

Perbandingan Efektivitas Antidiabetes Suspensi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Dengan Suspensi Metformin Pada Tikus Putih Jantan Terinduksi Aloksan

Angga Anugra Diputra^{1*}, Azmi Darotulmutmainnah², Ahmad Wildhan Wisnu Wardana³, Nova Oktavia⁴

^{1,2,3,4} Universitas Muhammadiyah Kuningan, Kuningan, Indonesia

*E-mail : angga.anugra@umkuningan.ac.id

ABSTRAK

Diabetes Melitus merupakan penyakit metabolik kronis yang ditandai oleh hiperglikemia dan prevalensinya terus meningkat. Pengembangan agen antidiabetes berbasis bahan alam menjadi alternatif terapi yang potensial, salah satunya kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang kaya senyawa flavonoid. Penelitian ini bertujuan membandingkan efektivitas antidiabetes suspensi ekstrak kelopak bunga rosella dengan suspensi metformin pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. Penelitian ini merupakan eksperimen laboratorium menggunakan 20 ekor tikus yang dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kontrol negatif (CMC-Na), kontrol positif (suspensi metformin HCl 500 mg/kgBB), serta tiga kelompok perlakuan suspensi ekstrak kelopak bunga rosella dosis 260 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 750 mg/kgBB. Parameter yang diamati meliputi kadar glukosa darah puasa, kadar glukosa setelah induksi aloksan, dan kadar glukosa setelah pemberian perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa induksi aloksan meningkatkan kadar glukosa darah secara signifikan. Setelah perlakuan, suspensi ekstrak kelopak bunga rosella dosis 750 mg/kgBB menurunkan kadar glukosa darah hingga rata-rata 102,5 mg/dL, sebanding dengan suspensi metformin yang menurunkan kadar glukosa darah menjadi 98,0 mg/dL. Analisis statistik menggunakan uji ANOVA satu arah (*One Way ANOVA*) menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan ekstrak rosella dan kelompok metformin ($p > 0,05$). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa suspensi ekstrak kelopak bunga rosella, khususnya pada dosis 750 mg/kgBB, memiliki potensi aktivitas antidiabetes yang sebanding dengan metformin pada tikus putih jantan terinduksi aloksan.

Kata Kunci: aloksan, antidiabetes, flavonoid, rosella, suspensi.

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a chronic metabolic disorder characterized by hyperglycemia, with a continuously increasing global prevalence. The development of natural product-based antidiabetic agents represents a promising alternative therapy, including roselle calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.), which is rich in flavonoid compounds. This study aimed to compare the antidiabetic effectiveness of roselle calyx extract suspension with metformin suspension in alloxan-induced male white rats (*Rattus norvegicus*). This laboratory experimental study involved 20 rats divided into five groups: negative control (CMC-Na), positive control (metformin HCl suspension 500 mg), and three treatment groups receiving roselle extract suspension at doses of 260 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, and 750 mg/kgBB. The observed parameters included fasting blood glucose levels, blood glucose levels after alloxan induction, and blood glucose levels after treatment. The results demonstrated that alloxan induction significantly increased blood glucose levels. Following treatment, roselle calyx extract suspension at a dose of 750 mg/kgBB reduced blood glucose levels to an average of 102.5 mg/dL, comparable to metformin, which reduced blood glucose

levels to 98.0 mg/dL. Statistical analysis using the One Way ANOVA test showed no significant difference between the roselle extract-treated groups and the metformin group ($p>0.05$). These findings indicate that roselle calyx extract suspension, particularly at a dose of 750 mg, exhibits antidiabetic activity comparable to metformin in alloxan-induced male white rats.

Keywords: alloxan, antidiabetic, flavonoid, roselle, suspension.

PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) merupakan gangguan metabolik kronis yang ditandai dengan hiperglikemia akibat gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. World Health Organization melaporkan bahwa prevalensi DM terus meningkat secara global dan menjadi salah satu penyebab utama morbiditas dan mortalitas (WHO, 2021; IDF, 2023). Terapi farmakologis seperti metformin masih menjadi lini pertama, namun penggunaan jangka panjang berpotensi menimbulkan efek samping gastrointestinal dan kepatuhan pasien yang rendah (Rena et al., 2020).

Penggunaan bahan alam sebagai terapi komplementer antidiabetes terus dikembangkan. Salah satu tanaman yang berpotensi adalah kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) yang diketahui mengandung flavonoid, antosianin, tanin, dan asam fenolat yang berperan sebagai antioksidan dan antihiperglikemik (Da-Costa-Rocha et al., 2021; Alarcon-Aguilar et al., 2022). Beberapa penelitian melaporkan bahwa ekstrak rosella mampu menurunkan kadar glukosa darah melalui peningkatan sensitivitas insulin dan perlindungan sel β pankreas dari stres oksidatif (Hernández-Hernández et al., 2020; Nurkhasanah et al., 2023).

Model hewan diabetes yang umum digunakan adalah induksi aloksan, senyawa diabetogenik yang menyebabkan nekrosis selektif sel β pankreas melalui pembentukan radikal bebas (Lenzen, 2020). Model ini banyak digunakan untuk mengevaluasi efektivitas senyawa antidiabetes baru, termasuk ekstrak tanaman obat.

Meskipun aktivitas antidiabetes ekstrak rosella telah banyak dilaporkan, penelitian yang membandingkan secara langsung efektivitas suspensi ekstrak kelopak bunga rosella dengan suspensi metformin masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efektivitas antidiabetes suspensi ekstrak kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan suspensi metformin pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Kelopak Bunga Rosella Kering (CoHealthy), Aqua Destilata (Onemed), Metformin (Hexparm), Aloksan (Sigma-Aldrich), Pakan Tikus (CitraFeed), Na CMC (Sigma-Aldrich), Propylenglycol (Brataco), Natrium Benzoat (Purox), Tikus Putih Jantan.

Adapun untuk alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Kandang Tikus (Fengshi), Timbangan Digital (Krisbow), Spuit 3cc (Terumo), Sonde (Onemed), Beaker glass 250 ml (Pyrex), Erlenmeyer 250 ml (Pyrex), Gelas Ukur 100 ml (Pyrex), Kain planel, Rotary evaporator (Barcov), Termometer Suhu (Onemed), Penangas Air (Joanlab), Pengukur Gula Darah (Nesco), Batang Pengaduk (Alfa Omega), Pencatat waktu (Casio)

Prosedur Penelitian

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian. Determinasi kelopak bunga rosella dilakukan dengan cara mencocokkan ciri-

ciri morfologi yang ada pada tanaman terhadap kepustakaan buku *flora of java*. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi STIKes Muhammadiyah Kuningan.

Pembuatan Simplisia

Kelopak bunga rosella yang akan dipakai adalah kelopak bunga rosella yang berwarna merah terang dan kelopaknya tebal. Kelopak bunga rosella yang telah disortasi kemudian dicuci menggunakan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Bunga yang telah dicuci kemudian ditiriskan. Selanjutnya dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 2 hari (Anna, 2009). Kelopak bunga rosella yang telah kering ditandai dengan mudah hancur ketika bunga diremas, kemudian kelopak bunga rosella yang sudah kering dihaluskan.

Skrining Fitokimia Kelopak Bunga Rosella

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi secara kualitatif golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam simplisia kelopak bunga rosella sehingga dapat memberikan gambaran awal komponen bioaktif yang berpotensi berkontribusi terhadap aktivitas farmakologis ekstrak.

Persiapan Sampel

Serbuk simplisia kelopak bunga rosella yang telah dikeringkan ditimbang sebanyak ± 1 g, kemudian dimaserasi dengan 10 mL etanol 70%. Campuran dikocok secara perlahan selama beberapa menit dan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh digunakan sebagai larutan uji untuk seluruh pengujian skrining fitokimia (Harborne, 1998; Tiwari *et al.*, 2011).

Uji Alkaloid

Sebanyak 2 mL filtrat ditambahkan beberapa tetes larutan HCl 2 N untuk membantu pelarutan senyawa alkaloid, kemudian dibagi ke dalam dua tabung reaksi. Pada tabung pertama ditambahkan pereaksi Dragendorff, sedangkan tabung kedua ditambahkan pereaksi Mayer. Terbentuknya endapan berwarna jingga hingga cokelat pada uji Dragendorff atau endapan putih kekuningan pada uji Mayer menunjukkan hasil positif adanya alkaloid (Harborne, 1998).

Uji Flavonoid

Uji flavonoid dilakukan menggunakan metode Shinoda. Sebanyak 2 mL filtrat ditambahkan sedikit serbuk magnesium, kemudian ditetesi beberapa tetes asam klorida pekat. Munculnya perubahan warna menjadi merah, merah muda, atau jingga menunjukkan adanya senyawa flavonoid dalam sampel (Kokate, 2008; Tiwari *et al.*, 2011).

Uji Saponin

Sebanyak 2 mL filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan dikocok kuat selama ± 10 detik, kemudian dibiarkan selama 10 menit. Terbentuknya buih stabil dengan tinggi minimal 1 cm yang tidak segera hilang menunjukkan adanya senyawa saponin (Kokate, 2008).

Uji Tanin

Sebanyak 2 mL filtrat ditambahkan 1–2 tetes larutan FeCl_3 1%. Terbentuknya warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan hasil positif adanya senyawa tanin (Harborne, 1998).

Uji Steroid dan Triterpenoid

Pengujian steroid dan triterpenoid dilakukan menggunakan uji Liebermann–Burchard. Sebanyak 2 mL filtrat ditambahkan anhidrida asetat, kemudian ditetesi secara perlahan asam sulfat pekat melalui dinding tabung reaksi. Terbentuknya warna biru kehijauan menunjukkan adanya steroid, sedangkan warna merah hingga ungu menunjukkan adanya triterpenoid (Harborne, 1998; Evans, 2009).

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dibuat menggunakan metode maserasi dengan cara ditimbang 400 gram serbuk simplisia, lalu serbuk simplisia diekstraksi dengan

metode maserasi dengan pelarut etanol 70% sebanyak 2000 ml dengan sesekali dilakukan pengadukan selama 3 hari. Setelah proses ekstraksi, selanjutnya lakukan penyaringan dengan kain flannel untuk memisahkan filtrate dan residu. Residu yang dihasilkan setelah maserasi dilakukan remaserasi lagi dengan etanol 70% sebanyak 2000 ml selama 3 hari. Filtrat hasil maserasi dan remaserasi digabungkan. Filtrat yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan waterbath dengan suhu 85°C (Wulandari, 2013) hingga kental. Penggunaan suhu 85°C dalam penelitian ini dipilih berdasarkan pertimbangan antara menjaga stabilitas senyawa aktif dan meningkatkan efisiensi proses. Pemanasan dilakukan dalam waktu singkat sehingga risiko degradasi termal flavonoid dapat diminimalkan, sekaligus membantu menginaktivasi enzim oksidatif yang berpotensi merusak senyawa fenolik (Harborne, 1998; Tiwari *et al.*, 2011). Setelah mendapatkan ekstrak dengan konsistensi, maka ekstrak dihitung rendemennya dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental (g)}}{\text{Bobot simplisia awal (g)}} \times 100\%$$

Hewan Percobaan

Hewan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan galur *Rattus novergicus* yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 g. Ethical Clearance/ Izin etik dilaksanakan di Universitas BTH Tasikmalaya dengan nomor layak etik No.082/ec.02/kepk-bth/VIII/2022. Sebelum percobaan dimulai, tikus akan diadaptasikan selama 1 minggu dalam kandang yang baik (Yuriska, 2009), dan diberi makan dan air. pada penelitian ini akan digunakan 4 ekor tikus pada setiap kelompok percobaan dan total seluruh tikus yang digunakan untuk percobaan ini adalah 20 ekor tikus dengan kriteria inklusi dan eksklusi sebagai berikut :

a. Kriteria Inklusi

- 1) Tikus yang sehat atau aktif.
- 2) Tikus putih galur *Rattus novergicus* jantan berumur 2-3 bulan.
- 3) Berat badan tikus putih 150-200 gram.

b. Kriteria Eksklusi

- 1) Tikus yang diketahui sakit atau mati dalam jangka waktu penelitian
- 2) Berat badan tikus kurang dari 150 gram dan lebih dari 200 gram

Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Tikus akan dibagi menjadi 5 kelompok, dan untuk setiap kelompoknya terdiri dari 4 tikus. Semua tikus akan ditimbang terlebih dahulu, lalu semua tikus akan dipuasakan selama 16 jam. Setelah itu, semua tikus diukur glukosa darahnya. Kemudian, tikus disuntik dengan aloksan dengan dosis 80mg/kgBB secara intravena. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan cara mengambil darah tikus yang sudah disuntikan aloksan selama 3 jam sebelumnya, melalui ekor tikus untuk mengamati respons hiperglikemik akut yang terjadi akibat efek toksik aloksan terhadap sel β pankreas. Kemudian diteteskan pada strip glucometer lalu darah dimasukkan kedalam glukometer dan dibaca kadar glukosanya. Apabila kadar glukosa darah tikus menjadi ≥ 200 mg/dL setelah diberi aloksan, maka tikus dianggap sudah diabetes. Kemudian tikus diberi perlakuan dengan menggunakan kontrol positif, kontrol negatif, dan perlakuan suspensi kelopak bunga rosella. Setelah itu, diukur kembali kadar gula darahnya setelah 3 jam. Masing masing kelompok hewan diuji sebanyak 3 kali pengukuran dengan parameter 1 kali pengukuran. Fase awal ini ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah yang mencerminkan gangguan sekresi insulin secara cepat setelah paparan aloksan. Namun demikian, kondisi diabetes yang stabil tidak ditetapkan berdasarkan pengukuran awal tersebut. Penetapan tikus diabetes dilakukan pada hari ke-3 pasca-induksi aloksan, ketika kadar glukosa darah telah mencapai keadaan yang lebih konsisten dan representatif terhadap kondisi diabetes eksperimental. Pendekatan ini sejalan

dengan berbagai penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa hiperglikemia stabil akibat induksi aloksan umumnya tercapai setelah 48–72 jam hingga beberapa hari pasca-induksi, sementara pengukuran awal digunakan untuk memantau respons akut terhadap agen diabetogenik (Szkudelski, 2001; Lenzen, 2008; Etuk, 2010).

Tabel 1. Pembagian Kelompok Hewan Uji dan Perlakuan

Kelompok	Perlakuan
Kelompok I (Kontrol Positif)	Tikus diabetes yang diinduksi aloksan dan diberi suspensi Metformin HCl dosis 500 mg
Kelompok II (Kontrol Negatif)	Tikus diabetes yang diinduksi aloksan dan diberi suspensi tanpa zat aktif
Kelompok III	Tikus diabetes yang diberi suspensi ekstrak bunga rosella dosis 260 mg/kg BB/5 mL
Kelompok IV	Tikus diabetes yang diberi suspensi ekstrak bunga rosella dosis 500 mg/kg BB/5 mL
Kelompok V	Tikus diabetes yang diberi suspensi ekstrak bunga rosella dosis 750 mg/kg BB/5 mL

Formula dan Pembuatan Suspensi Kelopak Bunga Rosella

Tabel 2. Komposisi Formulasi Suspensi Uji dan Kontrol

Bahan	F1	F2	F3	Kontrol Positif	Kontrol Negatif
Ekstrak kelopak bunga rosella	260 mg/kgBB	500 mg/kgBB	750 mg/kgBB	-	-
Metformin HCl	-	-	-	500 mg/kgBB	-
CMC Na	1%	1%	1%	1%	1%
Nipagin	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%	0,1%
Aquadest	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL	ad 100 mL

Keterangan : F1, F2, dan F3 merupakan suspensi ekstrak kelopak bunga rosella dengan variasi dosis. Kontrol positif menggunakan Metformin HCl sebagai pembanding. Kontrol negatif tidak mengandung zat aktif.

Suspensi ekstrak kelopak bunga rosella dibuat dengan cara menimbang seluruh bahan sesuai dengan formula yang telah ditentukan. CMC-Na terlebih dahulu didispersikan dalam aquadest di dalam mortir hingga terbentuk suspending agent yang homogen. Selanjutnya, ekstrak kelopak bunga rosella dimasukkan ke dalam mortir dan digerus hingga tercampur merata. Nipagin kemudian ditambahkan dan digerus kembali hingga homogen. Setelah itu, campuran diencerkan dengan aquadest, dimasukkan ke dalam botol, dan ditambahkan aquadest hingga volume akhir 100 mL. Botol kemudian ditutup dan dikocok hingga diperoleh suspensi yang homogen. Prosedur pembuatan suspensi kontrol positif dan negatif dilakukan dengan metode yang sama tanpa penambahan ekstrak (Anna, 2017).

Evaluasi Sediaan

Uji Organoleptik

Uji ini dilakukan dengan melihat sediaan dengan melakukan pengamatan warna, bau, dan tekstur sediaan yang sudah dibuat (Hasty, 2021).

Uji Homogenitas

Pengujian dilihat dengan cara visual dengan mengecek apakah sediaan telah tercampur homogen atau tidak (Nurlisani, 2019).

Pengukuran Viskositas

Ambil sampel sebanyak 100 ml masukkan ke dalam gelas beker, kemudian Uji viskositas menggunakan alat viskometer *brookfield* dengan rotasi 30 rpm. Spindle yang digunakan dicelupkan ke dalam sediaan sampai alat menunjukkan nilai viskositas sediaan. Nilai viskositas suspensi menurut SNI ISO 2555 yaitu 37-396 cP (Hasty, 2021).

Pengukuran pH

pH diukur menggunakan pH meter dengan memasukkan alat pH meter ke dalam suspensi hingga didapatkan pH sediaan yang stabil. pH standar dalam larutan adalah 5 sampai 7 (Depkes RI, 2020).

Pemeriksaan Homogenitas

Pengujian dilihat dengan cara visual dengan mengecek apakah sediaan telah tercampur homogen atau tidak (Nurlisani, 2019).

Analisis Data

Hasil formulasi sediaan suspensi ekstrak kelopak bunga rosella dievaluasi melalui pengujian fisik sediaan yang meliputi pengamatan organoleptik. Data hasil pengamatan kemudian dianalisis secara statistik menggunakan uji ANOVA satu arah (*One Way ANOVA*). Selanjutnya, untuk mengetahui pengaruh pemberian suspensi ekstrak kelopak bunga rosella terhadap kadar gula darah tikus diabetes mellitus yang diinduksi aloksan, data hasil pengamatan yang telah ditabulasi dianalisis menggunakan uji T (T-test) untuk menentukan perbedaan efektivitas antar kelompok perlakuan, dengan derajat kemaknaan $\alpha = 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi STIKes Muhammadiyah Kuningan dengan nomor 042/KET/Lab.BF/VIII/2022 Hasil dari determinasi tersebut menunjukkan bahwa tanaman tersebut termasuk famili *Malvaceae* dengan spesies *Hibiscus sabdariffa* L.

Pembuatan Simplisia

Sampel kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) diperoleh dari daerah Kalapagunung Kabupaten Kuningan. Sampel kelopak bunga Rosella yang diambil adalah kelopak bunga yang masih segar. Dari hasil sortasi basah diperoleh sampel sebanyak 65,86 gram. Sampel kelopak bunga rosella kemudian dikeringkan dalam oven sampai kering dan diperoleh simplisia sebanyak 200 gram.

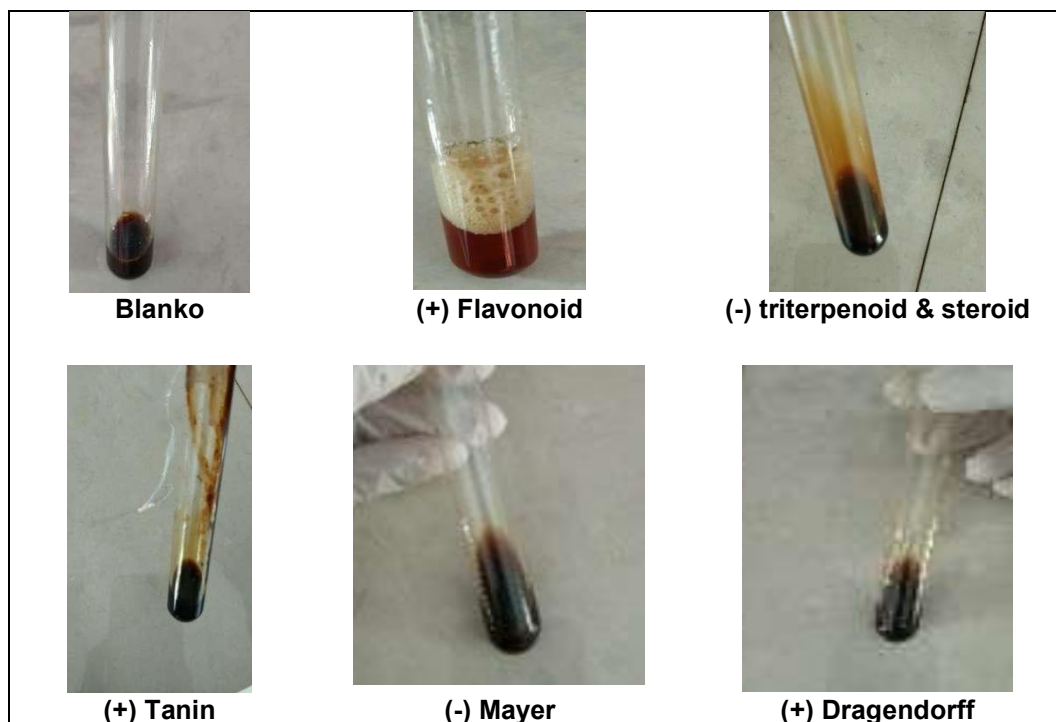
Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia pada kelopak bunga rosella menunjukkan adanya kandungan flavonoid, tanin, dan saponin, sementara alkaloid terdeteksi secara terbatas dan steroid maupun triterpenoid tidak terdeteksi. Profil metabolit sekunder ini memberikan dasar ilmiah yang kuat terhadap potensi aktivitas antidiabetes ekstrak rosella yang diamati dalam penelitian ini.

Tabel 3. Uji Skrining Fitokimia Kelopak Bunga Rosella

Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Uji
Alkaloid	a. Pereaksi Dragendorff	+
	b. Pereaksi Mayer	-
Flavonoid	Pereaksi HCl pekat + Mg	+
Tanin	Pereaksi FeCl ₃ 10%	+

Steroid dan Triterpenoid	Pereaksi H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH anhidrat	-
Saponin	Dipanaskan	+



Gambar 1. Uji Skrining Simplisia Kelopak Bunga Rosella

Flavonoid merupakan senyawa bioaktif utama yang banyak dilaporkan berperan dalam pengendalian hiperglikemia. Senyawa ini memiliki aktivitas antioksidan yang mampu menurunkan stres oksidatif akibat hiperglikemia kronis, melindungi sel β pankreas dari kerusakan, serta meningkatkan sensitivitas insulin pada jaringan perifer. Selain itu, flavonoid juga diketahui dapat menghambat aktivitas enzim pencernaan karbohidrat seperti α -glukosidase dan α -amilase, sehingga berkontribusi dalam menurunkan penyerapan glukosa di usus. Keberadaan flavonoid yang terdeteksi positif pada ekstrak kelopak bunga rosella memperkuat dugaan bahwa senyawa ini berperan penting dalam efek antihiperglikemik yang dihasilkan (Tiwari *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2012).

Tanin yang teridentifikasi dalam ekstrak juga berpotensi mendukung aktivitas antidiabetes. Tanin diketahui memiliki kemampuan untuk memperlambat absorpsi glukosa dengan cara membentuk kompleks dengan protein dan enzim pencernaan di saluran cerna. Mekanisme ini dapat membantu menurunkan lonjakan kadar glukosa darah setelah makan. Selain itu, tanin memiliki aktivitas antioksidan yang turut berkontribusi dalam menjaga fungsi sel β pankreas (Chung *et al.*, 1998).

Saponin yang terdeteksi positif pada ekstrak kelopak bunga rosella juga dilaporkan memiliki aktivitas antihiperglikemik melalui peningkatan sekresi insulin dan perbaikan metabolisme glukosa. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa saponin mampu meningkatkan permeabilitas membran sel terhadap glukosa serta berperan dalam regenerasi sel β pankreas yang mengalami kerusakan akibat induksi diabetogenik seperti aloksan (Francis *et al.*, 2002).

Sementara itu, hasil negatif pada uji steroid dan triterpenoid menunjukkan bahwa kedua golongan senyawa tersebut kemungkinan tidak berperan dominan dalam aktivitas antidiabetes ekstrak kelopak bunga rosella. Demikian pula, hasil uji alkaloid yang tidak konsisten

mengindikasikan bahwa kontribusi alkaloid terhadap efek antihiperglikemik relatif kecil dibandingkan flavonoid, tanin, dan saponin. Dengan demikian, aktivitas antidiabetes ekstrak rosella dalam penelitian ini diduga terutama dipengaruhi oleh kombinasi kerja flavonoid, tanin, dan saponin yang bersifat sinergis dalam menurunkan kadar glukosa darah dan melindungi fungsi pankreas.

Pembuatan Ekstrak

Ekstrak dibuat dengan menggunakan metode maserasi yang dilakukan di laboratorium Bahan Alam STIKes Muhammadiyah Kuningan. Serbuk kelopak bunga Rosella dimaserasi dengan cara direndam menggunakan pelarut etanol 70% untuk menarik semua komponen kimia yang terdapat pada simplisia.

Tabel 4. Nilai Rendemen

Berat Simplisia (gram)	Berat Ekstrak (gram)	Rendemen Ekstrak (%)
200	65,86	32,93

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak kental (g)}}{\text{bobot simplisia awal (g)}} \times 100\% \\
 &= \frac{65,86}{200} \times 100\% \\
 &= 32,93\%
 \end{aligned}$$

Nilai rendemen ekstrak kelopak bunga rosella yang diperoleh sebesar 32,93% menunjukkan bahwa proses ekstraksi menghasilkan ekstrak dalam jumlah yang relatif tinggi. Rendemen yang melebihi 30% mengindikasikan bahwa pelarut mampu mengekstraksi senyawa terlarut secara efektif, termasuk komponen polar seperti flavonoid, tanin, dan senyawa fenolik yang memang dilaporkan melimpah pada kelopak bunga rosella. Nilai rendemen yang cukup tinggi ini juga mencerminkan kesesuaian metode ekstraksi dan kondisi proses yang digunakan dalam penelitian ini, sehingga mendukung efisiensi perolehan ekstrak untuk tahap pengujian selanjutnya.

Evaluasi Sediaan

Tabel 5. Hasil Evaluasi Sediaan

Formulasi	Evaluasi			
	Organoleptik	Homogenitas	Viskositas	pH
F1	Cairan kental, warna merah pucat, bau lemah	Homogen	4040 mPa·s	5,1
F2	Cairan kental, warna merah muda, bau khas	Homogen	5180 mPa·s	4,06
F3	Cairan kental, warna merah bata, bau khas kuat	Homogen	4240 mPa·s	3,50
KP	Cairan kental, bau lemah, warna putih	Homogen	3940 mPa·s	6,44
KN	Cairan kental, bau lemah, warna putih	Homogen	4120 mPa·s	6,44

Keterangan :

- F1 : Suspensi ekstrak bunga rosella dosis 260 mg/kgBB
 F2 : Suspensi ekstrak bunga rosella dosis 500 mg/kgBB

F3 : Suspensi ekstrak bunga rosella dosen 750 mg/kgBB
KP : Suspensi Metformin HCl 500 mg/kgBB
KN : Suspensi aquadest dan CMC-Na

Berdasarkan **Tabel 5**, hasil uji organoleptik menunjukkan semua sediaan berupa cairan kental, homogen, dengan warna sediaan suspensi yang semakin pekat warnanya dan bau ekstrak rosella yang semakin kuat seiring dengan semakin tinggi dosis ekstrak kelopak bunga rosella di dalamnya.



Gambar 2. Uji Organoleptik

Uji evaluasi pH berdasarkan **Tabel 5**, menunjukkan bahwa semakin besar dosis ekstrak kelopak bunga Rosella maka sifat suspensi semakin asam, pH standar dalam larutan adalah 5 sampai 7 (Depkes RI, 2020), dan yang memenuhi syarat adalah F1 yaitu suspensi ekstrak bunga Rosella 260 mg/kgBB dengan nilai pH 5,10, kontrol positif dengan nilai pH 6,44 dan kontrol negatif dengan nilai pH 6,48. Sedangkan untuk uji viskositas, seluruh formula tidak masuk dalam kriteria karena nilai viskositas suspensi lebih tinggi dari 396 cP, hal ini dapat disebabkan karena CMC-Na bersifat mengentalkan dan dapat meningkatkan viskositas.

Uji Kadar Gula Darah Tikus

Hasil penelitian menunjukkan adanya **pola penurunan kadar glukosa darah** pada tikus putih jantan setelah pemberian suspensi ekstrak kelopak bunga rosella pada seluruh kelompok perlakuan. Penurunan kadar glukosa darah tersebut tidak terjadi secara seragam, melainkan menunjukkan kecenderungan **bergantung dosis**, di mana semakin tinggi dosis ekstrak yang diberikan, semakin besar penurunan kadar glukosa darah yang diamati. Pola ini mengindikasikan bahwa senyawa bioaktif dalam kelopak bunga rosella bekerja secara dosis-respons dalam menurunkan kadar glukosa darah.

Pada kelompok perlakuan dosis rendah (260 mg/kgBB), penurunan kadar glukosa darah telah terlihat, namun efeknya relatif lebih kecil dibandingkan dosis yang lebih tinggi. Pemberian dosis sedang (500 mg/kgBB) menunjukkan penurunan kadar glukosa darah yang lebih nyata, yang mengindikasikan bahwa konsentrasi senyawa aktif yang diberikan mulai mencapai kadar terapeutik yang lebih efektif. Sementara itu, dosis tertinggi (750 mg/kgBB) memberikan efek penurunan kadar glukosa darah paling besar, sehingga dapat dianggap sebagai dosis yang paling efektif dalam penelitian ini. Hasil ini sejalan dengan laporan sebelumnya yang menyebutkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosella kaya akan flavonoid dan senyawa fenolik yang berperan sebagai antioksidan dan mampu meningkatkan sensitivitas insulin serta melindungi sel β pankreas dari kerusakan oksidatif (Tiwari *et al.*, 2011; Kumar *et al.*, 2012).

Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, yaitu suspensi metformin HCl, efek penurunan kadar glukosa darah pada dosis ekstrak rosella tertinggi menunjukkan kecenderungan mendekati efek metformin, meskipun secara umum metformin masih memberikan efek penurunan yang lebih stabil. Metformin bekerja terutama melalui penurunan produksi glukosa hati dan peningkatan sensitivitas insulin, sedangkan ekstrak rosella diduga bekerja melalui mekanisme yang lebih kompleks dan multifaktorial, termasuk aktivitas antioksidan, penghambatan enzim pencernaan karbohidrat, serta perlindungan terhadap fungsi pankreas.

Perbedaan mekanisme kerja ini dapat menjelaskan mengapa ekstrak rosella menunjukkan efektivitas yang baik namun belum sepenuhnya menyamai efek farmakologis metformin sebagai obat standar antidiabetes (Bailey dan Turner, 1996).

Secara keseluruhan, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa suspensi ekstrak kelopak bunga rosella memiliki potensi sebagai agen antidiabetes alami, dengan dosis 750 mg/kgBB sebagai dosis paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes terinduksi aloksan. Temuan ini mendukung pemanfaatan kelopak bunga rosella sebagai kandidat terapi pendukung atau alternatif dalam pengelolaan diabetes melitus, meskipun penelitian lanjutan masih diperlukan untuk mengonfirmasi mekanisme kerja serta keamanan penggunaan jangka panjang.

Berdasarkan **Tabel 5**, dosis suspensi ekstrak bunga Rosella yang memiliki efek antidiabetes paling baik yang dilihat dari besarnya penurunan kadar gula adalah dosis 750 mg dengan nilai rata-rata kadar gula darahnya 102,5 mg/dL, sedangkan suspensi Metformin menunjukkan penurunan kadar gula darah tidak lebih besar dibandingkan dengan suspensi ekstrak kelopak bunga Rosella bila dilihat angka penurunan dari angka gula darah setelah diinduksi aloksan.

Tabel 6. Hasil Uji Kadar Gula Darah Tikus

Kelompok Perlakuan	Hewan	Berat (g)	Kadar Gula Darah (mg/dL)		
			G1	G2	G3
F1	1	211	75	101	102
	2	214	99	97	100
	3	239	116	111	102
	4	223	94	101	90
F2	1	252	107	107	97
	2	225	89	99	85
	3	243	88	92	93
	4	229	119	128	116
F3	1	249	101	128	103
	2	231	107	112	99
	3	259	116	105	108
	4	197	94	125	100
KP	1	245	94	99	99
	2	248	119	116	103
	3	247	92	113	92
	4	225	119	119	101
KN	1	254	137	128	119
	2	214	119	119	119
	3	215	105	108	122
	4	254	97	128	88

Keterangan :

- G1 : Gula Darah Puasa
- G2 : Gula Darah Aloksan
- G3 : Gula Darah Perlakuan
- F1 : Suspensi ekstrak bunga Rosella dosis 260 mg/kgBB
- F2 : Suspensi ekstrak bunga Rosella dosis 500 mg/kgBB
- F3 : Suspensi ekstrak bunga Rosella dosis 750 mg/kgBB

KP : Suspensi Metformin HCl 500 mg/kgBB

KN : Suspensi aquadest dan CMC-Na

Berdasarkan hasil pengukuran kadar glukosa darah pada Tabel 6, seluruh kelompok perlakuan menunjukkan peningkatan kadar glukosa darah setelah induksi aloksan (G2) dibandingkan kondisi awal (G1), yang menandakan bahwa aloksan berhasil menginduksi kondisi hiperglikemia pada tikus uji. Setelah pemberian perlakuan (G3), terlihat adanya penurunan kadar glukosa darah pada kelompok yang menerima suspensi ekstrak kelopak bunga rosella (F1, F2, dan F3) maupun pada kelompok kontrol positif metformin (KP), sementara kelompok kontrol negatif (KN) menunjukkan penurunan yang relatif lebih kecil dan tidak konsisten.

Jika ditinjau berdasarkan perbedaan dosis, kelompok F3 (750 mg/kgBB) menunjukkan penurunan kadar glukosa darah yang paling konsisten dibandingkan F1 dan F2. Hal ini mengindikasikan adanya hubungan dosis-respons, di mana peningkatan dosis ekstrak rosella diikuti oleh peningkatan efek antihiperglikemik. Pola ini sejalan dengan dugaan bahwa kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, dan saponin bekerja secara farmakologis dalam menurunkan kadar glukosa darah melalui mekanisme antioksidan dan peningkatan sensitivitas insulin.

Terkait dengan pengaruh berat badan hewan uji, data menunjukkan bahwa berat badan tikus pada seluruh kelompok berada dalam rentang yang relatif sempit, yaitu sekitar 197–259 g. Rentang ini masih termasuk dalam kisaran berat badan standar untuk tikus putih jantan dewasa yang lazim digunakan dalam penelitian farmakologi eksperimental. Tidak tampak pola tertentu yang menunjukkan bahwa tikus dengan berat badan lebih tinggi atau lebih rendah memberikan respons penurunan glukosa darah yang secara konsisten berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa variasi berat badan antar hewan uji relatif homogen dan tidak memberikan pengaruh bermakna terhadap respons perlakuan.

Selain itu, penggunaan basis dosis dalam satuan mg/kgBB secara metodologis telah memperhitungkan perbedaan berat badan masing-masing tikus, sehingga jumlah zat aktif yang diterima setiap hewan tetap proporsional. Dengan demikian, respons penurunan kadar glukosa darah yang diamati lebih dapat dikaitkan dengan efek perlakuan dan dosis ekstrak, bukan dipengaruhi oleh variasi berat badan hewan uji. Pendekatan ini sejalan dengan praktik umum dalam penelitian praklinik, dimana homogenitas berat badan dan penyesuaian dosis berdasarkan berat badan bertujuan meminimalkan bias biologis (Etuk, 2010; Parasuraman *et al.*, 2017).

Tabel 7. Hasil Rata-rata Kadar Gula Darah Tikus

Kelompok	Kadar Gula Darah Tikus (mg/dL)		
	Sebelum Aloksan	Sesudah Aloksan	Setelah Perlakuan
Kontrol Negatif	114,5	120,75	112
Kontrol Positif	106	111,75	98,75
F1	96	102,5	98,5
F2	100,75	106,5	97,75
F3	104,5	117,5	102,5

Analisis Data

Tabel 8. Nilai rata-rata Kadar Glukosa Tikus Putih Jantan Setelah Diberikan Suspensi Kontrol Positif dan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella

Kelompok Perlakuan	Mean $\pm$ SD	95% CI for Mean		Min-Max	p value
		Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol Positif	98.00 $\pm$ 4.967	90.10	105.90	92-103	0.829
F1	98.50 $\pm$ 5.745	89.36	107.64	90-102	

F2	97.75 ± 13.150	76.83	118.67	85-116
F3	101.00 ± 5.774	91.81	110.19	94-108

p value (Kruskal walis)

Berdasarkan **Tabel 8**, hasil analisis univariat, nilai rata-rata kadar glukosa pada tikus putih jantan setelah diberikan suspensi F3 lebih tinggi dibandingkan kadar glukosa setelah diberikan suspensi kontrol positif, F1, dan F2. Pada hasil analisis bivariat menggunakan uji statistik *Kruskal Walis*, didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p \text{ value} > 0.05$) antara kadar glukosa setelah pemberian suspensi kontrol positif dan ketiga formula suspensi ekstrak kelopak bunga rosella ($p \text{ value} = 0.829$).

Tabel 9. Nilai Rata-rata Kadar Glukosa Tikus Putih Jantan Setelah Diberikan Ekstrak Kelopak Bunga Rosella

Kelompok Perlakuan	Mean ± SD	95% CI for Mean		Min-Max	<i>p value</i>
		Lower Bound	Upper Bound		
F1	98.50 ± 5.745	89.36	107.64	90-102	0.641
F2	97.75 ± 13.150	76.83	118.67	85-116	
F3	101.00 ± 5.774	91.81	110.19	94-108	

p value (Kruskal walis)

Berdasarkan **Tabel 9**, hasil analisis univariat menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar glukosa pada tikus putih jantan setelah diberikan suspensi F3 lebih tinggi dibandingkan dengan kadar glukosa setelah diberikan suspensi F1 dan F2. Pada hasil analisis bivariat menggunakan uji statistik *Kruskal Walis*, didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna ($p \text{ value} > 0.05$) kadar glukosa ekstrak kelopak bunga rosella pada ketiga formulasi ($p \text{ value} = 0.641$).

Tabel 10. Perbedaan Kadar Glukosa Pada Tikus Putih Jantan Antara Setelah Diberikan Induksi Aloksan dan Setelah Diberikan Kontrol Positif

		(Mean ± standar deviasi)		<i>p value</i>
		Setelah di Induksi Aloksan	Setelah diberikan kontrol Postif	
Glukosa	Tikus	111.75 ± 8.846	98.00 ± 4.967	0.045
Putih Jantan				

p value (t) independent

Berdasarkan hasil analisis univariat pada **Tabel 10**, didapatkan bahwa rata-rata kadar glukosa pada tikus putih jantan setelah di induksi aloksan lebih tinggi dibandingkan kadar glukosa setelah diberikan perlakuan kontrol positif. Hasil analisis bivariat menggunakan uji T independent juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna ($p \text{ value} < 0.05$) kadar glukosa antara setelah diberikan induksi aloksan dengan setelah diberikan kontrol positif ($p \text{ value} = 0.045$).

Tabel 11. Perbedaan Kadar Glukosa pada Tikus Putih Jantan Setelah Induksi Aloksan dengan Setelah Diberikan Suspensi F1

		(Mean ± standar deviasi)		<i>p value</i>
		Setelah di Induksi Aloksan	Setelah diberikan kontrol Postif	
Glukosa	Tikus	101.00 (97-111)	101.00 (90-102)	0.770
Putih Jantan				

p value (Mann-Whitney)

Berdasarkan hasil analisis univariat pada **Tabel 11**, didapatkan bahwa nilai tengah kadar glukosa pada tikus putih jantan setelah diberikan induksi aloksan sama dengan kadar glukosa setelah diberikan suspensi F1. Hasil analisis bivariat menggunakan uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna (p value > 0.05) kadar glukosa antara setelah induksi aloksan dengan setelah diberikan suspensi F1 (p value = 0.770).

Tabel 12. Perbedaan Kadar Glukosa pada Tikus Putih Jantan Setelah Diberikan Induksi Aloksan Dengan Setelah Diberikan Suspensi F2

		(Mean $\pm$ standar deviasi)		p value
		Setelah di Induksi Aloksan	Setelah diberikan Kontrol Postif	
Glukosa	Tikus	106.50 $\pm$ 15.588	97.75 $\pm$ 13.150	0.425
Putih Jantan				

p value (t) independent

Berdasarkan hasil analisis univariat pada **Tabel 12**, didapatkan bahwa nilai tengah kadar glukosa pada tikus putih jantan setelah diberikan induksi aloksan sama dengan kadar glukosa setelah diberikan suspensi F2. Hasil analisis bivariat menggunakan uji T independent menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna (p value > 0.05) kadar glukosa antara setelah diberikan induksi aloksan sama dengan kadar glukosa setelah diberikan suspensi F2 (p value = 0.425).

Tabel 13. Perbedaan Kadar Glukosa pada Tikus Putih Jantan Setelah Diberikan Induksi Aloksan Dengan Setelah Diberikan Suspensi F3

		(Mean $\pm$ standar deviasi)		p value
		Setelah di Induksi Aloksan	Setelah diberikan Kontrol Postif	
Glukosa	Tikus	117.50 $\pm$ 10.847	101.00 $\pm$ 5.774	0.048
Putih Jantan				

p value (t) independent

Berdasarkan hasil analisis univariat pada **Tabel 13**, didapatkan bahwa rata-rata kadar glukosa pada tikus putih jantan setelah diberikan induksi aloksan sama dengan kadar glukosa setelah diberikan suspensi F3. Hasil analisis bivariat menggunakan uji T independent menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna (p value < 0.05) kadar glukosa antara setelah diberikan induksi aloksan sama dengan kadar glukosa setelah diberikan suspensi F3 (p value = 0.048).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang sudah dilaksanakan, disimpulkan bahwa suspensi pada F3 yang mengandung ekstrak kelopak bunga rosella dengan dosis 750 mg/kgBB menunjukkan efektivitas antidiabetes yang sebanding secara statistik dengan efek antidiabetes dari metformin pada tikus putih jantan terinduksi aloksan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan apresiasi dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada **Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian kepada Masyarakat (DRTPM) Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi Republik Indonesia** atas dukungan dan kepercayaan yang telah diberikan melalui hibah pendanaan penelitian. Dukungan pendanaan ini sangat berperan dalam terlaksananya seluruh rangkaian kegiatan penelitian, mulai dari perencanaan, pelaksanaan, hingga penyusunan luaran penelitian. Penulis berharap hasil penelitian ini dapat memberikan kontribusi yang bermakna bagi pengembangan ilmu

pengetahuan, khususnya di bidang kefarmasian dan kesehatan, serta menjadi dasar bagi penelitian lanjutan di masa yang akan datang.

REFERENSI

- Bailey, C.J. and Turner, R.C. 1996. Metformin. *The New England Journal of Medicine*, 334(9), pp. 574–579. <https://doi.org/10.1056/NEJM199602293340906>
- Chung, K.T., Wong, T.Y., Wei, C.I., Huang, Y.W. and Lin, Y. 1998. Tannins and human health: A review', *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(6), pp. 421–464. <https://doi.org/10.1080/10408699891274273>
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I. and Heinrich, M., 2014. Hibiscus sabdariffa L. – A phytochemical and pharmacological review', *Food Chemistry*, 165, pp. 424–443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>
- Depkes RI., 2020. *Farmakope Indonesia edisi VI*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Etuk, E.U. 2010. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(2), pp. 130–134.
- Evans, W.C. 2009. *Trease and Evans Pharmacognosy*. 16th edn. London: Saunders Elsevier.
- Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2002. The biological action of saponins in animal systems: a review. *British Journal of Nutrition*, 88(6), pp. 587-605. <https://doi.org/10.1079/BJN2002725>
- Harborne, J.B., 1998. *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. 3rd edn. London: Chapman and Hall.
- Kokate, C.K. 2008. *Practical Pharmacognosy*. 4th edn. New Delhi: Vallabh Prakashan.
- Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V. and Prakash, O. (2012) 'α-Glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes', *Pharmacognosy Reviews*, 6(12), pp. 135-145. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.99949>
- Lenzen, S. 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes', *Diabetologia*, 51(2), pp. 216–226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
- Parasuraman, S., Raveendran, R. and Kesavan, R. 2017. Blood sample collection in small laboratory animals', *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 8(4), pp. 181-186. https://doi.org/10.4103/jpp.JPP_23_17
- Szkudelski, T. 2001. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β-cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, 50(6), pp. 537-546.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G. and Kaur, H. 2011. Phytochemical screening and extraction: A review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), pp. 98–106.
- World Health Organization (WHO), 2021. *Global report on diabetes*. Geneva: World Health Organization.