



Potensi Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch. Bip, Ex walp) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Streptocotocin dan Pakan Tinggi Lemak

Joni Tandi*, Ni Made Irma Mariani, Ni Putu Setiawati

Program Studi S1 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu, INDONESIA *Email korespondensi: jonitandi757@yahoo.com

(Submit 15/03/2019, Revisi 05/09/2019, Diterima 20/12/2019)

Abstrak

Daun afrika (Gymnanthemum amygdalinum (Delile) Sch.Bip.Ex Walp) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan tanin. Telah dilakukan penelitian dari ekstrak etanol daun afrika (EEDA) terhadap gambaran histopatologi pankreas dan glukosa putih jantan (Rattus norvegicus) hiperkolesterolemia-diabetes. Tikus hiperkolesterolemia-diabetes diperoleh dengan cara diinduksi pakan tinggi lemak dan Penelitian bertujuan untuk membuktikan efek streptozotocin. EEDA meregenerasi sel β pankreas dan kadar glukosa darah pada tikus hiperkolesterolemiadiabetes, serta mengetahui dosis efektifnya. Jenis penelitian ini adalah trueexperimental laboratorium dengan pre and post test with randomized control group design. Subjek penelitian yaitu 35 ekor tikus putih hiperkolesterolemia-diabetes dibagi menjadi 7 kelompok, tiap kelompok terdiri dari 5 ekor. Kelompok I (kontrol normal) dan II (kontrol negatif) diberikan Na-CMC 0,5%, III (kontrol positif 1) diberikan simvastatin, IV (kontrol positif 2) diberikan metformin, kelompok IV, V, dan VI diberikan EEDA dosis 50; 100; 150 mg/kgBB. Data kadar glukosa darah dan kolesterol total diuji secara statistik (one way ANOVA) dan dilanjutkan uji non parametik (Kruskal-Wallis) pada taraf kepercayaan 95%, jika terdapat perbedaan yang signifikan maka dilakukan uji (Man Whitney) untuk menentukan perbedaan yang berarti dari setiap kelompok. Hasil penelitian menunjukan pemberian EEDA mampu meregenerasi sel β pankreas dan glukosa darah tikus hiperkolesterolemia-diabetes. EEDA dosis 150 mg/kgBB efektif meregenerasi sel β pankreas dan EEDA dosis 150 mg/kg BB efektif terhadap kadar glukosa darah.

Kata kunci: EEDA, Streptocotocin, Pakan Tinggi Lemak, pankreas, kadar glukosa darah

Outline

- Pendahuluan
- Metode
- Hasil dan Pembahasan
- Kesimpulan
- Daftar Pustaka

Pendahuluan

Prevalensi penyakit infeksi dan kekurangan gizi berangsur berkurang sedangkan penyakit degeneratif, seperti Diabetes Melitus (DM) meningkat dengan tajam. Pola hidup menurut Afrianti (2015) seperti kebiasaan mengkonsumsi makanan siap saji disertai dengan kurangnya waktu berolahraga menjadi faktor resiko penyebab tingginya angka penyakit DM, hiperkolesterolemia, penyakit jantung koroner (PJK), dan hipertensi.

Diabetes mellitus (DM) adalah suatu kumpulan gejala yang timbulpada seseorang karena adanya peningkata kadar glukosa darah akibat penurunan fungsi sekresi insulin yang progresif. DM merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduannya¹. Hiperglikemia akan menginduksi respon imun inflamasi dan stres oksidatif yang menyebabkan kenaikan jumlah radikal bebas, khususnya senyawa oksigen reaktif (ROS). Keadaan stres oksidatif akan memicu terjadinya kerusakan oksidatif terhadap penyusun sel, seperti, DNA, protein dan lemak. Radikal bebas bersifat sangat reaktif dan tidak stabil sehingga sangat sulit untuk diukur secara langsung, akan tetapi terbentuknya produk peroksidasi lipid malondialdehid (MDA) dan senyawa 8-hidroksideoksiguanosin dapat digunakan untuk mendeterminasi secara tidak langsung adanya radikal bebas¹.

Pankreas merupakan organ kelenjar penting dalam tubuh yang terdiri dari jaringan eksokrin dan endokrin. Kelenjar endokrin pankreas tersusun atas pulau langerhans yang merupakan *cluster* yang tersebar di sepanjang kelenjar eksokrin pankreas. Unit endokrin yang disebut sebagai pulau langerhans memiliki 4 macam sel, yaitu sel alfa (α) , sel beta (β) , sel delta (δ) , dan sel F (polipeptida pankreas). Sel beta menghasilkan hormon insulin dan berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah. Perubahan histopatologis pulau langerhans dapat terjadi secara kuantitatif, seperti pengurangan jumlah atau ukuran, maupun secara kualitatif, seperti terjadi nekrosis (kematian sel), atropi (pengecilan sel), dan fibrinosis (jaringan-jaringan sel yang rusak). Sel-sel yang rusak akibat bahan kimia menurut Suarsana (2010) dapat menyebabkan inflamasi (peradangan). Kerusakan sel-sel beta pankreas dapat disebabkan faktor genetik, infeksi oleh kuman, dan radikal bebas.

Histopatologi adalah cabang biologi yang mempelajari kondisi dan fungsi jaringan dalam hubungannya dengan penyakit. Histopatologi sangat penting dalam kaitan dengan diagnosis penyakit karena salah satu pertimbangan dalam penegakan diagnosis adalah melalui hasil pengamatan terhadap jaringan yang diduga terganggu. Analisis kondisi organ menurut Gerrit (1998) atau jaringan dengan pengamatan terhadap perubahan morfologi, struktur dan indikasi kerusakan/infeksi/mutasi lainnya akibat pengaruh penyakit, bahan toksik atau proses mutagenisis lainnya.

Pengobatan dan pemeliharaan kesehatan pada penderita DM memerlukan biaya yang sangat mahal, terutama penderita DM yang harus selalu bergantung pada obat sepanjang hidupnya. Selain itu, penggunaan obat sintetik dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping yang cukup besar².

Masyarakat mulai beralih menggunakan obat tradisional karena dipercaya efektif,

ekonomis dan efek sampingnya minim. Banyak jenis tanaman obat yang digunakan secara tunggal maupun ramuan terbukti sebagai bahan pemelihara kesehatan. Pengobatan dengan tanaman obat semakin berkembang dengan adanya kecenderungan untuk kembali ke alam³.

Salah satu tanaman yang berkhasiat obat adalah daun afrika (*Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch.Bip. ex Walp.) atau lebih dikenal dengan nama *Vernonia amygdalina* Del. Daun afrika berkhasiat untuk menangkal radikal bebas karena mengandung senyawa flavonoid (antioksidan). Antioksidan bekerja dengan cara menghentikan pembentukan radikal bebas, menetralisir serta memperbaiki kerusakan yang terjadi sehingga mencegah berbagai penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif⁴.

Penelitian pemanfaatan daun afrika sebagai bahan obat tradisional telah banyak dilakukan. Penelitian Dillasamola dan Mega (2016), menunjukkan ekstrak etanol daun afrika selatan (*Vernonia amygdalina* Del.) mempunyai aktivitas antioksidan sangat lemah terhadap radikal bebas⁵. Penelitian (Johnson, 2014) melaporkan bahwa daun afrika menunjukkan kemampuan menurunkan kadar glukosa darah dan kadar kolesterol tikus pada dosis 100 dan 200 mg/kg BB. Penelitian yang dilakukan oleh Nugrah tahun 2015 memperoleh hasil bahwa pemberian ekstrak daun afrika (*Gymnanthemum amygdalimum* (Delile) Sch. Bip. Ex Walp) dengan dosis 20% b/v pada mencit jantan secara signifikan memberikan efek penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan sensitivitas insulin.

Penelitian terdahulu tentang pengujian histopatologi pankreas dan antidiabetes yang telah dilakukan oleh Tandi, J., dkk., (2017), menunjukan ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) pada dosis 400 mg/kg BB efektif dalam meregenerasi sel β pankreas dan dosisi 200 mg/kg BB efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus hiperkolesteromeia-diabetes. Ekstrak etanol daun gedi merah dengan dosis 150 mg/kg BB merupakan dosis yang efektif untuk menurunkan kadar glukosa darah serta dapat meningkatkan kadar insulin⁶.

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan efek pemberian EEDA (*Gymnanthemum amygdalinum* Delile) Sch.Bip. ex Walp.) dalam menurunkan kadar kadar glukosa darah dan meregenerasi sel β pankreas pada tikus putih jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak dan STZ serta mengetahui dosis efektif EEDA.

Metode

A. Alat

Alat-alat gelas laboratorium, Bejana maserasi, Blender, Cawan porselin, Glukometer (Accu-Chek), Glukotest strip test (Accu-Chek), Kandang hewan uji, Mortir dan stamper, Penangas air, *Rotary vacum evaporator*, spidol, Spuit injeksi 3 mL, Spuit oral 5 mL, Timbangan gram, Timbangan analitik, Wadah air minum dan pakan tikus. Mikroskop Cahaya Olympus CX-21, *Embending cassate*, Mikrotom, *Floating out*, Pelat Pemanas Sampel, *Tap Water* dan Objek Gelas.

B. Bahan

Air suling, Alkohol 70%, Aluminium foil, Amoniak, Asam klorida, Asam klorida pekat P, Asam sulfat, *citrate-buffered saline*, Besi (III) klorida, Etanol 96%, Eter, Handskun, Kapas, Kertas saring, Kloroform, Metformin, Natrium klorida, Na-CMC 0,5%, Pereaksi Dragendorff, Propiltiourasil (PTU), Sukrosa, Serbuk magnesium P, Streptozotocin (STZ) dan Simvastatin tablet dan Larutan Mayer Hematoxylin-Eosin, Liebermann-Burchard.

C. Pengumpulan bahan

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah daun afrika (*Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch.Bip. Ex. Walp.). Sampel diperoleh dari sekitaran kota Palu, Sulawesi Tengah.

D. Pembuatan ekstrak daun afrika

Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 1.103 gram lalu dimasukkan ke dalam 3 bejana maserasi masing-masing 367,6 gram kemudian ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 1,67 L dan bejana ditutup rapat. Perendaman serbuk simplisia dilakukan selama 3x24 jam. Ekstrak disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat kemudian dipisahkan dari pelarutnya melalui penguapan menggunakan *rotary vacum evaporator* pada suhu 70°C sehingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat kemudian diuapkan pada waterbath dengan suhu 60°, hingga diperoleh ekstrak kental.

E. Hewan uji

Populasi hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) berumur 2-3 bulan, berat badan 200-250 gram, kondisi badan sehat dan tidak cacat. Tikus putih diperoleh dari penyedia hewan uji Fakultas MIPA Universitas Tadulako, Sulawesi Tengah.

F. Pembuatan larutan Induksi STZ

Streptozotocin ditimbang sebanyak 0,24 gram dan dimasukan kedalam labu ukur 100 mL kemudian dilarutkan menggunakan *citrate-buffer saline* pH 4,5. STZ diinduksi pada tikus secara intraperitoneal (i.p) dengan dosis 30 mg/kg BB.

G. Pembuatan Larutan Na CMC 0,5%

Natrium karboksimetil sellulosa (Na CMC) ditimbang sebanyak 0,5 gram kemudian dilarutkan kedalam 100 mL aquades.

H. Pembuatan Suspensi EEDA

Ekstrak kental daun Afrika ditimbang masing-masing sebanyak 0,4 gram (dosis 50 mg/kgBB), 0,8 gram (dosis 100 mg/kg BB) dan 1,2 gram (dosis 150 mg/kgBB). Kemudian disuspensikan dengan Na CMC 0,5% hingga 100 mL.

I. Pembuatan Suspensi Metformin

Dosis metformin pada manusia dewasa adalah 500 mg per hari, jika dikonversi pada tikus dengan berat 200 gram adalah 0,018 maka dosis metformin untuk tikus adalah 4,5 mg/kg BB. Ditimbang serbuk tablet Metformin yang setara dengan 360 mg kemudian disuspensi dalam Na CMC 0,5% hingga 100 ml kemudian dikocok hingga homogen.

J. Pengukuran Kadar Glukosa Darah dan pengujian Histopatologi Pankreas

Pengukuran kadar glukosa darah menggunakan Accu-Check. Alat ukur dihidupkan dan dikalibrasi terlebih dahulu sebelum digunakan dengan cara memasukan test strip yang digunakan kemudian nomor kode disesuaikan dengan test strip. Di layar akan muncul gambar "tetesan darah" yang menandakan alat siap untuk digunakan. Darah diambil melalui ujung ekor tikus yang sebelumnya dibersihkan dengan alkohol 70%. Ujung ekor tikus dilukai menggunakan gunting kemudian diurut perlahan-lahan. Tetesan darah pertama yang keluar dibuang kemudian tetesan darah berikutnya diteteskan pada test strip. Darah akan terserap sesuai kapasitas serap test strip kemudian dalam beberapa detik kadar glukosa darah terukur secara otomatis dan hasilnya dapat dibaca pada layar monitor.

Pengujian histopatologi pankreas dilakukan setelah perlakuan pada hari ke-49. Hewan uji dikorbankan dengan cara anastesi, yaitu tikus dimasukkan kedalam toples berisi kapas yang diberi eter. Tunggu hingga tikus kehilangan kesadaran dengan cara memberikan rangsang nyeri pada telapak kaki tikus, bila tidak memberi respon maka efek anastesi sudah bekerja. Proses pembedahan dilakukan pada bagian kulit perut sampai terlihat bagian organ dalam perut tikus. Organ pankreas diambil dan dimasukkan kedalam wadah khusus yang berisi formalin 10%7.

a) Pembuatan Sediaan Histologi Pankreas

Organ pankreas tikus yang telah diambil, selanjutnya dilakukan pembuatan preparat pankreas dengan langkah sebagai berikut: Tahapan fiksasi, sampel organ pankreas difiksasi dengan Buffered Neutral Formalin (BNF), volume BNF minimal 10 kali volume jaringan. Pada umumnya waktu yang diperlukan untuk proses fiksasi sempurna adalah 48 jam. Tahapan pemotongan spesimen, spesimen yang dipilih untuk pemeriksaan dipotong setebal 0,5-1 cm. Tahapan prossesing dan embedding dilakukan dengan cara, embedding cassete yang telah diisi spesimen jaringan dimasukkan ke dalam tissue processor dengan pengaturan waktu yaitu proses fiksasi sebanyak 2 kali masing-masing selama 2 jam. Proses dehidrasi dilakukan sebanyak 5 kali dengan menggunakan konsentrasi alkohol yang berbeda-beda, aklohol 70% selama 1 jam (1 kali), alkohol 90% selama 1 jam (1 kali), alkohol 100% sebanyak 3 kali masing-masing selama 2 jam. Proses clearing dengan toluen sebanyak 3 kali selama 1 jam dan 1,5 jam. Proses impregnasi dengan paraffin sebanyak 2 kali selama 2 jam dan 3 jam. Tahapan pemotongan, blok jaringan dipotong menggunakan alat mikrotom dengan ketebalan 5-6 mikron. Selanjutnya potongan direntangkan pada *floating out* yang bersuhu 40°C dan ditaburkan gelatin powder sebanyak 5 gram serta aquadest sebanyak 100 cc biarkan larut sempurna. Setelah didapat sampel yang diinginkan, sampel di beri nomor. Kemudian sampel ditempatkan diatas pelat pemanas sampel selama minimal 2 jam7.

b) Pewarnaan Histologi Pankreas

Tahapan pewarnaan menggunakan pewarnaan Hematoxylin Eosin yaitu sampel direndam dalam larutan *xylol* sebanyak 2 kali masing-masing selama 2 menit, lalu dilakukan pembilasan menggunakan alkohol 100% dan alkohol 95% masing-masing sebanyak 2 kali selama 1 menit. Setelah itu dilakukan proses pewarnaan menggunakan mayers haemotoxylin selama 15 menit dan direndam dalam *tap water* selama 20 menit. Kemudian sampel dimasukkan dalam larutan eosin selama

2 menit. Selanjutnya sampel dibilas menggunakan alkohol 95% dan alkohol 100% masing-masing sebanyak 2 kali selama 2 menit, dan kemudian sampel direndam dalam larutan xylol sebanyak 3 kali selama 2 menit. Sampel ditutup dengan objek glass, lalu diamati di bawah mikroskop cahaya. Pemeriksaan mikroskopik dilakukan dibawah mikroskop untuk melihat perubahan morfologis dari organ pankreas yang diamati. Pengamatan yang dilakukan menggunakan mikroskop Olympus Cx-21 dengan perbesaran 400x.

K. Rancangan penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental laboratorium dengan rancangan pre and post test randomized controlled group design. Tikus yang digunakan sebanyak 35 ekor dan telah mengalami proses adaptasi selama 14 hari dengan pemberian pakan standar serta air minum ad libitum. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok dengan cara random sampling. Pengukuran kadar glkosa darah awal dilakukan setelah tikus dipuasakan selama 16 jam namun tetap diberikan minum. Selanjutnya dilakukan proses peningkatan kadar gula darah selama 28 hari. Kelompok I sebagai kontrol normal diberikan pakan standar dan air minum ad libitum. Kelompok kontrol negatif, kontrol positif 1, kontrol positif 2, EEDA dosis 50, 100 dan 150 mg/kg BB diberikan suspensi air gula dan PTU 0,01% dalam air minum secara ad libitum. Setelah 28 hari dilakukan pengukuran kadar gula darah. Kemudian semua tikus diinduksi STZ dosis 30 mg/kg BB secara i.p dan dilanjutkan pemberian sukrosa 30% secara peroral kecuali pada kelompok kontrol normal. Hari ke-7 setelah diinduksi STZ dilakukan pengukuran kembali. Hewan uji yang telah mengalami kenaikan kadar gula darah (>100 mg/dL), kemudian diberikan perlakuan selama 14 hari yaitu sebagai berikut: kelompok I kontrol normal dan kelompok II kontrol negatif diberikan Na CMC 0,5%, kelompok III dan IV sebagai kontrol positif diberikan suspensi simvastatin dan metformin, kelompok IV, V dan VI diberikan EEDA masing-masing dengan dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, dan 150 mg/kg BB. Pengukuran dilakukan pada hari ke-42 dan ke-49. Pengukuran kadar gula darah tikus pada hari ke-49 dan dilakukan pembedahan pada tikus untuk uji histopatologi pankreas dan dilakukan pengumpulan data dan pengolahan data.

L. Analisis data

Data hasil pemeriksaan mikroskopis yang diperoleh berupa data skoring tingkat kerusakan pankreas tikus putih jantan. Selanjutnya dianalisis menggunakan uji nonparametrik Kruskall Wallis untuk mengetahui perbedaan yang signifikan antar kelompok perakuan dan kelompok kontrol dengan nilai p<0,05 dipilih sebagai tingkat signifikansinya. Jika terdapat perbedaan yang signifikan, maka dilakukan uji Mann Whitney untuk melihat perbedaan yang bermakna setiap kelompok. Pengolahan data dilakukan menggunakan program software SPSS 23. Adapun data hasil penurunan kadar glukosa darah digunakan sebagai nilai rujukan

Hasil dan Pembahasan

A. Hasil Penelitian

Tabel 1. Hasil uji penapisan fitokimia ekstrak etanol daun afrika (EEDA)

Pengujian	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Uji Alkaloid	Dragendorf LP	Terbentuknya endapan kuning orange sampai merah bata	(+)
Uji Flavonoid	HCl Pekat dan Logam Magnesium	Terbentuknya endapan warna kuning jingga	(+)
Uji Saponin	Dikocok + HCl 2N	Terbentuknya buih	(+)
Uji Tanin	FeCl ₃	Terbentuknya warna biru kehitaman	(+)
Uji Steroid	Lieberman burchard	Terbentuknya warna hijau	(+)

Keterangan: (+) Mengandung golongan senyawa yang diuji

Tabel 2. Rerata kadar glukosa darah tikus (mg/dL) setiap kelompok sebelum perlakuan (H-0), setelah induksi PTL dan STZ (H-35) dan setelah perlakuan (H-42, H-49)

Hari ke	Kontrol normal	Kontrol negatif	Kontrol positif	Dosis 50 mg/kg BB	Dosis 100 mg/kg BB	Dosis 150 mg/kg BB	Р
0	91,6±5,74	91,4±5,22	98,4±7,70	90,2±2,68	98±14,20	99,8±6,69	0,232
35	90.2±9,17	329±97,19	232,4±1,61	247,8±57,91	285,4±121,40	400,8±35,80	0,000
42	101,8±7,32	225,8±63,29	97.6±4,21	162±82,81	155,4±39,59	149,4±13,79	0,000
49	106,6±9,21	282,6±97,07	77,8±6,41	161±63,53	117,4±6,91	115,4±5,54	0,000

Keterangan: P>0,05: Berbeda Tidak Signifikan;

P<0,05 : Berbeda Signifikan

Tabel 3. Rerata Hasil Skoring Histopatologi Pankreas

	Data Skoring Tingkat Kerusakan Pankreas						
Tikus	Kontrol Normal	Kontrol Negatif (Na CMC)	Kontrol Positif (Metformin)	Ekstrak Etanol Dosis 50mg/kg BB	Ekstrak Etanol Dosis 50mg/kg BB	Ekstrak Etanol Dosis 50mg/kg BB	
1	0	2	0	2	2	1	
2	0	4	1	2	2	2	
3	0	3	0	2	1	0	
4	0	2	1	2	2	0	
5	0	2	0	2	1	1	
Rata-Rata	0	2,6	0,4	2	1,6	0,8	
SD±	0	0,894	0,547	0	0,547	0,836	

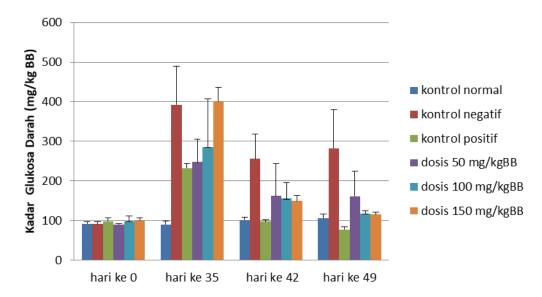
Keterangan: Skor 0 = Tidak ada kerusakan

Skor 1 = Kerusakan ¼ bagian sel

Skor 2 = Kerusakan ½ bagian sel

Skor 3 = Kerusakan ¾ bagian sel

Skor 4 = Hampir kerusakan menyeluruh bagian sel



Gambar 1. Rata-rata kadar glukosa darah tikus (mg/dL) tiap kelompok pada hari ke-0, ke-35, ke-42 dan ke-49

B. Pembahasan

Penelitian mengenai uji efektivitas ekstrak etanol daun afrika (EEDA) terhadap kadar glukosa darah tikus putih jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak dan streptozotocin ini menggunakan ekstrak kental daun afrika (*Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch.Bip. Ex Walp). Daun afrika diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Metode maserasi dipilih karena prosedur dan peralatannya sederhana, sampel yang digunakan bertekstur lunak serta untuk menghindari terjadinya kerusakan senyawa akibat pemanasan⁸. Pelarut etanol 96% dipilih karena termasuk cairan pelarut yang aman dan lebih maksimal dalam menarik senyawa fenolik⁹. Hasil uji penapisan fitokimia menunjukan ekstrak kental daun afrika mengandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, tannin, dan steroid.

Tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar digunakan sebagai subjek penelitian. Tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor dengan kriteria inklusi yaitu, tikus jantan, berbadan sehat, berusia 2-3 bulan dan berat badan sekitar 200-250 g. Tikus putih mempunyai sistem reproduksi, sistem syaraf, penyakit dan metabolismenya menyerupai manusia. Tikus putih jantan baik digunakan dalam penelitian karena kondisi biologisnya lebih stabil dibandingkan dengan tikus betina¹⁰.

Pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke-0, menunjukan rata-rata kadar glukosa darah 90,2-99,8 mg/dL sehingga termasuk dalam keadaan normal (<200 mg/dL). Hasil uji statistik *one way anova* menunjukan berbeda tidak signifikan (p>0,05) sehingga tidak dilakukan uji lanjut LSD. Hal ini menunjukan semua tikus sebelum perlakuan memiliki kadar glukosa darah yang homogen sehingga dapat digunakan sebagai hewan uji dalam penelitian.

Hasil pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke-0 kelompok kontrol normal yaitu antara 86-100 mg/dL (dengan rata-rata 91,6), kontrol negatif 86-100 mg/dL (dengan rata-rata 91,4), kontrol positif 90-109 mg/dL (dengan rata-rata 98,4), kelompok dosis 50 mg/kg BB yaitu antara 87-93 mg/dL (dengan rata-rata 90,2), dosis 100 mg/kg BB 83-

120 mg/dL (dengan rata-rata 98) dan dosis 150 mg/kg BB 102-106 mg/dL (dengan rata-rata 99,8). Hal ini sesuai dengan literatur yang menunjukan bahwa kadar glukosa darah tersebut dikatakan normal karena berada dalam rentang 50-135 mg/dL (Sari, D.P. 2016). Tikus dinyatakan hiperglikemia apabila kadar glukosa darah > 200 mg/dL. Hal ini menunjukan bahwa semua hewan uji yang digunakan homogen, dimana kadar glukosa darah masih dalam rentang normal sehingga dikatakan sehat.

Data hasil pengukuran kadar glukosa darah setelah induksi pakan tinggi koleterol dan STZ pada hari ke-35 yaitu kelompok kontrol normal 82-102 mg/dL (dengan rata-rata 90,2), kontrol negatif 294-531 mg/dL (dengan rata-rata 392), kontrol positif 214-242 mg/dL (dengan rata-rata 232,4), kelompok dosis 50 mg/kg BB yaitu antara 214-351 mg/dL (dengan rata-rata 247,8), dosis 100 mg/kg BB 223-502 mg/dL (dengan rata-rata 285,4) dan dosis 150 mg/kg BB 347-434 mg/dL (dengan rata-rata 400,8). Hal ini menunjukan bahwa tikus telah mengalami hiperglikemia dan semua kelompok hewan uji telah mengalami hiperglikemia yang ditandai dengan kadar glukosa darah > 200 mg/dL, kecuali kontrol normal karena tidak diberikan pakan tinggi kolesterol dan diinduksi streptozotocin.

Hasil statistik *one way* Anova pada hari ke-35 memperlihatkan nilai p<0,05 yaitu p=0,000 hal ini menunjukan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada semua kelompok perlakuan. Hal ini menandakan bahwa adanya efek dari pemberian streptozotocin kecuali pada kontrol normal sehingga dilanjutkan dengan uji Pos Hoc LSD untuk melihat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Hasil uji lanjut Pos Hoc LSD menunjukkan bahwa semua kelompok berbeda signifikan kecuali kontrol normal. Hal ini disebabkan karena kondisi tikus yang secara fisiologis berbeda-beda sehingga kenaikan kadar glukosa darah juga berbeda, tetapi tetap menunjukkan nilai >200 mg/dL sehingga hewan uji dinyatakan hiperglikemia.

Setelah pemberian ekstrak etanol daun afrika selama 7 hari (hari ke-42) diperoleh hasil pengukuran kadar glukosa darah kelompok kontrol normal yaitu 93-110 mg/dL (dengan rata-rata 101,8), kontrol negatif 205-285 mg/dL (dengan rata-rata 255,8), kontrol positif 93-104 mg/dL (dengan rata-rata 97,6), kelompok dosis 50 mg/kg BB yaitu antara 102-306 mg/dL (dengan rata-rata 162), dosis 100 mg/kg BB 118-214 mg/dL (dengan rata-rata 155,4) dan dosis 150 mg/kg BB 131-164 mg/dL (dengan rata-rata 149,4). Hal ini menunjukan bahwa adanya penurunan kadar glukosa darah pada semua kelompok perlakuan kecuali kontrol normal dan kontrol negatif (tidak diberi ekstrak). Kontrol positif dan kelompok dosis 150 mg/kg BB menunjukan adanya penurunan kadar glukosa darah hingga mendekati nilai normal, sedangkan kelompok dosis 50 mg/kg BB dan kelompok dosis 100 mg/kg BB menunjukan adanya penurunan kadar glukosa darah namun belum mencapai kadar glukosa darah normal.

Hasil statistik *one way* Anova pada hari ke-42 memperlihatkan nilai p<0,05 yaitu p=0,000 hal ini menunjukan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada semua kelompok perlakuan yang menandakan bahwa adanya efek dari kontrol positif (metformin) maupun efek dari pemberian dosis ekstrak etanol daun afrika sehingga dilanjutkan dengan uji Pos Hoc LSD untuk melihat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Hasil uji lanjut Pos Hoc LSD menunjukan bahwa kontrol normal berbeda tidak signifikan dengan kelompok positif, kelompok dosis 100 mg/kg BB dan

kelompok dosis 150 mg/kg BB, tetapi berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan kelompok dosis 50 mg/kg BB. Hal ini menunjukan bahwa kadar glukosa darah tikus kelompok dosis 100 dan 150 mg/kg BB mengalami penurunan mendekati nilai normal, sedangakn pada kontrol negatif tidak diberikan perlakuan ekstrak atau metformin dan pada kelompok dosis 50 mg/kg BB mempunyai efek dosis yang sangan rendah. Kontrol positif berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan kelompok dosis 50 mg/kg BB, kecuali kontrol normal, kelompok dosis 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok dosis 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB sudah memberikan efek sudah dapat memberikan efek menurunkan kadar glukosa darah yang sebanding dengan kontrol positif (metformin), dimana metformin dapat memperbaiki sensitivitas insulin, terutama menghambat pembentukan glukosa dalam hati sebagian besar dengan menghambat glukoneogenesis hepatik¹¹.

Pada hari ke-49 diperoleh hasil pengukuran kadar glukosa darah (setelah pemberian ekstrak etanol daun afrika selama 14 hari) yang mengalami penurunan yaitu kelompok kontrol normal 99-119 mg/dL (dengan rata-rata 106,6), kontrol negatif 210-445 mg/dL (dengan rata-rata 282,6), kontrol positif 72-86 mg/dL (dengan rata-rata 77,8), kelompok dosis 50 mg/kg BB yaitu antara 107-267 mg/dL (dengan rata-rata 161), dosis 100 mg/kg BB 107-124 mg/dL (dengan rata-rata 117,4) dan dosis 150 mg/kg BB 106-122 mg/dL (dengan rata-rata 115,4). Hal ini menunjukan bahwa adanya penurunan kadar glukosa darah pada ketiga kelompok dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB.

Hasil statistik *one way* Anova pada hari ke-49 memperlihatkan nilai p<0,05 yaitu p=0,000 hal ini menunjukan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada semua kelompok perlakuan. Hal ini menandakan bahwa adanya efek dari kontrol positif (metformin) maupun efek dari pemberian variasi dosis ekstrak etanol daun afrika sehingga dilanjutkan dengan uji Pos Hoc LSD untuk melihat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Hasil uji lanjut Pos Hoc LSD menunjukan bahwa kontrol normal berbeda tidak signifikan dengan semua kelompok perlakuan kecuali berbeda signifikan dengan kontrol negatif. Kontrol positif berbeda tidak signifikan dengan semua kelompok perlakuan kecuali kontrol negatif dan kelompok dosis 50 mg/kg BB. Hal ini menunjukan bahwa kadar glukosa darah tikus kontrol positif, kelompok dosis 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB mengalami penurunan yang baik mendekati nilai normal. Kontrol positif berbeda signifikan dengan kontrol negatif dan kelompok dosis 50 mg/kg BB tetapi berbeda tidak signifikan dengan kontrol normal, kelompok dosis 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB. Hal ini menunjukan bahwa kelompok dosis 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB sudah dapat memberikan efek menurunkan kadar glukosa darah tikus.

Kelompok perlakuan ekstrak etanol daun afrika dengan variasi dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB memiliki efek terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih jantan Hiperkolesterolemia – Diabetes. Ekstrak etanol daun afrika dosis 150 mg/kg BB adalah dosis yang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah karena dapat memberikan efek penurunan kadar glukosa darah lebih baik yang mendekati kadar glukosa darah normal.

Pada hari ke 49 dilakukan pembedahan dan dilakukan uji histopatologi pankreas. Hasil skoring dari uji histopatologi pankreas dianalisis dengan menggunakan analisis non-parametrik Kruskal-Wallis. Uji ini dilakukan untuk melihat adanya perbedaan signifikan

dari semua kelompok perlakuan. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan melihat nilai signifikansi p<0,05 (p=0.002) yang artinya terdapat perbedaan dari tiap kelompok perlakuan selanjutnya di lakukan uji man-whitney untuk mengetahui perbedaan pada tiap pelakuan. Pengujian man-whitney kelompok normal berbeda signifikan terhadap kelompok negatif p<0,05 (p=0, 0,005) ekstrak dosis 50 mg (p=0,003) dan dosis 100mg (p=0,005) namun berbeda tidak signifikan teradap kelompok positif p>0,05 (p=0,134) dan kelompok ekstrak dosis 150 mg (p= 0,053). Hal ini menunjukkan bahwa streptozotocin memberikan pengaruh terhadap kerusakan pulau langerhans akan tetapi metformin dan ekstrak dapat memperbaiki kembali kerusakan tersebut mesti belum mengembalikan pada keadaan normal (awal).

Pengujian man-whitney kelompok negatif berbeda signifikan terhadap kelompok normal p<0,05 (p=0,005), kelompok positif (p=0,007) dan kelompok ekstrak dosis 150 mg (p=0,017), berbeda tidak signifikan terhadap kelompok ekstrak dosis 50 mg p<0,05 (p=0,136) dan kelompok ekstrak dosis 100 mg (p=0,059). Hal ini menunjukkan dosis ekstrak 50mg dan 100mg belum efektif memperbaiki kerusakan pankreas. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya bahwa dosis 200mg yang dapat meregenerasi sel β pankreas. Pengujian man-whitney kelompok positif berbeda signifikan terhadap kelompok negatif p<0,05 (p=0,007), kelompok ekstrak dosis 50 mg (p=0,005), kelompok ekstrak dosis 100 mg (p=0,020), namun berbeda tidak signifikan terhadap kelompok normal p>0,05 (p=0,134), kelompok ekstrak dosis 150 mg (p=0,419). Pengujian manwhitney kelompok ekstrak dosis 50mg berbeda signifikan dengan kelompok normal (p=0.003), kelompok positif (0.005) dan ekstrak dosis 150mg (p=0.018), namun berbeda tidak signifikan teradap kelompok negatif p>0,05 (p=0,136) dan kelompok ekstrak 100mg (p=134). Pengujian man-whitney kelompok ekstrak dosis 100mg berbeda signifikan dengan kelompok normal p<0,05 (p=0,005), kelompok positif (p=0,020) dan kelompok ekstrak dosis 150mg (p=0,018), namun berbeda tidak signifikan dengan kelompok negatif p>0,05 (p=0,059), ekstrak dosis 50mg (p=0,134). Penguiian man-whitney kelompok ekstrak dosis 150mg berbeda signifikan dengan kelompok negatif p<0,05 (p=0,017), kelompok ekstrak dosis 50mg (p=0,018) dan kelompok ekstrak dosis 100mg (p=0,018), namun berbeda tidak signifikan terhadap kelompok normal p<0.05 (p=0.053) dan positif (p=0.419).

Berdasarkan hasil preparat histopatologi pankreas tikus dan statistik yang dilakukan, maka dapat diketahui bahwa ekstrak etanol daun afrika dosis 150mg sudah memiliki pengaruh terhadap regenerasi sel β pankreas, dengan skoring rata-rata 0,8. Hal ini disebabkan karena pada dosis 150mg/kg BB memiliki koefisien yang lebih baik untuk menembus membran sel β pankreas tikus sehingga mampu mampu meregenerasi sel β pankreas dan dapat menyebabkan kadar glukosa darah kembali normal, sedangkan pada ektrak dosis 50mg rata-rata skor 2 dan 100mg skor 1,6 menunjukkan efeknya dalam meregenerasi sel β pankreas tidak terlalu baik dibandingkan dengan ekstrak etanol daun afrika dosis 150mg. Hal ini kemungkinan disebabkan dosis 50mg dan 100mg bukan dosis yang tepat (masih kurang) untuk meregenerasi sel β pankreas.

Kesimpulan

1. EEDA terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah dan meregenerasi sel β pankreas pada tikus putih yang diinduksi pakan tinggi lemak dan STZ.

- 2. EEDA dosis 150 mg/kg BB merupakan dosis efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang diinduksi pakan tinggi lemak dan STZ
- 3. Pemberian dosis bertingkat ekstrak etanol daun afrika dengan dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah, tetapi dosis 150 mg/kg BB merupakan dosis yang efektif memberikan efek terhadap perbaikan jaringan pankreas tikus putih jantan yang diinduksi STZ.

Daftar Pustaka

- 1. Tandi, J., 2018. Analisis Daun Gedi Merah (Abelmoschus manihot (L.) Medik) Sebagai Obat Diabetes Melitus. Jakarta: EGC, ISBN; 978-979-044-874-2. hal.1,6,27,28.
- 2. Dalimartha, S., dan Adrian, F., 2012. *Makanan dan Herbal Untuk Penderita Diabetes Mellitus*. Depok: Penebar Swadaya, hal. 6-95.
- 3. Robinson T., 2010. *Kandungan Organik Tinggi*. Penerbit ITB. Bandung. Hal. 57, 72, 157, 191-192, 281-283.
- 4. Linder, M.C., 2006. Biokimia Nutrisi dan Metabolisme dengan pemakaian secara Klinis. Diterjemahkan oleh Aminudin Parakkasi, Jakarta: UI Press.
- 5. Dillasamola, D., dan Mega, L.W., 2016. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstak Etanol Daun Afrika Selatan (*Vernonia amygdalina* Del.) dengan Menggunakan Metode DPPH (1,1-diphenil-2-picryhidrazyl). *JAFP*., Vol. 1 No. 1 hal. 29-35.
- 6. Tandi, J., Risky, M., Rio, M., dan Fajar, A., 2017. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson Ex F.A.Zorn) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Kolesterol Total dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia-Diabetes. *Jurnal Sains dan kesehatan*, Vol. 1 No.8, hal. 384-396.
- 7. Siregar, A.A. 2013. Efek Esktrak Etanol Daun Sirih Merah (EEDSM) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Serta Gambaran Histologi Pankreas Mencit (*Mus mucullus* L) Diabetes. Hal. 35-37.
- 8. Agustiningsih, wildan.,A dan Mindaningsih, 2010. Optimasi Cairan Penyari Pada Pembuatan Ekstrak Daunpandan Wangi (*Pandanus amaryllifous* Roxb.) Secara Maserasi Terhadap Kadar Fenolik Dan Flavonoid Total. *Momentum*, Vol.6 No. 2, hal, 36-41.
- 9. Endarini, L.H., 2016. *Farmakognosi dan Fitokimia*. Jakarta: Pusdik SDM Kesehatan, hal. 145-147.
- 10. Balitbangtan. 2016. *Penggunaan Dan Penanganan Hewan Coba Rodensia Dalam Penelitian Sesuai Dengan Kesejahteraan Hewan*. Bogor: Pusat penelitian dan pengembangan peternakan, hal. 25-32.
- 11. Tjay, T.H., dan Rahardja, K., 2007. *Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya*. Jakarta: Elex Media Komputindo, hal. 72 579.