

## Pengaruh Ekstrak Daun Belimbing Wuluh terhadap Kadar Malondialdehid dan Waktu Koagulasi Mencit Diabetes

### *Effect of Averrhoa bilimbi Leaf Extract on Malondialdehyde Level and Blood Clotting Time of Diabetic Mice*

**Regita Ayu Ghizanda Wardoyo\*, Nur Qomariyah, Erlix Rakhmad Purnama**

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Negeri Surabaya

\*e-mail: [regitaghizanda.18060@mhs.unesa.ac.id](mailto:regitaghizanda.18060@mhs.unesa.ac.id)

**Abstrak.** Peningkatan stres oksidatif pada penyakit diabetes melitus (DM) dapat menyebabkan peningkatan kadar malondialdehid (MDA) dan gangguan koagulasi darah. Ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) berpotensi sebagai antioksidan dan antikoagulan yang efektif menurunkan kadar MDA dan memperpanjang waktu koagulasi darah. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dan efektivitas berbagai dosis ekstrak daun belimbing wuluh terhadap kadar malondialdehid dan waktu koagulasi mencit diabetes. Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit jantan galur DDY yang dibagi dalam enam kelompok perlakuan; kelompok normal (tidak diabetes), kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak dosis 225 mg/kg BB, 300 mg/kg BB, dan 375 mg/kg BB dengan pemberian perlakuan 14 hari. Kadar MDA serum mencit diuji menggunakan metode TBARS dan lama waktu koagulasi menggunakan metode pipa kapiler. Analisis data hasil uji kadar malondialdehid dan waktu koagulasi dilakukan dengan uji statistik Shapiro-Wilk dan uji Lavene ( $p > 0,05$ ), uji ANOVA ( $p < 0,05$ ) dilanjutkan uji Duncan ( $p < 0,05$ ). Hasil penelitian menunjukkan pemberian berbagai dosis ekstrak daun belimbing wuluh berpengaruh signifikan terhadap kadar MDA dan waktu koagulasi darah pada mencit diabetes ( $p < 0,05$ ). Dosis ekstrak 300 mg/kg BB dan 375 mg/kg BB efektif dalam menurunkan kadar MDA dan memperpanjang waktu koagulasi darah pada mencit diabetes.

**Kata kunci:** *Averrhoa bilimbi* L; diabetes melitus; malondialdehid; koagulasi.

**Abstract.** Increased oxidative stress in diabetes mellitus (DM) can cause rising malondialdehyde (MDA) level and blood coagulation disorder. Leaf extract of *Averrhoa bilimbi* L. has potential as antioxidant and anticoagulant agent which are able reducing malondialdehyde level and prolonging blood clotting time. This study aimed to determine the effect and effectiveness of various doses of *Averrhoa bilimbi* L. leaf extract on MDA level and blood clotting time of diabetic mice. This study used 24 male mice of DDY strain that were divided into six treatment groups; normal non-diabetic group, negative control, positive control, extract dose of 225 mg/kg BW, 300 mg/kg BW and 375 mg/kg BW with 14 days of treatment. Serum MDA level was measured after treatment using TBARS method, while blood clotting time using capillary tube method. Data on malondialdehyde level and clotting time was analyzed statistically using Shapiro-Wilk and Lavene test ( $p > 0.05$ ), ANOVA test ( $p < 0.05$ ) followed by Duncan test ( $p < 0.05$ ). Results showed that giving various doses of *Averrhoa bilimbi* L. leaf extract affected MDA level and clotting time of diabetic mice significantly ( $p < 0,05$ ). Extract dose of 300 mg/kg BB and 375 mg/kg BW were effective in reducing MDA level and prolonging clotting time of diabetic mice.

**Keywords:** *Averrhoa bilimbi* L; diabetes mellitus; malondialdehyde; coagulation.

## PENDAHULUAN

Penyakit diabetes melitus (DM) selama ini menjadi ancaman yang serius bagi kesehatan global. *International Diabetes Federation* (2019) menghitung jumlah kasus DM pada skala global tahun 2019 mencapai 463 juta orang dari total penduduk dunia. IDF juga mempredisikan akan terjadi peningkatan kasus DM di tahun 2030 menjadi 578 juta orang. Asia Tenggara menempati peringkat ke-3 dunia dan Indonesia adalah salah satu penyumbang angka kenaikan kasus DM. Hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) menunjukkan kenaikan jumlah kasus DM sebesar 1,6 % dibandingkan tahun 2013. Penyakit DM terjadi akibat kadar insulin yang dihasilkan oleh pankreas tidak cukup atau tubuh kurang efektif dalam menggunakan insulin. Kadar gula darah yang mengalami kenaikan

melebihi normal (hiperglikemia) merupakan ciri dari penyakit DM. Hiperglikemia yang berlangsung lama mampu memicu kerusakan pada berbagai sistem tubuh, organ tubuh, maupun saraf pembuluh darah (INFODATIN, 2014). Menurut WHO (2019), penyakit DM menyebabkan kematian sekitar 1,5 juta dan sekitar 2,2 juta kematian lainnya karena kondisi hiperglikemia di tahun 2012.

Kondisi hiperglikemia dapat menyebabkan kerusakan jaringan pada penderita DM melalui mekanisme proses autooksidasi glukosa, glikasi protein dan aktivasi jalur poliol yang meningkat, sehingga lebih cepat memicu pembentukan dan peningkatan radikal bebas dalam tubuh (Pratiwi *et al.*, 2020). Ketidakseimbangan jumlah konsentrasi radikal bebas dan antioksidan protektif akibat peningkatan produksi radikal bebas mengakibatkan terjadinya stres oksidatif (Muqsita *et al.*, 2015). Stres oksidatif menjadi penyebab kerusakan berbagai jaringan dan organ, salah satunya yaitu kerusakan pada jaringan endotel pembuluh darah. Endotel pembuluh darah yang mengalami kerusakan akan melepaskan faktor jaringan (Faktor III) sehingga terjadi mekanisme koagulasi pada jalur ekstrinsik. Fungsi pengaktifan mekanisme koagulasi yaitu untuk mencegah terjadinya kehilangan darah akibat rusaknya dinding pembuluh darah (Malik *et al.*, 2015). Kerusakan tersebut juga mempengaruhi kenaikan produksi trombosit. Megakariosit yang merupakan sel sumsum tulang terbesar memproduksi trombosit yang akan dilepaskan ke aliran darah dan melekat pada endotel pembuluh darah yang rusak tersebut untuk memulai koagulasi (Septiarni, 2018). Hiperglikemia kronis menyebabkan kerusakan pembuluh darah pada berbagai tempat sehingga terjadi koagulasi yang tidak terkontrol (hiperkoagulasi). Hiperkoagulasi dapat menyebabkan gangguan kardiovaskuler pada penderita DM (Kartikasari *et al.*, 2019) dan waktu koagulasi darah terjadi lebih cepat dibandingkan pada kondisi normal (Wardani dan Udayani, 2017).

Stres oksidatif akibat peningkatan radikal bebas menyebabkan terjadinya interaksi antara radikal bebas dengan *polyunsaturated fatty acid* (Muqsita *et al.*, 2015). *Polyunsaturated fatty acid* (PUFA) sangat mudah berinteraksi dengan radikal bebas karena mempunyai banyak ikatan asam lemak. Radikal hidroksil merupakan jenis radikal bebas yang paling reaktif dan dapat menyebabkan lipid bersifat radikal serta dapat bereaksi dengan atom oksigen menjadi radikal peroksil. Pada tahap akhir, akan terjadi pembentukan hidroperoksida yang akan terurai menjadi malondialdehid (MDA) sebagai produk akhir peroksidasi lipid (Yustika *et al.*, 2013). Kadar MDA tinggi menunjukkan peningkatan stres oksidatif sehingga dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui tingkat kerusakan akibat proses peroksidasi lipid dan derajat stres oksida berdasarkan reaktivitasnya yang tinggi baik di dalam maupun luar sel (Satrianawaty *et al.*, 2019). Stres oksidatif pada kondisi hiperglikemia menyebabkan terjadinya komplikasi vaskuler dan disfungsi endotel pada pembuluh darah penderita DM (Prawitasari, 2019). Pengobatan untuk menurunkan kadar MDA dapat dilakukan dengan pemberian antioksidan dari luar tubuh.

Tanaman belimbing wuluh mudah ditemukan di Indonesia. Daun belimbing wuluh dipercaya mempunyai potensi sebagai obat alternatif herbal untuk penyakit DM. Ekstrak daun belimbing wuluh juga mengandung antioksidan sehingga dapat melindungi sel dari kerusakan oksidatif oleh radikal bebas (Werdhasari, 2014). Ekstrak daun belimbing mempunyai kandungan flavonoid yang menunjukkan sifat sebagai antikoagulan dan antihiperglikemik (Daud *et al.*, 2013). Senyawa flavonoid bekerja dalam menekan produksi radikal bebas dan menghambat peroksidasi lipid sehingga dapat mencegah produksi MDA (Kurniawaty dan Lestari, 2016). Senyawa flavonoid juga dapat memperpanjang waktu pembekuan darah sehingga bersifat sebagai antikoagulan. Flavonoid golongan isoflavon dapat menghambat interleukin-1 pada mekanisme pembekuan darah jalur ekstrinsik sehingga dapat menghambat terjadinya koagulasi (Wardani dan Udayani, 2017). Penghambatan waktu koagulasi darah dapat mengurangi kemungkinan terjadinya pembentukan trombus sehingga dapat mencegah terjadinya stroke, trombosis vena dalam, serangan jantung dan penyakit kardiovaskular lainnya (Daud *et al.*, 2013).

Ekstrak daun belimbing wuluh dapat berperan sebagai antikoagulan alternatif (Sales *et al.*, 2018) dan mengurangi pembentukan trombus di pembuluh darah (Daud *et al.*, 2013). Penelitian Wardani dan Udayani (2017) juga menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh pada dosis 400 mg/kg BB mempunyai efektivitas yang lebih tinggi dalam memperpanjang waktu koagulasi dibanding dosis 200 mg/kg BB dengan menggunakan pelarut etanol 80%. Di sisi lain, penelitian Nanlohy *et al.* (2020) menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh dosis 200 mg/kg BB dengan pelarut etanol 96% dapat menurunkan kondisi stres oksidatif dan mencegah produksi MDA pada kondisi hiperglikemia. Oleh karena itu, perlu penelitian tentang pengaruh ekstrak daun belimbing wuluh dosis yang beda dengan penelitian sebelumnya terhadap waktu koagulasi dan kadar malondialdehid pada hewan coba mencit DM.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) terdiri dari 6 kelompok perlakuan dengan empat kali ulangan. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari-Maret tahun 2022. Pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar C-10 lantai 1, sedangkan tempat pemeliharaan hewan coba di Laboratorium Hewan Coba. Pengambilan sampel, pengujian waktu koagulasi darah dan pengujian kadar MDA dilakukan di Laboratorium Fisiologi Hewan C-10 lantai 1, Jurusan Biologi, Universitas Negeri Surabaya.

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu kandang pemeliharaan, sekam kering, *rotary evaporator*, *gavage*, tabung pipa kapiler nonheparin, timer, alat pengukur glukosa darah, *syringe* steril 3ml, *microtube* 1,5 ml, mikrosentrifus, vortex mixer, *water bath*, spektrofotometer UV-Vis, timbangan digital dan alat bedah minor. Pada penelitian ini bahan yang digunakan yaitu mencit galur DDY berat 25–30 gram usia 2–3 bulan, daun belimbing wuluh, etanol 96%, aloksan, pakan mencit, larutan sukrosa, larutan TEP 10%, NaCl 0,9%, TBA, HCL 1N, Na Thio, Na-CMC 1%, aquades, kloroform 10%, dan larutan sodium *citrate buffer* 0,1 M pH 4,5.

Pembuatan ekstrak pada daun belimbing wuluh dimulai dari pengumpulan daun belimbing wuluh, kemudian dilakukan pemilihan daun yang berkualitas baik. Setelah itu, daun ditimbang dan dicuci dengan menggunakan air mengalir. Proses berikutnya yaitu pengeringan tanpa terkena sinar matahari untuk mengurangi kadar air setelah proses pencucian. Proses pengeringan tahap kedua dilakukan dengan menggunakan oven dengan suhu 40–60°C. Daun belimbing wuluh yang sudah kering dihaluskan dengan blender sampai menjadi serbuk simplisia. Selanjutnya pembuatan ekstrak dari simplisia dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Maserasi dilakukan dengan 3 kali perendaman bertahap. Perendaman pertama menggunakan perbandingan 1:3 ekstrak dengan pelarut, kemudian dilanjutkan untuk perendaman kedua dan ketiga dengan perbandingan 1:2. Setiap perendaman dilakukan selama 24 jam (Dewatisari, 2020). Hasil maserasi setiap perendaman disaring dengan kertas saring dan hasil penyaringan dimasukkan ke dalam botol yang tertutup rapat, kemudian filtrat dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 60°C (Nanlohy *et al.*, 2020). Tahap evaporasi menghasilkan ekstrak kental sebanyak 110 gram dari simplisia daun belimbing wuluh sebanyak 500 gram.

Hewan coba mencit (*Mus musculus* L.) berumur kurang lebih 2–3 bulan, berat 25–30 gram sebanyak 24 ekor yang berasal dari PUSVETMA Surabaya. Mencit diaklimasi selama 7 hari di kandang sebelum perlakuan. Mencit yang digunakan dalam keadaan sehat dengan tanda bulu normal, warna putih bersih, tingkah laku normal, dan tidak terdapat kelainan atau cacat tubuh. Mencit ditempatkan pada kandang bak plastik ukuran 36x30x12 cm dengan penutup kawat dan alasnya diberi sekam kering. Pada tiap kandang diberi kode kandang. Air minum mencit diberikan melalui botol minum secara *ad libitum*. Pemberian pakan mencit dilakukan pada sore hari. Mencit dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan dengan 4 ulangan tiap perlakuan.

Sebelum diinduksi aloksan monohidrat, dilakukan pemeriksaan kadar gula darah puasa (GDP) pada mencit. Pengambilan sampel darah dilakukan melalui ekor mencit yang telah dipuasakan selama 10 jam dengan diusap kapas yang diberi alkohol 70% terlebih dahulu. Darah vena ekor mencit diambil menggunakan lanset dan kadar GDP diukur menggunakan alat glukometer (*EasyTouch*). Mencit yang mempunyai kadar glukosa normal kemudian diinduksi aloksan monohidrat 120 mg/kg BB dengan pelarut sodium *citrate buffer* pH 4,5 secara intraperitoneal (Liem *et al.*, 2015). Setelah 6 jam induksi aloksan monohidrat, air minum mencit diganti dengan minum larutan sukrosa 10% secara *ad libitum* selama 3 x 24 jam untuk mencegah keadaan hipoglikemia (Furhan, 2015). Selanjutnya, mencit dipuasakan selama 10 jam untuk pengukuran kadar GDP. Mencit yang digunakan untuk tahapan penelitian selanjutnya yaitu yang mempunyai kadar GDP  $\geq 126$  mg/dl.

Perlakuan setelah kadar GDP diukur, mencit dibagi menjadi enam kelompok perlakuan. Pada kelompok I (normal), mencit diberikan NaCMC 1% tanpa induksi aloksan, kelompok II (kontrol negatif) diinduksi aloksan dan NaCMC 1%, kelompok III (kontrol positif) diinduksi aloksan dan diberi perlakuan NaCMC 1%,+ obat glibenklamid, kelompok IV (ekstrak dosis 225 mg/kg BB) diinduksi aloksan dan diberi perlakuan NaCMC 1%,+ ekstrak dosis 225 mg/kg BB, kelompok V (ekstrak dosis 300 mg/kg BB) diinduksi aloksan dan diberi perlakuan secara per oral NaCMC 1%,+ ekstrak dosis 300 mg/kg BB dan kelompok VI (ekstrak dosis 375 mg/kg BB) diinduksi aloksan dan diberi perlakuan NaCMC 1%,+ ekstrak dosis 375 mg/kg BB. Pemberian ekstrak dilakukan secara per oral sekali sehari dengan waktu pemberian yang dikontrol.

Sampel darah untuk uji kadar MDA diambil secara intrakardial pada mencit yang sudah dibius. Sampel darah dimasukkan ke *microtube* dan didiamkan hingga serum terpisah, kemudian

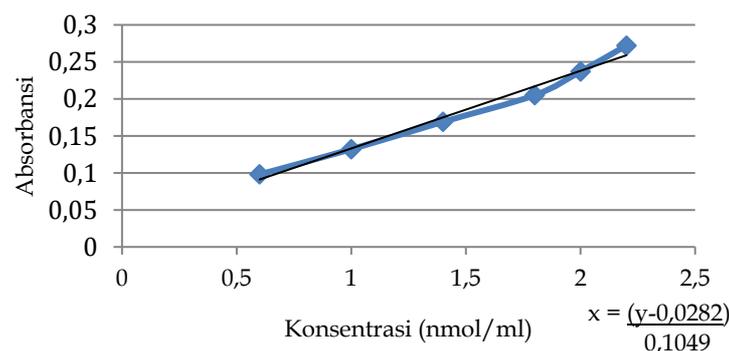
dilakukan mikrosentrifus dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit sehingga didapatkan sampel serum murni (Putra, 2019). Kadar MDA diukur menggunakan metode *Thiobarbituric Acid Reactive Substance* (TBARS). Sampel serum diambil sebanyak 100 µL dan ditambahkan NaCl 0,9% sebanyak 1 ml kemudian dimikrosentrifus dengan kecepatan 8.000 rpm selama 20 menit. Setelah itu, ditambahkan 550 µL akuades, dan 100 µL TBA, lalu divortex, kemudian HCL 1N dimasukkan sebanyak 250 µl dan divortex kembali. Kemudian, Na-Thio dimasukkan sebanyak 100 µL dan disentrifus dengan kecepatan 500 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh dipanaskan dengan *water bath* 100°C selama 30 menit dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 532 nm (Vera *et al.*, 2018; Nanlohy *al.*, 2020). Penentuan kurva baku MDA dilakukan dengan larutan baku 1,1,3,3- tetraetoksipropan (TEP) dengan 6 konsentrasi yang berbeda yaitu 0,6; 1; 1,4; 1,8; 2; 2,2 nmol/ml kemudian masing-masing konsentrasi dilakukan tahapan yang sama dengan sampel serum untuk menguji kadar MDA. Konsentrasi TEP yang digunakan dan nilai absorbansi setiap konsentrasi TEP diplot sebagai kurva baku TEP dan dihitung persamaan garis regresinya. Kadar MDA (x) dihitung menggunakan persamaan garis regresi kurva pada larutan baku TEP (Rachmatiah *et al.*, 2021).

Sampel darah mencit untuk uji waktu koagulasi darah diambil pada hari ke-15 . Sampel darah diambil dengan memotong 2 cm dari pangkal ekor mencit menggunakan gunting bedah, kemudian darah yang keluar dialirkan ke pipa kapiler ke darah dengan menempelkan ujung tabung pipa. Pengukuran waktu koagulasi darah menggunakan metode pipa kapiler. Sampel darah dimasukkan dalam kapiler kemudian kapiler dipatahkan menggunakan alat pematah pipa kapiler. Pipa kapiler dipatahkan setiap 0,5 cm interval 15 detik hingga nampak benang fibrin. Waktu koagulasi dihitung mulai dari keluarnya darah hingga terbentuk benang fibrin pada patahan tabung pipa kapiler (Wardani dan Udayani, 2017; Dewi *et al.*, 2017).

Data hasil pengujian yang diperoleh berupa kadar MDA dan waktu koagulasi darah masing-masing dianalisis menggunakan uji statistik. Data hasil penelitian dianalisis normalitasnya dengan uji Shapiro-Wilk dan homogenitasnya menggunakan uji Lavene, kemudian dilanjutkan dengan uji *One-way* ANOVA dan uji Duncan.

## HASIL

Hasil pengukuran larutan standart MDA menggunakan larutan baku TEP dengan 6 konsentrasi yang berbeda didapatkan hasil kurva standart MDA yang digunakan untuk menentukan perhitungan kadar MDA. Larutan baku TEP yang terhidrolisis menghasilkan hemiasetal yang akan terdekomposisi menjadi metanol dan aldehid sehingga dapat digunakan sebagai larutan standart MDA. Persamaan yang didapatkan dari kurva regresi untuk menentukan kadar MDA yaitu  $X = (Y - 0,0282) / 0,149$ , di mana x adalah kadar MDA (nmol/ml) dan y adalah nilai absorbansi (Gambar 1).



**Gambar 1.** Grafik kurva linier larutan standart baku MDA

Hasil pengujian kadar MDA serum pada berbagai kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan rerata hasil uji kadar MDA (Tabel 1). Kelompok perlakuan kontrol negatif yang hanya diinduksi aloksan monohidrat tanpa diberikan pengobatan mempunyai rerata hasil uji kadar MDA tertinggi sebesar  $0,460 \pm 0,040$  nmol/ml sedangkan kelompok perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh dosis 375 mg/kg BB mempunyai rerata hasil uji kadar malondialdehid terendah sebesar  $0,232 \pm 0,082$  nmol/ml dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

**Tabel 1.** Rerata nilai kadar MDA serum mencit tiap kelompok

Kelompok Perlakuan	Rerata Kadar MDA (nmol/ml) ± SD*
Normal	0,300±0,056 <sup>ab</sup>
Kontrol Negatif	0,460±0,040 <sup>c</sup>
Kontrol Positif	0,241±0,050 <sup>a</sup>
Dosis 225 mg/kg BB	0,365±0,046 <sup>b</sup>
Dosis 300 mg/kg BB	0,284±0,046 <sup>ab</sup>
Dosis 375 mg/kg BB	0,232±0,082 <sup>a</sup>

Keterangan: \*) Notasi berbeda memperlihatkan beda secara signifikan dengan taraf <0,05 berdasarkan hasil uji Duncan.

Berdasarkan hasil analisis uji Saphiro-Wilk, uji Levene, dan uji ANOVA, kadar MDA serum berdistribusi normal ( $p>0,5$ ), homogen ( $p>0,5$ ) dan berbeda signifikan ( $p<0,5$ ). Hasil data memperlihatkan kadar MDA yang berbeda pada setiap kelompok perlakuan. Uji Duncan menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar MDA. Kelompok perlakuan ekstrak dosis 225 mg/kg BB berbeda nyata dengan kelompok perlakuan negatif, kontrol positif, dan kelompok ekstrak dosis 300 mg/kg BB. Kelompok ekstrak dosis 300 dan 375 mg/kg BB berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif. Kelompok perlakuan kontrol negatif (DM tanpa diberi perlakuan) mempunyai kadar MDA serum lebih tinggi dibandingkan kelompok perlakuan normal.

Hasil pengujian waktu koagulasi pada berbagai kelompok menunjukkan perbedaan rerata hasil uji waktu koagulasi (Tabel 2). Kelompok kontrol negatif yang hanya diinduksi aloksan monohidrat tanpa diberikan pengobatan mempunyai rerata hasil uji waktu koagulasi tercepat yaitu sebesar 71,25±7,500 detik dan kelompok perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh dosis 375 mg/kg BB mempunyai rerata hasil uji waktu koagulasi terlama sebesar 150±12,247 detik dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

**Tabel 2.** Rerata waktu koagulasi darah mencit tiap kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	Rerata Waktu Koagulasi (s) ± SD*
Normal	112,50±8,660 <sup>c</sup>
Kontrol Negatif	71,25±7,500 <sup>a</sup>
Kontrol Positif	127,50±8,660 <sup>c</sup>
Dosis 225 mg/kg BB	90,00±12,247 <sup>b</sup>
Dosis 300 mg/kg BB	123,75±14,361 <sup>c</sup>
Dosis 375 mg/kg BB	150,00±12,247 <sup>d</sup>

Keterangan: \*) Notasi menunjukkan beda signifikan dengan taraf <0,05 berdasarkan hasil uji Duncan.

Berdasarkan hasil analisis uji Saphiro-Wilk, uji Levene dan uji ANOVA, data waktu koagulasi darah menunjukkan distribusi normal ( $p>0,5$ ), homogen ( $p>0,5$ ), dan ada perbedaan signifikan antarkelompok ( $p<0,5$ ). Hasil uji data menunjukkan adanya perbedaan lama waktu koagulasi pada setiap kelompok perlakuan. Uji *post-hoc* Duncan menunjukkan ekstrak daun belimbing wuluh berpengaruh secara signifikan terhadap lama waktu koagulasi. Kelompok ekstrak 225 mg/kg BB berbeda nyata dengan kelompok perlakuan yang lain. Kelompok dosis 300 mg/kg BB berbeda nyata dengan kelompok perlakuan kontrol negatif, ekstrak dosis 225 dan 375 mg/kg BB dan tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan kontrol positif dan normal. Kelompok kontrol positif berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif, ekstrak dosis 225 mg/kg BB dan dosis 300 mg/kg BB. Kelompok 375 mg/kg BB berbeda nyata dengan semua kelompok perlakuan. Hasil analisis keseluruhan rerata lama waktu koagulasi menunjukkan perbedaan yang signifikan antarperlakuan. Kelompok perlakuan kontrol negatif dengan kondisi DM yang tidak diberi pengobatan mempunyai lama waktu koagulasi lebih pendek dibandingkan dengan kelompok perlakuan normal. Hal ini menunjukkan bahwa DM dapat menyebabkan menurunnya waktu koagulasi. Kelompok perlakuan yang menunjukkan lama waktu koagulasi terpanjang secara signifikan yaitu kelompok perlakuan ekstrak daun belimbing wuluh dosis 375 mg/kg BB.

## PEMBAHASAN

Pembuatan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) menggunakan pelarut polar etanol 96% yang mampu melarutkan senyawa flavonoid dari daun belimbing wuluh dengan baik. Tingginya konsentrasi pelarut etanol juga mempengaruhi banyaknya senyawa flavonoid yang terlarut

(Misfadhila *et al.*, 2020). Skrining fitokimia pada ekstrak daun belimbing wuluh dengan pelarut etanol juga menunjukkan adanya kandungan alkaloid, tanin, saponin, dan steroid (Yanti dan Vera, 2019; Hasim *et al.*, 2019). Dari hasil ekstraksi daun belimbing wuluh menggunakan pelarut etanol 96% didapatkan ekstrak sebesar 110 gram dari berat awal simplisia 500 gram.

Mencit diinduksi DM dengan aloksan monohidrat 120 mg/kg BB (Liem *et al.*, 2015). Aloksan monohidrat adalah analog glukosa toksik selektif pada sel pankreas sehingga produksi insulin terganggu dan menyebabkan kondisi DM pada hewan uji coba laboratorium (Bingham *et al.*, 2021). Pemberian aloksan pada mencit dapat menyebabkan kondisi hiperglikemia karena terbentuknya siklus reduksi oksidasi yang memproduksi radikal bebas dan destruksi secara cepat pada sel beta. Aloksan juga menyebabkan gangguan terhadap permeabilitas membran sel beta. Mencit dapat dikatakan dalam kondisi DM jika kadar GDP  $\geq$  126 mg/dL (Fadly, 2022).

Berdasarkan hasil analisis, terdapat pengaruh signifikan ( $p < 0,05$ ) pemberian ekstrak daun belimbing wuluh terhadap kadar MDA setelah pemberian ekstrak dosis 300 mg/kg BB dan 375 mg/kg BB yang tidak berbeda nyata dengan kontrol positif. Hal ini menunjukkan kandungan senyawa ekstrak daun belimbing wuluh mempunyai pengaruh menurunkan kadar MDA pada kondisi DM. Berdasarkan hasil penelitian kelompok perlakuan kontrol negatif mempunyai kadar MDA tertinggi ( $0,460 \pm 0,040$  nmol/ml) dibanding kelompok perlakuan lainnya. Induksi aloksan dapat menyebabkan kenaikan kadar MDA sebagai indikator peningkatan stres oksidatif akibat terjadinya proses peroksidasi lipid dan derajat stres oksidatif berdasarkan reaktivitasnya yang tinggi di dalam dan luar sel (Satrianawaty *et al.*, 2019). Stres oksidatif dapat memicu terjadinya peroksidasi lipid akibat interaksi antara radikal bebas dengan *polyunsaturated fatty acid* (Muqrita *et al.*, 2015). *Polyunsaturated fatty acid* sangat mudah berinteraksi dengan radikal bebas karena mempunyai banyak ikatan asam lemak. Hilangnya atom hidrogen pada molekul *polyunsaturated fatty acids* oleh gugus radikal hidroksil membentuk jenis radikal bebas yang paling reaktif yang dapat menyebabkan lipid menjadi bersifat radikal dan bereaksi dengan atom oksigen menjadi radikal peroksil. Pada tahap akhir, terjadi pembentukan hidroperoksida yang terurai menjadi MDA sebagai produk akhir peroksidasi lipid (Yustika *et al.*, 2013).

Kelompok ekstrak dosis 300 dan 375 mg/kg BB efektif dalam menurunkan kadar MDA. Hal ini didukung oleh penelitian Nanlohy *et al.* (2020) yang menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh dosis 200 mg/kg BB mampu menurunkan kadar MDA lebih efektif dibandingkan dengan dosis 400 dan 800 mg/kg BB. Kelompok ekstrak dosis 225 mg/kg BB tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol normal, namun berbeda nyata dengan kelompok kontrol positif sehingga kurang efektif dalam menurunkan kadar MDA. Hal dikarenakan kandungan flavonoid dalam ekstrak daun belimbing wuluh dosis 225 mg/kg BB masih kurang cukup untuk dapat menurunkan kadar MDA.

Ekstrak daun belimbing wuluh mengandung antioksidan yang teroksidasi radikal bebas dengan mudah sehingga dapat melindungi sel dari kerusakan oksidatif oleh radikal bebas (Werdhasari, 2014). Senyawa flavonoid bekerja dalam menekan produksi radikal bebas dan meningkatkan antioksidan protektif. Flavonoid juga mampu melindungi membran lipid dari kerusakan oksidatif dan menghambat peroksidasi lipid sehingga pembentukan MDA dapat dicegah (Kurniawaty dan Lestari, 2016). Flavonoid yang terkandung pada ekstrak daun belimbing wuluh bekerja menangkal radikal bebas secara langsung dan menangkal radikal bebas peroksil yang diregenerasi menjadi ROOH, selain dapat menangkal degenerasi radikal hidroksil menjadi H<sub>2</sub>O. Hal ini menyebabkan terbentuknya radikal fenoksil yang kurang reaktif melakukan reaksi pembentukan radikal bebas (propagasi) sehingga terjadi penurunan produksi radikal bebas dan menurunkan tingkat stres oksidatif sehingga kadar MDA menurun (Nanlohy *et al.*, 2020). Peningkatan kadar MDA menunjukkan adanya kenaikan tingkat stres oksidatif akibat produksi radikal bebas yang berlebihan. Salah satu dampak peningkatan stres oksidatif adalah kerusakan pembuluh darah sehingga menyebabkan terjadinya hiperkoagulasi. Kadar MDA yang tinggi dapat dijadikan indikator adanya kerusakan pada pembuluh darah hingga menyebabkan hiperkoagulasi akibat kenaikan tingkat stres oksidatif. Hal ini menunjukkan adanya keterkaitan antara kadar MDA yang tinggi dengan berkurangnya waktu koagulasi darah (Wardani dan Udayani, 2017).

Berdasarkan hasil analisis uji waktu koagulasi kelompok perlakuan kontrol negatif yang hanya diinduksi aloksan menunjukkan bahwa waktu koagulasi pada kondisi DM mengalami pemendekan. Hal ini dikarenakan pada kondisi hiperglikemia terjadi peningkatan kadar stres oksidatif yang menjadi salah satu penyebab terjadinya kerusakan pada berbagai jaringan dan organ, salah satunya yaitu kerusakan pada jaringan pembuluh darah. Endotel pembuluh darah yang mengalami kerusakan akan melepaskan faktor jaringan (Faktor III) sehingga terjadi mekanisme

koagulasi pada jalur ekstrinsik. Pengaktifan mekanisme koagulasi ini dapat mencegah terjadinya kehilangan darah akibat rusaknya dinding pembuluh darah (Malik *et al.*, 2015).

Berdasarkan hasil analisis uji waktu koagulasi ada pengaruh pada waktu koagulasi dengan pemberian ekstrak daun belimbing wuluh secara signifikan ( $p < 0,05$ ). Pemberian perlakuan ekstrak dosis 300 mg/kg BB tidak berbeda nyata dengan kontrol positif. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan senyawa ekstrak daun belimbing wuluh mempunyai pengaruh dalam memperpanjang waktu koagulasi pada mencit DM. Waktu koagulasi pada kelompok perlakuan ekstrak dosis 375 mg/kg BB berbeda nyata dengan perlakuan lain, menunjukkan bahwa ekstrak dosis 375 mg/kg BB merupakan dosis optimal dalam memperpanjang waktu koagulasi darah. Di sisi lain, kelompok dosis 225 mg/kg BB tidak efektif dalam memperpanjang waktu koagulasi. Hal ini didukung oleh penelitian Sales *et al.* (2018) bahwa ekstrak buah dan daun belimbing wuluh mampu digunakan sebagai antikoagulan alternatif. Penelitian Daud *et al.* (2013) juga menunjukkan bahwa pada ekstrak daun belimbing wuluh dosis 250 mg/kg BB dengan pelarut etanol 80% mampu menunjukkan efek antikoagulasi karena koagulasi yang berkurang dapat mengurangi pembentukan trombus di pembuluh darah. Penelitian Wardani dan Udayani (2017) memperkuat hasil penelitian ini, di mana ekstrak daun belimbing wuluh dosis 400 mg/kg BB ditemukan lebih efektif dalam memperpanjang waktu koagulasi dibanding ekstrak dosis 200 mg/kg BB. Senyawa flavonoid pada daun belimbing wuluh dapat memperpanjang waktu pembekuan darah sehingga dapat bersifat sebagai antikoagulan dan bekerja dalam menghambat interleukin-1 yang menginduksi pada mekanisme pembekuan darah jalur ekstrinsik (Wardani dan Udayani, 2017).

## SIMPULAN

Pemberian berbagai dosis ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) berpengaruh signifikan ( $p < 0,05$ ) terhadap kadar MDA serum dan lama waktu koagulasi darah mencit DM. Ekstrak daun belimbing wuluh dengan dosis 300 mg/kg BB dan 375 mg/kg BB efektif untuk menurunkan kadar MDA serum dan memperpanjang lama waktu koagulasi darah mencit DM.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bingham JT, Etz BD, DuClos JM dan Vyas S, 2021. Structure and Reactivity of Alloxan Monohydrate in the Liquid Phase. *The Journal of Organic Chemistry*; 86(21): 14553-14562.
- Daud N, Hashim H. dan Samsulrizal N, 2013. Anticoagulant activity of *Averrhoa bilimbi* Linn in normal and alloxan-induced diabetic rats. *The Open Conference Proceedings Journal*; 4(1).
- Dewatisari WF, 2020. Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendeman Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain) Menggunakan Metode Maserasi. *Seminar Nasional Biologi*; 6(1): 127-132.
- Dewi RS, Sandhiutami NMD dan Raharjo S, 2017. Anti-Platelet Aggregation Effect From Ethanol Extract Of Salam Leaves (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) On Mice. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*; 15(1): 31-37.
- Fadly A, 2022. Pengaruh Ekstrak Bawang Putih (*Allium sativum*) Terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Streptozotocin. *Jurnal Medika Hutama*; 3: 1739-1744.
- Furhan BL, 2015. Streptozotocin-induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Current protocol in pharmacology*; 70(1): 5-47.
- Hasim H, Arifin YY, Andrianto D dan Faridah DN, 2019. Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*; 8(3): 86-93.
- INFODATIN, 2014. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI Situasi dan Analisis Diabetes.
- International Diabetes Federation, 2019. IDF Diabetes Atlas 9<sup>th</sup> Edition 2019. Diakses melalui <https://www.diabetesatlas.org/en/sections/worldwide-toll-of-diabetes.html>. Pada 30 Agustus 2021).
- Kartikasari DM, Indahyani DE. dan Praharani D, 2019. Jumlah Trombosit pada Mencit Diabetes setelah Pemberian Ekstrak Rumpun Laut Merah (*Rhodophyceae*). *Pustaka Kesehatan*; 3: 171-176.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018. Hasil Utama Riskesdas Tentang Prevalensi Diabetes Melitus di Indonesia 2018, Diakses melalui <https://www.litbang.kemkes.go.id/laporan-riiset-kesehatan-dasar-riskesdas>. Pada 30 Agustus 2021.
- Kurniawaty E dan Lestari EE, 2016. Uji Efektivitas Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai pengobatan diabetes melitus. *Jurnal Majority*; 5(2): 32-36.
- Liem S, Yuliet Y dan Khumaidi A, 2015. Uji Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Glibenklamid Dan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* Wight.) Terhadap Mencit (*Mus Musculus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*; 1(1): 42-47.
- Malik MI, Nasrul E dan Asterina A, 2015. Hubungan Hiperglikemia dengan Prothrombin Time pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Kesehatan Andalas*; 4 (1).

- Misfadhila S, Chandra B dan Wahyuni Y, 2020. Pengaruh Fraksi Air, Etil Asetat dan N-Heksan dari Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) Terhadap Kelarutan Kalsium Batu Ginjal Secara In-vitro. *Jurnal Farmasi Higea*; 12(2): 119-123.
- Muqstia V, Sakinah, EN dan Santosa A, 2015. Efek Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) terhadap Kadar MDA Ginjal pada Tikus Wistar Hiperglikemi (The Effect of Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) Ethanolic Extract on Kidney MDA in Hyperglycemic Wistar Rats). *Pustaka Kesehatan*; 3(2): 235-238.
- Nanlohy C, Adriani M dan Bambang Wirjadmadi R, 2020. The Effect of Wuluh Starfruit Leaf Extract (*Averrhoa bilimbi* L.) on Malondialdehyde (MDA) Levels in Male Rats (*Rattus norvegicus*) Hyperglycemia Model. *Indian Journal Of Public Health Research & Development*; 11(4).
- Pratiwi A, Alioes Y dan Aprilia D, 2020. Pengaruh Pemberian Ekstrak Ubi Jalar Ungu terhadap Kadar Glukosa Darah dan MDA Hepar Tikus Hiperglikemia. *Jurnal Ilmu Kesehatan Indonesia*; 1(2).
- Prawitasari DS, 2019. Diabetes melitus dan antioksidan. *KELUWIH: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*; 1(1): 48-52.
- Putra IAM, 2019. Pengaruh Kombinasi Ekstrak Air Daun Jati Belanda, Kemuning, Murbei, Dan Rimpang Bangle Terhadap Kadar Tnf-A Serum Tikus Dengan Diet Tinggi Lemak. *Jurnal Bio Komplementer Medicine*; 6(1).
- Rachmatiah T, Kimura W dan Kusmiati K, 2021. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil Asetat Bunga dan Daun Honje (*Etlingera elatior* (Jack) RM Sm) pada Darah Domba Terinduksi tert-Butil Hidroperoksida (t-BHP). *Sainstech Farma*; 14(2): 102-108.
- Sales ME, Andaya AJ dan Maylas PD, 2018. *Averrhoa bilimbi* Extract as an Alternative Anticoagulant for Manual Complete Blood Count. *Journal of Health Sciences*; 1(1): 38-43.
- Satrianawaty LD, Christela F, Josua AA dan Prabowo S, 2019. Pengaruh Ekstrak Daun dan Buah Ketapang Terhadap Malondialdehida Pankreas *Rattus norvegicus* Jantan dengan Hiperglikemia yang Diinduksi Alokasan dan Pakan Tinggi Lemak. *Hang Tuah Medical Journal*; 17(1): 66-76.
- Septiarni F, 2018. Gambaran Jumlah Trombosit Pada Penderita Diabetes Melitus di Laboratorium Hematologi Poltekkes Kemenkes RI Medan. *Jurusan Analis Kesehatan*.
- Vera B, Dasrul AA, Karmil TF, Riady G dan Sabri M, 2018. Pengaruh Pemberian Vitamin E Terhadap Kadar Malondialdehida (MDA) Serum Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Diabetes Melitus. *J Ilmiah Mahasiswa Vet*; 2(1): 70-76.
- Wardani IGA AK dan Udayani NNW, 2017. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi* L.) terhadap Waktu Perdarahan dan Waktu Koagulasi pada Mencit Jantan (*Mus Musculus* L.). *Jurnal Ilmiah Medicamento*; 3(2): 104-109.
- Werdhasari A, 2014. Peran antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*; 3(2): 59-68.
- Yanti S dan Vera Y, 2019. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi*). *Jurnal Kesehatan Ilmiah Indonesia (Indonesian Health Scientific Journal)*; 4(1) :41-46.
- Yustika AR, Aulanni'am AA dan Prasetyawan S, 2013. Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histologi pada Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Pasca Induksi Cylosporine-A. *Jurnal Ilmu Kimia Universitas Brawijaya*; 1(2): 222.

#### Article History:

Received: 15 Juni 2022

Revised: 23 Agustus 2022

Available online: 31 Januari 2023

Published: 31 Januari 2023

#### Authors:

Regita Ayu Ghizanda Wardoyo, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, email: [regitaghizanda.18060@mhs.unesa.ac.id](mailto:regitaghizanda.18060@mhs.unesa.ac.id)

Nur Qomariyah, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, email: [nurqomariyah@unesa.ac.id](mailto:nurqomariyah@unesa.ac.id)

Erlis Rakhmad Purnama, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, email: [erlixpurnama@unesa.ac.id](mailto:erlixpurnama@unesa.ac.id)

#### How to cite this article:

Wardoyo RAG, Qomariyah N, dan Purnama ER, 2023. Pengaruh Ekstrak Daun Belimbing Wuluh terhadap Kadar Malondialdehid dan Waktu Koagulasi Mencit Diabetes. *LenteraBio*; 12(1): 1-8.