

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) PADA PROTEKSI PANKREAS TIKUS DIABETES YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Yithro Serang^{1*}, Yahya Febrianto²

^{1,2} DIII Farmasi, Akademi Farmasi Nusaputera Semarang, Indonesia

*Korespondensi: ithoserang@gmail.com

Abstraks

Pada keadaan patologik seperti diabetes, peningkatan stress oksidatif dalam tubuh akan menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan endogen dalam tubuh sehingga tubuh tidak mampu mendetoksifikasi radikal bebas dan mencegah kerusakan sel. Salah satu sumber antioksidan alami sebagai antidiabetes adalah daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas anti hiperglikemia ekstrak etanol daun jeruk nipis dan aktivitas enzim antioksidan SOD dan GPX, mengetahui kemampuan proteksi pankreas dan korelasi antara anti-hiperglikemia, antioksidan dan proteksi pankreas ekstrak etanol daun jeruk nipis.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan rancangan *post test only group design*. Subyek penelitian ini adalah 30 ekor tikus putih jantan galur Wistar yang dikondisikan DM tipe 2 dengan induksi aloksan. Tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok : kelompok I netral, kelompok II tanpa perlakuan, kelompok III kontrol positif glibenklamid 80 mg/Kg BB, Kelompok IV, V dan VI adalah kelompok perlakuan dengan dosis berturut-turut 62,5 mg/Kg BB, 125 mg/Kg BB dan 250 mg/Kg BB. Kemudian dilakukan uji aktivitas SOD dan GPX dilanjutkan dengan uji histopatologi.

Kata: Diabetes melitus tipe 2, Antioksidan, *Citrus aurantifolia*

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) adalah sekelompok penyakit yang dikarakterisasi oleh tingginya level glukosa darah sebagai akibat dari penurunan kemampuan tubuh untuk memproduksi dan atau menggunakan insulin (American Diabetes Association, 2011). Penyakit DM dapat terjadi akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya (Triplitt et al., 2005). DM menjadi salah satu penyakit terbesar di dunia. WHO memperkirakan sekitar 347 juta orang di seluruh dunia mengidap diabetes.

Diperkirakan bahwa pada tahun 2030, diabetes menjadi penyebab utama tujuh kematian di dunia. Jumlah kematian akibat diabetes diproyeksikan meningkat lebih dari 50% dalam 10 tahun ke depan. Pada tahun 2005, diperkirakan 1,1 juta orang meninggal karena diabetes, hampir 80% diantaranya terjadi di negara berpenghasilan rendah dan menengah, dan setengah dari pada orang di bawah usia 70 tahun, 55% dari kematian diabetes pada wanita (Anonim, 2012). WHO memprediksi Indonesia sebagai negara no 4 di dunia dengan jumlah

penderita DM sebesar 21,3 juta pada tahun 2030 setelah India, Cina, dan Amerika Serikat.

Penyakit DM dapat meningkatkan produksi radikal bebas oksigen melalui autooksidasi glukosa dan glikasi protein. Degradasi oksidatif dari radikal-radikal ini berperan dalam pembentukan produk peroksidasi lipid. Peningkatan kadar radikal oksigen reaktif ini disebabkan ketidaksempurnaan sistem pertahanan antioksidan atau ketidakmampuan kapasitas perbaikan kerusakan oksidatif. Pada pasien DM, hiperglikemia menginduksi terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif ini memicu terjadinya berbagai kerusakan sel (Robertson, 2004).

Peredaman stress oksidatif tersebut memerlukan antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang mampu menangkal atau meredam dampak negatif oksidan dalam tubuh. Antioksidan secara umum dikelompokkan menjadi antioksidan endogen dan eksogen. Antioksidan endogen yaitu sejumlah komponen protein dan enzim yang disintesis dalam tubuh yang berperan dalam menangkal oksidasi oleh radikal bebas. Antioksidan endogen dibagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok enzimatis (enzim superoksida dismutase (SOD), katalase, dan glutathion peroksidase) dan non enzimatis (tokoferol, karotenoid, flavonoid, quinon, bilirubin, asam askorbat, asam urat, protein pengikat logam, dan protein pengikat heme) (Winarsi 2007). Antioksidan

eksogen bersumber dari makanan, terdiri atas tokoferol (vitamin E), asam askorbat (vitamin C), karotenoid dan flavonoid. Antioksidan jenis eksogen ini dapat dimodifikasi dengan makanan dan suplemen (Basu *et al.* 1999).

Ekstrak etanol daun jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dibuktikan memiliki efek antioksidan dengan metode DPPH (Fajarwati N, 2013). Selain itu, penelitian Loizzo MR (2012) telah membuktikan ekstrak kulit dan daun jeruk nipis memiliki komposisi kimia yang memiliki aktifitas antioksidan dan antikolinesterase.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan penjelasan zat aktif dan mekanisme kerja tanaman jeruk nipis dalam menurunkan kadar gula darah dan mencegah kerusakan pankreas pada pasien DM tipe 2. Hasil penelitian ini nantinya dapat digunakan dalam pemanfaatan sediaan obat tradisional antidiabetes dan sebagai terapi pencegahan terjadinya komplikasi yang disebabkan stres oksidatif yang diinduksi hiperglikemia.

METODE PENELITIAN

Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dalam tahap penilitian dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.

Pengambilan bahan

Simplisia dibeli dalam keadaan segar di Bandung, Semarang, selanjutnya dikeringkan dan dilakukan pembuatan serbuk dengan

menggunakan mesin serbuk dan diayak dengan mesh no 40.

Ekstraksi

Ditimbang sejumlah 500 g simplisia kering, ditambah etanol 96% (3 kali bobot serbuk) kemudian dimasukkan ke dalam bejana maserasi selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Cairan hasil ekstraksi disaring dengan kertas saring. Ampas dimaserasi lagi dengan pelarut etanol, dilakukan dengan cara yang sama dan diulangi beberapa kali hingga hasil maserat yang diperoleh telah jernih. Semua ekstrak dipekatkan dengan vakum evaporator.

Pembuatan larutan aloksan dalam larutan salin 0,15 M

Larutan aloksan digunakan untuk induksi diabetes terhadap tikus putih jantan galur Wistar yang telah dipuasakan semalam. Aloksan dilarutkan dalam salin (0,15 M) dan diberikan intraperitoneal pada dosis 150 mg/kg bb.

Penyiapan hewan uji

Digunakan 30 ekor tikus putih jantan galur Wistar umur 16 minggu dengan berat antara 150-250 gram, dipelihara dalam kondisi kandang yang terjaga temperatur suhu 21°C kelembapan 55% dan diberi pakan dan air *ad libitum*. Secara acak tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok. Setiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus dan akan mendapat perlakuan yang berbeda yaitu : kelompok I adalah kelompok netral. Tikus hanya mendapat sejumlah ekuivalen CMC Na, kelompok II adalah control negatif,

tikus diinduksi aloksan tanpa perlakuan, kelompok III adalah control positif, tikus diinduksi aloksan dan diberi glibenklamid 80 mg/Kg BB, Kelompok IV, V dan VI adalah kelompok perlakuan. Tikus diinduksi dengan aloksan, dilanjutkan pemberian ekstrak etanol Daun jeruk nipis dengan dosis berturut-turut adalah 62,5 mg/Kg BB, 125 mg/Kg BB dan 250 mg/Kg BB selama 28 hari.

Pengujian aktivitas efek anti hiperglikemik

Tikus ditimbang dan dikelompokkan, dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam. Tujuan penimbangan berat badan ini adalah untuk mengetahui pertambahan berat badan tikus selama perlakuan. Pada hari pertama dilakukan pengambilan darah awal untuk pengukuran kadar glukosa darah awal (T_0) sebelum tikus diberi perlakuan. Sampel darah diambil dari vena lateral ekor tikus dengan cara menusuk ekor tikus, kemudian darah diteteskan pada strip yang telah dipasang pada glukometer, ditunggu 11 detik dan sampel darah bisa terbaca. Pada hari itu juga diberikan larutan aloksan monohidrat 125 mg/kg bb tikus secara intraperitoneal. Setelah 4 hari induksi dengan larutan aloksan, hewan uji yang positif diabetes melitus (kadar gula darah > 200 mmHg) dikelompokkan kemudian diambil darahnya untuk pengukuran kadar glukosa darah hari pertama (T_1). Pengambilan darah dilakukan pada pembuluh darah ekor tikus.

Masing-masing kelompok diberi suspensi CMC 0,5 % (kontrol negatif), suspensi glibenklamid 0,45 mg/ kg bb tikus (kontrol positif), suspensi ekstrak etanol daun jeruk nipis dengan dosis berturut-turut adalah 62,5 mg/Kg BB, 125 mg/Kg BB dan 250 mg/Kg BB (kelompok perlakuan) selama 28 hari. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-7 (T2), hari ke-14 (T3), hari ke-21 (T4) dan hari ke-28 (T5).

Uji Histopatologi

Pada hari ke -28 tikus dikorbankan dengan pentobarbital Na. Pankreas diambil, dibersihkan, dikeringkan dan diproses untuk uji histopatologi.

Analisis Hasil

Data kualitatif diperoleh dari hasil gambar histopatologi jaringan

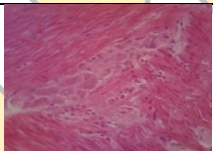
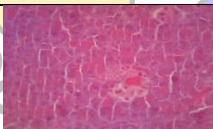
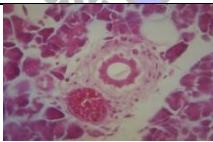
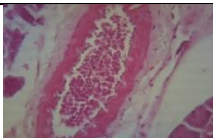
pankreas dengan pewarnaan hematoxaline dan eosine dapat dilihat masa sel islet beta pankreas.

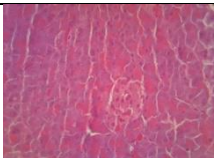
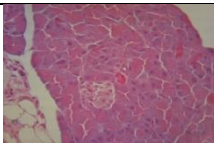
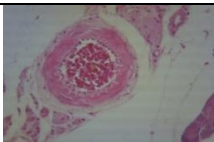
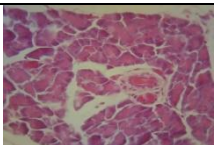
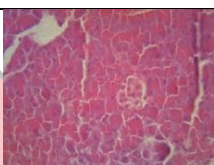
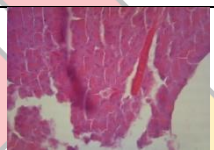
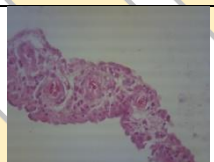
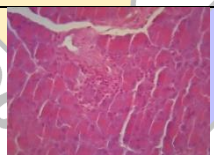
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengukuran Pankreas Tikus

Aktivitas ekstrak etanol daun jeruk nipis melindungi dan memperbaiki sel islet beta pankreas yang rusak karena stres oksidatif dievaluasi dengan mengukur diameter sel islet beta pankreas. Sel islet beta pankreas yang rusak ditandai dengan terjadinya nekrosis pada sel, hiposelularitas, densitas, kekompakan dan diameter mengecil. Hasil uji histopatologi jaringan pankreas dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji histopatologi jaringan pancreas

No	Nama Hewan Uji	Perbesaran 10
1	Kontrol normal	
	Kontrol normal	
2	Kontrol negatif (CMC 0,5%)	
	Kontrol negatif (CMC 0,5%)	

3	Kontrol positif (Glibenklamid 0,45 mg/ kg BB tikus)	
	Kontrol positif (Glibenklamid 0,45 mg/ kg BB tikus)	
4	Ekstrak etanol daun jeruk nipis dosis 62,5 mg/Kb BB tikus	
	Ekstrak etanol daun jeruk nipis dosis 62,5 mg/Kb BB tikus	
5	Ekstrak etanol daun jeruk nipis dosis 125 mg/Kb BB tikus	
	Ekstrak etanol daun jeruk nipis dosis 125 mg/Kb BB tikus	
6	Ekstrak etanol daun jeruk nipis dosis 250 mg/Kg BB tikus	
	Ekstrak etanol daun jeruk nipis dosis 250 mg/Kg BB tikus	

Dari hasil uji histopatologi didapatkan terdapat perbedaan ukuran diameter sel islet pada masing-masing kelompok uji dibandingkan dengan kelompok normal. Mengecilnya diameter sel islet Langerhans dipengaruhi tiga faktor, yaitu yang

pertama, rusaknya sel beta pankreas karena toksisitas aloksan sehingga sel mengalami nekrosis dan hiposelularitas, kedua karena hiperglikemia kronis menyebabkan stres oksidatif yang tidak diimbangi dengan peningkatan enzim SOD dan

GPX sebagai mekanisme pertahanan, ketiga karena produksi ROS yang berlebihan akan menekan pankreas deudenalhomeobox factor-1 (PDx-1) yaitu gen pengkode transkrip spesifik yang berfungsi menjaga fungsi normal sel islet sehingga menghambat proliferasi sel islet yang normal maupun yang rusak.

DAFTAR PUSTAKA

- [ADA]. 2011. Standards of medical care in diabetes, diabetes care. Supplement_1. *American Diabetes Association Journal*. Volume 34:512
- [ADA]. 2012. Standards of Medical Care in Diabetes. *American Diabetes Association Journal*. Vol. 35.
- Aliyan AH. 2012. Uji penghambatan aktivitas alfa glukosidase dan identifikasi golongan senyawa kimia dari fraksi aktif ekstrak biji mahoni. [Skripsi]. Jakarta: FMIPA, UI.
- Arisman MB. 2011. *Obesitas, Diabetes Millitus dan Dislipidemia Konsep, Teori dan Penanganan Aplikatif*. Jakarta: EGC.
- Bennet, B. 2008. *Clinic Pharmacology*. USA: Chuchill livingstone Elsevier.
- Bhattacharya S, Manna P, Gachhui R, Parames C. 2011. D-saccharic acid-1,4-lactone ameliorates alloxan-induced diabetes mellitus and oxidative stress in rats through inhibiting pancreatic beta-cells from apoptosis via mitochondrial dependent pathway. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 257 (2011) 272–283.
- Chrissman JW. 2004. Best Practices Guideline: Toxicologic Histopathology. *Society of toxicologic pathology guideline*. 32(1): 126-131.
- Corrado. 2013. Optimization and characterization of a bioartificial pancreas. *Journal of undergraduated research*. 14:3.
- DiPiro JT, Talbert RL, Yee GC, Matzke GR, Wells BG, Posey LM. 2008. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. Seventh Edition. New York: McGraw-Hill.
- Erejuwa O et al. 2010. Antioxidant protective effect of Glibenclamide and Metformin in combination with honey in pancreas of Streptozotocin induced Diabetic rats. *Int. J. Mol. Sci*. 11: 2056-2066.

- Fajarwati N. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan Menggunakan Metode DPPH. [*Laporan Penelitian*]. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Guyton AC, Hall JE. 2006. *Text Book of Medical Physiology*. Ed 11. Philadelphia: Elsevier Inc.
- Hagerman AE. 2002. *Tannin Handbook*. Miami: Miami University.
- Halliwell B. 2006. Reactive species and antioxidants: Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol*. Vol. 141:312-322.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Edisi II. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Ikawati Z. 2008. *Pengantar Farmakologi Molekuler*. Gadjah mada University Press. 25-26.
- Loizzo MR, Tundis R, Bonesi M, Menichini F, De Luca D, Colica C. 2012. Evaluation of *Citrus aurantifolia* peel and leaves extracts for their chemical composition, antioxidant and anti-cholinesterase activities. *J Sci Food Agric*. 92 (15): 2960-7.
- Monroy ML, Mejia CF. 2013. Oxidative stress in Diabetes Mellitus and the role of vitamins with antioxidant actions. *Mexico Ntech*. 9:210-215.
- Reddy LJ, Jalli RD, Jose B, Gopu S. 2012. Evaluation of Antibacterial & Antioxidant Activities of The Leaf Essential Oil & Leaf Extract of *Citrus Aurantifolia*. *Asian Journal of biochemical and Pharmaceutical Research*. 2:346-53.