

AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMI DAN REGENERASI SEL β PANKREAS DARI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN KERSEN (*Muntingia calabura*) PADA TIKUS YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN

Kharisma Jayak Pratama ^{1*)} | Septian Maulid Wicahyo ²⁾ | Rahmad Hidayat ³⁾

¹⁾ Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta

²⁾ Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta

³⁾ Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Duta Bangsa Surakarta

* kharisma_jayakpratama@udb.ac.id

Submitted : 28-05-2024

Reviewed : 05-06-2024

Accepted : 10-06-2024

ABSTRAK

Kadar glukosa darah dan aktivitas antioksidan yang normal adalah kunci yang dapat mencegah Diabetes Melitus dan komplikasinya. Beberapa tanaman herbal memiliki aktivitas tersebut. Daun kersen (*Muntingia calabura*) adalah tumbuhan di sekitar kita yang memiliki kegunaan empiris, salah satunya menurunkan glukosa darah. Tujuan penelitian untuk mengetahui aktivitas fraksi etil asetat daun kersen dalam menurunkan glukosa darah dan memperbaiki sel beta pankreas. Empat puluh dua tikus galur Wistar Jantan berumur 8 minggu dengan berat 180-200 g diinduksi diabetes menggunakan streptozotosin dan dibagi secara acak. Kelompok I kontrol normal, kelompok II kontrol negatif, kontrol III kontrol positif menggunakan glibenklamid, kelompok IV dan V uji fraksi etil asetat 250 dan 350 mg/kg BB. Perlakuan dilakukan secara oral sekali sehari selama 18 hari. Kadar glukosa diukur pada hari ke-1, ke-4, ke-11 dan ke-18. Hasil penelitian menunjukkan Ekstrak dan Fraksi dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan fraksi etil asetat 350 mg/kg BB menurunkan paling tinggi (tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif) dan keduanya dapat meningkatkan aktivitas enzim SOD, GPx dan menurunkan kadar MDA serta memperbaiki islet langerhans pankreas. Kesimpulannya ekstrak dan fraksi daun kersen memiliki aktivitas antihiperqlikemia dan regenerasi islet pankreas.

Kata kunci: antihiperqlikemia, regenerasi, sel β pankreas, *Muntingia calabura*, fraksi etil asetat.

ABSTRACT

Normal blood glucose levels and antioxidant activity are the keys to preventing Diabetes Mellitus and its complications. Some herbal plants have this activity. Cherry leaves (*Muntingia calabura*) are plants around us that have empirical uses, one of which is lowering blood glucose. The aim of the research was to determine the activity of the ethyl acetate fraction of cherry leaves in reducing blood glucose and improving pancreatic beta cells. Forty-two 8-week-old male Wistar rats weighing 180-200 g were induced with diabetes using streptozotocin and divided randomly. Group I was normal control, group II was negative control, control III was positive control using glibenclamide, groups IV and V tested ethyl acetate fractions 250 and 350 mg/kg BW. Treatment is carried out orally once a day for 18 days. Glucose levels were measured on days 1, 4, 11 and 18. The results showed that the extract and fractions could reduce blood glucose levels with the 350 mg/kg BW ethyl acetate

fraction reducing the highest (not significantly different from the positive control) and both could increase the activity of the SOD, GPx enzymes and reduce MDA levels and improve pancreatic Langerhans islets. In conclusion, cherry leaf extract and fractions have antihyperglycemic activity and pancreatic islet regeneration.

Keyword: antihyperglycemia, regeneration, pancreatic β cells, *Muntingia calabura*, ethyl acetate fraction.

PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah penyakit sindroma metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah, resistensi insulin, kekurangan insulin dan gula darah puasa tidak terkontrol. Kelainan metabolik tersebut mengakibatkan komplikasi-komplikasi yang berbahaya seperti gangguan makrovaskular, mikro-vaskular, fungsi ginjal dan lainnya. Stres oksidatif adalah salah satu komplikasi akibat diabetes melitus. Stres oksidatif didefinisikan sebagai ketidakseimbangan antara oksidan-oksidan dan antioksidan dalam tubuh. Oksidan atau radikal bebas dapat bersumber dari dalam dan luar tubuh. Pada keadaan diabetes produksi radikal menjadi tinggi karena tingginya gula dalam darah mengaktifkan jalur-jalur metabolisme yang memproduksi radikal bebas lebih banyak (Olokoba *et al.* 2012). Penambahan antioksidan perlu dilakukan agar kadar radikal bebas bisa menurun dan mencegah faktor resiko komplikasi lebih lanjut (Pinen *et al.*, 2008).

Tanaman kersen (*Muntingia calabura*) adalah tanaman yang selalu berbuah sepanjang tahun dan bisa tumbuh pada lingkungan yang ekstrim. Pohon kersen berada di sekitar kita dan dijadikan sebagai tempat berteduh karena tingginya yang bisa lebih dari 5 meter. Daun pada tanaman ini mengandung flavonoid yang memiliki efek penurun gula darah dan antioksidan (Zakaria *et al.* 2014; Yadav *et al.* 2013). Quercetin adalah salah satu flavonoid golongan flavonol yang berkontribusi dalam aktivitas tersebut. Mekanisme quercetin sebagai penurun gula darah melalui peningkatan jumlah islet langerhans pankreas, meningkatkan kadar insulin plasma, proteksi sel β dari kerusakan, menurunkan tingkat oksidatif stress marker dengan meningkatkan

aktivitas enzim antioksidan (Lakhanpal dan Rai. 2007; Pinen *et al.*, 2008).

Penelitian ini dilakukan untuk melihat aktivitas antihiperlikemia dan regenerasi sel beta pankreas dari fraksi etil asetat daun kersen.

Prosedur Penelitian dan Analisis data

Penelitian ini menggunakan *post test only control group design*. Dalam desain ini terdapat 2 jenis kelompok yang masing-masing kelompok tikus akan dipilih secara acak. Penelitian ini menggunakan tikus jantan strain Wistar berumur 2 bulan yang dibuat diabetes dengan streptozotisin-nikotinamid. Kelompok eksperimen dibagi 2 yaitu kelompok dengan variasi dosis fraksi etil asetat dan kelompok yang tidak diberi perlakuan disebut kelompok kontrol. Jika ada perbedaan yang signifikan antara kelompok eksperimen terhadap kelompok kontrol, maka perlakuan yang diberikan berpengaruh secara signifikan.

Fraksi etil asetat daun kersen dibuat dengan memisahkan ekstrak etanol 96% daun kersen kental menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan kepolaran pelarut yang bertingkat yaitu Heksan : etil asetat : air. Fraksi etil asetat yang masih cair kemudian dikentalkan menggunakan oven pada suhu 50° C.

Pemberian kepada tikus uji dalam bentuk sediaan suspensi menggunakan suspensi Na CMC 0,5 %. Pembuatan suspensi menggunakan alat *Homogenizer*. Tikus penelitian diperoleh dari Laboratorium Farmakologi Universitas Gadjah Mada, berumur kira-kira 2 bulan dengan berat badan kira-kira 150-250 gram. Perlakuan uji terhadap tikus dilakukan di PAU (Pusat Antar Universitas) Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM. Perlakuan uji dilakukan selama 2 minggu.

Tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok (I-V) dengan tiap kelompok terdiri atas 6 ekor tikus dan 4 kelompok (II-V) dibuat diabetes melitus (DM) dengan dengan menginjeksikan secara intraperitoneal streptozotosin 65 mg/kg BB dan nikotinamid 230 mg/kg BB 15 menit sebelum streptozotosin. Kelompok I adalah kontrol normal; kelompok II adalah kelompok kontrol negatif; kelompok III adalah kontrol positif dengan induksi DM dan diberikan glibenklamid 0,45 mg/kg BB tikus; kelompok IV adalah kelompok perlakuan uji fraksi etil asetat dosis 250 mg/kg BB pada tikus DM; kelompok V adalah kelompok perlakuan uji fraksi etil asetat dosis 350 mg/kg BB pada tikus DM.

Data yang dikumpulkan adalah kadar glukosa darah yang diperoleh dengan metode *enzymatic colorimetric test* menggunakan reagen GOD PAP. Penentuan aktivitas SOD, kadar Gluthation peroksidase (GPx) dan kadar MDA menggunakan spektrofotometer dan gambaran histopatologis islet langerhans pankreas yang diamati menggunakan mikroskop kamera *LEICA* laboratorium Anatomi dan Fisiologi Universitas Setia Budi.

Pengambilan darah tikus dilakukan pada hari ke-1, ke-4, ke-11 dan ke-18. Tikus dipuasakan semalaman sebelum diambil darah tikus. Kadar gula hari ke-1 (T1) adalah kadar gula sebelum induksi DM; kadar gula hari ke-4 (T2) adalah kadar gula DM setelah injeksi peritoneal streptozotosin 65 mg/kg BB dan nikotinamid 230 mg/kg BB pada hari ke-1 yang kemudian dibiarkan 2 hari tanpa perlakuan; kadar gula darah hari ke-11 (T3) adalah kadar gula darah setelah seminggu perlakuan uji; kadar gula darah hari ke-18 (T4) adalah kadar gula darah setelah 2 minggu perlakuan uji. Penentuan aktivitas SOD, GPx dan penurunan MDA dilakukan dengan menggunakan supernatan organ hati tikus yang diambil pada hari ke-18. Preparat histopatologi pankreas dibuat dengan mengambil organ pankreas pada hari ke-18.

Data yang diperoleh akan dianalisis menggunakan perangkat lunak statistik SPSS melalui komputer. Uji statistik yang

digunakan yaitu ANOVA satu arah yang dilanjutkan post hoc. Data yang diuji hanya data glukosa darah dan aktivitas enzim antioksidan (SOD, GPx dan konsentrasi MDA).

HASIL DAN DISKUSI

Kadar glukosa darah tikus

Pengambilan dan penentuan kadar glukosa darah dilakukan di PAU (Pusat Antar Universitas) Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM. Darah tikus diambil pada hari ke-1 (T1), ke-4 (T2), ke-11 (T3) dan ke-18 (T4). Data yang dianalisis berupa rata-rata kadar glukosa darah dari kelima kelompok uji. Grafik rata-rata kadar glukosa darah terhadap hari pengambilan darah masing-masing kelompok bisa dilihat pada **hasil 1**.

Hasil 1. Berisi data rata-rata kadar gula darah tikus T1, T2, T3 dan T4. Berdasarkan tabel dan grafik pada kelompok II-V terjadi kenaikan kadar gula darah pada T2. Kenaikan terjadi akibat induksi DM menggunakan streptozotosin-nikotinamid yang menandakan induksi DM berhasil karena kadar gula darah semua kelompok melebihi 200 mg/dl. Penurunan kadar gula darah terjadi pada T3 dan T4 yaitu saat perlakuan dilakukan.

Kelompok III, IV dan V berturut-turut menurunkan kadar gula darah sebesar 51,45%, 40,94% dan 48,75%. Berdasarkan uji statistik ANOVA terdapat beda antara kelompok uji (signifikansi $p < 0,05$) yang kemudian dilakukan uji post hoc. Uji post hoc yang digunakan adalah *Games-Howell* karena varian tiap kelompok tidak sama (diuji menggunakan *Levene Statistic* dan hasil signifikansi $< 0,05$). Post hoc yang dilakukan menunjukkan ada perbedaan signifikan antara semua kelompok uji terhadap kontrol negatif. Perlu diketahui juga antara kelompok III dan V menunjukkan tidak ada beda pada setelah uji post hoc (signifikansi $p > 0,05$). Hal tersebut menunjukkan bahwa kelompok V, perlakuan fraksi etil asetat dosis 350 mg/kg BB tidak berbeda signifikan secara statistik terhadap kelompok III, kontrol positif. Efek

penurunan kadar gula darah berbanding lurus terhadap pening-katan dosis fraksi etil asetat daun kersen.

Efek penurunan gula darah oleh fraksi etil asetat terjadi karena fraksi tersebut mengandung flavo-noid. Salah satu flavonoid yang ter-kandung adalah quercetin. Quercetin adalah flavonoid yang memiliki efek penurunan gula darah melalui mekanisme menambah jumlah islet langerhans pankreas, meningkatkan kadar insulin plasma, proteksi sel β dari kerusakan, menurunkan tingkat oksidatif stress marker dengan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan (Kuo *et al.* 2014; Pinent *et al.* 2008; Sridhar *et al.* 2011; Yadav *et al.* 2013).

Gambaran Histopatologi Pankreas

Pembuatan preparat pankreas dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Pengamatan preparat dilakukan di Laboratorium Anatomi dan Fisiologi Manusia Universitas Setia Budi. Preparat diwarnai dengan pewarna Hematoxylin dan eosin. Aspek yang diamati adalah jumlah islet langerhans yang ditemukan dan diameter islet langerhans. Hasil pengamatan disajikan pada **tabel 1**.

Tabel 1

Kelom-pok Perlak-uan	Jumlah islet yang ditemukan	Diameter rata-rata pulau Langerhans (μ m)
I	29	369 \pm 104
II	0	-
III	27	314,28 \pm 106,2
IV	42	358,64 \pm 133,25
V	37	380,05 \pm 180,81

Kelompok I memberikan data keadaan normal. Data kelompok II memberikan data saat keadaan DM dan terlihat bahwa induksi streptozotosin merusak sel beta pankreas yang mengakibatkan nekrosis jaringan dan pengurangan jumlah sel beta dan penyusutan ukuran diameter islet langerhans. Hampir tidak ditemukannya islet langerhans pada preparat (hanya 2 islet yang ditemukan tapi ukuran diameter

menyusut banyak > 90 μ m). Hal tersebut didukung pada **gambar 2**.

Kelompok III, kelompok IV dan kelompok V memperlihatkan adanya aktivitas regenerasi sel beta pankreas ditandai dengan meningkatnya ukuran diameter islet langerhans. Kelompok IV dan kelompok V menunjukkan adanya peningkatan jumlah islet langerhans di preparat. Hal ini karena fraksi mengandung flavonoid quercetin yang memiliki aktivitas meningkatkan jumlah islet langerhans. Glibenklamid pada kelompok III tidak memiliki aktivitas menambah jumlah islet pankreas (Kuo *et al.* 2014; Pinent *et al.* 2008).

KESIMPULAN

Penelitian ini menyimpulkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antihyperglikemia dan regenerasi sel beta pankreas.

DAFTAR PUSTAKA

Birhen E *et al.* 2012. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *WAO Journal* 5:9-19.

Ghasemi A, Khalifi S, Jedi S. 2014. Streptozotocin-Nicotinamide-Induced Rat Model of Type 2 Diabetes (Review). *Acta Physiologica Hungaria* 101 (4):408-420.

Kuo WL, Liao HR, Chen JJ. 2014. Biflavans, Flavonoids and A Dihydrochalcone From The Stem Wood of *Muntingia calabura* and Their Inhibitory Activities on Neutrophil Pro-Inflammatory Responses. *Molecules* 19:20521-20535.

Lakhanpal P, Rai DK. 2007. Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal Of Medical Update* 2(2):22-37.

Mohammed MT, Kadhim SM, Jassimand AMN, Abbas SI. 2015. Free Radicals and Human Health. *International Journal of Innovation Sciences and Research* 4(6):218-223.

Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. 2012. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review Of Current Trends. *Oman Medical Journal*.27(4):269-273.

Pinent M *et al.* 2008. Bioactivity of Flavonoids on Insulin-Secreting cells. *Comprehensive Review In Food Science and Food Safety* 7:299-308.

Sridhar M, Thirupathi K, Chaitanya G, Kumar BR, Mohan BK. 2011. Antidiabetic effect of leaves of *Muntingia calabura* L., in normal and alloxan-induced rats. *Pharmacology online* 2: 626-632.

Yadav DB, Aruna SM, Chandrashekar A. 2013. Antioxidant and *in vivo* anti-hyperglycemic activity off *Muntingia calabura* leaves extract. *Der Pharmacia Lettre* 5(3):427-435.

Yoon SO. 2015. Plant-Derived Compounds Targeting Pancreatic Beta Cells for the Treatment of Diabetes. *Hindawi*: 1-12.

Zakaria ZA *et al.* 2014. *Muntingia calabura*: A review of its traditional uses, chemical properties and pharmacological observations. *Pharmaceutical Biology*.

Zakaria ZA *et al.* 2016. Mechanism(s) of action underlying the gastroprotective effect of ethyl acetate fraction obtained form crude methanolic leaves extract of *Muntingia calabura*. *BMC Complementary and alternative medicine* 2016 16:78.