

## HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS (*Rattus norvegicus*) DIABETES MELITUS YANG DIBERI EKSTRAK ETANOL BAWANG BATAK (*Allium chinense* G.Don)

Tri Novitashari<sup>1</sup>, Husnarika Febriani<sup>2</sup>, Rasyidah<sup>3</sup>, Syukriah<sup>4</sup>.

Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Sumatera Utara Medan

Email : trinovitashari721@gmail.com

### ABSTRACT

Diabetes mellitus occurs due to insulin resistance and disruption of insulin secretion. Bawang Batak (*Allium chinense* G.Don) is a herbal plant that is often used by the community as a traditional medicine for the treatment of diabetes mellitus, but there have been no preclinical studies. This study aims to determine the effect of bawang batak extract on the histopathology of the pancreas of alloxan-induced diabetes mellitus rats. This study used rats as experimental animals which were divided into 6 groups (normal control, negative control, metformin group, P1:bawang batak extract dose 250 mg/kg, P2:500 mg/kg, and P3:750 mg/kg), with 4 repetitions. The histological preparations of pancreas were made using the paraffin method with hematoxylin-eosin staining. Data were analyzed using one-way ANOVA and Duncan's test. The statistical results showed that there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) in the diameter and area of islet langerhans between the control group and the treatment group. The diameter and area of islet Langerhans improved when compared to the negative control group. It can be concluded that the onion extract has an effect on the improvement of pancreatic in rats with diabetes mellitus and the most effective dose of bawang batak extract is 500 mg/kg.

**Keywords:** Diabetes Melitus, Pancreas, Batak Onion (*Allium chinense* G.Don)

### PENDAHULUAN

Diabetes melitus adalah kelainan metabolisme yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah karena resistensi insulin atau berkurangnya produksi insulin (Bilous and Donnelly, 2015). Tubuh yang kekurangan insulin atau insulin mengalami disfungsi akan memengaruhi proses pemecahan makanan yang membuat kelebihan glukosa tidak dapat disimpan dan tertimbun di aliran darah sehingga penderita diabetes akan mengalami hiperglikemia (Fox dan Kilvert, 2010). Data yang diperoleh dari *International Diabetes Federation* (IDF) pada tahun 2019 menunjukkan penderita diabetes di seluruh dunia berjumlah 463 juta jiwa dan akan mengalami peningkatan sebanyak 51 % di tahun 2030-2045 (IDF *Diabetes Atlas*, 2019). Diabetes melitus menyebabkan 1,5 juta kematian pada tahun 2012 dan 43 % kematian ini terjadi sebelum usia 70 tahun (WHO *Global Report*, 2016). Pada umumnya terapi yang digunakan untuk penanganan diabetes melitus diantaranya penyuntikan insulin untuk membantu mengembalikan homeostatis glukosa darah (Kelly *et al*, 2011) dan obat oral antidiabetik (Barbosa *et al*, 2013).

Penggunaan obat oral antidiabetik dapat menimbulkan efek samping yang berkelanjutan (Amjad *et al*, 2019). Akibat efek samping dari obat oral antidiabetik tersebut membuat para peneliti mulai mencari alternatif

pengobatan lain untuk penderita diabetes. Pengobatan tradisional yang menggunakan tanaman herbal kemudian ditemukan sebagai obat alternatif untuk penanganan penyakit salah satunya diabetes (Rehman *et al*, 2018). Salah satu tanaman herbal lainnya yang berpotensi sebagai obat adalah bawang batak (*Allium chinense* G.Don). Bawang batak mempunyai kandungan senyawa steroid yang dapat menekan stress oksidatif (Ren *et al*, 2010). Kandungan spirostanol saponin dari bawang batak menunjukkan hasil yang baik sebagai anti-inflamasi dan anti-proliferasi (Wang *et al*, 2016). Senyawa kimia yang terkandung dalam bawang batak ini membuat bawang batak berpotensi sebagai alternatif pengobatan herbal untuk berbagai penyakit salah satunya diabetes melitus.

### METODE PENELITIAN

#### Bahan

Bahan yang digunakan dalam proses ekstraksi dan skrining fitokimia ekstrak antara lain bawang batak (*Allium chinense* G.Don), etanol 96 %, bouchardat, maeyer, dragendroff, wagner, salkowsky, lieberman-burchad, aquadest, FeCl<sub>3</sub> 5 %, HCl, logam Mg, NaOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub> 1 % dan mollish. Bahan pada pengujian hewan coba dan pembuatan preparat terdiri dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan umur 2-3 bulan dengan berat  $\pm$  200 g yang diperoleh dari Animal House

Riwandi, CMC Na, aloksan, sekam padi, pakan pellet, air, NaCL fisiologis 0,9 %, BNF 10 %, alkohol absolut, xylol, parafin, alkohol bertingkat 30 % - 90 dan *Hematoksilin-Eosin*.

#### Alat

Alat yang digunakan untuk hewan coba yaitu lima buah kandang plastik polipropilen 40 x 60 cm, sonde lambung, jarum suntik, timbangan digital, sarung tangan, kapas, toples, bak bedah, dissecting set, jarum pentul, cawan petri, kertas label, *Blood Glucose Test Meter*, strip glukometer. Bahan pada pembuatan ekstrak bawang batak terdiri dari gelas ukur, oven, timbangan digital, blender, saringan, spatula, corong Buchner, pompa hisap, *rotary evaporator*, labu pisah, kertas saring, dan lemari pendingin. Preparasi histologi menggunakan alat seperti *dissecting set*, *object glass*, *cover glass*, *tissue processor*, mikrotom, *cassette tissue*, *parafin mold*, *staining jar*, botol flakon, jarum suntik, dan mikroskop.

#### Prosedur Penelitian

Ekstrak bawang batak dibuat dengan cara maserasi. Bawang batak yang telah dikeringkan kemudian dihaluskan dengan blender sampai menjadi bubuk. Bubuk bawang batak disaring sehingga terpisah dari kotoran yang masih ada. Proses ekstraksi dilakukan dengan merendam bubuk bawang batak dengan etanol 96 %. Selama proses perendaman dilakukan pengadukan setiap 3 jam. Hasil rendaman yang sudah 24 jam kemudian disaring untuk mendapatkan filtrate ekstrak bawang batak. Filtrat bawang batak kemudian diproses di *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental bawang batak.

Sebanyak 24 hewan coba tikus putih jantan dengan berat  $\pm 200$  gram diaklimatisasi selama 1 minggu dengan diberi pakan standard dan minum. Hewan coba dibagi menjadi 6 kelompok dimana kelompok normal tidak diinjeksi aloksan dan kelompok kontrol negatif, kontrol metformin, serta perlakuan dosis ekstrak dosis bawang batak 250 mg/kg BB, 500 mg/kg BB, dan 750 mg/kg BB diinjeksi aloksan 120 mg/kg BB secara intraperitoneal untuk membuat keadaan diabetes pada hewan coba. Perlakuan kontrol metformin dan kelompok dosis ekstrak bawang batak dilakukan dengan metode oral sonde setelah hewan coba dalam keadaan diabetes.

Hewan coba diberi perlakuan selama 14 hari. Hewan coba kemudian dibedah dan diambil organ pankreas untuk proses pembuatan preparat histologi dengan metode paraffin. Organ pankreas diambil secara utuh, dicuci dengan larutan fisiologis 0,9 % dan dimasukkan ke larutan BNF 10 % untuk proses fiksasi. Organ yang telah difiksasi akan melalui proses dehidrasi, clearing, dan infiltrasi paraffin di mesin *tissue processor*. Organ

kemudian di embedding lalu di lakukan *sectioning* dengan ketebalan 3  $\mu$ m. Tahap akhir dari proses preparasi histologi ini memasuki yaitu tahap deparafinasi, pewarnaan hematoksilin-eosin, dan *mounting*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Ekstrak Bawang Batak Terhadap Histopatologi Pankreas Tikus

Adapun hasil perbandingan masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 1. Berdasarkan tabel 1 didapatkan hasil bahwa ada perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) pada setiap kelompok. Hal ini dilihat dari nilai rata-rata dan standar deviasi setiap kelompok untuk masing-masing parameter. Nilai rata-rata tertinggi berada di kontrol normal (KN) dan terendah kontrol negatif (K-). Nilai rata-rata kelompok K+, P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, dan P<sub>3</sub> yang menjadi kelompok perlakuan obat oral dan ekstrak bawang batak menunjukkan adanya pengaruh terhadap perbaikan diameter dan luas pulau langerhans.

Tabel 1 : Pengukuran Histomorfometri Pankreas Tikus

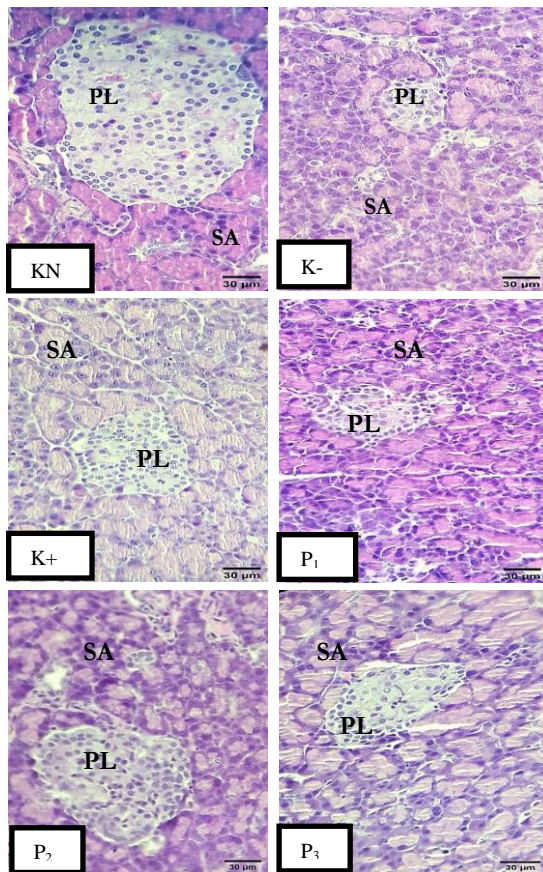
Kelompok Perlakuan	Parameter (Rata-Rata ( $\mu$ m) $\pm$ SD)		
	Diameter langerhans	Pulau	Luas Pulau Langerhans
KN	136,61 $\pm$ 14,7 <sup>d</sup>		15961,35 $\pm$ 1724,71 <sup>e</sup>
K-	62,57 $\pm$ 1,15 <sup>a</sup>		5980,41 $\pm$ 2278,03 <sup>a</sup>
K+	69,40 $\pm$ 2,55 <sup>ab</sup>		7710,85 $\pm$ 133,76 <sup>ab</sup>
P <sub>1</sub>	68,93 $\pm$ 5,88 <sup>ab</sup>		7436,71 $\pm$ 1169,26 <sup>ab</sup>
P <sub>2</sub>	87,26 $\pm$ 9,53 <sup>c</sup>		10128,32 $\pm$ 2664,76 <sup>b</sup>
P <sub>3</sub>	76,43 $\pm$ 7,26 <sup>bc</sup>		8284,92 $\pm$ 1924,76 <sup>ab</sup>

**Keterangan :** SD : standar deviasi, abc : huruf yang menunjukkan beda signifikan ( $p < 0,05$ ), KN : kontrol normal, K- : kontrol negatif, K+ : kontrol metformin, P<sub>1</sub> : dosis 250 mg/kg BB, P<sub>2</sub> : dosis 500 mg/kg BB, P<sub>3</sub> : dosis 750 mg/kg BB

Pada perbandingan kelompok perlakuan dosis ekstrak bawang batak P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, dan P<sub>3</sub> menunjukkan hasil kelompok P<sub>2</sub> mempunyai nilai perbaikan di atas kelompok P<sub>1</sub> dan P<sub>3</sub>. Penurunan nilai diameter pulau langerhans ada di kontrol negatif yang berarti diberi perlakuan aloksan untuk kondisi diabetes sebesar 65,23  $\pm$  23,12. Nilai dari kontrol normal dan kontrol negatif dari luas pulau Langerhans pada penelitian ini hampir mendekati dengan nilai pada penelitian ini Zahara (2018) yang menunjukkan nilai terbesar pada kontrol normal sebesar 19004,98  $\pm$  1,91 dan nilai penurunan luas terendah pada kontrol negatif sebesar 900,48  $\pm$  173,92.

### Deskripsi Gambaran Histologi Pankreas Tiap Kelompok

Perubahan diameter dan luas pulau langerhans yang menjadi parameter dalam penelitian ini dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2** : Histologi Pankreas Tiap Kelompok (Perbesaran 400x)

**Keterangan** : KN : kontrol normal, K- : kontrol negatif, K+ : kontrol metformin, P<sub>1</sub> : ekstrak bawang batak 250 mg/kg BB, P<sub>2</sub> : dosis ekstrak bawang batak 500 mg/kg BB, P<sub>3</sub> : dosis ekstrak 750 mg/kg BB, PL : pulau langerhans, SA : sel asinar.

Gambaran histologi pankreas tikus setiap kelompok mengalami perbedaan yang sangat jelas terutama pada bagian pulau langerhans. Gambaran histologi kontrol normal pankreas (KN) terlihat adanya pulau langerhans yang memiliki diameter dan luas yang besar. Batas antara pulau langerhans dan sel asinar melalui pewarnaan hematoxilin-eosin terlihat jelas. Pengamatan histologi pada kelompok normal (KN) hampir sama dengan penelitian Yaturramadhan (2020) yang pada kelompok normalnya menunjukkan sel endokrin di pulau langerhans tersusun rata dan teratur, inti sel terlihat jelas, tidak ada endema, dan nekrosis tidak terlihat pada sel.

Gambaran histologi pankreas tikus kontrol negatif (K-) menunjukkan adanya perubahan yang terjadi pada pulau langerhans. Batas antara pulau langerhans dan sel asinar masih jelas namun ukuran pulau langerhans terlihat lebih kecil dari pada kontrol normal (KN). Hal ini dikarenakan pada kontrol negatif (K-) diberi injeksi aloksan untuk membuat kondisi hiperglikemia pada hewan coba. Aloksan adalah senyawa hidrofilik dan tidak dapat melewati membran sel tanpa perantara dari protein transporter spesifik. Aloksan bersifat tidak stabil

dengan bentuk molekul yang menyerupai glukosa. Aloksan memasuki membran sel melalui cara yang sama dengan glukosa yaitu melalui transpor glukosa (GLTU2). Mekanisme pertama penghambatan pada glukokinase dan mekanisme kedua pembentukan siklus spesies oksigen reaktif (ROS). Glukokinase pada hati penting untuk proses penyimpanan glukosa dalam bentuk glikogen, sedangkan di sel  $\beta$  berfungsi sebagai sensor glukosa dan kontrol sekresi insulin. Penghambatan glukokinase yang kuat dari aloksan menyebabkan kurangnya oksidasi glukosa dan pembentukan ATP yang selanjutnya akan menekan sekresi insulin (Radenkovic *et al*, 2015). Adanya tiol (-SH) intraseluler, terutama glutathione aloksan menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) dalam reaksi redoks siklik dengan produk reduksi asam dialurat. Autooksidasi asam dialurat menghasilkan radikal superoksida serta hidrogen peroksida yang kemudian bereaksi katalis terhadap senyawa besi yang menghasilkan radikal hidroksil. Radikal hidroksil ini akan bereaksi dengan DNA sehingga memicu kerusakan DNA dan pada akhirnya sel akan berlanjut kepada kematian sel (Lenzen, 2008).

Gambaran histologi pankreas pada kontrol metformin (K+) terlihat batas antara pulau langerhans dan sel asinar masih jelas. Pulau langerhans lebih besar dari kontrol negatif (K-). Mekanisme kerja dari metformin memberikan pengaruh hanya pada penurunan kadar glukosa darah diperifer dan pada histologi pankreas masih terdapat nekrosis (Yanti *et al*, 2019). Pada penelitian Prameswari *et al* (2014) didapatkan bahwa pada kelompok tikus diabetes yang diberi metformin masih terdapat nekrosis dan degenerasi pada sel. Ini disebabkan karena metformin memberikan reaksi terhadap kerja insulin dan menekan produksi glukosa darah bukan pada sel-sel  $\beta$  pada pankreas sehingga kurang berpengaruh pada morfologi histologi pankreas. Pada gambaran histologi kelompok perlakuan dosis 250 mg/kg BB (P<sub>1</sub>), dosis 500 mg/kg BB (P<sub>2</sub>), dan dosis 750 mg/kg BB (P<sub>3</sub>) terlihat adanya peningkatan pada luas dan diameter pulau langerhans. Peningkatan luas dan diameter pulau langerhans kelompok P<sub>2</sub> dan P<sub>3</sub> lebih besar dari P<sub>1</sub>. Peningkatan luas dan diameter pulau langerhans pada dosis perlakuan disebabkan adanya respon yang baik dari senyawa metabolit sekunder bawang batak seperti flavonoid dan alkaloid. Alkaloid dapat memicu terjadinya regenerasi sel  $\beta$  yang rusak akibat pemberian aloksan (Yanti *et al*, 2019). Selain alkaloid senyawa flavonoid juga dapat menjadi antioksidan dan meminimalisir stres oksidatif yang berpengaruh pada nekrosis sel pasca pemberian aloksan untuk kondisi hiperglikemia (Hermawati *et al*, 2020). Pada saat konsentrasi gula darah meningkat, sel  $\beta$  dari pankreas endokrin melepaskan hormon insulin yang mengontrol tingkat glukosa ke aliran darah. Penurunan

dan disfungsi sel  $\beta$  pankreas menyebabkan perkembangan diabetes dengan stress metabolisme. Flavonoid akan melakukan perlindungan terhadap kerusakan sel  $\beta$ , peningkatan proliferasi sel  $\beta$ , dan memperbaiki sekresi insulin (Chen *et al*, 2015). Pada diabetes pemberian flavonoid meningkatkan kapasitas antioksidan sel  $\beta$  dengan meningkatkan antioksidan enzimatis (katalase, glutathione, peroksidase, transferase, dan superoksida dismutase) dan non-enzimatis. Senyawa lainnya seperti tanin yang terkandung dalam bawang batak dapat memengaruhi kondisi diabetes melalui penekanan nutrisi dengan penghambatan penyerapan glukosa di usus serta menginduksi regenerasi sel  $\beta$  pankreas yang berefek pada sel adiposa sehingga meningkatkan aktivitas insulin (Kumari dan Jain, 2012).

## DAFTAR PUSTAKA

- Bilous, R., dan Donnelly, R. 2015. *Buku Pegangan Diabetes Edisi Ke-4*. Jakarta : Penerbit Bumi Medika.
- Fox, C., dan Kilvert, A. 2010. *Bersababat dengan Diabetes Melitus Tipe 1*. Jakarta : Penerbit Plus+.
- International Diabetes Federation. 2019. *IDF Diabetes Atlas Ninth Edition*. IDF World.
- World Health Organization. 2016. WHO Global Report. WHO World.
- Kelly, C., Cara, C, S, F., dan Neville H, M. Review Article : Stem Cell-Based Approaches for The Treatment of Diabetes. *Stem Cell International*.
- Barbosa, A,P,O., dSilveira,G,O., Menezes, I,A,C., Neto, J,M,R., Bitencurt, J,L,C.,...Santos,M,R,V. 2013. Antidiabetic Effect Of The *Chrysobalanus icaco* L Aqueous Extract In Rats. *Journal Of Medicinal Food*. Vol 16. No.6. pp : 538-543.
- Amnjad, S., Asif, J., Sharma, A,K., dan M, S. 2019. A Novel Strategy of Nanotized Herbal Drugs and Their Delivery in the treatment of Diabetes : Present Status and Future Prospects. *Journal of Herbal Medicine*.
- Rehman, G., Hamayun, m., Iqbal, A., Islam,S,U., Arshad,S., Zaman, K., Ahmad,A., Shehzad, A., Hussain, A., dan Lee,I. 2018. In Vitro Antidiabetic Effects And Antioxidant Potential Of *Cassia nemophila* Pods. *BioMed Research International*.
- Wang, Y., Chuan, L., Limin, X, Wenjie, H., Xiangjiu, H. 2016. Spirostanol saponins from Chinese onion (*Allium chinense*) Exert Pronounced Anti-Inflammatory and Anti-Proliferative Activities. 2016. *Journal of Functional Food Elsevier*
- Yaturramadhan, Hasni. 2020. Pengaruh Ekstrak Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine bulbosa* (Mill) Urb) Terhadap Kadar Glukosa Darah, Insulin, Dan Histopatologi Pankreas Tikus Wistar Diabetes Yang Diberikan Diet Tinggi Lemak Dan Diinduksi Dengan Streptozotocin. Tesis Magister Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.
- Radenkovic, M., Stojanovic, M., Prostran, M. 2015. Experimental Diabetes Induced By Alloxan And Streptozotocin : The Current State Of The Art. *Journal Of Pharmacological And Toxicological Methods*.
- Lenzen, S. 2008. Review : The Mechanisms Of Alloxan- And Streptozotocin-Induced Diabetes. *Diabetologia*. 51:216-226. *Springer-Verlag*.
- Yanti, E, D., Dewi, N,W,S., Jawi, I,M. 2019. Kombinasi Ekstrak Sambiloto Dengan Metformin Lebih Baik Dalam Memperbaiki Sel Beta Pulau langerhans Dari Pada Metformin Tunggal Pada Tikus Diabetes. *E-Jurnal Medika*.
- Prameswari, O,K., dan Simon, B,W. 2014. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Dan Histopatologi Tikus Diabetes Melitus. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*. Vol. 2 (2). pp : 24-25.
- Hermawati, C,M., Sitaswi, A,J., Jannah, S,N. 2020. Studi Histologi Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L) Setelah Pemberian Cuka Dari Kulit Nanas (*Ananas comosus* L.Merr). *Jurnal Pro-Life*. Vol 7(1). Pp : 67-68
- Chen, J., Mangelinckx, S., Adams, A., Wang, Z., Li, W., dan Kimpe, N,D. 2015. Natural Flavonoids As Potential Herbal Medication For The Treatment Of Diabetes Mellitus And Its Complications. *Natural Product Communications*. Vol 10 (1). pp : 187-200.
- Kumari, M and Jain, S. 2012. Tannins : An Antinutrient With Positive Effect To Manage Diabetes. *Research Journal Of Recent Science*. Vol 1(12) : 70-1.