 DOI : 10.35311/jmpi.v10i1.518

Evaluasi Morfologi Organ Pankreas Tikus Wistar Model Diabetes Melitus oleh Ekstrak Purifikasi Daun Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin) Sebagai Antidiabetes

Muhammad Ilyas Y^{1,2*}, Bambang¹, Apriyanto¹, Adriatman Rasak¹, Asriullah Jabbar², Nasrudin², Wahyuni², Fadhliah Malik², Halik², Sri Susanty³, Mubarak³, Zulkifli Halid⁴

¹Politeknik Bina Husada Kendari

²Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Halu Oleo Kendari

³Program Studi Keperawatan, Fakultas Kedokteran, Universitas Halu Oleo Kendari

⁴Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Makassar

Sitasi: Ilyas Y, M., Bambang, B., Apriyanto, A., Rasak, A., Jabbar, A., Nasrudin, N., Wahyuni, W., Malik, F., Halik, H., Susanty, S., Mubarak, M., & Halid, Z. (2024). Evaluasi Morfologi Organ Pankreas Tikus Wistar Model Diabetes Melitus oleh Ekstrak Purifikasi Daun Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin) Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 10(1), 280–289. <https://doi.org/10.35311/jmpi.v10i1.518>

Submitted: 17 April 2024

Accepted: 31 Mei 2024

Published: 30 Juni 2024

*Penulis Korespondensi:

Muhammad Ilyas Y

Email:

ilyasyusufmuhammad.apt@gmail.com



Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License

ABSTRAK

Diabetes mellitus (DM) merupakan kelainan sistem endokrin ditandai dengan kadar glukosa darah melebihi normal akibat kekurangan hormon insulin yang disekresi sel beta pankreas yang mengalami kerusakan, sehingga perbaikan sel beta pankreas menjadi alternatif penting dalam terapi penderita DM. Tumbuhan galing (*Cayratia trifolia* L. Domin) dilaporkan terbukti menurunkan kadar glukosa darah pada hewan coba DM tipe 2, sehingga berpotensi dalam memperbaiki fungsi dan regenerasi sel beta pancreas pada penderita DM. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi perbaikan morfologi organ pankreas tikus putih jantan galur wistar DM setelah diberi ekstrak purifikasi daun galing. Jenis penelitian ini adalah eksperimen dengan rancangan *post test with control group design*, sebanyak 20 ekor tikus wistar jantan dibagi dalam kelompok kontrol normal (non DM), kontrol negatif (DM+Na.CMC), kontrol positif (DM+glibenklamid 0,09 mg/gBB) dan perlakuan sampel (DM+ekstrak purifikasi daun galing 0,4 mg/g BB). Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak terpurifikasi daun galing dosis 0,4 mg/g BB terbukti memiliki efek perbaikan morfologi dan regenerasi sel endokrin pulau langerhans organ pankreas tikus wistar yang mengalami DM, sehingga dapat disimpulkan bahwa tumbuhan galing berpotensi untuk dikembangkan sebagai antidiabetes oral untuk alternatif penanganan penyakit DM tipe 2.

Kata Kunci: Ekstrak Purifikasi, Daun Galing, Histotologi Pankreas, Antidiabetes

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is an endocrine system disorder characterized by blood glucose levels exceeding normal due to a lack of insulin hormone secreted by damaged pancreatic beta cells, so pancreatic beta cell repair is an important alternative in the therapy of DM patients. The galing plant (*Cayratia trifolia* L. Domin) is reportedly proven to reduce blood glucose levels in type 2 DM experimental animals, so it has the potential to improve the function and regeneration of pancreatic beta cells in DM patients. This study aims to evaluate the improvement of pancreatic organ morphology of DM Wistar male white rats after being given a purified extract of galing leaves. This type of research is an experiment with a post-test with a control group design, as many as 20 male Wistar rats were divided into normal control groups (non-DM), negative control (DM + Na. CMC), positive control (DM + glibenclamide 0,09 mg/g BW) and treatment samples (DM + purified extracts of galing leaves 0,4 mg/g BW). The results showed that the administration of purified extracts of galing leaves at a dose of 0,4 mg/g BW was proven to affect morphological improvement and regeneration of endocrine cells of the islets of Langerhans pancreas organs of Wistar rats experiencing DM, so it can be concluded that galing plants have the potential to be developed as an oral antidiabetic for alternative management of type 2 DM disease.

Keywords: Purified Extract, Galing Leaf, Pancreatic Histotology, Antidiabetes

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit pada sistem ekskresi yang ditandai dengan kadar glukosa darah melebihi normal karena kekurangan hormon insulin dimana kelebihan glukosa darah akan dikeluarkan bersama urin (Yusuf et al., 2018). Menurut *World Health Organization* (WHO) prevalensi diabetes melitus di Indonesia pada tahun 2015, menempati peringkat ketujuh di dunia untuk prevalensi penderita diabetes tertinggi bersama dengan China, India, Amerika Serikat, Brazil, Rusia, dan Meksiko dengan jumlah estimasi orang dengan diabetes sebesar 10 juta (WHO, 2016).

Penatalaksanaan diabetes melitus dikenal empat pilar penting dalam mengontrol perjalanan penyakit dan komplikasi. Empat pilar tersebut adalah edukasi, terapi nutrisi, aktifitas fisik dan farmakologis dengan obat hiperglikemik oral dan/atau suntikan (Perkeni, 2015). DM disebabkan karena berkurangnya produksi insulin atau terjadinya gangguan fungsi insulin dalam tubuh. Kekurangan insulin disebabkan karena kerusakan sel-sel beta pulau langerhans dalam kelenjar pankreas yang berfungsi menghasilkan insulin. Oleh karena itu diperlukan alternatif upaya pengobatan dalam memperbaiki fungsi dari sel beta pankreas (A. Fristiohady et al., 2021).

Salah satu upaya dalam memperbaiki fungsi sel beta pankreas yaitu dengan penggunaan tanaman herbal yang mengandung senyawa flavonoid, diketahui senyawa tersebut merupakan senyawa antioksidan kuat berefek meregenerasi sel beta pankreas dan memiliki efek hipoglikemik pada penderita DM (Adjie, 2015). Kandungan flavonoid inilah yang diduga memiliki aktivitas antidiabetes dengan meregenerasi kerusakan sel beta pankreas dan merangsang sel beta pankreas untuk memproduksi insulin (Batra & Nagori, 2013). Salah satu tumbuhan yang berpotensi dalam memperbaiki fungsi sel beta pankreas adalah tumbuhan galing (*Cayratia trifolia* L. Domin) (Yusuf et al., 2018).

Penelitian sebelumnya melaporkan seluruh bagian tumbuhan galing (*Cayratia trifolia*) telah dilaporkan mengandung minyak

lilin kuning, steroid, terpenoid, flavonoid dan tannin. Daunnya mengandung stilbenes, piceid, viniferin dan ampelopsin. Batang, daun dan akar dilaporkan memiliki asam hidrosianat dan delphinidin. Beberapa flavonoid seperti cyanidine dilaporkan dalam daun galing (Jabbar et al., 2022; Yusuf et al., 2018; Perumal et al., 2012). Penelitian yang dilakukan oleh Yusuf (2018) menjelaskan daun tumbuhan galing mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, tannin.

Berdasarkan studi yang dilakukan oleh Batra (2013) terhadap akar tumbuhan galing dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah tikus model diabetik (Batra et al., 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Ilyas (2016) diketahui bahwa kandungan flavonoid dan saponin dalam ekstrak daun galing dosis 400 mg/kg BB efektif menurunkan kadar glukosa darah mencit DM. Dalam penelitian yang dilakukan oleh Yusuf et al. (2018) menunjukkan ekstrak etanol daun galing berpotensi sebagai antidiabetik pada mencit yang diinduksi Streptozotocin dengan dosis efektif 400 mg/kg BB dan memiliki aktivitas anti oksidan yang kuat (Ilyas Y., 2016; Yusuf et al., 2018).

Peningkatan aktivitas kandungan senyawa aktif dapat dilakukan dengan cara purifikasi untuk mendapatkan efek farmakologi yang optimal. Ekstrak terpurifikasi merupakan ekstrak yang telah dipisahkan dari komponen zat ballast yang dapat mengganggu zat aktif dalam bahan alam dalam menghasilkan aktivitas biologi, sehingga penggunaan ekstrak purifikasi diharapkan lebih baik aktivitas farmakologi yang diperoleh (Widyaningtiyas, 2014; Rissa Laila Vifta et al., 2019).

Informasi ilmiah dari ekstrak purifikasi daun galing belum diketahui terhadap efek perbaikan organ pankreas pada diabetes mellitus, sehingga penelitian ini dapat mengungkap peran ekstrak purifikasi daun galing terhadap perbaikan morfologi organ pankreas pada tikus DM, dan dapat dikembangkan sebagai alternatif obat antidiabetes yang potensial.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah lemari freezer -20°C (GEA AB®), mesin blocking (Leica®), mesin mikrotom (Leica®), mesin processor otomatis (Antiteck®), mesin vacuum/ konsol cryo embedding tisu ES500 (Cryo®), mikroskop (Olympus®), oven (Memmert®), sentrifus (Oregon®), rak pewarnaan, *water bath* (Thermo®).

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun galing, alkohol 70%, 80%, 90%, 96%, akuades, kaca objek, kaca penutup, microtube, pisau mikrotom, pisau scalpel, talenan, dapar formalin 10%, etanol 96% (teknis), kaset tissue, kloroform, NaCl 0,9%, parafin, pewarna Hematoxilin-Eosin, xylol dan hewan uji tikus putih jantan galur wistar.

Preparasi Sampel

Sampel daun galing diambil di Desa Penanggootu, Kecamatan Lambandia, Kabupaten Kolaka Timur, selanjutnya disortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir lalu diangin-anginkan. Daun selanjutnya dirajang menjadi bagian-bagian yang kecil kemudian dikeringkan dan disortasi kering kemudian sampel daun diserbukkan dan siap diekstraksi.

Ekstraksi

Serbuk simplisia daun galing 2 kg diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 x 24 jam sambil diaduk setiap 1x24 jam, lalu disaring untuk memisahkan residu dan filtratnya. Remaserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dengan pelarut yang sama, kemudian filtrat dikumpulkan dan dipisahkan dengan vacuum rotary evaporator pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak kental (Parawansah, 2015; M. Ilyas, 2019; Malik, 2023).

Pembuatan Ekstrak Terpurifikasi

Ekstrak etanol kental daun galing ditimbang sebanyak 100 gram kemudian dilarutkan dengan 50 mL etanol 96% dan dimasukkan ke dalam corong pisah, ditambahkan 100 mL N-heksan setelah itu

digojog selama 10 menit dan didiamkan selama 15 menit, diambil fase bawah dan dimasukkan kembali ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan 100 mL N-heksan dan fase atas ditampung diwadah. Dilakukan pengulangan hingga fase atas berwarna bening kemudian diuapkan dalam *water bath* hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 50 gram (Yusuf et al., 2018; (Jabbar et al., 2022; Yusuf, 2017).

Pemodelan Hewan Uji DM

Sebanyak 15 ekor tikus jantan wistar diambil darahnya melalui vena ekor, kemudian diukur kadar glukosa darah awal pada masing-masing tikus dengan menggunakan fotometer 5010 V5+. Masing-masing tikus diberi larutan STZ 150 mg/kgBB sebanyak 0,2 mL melalui intra peritoneal dan dibiarkan selama 18-48 jam, lalu diberikan larutan sukrosa selama 24 jam, setelah 18 jam diukur kadar glukosa darah setelah diinduksi dengan STZ (Qinna & Badwan, 2015; (Yusuf et al., 2018; A. Fristiohady et al., 2021).

Perlakuan Hewan Uji

Tiap kelompok tikus diberi sediaan sesuai kelompok perlakuan melalui oral dengan menggunakan sonde oral sesuai volume pemberian 1 kali sehari selama 7 hari sebagai berikut:

- Kelompok I (kontrol normal) : tanpa perlakuan (hanya diberi pakan satandar+ tidak DM)
- Kelompok II (kontrol negatif) : DM + diberikan suspensi Na.CMC 0,5%
- Kelompok III (Kontrol positif) : DM + diberikan glibenklamid 0,09 mg/g BB
- Kelompok IV: DM + diberikan ekstrak terpurifikasi dosis 0,4 mg/g BB.

Tikus terlebih dahulu diautanasi dengan kloroform, selanjutnya dilakukan pengambilan organ pankreas dengan nekropsi yang dilakukan dengan menyayat kulit dan otot abdominal hingga rongga perut terbuka (Ilyas Y., 2016; Yusuf et al., 2018; A. Fristiohady et al., 2021).

Pemeriksaan Histologi

Organ pankreas dicuci dengan NaCl 0,9%, selanjutnya dilakukan pembuatan preparat histologi. Pembuatan preparat

histologi dilakukan dengan prosedur fiksasi jaringan dimana jaringan yang akan dibuat sediaan histopatologinya difiksasi dalam larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%. Tujuan jaringan direndam dalam larutan BNF yaitu untuk mengawetkan jaringan agar terhindar dari pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (otolisis) atau bakteri dan untuk melindungi struktur fisik sel.

Setelah jaringan organ terfiksasi sempurna, jaringan ditiriskan pada saringan selanjutnya dipotong menggunakan pisau scalpel dengan ketebalan 0,5 mm dan disusun kedalam tissue cassette untuk dimasukkan ke dalam *automatic tissue processor* untuk selanjutnya dilakukan proses dehidrasi (Yusuf et al., 2018; Jabbar, A., et al., 2019).

Proses dehidrasi dilakukan untuk menarik air dari jaringan dan mencegah terjadinya pengerutan sampel yang diuji. Sampel yang telah dimasukkan ke dalam tissue cassette kemudian direndam dengan alkohol konsentrasi bertingkat (70%, 80%, 90%, 95% dan absolute) masing-masing selama 2 jam dengan menggunakan mesin otomatis yaitu *automatic tissue processor*, selanjutnya jaringan dijernihkan (*clearing*) dengan menggunakan xylol I dan xylol II. Xylol berfungsi untuk melarutkan alkohol dan parafit.

Proses selanjutnya dilakukan perendaman (*embedding*) dan pencetakan (*blocking*). *Embedding* atau *blocking* adalah proses penanaman jaringan dalam blok paraffin. Jaringan selanjutnya dimasukkan ke dalam paraffin cair selama 2 jam. Selanjutnya jaringan diambil dengan pinset, dilanjutkan pemblokkan dengan menggunakan paraffin blok. Setelah dilakukan pemblokkan kemudian dilanjutkan dengan proses pemotongan (*sectioning*) jaringan.

Proses pemotongan jaringan dilakukan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 μ m. Sediaan diletakkan pada gelas objek dan dikembangkan diatas air dalam *waterbath* untuk selanjutnya dilakukan proses pewarnaan. Pewarnaan pada jaringan dilakukan dengan menggunakan-hematoxyllin-eosin.

Sebelum dilakukan pewarnaan, preparat histopatologi di deparafinisasi dengan

larutan xylol I dan xylol II selama 2 menit. Tujuannya deparafinisasi untuk menghilangkan atau melarutkan paraffin yang terdapat pada jaringan. Kemudian dilakukan proses rehidrasi dengan mencelupkan sediaan ke dalam alkohol bertingkat (alkohol absolut, alkohol 95% dan alkohol 80%) masing-masing selama 1 menit. Kemudian sediaan dicuci dengan aquadest selama 1 menit. Preparat kemudian dicelupkan ke dalam larutan Mayer's Hematoxyllin selama 8 menit. Pewarna Mayer's hematoxyllin akan memberikan warna biru pada inti sel. Kemudian preparat dicuci dengan akuades selama 30 detik.

Preparat selanjutnya direndam dalam larutan eosin selama 2 menit. Eosin akan memberikan warna merah muda pada butir-butir sekresi dan bagian sitoplasma yang banyak RNA, kemudian preparat dicuci dengan aquadest selama 30 detik. Selanjutnya preparat direndam dalam alkohol 70%, 80% dan alkohol 90% selama 2 menit dan dijernihkan dalam xylol I dan xylol II selama 2 menit. Preparat dikeringkan dan dilakukan mounting dengan menggunakan entelan kemudian sediaan ditetesi perekat permount dan ditutup dengan *cover glass* untuk selanjutnya dilakukan proses pengamatan jaringan pankreas.

Pengamatan preparat dilakukan dengan menggunakan mikroskop yang dihubungkan dengan komputer yang dilengkapi dengan piranti lunak khusus. Pengamatan dimulai dengan perbesaran lensa obyektif 100x untuk menentukan seluruh lapangan pandang dan untuk menentukan daerah yang akan diamati, yaitu daerah dominan sel asinar (Nuralifah et al., 2022; Beandrade et al., 2022).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengungkap efek tumbuhan galing dalam regenerasi kerusakan sel beta pankreas pada DM, yang selanjutnya dapat dikembangkan sebagai obat antidiabetik oral yang potensial dalam membantu terapi penderita DM. Tumbuhan galing menurut beberapa penelitian sebelumnya dilaporkan mengandung senyawa stilbenes, piceid, viniferin, ampelopsin, asam

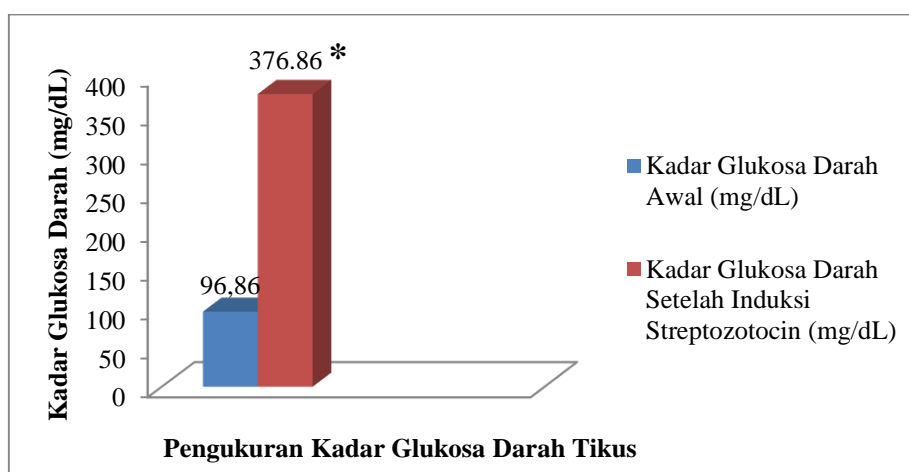
hidrosianat dan delphinidin, senyawa flavonoid cyanidine, alkaloid, tannin dan terbukti sebagai antioksidan kuat, antidiabetes dan antiinflamasi yang diduga kuat berperan dalam meregenerasi kerusakan sel beta pankreas pada DM (Batra et al., 2013; (Perumal et al., 2012; (Ilyas & Syaiful Saehu, 2021; Yusuf et al., 2018).

Sampel daun galing yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak purifikasi dengan menggunakan pelarut n-hexan dan diperoleh ekstrak kental terpurifikasi sebanyak 50gram dengan rendemen 18.9%. N-hexan memberikan hasil rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya, selain itu tujuan penggunaan pelarut n-hexan adalah untuk menghilangkan zat pengotor atau zat ballas yang terdapat pada ekstrak yang dapat mengurangi efek terapi dari ekstrak tersebut, sehingga meningkatkan efek farmakologi dari zat aktif (Widyaningtias, 2014; (Rissa Laila Vifta et al., 2019).

Selanjutnya dilakukan pengujian evaluasi morfologi perbaikan pankreas hewan coba tikus putih jantan yang dibuat model DM dengan menginduksi diabetagenik streptozotocin (STZ) setelah diberikan ekstrak purifikasi daun galling. Menurut Szkudelski

(2001) STZ merupakan agen diabetogenik yang cukup memadai untuk digunakan sebagai penginduksi diabetes pada hewan percobaan, dan menurut Qinna & Badwan (2015) STZ merupakan zat diabetogenik yang efektif dengan keberhasilan yang tinggi dalam menginduksi DM pada hewan percobaan di laboratorium.

Menurut Yusuf et al. (2018) pemberian STZ dosis 150 mg/kgBB memberikan pengaruh yang cepat terhadap peningkatan kadar glukosa darah dan merusak sel-sel penghasil insulin yaitu sel β -pulau langerhans. Setelah induksi STZ, diberikan larutan sukrosa selama 24 jam yang bertujuan untuk menghindari terjadinya hipoglikemik pada tikus selama 24 jam pertama. Tikus DM diperoleh 100% pada hari ketiga (72 jam) setelah induksi STZ dengan rata-rata kadar glukosa darah 376,86 mg/dL yang menunjukkan bahwa hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini sudah mengalami DM berdasarkan kadar glukosa darah acak setelah dilakukan pengukuran, dimana rata-rata kadar glukosa awal berbeda signifikan dengan kadar glukosa darah setelah induksi STZ seperti data yang ditunjukkan pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Diagram rata-rata kadar glukosa darah awal dan setelah induksi streptozotocin (* $p < 0.05$ =berbeda signifikan dengan kadar glukosa awal)

Selanjutnya dilakukan pengujian efek antidiabetes ekstrak purifikasi daun galing pada hewan tikus DM dengan perlakuan selama 7 hari pemberian ekstrak yang bertujuan untuk mengevaluasi adanya efek farmakologi

dari sampel terhadap perbaikan regenerasi sel beta pankreas dan penurunan kadar glukosa darah pada hewan uji.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata pengukuran kadar glukosa darah pada

kelompok tikus yang diberi sampel ekstrak purifikasi mengalami penurunan kadar glukosa darah yaitu 128,6 mg/dL, yang menunjukkan ada efek penurunan kadar glukosa darah pada tikus DM setelah diberi ekstrak terpurifikasi, karena adanya kandungan metabolit sekunder dari sampel seperti flavonoid, dimana mekanisme kerja dari flavonoid antara lain mengurangi penyerapan glukosa, dan mengatur aktivitas ekskresi enzim yang terlibat dalam metabolisme karbohidrat (Brahmachari, 2011) serta meregenerasi sel beta pankreas dan membantu merangsang sekresi insulin (Dheer, R., & Bhatnagar P., 2010). Pada kelompok tikus kontrol positif yang diberikan sediaan perbandingan obat glibekalmid juga mengalami penurunan kadar glukosa darah rata-rata 124,6 mg/dL, hal ini karena glibenklamid sebagai antidiabetik oral dengan mekanisme kerja merangsang sekresi insulin dari granula sel-sel β -langerhans, sedangkan pada kelompok tikus kontrol negatif yang diberi Na. CMC 0,5% tidak mengalami penurunan kadar glukosa darah melainkan mengalami kenaikan kadar glukosa darah dengan rata-rata yaitu 478,8 mg/dL, hal ini karena sistem pencernaan hewan uji tikus putih tidak memiliki enzim selulosa sehingga penggunaan Na.CMC tidak akan berpengaruh pada penurunan kadar glukosa darah (Hikmah et al., 2016; Yusuf et al., 2018)

Untuk mengetahui adanya efek sampel purifikasi daun galing terhadap perbaikan morfologi organ pankreas selanjutnya dilakukan pengamatan preparat histologi organ pankreas. Pembuatan preparat histologi pada organ pankreas dilakukan dengan prosedur fiksasi jaringan dimana jaringan yang akan dibuat sediaan histopatologinya difiksasi dalam larutan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) 10%. Tujuan jaringan direndam dalam larutan BNF yaitu untuk mengawetkan jaringan agar terhindar dari pencernaan jaringan oleh enzim-enzim (otolisis) atau bakteri dan untuk melindungi struktur fisik sel (Beandrade et al., 2022). Setelah jaringan organ terfiksasi sempurna, jaringan ditiriskan pada saringan selanjutnya dipotong menggunakan pisau *scalpel* dengan ketebalan 0,5 mm dan disusun kedalam *tissue cassette*

untuk dimasukan kedalam *automatic tissue processor* untuk selanjutnya dilakukan proses dehidrasi.

Proses pematangan jaringan dilakukan dengan menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 μ m. Sediaan kemudian diletakkan pada gelas objek dan dikembangkan diatas air dalam waterbath untuk selanjutnya dilakukan proses pewarnaan. Pewarnaan pada jaringan dilakukan dengan menggunakan hematoxyllin-eosin. Sebelum dilakukan pewarnaan, preparat histopatologi di deparafinisasi dengan larutan xylol I dan xylol II selama 2 menit. Tujuannya deparafinisasi untuk menghilangkan atau melarutkan paraffin yang terdapat pada jaringan. Kemudian dilakukan proses rehidrasi dengan mencelupkan sediaan ke dalam alkohol bertingkat (alkohol absolut, alkohol 95% dan alkohol 80%) masing-masing selama 1 menit. Kemudian sediaan dicuci dengan aquadest selama 1 menit. Preparat kemudian dicelupkan ke dalam larutan Mayer's hematoxyllin selama 8 menit. Pewarna Mayer's hematoxyllin memberikan warna biru pada inti, kemudian preparat dicuci dengan aquadest selama 30 detik. Preparat selanjutnya direndam dalam larutan Eosin selama 2 menit. Eosin akan memberikan warna merah muda pada butir-butir sekresi dan bagian sitoplasma yang banyak RNA (Alamudi et al., 2013).

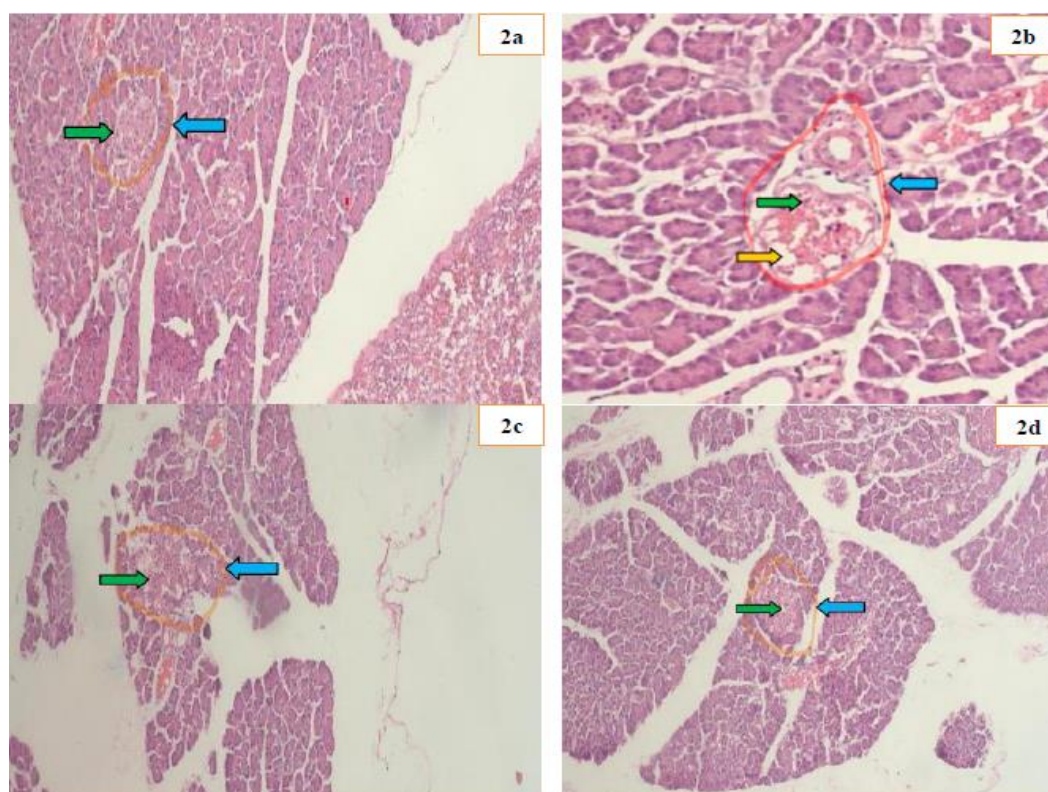
Pengamatan preparat dilakukan dengan menggunakan mikroskop yang dihubungkan dengan komputer yang dilengkapi dengan piranti lunak khusus. Pengamatan dimulai dengan perbesaran lensa obyektif 100x untuk menentukan seluruh lapangan pandang dan untuk menentukan daerah yang akan diamati, yaitu daerah dominan sel asinar (Beandrade et al., 2022).

Hasil pengamatan mikroskopik morfologi organ pankreas berdasarkan (gambar 2a) penampakan pulau langerhans kelompok normal dapat dilihat adanya keteraturan susunan sel endokrin yang menyebar di pulau langerhans dengan bentuk sel-sel yang seragam serta sel-sel endokrinnya dalam keadaan rapat dan utuh serta tidak mengalami nekrosis dan degenerasi sel. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Goni (2017)

dimana organ pankreas yang dikatakan normal apabila dalam pulau langerhans tidak terjadi nekrosis dan degenerasi dimana dapat dilihat pada inti selnya yang berwarna ungu serta tidak mengalami edema (pembengkakan) (Goni & Ticoalu, 2017).

Pada kelompok kontrol negatif (gambar 2b) tidak terjadi perbaikan sel pada pulau langerhans dan sel endokrin masih mengalami nekrosis yang ditandai dengan adanya ruang kosong pada pulau langerhans dan sel endokrin yang mengalami degenerasi serta susunan sel-sel endokrinnya yang tidak rapat. Jika dibandingkan dengan kelompok normal tidak terjadi perubahan yang signifikan dimana dapat dilihat pada inti selnya yang tidak

berwarna ungu. Hal ini dikarenakan hewan uji diberikan sukrosa berlebih tetapi tidak diberikan terapi dan hanya diberikan Na.CMC 0,5% sehingga terjadi resistensi insulin yang ditandai dengan berkurangnya sel endokrin dan secara morfologi terjadi kerusakan berupa nekrosis dan degenerasi pada pulau Langerhans. Hal ini sejalan dengan beberapa penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa kerusakan organ pankreas ditandai dengan berkurangnya sel endokrin dan adanya kerusakan berupa nekrosis dan degenerasi pada pulau Langerhans (Ningrum et al., 2020; Nuralifah et al., 2022; Goni & Ticoalu, 2017).



Gambar 2. Hasil pengamatan morfologi pulau langerhans organ pankreas tikus pewarnaan HE, 100x. Kelompok normal (2a), kelompok negatif (2b), kelompok positif (2c), kelompok ekstrak dosis 0.4 mg/gBB (2d) → = Pulau langerhans. → = Sel endokrin. → = Sel nekrosis

Pada kelompok kontrol positif (gambar 2c) masih menunjukkan adanya nekrosis sel yang ditandai dengan adanya ruang kosong di dalam pulau langerhans, meskipun sel-sel didalamnya sudah utuh. Pemberian glibenklamid sebagai obat antidiabetes oral tidak menunjukkan perubahan perbaikan morfologi pankreas. Hal ini dikarenakan

glibenklamid hanya untuk memperbaiki dan mengoptimalkan fungsi organ pankreas dalam memproduksi insulin dan tidak memperbaiki kerusakan morfologi pulau langerhans yang mengandung sel-sel beta pankreas. Obat hipoglikemik oral kemungkinan efektif hanya untuk kontrol glikemik terutama pada tahap awal diabetes,

namun menjadi tidak sepenuhnya efektif dalam pencegahan kerusakan organ pankreas yang diakibatkan oleh senyawa ROS (*Reactive Oxygen Species*) sebagai pemicu awal kerusakan sel-sel beta pankreas (Hikmah et al., 2016 ; Liem et al., 2015; Ningrum et al., 2020).

Hasil pengamatan mikroskopik morfologi organ pankreas pada kelompok tikus yang diberi ekstrak purifikasi dosis 0,4 mg/gBB (gambar 2d) terjadi perbaikan sel endokrin pada pulau langerhans yang mengalami perbaikan dengan bentuk selnya yang mulai utuh diduga karena adanya senyawa bioaktif yaitu flavonoid (Batra et al., 2013; (Perumal et al., 2012; Ilyas & Syaiful Saehu, 2021). Senyawa bioaktif tersebut dapat bertindak sebagai antioksidan (Yusuf et al., 2018). Aktivitas antioksidan yang dimiliki dalam ekstrak purifikasi daun galing ini mampu memperbaiki sel beta pankreas yang rusak dengan cara meregenerasi sel beta pankreas serta membantu merangsang sekresi insulin (Brahmachari, 2011; Batra, & Nagori, 2013). Antioksidan bertindak dalam proses perbaikan sel yang rusak yang diakibatkan oleh adanya radikal bebas. Adanya antioksidan berfungsi sebagai agen menurunkan oksidator dalam mencegah kerusakan sel dapat dikurangi, serta meningkatkan regenerasi sel yang mengalami kerusakan, seperti pada sel imun dalam mencegah penderita DM mengalami komplikasi penyakit infeksi maupun non infeksi (Sudiana et al., 2019 ; (Jabbar et al., 2022 ; Yusuf et al., 2017; Ilyas et al. 2022; Diantini et al., 2021; M. Y. Ilyas et al., 2023)

KESIMPULAN

Ekstrak purifikasi daun galing (*Cayratia trifolia* L. Domin) dosis 0,4 mg/g BB berpotensi sebagai antidiabetes berdasarkan perbaikan morfologi dan regenerasi sel endokrin pada pulau langerhans organ pankreas tikus wistar model diabetes melitus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Laboratorium Farmasi Fakultas Farmasi dan Laboratorium Biomedik Fakultas

Kedokteran Universitas Halu Oleo, serta Laboratorium Farmakologi Politeknik Bina Husada Kendari.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamudi, B., B., M. M. S., & Taufikurohmah, T. (2013). Pengaruh Infiltrasi Nano Gold Terhadap Kualitas Jaringan Dan Kuantitas Merkuri Pada Otak Mencit (*Mus musculus*) Setelah Terpapar Merkuri The Influence Of Nanogold Infiltration For Tissue Quality And Mercury Quantity In The Mice (*Mus musculus*) Brain Aft. *JUNESA Journal of Chemistry*, 2(3), 25–31.
- Adjie, R.B., (2015). White Dragon Fruith (*Hylocereus undatus*) Potential As Diabetes Melitus Treatment, *International Journal Of Biomedical and Pharmaceutical*, Vol. 4, No. 1.
- Batra, S., Batra, N., & Nagori, B. P. (2013). Preliminary phytochemical studies and evaluation of antidiabetic activity of roots of *cayratia trifolia* (L.) domin in alloxan induced diabetic albino rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(3), 97–100. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2013.30319>
- Brahmachari, G. (2011). Bio-flavonoids with promising antidiabetic potentials: A critical survey. *Research signpost*, 661(2), 187-212.
- Beandrade, M. U., Amelia, R., & ... (2022). Gambaran Histologi Pankreas Tikus dengan Diabetes Melitus Tipe 2 yang Diberikan Tablet Kedelai Detam II. *Jurnal Kedokteran Dan ...*, 240–248. <https://jurnal.umj.ac.id/index.php/JKK/article/view/11046%0Ahttps://jurnal.umj.ac.id/index.php/JKK/article/viewFile/11046/7313>
- Brahmachari, G. (2011). Bio-flavonoids with promising anti- diabetic potentials: A critical survey. *Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry - Research Signpost*, 661(2), 187–212.

- Dheer, R., & Bhatnagar, P. (2010). A study of the antidiabetic activity of *Barleria prionitis* Linn. *Indian journal of pharmacology*, 42(2), 70–73. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.64493>.
- Diantini, A., Halimah, E., Amalia, R., Ghozali, M., Julaeha, E., & Sahidin, I. (2021). Potential Immunomodulator Fraction Fruit Of *Etlingera rubroloba* AD Poulsen Against Macrophage Phagocytosis And Interleukin-12 Levels In BCG Stimulated Balb/C Mice. *International Journal of Pharmaceutical Research (09752366)*, 13(1).
- Fristiohady, A., Leorita, M., & Malik, F. (2021). Pancreatic histological profile on the efficacy of extract of *Etlingera calophrys* (K. schum) AD poulsen stem against streptozotocin-induced diabetes in diabetic model rats. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(2), 9209-9217.
- Goni, L. R., Wongkar, D., & Ticoalu, S. H. R. (2017). Gambaran makroskopik dan mikroskopik pankreas pada hewan coba postmortem. *Jurnal E-Biomedik (eBm)*, 5(1), 1–6.
- Hikmah, N., Yuliet, Y., & Khaerati, K. (2016). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) Terhadap Glibenklamid Dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 2(1), 24–30. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2016.v2.i1.5300>
- Ilyas, Y. S., & Karmilah, U. E. A. E. E. (2016). Uji Efek Antidiabetik Ekstrak Etanol Daun Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin) Pada Mencit Jantan (*Mus musculus*). *Warta Farmasi*, 5(1), 135-142.
- Ilyas, M. Y., & Syaiful Saehu, M. (2021). Jurnal Farmasi Sains dan Praktis Efek Antiinflamasi Fraksi Dari Ekstrak Etanol Batang Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin) Secara In Vitro Antiinflammatory Effects Of Fraction From Galing Stem Ethanol Extract (*Cayratia trifolia* L. Domin) IN VITRO. *Jfsp*, 7(3), 2579–4558. <http://journal.ummg.ac.id/index.php/pharmacology>
- Jabbar, A., Yusuf, M. I., Ramadhan, M. I., Farmasi, F., Halu, U., Hijau, K., Tridharma, B., Bina, P., Kendari, H., Sorumba, J., Kendari, N., Farmasi, I., Bahteramas, R., Kaptan, J., & Tendean, P. (2022). Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Etanol Batang Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin) pada Mencit Balb / CP Hyperpurisemic Activity of Ethanol Extract of (*Cayratia trifolia* L. Domin) in Balb / C Mice. 8(2), 17–20. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v8i2.3>
- Liem, S., Yuliet, Y., & Khumaidi, A. (2015). Uji Aktivitas Antidiabetes Kombinasi Glibenklamid Dan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* Wight.) Terhadap Mencit (*Mus musculus*) Yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e-Journal)*, 1(1), 42–47. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2015.v1.i1.4831>
- Ningrum, E. W. C., Isdadiyanto, S., & Mardiaty, S. M. (2020). Histopatologi Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Diberi Pakan Tinggi Lemak dan Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss). *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 5(2), 129–137. <https://doi.org/10.14710/baf.5.2.2020.129-137>
- Perumal, P. C., Sophia, D., Raj, C. A., Ragavendran, P., Starlin, T., & Gopalakrishnan, V. K. (2012). In vitro antioxidant activities and HPTLC analysis of ethanolic extract of *Cayratia trifolia* (L.). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(SUPPL2), S952–S956. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60299-0](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60299-0)
- Qinna, N. A., & Badwan, A. A. (2015). Impact of streptozotocin on altering normal glucose homeostasis during insulin testing in diabetic rats compared to normoglycemic

- rats. *Drug Design, Development and Therapy*, 9, 2515–2525. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S79885>
- Rissa Laila Vifta, Istianatus Sunnah, Nurul Chanifah, & Yustisia Dian Advistasari. (2019). Purifikasi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* Blume) Dan Uji Bioaktivitasnya Sebagai Alternatif Pengobatan Diabetes Mellitus. *Media Informasi Penelitian Kabupaten Semarang*, 2(2), 185–199. <https://doi.org/10.55606/sinov.v2i2.92>
- Saehu, M. S., Ertin, E., Irma, I., & Nurhikma, N. (2021). Antiinflammatory Effects Of Fraction From Galing Stem Ethanol Extract (*Cayratia trifolia* L. Domin) In Vitro. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 7(3), 289-297.
- Sudiana, I. K., Sandika, W., Fauziah, D., Santoso, D., Suprabawati, D. G. A., Yusuf, M. I., & Efendi, F. (2019). Effect of cayratia trifolia ethanol extract on Bcl-2 expression and apoptotic cells in dmba-induced breast cancer of sprague dawley rats. *Journal of Global Pharma Technology*, 11(9), 405–413.
- Szkudelski T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, 50(6), 537–546.
- Yusuf, M. I., Wahyuni, Susanty, S., Ruslan, & Fawwaz, M. (2018). Antioxidant and antidiabetic potential of galing stem extract (*cayratia trifolia* domin). *Pharmacognosy Journal*, 10(4), 686–689. <http://ps://doi.org/10.5530/pj.2018.4.113>
- Vifta, R. L., Sunnah, S., Chanifah, N., & Advistasari, Y. D. (2019). Purifikasi Buah Parijoto (*Medinilla Speciosa* Blume) Dan Uji Bioaktivitasnya Sebagai Alternatif Pengobatan Diabetes Mellitus. *SINOV*, 2(2), 185–199. [ps://doi.org/10.5530/pj.2018.4.113](https://doi.org/10.5530/pj.2018.4.113)
- World Health Organization (WHO). (2016). *Global Report On Diabetes 2016*. Switzerland.
- Wahyu, E., Ningrum, C., Isdadiyanto, S., & Mardiaty, S. M. (2020). Histopatologi Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Diberi Pakan Tinggi Lemak dan Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss). *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*, 5(2), 129–137.
- Widyaningtyas, N. M. S. R., Ustiantara, P. S., & Paramita, N. L. P. . (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Terpurifikasi Daun sirih hijau (*Piper betle* L.) Terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Jurnal Farmasi Udayana*, 3(1), 50–53.
- Yusuf, M. I., Wahyuni, Susanty, S., Ruslan, & Fawwaz, M. (2018). Antioxidant and antidiabetic potential of galing stem extract (*Cayratia trifolia* Domin). *Pharmacognosy Journal*, 10(4). <https://doi.org/10.5530/pj.2018.4.113>.
- Yusuf, M. I. (2019). Peningkatan imunitas non spesifik (innate immunity) mencit balb/c yang diberi ekstrak etanol daun tumbuhan galing (*Cayratia trifolia* L. Domin) enhancement of non specific immunity (innate immunity) mice balb/c given ethanol extract of galing plant (*Cayratia trifolia* L. Domin). *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 3(2), 83-92.
- Yusuf, M. I., Marcellinda, A., & Saehu, M. S. (2017). Efek Ekstrak Etanol Daun Galing (*Cayratia trifolia* L. Domin) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Total Darah Pada Mencit Hiperlipidemia. *Warta Farmasi*, 6(2), 1-9.