



Original Research Articles

**Efektivitas Formulasi Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Dengan Ekstrak Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Terhadap Hiperglikemia Serta Histopatologi Pankreas Mencit**

Hesti Dwi Handini<sup>1</sup>, Jamilatur Rohmah<sup>2\*</sup>

<sup>1,2</sup>D-IV Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, Jl.Raya Rame Pilang No. 4 Wonoayu Sidoarjo, Jawa Timur, Indonesia, 61261

Article history: Submitted: 9 Juni 2018; Accepted: 20 Oktober 2018; Published: 31 Desember 2018

**ABSTRAK**

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia serta perubahan sel  $\beta$  pulau langerhans pankreas. Sirih merah (*Piper crocatum*) dan pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) mengandung metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antidiabetes. Tujuan penelitian adalah mencari formulasi terbaik ekstrak daun sirih merah (EDSM) dengan ekstrak daun pandan wangi (EDPW) dalam menurunkan kadar glukosa darah, memperbaiki kerusakan pulau langerhans pankreas serta membandingkannya dengan metformin. Penelitian disusun dengan *Post Test Only Control Group Design* menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) jantan selama 31 hari. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 14 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal, kelompok DM, kelompok metformin, kelompok EDPW 100%, kelompok EDSM 10% + EDPW 90%, kelompok EDSM 20% + EDPW 80%, kelompok EDSM 30% + EDPW 70%, kelompok EDSM 40% + EDPW 60%, kelompok EDSM 50% + EDPW 50%, kelompok EDSM 60% + EDPW 40%, kelompok EDSM 70% + EDPW 30%, kelompok EDSM 80% + EDPW 20%, kelompok EDSM 90% + EDPW 10%, dan kelompok EDSM 100%. Berdasarkan uji *in vivo* didapatkan perlakuan DM dengan metformin lebih banyak menurunkan kadar glukosa darah ( $P < 0,05$ ) dibandingkan formulasi EDSM dan EDPW, namun tidak lebih baik dalam memperbaiki kerusakan pulau langerhans pankreas akibat injeksi aloksan dan perlakuan DM dengan EDSM 50% + EDPW 50% dapat menurunkan kadar glukosa darah yang sebanding dengan metformin ( $P > 0,05$ ) dan perbaikan pulau langerhans pankreas paling baik.

**Kata kunci:** daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.); daun sirih merah (*Piper crocatum*); hiperglikemia; histopatologi pankreas

**Effectiveness of Red Betel Leaves Extract (*Piper crocatum*) Formulation with Fragrant Pandan Leaves Extract (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) Against Hyperglycemia and Pancreatic Histopathology of Mice**

<sup>1\*</sup> Corresponding author.

e-mail: [jamilaturrohmah@umsida.ac.id](mailto:jamilaturrohmah@umsida.ac.id)

Peer reviewed under responsibility of Universitas Muhammadiyah Sidoarjo.

© 2018 Universitas Muhammadiyah Sidoarjo, All right reserved, This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

## ABSTRACT

*Diabetes mellitus (DM) is metabolism diseases characterized by hyperglycemia and change to the  $\beta$  cell histopathology structure of pancreas. Red betel leaves (*Piper crocatum*) and fragrantpandanleaves (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) has compound metabolic secondary that efficacious as anantidiabetic. The aims of the study were seek the best extract formulations of red betel leaves (EDSM) and extract of fragrantpandan leaves (EDPW) to lowering blood glucose level, repair the damage of islet langerhans, and comparing the effectiveness with metformin. The research was drafted by post test only control group design using male mencit (*Mus musculus*) for 31 days. In this research used complete random design with 14 treatment groups, they are normal group, DM group, metfomin group, EDPW 100%group, EDSM 10%+ EDPW 90%group, EDSM 20% + EDPW 80%group, EDSM 30% + EDPW 70% group,EDSM 40% + EDPW 60% group,EDSM 50% + EDPW 50%group,EDSM 60% + EDPW 40% group,EDSM 70% + EDPW 30% group, EDSM 80% + EDPW 20% group, EDSM 90% + EDPW 10% group, and EDSM 100%group. Based on in vivo bioassay showed that metformin have a lot of lowering blood glucose levels ( $p < 0,05$ ) than formulation of EDSM and EDPW but not better in improving islet langerhans tissue damage and treatment DM group with EDSM 50% + EDPW 50% effective lowering blood glucose level comparable with metfomin ( $p > 0,05$ ) and better in improving islet langerhans tissue damage caused by alloxan diabetogenic compound.*

**Keywords:** *Piper crocatum; Pandanus amaryllifolius Roxb.; hyperglycemia; pancreatic Histopathology*

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara berkembang yang banyak mengalami perubahan pola hidup maupun pola makan. Pola hidup kurang sehat seperti kurang berolahraga dan makanan yang berlebih dalam jangka waktu yang lama dapat terindikasi terkena penyakit diabetes melitus. Diabetes mellitus (DM) adalah penyakit gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia akibat tubuh kekurangan insulin, sensitivitas reseptor insulin berkurang atau keduanya serta terjadi perubahan progresif terhadap struktur sel  $\beta$  pulau langerhans pankreas (ADA, 2015). Prevalensi penyakit diabetes mellitus di Indonesia diperkirakan meningkat dua kali lipat pada tahun 2030 dibandingkan tahun 2007 yakni sekitar 21,3 juta jiwa (Risksedas, 2013).

Selama ini pengobatan yang dilakukan penderita diabetes mellitus adalah melalui suntikan insulin dan pemberian obat hipoglikemik oral yang memiliki efek samping seperti sakit kepala atau bahkan anoreksia, sehingga banyak penderita yang mengendalikan kadar glukosa darahnya dengan cara non farmakologi menggunakan tanaman herbal. Herbal lebih dipilih masyarakat untuk pengobatan diabetes melitus karena herbal tidak menimbulkan efek samping (Widowati dkk., 1997).

Penggunaan herbal yang populer sebagai antidiabetes adalah sirih merah (*Piper crocatum*) karena mengandung senyawa metabolik sekunder berupa alkaloid, flavonoid, dan tanin (Suryono & Sevin, 2012) sebagai agen hipoglikemik. Selain itu pandan wangi

yang belum banyak dimanfaatkan sebagai antidiabetes memiliki kemampuan memperbaiki kerusakan pulau langerhans pankreas dari pada obat metformin (Prameswari & Widjanarko, 2014). Hal ini karena salah satu kandungan flavonoid golongan quersetin yang mampu memperbaiki dan mencegah kerusakan sel akibat peristiwa oksidatif oleh radikal bebas (Suharmiati, 2003). Keadaan hiperglikemia mencit diinjeksi dengan aloksan, yang merupakan diabetogenik toksik yang dengan cepat menimbulkan hiperglikemia stabil dalam jangka waktu 2-3 hari melalui mekanismenya merusak granula insulin di dalam sel  $\beta$  pulau langerhans pankreas (Szkudelski, 2001).

## 2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di IKHP (Instalasi Kandang Hewan Percobaan) Pusvetma Surabaya pada bulan Agustus 2017.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah hot plate, pisau, nampan berlubang, neraca analitik merk Ohaus, timbangan digital merk Camry EK3650, glukometer Easy touch, timbangan tepung merk Lion star, jarum suntik (*syringe*) 1 ml merk One med, jarum sonde (*force feeding needle*) ukuran 22, kandang mencit beralaskan sekam dengan luas  $\pm 100$  cm<sup>2</sup>, botol minum mencit, blender kering merk Maspion, plastik besar ukuran 60x100, toples plastik, botol reagen kaca berwarna cokelat, tabung vial, wadah sampel, pinset, gunting bedah, sarung tangan, masker, mikroskop merk Nikon eclipse C1, toples kaca, tissue cassette, staining jar, base mould, vacuum rotary evaporator merk IKA, keranjang staining jar, object glass, cover glass, waterbath merk Leica, parafin freeze merk Leica, mikrotom merk Leica, pisau mikrotom, label kertas, pipet tetes, kuas, spidol permanen, dan alat-alat gelas.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mencit (*Mus musculus*) jantan usia 2-3 bulan dengan berat 28-30 gram dari IKHP Pusvetma Surabaya, daun sirih merah, daun pandan wangi dari perkebunan daerah Pandaan dan Mojokerto Jawa Timur, NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2N, pereaksi mayer (HgCl<sub>2</sub> + KI), pereaksi dragendorf (Bi(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O + HNO<sub>3</sub>+ KI), pereaksi wagner (KI + I<sub>2</sub>), Mg, HCl 37% (pekat), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 12N (pekat), CH<sub>3</sub>COOH anhidrat (Reagen Libermann-Burchard), gelatin 1%, NaCl 10%, dan FeCl<sub>3</sub> 1% dari Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan IPA Universitas Negeri Surabaya, pakan ayam 511 produksi PT. Pokhpan, air minum mencit, NaCl fisiologis 0,9% produksi PT Otsu Indonesia, aloksan (alloxan monohydrate) merk Sigma-Aldrich A6316, strip tes glukosa merk easy touch, etanol 70%, formalin 10%, pewarna histologi

Haemotoksilin Eosin (HE), parafin, etanol 80%, etanol 96%, etanol 100%, xylol, Mayer's albumin (putih telur ayam kampung + gliserin = 1:1), etanol asam, dan entelan.

Mencit diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari di dalam kandang yang diberi alas sekam sebelum diberi perlakuan. Setelah mengalami adaptasi, mencit dibagi dalam 14 kelompok masing-masing 3 ekor mencit tiap kelompok yaitu kontrol negatif (kelompok normal), kontrol positif (kelompok diabetes mellitus), K1 (pembanding metformin), dan K2 s.d K12 (perlakuan formulasi ekstrak).

Pembuatan ekstrak daun sirih merah dan ekstrak daun pandan wangi dilakukan dengan cara memotong, mencuci dengan air mengalir, mengeringkan selama  $\pm 7$  hari pada udara terbuka, kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender. Serbuk daun sirih merah dan serbuk daun pandan wangi masing-masing ditimbang sebanyak 100 gram kemudian direndam dalam etanol 70% 1000 ml selama 5 jam dengan sesekali pengadukan, selanjutnya disaring dengan menggunakan kain saring. Filtrat hasil penyaringan dipisahkan dengan vacuum rotary evaporator pada kecepatan 6000 rpm dan suhu 70°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental daun sirih merah dan ekstrak kental daun pandan wangi (dianggap konsentrasi 100%) di uji fitokimia kualitatif untuk mengetahui kandungan metabolit sekundernya. Untuk mendapatkan formulasi ekstrak dilakukan pencampuran antara ekstrak kental daun sirih merah 100% dan ekstrak kental daun pandan wangi 100%.

Konsentrasi formulasi ekstrak daun sirih merah dengan ekstrak daun pandan wangi yang digunakan adalah 10% hingga 100%. Setelah pembagian kelompok mencit, selanjutnya mencit di cek kadar glukosa darah awal pada semua kelompok (GD 1). Setelah pengukuran kadar glukosa darah awal kemudian pada kelompok kontrol positif, K1, K2 s.d K12 diinjeksi aloksan 10% dosis 0,05 ml secara intraperitoneal. Kemudian pada hari ke-3 pasca injeksi dicek kadar glukosa darahnya (GD 3). Mencit dikategorikan hiperglikemia apabila kadar glukosa darah  $>200$  mg/dl. Setelah dipastikan hiperglikemia kemudian semua kelompok diberi sediaan sesuai kelompok perlakuan. Kontrol negatif dan kontrol positif diberi aquades, K1 diberi metformin dosis 11,7 mg, K2 (EDPW 100%), K3 (EDSM 10% + EDPW 90%), K4 (EDSM 20% + EDPW 80%), K5 (EDSM 30% + EDPW 70%), K6 (EDSM 40% + EDPW 60%), K7 (EDSM 50% + EDPW 50%), K8 (EDSM 60% + EDPW 40%), K9 (EDSM 70% + EDPW 30%), K10 (EDSM 80% + EDPW 20%), K11 (EDSM 90% + EDPW 10%), dan K12 (EDSM 100%).

Kadar glukosa darah rutin di cek pada hari ke-10 (GD 10), 17(GD 17), 24(GD 24) dan 31(GD 31) pasca perlakuan. Pengambilan sampel darah melalui pembuluh darah ekor. Sampel darah yang diperoleh langsung diteteskan pada strip tes glukosa yang terpasang pada glukometer *easy touch*. Nilai yang tertera pada alat menunjukkan nilai kadar glukosa darah mencit. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel, kemudian dianalisis dengan statistik parametrik *Repeated ANOVA* dan dilanjutkan *Post hoc* metode Bonferonni untuk mengetahui perlakuan yang terbaik.

Pada hari ke 31 pasca perlakuan, mencit diterminasi dengan cara dislokasi leher kemudian dibedah dan diambil organ pankreas. Organ pankreas yang sudah dipisahkan langsung difiksasi dengan formalin 10% selama minimal 24 jam. Lalu organ pankreas dipotong (*trimming*) secara *cross section* dan hasil potongan dimasukkan dalam *tissue cassette*. Setelah itu dilakukan proses jaringan yang terdiri dari: dehidrasi jaringan dalam etanol 70%, 80%, 90%, 100%, clearing atau penjernihan dalam xylol sebanyak 2 kali, *embedding* atau pembedaan dalam campuran xylol dan parafin cair suhu 56°C perbandingan 1:1, *blocking* atau pengecoran dengan menuangkan parafin cair suhu 62°C dalam *base mould* yang berisi potongan pankreas, kemudian dimasukkan dalam parafin freezer suhu 10-12°C hingga memadat, setelah itu *cutting* atau pemotongan blok jaringan ukuran 5 µm, lalu terakhir potongan blok jaringan digenangkan diatas penangas *waterbath* suhu 42°C agar potongan meregang, kemudian potongan blok jaringan ditangkap oleh *obyek glass* yang telah diolesi putih telur.

Tahap pewarnaan jaringan meliputi: slide potongan blok jaringan direndam dalam xylol, etanol 70%, 80%, 96%, dan 100%, pewarna mayer haemotoksilin, pewarna eosin 1%, etanol asam, dan aquades. Terakhir *slide* ditutup dengan *cover glass* yang telah diolesi entelan.

Pengamatan histopatologi pancreas dilakukan di laboratorium histologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya. Identifikasi pada perbesaran 400x setiap 5 lapang pandang. Kondisi pankreas dilihat adanya infiltrasi sel yang berperan pada proses peradangan, densitas pulau langerhans, dan pengukuran diameter pulau langerhans menggunakan aplikasi NIS. Hasil rata-rata dari kelima lapang pandang menentukan tingkat kerusakan pankreas yang dibagi menjadi 4 kategori yaitu derajat 0, derajat 1, derajat 2, dan derajat 3. Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel, kemudian dianalisis dengan statistik non parametrik *Kruskal wallis* untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan tiap

kelompok dan korelasi *Spearman* untuk mengetahui ada atau tidaknya hubungan 2 variabel (kadar glukosa darah dan histopatologi pankreas).

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji fitokimia pada penelitian bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa metabolit sekunder yang dapat berperan sebagai antihiperqlikemia atau antidiabetes. Adapun hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Hasil fitokimia ekstrak daun sirih merah (EDSM)

Uji fitokimia	Pereaksi	Hasil (Terbentuknya)	Kesimpulan (+/-)
Alkaloid	Mayer	Endapan jingga	-
	Wagner	Endapan cokelat	+++
	Dragendorf	Endapan putih	+++
Flavonoid	Mg + HCl pekat + etanol	Warna merah	++
Saponin	-	Adanya busa stabil	+
Steroid	Libermann-Burchard	Ungu ke biru/hijau	+
Triterpenoid	Kloroform + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Merah kecokelatan	++
Tanin	NaCl 10% + Gelatin 1%	Biru kehitaman	++
Fenolik	FeCl <sub>3</sub> 1%	Ungu kehitaman	+++

Tabel 2. Hasil uji fitokimia kualitatif ekstrak daun pandan wangi (EDPW)

Uji fitokimia	Pereaksi	Hasil (Terbentuknya)	Kesimpulan (+/-)
Alkaloid	Mayer	Endapan jingga	-
	Wagner	Endapan cokelat	+++
	Dragendorf	Endapan putih	+++
Flavonoid	Mg + HCl pekat + etanol	Warna merah	++
Saponin	-	Adanya busa stabil	++
Steroid	Libermann-Burchard	Ungu ke biru/hijau	++
Triterpenoid	Kloroform + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat	Merah kecokelatan	+++
Tanin	NaCl 10% + Gelatin 1%	Biru kehitaman	+++
Fenolik	FeCl <sub>3</sub> 1%	Ungu kehitaman	+++

Keterangan:

- (-) = Tidak terdeteksi senyawa metabolit sekunder tersebut.
- (+) = Intensitas lemah terdapat senyawa metabolit sekunder tersebut.
- (++) = Intensitas sedang terdapat senyawa metabolit sekunder tersebut.
- (+++)= Intensitas kuat terdapat senyawa metabolit sekunder tersebut.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih merah (EDSM) dan ekstrak daun pandan wangi (EDPW) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, steroid, triterpenoid, polifenol, dan tanin. Senyawa alkaloid, flavonoid, dan polifenol merupakan



senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas hipoglikemik sedangkan tanin berfungsi sebagai antioksidan, antiradang dan *astringent* (Maryuni, 2002).

Diabetes mellitus dapat disebabkan oleh banyak faktor. Faktor tersebut diantaranya faktor genetik, infeksi oleh kuman, faktor nutrisi, zat diabetogenik, dan radikal bebas (stres oksidatif). Senyawa aloksan merupakan salah satu zat diabetogenik yang bersifat toksik, terutama terhadap sel  $\beta$  pulau langerhans pankreas, dan apabila diberikan kepada hewan coba seperti mencit maka dapat menyebabkan diabetes mellitus. Mekanisme toksisitas aloksan diawali dengan masuknya aloksan ke dalam sel-sel  $\beta$  pulau langerhans pankreas kemudian kerusakan pada sel-sel  $\beta$  terjadi melalui beberapa proses secara bersamaan, yaitu melalui oksidasi gugus sulfidril dan pembentukan radikal bebas. Mekanisme kerja aloksan menghasilkan kerusakan pada sel-sel  $\beta$  pulau langerhans pankreas terutama menyerang senyawa-senyawa seluler yang mengandung gugus sulfidril, asam-asam amino sistein dan protein yang berikatan dengan gugus SH (termasuk enzim yang mengandung gugus SH). Aloksan bereaksi dengan dua gugus SH yang berikatan pada bagian sisi dari protein atau asam amino membentuk ikatan disulfida sehingga menginaktifkan protein yang berakibat pada gangguan fungsi protein tersebut (Szkudelski, 2001). Injeksi aloksan 10% dosis 0,05 ml secara intraperitoneal mampu meningkatkan kadar glukosa darah dan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas mencit. Mencit dinyatakan hiperglikemia bila kadar glukosa darah  $>200$  mg/dL (Karau *et al.*, 2012).

Perubahan kadar glukosa darah mencit selama perlakuan tersaji dalam Tabel 4. Berdasarkan Tabel 4, terjadi perubahan kadar glukosa darah setelah 31 hari perlakuan. Penurunan kadar glukosa darah paling banyak terjadi pada kelompok diabetes mellitus dengan terapi metformin (K1) yaitu sebesar 80,1%. Berdasarkan hasil statistik *Repeated ANOVA* menunjukkan bahwa pada hari ke-3 kontrol positif, K1 s.d K12 menunjukkan perbedaan nyata ( $p < 0.05$ ) terhadap kontrol negatif. Hal ini membuktikan bahwa injeksi aloksan dapat merusak sel  $\beta$  pulau langerhans pankreas yang menyebabkan produksi insulin menurun sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah.

Pada hari ke-31 kelompok metformin (K1) dan formulasi ekstrak (K2 s.d K12) memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap kontrol positif artinya perlakuan metformin dan formulasi ekstrak dapat menurunkan kadar glukosa darah.

Berdasarkan uji *Post hoc Repeated ANOVA* menunjukkan penurunan kadar glukosa darah terbanyak terjadi pada mencit kelompok perlakuan diabetes mellitus dengan terapi metformin (K1). Perlakuan kelompok diabetes mellitus dengan terapi formulasi

---

EDSM 50% + EDPW 50% (K7) dan formulasi EDSM 40% + EDPW 60% (K8) memiliki penurunan kadar glukosa darah sebanding dengan perlakuan metformin ( $p > 0,05$ ).

Penurunan kadar glukosa darah pada mencit perlakuan diabetes mellitus dengan terapi metformin (K1) karena stimulasi glikolisis langsung pada jaringan perifer dengan peningkatan pengeluaran glukosa dari darah, mengurangi glukoneogenesis hati, memperlambat absorpsi glukosa dari darah, pengurangan kadar glukagon dalam plasma, dan meningkatkan pengikatan insulin pada reseptor insulin (Katzung, 2007).

Penurunan kadar glukosa darah dengan perlakuan formulasi ekstrak dapat disebabkan karena kandungan alkaloid yang menstimulasi hipotalamus untuk meningkatkan sekresi *Growth Hormone Releasing Hormone* (GHRH), sehingga sekresi *Growth Hormone* (GH) pada hipofisis meningkat. Kadar GH yang tinggi akan menstimulasi hati untuk mensekresikan *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1). IGF-1 mempunyai efek dalam menginduksi hipoglikemia dan menurunkan glukoneogenesis sehingga kadar glukosa darah dan kebutuhan insulin menurun. IGF-1 melalui *negative feed back system* akan menormalkan kembali kadar GH (Bunting *et al.*, 2006). Flavonoid dapat mencegah komplikasi atau progresifitas diabetes melitus dengan cara membersihkan radikal bebas yang berlebihan (Soewoto, 2001), memutuskan rantai reaksi radikal bebas dan mengikat ion logam (*chelating*) (Mills & Bone, 2002).

Polifenol mengurangi stres oksidatif dengan cara mencegah terjadinya reaksi berantai perubahan superoksida menjadi hidrogen superoksida dengan mendonorkan atom hidrogen dari kelompok aromatik hidroksil (-OH) polifenol untuk mengikat radikal bebas dan membuangnya dari dalam tubuh melalui sistem ekskresi (Barbosa, 2007).

Pengamatan histopatologi pankreas bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian metformin dan formulasi ekstrak daun sirih merah dengan ekstrak daun pandan wangi terhadap pemulihan fungsi pankreas akibat injeksi aloksan. Hasil pengamatan histopatologi pankreas seluruh kelompok perlakuan tersaji pada Gambar 1.

Berdasarkan uji statistik *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata ( $p < 0,05$ ) tingkat kerusakan pankreas seluruh kelompok perlakuan. Hal tersebut terlihat dari pengamatan histopatologi pankreas mencit kontrol negatif (Gambar a) menunjukkan tidak terjadi nekrosis dan terlihat inti sel sangat padat mengisi pulau langerhans sehingga mengindikasikan bahwa pulau langerhans dalam keadaan normal (tidak terjadi kerusakan). Hal yang tidak serupa terlihat pada hasil histopatologi pulau langerhans kontrol positif (Gambar b) terlihat banyak infiltrasi sel yang berperan pada



proses peradangan yaitu 26-30 per lapang pandang yang ditemukan pada area tepi sel eksokrin pankreas, selain itu terjadi juga nekrosis yang cukup parah. Kejadian nekrosis pada pulau langerhans ditandai dengan adanya ruang-ruang kosong pada pulau langerhans, banyak sel yang mengalami lisis yang ditandai dengan ukuran pulau langerhans yang semakin kecil. Ruang-ruang kosong pada pulau langerhans karena nekrosis sel  $\beta$  (Nurdiana dkk., 1998). Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang fatal ditandai dengan kerusakan struktur dan fungsi sel secara menyeluruh yang diikuti lisisnya sel dan peradangan jaringan. Adanya nekrosis pulau langerhans pada kontrol positif membuktikan bahwa pemberian aloksan dapat merusak pulau langerhans pankreas khususnya sel  $\beta$  sehingga sekresi insulin ke dalam pembuluh darah menurun, akibatnya kadar glukosa darah meningkat (Slauson & Cooper, 2002).

Pada K1 (Gambar c) menunjukkan terjadinya nekrosis yang cukup parah dan infiltrasi sel yang berperan pada proses peradangan 26-30 per lapang pandang seperti terlihat pada kontrol positif (Gambar b). Hal ini disebabkan karena mekanisme kerja metformin bukan melalui stimulasi sel-sel  $\beta$  pankreas melainkan berpengaruh terhadap kerja insulin dan menurunkan produksi glukosa sehingga tidak terjadi perubahan morfologi pankreas yang berarti (Andayani, 2003).

Pada kelompok perlakuan dengan perbandingan konsentrasi ekstrak daun pandan wangi lebih banyak yaitu K2 (Gambar d), K3 (Gambar e), K4 (Gambar f), K5 (Gambar g), dan K6 (Gambar h) pada histopatologi pankreasnya terlihat mulai ada perbaikan jaringan yang ditandai dengan tidak ditemukan adanya nekrosis, sel-sel dalam pulau langerhans tampak padat dengan ukuran pulau langerhans tampak lebih besar. Akan tetapi perbaikan jaringan yang terjadi masih belum sampai seperti kontrol negatif (Gambar a). Selain itu masih ditemukan sel yang berperan pada proses peradangan 16-20 per lapang pandang yang menandakan bahwa proses penyembuhan masih belum sempurna (Slauson & Cooper, 2002).

Pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi perbandingan sama antara ekstrak daun sirih merah dengan ekstrak daun pandan wangi (K7) (Gambar i), pada histopatologi pankreasnya terlihat mulai terdapat perbaikan jaringan yang hampir sama seperti kontrol negatif (Gambar a), dan masih ditemukan sel yang berperan pada proses peradangan 6-10 per lapang pandang.

Pada kelompok perlakuan dengan perbandingan konsentrasi ekstrak daun sirih merah lebih banyak yaitu K8 (Gambar j), K9 (Gambar k), K10 (Gambar l), K11 (Gambar

m), dan K12 (Gambar n) terlihat mulai terdapat perbaikan jaringan dan masih ditemukan sel yang berperan pada proses peradangan 16-20 per lapang pandang. Perbaikan jaringan yang kondisinya hampir sama seperti kontrol negatif (Gambar a) hanya pada K8 (Gambar j), namun pada K8 perbaikan jaringan masih tidak sebaik K7. Hal ini terlihat sel-sel pada pulau langerhans tampak padat dengan ukuran pulau langerhans tampak besar, dan masih ditemukan sel yang berperan pada proses peradangan 6-10 per lapang pandang. Sedangkan pada K9 (Gambar k), K10 (Gambar l), K11 (Gambar m), dan K12 (Gambar n) terjadi perbaikan jaringan namun tidak lebih baik dari K8 (Gambar j).

Perbaikan jaringan pankreas yang sejalan dengan penurunan kadar glukosa darah terdapat pada perlakuan formulasi EDSM 50% dan EDPW 50% (K7). Berdasarkan uji statistik korelasi *Spearman* membuktikan bahwa terdapat hubungan antara perbaikan jaringan pankreas terhadap penurunan kadar glukosa darah ( $p < 0,05$ ).

Regenerasi sel dapat terjadi sebagai akibat dari normalitas kadar glukosa darah yang diperantarai insulin. Dua tipe sel prekursor akan tampak pada sel pulau langerhans yang beregenerasi. Satu tipe mengekspresikan *glucose transporter-2* (GLUT-2) dan tipe lain mengekspresikan insulin dan somatostatin. Kedua sel tersebut kemudian menjadi sel monospesifik yang mengandung insulin dan mengisi pulau langerhans yang rusak/kosong (Guz *et al.*, 2001).

Perbaikan jaringan pankreas oleh formulasi ekstrak diduga karena adanya senyawa metabolit sekunder seperti tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol. Senyawa metabolit sekunder tersebut dapat bertindak sebagai antioksidan. Antioksidan terlibat dalam proses perbaikan sel yang rusak. Kerusakan sel yang diakibatkan oleh adanya radikal bebas dapat diatasi dengan adanya antioksidan yang berfungsi sebagai agen penurun dan menurunkan oksidator sebelum merusak sel sehingga kerusakan sel dapat dikurangi. Flavonoid diketahui mampu berperan menangkap radikal bebas atau berfungsi sebagai antioksidan alami. Aktivitas antioksidan tersebut memungkinkan flavonoid untuk menangkap atau menetralkan radikal bebas (seperti ROS atau RNS) terkait dengan gugus OH fenolik sehingga dapat memperbaiki keadaan jaringan yang rusak dengan kata lain proses peradangan dapat terhambat. Flavonoid dapat berperan dalam kerusakan jaringan pankreas yang diakibatkan oleh alkilasi DNA akibat injeksi aloksan sebagai akibatnya dapat memperbaiki morfologi pankreas mencit. Flavonoid memiliki aktivitas antidiabetes yang mampu meregenerasi sel pada pulau langerhans (Sandharet *et al.*, 2011). Alkaloid terbukti mempunyai kemampuan regenerasi sel  $\beta$  pankreas yang rusak (Arjadi & Susatyo, 2010).

Peran polifenol sebagai antioksidan diduga mampu melindungi sel  $\beta$  pankreas dari efek toksik radikal bebas yang diproduksi dibawah kondisi hiperglikemia kronis. Antioksidan dalam formulasi ekstrak daun sirih merah dengan ekstrak daun pandan wangi berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan cara mencegah terjadinya oksidasi yang berlebihan sehingga kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas dapat dicegah dan menjaga kandungan insulin didalamnya (Barbosa, 2007).

Dengan adanya perbaikan jaringan pankreas, maka terjadi peningkatan jumlah insulin didalam tubuh sehingga glukosa darah akan masuk kedalam sel dan terjadi penurunan glukosa darah.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil uji *in vivo* didapatkan bahwa terapi diabetes melitus dengan formulasi ekstrak daun sirih merah 50% + ekstrak daun pandan wangi 50% (K7) memiliki efek farmakologi yang baik dalam menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki jaringan pankreas.

Tabel 4. Rerata kadar glukosa darah (mg/dl) selama 31 hari perlakuan

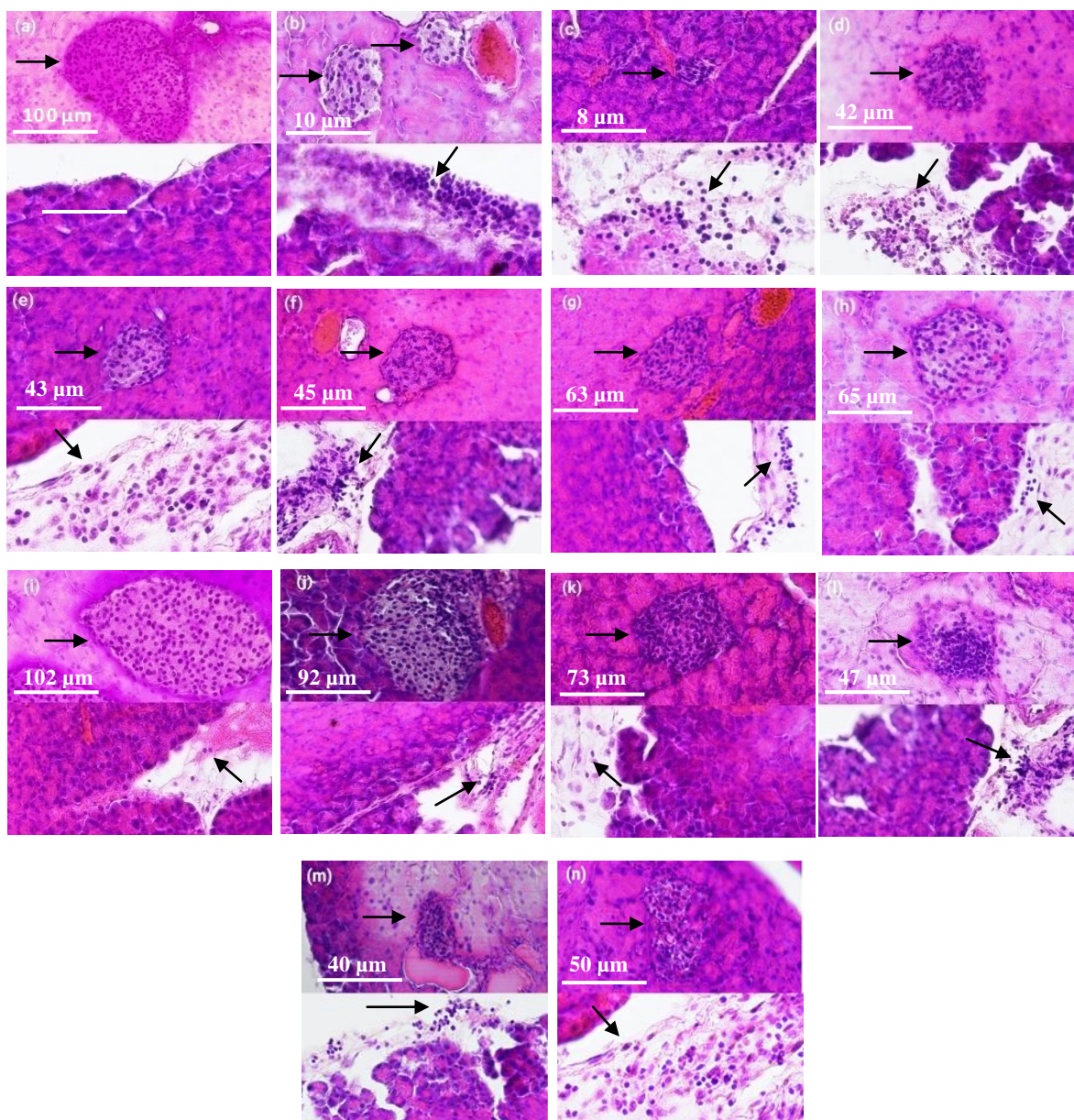
Kelompok	Hari ke-		% Perubahan
	3	31	
Normal (Kontrol negatif)	131	144	9,02 %
DM (Kontrol positif)	600	600	0%
DM + Metformin (K1)	579	115	-80,1%
DM + (EDPW 100%) (K2)	579	150	-74%
DM + (EDSM 10% + EDPW 90%) (K3)	594	149	-74,9%
DM + (EDSM 20% + EDPW 80%) (K4)	600	147,5	-75,4%
DM + (EDSM 30% + EDPW 70%) (K5)	525	152	-71%
DM + (EDSM 40% + EDPW 60%) (K6)	587,5	146	-75,1%
DM + (EDSM 50% + EDPW 50%) (K7)	600	130	-78,3%
DM + (EDSM 60% + EDPW 40%) (K8)	577,5	133,5	-76,8%
DM + (EDSM 70% + EDPW 30%) (K9)	600	133,5	-77,7%
DM + (EDSM 80% + EDPW 20%) (K10)	594	148,5	-75%
DM + (EDSM 90% + EDPW 10%) (K11)	530,5	131	-75,3%
DM + (EDSM 100%) (K12)	556	133	-76%

Keterangan:

(-) = penurunan

(+) = peningkatan

\*Data merupakan rerata dari % perubahan masing-masing ulangan



Gambar 1. Histopatologi jaringan pankreas mencit perbesaran 400x

Keterangan: (a) Pankreas kontrol negatif (mencit normal), (b) Pankreas kontrol positif (mencit diabetes melitus), (c) Pankreas K1 (pembanding metformin), (d) Pankreas K2 (EDPW 100%), (e) Pankreas K3 (EDSM 10% + EDPW 90%), (f) Pankreas K4 (EDSM 20% + EDPW 80%), (g) Pankreas K5 (EDSM 30% + EDPW 70%), (h) Pankreas K6 (EDSM 40% + EDPW 60%), (i) Pankreas K7 (EDSM 50% + EDPW 50%), (j) Pankreas K8 (EDSM 60% + EDPW 40%), (k) Pankreas K9 (EDSM 70% + EDPW 30%), (l) Pankreas K10 (EDSM 80% + EDPW 20%), (m) Pankreas K11 (EDSM 90% + EDPW 10%), dan (n) Pankreas K12 (EDSM 100%). Tanda panah atas menunjukkan pulau langerhans pankreas dan tanda panah bawah menunjukkan infiltrasi sel yang berperan pada proses peradangan pada area tepi luar sel eksokrin pankreas.



## DAFTAR PUSTAKA

- American Diabetes Association (ADA). (2015). Standards of Medicals Care in Diabetes. *The Journal of Clinical and Applied Research and Education*, 38(1), 1-94. Retrieved from <http://care.diabetesjournals.org/content/suppl>.
- Andayani, Y. (2003). *Mekanisme Aktivitas Antihiperglikemik Ekstrak Buncis (Phaseolus vulgaris Lim) pada Tikus Diabetes dan Identifikasi Komponen Aktif*. (Disertasi, Institut Pertanian Bogor, 2003). Retrieved from <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/962>.
- Arjadi, F., & Susatyo, P. (2010). Regenerasi Sel Pulau Langerhans pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes yang Diberi Rebusan Daging Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarp (Scheff.) Boerl.*). *Jurnal Kedokteran*, 2(2), 117-126. doi: 10.30659/journal.sainsmed.v2i2.28.g27.
- Barbosa, D.S. (2007). Green Tea Polyphenolic Compounds and Human Health. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 2(4), 407-413. doi: 10.1007/s00003-007-0246.
- Bunting, K., Wang, J.K., & Shannon, M.F. (2006). Control of Interleukin-2-gene Transcription: a Paradigm for Inducible, Tissue Specific Gene Expressions. Interleukins-2. *Journal of Molecular Bioscience*, 74, 45-105. doi: 10.1016/S0083-6729(06)74005-5.
- Guz, Y., Nasir, I., & Teitelman, G. (2001). Regeneration of Pancreatic Beta Cells from Intraoslet Precursor Cells in an Experimental Model of Diabetes. *Journal Endocrinology*, 142(11), 68-4956. doi: 10.1210/endo.142.11.8501.
- Karau, G.M., Njagi, E.N.M., Machocho, A.K., Wangai, L.N., & Kamau, P.N. (2012). Hypoglycemic Activity of Aqueous and Ethylacetate Leaf and Stem Bark Extracts of *Pappea capensis* in Alloxan-Induced Diabetic BALB/c Mice. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 3(5), 1-9. Retrieved from <https://www.mku.ac.ke/research/publications/HypoglycemicActivityofAqueousandEthylacetateLeafandStemBark>.
- Katzung, B.G. (2007). *Pancreatic Hormones and Antidiabetic Drugs*. In: *Basic and Clinical Pharmacology*. 10<sup>th</sup> Ed Chapter 41. New York: McGraw-Hill Companies.
- Maryuni, A.E. (2002). *Pengaruh Pemberian Dekokta Daun Jati Pada Tikus Putih Hiperglikemik*. (Unpublished thesis). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Mills, S., and Bone, K. (2002). *Principles and Practice of Phytotherapy: Modern Herbal Medicine*. Edinburgh, Scotland: Churrall Livingstone.
- Nurdiana., N.P., Setyawati., & Ali, M. (1998). Efek Streptozotoin Sebagai Bahan Diabetogenik pada Tikus Wistar dengan Cara Pemberian Intraperitoneal dan Intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw*, XIV(2), 66-67.

- Prameswari, O., & Widjarnarko, S. (2014). Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2), 16-27. Retrieved from <http://jpa.ub.ac.id/index.php/jpa/article/view/33>.
- Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas). (2013). *Epidemiologi Diabetes Mellitus. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. Jakarta. Retrieved from <http://www.depkes.go.id/resources/download/general>.
- Sandhar, H.K., Kumar, B., Prashes, S., Tiwari, P., Salhan, M., & Sharma, P. (2011). A Review Of Phytochemistry and Pharmacology of Flavonoids. *International Pharmaceutica Science*, 1(1), 25-41. Retrieved from <http://www.ipharmsciencia.com>.
- Slauson, D.O., & Cooper, B.J. (2002). *Mechanism of Disease: A Textbook of Comparative General Pathology*. USA: Elsevier Science.
- Soewoto, H. (2001). *Antioksidan Eksogen Sebagai Lini Pertahanan Kedua Dalam Menanggulangi Peran Radikal Bebas*. Jakarta: Jurusan Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Suharmiati. (2003). *Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat*. Surabaya: (Pusat Penelitian dan Pengembangan Pelayanan dan Teknologi Kesehatan) Departemen Kesehatan RI. Surabaya.
- Suryono, & Sevin, Y.C. (2012). Efektifitas Daun Sirih Merah untuk Menurunkan Kadar Gula Darah pada Penderita Diabetes Mellitus. *Jurnal Keperawatan*, 1(6), 20-28. Retrieved from <http://ejournal.akperpamenang.ac.id/index.php/akp/article/view/56>.
- Szkudelski, T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action In  $\beta$  Cells of the Rat Pancreas. *Mini Review*, 50, 537-546. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11829314>.
- Widowati, L., Dzulkarnain, B., & Sa'roni. (1997). *Tanaman Obat untuk Diabetes Mellitus*. Yogyakarta: Cermin Dunia Kedokteran.