

Pengembangan Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.)) sebagai Antidiabetes Oral

Erna Neovita, Puspa Sari Dewi Solihah, Sri Wahyuningsih, Hani Husnul Aeni, Fithriyani Azhari

Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani,
Jl. Terusan Jenderal Sudirman, Cimahi, Jawa Barat, 40285

Corresponding author email : neovitaerna@gmail.com

Abstrak

Diabetes melitus merupakan penyakit yang ditandai oleh tingginya kadar gula darah akibat dari terganggunya fungsi pankreas dalam menghasilkan insulin. Terganggunya fungsi pankreas dapat berdampak pada turunnya produksi insulin atau pankreas tidak dapat lagi memproduksi insulin, hal ini dapat menyebabkan adanya komplikasi atau gangguan metabolisme lainnya dan kematian karena diabetes melitus. Tingginya prevalensi diabetes melitus yang menyebabkan kematian menduduki peringkat terbesar ketiga di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan potensi dan dosis ekstrak etanol kulit jeruk lemon sebagai antidiabetes alternatif dengan metode preventif. Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Proses pembentukan model tikus diabetes dilakukan dengan induksi aloksan 175 mg/kgBB pada tikus Sprague-Dawley. Setelah tikus diabetes dalam 3 sampai 4 hari, kemudian tikus dipisahkan dan diberikan sediaan uji sesuai kelompoknya masing-masing kontrol positif (Na CMC), pembanding (Glibenklamid 5 mg), dan 3 varian dosis ekstrak etanol kulit jeruk lemon (EEKJL 82 mg/kgBB, 164 mg/kgBB dan 328 mg/kgBB). Setelah 1 jam pemberian sediaan, kemudian dilakukan uji toleransi glukosa pada tikus jantan diabetes Sprague-Dawley. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit jeruk lemon efektif menghambat kenaikan kadar gula darah pada tikus jantan diabetes Sprague-Dawley. Dosis 328 mg/kgBB EEKJL menunjukkan hasil terbaik yang berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kelompok kontrol dan tidak berbeda bermakna atau setara dengan glibenklamid 5 mg ($p > 0,05$). Percobaan ini membuktikan bahwa EEKJL memiliki potensi sebagai antidiabetes alternatif.

Kata kunci : Diabetes melitus, Kulit Lemon (*Citrus limon* (L.) *Burm.f.*), Aloksan

Development of Ethanol Extract of Lemon Peel (Citrus limon (L.)) as Antidiabetic Oral

Abstract

Diabetes mellitus is a disease characterized by high blood sugar levels due to disruption of the function of the pancreas in producing insulin. Disruption of pancreatic function can result in decreased insulin production or the pancreas can no longer produce insulin, this can lead to complications or other metabolic disorders and death due to diabetes mellitus. The high prevalence of diabetes mellitus which causes death is ranked the third

largest in Indonesia. This study aims to determine the potential and dosage of ethanol extract of lemon peel as an alternative antidiabetic with preventive methods. The extraction process is done by maceration method. The process of forming a diabetic mouse model was carried out by alloxan induction 175 mg / kg in Sprague-Dawley rats. After diabetic rats in 3 to 4 days, then rats were separated and given a test preparation according to their respective groups of positive control (Na CMC), comparison (Glibenklamid 5 mg), and 3 variants of doses of ethanol extract of lemon peel (EEKJL 82 mg / kg , 164 mg / kgBB and 328 mg / kgBB). After 1 hour of preparation, a glucose tolerance test was carried out in Sprague-Dawley diabetic male rats. The results showed that the ethanol extract of lemon peel effectively inhibited the increase in blood sugar levels in Sprague-Dawley diabetic male rats. The dose of 328 mg / kgBW EEKJL showed the best results which were significantly different ($p < 0.05$) on the control group and did not differ significantly or equivalent to glibenclamide 5 mg ($p > 0.05$). This experiment proved that EEKJL has the potential as an alternative antidiabetic.

Keywords : Diabetes mellitus, lemon peel (*Citrus limon (L.)* Burm.f.), Alloxan

Pendahuluan

Tingginya prevalensi diabetes melitus menyebabkan banyak kematian. Sulitnya gejala yang terlihat secara fisik menyebabkan penderita tidak menyadari bahwa dirinya menderita diabetes melitus. Diabetes melitus merupakan keadaan kronis yang terjadi ketika pankreas tidak menghasilkan cukup insulin (hormon yang mengatur gula darah). Sekitar 90% orang dengan diabetes di seluruh dunia memiliki diabetes tipe 2 (World Health Organization, 2010). Diabetes tipe 2 adalah diabetes karena penggunaan insulin yang tidak efektif dalam tubuh. Kurangnya insulin ini menyebabkan risiko kematian orang dengan diabetes dua kali lipat lebih besar dibanding orang yang tidak menderita diabetes. Selain itu, penyakit ini dapat menyebabkan komplikasi seperti serangan jantung, stroke, infeksi kaki yang berat dan

berisiko amputasi, serta gagal ginjal stadium akhir (Kemenkes RI, 2018).

Prevalensi diabetes melitus di Indonesia pada tahun 2000 adalah 8.426.000 jiwa dan diperkirakan akan meningkat pada tahun 2030 menjadi 21.257.000 jiwa (World Health Organization, 2018). Peningkatan prevalensi diabetes melitus di Indonesia berdasarkan data Riskesdas menunjukkan bahwa terjadi mulai dari 5,7% tahun 2007 menjadi 6,9% atau sekitar 9,1 juta pada tahun 2013. Diabetes melitus merupakan penyebab kematian terbesar nomor 3 di Indonesia menurut data *Sample Registration Survey* tahun 2014 menunjukkan bahwa dengan persentase sebesar 6,7%, setelah stroke (21,1%) dan penyakit jantung koroner (12,9%). Bila tak ditanggulangi, kondisi ini dapat menyebabkan penurunan produktivitas, disabilitas dan kematian dini (Kemenkes RI, 2018).

Dalam mengatasi permasalahan diabetes melitus, Indonesia memiliki potensi yang sangat besar untuk menghasilkan obat-obatan dari bahan alam. Salah satu tanaman yang tumbuh di Indonesia dan berpotensi sebagai obat antidiabetes melitus alami adalah tanaman jeruk lemon. Berdasarkan hasil penelitian, kulit jeruk lemon yang biasa dibuang oleh masyarakat ternyata memiliki banyak kandungan yang bermanfaat seperti flavonoid, pektin, karotenoid, aldehyd, alkohol dan terpen. Minyak atsiri yang terkandung dalam kulit jeruk lemon, selain berfungsi sebagai produk makanan, aroma terapi, dan parfum, ternyata memiliki khasiat sebagai antidiabetes, antioksidan, dan antikanker. Selain itu, jeruk lemon diketahui pula mengandung minyak esensial utama D-limonene atau (R) - (+) - 4-iso-proprenil-1-metilcicloesene yang diduga berpotensi mengatasi gangguan kardiovaskuler (Lopresto et al., 2014). Parutan kulit lemon juga banyak digunakan dalam masyarakat, selain sebagai penggugah selera juga digunakan untuk menurunkan kadar gula darah dengan menaburkannya diatas salad atau mengganti perasan jeruk lemon dengan memanfaatkan kulitnya. Dalam hal ini, diharapkan kedepannya dapat dilakukan pemanfaatan limbah kulit jeruk lemon sebagai obat antidiabetes. Hasil penelitian yang lain juga menyebutkan bahwa ekstrak n-hexan kulit buah jeruk lemon memberikan efek antidiabetes pada tikus Sprague-Dawley yang diinduksi Aloksan efektif menurunkan gula darah sebanding dengan glibepiride (Naim et al., 2012). Selain itu, ekstrak etanol kulit jeruk lemon juga berpotensi

sebagai obat alternatif pra sindrom metabolik yang mampu menghambat peningkatan kadar kolesterol yang dapat mempengaruhi kadar trigliserida dan resistensi insulin pada tikus wistar jantan (Hartanto, Kurniasari, Maria, & Dewi, 2018)

Berdasarkan hal tersebut di atas, maka akan dilakukan pengembangan ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.)) sebagai antidiabetes oral dengan metode preventif. Penelitian ini merupakan penelitian farmakologi eksperimental dengan parameter profil kadar gula darah tikus diabetes dengan metode toleransi glukosa. Setelah pengujian selesai dilakukan, diharapkan pengujian ini dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang khasiat ekstrak etanol kulit jeruk lemon sebagai obat diabetes melitus oral.

Metode

Alat. Mikropipet (100-1000 dan 1-10 μ L), timbangan analitik, seperangkat alat maserasi, desikator, *rotary evaporator*, *waterbath*, eppendorf, *homogenizer*, *disposable syringe* (BD® 3mL), tip kuning, tip putih, tip biru, sentrifugator, spektrofotometer (Microlab 300® Merck, Germany), strip urin analisis, autocheck, strip glucose autocheck.

Bahan. Kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L)) berusia 1 bulan diambil dari Kampung Pondok Cikole, Lembang, Etanol 96%, Aloksan, pereaksi Mayer, pereaksi (Mg/HCl), pereaksi Liebermann-Burchard, pereaksi Dragendorff, besi(III) klorida,

Glibenklamid, pereaksi glukosa GOD-POD (Rajawali®), pakan tikus, aquades, Carboxi methyl cellulosa Na (CMC Na) 0,5%, glukosa.

Hewan Percobaan. Tikus Sprague-Dawley jantan yang diambil dari Bagian Perhewan BPOM RI, Jakarta dengan umur tikus 2-3 bulan dengan berat badan 250 sampai 300. Berada dalam keadaan sehat dan normal.

Pembentukan Model Tikus Diabetes. Tikus *Sprague-Dawley* diaklimatisasi selama 7-14 hari dan diamati perilaku hewan. Tikus diinduksi Aloksan 175 mg/kgBB, kemudian tikus diamati selama 1 minggu, tikus yang memiliki kadar gula darah puasa ≥ 200 mg/dL dipisahkan untuk dilakukan pengujian toleransi glukosa.

Prosedur Penelitian. Pembuatan ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.)) dilakukan dengan metode maserasi. Pengujian ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) dilakukan dengan metode preventif pada tikus *Sprague-Dawley*. Tikus diabetes dikelompokkan menjadi 5 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus untuk diberikan sediaan uji, antara lain:

- Kelompok Kontrol Positif: diberikan Na CMC 0,5%
- Kelompok Pembanding: diberikan Glibenklamid 5 mg/kgBB
- Kelompok Dosis 1: diberikan ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) dosis 82 mg/kgBB

- Kelompok Dosis 2: diberikan ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) dosis 164 mg/kgBB
- Kelompok Dosis 3: diberikan ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.) dosis 82 mg/kgBB

Pengujian ini dilakukan selama 2-3 minggu. Induksi Aloksan dilakukan secara intra peritoneal (i.p) 175 mg/kgBB. Kemudian diamati kadar gula darah tikus 1-2 minggu. Pengambilan darah dilakukan setiap minggu, tikus dengan kadar gula darah ≥ 200 mg/dL kemudian dipisahkan dan dipuaskan kembali selama 12 jam untuk diberikan sediaan uji. Sediaan uji diberikan per oral sebanyak satu kali sesuai dengan kelompoknya masing-masing. Setelah 1 jam pemberian sediaan uji kemudian tikus diberikan glukosa 2 g/kgBB secara oral kemudian dilihat profil toleransi glukosa pada t_{15} , t_{30} , t_{45} , t_{60} , t_{90} , t_{120} dan t_{150} (menit).

Pengambilan darah dilakukan dari pembuluh vena ekor, sebelum dilakukan pengambilan darah, hewan terlebih dahulu dipuaskan selama 12 jam. Darah ditampung ke dalam tabung appendorf kira-kira sebanyak 0,5 mL dan disentrifugasi selama 10 menit pada 12.000 rpm hingga diperoleh serum sebanyak 10 μ L. Serum diambil untuk dilakukan pengukuran, kemudian ditambahkan pereaksi glukosa sebanyak 500 μ L. Dihomogenkan dan diinkubasi selama 20 menit pada suhu 20°-25°C) dan terlindung dari cahaya. Penentuan kadar glukosa darah dilakukan secara kolorimetri berdasarkan metode enzimatis menggunakan pereaksi glukosa

yang dibaca ekstrinsiknya pada panjang gelombang 546 nm. Data yang diperoleh dianalisis dengan perhitungan statistik, metode analisis variasi (ANOVA) dan uji *t-student* dengan menggunakan program SPSS 23.0 for windows.

Hasil dan Pembahasan

Berdasarkan hasil pengujian rata-rata bobot badan tikus akan menurun setelah diinduksi Aloksan dan menunjukkan peningkatan kadar gula darah >200 mg/dL pada hari ke-3 dan 4. Penurunan bobot badan tikus setelah diinduksi aloksan dapat terjadi karena aloksan merupakan agen sitotoksik untuk menginduksi diabetes secara kimiawi pada berbagai spesies hewan dengan merusak sel-β pankreas yang mensekresi insulin dan menyebabkan penurunan

pelepasan insulin endogen. (Naim et al., 2012)

Pengujian ini dilakukan untuk melihat gambaran seberapa baik tubuh dapat mentoleransi atau mengatur gula darah pada tubuh hewan diabetes. Pada hasil uji toleransi glukosa dapat dinyatakan bahwa EEKJL memiliki efek dan berpotensi sebagai obat antidiabetes. Pada hasil statistik Uji T *student* didapatkan hasil bahwa pada dosis 82 mg/kgBB berbeda bermakna terhadap kontrol ($p < 0,05$) pada t_{15} , t_{30} , t_{45} , t_{60} , t_{120} dan t_{150} dan untuk dosis 164 mg/kgBB berbeda bermakna terhadap kontrol ($p < 0,05$) pada t_{15} , t_{30} , t_{45} , t_{120} dan t_{150} . Untuk dosis 328 mg/kgBB berbeda bermakna terhadap kontrol ($p < 0,05$) pada t_{15} , t_{30} , t_{45} , dan t_{150} .

Tabel.1 Rata-rata Kadar Glukosa Darah Tikus Diabetes pada Uji Toleransi Glukosa

Kelompok	Rata-rata Kadar Glukosa Darah Waktu Ke-							
	t ₀	t ₁₅	t ₃₀	t ₄₅	t ₆₀	t ₉₀	t ₁₂₀	t ₁₅₀
Kontrol positif	500,42 ±15,26	626,36 ±16,57	625,80 ±26,38	620,66 ±15,97	615,68 ±22,33	604,28 ±23,22	575,94 ±11,17	568,97 ±28,61
Glibenklamid 5 mg/kgBB	531,08 ±25,96	503,47 ±13,46 ^a	546,56 ±25,85 ^a	517,74 ±10,87 ^a	515,21 ±16,26 ^a	486,53 ±14,90 ^a	469,69 ±28,40 ^a	365,68 ±22,77 ^a
EEKJL , 82 mg/kgBB	444,96 ±30,56 ^{ab}	372,11 ±26,43 ^{ab}	446,38 ±21,14 ^{ab}	546,17 ±28,62 ^a	543,66 ±18,76 ^a	566,88 ±28,10 ^b	536,26 ±21,77 ^{ab}	481,03 ±31,28 ^{ab}
EEKJL 164 mg/kgBB	460,75 ±20,62 ^b	519,37 ±13,29 ^a	537,43 ±26,74 ^a	496,68 ±29,07 ^a	496,77 ±19,12 ^b	557,50 ±2,50 ^{ab}	533,96 ±23,20 ^{ab}	508,45 ±18,40 ^{ab}
EEKJL 328 mg/kgBB	508,44 ±10,99	522,01 ±16,18 ^a	553,27 ±22,16 ^a	537,13 ±28,95 ^a	573,24 ±15,34 ^b	560,05 ±17,17 ^b	532,23 ±15,69 ^{ab}	466,25 ±20,29 ^{ab}

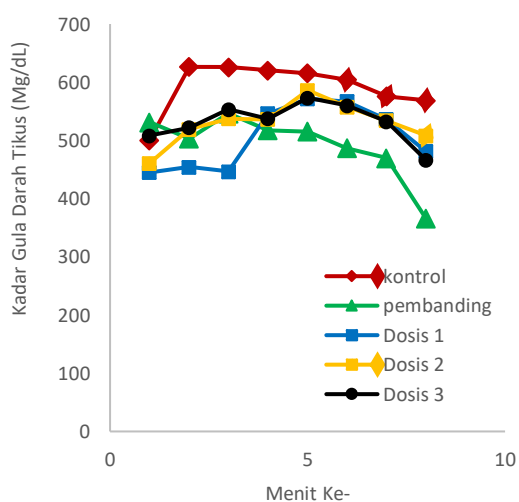
Keterangan:

EEKJL = Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Lemon

a = Berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap kontrol positif.

b = Berbeda bermakna ($p < 0,05$) terhadap pembandingan

Apabila dibandingkan dengan glibenklamid 5 mg/kgBB, dosis 328 mg/kgBB memiliki kemampuan terbaik atau paling efektif dalam penghambatan dan penurunan kadar gula darah tikus diabetes dibandingkan dengan dosis lainnya. Berdasarkan hasil statistik Uji T *Student* dosis 82 mg/kgBB tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) dengan pembanding pada t_{45} dan t_{60} . Dosis 164 mg/kgBB dan 328 mg/kgBB tidak berbeda bermakna ($p > 0,05$) dengan pembanding pada t_{15} , t_{30} , dan t_{45} .



Gambar 1. Grafik Rata-rata Kadar Gula Darah pada Uji Toleransi Glukosa

Profil kadar gula darah rata-rata (Gambar.I) Menunjukkan bahwa dosis 3 EEKJL yaitu 328 mg/kgBB memberikan hambatan terbaik terhadap kenaikan kadar gula darah pada uji toleransi glukosa. Berdasarkan literatur hal ini berhubungan dengan flavonoid yang terkandung dalam ekstrak yaitu flavonoid yang diduga berperan dalam menurunkan kadar gula darah. Flavonoid merupakan salah satu antioksidan yang memiliki 3 mekanisme kerja dalam menurunkan

kadar gula darah, yaitu selain menekan stress oksidatif juga menghambat GLUT 2 (*Glucose Transporter 2*) mukosa usus dan menghambat fosfodiesterase. Flavonoid bersifat protektif terhadap kerusakan sel beta pankreas dan dapat meningkatkan sensitivitas insulin. Karena antioksidan termasuk flavonoid dapat mengikat radikal bebas sehingga dapat menurunkan resistensi insulin.

Menurut literatur, dalam penghambatan fosfodiesterase, flavonoid dapat meningkatkan cAMP pada sel beta pankreas dan akan menstimulasi atau merangsang peningkatan sekresi insulin. Sudah banyak penelitian menunjukkan bahwa stres oksidatif berperan dalam patogenesis diabetes mellitus dan komplikasinya. EEKJL diduga memiliki potensi sebagai antidiabetes karena kandungan flavonoidnya.

Dalam hal ini, dosis EEKJL 328 mg/kgBB memiliki efek yang setara dengan glibenklamid 5 mg/kgBB yaitu menghasilkan penurunan gula darah terbesar pada t_{150} .

Kesimpulan

Ekstrak etanol kulit jeruk lemon (*Citrus limon* (L.)) dinyatakan berpotensi sebagai antidiabetes oral karena menunjukkan hasil berbeda bermakna dengan kontrol positif ($p < 0,05$) dan setara dengan glibenklamid ($p > 0,05$). Dosis 328 mg/kgBB merupakan dosis efektif untuk menghambat peningkatan kadar gula darah tikus jantan diabetes Sprague-Dawley.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, Pendidikan Tinggi (RISTEKDIKTI) yang telah mendanai penelitian ini melalui Program PKM-PE.

Daftar Pustaka

- Arisman. (2013). *Obesitas, Diabetes Mellitus, dan Dislipidemia : Konsep, Teori dan Penganganan Aplikatif*. Jakarta: EGC.
- Cao, L., Li, M., Zhang, R., Bai, F., & Wei, P. (2018). Effect of hydroalcohol extract of lemon (Citrus limon) peel on a rat model of type 2 diabetes, *17*(July), 1367–1372.
- Cronquist, A. (1981). *An Integrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.
- Depkes RI. (1995). *Materia Medika Indonesia, Jilid VI* (Jilid VI). Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Depkes RI. (2005). *Masalah Terapi Obat. Pharmaceutical care untuk penyakit diabetes mellitus*.
- Depkes RI. (2009). *Farmakope Herbal Indonesia, Edisi I* (1st ed.). Jakarta.
- Endarto, O., & Martini, E. (2016). Budi Daya Jeruk Sehat. *Balai Penelitian Tanaman Jeruk dan Buah Subtropika (Balitjestro)*.
- Erejuwa, O. O., Sulaiman, S. A., Suhaimi, M., & Wahab, A. (2010). Antioxidant Protective Effect of Glibenclamide and Metformin in Combination with Honey in Pancreas of Streptozotocin- Induced Diabetic Rats, 2056–2066.
<https://doi.org/10.3390/ijms11052056>
- Ganesan, D., Holkar, A., Albert, A., Paul, E., Mariakuttikan, J., & Sadasivam Selvam, G. (2018). Combination of ramipril and rutin alleviate alloxan induced diabetic nephropathy targeting multiple stress pathways in vivo. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *108*(September), 1338–1346.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.142>
- Hartanto, D. T., Kurniasari, E. L., Maria, R. A., & Dewi, P. S. (2018). Potensi ekstrak etanol kulit jeruk lemon (Citrus limon L .) sebagai obat alternatif hiperkolesterolemia pada tikus wistar hiperglikemik, *6*(2), 81–85.
<https://doi.org/10.26874/kjif.v6i2.156>
- Islam, S., & Wilson, R. D. (n.d.). Chapter 10 Experimentally Induced Rodent Models of Type 2 Diabetes. <https://doi.org/10.1007/978-1-62703-068-7>
- Kamal, M., Youssef, E., Youssef, H. M. K. E., & Mousa, R. M. A. (2014). Evaluation of Antihyperlipidemic Activity of Citrus Peels Powders Fortified Biscuits in Albino Induced Hyperlipidemia. *Food and Public Health*, *4*(1), 1–9.
<https://doi.org/10.5923/j.fph.20140401.01>
- Kemenkes RI. (2018). Menkes: mari kita cegah diabetes dengan cerdas, (April 2015), 2018–2019.
- King, A. J. F. (2012). The use of animal models in diabetes research. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2012.01911.x>
- Lazo-de-la-Vega-Monroy, M.-L., & Fernndez-Mej, C. (2013). Oxidative Stress in Diabetes Mellitus and the Role Of Vitamins with Antioxidant Actions. *Oxidative Stress and Chronic Degenerative Diseases - A Role for Antioxidants*.
<https://doi.org/10.5772/51788>
- Lopresto, C. G., Petrillo, F., Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Perego, P., & Calabrò, V. (2014). A non-conventional method to extract D-limonene from waste lemon peels and

- comparison with traditional Soxhlet extraction. *Separation and Purification Technology*, 137, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2014.09.015>
- Naim, M., Amjad, F. M., Sultana, S., Islam, S. N., Hossain, M. A., Begum, R., Amran, M. S. (2012). Comparative Study of Antidiabetic Activity of Hexane-Extract of Lemon Peel (Limon citrus) and Glimepiride in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*, 15(2), 131–134. <https://doi.org/10.3329/bpj.v15i2.12577>
- Sistim Informasi Manajemen Pembangunan di Perdesaan, B. E. (2000). Jeruk(Citrus sp.). *Tentang Budidaya Pertanian*, 1–16.
- World Health Organization. (2010). Diabetes. *Diabetes*. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2013.11.070>
- World Health Organization. (2018). Diabetes Programme Country and regional data on diabetes. *Diabetes Programme (Country and Regional Data on Diabetes)*.