UJI EKSTRAK ETANOL DAUN NANGKA TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS PUTIH JANTAN DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN

Andi Atira Masyita[1], Moh.Ikbal[2], Joni Tandi[2]
[1]Program Studi D3 Farmasi, AKFAR Medika Nusantara Palu
[2]Program Studi S1 Farmasi, STIFA Pelita Mas Palu
Email : stifapelitamaspalu@yahoo.co.id

ABSTRAK

The aim of this research is to know the effect of jackfruit (Artocarpus heterophyllus Lamk.) leaf ethanol extract and the effect of multistage effect of jackfruit (Artocarpus heterophyllus Lamk.) leaf ethanol extract on the regeneration of male strain of streptozotocin-induced pancreatic β male rats (Rattus norvegicus).This research is a laboratory experimental research using 30 rats which was divided into 6 groups, each group consisting of 5 rats in which group 1 (normal control), group 2 (sick control) was given NaCMC 0.5 % b / v, group 3 (positive control) were given glycemenklamid dose 0.45 mg / kg BW, groups of 4.5 and 6 were each given jackfruit leaf extract (Artocarpus heterophyllus Lamk.) dose 175, 250, and 400 mg / kg bw orally for 21 consecutive days. Description of the extent of pancreatic histopathologic damage observed with HE staining using a 400x Olympus Cx-21 magnification microscope.The results showed that: there are metabolite compounds alkaloids, flavonoids, saponins, steroids tannins and polyphenols in jackfruit leaf ethanol extract; jackfruit leaf ethanol extract has an effect on pancreatic β cell regeneration with effective dose of 400 mg / kg bw, and administration of jackfruit leaf ethanol extract at doses of 175 mg / kg bw and 250 mg / kg bw did not give maximum effect to regeneration of pancreatic β cells of white male rats induced streptozotocin.

***Keywords** : Diabetes, jackfruit leaves, histopathology, pancreas, white rats*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak etanol daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus Lamk*.) dan pengaruh efek dosis bertingkat ekstrak etanol daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus Lamk*.) terhadap regenerasi sel β pankreas tikus putih jantan (*Rattus* norvegicus) yangdiinduksi streptozotocin. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan menggunakan hewan uji sebanyak 30 ekor tikus dibagi menjadi 6 kelompok, tiap kelompok terdiri atas 5 ekor tikus dengan rincian kelompok yaitu kelompok 1 (kontrol normal), kelompok 2 (kontrol sakit) diberi suspensi Na CMC 0,5% b/v, kelompok 3 (kontrol positif) diberi glibenklamid dosis 0,45 mg/Kg BB, kelompok 4,5 dan 6 masing-masing diberikan ekstrak daun Nangka (*Artocarpus heterophyllus Lamk*.) dosis 175, 250, dan 400 mg/Kg BB per oral selama 21 hari berturut-turut. Gambaran tingkat kerusakan histopatologi pankreas diamati dengan pewarnaan HE menggunakan mikroskop Olympus Cx-21 perbesaran 400x.Hasil penelitian menunjukkan: terdapat senyawa metabolit alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, tanin dan polifenol pada ekstrak etanol daun Nangka; ekstrak etanol daun Nangka memiliki efek terhadap regenerasi sel β pankreas dengan dosis efektif 400 mg/kg BB, dan pemberian ekstrak etanol daun Nangka pada dosis 175 mg/kg BB dan 250 mg/kg BB tidak memberikan efek maksimal terhadap regenerasi sel β pankreas tikus putih jantan yang diinduksi streptozotocin.

Kata Kunci : Diabetes, daun nangka, histopatologi, pancreas, tikus putih

PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah penyakit kronis yang ditandai dengan Kadar Glukosa Darah (KGD) yang tinggi (hiperglikemia) akibat pengaturan hemeostatis glukosa tidak berjalan sempurna. Penyakit diabetes melitus terbagi atas 2 jenis yaitu diabetes tipe 1 dan tipe 2. Diabetes tipe 1 atau *insulin-dependent diabetes melitus* (IDDM) ditandai dengan sistim imun tubuh yang menghancurkan sel-sel β pankreas, sehingga sel β tidak mampu memproduksi hormon insulin yang berfungsi untuk menurunkan kadar glukosa darah. Diabetes tipe 2 atau *non-insulin-dependent diabetes melitus* (NIDDM) diawali dengan kondisi resistensi insulin yang merupakan menurunnya sensitifitas reseptor insulin pada hati, jaringan otot, dan jaringan adiposa sehingga hormon insulin tidak dipergunakan sebagaimana mestinya. Oleh karena kebutuhan insulin yang meningkat, pankreas berusaha memproduksi insulin dalam jumlah lebih (Ridwan. 2012)

Diabetes melitus dapat menyebabkan produksi radikal bebas berlebihan atau biasanya yang dikenal dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS akan memicu terjadinya stress oksidatif karena radikal bebas dalam tubuh lebih banyak dari antioksidan, Radikal bebas memiliki kemampuan untuk berdifusi ke dalam membran sel yang selanjutnya bereaksi dengan membran lipid menghasilkan *malondialdehyde* (MDA). MDA merupakan salah satu produk akhir dari peroksidasi lipid membrane sel oleh radikal bebas yang berlebih sehingga MDA digunakan sebagai indeks pengukuran aktivitas radikal bebas dalam tubuh. Sasaran oksidasi ROS selain lipid adalah DNA, pada oksidasi DNA nukleotida guanin rawan terhadap reaksi oksidasi ROS. Senyawa yang dihasilkan dari oksidasi guanine adalah 8-hidroksi-deoksiguanosin (8-OHdG). Teroksidasinya guanine dalam untaian DNA, mengakibatkan DNA kehilangan nukleotida guanin. Reaksi berkelanjutan dapat mengakibatkan kerusakan DNA, sehingga menghambat proses pembelahan sel pada spermatogenesis dan mitokondria serta menganggu respirasi yang dapat mengganggu energi sel (Tandi J. 2017). Penyakit diabetes melitus ditandai oleh tingginya kadar glukosa darah, akibat adanya gangguan fungsi insulin atau penurunan sekresi insulin oleh sel β pankreas. Pankreas adalah suatu alat tubuh yang sangat panjang terletak retroperitonial dalam abdomen bagian atas, di depan vertebrae lumbalis I dan II (Syaifuddin, H. 2011). Pankreas menghasilkan dua kelenjar yaitu kelenjar endokrin dan kelenjar eksokrin. Bagian eksokrin pankreas menghasilkan enzim pencernaan bersama dengan cairan alkali keduanya diekskresi ke dalam usus kecil melalui saluran eksokrin, ekskresi dilakukan sebagai respon terhadap hormon usus kecil yang disebut *secretin*. Bagian endokrin pankreas terbentuk dari jutaan sel yang membentuk kumpulan tersendiri yang dikenal sebagai pulau langerhans. Pulau langerhans mempunyai bentuk dan ukuran yang bervariasi, terletak diantara sel bagian eksokrin pankreas (Rahayu, E. 2005).

Salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan dan berkhasiat sebagai obat diabetes adalah daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lamk). Studi mengenai kandungan senyawa fitokimia daun nangka menunjukan adanya senyawa aktif flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, polifenol, steroid, dimana senyawa-senyawa ini dapat menurunkan kadar glukosa darah (Baha M.K. 2015). Flavonoid dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes yang mampu meregenerasi sel β pankreas pada pulau Langerhans (Prameswari, dkk. 2014).

Berdasarkan hal tersebut makapeneliti merasa tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak daun nangka terhadap perbaikan kerusakan pankreas dengan melihat gambaran histopatologi pankreas tikus putih.

Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat gambaran histopatologi pankreas tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin setelah pemberian ekstrak etanol daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lamk).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan

Air suling Asam klorida Besi (III), klorida *Citrate-buffer saline,* Daun Nangka, Dragendrof LP, Etanol absolut 96%, Glibenklamid, Liebermann-Burchard, Serbuk Magnesium, Na CMC, Natrium hidroksida, Natrium klorida, Streptozotocin Pakan Standar. (Tandi J. 2017)

Alat

Batang pengaduk *(Pyrex)*, bejana maserasi, botol larutan stok, corong *(Pyrex)*, cawan porselin, erlenmeyer *(Schoot duran)*, gelas kimia *(Schoot duran)*, gelas ukur *(Pyrex)*, gunting bedah *(Smics)*, kandang hewan, mortir dan stamper, mikroskop olympus CX-21, Mikrotom, Pipet tete, Pisau bedah *(Smics)*, Rotavapor *(Heidolph)*, sonde oral *(One Med Health care)*, spoit 3 mL *(One Med Health care)*, tabung reaksi *(Pyrex)*, tabung vacum 3 mL (*vacutainer* EDTA), tempat air minum dan makan tikus, timbangan analitik (*Ohaus*), timbangan gram kasar dan *Waterbath (Denville)* (Tandi J. 2017)

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Nangka

Pembuatan ekstrak daun nangka dilakukan dengan metode maserasi, yaitu serbuk daun nangka yang telah diayak menggunakan ayakan no. 40 mesh, ditimbang 600 gram lalu diekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 3 literselama 3 hari. Ekstrak kemudian disaring menggunakan kertas saring lalu diperoleh filtrat. Selanjutnya dievaporasi atau memisahkan larutan menggunakan *Rotary Vaccum Evaporator* pada suhu 60℃ dan dilanjutkan dengan pengentalan yang dilakukan dengan menggunakan *waterbath* dengan suhu 60℃ hingga diperoleh ekstrak kental. (Tandi.J.2017)

Pembuatan larutan Streptozotocin

Streptozotocin ditimbang sebanyak 0,32 gram lalu dilarutkan menggunakan *citrate-buffer saline* denganpH 4,5 sampai 100 ml, lalu diinduksikan pada tikus melalui intraperitoneal (ip). Dosis streptozotocin yaitu 40 mg/kg BB. (Tandi J. 2017)

Hewan Uji

Tikus putih jantan sebanyak 30 ekor diadaptasikan selama dua minggu di

laboratorium dengan dikandangkan secara memadai pada suhu lingkungan normal dan diberikan makan serta minum. (Tandi J. 2017)

Uji Histologi Pankreas

Hewan uji dimatikan pada hari ke 28 dengan cara dislokasi leher dimana sebelumnya dilakukan anastesi menggunakan eter. Hewan yang telah mati diletakan di atas papan fiksasi dengan perut mengarah ke atas. Pemotongan dilakukan pada bagian kulit perut secara menyilang sampai terlihat bagian organ dalam perut tikus. Selanjutnya diambil organ pankreas tikus, kemudian dibilas dengan larutan aquadest lalu disimpan dalam wadah khusus yang berisi formalin 10%. Setelah itu sampel dibawah ke BALAI BESAR VETERINER Maros, Sulawesi Selatan. Dan untuk selanjutnya dianalisis gambaran histologi jaringan pankreasnya. (Tandi J. 2017)

Analisis Data

Gambaran histopatologi pankreas tikus putih yang diamati pada penelitian ini adalah perubahan morfologi umum dari pulau langerhans yaitu: adanya perubahan bentuk dan struktur pada pulau langerhans serta perubahan sel (bentuk dan ukuran). Data hasil pengamatan dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji statistik Non Parametrik Kruskal Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Preparat histopotologi diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x dan dicatat perubahan mikroskopik yang ditemukan. Preparat histopatologi diamati dan diskoring berdasarkan kategori berikut : Keterangan :

Skor 0 yaitu tidak ada sel radang/normal (0%), skor 1 yaitu sel radangbagian, bentuk sel normal (1-35%), skor 2 yaitu sel radang bagian, bentuk sel sebagian ada yang nekrosis (36-50%), skor 3 yaitu sel radang bagian, bentuk sel banyak yang nekrosis (51-70%) dan skor 4 yaitu nekrosis seluruh sel pankreas (>71%).(Tandi J. 2017)

HASIL DAN PEMBAHASAN

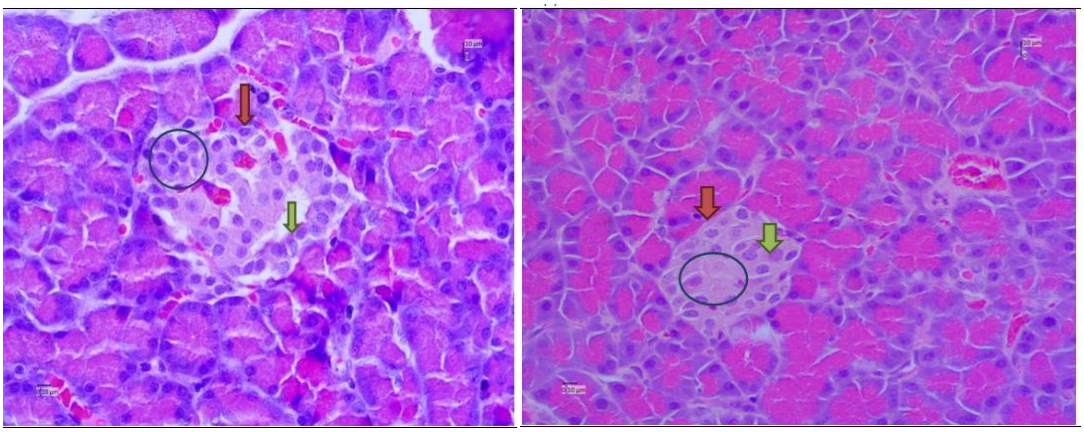
Tabel 1. Hasil Uji FitokimiaEkstrak Etanol Daun nangka

Pengujian	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Uji Alkaloid	Dragendorf LP	Berbentuk endapan	(+)
Uji Flavonoid	HCl Pekat dan Logam Mg	Terjadi endapan warna kuning jingga	(+)
Uji Saponin	Dikocok+HCl 2 N	Terbentuk buih	(+)
Uji Tanin	FeCl3	Terbentuk warna biru hitam	(+)
Uji Polifenol	FeCl3 5%	Terbentuk warna hijau kebiruan	(+)
Uji Steroid	Lieberman Buchard	Terbentuk warna hijau	(+)

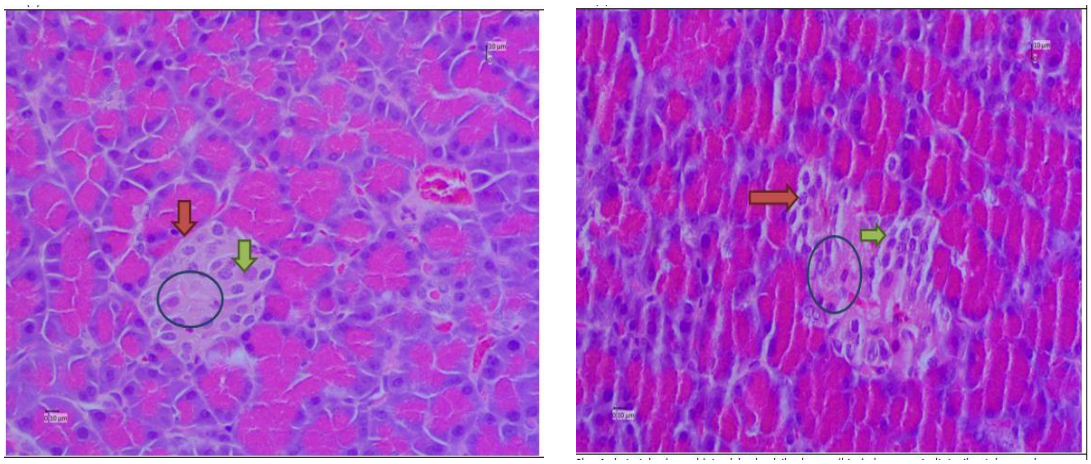
Keterangan : (+) mengandung golongan senyawa yang diuji
(-) tidak mengandung golongan senyawa yang diuji

Tabel 2. Data Hasil Skoring Tingkat Kerusakan Pankreas Tikus Diabetes yang diinduksi streptozotocin

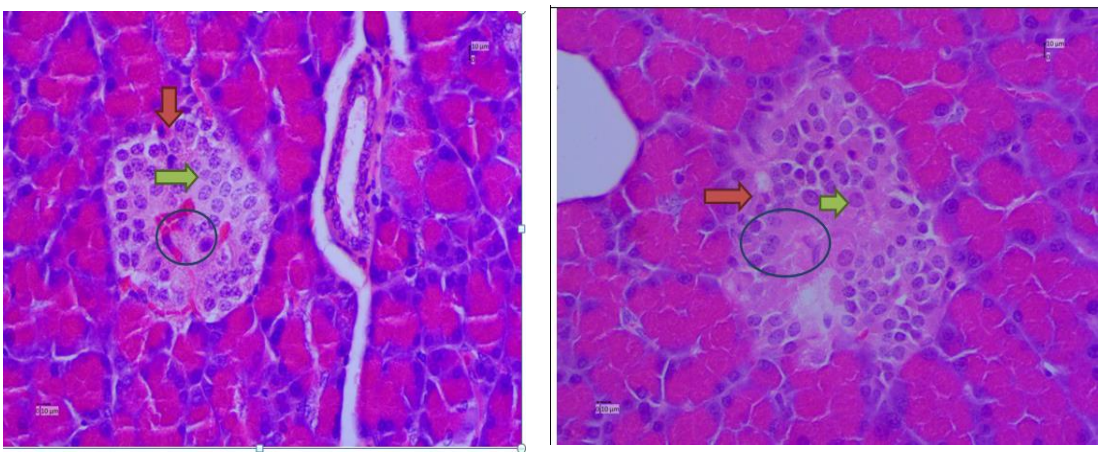
Kelompok Perlakuan	Skor Kerusakan Pankreas Hewan Uji					Rerata±SD
	1	2	3	4	5	
Kontrol Normal	0	0	0	0	0	0±0
Kontrol Sakit	3	4	4	3	4	3,6±0,547723
Kontrol positif	1	1	0	1	0	0,6±0,547723
Kelompok Ekstrak Etanol Daun Nangka Dosis 175 mg/kgBB	2	2	2	2	2	2±0
Kelompok Ekstrak Etanol Daun Nangka Dosis 250 mg/kgBB	2	2	1	2	1	1,6±0.547723
Kelompok Ekstrak Etanol Daun Nangka Dosis 400 mg/kgBB	0	1	1	1	1	0,8±0,447214



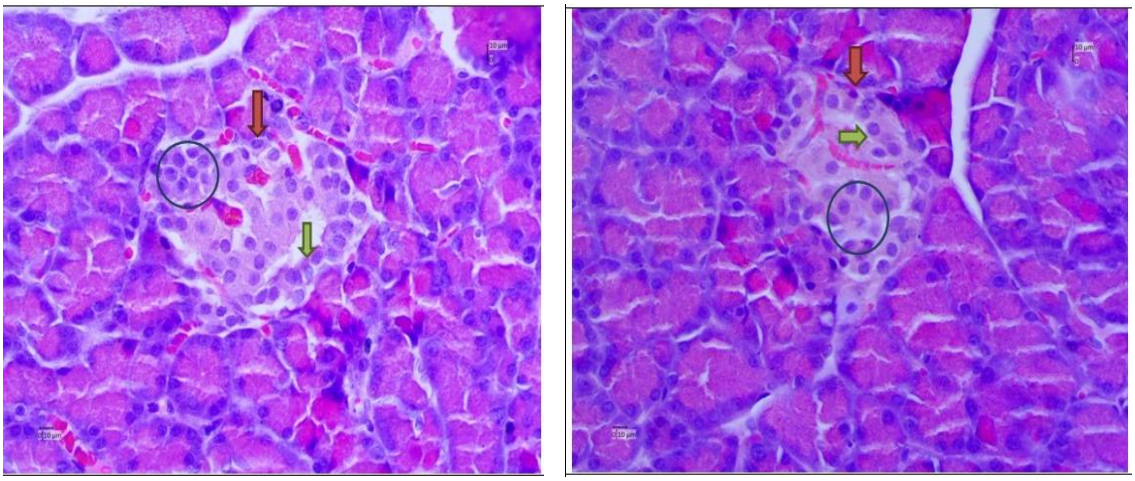
Gambar 1 : Skor 0 normal tidak ada perubahan dari batas organ P. Langerhans (merah), jumlah sel normal (biru), dan bentuk sel normal



Gambar 2 : Skor 1batas jelas (merah), jumlah selmulai berkurang (biru), degenerasi sel tetapi bentuk normal (hijau).



Gambar 3 : skor 2 batas mulai tidak jelas (merah), jumlah sel berkurang (biru), degenerasi sel dan bentuk tidak normal (hijau)



Gambar 4 : skor 3 batas tidak jelas (merah), jumlah sel berkurang (biru), necrotik sel mulai terlihat dengan bentuk sel tdk normal (hijau)

Pembahasan

Penelitian ini menggunakan daun nangka yang diperoleh dari Kota Palu Kelurahan Bayoge Sulawesi Tengah. Tanaman ini sebelumnya telah dilakukan identifikasi dengan tujuan memastikan bahwa tanaman yang digunakan tersebut benar spesies *Artocarpus heterophyllus* Lamk. yang termasuk familia Moraceae.

pembagian kelompok perlakuan dengan menggunakan variasi dosis tujuannya adalah untuk menentukan dosis efektif ekstrak etanol daun nangka dalam meregenerasi sel β pankreas. Kemudian pada hari ke 28 sebelum pembedahan, kadar glukosa darah tikus (semuah kelompok) diukur kembali. kemudian dilakukan pembedahan pada tikus untuk uji histopatologi dengan cara tikus dianastesi dengan eter lalu didislokasi bagian leher. Tikus dibedah dan diambil pankreas untuk selanjutnya dibuat preparat histopatologi pankreas dengan metode pewarnaan HE.

preparat kemudian diamati menggunakan mikroskop *Olympus CX*-21 dengan pembesaran 400x diperoleh. Data hasil pengamatan berupa skoring tingkat kerusakan dianalisis menggunakan uji statistik Non parametrik *Kruskal Wallis.*

Berdasarkan hasil uji Non parametrik *Kruskal Wallis* pada semuah kelompok, diperoleh nilai probabilitas skoring kerusakan pankreas tikus adalah 0,00 ($p<0,05$). Hal ini menunjukan adanya perbedaan yang signifikan, skoring histopatologi pankreas tikus setelah pemberian perlakuan pada semuah kelompok. Untuk mengetahui lebih jelas letak perbedaan yang signifikan diantara kelompok uji, maka dilakukan analisis menggunakan uji *Mann Whitney*. Hasil analisis uji *Mann Whitney* skoring pengamatan kerusakan pankreas tikus menunjukan bahwa kontrol normal berbeda signifikan dengan kontrol sakit, dosis 175, dosis 250, dosis 400, namun berbeda tidak signifikan dengan kontrol positif . kontrol sakit berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol positif, dosis 175, dosis 250, dan dosis 400 . Kontrol positif berbeda signifikan dengan kontrol negatif, dosis 175, dan dosis 250, tetapi berbeda tidak signifikan dengan kontrol normal dan dosis 400. Kelompok dosis 175 berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol sakit, kontrol positif, dan 400, tetapi berbeda tidak signifikan dengan dosis 250. Kelompok dosis 250 berbeda signifikan dengan kontrol normal, kontrol sakit, kontrol positif, dan dosis 400, tetapi berbeda tidak signifikan dengan dosis 175. Kelompok dosis 400 berbeda sigifikan dengan kontrol normal, kontrol sakit, dosis 175, dan dosis 250, tetapi berbeda tidak signifikan dengan kontrol positif.

Berdasarkan hasil pengamatan preparat histopatologi pankreas tikus yang dilakukan, terbukti bahwa pemberian dosis bertingkat ekstrak etanol daun nangkamemberikan pengaruh terhadap regenerasi sel β pankreas tikus putih jantan. Tetapi pada dosis 175 mg/kg BB dan 250 mg/kg BB efeknya dalam meregenerasi sel β pankreas tidak terlalu efektif, hal ini terjadi akibat tingginya konsentrasi ekstrak yang membuat menurunya penyerapan, metabolisme dan pada saat perlakuan terjadi *human error* atau dosis yang kurang tepat. Perbaikan pulau langerhans yang diikuti terjadinya regenerasi pada pulau langerhans disebabkan karena adanya kandungan senyawa bioaktif yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, steroid tanin dan polifenol. Senyawa bioaktif dapat bertindak sebagai antioksidan, antioksidan diketahui dapat mencegah kerusakan sel β pankreas karena memiliki aktivitas dengan cara menangkap atau menetralkan radikal bebas terkait dengan gugus OH fenolik sehingga dapat memperbaiki keadaan jaringan yang rusak, dan mampu mengurangi stress oksidatif dengan cara mencegah terjadinya reaksi berantai pengubahan superoksida menjadi hidrogen superoksida dengan cara mendonorkan atom hidrogen dari kelompok aromatikhidroksil (-OH) untuk mengikat radikal bebas dan membuangnya dari dalam tubuh melalui ekskresi .(Tandi J. 2017)

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun nangka memiliki efek terhadap gambaran histopatologi pankreas yang dilihat dari tingkat perbaikan sel pulau langerhans pankreas tikus yang diinduksi streptozotocin, dan dosis 400 mg/kg BB merupakan dosis yang paling baik memberikan efek perbaikan

Saran

Perlu penelitian lebih lanjut untuk melihat ada tidaknya potensi toksisitas pada ekstrak etanol daun nangka. dan

Perlu dilakukan uji klinik langsung terhadap penderita diabetes pada manusia

DAFTAR PUSTAKA

Baha Khorioh Miss.2015. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun nangka (Artocarpus heterophyllus) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar yang Diinduksi Aloksan. Jurnal Trop Pharmachy Cemistry. Vol 19. No 9. Hal 8

Prameswari, O.M. dan Simon, B.W. 2014. Uji Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Melitus. Jurnal Pangan dan Agroindustri. Vol.2. No.2 Hal. 23.

Rahayu, E. Y., Novelina, S. 2005. Studi Histologi Sel Endokrin Ekstra Insular Pankreas Kambing dan Domba Lokal.Jurnal Veteriner. *6 (1) 25-30.* Hal. 26

Ridwan, Ahmad. Astrian, Tanita, Raden. Dan Barlian, Anggreani. (2012).Pengukuran Efek Antidiabetes Polifenol (Polyphenon 60) Berdasarkan Kadar Glukosa Darah dan Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*L.) S.W. Jantan yang Dikondisikan Diabetes Mellitus. Hal 78.

Tandi J, H.Z Mutiah, Yuliet dan Yusriadi. 2016. Efektivitas Ekstrak Daun Gedi Merah Terhadap Glukosa Darah, Molandialdehid, 8-hdidroksi-deoksiguanosin, Insulin Tikus Diabetes*.* STIFA Pelita Mas. Jurnal Trop Pharmachy Cemsistry Vol.03 No.04.

Tandi J, Roem M, dan Yuliet. 2017. Efek Nefropati Kombinasi Ekstrak Daun Gedi Merah dan Kumis Kucing pada Tikus Induksi Etilen Glikol*.* STIFA Pelita Mas. Jurnal Trop Pahmachy Cemistry Vol.04 No.01. . Hal 27-34

Tandi J.2017. Efect Of Extract Of kenikir (Cosmos caudatus Kunth.) Leaves To The Decrease In Blood Glucose, Cholestrol And Toward Histopathology Pancreas Description In Male White Rats (Rattus norvegicus)

Tandi J, Suryani As'ad., Rosdiana Natzir., Agussalim Bukhari. 2016. Test Of Ethanol Extract Red Gedi Leaves (Albelmoschus manihot (L.) Medik) In White Rat (Rattus norvegicus) Type 2 Diabetes Melitus. International Journal Of Sciences. Basic and Applied Research (IJSBAR). Volume 3 No, 1. Hal 1-6