

PENGARUH FRAKSI ETIL ASETAT BUAH LABU SIAM (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) TERHADAP REGENERASI SEL β PANKREAS PADA TIKUS DIABETES YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Dwi Hadi Setya Palupi*

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang

*Email : dwi.palupi@ymail.com

ABSTRAK

*Fraksi etil asetat buah labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) dosis 10,77; 14,36; dan 17,95 mg/kgBB secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah (KGD) pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan. Hal tersebut membuktikan adanya efek antihiperglikemia buah labu siam. Pengamatan secara histologi setelah pengobatan dengan fraksi etil asetat buah labu siam menunjukkan perbedaan fase penyembuhan sel beta pankreas pada tikus diabetes diinduksi aloksan, sedangkan itu tidak terjadi pada tikus yang tidak mendapatkan pengobatan. Hal penting yang ditemukan dalam penelitian ini adalah adanya sel asinar pankreas yang tersebar di beberapa bagian jaringan pankreas yang menandakan terjadinya proses pembentukan baru sel β pankreas. Pankreas tikus diabetes diinduksi aloksan memperlihatkan adanya degenerasi hidropik dan perlemakan terutama pada kelenjar eksokrin, sedangkan pada tikus yang diobati dengan fraksi etil asetat buah labu siam kejadian tersebut lebih sedikit.*

Kata kunci : *Fraksi etil asetat, Labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), diabetes melitus, aloksan, sel β , regenerasi*

1. PENDAHULUAN

Indonesia kaya dengan tanaman yang memiliki potensi sebagai obat. Masih memerlukan lebih banyak eksplorasi untuk tujuan diperolehnya obat tradisional yang dapat digunakan dalam terapi. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai antihiperglikemia dengan kandungan senyawa antioksidan adalah labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.). Penelitian terdahulu membuktikan bahwa ekstrak etanol buah labu siam dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus (Putri, 2012). Potensi buah labu siam ini diduga dihasilkan dari senyawa flavonoid dan alkaloid (Gupta *et al.*, 2006). Berdasarkan dugaan tersebut, Chakima (2014) melakukan penelitian terhadap fraksi etil asetat buah labu siam dan terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus yang diinduksi aloksan dosis 120 mg/kgBB.

Diabetes melitus adalah sekelompok sindrom yang ditandai dengan hiperglikemia, perubahan metabolisme lipid, karbohidrat, dan protein. Hiperglikemia disebabkan karena penurunan sekresi insulin, penurunan sensitivitas insulin, atau keduanya dan disertai peningkatan resiko komplikasi penyakit pembuluh darah (Goodman dan Gilman, 2007). Pada diabetes melitus seringkali terjadi perubahan progresif pankreas berupa kerusakan sel beta sehingga menyebabkan kadar glukosa darah meningkat (hiperglikemia). Kerusakan sel-sel beta pankreas dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya faktor genetik, infeksi oleh virus, zat diabetogenik dan radikal bebas. Penelitian ini bertujuan memperjelas aktivitas senyawa bioaktif dalam labu siam (sebagai fraksi etil asetat) untuk pengobatan diabetes melitus, terutama kemungkinan efeknya terhadap jaringan pankreas.

2. METODOLOGI

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental. Objek yang diteliti adalah gambaran histologi pankreas tikus putih jantan galur Wistar hiperglikemia. Sampel yang digunakan adalah buah labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.).

2. a. Hewan uji

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar usia 2-3 bulan, berat badan 150-250 g. Tikus telah diadaptasikan dan dipelihara dalam lingkungan laboratorium, dengan suhu $\pm 22^{\circ}\text{C}$, diberikan pakan pallet dan air minum *ad libitum*

2.b. Bahan Penginduksi

Aloksan monohidrat dilarutkan dalam aqua *proinjection*. Induksi Diabetes melitus dilakukan dengan pemberian aloksan dosis 120 mg/kg BB secara intra peritoneal. Tikus dinyatakan mengalami diabetes melitus jika mengalami hiperglikemia, yaitu peningkatan kadar glukosa darah lebih dari 30%. Kadar glukosa darah awal tikus diukur sebelum induksi dengan aloksan.

2.c. Pembuatan Fraksi etil asetat buah labu siam

Buah labu siam yang digunakan, didapatkan dari Daerah Bandungan, Kabupaten Semarang. Buah labu siam dipotong kecil-kecil, dikeringkan dengan almari pengering suhu 50°C selama 3 hari dan diserbukkan. Serbuk buah labu siam ditambah etanol 80% dan diremaserasi dengan penggantian pelarut setiap 1 kali 24 jam, sampai pelarut jernih. Hasil maserat ditampung, kemudian diuapkan dengan *waterbath* suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak etanol kental. Ekstrak etanol kental difraksinasi dengan n-heksana. Fraksi air yang diperoleh difraksinasi kembali dengan etil asetat. Fraksi etil asetat buah labu siam cair diuapkan hingga kental. Dilakukan perhitungan rendemen, uji pendahuluan, uji penegasan dengan KLT, untuk ekstrak dan fraksi etil asetat buah labu siam.

2.d. Pengujian Aktivitas Farmakologi

Tikus yang sudah dinyatakan hiperglikemia pada pengukuran kadar glukosa darah hari ke-3, selanjutnya diperlakukan kembali seperti semula (pemberian pakan dan air yang cukup) serta pengontrolan berat badan tikus harian. Evaluasi untuk mengetahui hewan uji sudah dalam keadaan diabetes melitus resistensi insulin adalah dengan TTGO dan uji hipoglikemik terhadap glibenklamid serta pengamatan mikroskopis pankreas pada hari ke-9. Berdasarkan hasil evaluasi hari ke-9, tikus dikelompokkan secara random menjadi lima kelompok, dan masing-masing kelompok yaitu :kelompok normal, kelompok kontrol negatif (tanpa pengobatan), dan 3 kelompok perlakuan fraksi teruji(pengobatan dengan fraksi etil asetat buah labu siam dosis 10,77; 14,36; dan 17,95 mg/kgBB tikus).Pengobatan dilakukan selama 7 hari, setelah itu diukur kadar glukosa darah tikus hari ke-16. Hari terakhir perlakuan, seluruh tikus didekapitasi dan diambil jaringan pankreas untuk dibuat preparat histologi. Persentase sel beta di pulau langerhans yang mengalami nekrosis dan derajat insulitis pulau langerhans, kemudian dilakukan pemberian skor sesuai cara Meira (2011) dan skor nekrosis menurut Ngestiningsih (2006). Analisis Data diuji statistik dengan taraf kepercayaan 95%.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Fraksinasi buah labu siam menghasilkan rendemen sebesar 3,59%. Keberadaan senyawa aktif dalam fraksi ditetapkan dengan uji tabung dan kromatografi lapis tipis. Hasil analisa menunjukkan bahwa fraksi etil asetat buah labu siam mengandung alkaloid dan flavonoid.

Injeksi intra peritoneal aloksan pada hewan uji ditujukan untuk meningkatkan kadar glukosa darah tikus. Kadar glukosa darah setelah hari ke-3 kadar glukosa darah menunjukkan adanya peningkatan kadar ($>30\%$) dibandingkan kelompok normal, membuktikan tikus telah mengalami diabetes melitus. Pengobatan dengan fraksi etil asetat buah labu siam menyebabkan penurunan kadar glukosa darah secara signifikan dibandingkan kontrol negatif ($p < 0,05$). Persentase peningkatan dan penurunan kadar glukosa darah dapat dilihat pada Tabel I.

Tabel I. Persentase Perubahan Kadar Glukosa Darah Tikus Selama Penelitian dengan Pemberian Fraksi Etil Asetat Buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.)Sw.)

Kelompok	%	
	Peningkatan	Penurunan
Normal	0.84	1.27*
Kontrol negatif	108.06	24.68
FELS 10,77mg/kgBB	68.48	48.97*
FELS 14,36mg/kgBB	66.71	42.64*
FELS 17,95mg/kgBB	36.12	30.87*

Keterangan: FELS = Fraksi Etil Asetat Buah Labu Siam

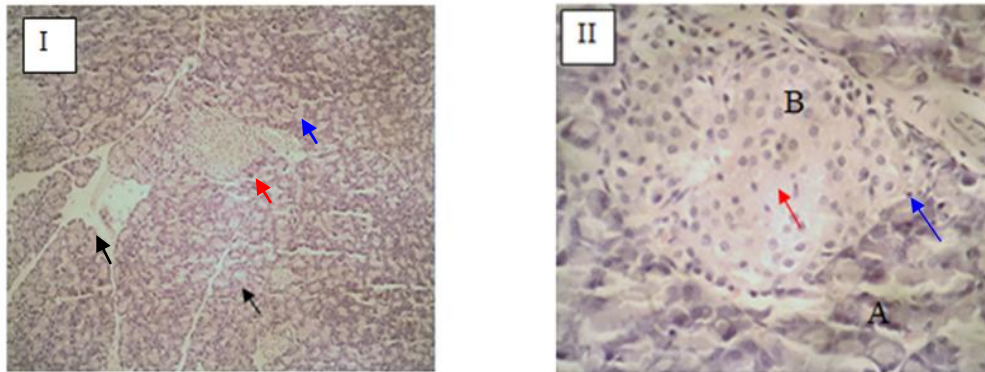
$$\% \text{ Peningkatan} = \frac{KGD \text{ hari ke-3} - KGD \text{ hari ke-0}}{KGD \text{ hari ke-0}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Peningkatan} = \frac{KGD \text{ hari ke-3} - KGD \text{ hari ke-16}}{KGD \text{ hari ke-0}} \times 100\%$$

* nilai berbeda signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif

Evaluasi kondisi diabetes melitus resistensi insulin (hari ke-9) dengan TTGO menunjukkan tikus masih menunjukkan keadaan hiperglikemik setelah pembebanan glukosa. Uji daya hipoglikemik terhadap glibenklamid menunjukkan persentase daya hipoglikemik kelompok induksi (4,41%) lebih kecil dibanding kelompok normal (26,68%). Chi *et al.*(1999) menyatakan bahwa resistensi insulin ditandai dengan rendahnya persentase daya hipoglikemik glibenklamid kelompok induksi dibanding kelompok normal.

Pengamatan terhadap histopatologi pankreas difokuskan pada kejadian perlemakan, inflamasi (insulitis) dan nekrosis pada pulau Langerhans. Pengamatan hari ke-9 memperlihatkan tikus kelompok induksi mengalami perlemakan, nekrosis dan insulitis, yang itu tidak ditemukan pada kelompok normal (tidak diinduksi). Secara umum, aktivitas aloksan dapat menyebabkan disposisi lemak di hati, otot dan pankreas (Yin *et al.*, 2004) yang mengakibatkan kondisi hiperglikemia. Perlemakan pankreas, sebagai tanda awal keadaan resistensi insulin (Kim *et al.*, 2008), mengakibatkan terjadinya inflamasi melalui aktivasi beberapa sitokin (Ngestiningsih, 2006; Marchetti, 2012). Insulitis, yaitu inflamasi karena infiltrasi limfosit ke sel pankreas, merupakan respon tubuh terhadap stress metabolik (Donath *et al.*, 2008). Akibat lanjut insulitis adalah kematian sel (nekrosis), yang tampak dengan terjadinya perubahan pada inti sel. Terjadi nekrosis sel karena mekanisme sitotoksik aloksan terhadap sel beta, melalui pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) dapat merusak membran sel. Histopatologi pankreas tikus pada hari ke-9 dapat dilihat pada Gambar 1.

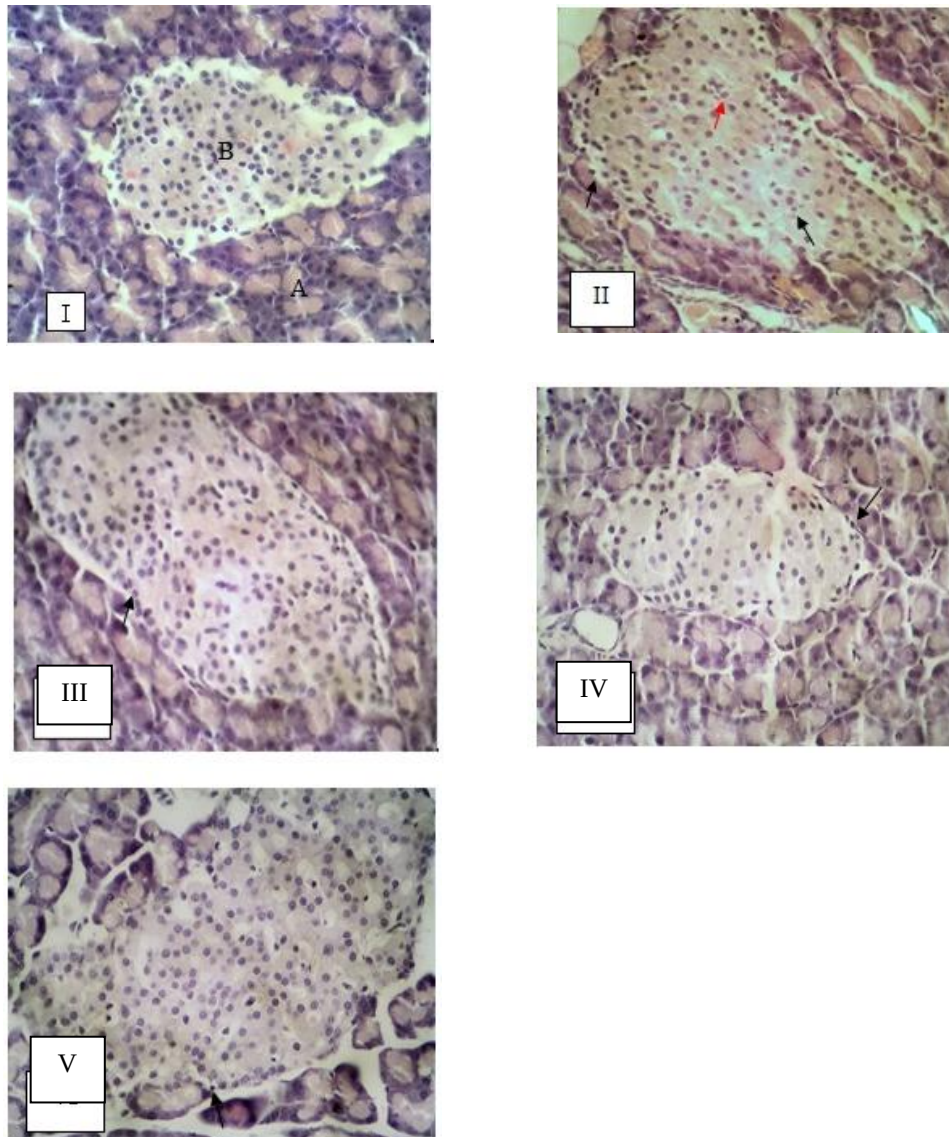


Gambar 1. Histopatologi Pankreas Tikus pada Kondisi Diabetes Melitus Resisten Insulin (Hari ke-9) dengan Perbesaran 100x (I) dan 400x (II), pewarnaan H&E.

(Keterangan : Perlemakan, Nekrosis, Limfosit, A. Sel Asinar, B. Pulau Langerhans)

Setelah pengobatan dengan fraksi etil asetat buah labu siam, ditemukan bahwa perlemakan pankreas tikus menjadi berkurang secara signifikan ($p < 0,05$) terutama pada kelompok dosis 14,36 dan 17,95 mg/kgBB. adanya sel α sinar pankreas yang tersebar di beberapa bagian jaringan pankreas yang menandakan terjadinya proses pembentukan baru sel β pankreas. Pankreas tikus diabetes diinduksi aloksan memperlihatkan adanya degenerasi hidropik dan perlemakan terutama pada kelenjar eksokrin, sedangkan pada tikus yang diobati dengan fraksi etil asetat buah labu siam kejadian tersebut lebih sedikit.

Insulitis juga tampak berkurang pada kelompok tikus yang mendapat pengobatan dengan fraksi etil asetat ketiga dosis. Infiltrasi oleh serbukan sel-sel radang seperti limfosit, sel plasma, makrofag, eosinofil dan neutrofil di sekitar pulau Langerhans lebih sedikit (insulitis ringan) dibandingkan pada kelompok tanpa pengobatan. Proses inflamasi berperan dalam regenerasi pankreas, karena saat inflamasi terjadi akan disekresikan mediator inflamasi seperti sitokin, *growth factor*, prostaglandin atau metabolit oksigen oleh sel inflamasi (makrofag dan granulosit). Mediator-mediator inflamasi tersebut memiliki peran penting dalam regulasi proses regenerasi. Penekanan proses inflamasi akan membuat proses regenerasi akan lebih menonjol (Hans, 1993). Gambaran histopatologi pankreas dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan Galur Wistar Setelah Pemberian Fraksi Etil Asetat Buah Labu Siam. Perbesaran 400x, pewarnaan H&E

Keterangan :  Neutrofil,  Limfosit. A. Asinar, B. Pulau Langerhans,
 I. Kelompok normal, pulau langerhans normal, II. Kelompok kontrol negatif, terdapat perlemakan, degenerasi hidropik, insulitis dan nekrosis, tanpa regenerasi sel beta, III-V. Kelompok fraksi etil asetat buah labu siam, masih terdapat sedikit perlemakan, insulitis sedang dan nekrosis ringan, dengan regenerasi sel beta

Pengamatan sel nekrosis memperlihatkan, jumlahnya pada kelompok tikus yang mendapat pengobatan fraksi etil asetat buah labu siam lebih sedikit dibandingkan kelompok tanpa pengobatan. Hal tersebut menunjukkan adanya aktivitas fraksi dalam mengurangi kejadian nekrosis sel. Pengurangan jumlah sel nekrosis sejalan dengan regenerasi sel, dimana

sel-sel pankreas kelompok tikus yang mendapat pengobatan fraksi memperlihatkan adanya peningkatan jumlah rerata sel beta pankreas. Data rerata persentase skoring histopatologi pankreas dapat dilihat pada Tabel II.

Tabel II. Persentase Skoring Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan Galur Wistar Setelah Pemberian Fraksi Etil Asetat Buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) pada hari ke-16

Kelompok	Perlemakan	Regenerasi
Normal	0,80 ± 0,83*	0
Kontrol Negatif	23,00 ± 4,47	0
FEBLS 10,77 mg/kg BB	20,00 ± 14,14	1
FEBLS 14,36 mg/kg BB	16,00 ± 8,94*	2
FEBLS 17,95 mg/kgBB	4,00 ± 5,48*	3

Perbaikan kerusakan pankreas diduga disebabkan oleh aktivitas senyawa aktif dalam fraksi etil asetat buah labu siam, yaitu flavonoid dan alkaloid. Aktivitas antiinflamasi senyawa flavonoid, serta aktivitas antioksidan dapat mencegah dan menghentikan kerusakan sel beta pankreas lebih lanjut. Sedangkan, dimungkinkan alkaloid berperan dalam regenerasi sel, dengan memulihkan sel beta pankreas yang mengalami kerusakan parsial (Gupta *et al.*, 2006). Pulihnya sel beta pankreas diharapkan akan memulihkan fungsinya dalam memproduksi insulin. Peningkatan jumlah insulin di dalam tubuh akan meningkatkan jumlah glukosa darah yang masuk ke dalam sel, sehingga terjadi penurunan kadar glukosa darah.

4. KESIMPULAN

Fraksi etil asetat buah labu siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) dosis 10,77; 14,36; dan 17,95 mg/kgBB dapat memperbaiki gambaran histologi pankreas, dapat mengurangi perlemakan di pulau langerhans dan meningkatkan regenerasi sel beta pancreas pada tikus putih jantan galur Wistar diabetes melitus terinduksi aloksan

5. DAFTAR PUSTAKA

- Bunga, P.O. 2012. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Labu Siam (*Sechium edule*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus. *Karya Tulis Ilmiah*. Universitas Diponegoro Semarang.
- Chi, T.C., Liu, I.M., Cheng, J.T. 1999. *Less Of Insulin Desensitization In Sympathetic Nerve Terminals From Wistar Rats With Insulin Resistance*. J. Auto. Nerv. Sys., **80** : 80-84.
- Donath, M.C., Desiree, M.S., Mirjam, F., Helga, E., Aurel, P., dan Ehses, J.A. 2008. Islet Inflammation in Type 2 Diabetes From Metabolic Stress to Therapy. *Diabetes Care American Diabetes Association*, **3** (2) : 161-164.
- Firdous, S.M., Sravanthi, K., Debnath, R., dan Neeraja, K. 2011. Protective Effect Of Ethanolic Extract and Its Ethylacetate and n-Butanol Fractions Of *Sechium edule* Fruits Againts Carbon Tetrachloride Induced Hepatic Injury In Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **4** (1). ISSN- 0975-1491.
- Greaves, P. 2000. *Histopathology of Preclinical Toxicity Studies*. Second Edition. Newyork : Elsevier Science. ISBN 0-444-50514-8.

- Gupta, M dan Neera, S. 2006. Regeneration of beta Cells in Islet of Langerhans of Pancreas of Alloxan Diabetic Rats by Acetone Extract of *Momordica charantia* (Linn) (bitter gourd) Fruits. *Indian Journal of Experimental Biology*, **45** : 1055-1062.
- Himawan, S.1998. *Patologi*.Jakarta : Universitas Indonesia Press.
- Kim, S.Y, et.al. 2009. Clinical Implications of Fatty Pancreas : Correlations Between Fatty Pancreas and Metabolic Syndrome. *World J Gastroeneterol*, **15** (15) ; 1869-1875, ISSN 1007-9327.
- Ngestiningsih, D., Santoso, dan Tjahjono,K. 2006. Trans Fatty Acid Increase Nitric Oxide Levels and Pancreatic beta-cell Necrosis in Rats.*Universa Medica*,**32** (1).