

UJI EFEK EKSTRAK AIR DAUN PANDAN WANGI TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH DAN HISTOPATOLOGI TIKUS DIABETES MELLITUS

The Effect of Water Extract of Pandan Wangi Leaf to Decrease Blood Glucose Levels and Pancreas Histopathology at Diabetes Mellitus Rats

Okky Meidiana Prameswari^{1*}, Simon Bambang Widjanarko¹

1) Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, FTP Universitas Brawijaya Malang
Jl. Veteran, Malang 65145

*Penulis Korespondensi, Email: okkymeidianap@yahoo.com

ABSTRAK

Diabetes mellitus merupakan penyakit yang ditandai dengan hiperglikemia serta terjadi perubahan progresif terhadap struktur sel beta pankreas. Pandan wangi merupakan tanaman tropis yang berkhasiat sebagai antidiabetes. Tujuan dari penelitian adalah membandingkan efektivitas antidiabet ekstrak air daun pandan wangi (EADPW) dengan metformin dan mengetahui senyawa bioaktif yang berperan sebagai antidiabet dalam EADPW. Penelitian disusun dengan *Post Test Only Control Group Design* menggunakan hewan coba tikus jantan selama empat minggu. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal, diabetes, diabetes + metformin, diabetes + EADPW 300 mg/kg bb, dan diabetes + EADPW 600 mg/kg bb. Penelitian menunjukkan EADPW mengandung senyawa bioaktif tanin, alkaloid, flavonoid dan polifenol dengan aktivitas antioksidan 66.82%. Berdasarkan uji *in vivo* didapatkan terapi diabetes dengan obat metformin lebih efektif menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan EADPW, namun tidak lebih baik dalam memperbaiki kerusakan jaringan pankreas akibat senyawa diabetogenik aloksan.

Kata kunci: Daun Pandan Wangi, Diabetes Mellitus, Histopatologi Pankreas, Metformin, Penurunan Kadar Glukosa Darah

ABSTRACT

Diabetes mellitus is diseases characterized by hyperglycemia and progressive change to the beta cell histopathology structure of pancreas. Pandan wangi is a tropical plant that efficacious as antidiabetic. The aims of study were comparing the effectiveness of antidiabetic extract of pandan wangi leaf water (EADPW) scented with metformin and to understand bioactive compounds that act as antidiabetic in EADPW. The research was drafted by post test only control group design using male rats for four weeks. In the research used complete random design with 5 treatment groups that is normal group, diabetes, diabetes + metfromin, diabetes + EADPW 300 mg/kg bw, and diabetes + EADPW 600 mg/kg bw. Research show EADPW contained bioactive compounds such as tannins, alkaloids, flavonoids and polyphenols with antioxidant activity of 66.82%. Based on in vivo bioassay showed that metformin was more effective lowering blood glucose levels than EADPW but not better in improving pancreatic tissue damage caused by alloxan diabetogenic compounds.

Keywords: Blood Glucose, Diabetes Mellitus, Metformin, Pancreatic Histopathology, Pandan Wangi Leaves

PENDAHULUAN

Perubahan gaya hidup dan sosial ekonomi akibat urbanisasi dan modernisasi terutama masyarakat di kota-kota besar di Indonesia menjadi penyebab meningkatnya prevalensi penyakit degeneratif dan disinyalir menjadi penyebab utama kematian di Indonesia. Salah satu yang harus diwaspadai adalah diabetes mellitus [1]. Diabetes mellitus merupakan kelompok penyakit metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia akibat cacat pada sekresi insulin, aksi insulin atau keduanya serta terjadi perubahan progresif terhadap struktur sel beta pankreas [2]. Prevalensi penyakit diabetes mellitus diperkirakan meningkat dua kali lipat pada tahun 2030 dibandingkan tahun 2007 [3]. Selama ini pengobatan yang telah dilakukan untuk penderita diabetes adalah suntikan insulin dan pemberian obat oral antidiabetes yang memiliki efek samping seperti sakit kepala, pusing, mual, dan anoreksia serta membutuhkan biaya yang mahal sehingga banyak penderita yang berusaha mengendalikan kadar glukosa darahnya dengan cara tradisional menggunakan bahan alam seperti tanaman herbal [4].

Salah satu tanaman yang banyak terdapat di pulau Jawa dan belum banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal antidiabetes adalah pandan wangi. Pandan wangi merupakan tanaman tropis yang banyak terdapat di dunia terutama wilayah Asia Pasifik. Di Indonesia sendiri, pandan wangi banyak terdapat di pulau Jawa [5]. Daun pandan wangi berkhasiat sebagai obat untuk anemia, bau badan, diabetes, gonorea, sapremia, dan sifilis [6]. Pada pengobatan beberapa penyakit, daun pandan wangi umumnya diseduh dengan air panas dan diminum secara rutin [7].

Penelitian menunjukkan ekstrak etil asetat daun pandan wangi mengandung senyawa terpenoid dan steroid yang berpotensi sebagai antidiabetes secara *in vitro* dengan daya hambat sebesar 0.79% pada konsentrasi 3.12 ppm [8]. Berdasarkan penelitian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai kandungan senyawa bioaktif ekstrak air daun pandan wangi serta efeknya terhadap penurunan kadar glukosa darah dan perubahan histopatologi pankreas secara *in vivo*. Air dipilih sebagai pelarut ekstraksi dalam penelitian ini karena murah, mudah diperoleh dan umum digunakan dalam penyajian.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi dan skrining fitokimia ekstrak antara lain daun pandan wangi yang diperoleh dari petani di daerah Karangploso Malang dan bahan kimia seperti akuades, larutan NaCl, FeCl₃, serbuk Mg, HCl, NH₄OH, kloroform, H₂SO₄ 2M, pereaksi Meyer, pereaksi Dragendorf, dan pereaksi Wagner yang diperoleh dari CV. Makmur Sejati Malang. Untuk analisis aktivitas antioksidan digunakan DPPH 0.2 M yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia dan Analisis Pangan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Bahan dalam uji *in vivo* terdiri dari Tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan umur 2-3 bulan dengan berat ± 200 g yang diperoleh dari Peternak tikus di Wagir Kabupaten Malang, pakan comfeed PARS produksi PT. JAPFA Comfeed Indonesia Tbk., air minum tikus, aloksan (*alloxan monohydrate*) merk sigma, *glucose kit* merk sigma, kloroform yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia dan Analisis Pangan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Haemoktosilin Eosin (HE), parafin dan *Buffer Neutral Formalin* (BNF) diperoleh dari Laboratorium Biomedik Universitas Brawijaya.

Alat

Alat yang digunakan pada proses ekstraksi dan pembuatan bubuk ekstrak serta pengujian ekstrak antara lain *glassware* yang terdiri dari gelas ukur 100 mL merk pyrex, beaker glass 500 mL merk pyrex, Erlenmeyer 250 mL merk pyrex, corong kaca, tabung reaksi 20 mL merk pyrex, pipet ukur 1 mL, 5 mL, 10 mL merk pyrex dan spatula kaca, pisau, pengering kabinet, loyang, blender kering merk Electrolux, *seccer* merk Heidolp Unimax

2010, kain saring, kertas saring, *rotary evaporator vakum* merk IKA, spektrofotometer merk 20 D PLUS dan timbangan analitik merk Denver Instrument.

Alat yang digunakan untuk *in vivo* antara lain tabung reaksi 5 mL merk pyrex, *microhematocryte* merk BRAND, *microtube*, pipet mikro, jarum suntik (*syringe*) merk One med, jarum sonde (*force feeding needle*), kandang tikus, botol minum tikus, tempat makan tikus, timbangan merk CAMRY EK3650, toples plastik ukuran besar dan kecil, jarum, pinset, gunting, sarung tangan, silet, dan mikroskop merk micros AUSTRIA.

Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah *True Experimental Design: Post Test Only Control Group Design* sedangkan pemilihan objek penelitian untuk pengelompokan dan pemberian perlakuan menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 5 kelompok perlakuan, antara lain:

Kelompok K1 = tikus dengan pemberian pakan standar *comfeed* PARS

Kelompok K2 = tikus dengan pemberian pakan standar *comfeed* PARS + Aloksan 125 mg/kg bb untuk mengkondisikan tikus menderita diabetes

Kelompok K3 = tikus dengan pemberian pakan standar *comfeed* PARS + Aloksan 125 mg/kg bb + Metformin 50 mg/kg bb

Kelompok K4 = tikus dengan pemberian pakan standar *comfeed* PARS + Aloksan 125 mg/kg bb + Ekstrak air daun pandan wangi 300 mg/kg bb

Kelompok K5 = tikus dengan pemberian pakan standar *comfeed* PARS + Aloksan 125 mg/kg bb + Ekstrak air daun pandan wangi 600 mg/kg bb

Data hasil pengujian dianalisis melalui ANOVA dan dilanjutkan dengan uji lanjut BNT untuk pengamatan yang menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha = 0.05$).

Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dalam tiga tahap yang terdiri dari pembuatan ekstrak daun pandan wangi, tahap *in vivo*, dan pengamatan histopatologi sel pankreas. Pembuatan ekstraksi menggunakan metode maserasi sehingga diperoleh ekstrak air daun pandan wangi. Ekstrak air daun pandan wangi yang diperoleh kemudian dilakukan skrining fitokimia senyawa golongan polifenol, saponin, flavonoid, alkaloid, tanin, dan aktivitas antioksidan serta dilakukan uji *in vivo* untuk mengetahui efek ekstrak air daun pandan wangi terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi pankreas tikus wistar jantan diabetes mellitus dengan induksi aloksan.

Metode Penelitian

Daun pandan wangi yang telah dikeringkan, dipisahkan dari kotoran kemudian dihaluskan dengan blender hingga menjadi bubuk yang selanjutnya diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 40 mesh sehingga diperoleh bubuk daun pandan wangi. Ekstraksi dilakukan dengan cara merendam 12.50 gram bubuk daun pandan wangi dengan 100 ml akuades selama 3 hari pada botol gelas tertutup. Selama proses ekstraksi dilakukan pengadukan dengan *shaker* selama 3-4 jam per hari dan dilakukan penggantian cairan penyari dengan jumlah yang sama dengan yang pertama. Setelah proses maserasi berakhir, dilakukan penyaringan hingga didapatkan filtrat dan dipekatkan dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 40°C, kemudian didapatkan ekstrak kental air daun pandan wangi.

Ekstrak air daun pandan wangi kemudian dilakukan skrining fitokimia senyawa golongan polifenol, saponin, flavonoid, alkaloid, tanin, dan aktivitas antioksidan serta dilakukan uji *in vivo*. Pengujian *in vivo* dilakukan terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan selama 4 minggu. Hewan coba tikus dikelompokkan menjadi 5 kelompok dan masing-masing kelompok terdiri dari 4 ekor. Setiap kelompok dipisahkan dalam kandang yang berbeda. Sebelum perlakuan tikus diadaptasikan pada kondisi laboratorium selama 1 minggu dengan tujuan untuk menyesuaikan dengan lingkungan. Setelah masa adaptasi dilakukan induksi aloksan secara intraperitoneal 125 mg/kg bb pada 4 kelompok tikus (kecuali kelompok normal) untuk memperoleh kondisi diabetes pada tikus. Pemberian

ekstrak air daun pandan wangi dan obat metformin pada tikus dilakukan dengan cara per oral (sonde) setelah tikus mengalami diabetes mellitus. Pengukuran kadar glukosa darah semua tikus dilakukan pada minggu ke 0, 1, 2, 3, dan 4 dengan metode *glucose oxidase* yaitu dengan mengambil 1 ml darah secara *retro orbital plexus*. Pada minggu ke-4 dilakukan proses pembedahan untuk mengambil jaringan pankreas untuk dilakukan foto histopatologi.

Prosedur Analisis

Uji Polifenol [9]

Sebanyak 0.10 gram ekstrak kemudian ditambahkan 5 ml akuades dan dididihkan selama 5 menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan sehingga diperoleh filtrat. Filtrat selanjutnya ditambahkan FeCl_3 1% sebanyak 5 tetes dan diamati perubahan warna yang terjadi. Perubahan warna menjadi hijau biru hingga hitam menunjukkan adanya senyawa polifenol.

Uji Flavonoid [9]

Sebanyak 0.10 gram ekstrak dicampur dengan 5 ml etanol kemudian dikocok, dipanaskan, dan dikocok kembali. Campuran kemudian disaring dan diambil filtratnya. Filtrat kemudian ditambahkan 0.20 gram serbuk Mg dan 3 tetes HCl. Terbentuknya warna merah pada lapisan etanol menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

Uji Alkaloid [9]

Sebanyak 0.50 gram ekstrak ditambahkan dengan 5 ml kloroform dan 3 tetes amonia. Fraksi kloroform kemudian dipisah dan diasamkan dengan 10 tetes H_2SO_4 2M. Lapisan asam dipisah kedalam 3 bagian dan disebut sebagai bagian A, B dan C. Lapisan A ditambahkan pereaksi Meyer, lapisan B ditambahkan pereaksi Dragendorf dan lapisan C ditambahkan pereaksi Wagner. Diamati timbulnya endapan oleh masing-masing pereaksi. Terdapatnya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih oleh pereaksi Meyer, endapan merah oleh pereaksi Dragendorf dan endapan coklat oleh pereaksi Wagner.

Uji Tanin [9]

Sebanyak 0.50 gram ekstrak ditambahkan dengan 5 ml akuades kemudian dididihkan selama 5 menit. Campuran kemudian disaring sehingga diperoleh filtrat. Filtrat yang diperoleh ditambahkan dengan 5 tetes FeCl_3 1%. Diamati perubahan warna yang terjadi. Terbentuknya warna biru tua atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

Analisis Aktivitas Antioksidan Metode DPPH [10]

Ditimbang 0.50 gram ekstrak kemudian ditambahkan etanol 95% sebanyak 25 ml dan divortex. Ekstrak disentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. 4 ml supernatan diambil dan kemudian ditambahkan 1 ml larutan DPPH 0.2 M. Dibiarkan selama 10 menit dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Kontrol dilakukan dengan prosedur yang sama menggunakan bahan larutan DPPH 0.2 M. Aktivitas *scavenger* radikal bebas dihitung sebagai presentasi berkurangnya warna DPPH dengan perhitungan:

$$\% \text{Aktivitas antioksidan} = 100 \times \left(1 - \frac{\text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}}\right)$$

Analisis Kadar Glukosa Darah Metode *Glucose Test* [11]

Darah hewan coba diambil sebanyak 1 ml dan diletakkan dalam tube. Darah kemudian disentrifuse 4000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serum dan plasma darah. Diambil serum darah sebanyak 10 μl dan dicampurkan dengan 1000 μl pereaksi kit kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi dan dihomogenkan dengan cara divortex. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit atau 30°C selama 20 menit kemudian dibaca absorbansi pada panjang gelombang 500 nm.

Penetapan blanko dan standar dilakukan dengan cara yang sama dengan menggunakan akuades dan larutan standar glukosa. Kadar glukosa darah ditentukan dengan perhitungan:

$$\text{Kadar glukosa darah (mg/dl)} = \frac{\text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Standar}} \times 100$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Analisis Bahan Baku

Ekstrak diperoleh dengan metode maserasi pada bubuk daun pandan wangi. Proses maserasi menggunakan suhu ruang sehingga dapat meminimalisir kerusakan senyawa bioaktif dalam ekstrak. Analisis yang dilakukan pada bahan baku adalah uji fitokimia secara kualitatif. Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa bioaktif yang diharapkan dapat berperan sebagai antihiperlipidemia atau antidiabetes. Adapun hasil uji fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak air daun pandan wangi

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Alkaloid	Mayer	Terbentuk endapan putih	+
	Wagner	Terbentuk endapan coklat	+
	Dragendorf	Terbentuk endapan merah	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna hijau kebiruan	+
Saponin		Tidak terbentuk busa yang stabil	-
Flavonoid	Mg+HCL+etanol	Terbentuk warna merah	+
Polifenol	FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna hijau kebiruan	+

Keterangan: (+) = mengandung senyawa uji

(-) = tidak mengandung senyawa uji

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak air daun pandan wangi (EADPW) mengandung tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol. Dari keempat senyawa yang terkandung dalam ekstrak air daun pandan wangi (tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol), alkaloid, flavonoid, dan polifenol merupakan senyawa aktif bahan alam yang telah diteliti memiliki aktivitas hipoglikemik [12] sedangkan tanin berfungsi sebagai antioksidan dan penghambat pertumbuhan tumor.

2. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Pandan Wangi

Pada penelitian ini, selain dilakukan uji fitokimia secara kualitatif juga dilakukan uji nilai aktivitas antioksidan dengan metode DPPH secara spektrofotometri dengan λ 517 nm. Prinsip kerja uji DPPH adalah senyawa bioaktif sebagai antioksidan akan mereduksi radikal bebas DPPH menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin. DPPH yang bereaksi dengan antioksidan menghasilkan bentuk tereduksi difenil pikril hidrazin dan radikal antioksidan [13]. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan ekstrak air daun pandan wangi dapat dilihat pada Tabel 2.

Aktivitas antioksidan dalam ekstrak air daun pandan wangi (EADPW) didukung dengan adanya senyawa bioaktif seperti tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol. Flavonoid merupakan senyawa yang erat kaitannya sebagai zat yang mempunyai kapasitas antioksidan bagi tubuh. Pemberian antioksidan dapat menurunkan tingkat cekaman oksidatif sehingga memperlambat terjadinya penuaan dini dan komplikasi berbagai penyakit [14]. Daun tanaman pandan wangi memiliki kemampuan sebagai antikanker, antimikroba,

menurunkan kadar kolesterol dan kadar glukosa darah, bersifat antibiotik, dan dapat memberikan peningkatan kekebalan tubuh [15].

Tabel 2. Data Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Daun Pandan Wangi

Sampel	Aktivitas Antioksidan (%)
Ekstrak Air Daun Pandan Wangi	66.82 ± 0.69

Keterangan: Data merupakan hasil rerata 2 kali ulangan

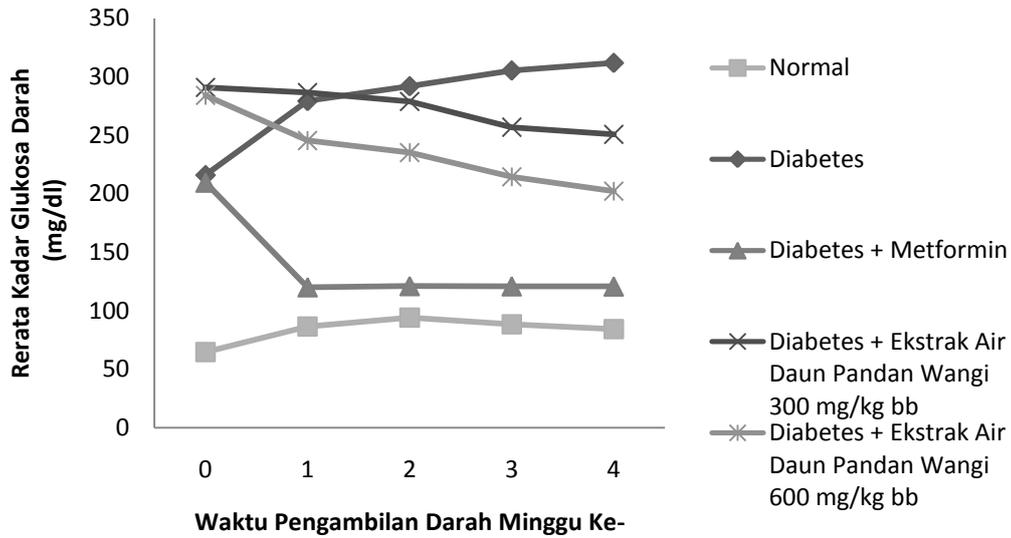
3. Pengaruh Induksi Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kerusakan Pankreas Tikus

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 pankreas, dan apabila diberikan kepada hewan coba seperti tikus maka dapat menyebabkan hewan coba tikus menjadi diabetes. Mekanisme toksisitas aloksan diawali dengan masuknya aloksan ke dalam sel-sel beta pankreas dan kecepatan pengambilan akan menentukan sifat diabetogenik aloksan. Kerusakan pada sel-sel β terjadi melalui beberapa proses secara bersamaan, yaitu melalui oksidasi gugus sulfidril dan pembentukan radikal bebas. Mekanisme kerja aloksan menghasilkan kerusakan pada sel-sel β 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 [16]. Induksi aloksan pada dosis 125 mg/kg bb secara intraperitoneal mampu meningkatkan kadar glukosa darah dan kerusakan pada sel β pankreas tikus. Tikus dinyatakan hiperglikemia bila kadar glukosa darah > 135 mg/dL [17].

4. Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Daun Pandan Wangi dan Metformin Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus

Tikus kelompok K2, K3, K4, dan K5 dikondisikan mengalami diabetes mellitus dengan cara induksi aloksan 125 mg/kg bb. Pembuktian tikus menderita diabetes yaitu dengan adanya kenaikan kadar glukosa darah diatas batas normal (>200 mg/dl). Setelah mengalami kondisi diabetes mellitus kemudian dilakukan pemberian obat metformin pada tikus kelompok K3, ekstrak air daun pandan wangi (EADPW) 300 mg/kg bb pada tikus kelompok K4, dan ekstrak air daun pandan wangi (EADPW) 600 mg/kg bb pada tikus kelompok K5 selama 4 minggu. Data kadar glukosa darah tikus selama perlakuan 4 minggu tersaji pada Gambar 1.

Gambar 1 menunjukkan terjadinya penurunan dan peningkatan kadar glukosa darah tikus akibat perlakuan yang diberikan. Peningkatan kadar glukosa darah ditunjukkan oleh tikus kelompok perlakuan normal (K1) dan diabetes (K2) sedangkan penurunan kadar glukosa darah ditunjukkan oleh tikus kelompok perlakuan diabetes + metformin (K3), diabetes + EADPW 300 mg/kg bb (K4), dan diabetes + EADPW (K5). Perubahan kadar glukosa darah tikus selama perlakuan tersaji dalam Tabel 3.



Gambar 1. Grafik Rerata Kadar Glukosa Darah Tikus Selama Perlakuan

Tabel 3. Rerata Akumulasi Kadar Glukosa Darah Selama Empat Minggu Perlakuan

Kelompok Perlakuan	Kadar Glukosa Darah (mg/dl)		
	Minggu Ke-0	Minggu Ke-4	% Perubahan*
Normal (K1)	64.81 a	84.40 a	38.52 bc
Diabetes (K2)	216.07 b	311.83 d	44.432 c
Diabetes+Metformin (K3)	209.68 b	120.73 ab	-42.86 a
Diabetes+EADPW 300 mg/kg bb (K4)	290.90 c	250.90 cd	-10.79 ab
Diabetes+EADPW 600 mg/kg bb (K5)	284.10 c	202.24 bc	-25.72 a

Keterangan: (-) = penurunan (+) = peningkatan

*Data merupakan rerata dari %perubahan masing-masing ulangan

Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan terdapat perbedaan nyata ($\alpha = 0.05$)

Berdasarkan tabel rerata akumulasi kadar glukosa darah terjadi perubahan kadar glukosa darah setelah perlakuan selama 4 minggu. Penurunan kadar glukosa darah paling tinggi terjadi pada kelompok diabetes dengan terapi metformin (K3) yaitu sebesar 42.86%. Berdasarkan hasil analisis ragam, menunjukkan bahwa pada minggu ke-0 tikus kelompok diabetes (K2), diabetes + metformin (K3), diabetes + EADPW 300 mg/kg bb (K4), dan diabetes+EADPW 600 mg/kg bb (K5) menunjukkan perbedaan nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap tikus kelompok normal (K1). Hal ini membuktikan bahwa induksi aloksan dapat merusak sel beta pankreas yang menyebabkan produksi insulin menurun sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah.

Hasil analisis ragam pada minggu ke-4 setelah pemberian terapi metformin (K3) dan EADPW 600 mg/kg bb (K5) juga memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap tikus diabetes (K2) sedangkan dengan terapi EADPW 300 mg/kg bb (K4) tidak memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0.05$) terhadap tikus diabetes (K2). Kadar glukosa darah pada kelompok tikus perlakuan diabetes dengan terapi metformin dan EADPW 600 mg/kg bb lebih rendah dibandingkan tikus kelompok perlakuan diabetes tanpa terapi apapun. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian metformin dan EADPW 600 mg/kg bb dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus. Akan tetapi, tikus kelompok perlakuan diabetes dengan terapi metformin dan EADPW 600 mg/kg bb tidak berbeda nyata namun dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus.

Penurunan terbesar terjadi pada tikus kelompok perlakuan diabetes dengan terapi metformin. Tikus kelompok perlakuan diabetes dan diabetes dengan terapi EADPW 300

mg/kg bb tidak memberikan pengaruh yang nyata ($\alpha = 0.05$) namun terjadi penurunan kadar glukosa darah pada tikus kelompok perlakuan diabetes dengan terapi EADPW 300 mg/kg bb sedangkan pada tikus kelompok perlakuan diabetes terjadi peningkatan kadar glukosa darah.

Penurunan kadar glukosa darah pada tikus kelompok perlakuan diabetes dengan terapi metformin (K3) dapat disebabkan oleh adanya mekanisme spesifik metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah. Mekanisme metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah meliputi 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. Mekanisme kerja metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah tidak bergantung atas adanya sel β pankreas yang berfungsi [18].

Penurunan kadar glukosa darah dengan terapi EADPW dapat disebabkan oleh adanya senyawa bioaktif yang terkandung dalam EADPW yang dapat mencegah terjadinya oksidasi pada sel β pankreas sehingga kerusakan dapat diminimalkan. Senyawa bioaktif yang terdapat dalam EADPW diantaranya adalah tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol. Tanin diketahui dapat memacu metabolisme glukosa dan lemak sehingga timbunan kedua sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari. Tanin mempunyai aktivitas antioksidan dan menghambat pertumbuhan tumor. Tanin juga mempunyai aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis. Selain itu, tanin juga berfungsi sebagai *astringent* atau pengkhat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan sebagai akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi [19].

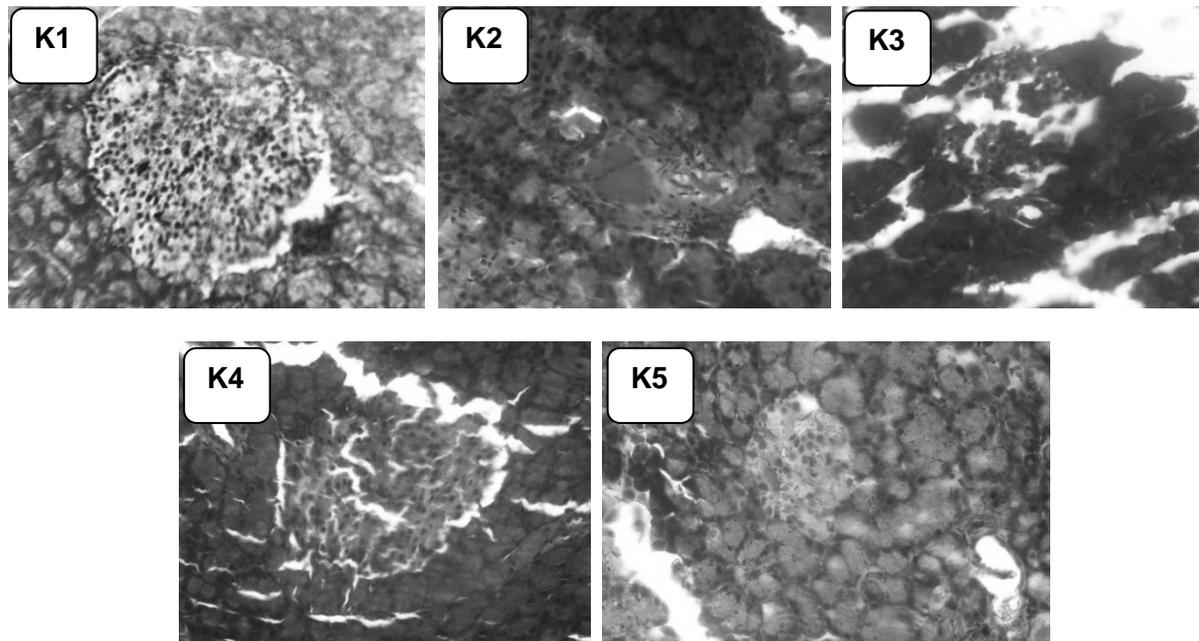
Alkaloid bekerja dengan menstimulasi hipotalamus untuk meningkatkan sekresi *Growth Hormone Releasing Hormone* (GHRH), sehingga sekresi *Growth Hormone* (GH) pada hipofise meningkat. Kadar GH yang tinggi akan menstimulasi hati untuk mensekresikan *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1). IGF-1 mempunyai 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 [20]. Flavonoid dapat mencegah komplikasi atau progresifitas diabetes mellitus dengan cara membersihkan radikal bebas yang berlebihan, memutuskan rantai reaksi radikal bebas [21], mengikat ion logam (*chelating*), dan memblokir jalur poliol dengan menghambat enzim aldose reduktase [22]. Flavonoid juga memiliki efek penghambatan terhadap enzim alfa glukosidase melalui ikatan hidrosilasi dan substitusi pada cincin β . Prinsip penghambatan ini serupa dengan *acarbose* yang selama ini digunakan sebagai obat untuk penanganan diabetes mellitus, yaitu dengan menghasilkan penundaan hidrolisis karbohidrat dan disakarida dan absorpsi glukosa serta menghambat metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa [23].

Polifenol dalam EADPW juga menurunkan kadar glukosa darah. Beberapa penelitian terdahulu membuktikan bahwa antioksidan polifenol teh hijau mampu 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 [24,25,26]. Peran polifenol sebagai antioksidan diduga mampu melindungi sel β pankreas dari efek toksik radikal bebas yang diproduksi dibawah kondisi hiperglikemia kronis. Aktivitas antioksidan dalam EADPW berdasarkan hasil penelitian terhitung besar yaitu 66.82%. Antioksidan dalam EADPW berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan cara mencegah terjadinya oksidasi yang berlebihan sehingga kerusakan pada sel β pankreas dapat dicegah dan menjaga kandungan insulin didalamnya.

5. Pengamatan Histopatologi Pankreas pada Tikus Percobaan

Tujuan dari pengamatan histopatologi pankreas adalah untuk mengetahui secara lebih rinci mengenai pengaruh pemberian metformin dan ekstrak air daun pandan wangi

(EADPW) terhadap pemulihan fungsi pankreas akibat induksi aloksan. Hasil pengamatan histopatologi pankreas pada kelompok perlakuan tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Gambaran Histopatologi Jaringan Pankreas Tikus Perbesaran 400x
Keterangan: Normal (K1), Diabetes (K2), Diabetes + Metformin (K3), Diabetes + Ekstrak Air Daun Pandan Wangi 300 mg/kg bb (K4), Diabetes + Ekstrak Air Daun Pandan Wangi 600 mg/kg bb (K5)

Berdasarkan hasil pengamatan histopatologi pankreas tikus dapat diketahui bahwa pada tikus normal (K1) tidak ada atau terjadi nekrosis dan terlihat inti sel sangat padat serta tidak terdapat sel-sel yang mengalami edema (pembengkakan) sehingga mengindikasikan bahwa islet Langerhans dalam keadaan normal (tidak terjadi kerusakan). Hal yang tidak serupa terlihat pada hasil histopatologi kelompok diabetes (K2). Pada kelompok diabetes terlihat adanya nekrosis dan degenerasi yang banyak. Hal ini membuktikan bahwa pemberian aloksan dapat merusak sel endokrin pankreas khususnya sel beta sehingga sekresi insulin ke dalam pembuluh darah menurun. Kejadian nekrosis dan degenerasi pada islet Langerhans ditandai dengan adanya ruang-ruang kosong di bagian tengah pulau Langerhans. Ruang-ruang kosong pada islet langerhans karena nekrosis sel beta [27]. Nekrosis yaitu kematian sel akibat kerusakan yang fatal ditandai dengan kerusakan struktur dan fungsi sel secara menyeluruh yang diikuti lisisnya sel dan peradangan jaringan. Penurunan jumlah sel beta pankreas menunjukkan adanya gangguan metabolisme insulin pada pankreas yang menyebabkan penurunan volume sel beta dalam pulau Langerhans.

Pada kelompok perlakuan metformin (K3) menunjukkan terjadinya nekrosis dan degenerasi yang cukup parah seperti terlihat pada kelompok diabetes. Hal ini disebabkan karena mekanisme kerja metformin bukan melalui stimulasi sel-sel β pankreas melainkan berpengaruh terhadap kerja insulin dan menurunkan produksi glukosa [28] sehingga tidak terjadi perubahan morfologi secara berarti. Pada kelompok perlakuan EADPW, masih ditemukan ruang-ruang kosong akan tetapi masih lebih baik dibandingkan kelompok diabetes dan diabetes+metformin. Akan tetapi keadaan islet Langerhans masih belum sampai seperti keadaan normal. Diduga penyembuhan sel pankreas dengan pemberian EADPW berlangsung lebih dari 4 minggu.

Perbaikan pulau Langerhans pada perlakuan EADPW diikuti dengan terjadinya regenerasi sel pada pulau Langerhans yang ditandai dengan adanya sel yang berkoloni [29]. Perlakuan EADPW 600 mg/kg bb menunjukkan perbaikan yang lebih baik dibandingkan EADPW 300 mg/kg bb. Hal ini diduga dipengaruhi oleh meningkatnya jumlah senyawa

bioaktif seiring dengan meningkatnya dosis [30]. Peningkatan dosis mengakibatkan peningkatan jumlah senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak [31]. Perbaikan pada kelompok perlakuan EADPW diduga karena adanya senyawa bioaktif dalam EADPW seperti tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol. Senyawa bioaktif 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 [32].

Flavonoid diketahui mampu berperan menangkap radikal bebas atau berfungsi sebagai antioksidan alami [33]. 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 inflamasi dapat terhambat [34]. Flavonoid dapat berperan dalam kerusakan jaringan pankreas yang diakibatkan oleh alkilasi DNA akibat induksi aloksan sebagai akibatnya dapat memperbaiki morfologi pankreas tikus. Flavonoid dilaporkan memiliki aktivitas antidiabetes yang mampu meregenerasi sel pada pulau Langerhans [35].

Alkaloid terbukti mempunyai kemampuan regenerasi sel β pankreas yang rusak [36]. Aktivitas antioksidan yang dimiliki ekstrak air daun pandan wangi juga tinggi yaitu 66.82% sehingga diduga mampu memperbaiki sel β pankreas yang rusak. Aktivitas antioksidan mampu menangkap radikal bebas yang menyebabkan perbaikan pada kerusakan sel β pankreas penyebab DM 1 [37]. Dengan adanya perbaikan pada jaringan pankreas, maka terjadi peningkatan jumlah insulin didalam tubuh sehingga glukosa darah akan masuk kedalam sel sehingga terjadi penurunan glukosa darah dalam tubuh. Dari hasil pengamatan histopatologi, dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak air daun pandan wangi mampu memperbaiki morfologi pulau Langerhans dengan lebih baik dibandingkan dengan metformin walaupun secara fisiologis belum dapat memperbaiki kadar glukosa darah tikus.

SIMPULAN

Senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak air daun pandan wangi diantaranya adalah tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol. Aktivitas antioksidan dalam ekstrak air daun pandan wangi sebesar 66.82%. Berdasarkan hasil uji didapatkan bahwa terapi diabetes dengan obat metformin lebih efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah namun tidak lebih baik dalam memperbaiki kerusakan jaringan pankreas akibat senyawa diabetogenik aloksan jika dibandingkan dengan ekstrak air daun pandan wangi. Dosis ekstrak air daun pandan wangi sebesar 600 mg/kg bb lebih baik dalam menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki jaringan pankreas jika dibandingkan dengan dosis 300 mg/kg bb.

DAFTAR PUSTAKA

- 1) Sudoyo, A.W., B. Setiyohadi, I. Alwi, K.M. Simadibrata dan S. Setiati. 2007. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Edisi Keempat Jilid Ketiga. Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta
- 2) American Diabetes Association. 2012. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care, Volume 35, Suplemen 1, January 2012
- 3) Felicia, N. 2012. 2030: Penderita Diabetes Indonesia Meningkat 2 Kali Lipat. <http://www.beritasatu.com>. Tanggal akses 14 Juli 2012
- 4) Widowati, L., B. Dzulkarnain dan Sa'roni. 1997. Tanaman Obat Untuk Diabetes Mellitus. Cermin Dunia Kedokteran (116): 53
- 5) Tahir, I. 2012. Aneka Manfaat Pandan Wangi. <http://www.iqmal.staff.ugm.ac.id>. Tanggal akses 14 Juli 2012
- 6) Ong, H.C. 2008. Rempah-ratus Khasiat Makanan dan Ubatan. Institut Terjemahan Negara Malaysia Berhad. Malaysia

- 7) Anonim. 2008. Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb). <http://plantamor.com>. Tanggal akses 13 Juli 2012
- 8) Sukandar, D, S. Hermanto dan I.A. Maburur. 2009. Aktivitas Senyawa Antidiabetes Ekstrak Etil Asetat Daun Pandan Wangi (*Pandanus Amaryllifolius* Roxb.). Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta
- 9) Sahputra, F.M. 2008. Potensi Ekstrak Kulit dan Daging Buah Salak Sebagai Antidiabetes. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian. Bogor
- 10) Salamah, E., E. Ayuningrat, dan S. Purwaningsih. 2008. Penapisan Awal Komponen Bioaktif Dari Kijing Taiwan (*Anodonta woodiana* Lea.) Sebagai Senyawa Antioksidan. Buletin Teknologi Hasil Perikanan Vol XI Nomor 2 Tahun 2008
- 11) Yuriska, A. 2009. Efek Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar. Karya Tulis Ilmiah. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang
- 12) Maryuni, A.E. 2002. Pengaruh Pemberian Dekokta Daun Jati Pada Tikus Putih Hiperqlikemik. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian. Bogor
- 13) Prakash, A. 2001. Medhalin Laboratories Analytical Progress. <http://medlab.com/file.aspx?field=56>. Tanggal akses 5 September 2013
- 14) Rini, H. 2008. Synthesis of Polyphenol Glycoside by Using Maltodextrin Throgh Enzymatic Transglycosilation Reaction of Bacterial Strain. Proceeding of The International Seminar on Chemistry 2008 9pp. 679-686)
- 15) Sumastuti, R. 2002. Efek Sitotoksik Ekstrak Buah dan Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff) Boerl.) Terhadap Sel Hela. Farmakologi Fakultas Kedokteran UGM. Yogyakarta
- 16) Szkuldelski, T. 2008. The Mechanism of Alloksan and Streptozotocin Action in B Cells of The Rat Pancreas. *Physiol. Res.* 50: 536-546, 2001
- 17) Giri, L.N. 2008. Potensi Antioksidasi Daun Salam : Kajian In Vivo Pada Tikus Hiperkolesterolemia dan Hiperqlikemik. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Bogor
- 18) Katzung, B.G. 2007. Pancreatic Hormones and Antidiabetic Drugs. In: Basic and Clinical Pharmacology 10th Ed Chapter 41 : 683-705
- 19) Daliamartha, S. 2005. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Diabetes Mellitus. Penebar Swadaya. Bogor
- 20) Bunting, K., J.K. Wang and M.F. Shannan. 2006. Control of Interleukin-2-gene Transcription: a Paradigm For Inducible, Tissue Specific Gene Expressions. Interleukins, eds. G. Litwack. 74 : Elsevier Academic Press Inc pp 105-145
- 21) Soewonto, H. 2001. Antioksidan Eksogen Sebagai Lini Pertahanan Kedua Dalam Menanggulangi Peran Radikal Bebas. Didalam: Prosiding Khusus Penyegar Radikal Bebas dan Antioksidan dalam Kesehatan : Dasar Aplikasi dan Pemanfaatan Bahan Alam. Jakarta 16 April 2011. Bagian Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- 22) Mills, S and K. Bone. 2002. Principles and Practice of Phytotherapy : Modern Herbal Medicine. Edinburgh, Scotland, Churral Livingstone
- 23) Ho, E and T.M. Bray. 1999. Antioxidants, NFKB Activation, and Diabetogenesis. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999 Dec: 222(3): 205-13
- 24) Barbosa, D.S. 2007. Green Tea Polyphenolic Compounds and Human Health. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 2, 407-413
- 25) Evans, J.L., I.D. Goldfine, B.A. Maddux and G.M. Grodsky. 2003. Are Oxidative Stress-Activated Signaling Pathways Mediators of Insulin Resistance and β Cells Dysfunction?. *Diabetes*, 52 : 1, 1-18
- 26) Sabu, M.C., K. Smitha and K. Ramadasan. 2002. Anti-diabetic Activity of Green Tea Polyphenols and Their Role In Reducing Oxidative Stress In Experimental Diabetes. *J. Ethnopharmacol* ;83, 109-116

- 27) Nurdiana, N.P., Setyawati dan M. Ali. 1998. Efek Streptozotzin Sebagai Bahan Diabetogenik pada Tikus Wistar dengan Cara Pemberian Intraperitoneal dan Intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw*. Vol XIV, No 2: hal 66-67
- 28) Andayani, Y. 2003. Mekanisme Aktivitas Antihiperlipidemia Ekstrak Buncis (*Phaseolus vulgaris* Lim) Pada Tikus Diabetes dan Identifikasi Komponen Aktif. Disertasi. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian. Bogor
- 29) Anonim. 2013. Reproduksi Sel (2) : Amitosis dan Mitosis. <http://www.biologimediacentre.com/reproduksi-sel-2-amitosis-dan-mitosis-plus-video-animasi>. Tanggal akses 12 September 2013
- 30) Prameswari, O.M. 2013. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Pankreas Tikus Wistar Jantan Diabetes Mellitus Dengan Induksi Aloksan. Skripsi. THP-FTP UB
- 31) Siregar, A.A. 2013. Efek Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (EESDM) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Serta Gambaran Histologi Pankreas Mencit (*Mus musculus* L) Diabetes. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Sumatra Utara. Medan
- 32) Robinovitch, A., W.S. Pinzon, L. Sorensen, R. Bleackley and R.F. Power. 1995. IFN γ Gene Expression In Pancreatic Islet Infiltrating Mononuclear Cells Correlates With Autoimmune Diabetes In Non Obese Diabetic Mice. *Journal Immunology*. 1995; 154:4874-4882
- 33) Lugasi, A., J. Hovari, K.V. Sagi and L. Biro. The Role of Antioxidant Phytonutrients In The Prevention of Disease. *Acta Biologica Szegediensis*. 2003; 47: 119-125
- 34) Botutihe. 2010. Efek Ekstrak Rumpun Laut Coklat (*Sargassum duplicatum* Bory) Terhadap Profil Radikal Bebas dan Protein Kinase C Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) yang Dipapar Benzo[A]piren. Tesis. Universitas Brawijaya. Malang
- 35) Sandhar, H.K., B. Kumar, S. Prashes, P. Tiwari, M. Salhan, P. Sharma. 2011. A Review Of Phytochemistry And Pharmacology Of Flavonoids. *Internationale Pharmaceutica Scientia* Jan-Mar 2011 Vol 1 Issue 1
- 36) Arjadi, F dan P. Susatyo. 2010. Regenerasi Sel Pulau Langerhans Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes yang Diberi Rebusan Daging Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.). Vol. 2, No. 2 Juli-Desember 2010
- 37) Suryani, N., T. Endang dan Aulanni'am. 2013. Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Mahoni Terhadap Peningkatan Kadar Insulin, Penurunan Ekspresi TNF- α dan Perbaikan Jaringan Pankreas Tikus Diabetes. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol. 27, No. 3, Februari 2013