UJI EFEK EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH KETIMUN TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS PUTIH JANTAN

Niluh Puspita Dewi, Amanda Oktaviani Maroso, Joni Tandi
Program Studi S1 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu Jurusan Farmasi

Email :amandamaroso0610@gmail.com

ABSTRACT

This study aims to determine the secondary metabolites contained in the ethanol extract of cucumber peels, the effect of cucumber peel extract and the effective multilevel dose on pancreatic β cell regeneration. This study used a experimental laboratory method with 24 test animals which were divided into 6 treatment groups. Group I as normal control, group II as pain control, group III, IV, V, VI as the test group were given cucumber peel extract at doses of 100, 200, and 400 mg / kg BW. The description of the level of pancreatic damage was observed by staining HE using microscope Olympus Cx-21 400x magnification. The research results were analyzed with the Kruskal-Wallis test followed by the Mann-whitney test to see differences between treatments. Phytochemical screening test results indicated that there were secondary metabolites in cucumber peel extract. The ethanol extract of cucumber peel at a dose of 100 mg / kg BW was the most effective in regenerating pancreatic β cells in mice with an damage value of 1.5 with a maximum damage volue of 4.

***Keywords** : Pancreas, Cucumber, Histopathology, Streptozotocin*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit buah ketimun, efek ekstrak kulit buah ketimun serta dosis bertingkat yang efektif terhadap regenerasi sel β pankreas. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen laboratorium dengan hewan uji sebanyak 24 ekor tikus dibagi dalam 6 kelompok perlakuan. Kelompok I sebagai kontrol normal, kelompok II sebagai kontrol sakit, kelompok III, IV, V, VI sebagai kelompok uji diberikan ekstrak kulit buah ketimun dengan dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB. Gambaran tingkat kerusakan pankreas diamati dengan pewarnaan HE menggunakan mikroskop Olympus Cx-21 perbesaran 400x. Hasil penelitian dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan dengan uji Mann-whitney untuk melihat perbedaan antar perlakuan. Hasil uji penapisan fitokimia menyatakan bahwa terdapat senyawa metabolit sekunder pada ekstrak kulit buah ketimun. Ekstrak etanol kulit buah ketimun pada dosis 100 mg/kg BB efektif dalam meregenerasi sel β pankreas tikus dengan nilai rata-rata kerusakan 1,5 dengan nilai kerusakan maksimal 4.

Kata kunci : Pankreas, Kulit Buah Ketimun, Histopatologi, Streptozotocin

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh adanya gangguan terutama pada sitem metabolism karbohidrat, lemak, dan juga protein dalam tubuh. Diabetes melitus terjadi bila insulin yang dihasilkan tidak cukup untuk mempertahankan gula darah dalam batas normal atau jika sel tubuh tidak mampu berespon dengan tepat sehingga akan muncul keluhan khas diabetes mellitus berupa polyuria, polidipsi, polifagia, penurunan berat badan, kelemahan, kesemutan, pandangan kabur dan disfungsi ereksi pada laki-laki dan pruritus vulvae pada wanita (Santi, 2015). Diabetes melitus dapat menyebabkan reproduksi radikal bebas berlebihan atau biasanya yang dikenal dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS akan memicu terjadinya stres oksidatif karena radikal bebas dalam tubuh lebih banyak dari antioksidan. Radikal bebas memiliki kemampuan untuk berdiskusi kedalam membran sel yang selanjutya bereaksi dengan membran lipid menghasilkan malondialdehyde (MDA) (Tandi J. 2017).

Pankreas merupakan organ kelenjar penting dalam tubuh yang terdiri dari jaringan eksokrin dan endokrin. Fungsi pankreas yaitu menghasilkan getah pankreas yang mengandung enzim-enzim tripsinogen, amylase dan lipase. Enzim tersebut bercampur dengan bahan makanan diduodenum dan menjalankan fungsi pencernaan didalam usus, yang mensekresikan enzim melalui saluran ke duodenum. Sementara, bagian endokrin terdiri dari pulau-pulau Langerhans yang fungsinya menghasilkan hormon insulin yang kemudian diserap masuk kedalam darah. Insulin dibutuhkan untuk metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Adanya senyawa kimia yang masuk kedalam tubuh dengan dosis tinggi dapat menghancurkan sel-sel pulau Langerhans. Kerusakan ini akan menyebabkan produksi insulin menurun mengakibatkan hiperglikemia (Tandi J. 2018).

Penelitian terdahulu tentang pankreas pada ekstrak etanol daun Jamblang pada dosis 200 mg/kg BB efektif dalam meregenerasi sel β pankreas (Sukma. 2017). Ekstrak etanol daun Ciplukan pada dosis 100 mg/kg BB efektif dalam meregenerasi sel β pankreas dari kerusakan (Tandi J. 2017). Ekstrak etanol daun sukun pada dosis 100 mg/kg BB efektif dalam meregenerasi sel β pankreas dengan rata-rata kerusakan 2 (Tandi J. 2017).

Berdasarkan penelitian di atas maka peneliti tertarik untuk melanjutkan penelitian uji efek ekstrak etanol kulit buah ketimun (*Cucumis sativus* L.) terhadap gambaran histopatologi pankreas tikus putih jantan (*Rattus*

norvegicus) yang diinduksi streptozotocin dengan dosis bertingkat 100mg/kg BB, 200mg/kg BB, dan 400mg/kg BB.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan

Alat

Alat bedah, alat-alat gelas (*pyrex* ®), ayakan mesh 40, bejana maserasi, blender, botol minum tikus, *Embedding center*, *Floatation bath,* gunting, glucometer (*Accu-Chek ®)*, kandang hewan uji, keranjang *tissue processor*, mikrotom putar, mikroskop Olympus CX 21 plus camera cahaya, mortir dan stamper, penangas air, pengasah pisau mikrotom, pisau mikrotom, pinset, pipet tetes, *Rotary vacum evaporator* (*Heidolph), Slide staining racks,* sonde oral 3 ml (*One Med Health Care),* spuit injeksi 3 ml (*One Med Health Care),* spot plates, tabung reaksi (*pyrex* ®) , tempat makan tikus, tempat pemotongan jaringan basah, timbangan gram, timbangan analitik (*Ohaus*), dan timbangan hewan uji.

Bahan

Air suling (*aqua*), aqua pro injeksi (*Otsuka*), asam klorida pekat (*Merck*), asam sulfat (*Merck*), besi (III) klorida (*Merck*), *Citrate-buffer salin* (asam sitrat dan natrium sitrat), etanol 96% (*Merck*), eter, formalin PBS 10%, kloroform, kulit buah ketimun (*Cucumis sativus* L.), dragendrof LP, glibenklamid, hanskun *(sensi),* kapas, kertas label, kertas saring, lakban, *Liebermann-Burchard*, larutan Mayer Hematoxylin-Eosin, masker, Na CMC 0,5%, natrium hidroksida (*Merck*), natrium klorida (*PT. Widatra Bhakti*), streptozotocin (*Bioworld USA*), serbuk magnesium P (*Merck*) , paraffin, dan pakan standard.

Pembuatan Ekstrak Etanol Kulit Buah Ketimun

Pembuatan ekstrak kulit buah ketimun dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 1000 gram lalu dimasukkan ke dalam bejana maserasi dengan menggunakan pelarut etanol sebanyak 6 L, ditutup lalu dibiarkan selama 3x24 jam terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Bejana yang digunakan adalah 3 bejana maserasi. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring lalu diperoleh filtrat selanjutnya dievaporasi atau memisahkan larutan menggunakan *Rotary Vaccum Evaporator* pada suhu 60^{o}C dan dilanjutkan dengan pengentalan yang dilakukan dengan menggunakan *waterbath* dengan suhu 60^{o}C hingga diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan Larutan Koloidal Na CMC 0,5%

Natrium karboksimetil selulosa (Na CMC) ditimbang sebanyak 0,5 gram ditaburkan dalam lumpang yang berisi 10 ml aquades yang telah dipanaskan, didiamkan selama 15 menit hingga diperoleh massa yang transparan, lalu dicampur sampai homogen. Larutan Na CMC dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml. Volumenya dicukupkan dengan aquades hingga 100 ml.

Pembuatan Larutan Induksi Streptozotocin

Streptozotocin ditimbang sebanyak 0,32 gram lalu dilarutkan menggunakan *citrate-buffer saline* dengan pH 4,5 kemudian diinduksikan pada tikus melalui intraperitoneal (ip). Dosis streptozotocin yaitu 40 mg/kgBB.

Pembuatan Sediaan Histologi Pankreas

Setelah pankreas dikeluarkan dari tubuh tikus, dilakukan pembuatan preparat pankreas dengan langkah sebagai berikut : sampel pancreas yang telah diambil, difiksasi dengan larutan formalin 10% selama 3-4 jam. Setelah itu dilakukan dehidrasi dengan aseton sebanyak 3 kali, masing-masing selama 2 jam, dilakukan *cleaning* (pembersihan) menggunakan toluen sebanyak 3 kali, masing-masing selama 1-2 jam, selanjutnya dilakukan proses *embedding* yaitu perendaman sampel diparaffin cair dengan suhu 60^{o}C sebanyak 3 kali, masing-masing selama 2 jam, lalu dilakukan proses pencetakkan paraffin. Blok paraffin yang terbentuk diiris menggunakan alat mikrotom sehingga menghasilkan lembaran yang ketebalannya 2 µm, lalu lembaran tersebut diletakkan dipenangas air dengan suhu 30^{o}C, lembaran yang telah direndam dalam penangas dilengketkan pada objek glas, lalu sampel tersebut dipanaskan dioven selama 2-3 menit.

Analisis Data

Data hasil pemeriksaan mikroskopis yang diperoleh berupa data skoring gambaran histopatologi pankreas tikus putih selanjutnya dianalisis kemudian diuji statistik parametrik dengan menggunakan salah satu cara metode *Oneway Anova*. Apabila data yang diperoleh tidak normal maka dilakukan dengan uji statistik non parametrik yaitu menggunakan uji *Kruskall Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan diantara perlakuan. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program *software* SPSS 25.

Hasil dan pembahasan

Tabel 1. Hasil Uji Penapisan Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Ketimun

Pengujian	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Uji Flavonid	HCl pekat dan logam Mg	Terjadinya warna kuning jingga	+
Uji Saponin	Dikocok + HCl N	Terjadi buih	+
Uji Fenolik	Kloroform dan Besi (III) klorida	Terbentuk warna Hijau	+

Keterangan :

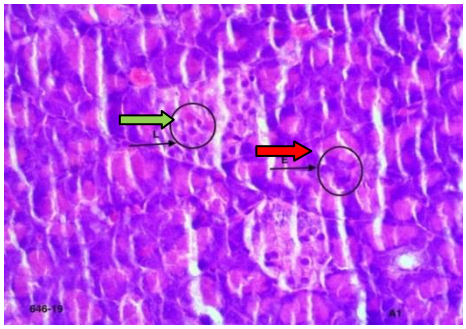
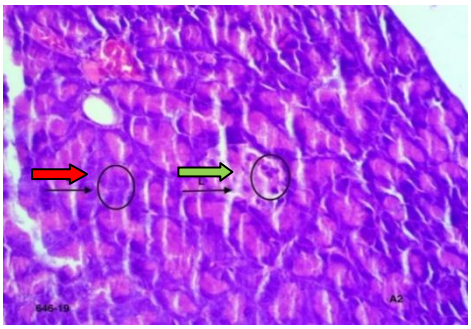
(+) mengandung senyawa yang diuji

Tabel 2. Skoring Tingkat Kerusakan Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*)

Kelompok Perlakuan	Skor Kerusakan Pankreas Hewan Uji	Rerata±SD
Kontrol Normal		0±0
Kontrol negatif		3±0
Kontrol positif		0±0
Kelompok Ekstrak Etanol Kulit Buah Ketimun Dosis 100 mg/kgBB		1,5±0,577
Kelompok Ekstrak Etanol Kulit Buah Ketimun Dosis 200 mg/kgBB		1,25±0,5
Kelompok Ekstrak Etanol Kulit Buah Ketimun Dosis 400 mg/kgBB		0,75±0,5

A. Gambar Histopatologi Pankreas Tikus Putih jantan (*Rattus norvegicus)*

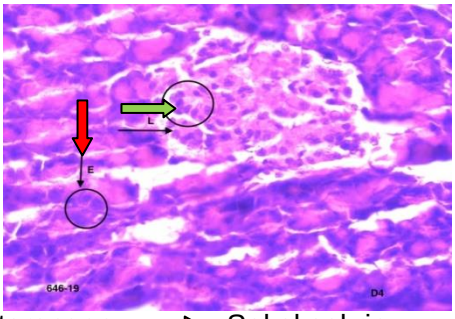
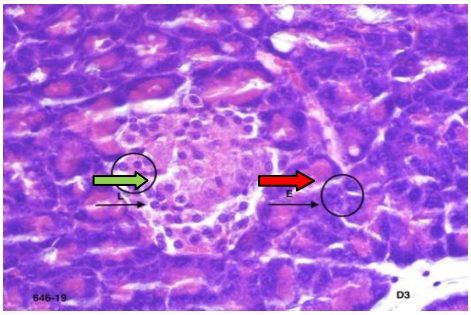
1. Gambar histopatologi pankreas dengan pewarnaan H&E pembesaran 400X skor 0

Keterangan : Sel eksokrin
Pulau Langerhans

Skor 0 tidak ada perubahan, pada bagian eksokrin jumlah sel normal pada bagian eksokrin dan pulau langerhans jumlah sel normal

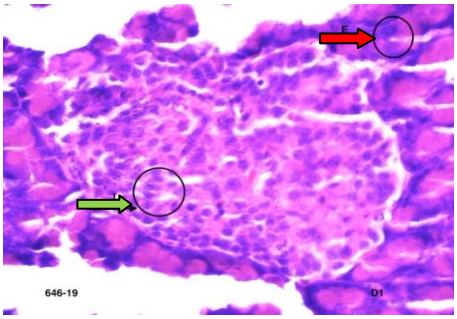
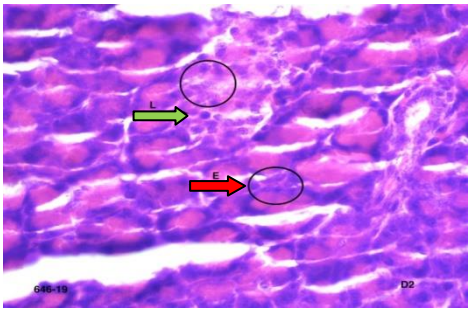
2. Gambar histopatologi pankreas dengan pewarnaan H&E pembesaran 400X skor 1

Keterangan: Sel eksokrin
Pulau Langerhans

Skor 1 pada bagian eksokrin jumlah sel normal dan pada bagian langerhans bentuk sel masih terlihat netrotik ringan (Karyoexis)

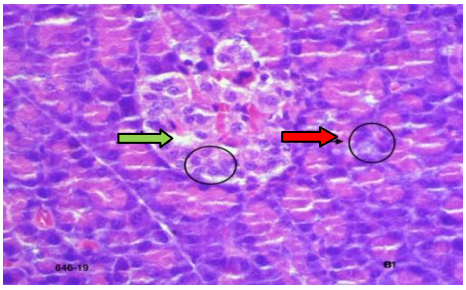
3. Gambar histopatologi pankreas dengan pewarnaan H&E pembesaran 400X skor 2

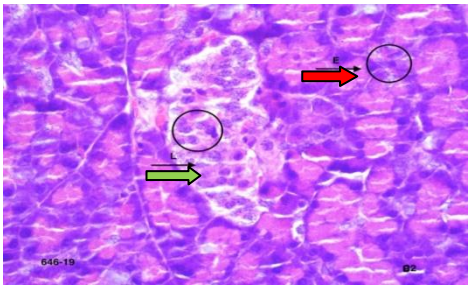



Keterangan: Sel eksokrin
Pulau Langerhans

Skor 2 pada bagian eksokrin sel terlihat apoptosis, pada bagian Langerhans sel masih ada yang nekrotik dan atropi dalam intensitas sedang

4. Gambar histopatologi pankreas dengan pewarnaan H&E pembesaran 400X skor 3





Keterangan: ➡ Sel eksokrin
⇨ Pulau Langerhans

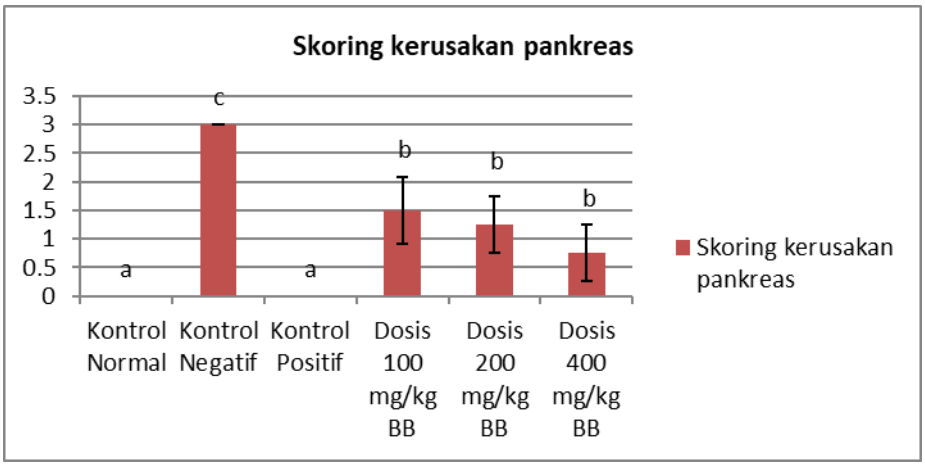
Skor 3 pada bagian Eksokrin jumlah sel terlihat nekrotik dengan apoptosis (kematian sel) meningkat, Pada bagian lagerhans (biru) bentuk sel terlihat apoptosis, lisis dan atropi (mengecil)

3. Data analisis Uji Lanjut Mann Whitney

Kelompok Perlakuan	Kelompok normal	Kelompok negatif	Kelompok positif	Dosis 100 mg/kg BB	Dosis 200 mg/kg BB	Dosis 400 mg/kg BB
K.Normal	-	0,008*	1,000	0,013*	0,011*	0,040*
K.Negatif	0.008*	-	0,008*	0,013*	0,011*	0,011*
K.Positif	1,000	0,008*	-	0,013*	0,011*	0,040*
Dosis 100 mg/kg BB	0,013*	0,013*	0,013*	-	0,495	0,096
Dosis 200 mg/kg BB	0,011*	0,011*	0,011*	0,495	-	0,186
Dosis 400 mg/kg BB	0,040*	0,011*	0,040*	0,096	0,096	-

Sumber : Data primer 2019
Keterangan : Nilai p<0,05=*berbeda signifikan dan nilai p >0,05= berbeda tidak signifikan

a. Profil Diagram Skoring Kerusakan Histopatologi Pankreas



Keterangan : - Huruf yang berbeda menunjukkan berbeda signifikan
- Huruf yang sama menunjukkan berbeda tidak signifikan.

Pembahasan

Penelitian ini menggunakan kulit buah ketimun (*Cucumis sativus* L) yang diperoleh dari desa Waturalele, Kec. Maranata, Kab. Sigi Biromaru, Provinsi Sulawesi Tengah. Sebelum penelitian ini dilakukan tanaman terlebih dahulu diidentifikasi di UPT Sumber Daya Hayati Universitas Tadulako Sulawesi Tengah. Identifikasi dilakukan untuk memastikan bahwa jenis kulit buah ketimun yang digunakan dalam penelitian ini benar adalah spesies (*Cucumis sativus* L).

Hasil analisis *mann whitney* pada tabel 4.4 menunjukkan bahwa adanya perbedaan yang signifikan pada skoring histopatologi sel β pankreas dari masing-masing kelompok perlakuan. Diantaranya yaitu kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit buah ketimun dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB berbeda signifikan ($p<0,05$) dengan kontrol negatif yang menyatakan bahwa variasi dosis tersebut tidak mengalami kerusakan seperti kontrol negatif. Hal ini disebabkan pada kelompok dosis mendapatkan efek terapi dari zat aktif tanaman kulit buah ketimun sehingga memberikan efek terapi dalam memperbaiki sel pankreas. Pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit buah ketimun dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB, dan dosis 400 mg/kg BB berbeda signifikan dengan kontrol normal dan kontrol positif. Hal ini menandakan bahwa perbaikan yang terjadi pada tiap dosis belum sama dengan kontrol normal dan kontrol positif. Hal ini dikarenakan bahan alam memiliki efek farmakologi yang lemah dan lambat sehingga dibutuhkan waktu yang relatif lebih lama dibandingkan dengan obat kimia. Pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak etanol kulit buah ketimun dosis 100 mg/kg BB, dosis 200 mg/kg BB, dan dosis 400 mg/kg BB berbeda tidak signifikan antar tiap kelompok. Hal ini menandakan bahwa perbaikan yang terjadi pada tiap dosis memiliki efek yang sama sehingga dipilih dosis 100 mg/kg BB sebagai dosis yang efektif. Karena pada dosis rendah sudah bisa memberikan efek yang sama dengan dosis tengah dan dosis tinggi. Hal ini dikarenakan pada dosis 100 mg/kg BB memiliki zat aktif yang lebih kecil sehingga efek samping yang ditimbulkan lebih rendah dibandingkan dengan dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB.

Adanya efek terhadap regenerasi sel β pankreas oleh ekstrak etanol kulit buah ketimun karena mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, saponin, fenolik, dan steroid. Flavonoid berperan sebagai antioksidan yang mampu mengurangi stress

oksidatif dengan cara mencegah terjadinya rantai pengubahan superoksida menjadi hydrogen superoksida dengan mendonorkan atom hydrogen dari kelompok aromatic hidroksil (-OH) untuk mengikat radikal bebas dan membuangnya dari dalam tubuh melalui sistem ekskresi (Redha, 2010).

Kesimpulan

1. Ekstrak etanol kulit buah ketimun (*Cucumis sativus* L) mengandung senyawa metabolit sekunder yaitu, flavonoid, saponin, dan fenolik.
2. Ekstrak etanol kulit buah ketimun (*Cucumis sativus* L) pada variasi dosis memiliki efek meregenerasi sel β pankreas yang diinduksi streptozotocin.
3. Pada Ekstrak etanol kulit buah ketimun (*Cucumis sativus* L) dosis 100 mg/kg BB merupakan dosis yang mempunyai efek yang lebih efektif meregenerasi sel β pankreas tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotocin dibandingkan dengan dosis 200 mg/kg BB dan dosis 400 mg/kg BB.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut agar untuk melihat ada tidaknya potensi toksisitas pada ekstrak etanol kulit buah ketimun.
2. Perlu dilakukan uji klinik langsung terhadap penderita diabetes pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

Dewi, N.P., Irwan., Mulyani, S. 2017. Uji efek ektrak etanol daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) terhadap gambaran histopatologi tikus wistar (*Rattus norvegicus*) diabetes hiperkolestrolemia. Jurnal Farmakologika Farmasi vol XIV hal 119-120

Rheda A. 2010. Flavonoid : Struktur, Sifat Antioksidan dan Perananya Dalam Sistem Biologis., Jurnal Belia. Vol 9, No.2 Hal 196-202.

Tandi J. 2017. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Jambu Air (*Syzyglum aqurum* (Burn h) Alston) Terhadap Glukosa Darah, Ureum Dan Kreatinin Tikus Putih (Rattus norvegicus). Jurnal Ilmiah Farmasi Vol 4 No 2. p-ISSN: 2087-7099; e-ISSN: 2407-6090. Hal 43

Tandi J, Lapangoyu J, Rahmawati, Isminarti R. 2018. Efek Ekstrak Biji Labu Kuning Terhadap Glukosa, Kolesterol dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Hiperkolesterolemia-Diabetes. *Journal Tropical Medicine Conference Series* 01. p-ISSN: 2623-0550; e-ISSN: 2623-0542. Hal 144–151

Tandi J., Mariani, N.M.I., Stiawati, N., (2019) Potensi Ekstrak Etanol Daun Afrika (*Gymnanthemum amygdalinum* (Delile) Sch. Bip. Ex Walp) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Dan Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus novergicus*) yang Diinduksi Streptozotocin Pakan Tinggi Lemak. *Majalah Farmasetika*, 4(Suppl), pp 66-77

Tandi J, Masyita A, Ikbal M. 2018. Uji Ekstrak Etanol Daun Nangka Terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus

Putih Jantan Yang Diinduksi streptozotocin. Jurnal Farmasi Vol XV No 2. p-ISSN: 1907-7378; e-ISSN: 2559-1558. Hal 107-113

Tandi J, Rizky M, R Mariani. 2017. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus artilis* (Parkinson Ex FA Zorn) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Kolesterol. Jurnal Sains dan Kesehatan Vol 1 No 8. p-ISSN: 2303-0267; e-ISSN: 2407-6082. Hal 384.

Tandi J, Tendean I, Kenta Y. 2017. Uji Ekstrak Etanol Daun Talas (*Colosacia escuenta* (L.) Schott.) Terhadap Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia Diabetes. Jurnal Farmasi Farmakologika Vol XIV No 2. p-ISSN: 1907-7378; e-ISSN 2559-1558. Hal 1-11