. Swastini *et al.*, "Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Gambaran Histopatologi Pankreas dengan Pemberian Gula Aren (*Arenga pinnata*) pada Tikus

- Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Aloksan," *Indones. Med. Veterinus*, p. 10, Mar. 2018, doi: 10.19087/imv.2018.7.2.94.
- [12] M. Misna and K. Diana, "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*," *J. Farm. Galen. Galen. J. Pharm. E-J.*, vol. 2, no. 2, pp. 138-144, Oct. 2016, doi: 10.22487/j24428744.2016.v2.i2.5990.
- [13] M. Yusuf, M. Al-Gizar, Rafliansyah, and Rorrong, *Teknik Manajemen Dan Pengelolaan Hewan Percobaan (Memahami Perawatan Dan Kesejahteraan Hewan Percobaan)*. Penerbit Jurusan Biologi FMIPA UNM, 2022.
- [14] A. D. Lara, "Uji Aktivitas Analgesik Infusa Daun Jeruju (*Acanthus ilicifolius* L.) Pada Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*)," vol. 3, no. 2, pp. 71-80, 2021.
- [15] A. Firgiansyah, "Perbandingan kadar glukosa darah menggunakan spektrofotometer dan glukometer," Thesis, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang, 2016.
- [16] M. D. Firmansyah, A. N. Hamidah, M. A. P. Setiawan, W. Dwi, and A. Zebua, "Pelaksanaan Kegiatan Pemeriksaan Gula Darah Sewaktu (Gds) Pada Lansia Di Wilayah Rt. 03 Cipayung Ciputat Tangerang Selatan," 2022.
- [17] T. I. Solikhah, T. A. Wijaya, Salsabila, D. A. Pavita, A. N. Asdiyanta, and J. M. Hamonangan, "Histopathological Pancreas Analysis of *Hyllocereus polyrhizus* Peel Ethanolic Extract on Alloxan Induced Diabetic Mice," *J. Drug Deliv. Ther.*, vol. 12, no. 5, pp. 149-152, Sep. 2022, doi: 10.22270/jddt.v12i5.5607.
- [18] A. Millati, Y. Bahar, and T. Kusumawinakhyu, "Pengaruh Sediaan Dekok Daun Zaitun (*Olea europaea* L.) terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar Jantan yang Diinduksi Aloksan," *Herb-Med. J.*, vol. 2, no. 2, p. 20, Oct. 2019, doi: 10.30595/hmj.v2i2.4796.
- [19] A. Amriani S, F. Fitrya, R. P. Novita, and D. Caniago, "Uji Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Akar Kabau (*Archidendron bubalinum* (Jack) I.C. Nielsen) terhadap Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Diet Tinggi Lemak dan Fruktosa," *J. Penelit. Sains*, vol. 23, no. 2, p. 102, Jul. 2021, doi: 10.56064/jps.v23i2.635.
- [20] N. Maulidya, "Profil Penggunaan Obat Antidiabetes Oral Pada Pasien Diabetes Mellitus Tipe 2 Di Puskesmas Grabag Periode Oktober-Desember 2020," Thesis, Universitas Ngudi Waluyo, Jawa Tengah, 2021.
- [21] B. Kristianto, "Pengaruh Sorbet Pisang (*Musa paradisiaca*) Dengan Fortifikasi Isolat Protein Daun Yakon (*Smallanthus sonchifolius*) Terhadap Perubahan Kadar Gula Darah Dan Berat Badan Tikus Wistar," Thesis, Unika Soegijapranata Semarang, Semarang, 2017.
- [22] E. Mani-López, D. Arrijoja-Bretón, and A. López-Malo, "The impacts of antimicrobial and antifungal activity of cell-free supernatants from lactic acid bacteria in vitro and foods," *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, vol. 21, no. 1, pp. 604-641, Jan. 2022, doi: 10.1111/1541-4337.12872.
- [23] Y. Himeoka and K. Kaneko, "Theory for Transitions Between Exponential and Stationary Phases: Universal Laws for Lag Time," *Phys. Rev. X*, vol. 7, no. 2, p. 021049, Jun. 2017, doi: 10.1103/PhysRevX.7.021049.
- [24] D. Iqlima, P. Ardiningsih, and M. A. Wibowo, "Aktivitas Antibakteri Isolat Bakteri Endofit B2d Dari Batang Tanaman Yakon (*Smallanthus Sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Rob.) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Salmonella Thypimurium*," vol. 7, no. 1, pp. 36-43, 2017.