

Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Pankreas Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Aloksan

Aried Eriadi¹⁾, Rahimatal Uthia¹⁾, Rika Novita¹⁾

¹⁾ Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang
aried.eriadi@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh ekstrak etanol daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap kadar glukosa darah dan gambaran histopatologi pankreas. Hewan dibagi atas 5 kelompok yang terdiri dari kontrol negatif, kontrol positif, kelompok dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB. Hewan diinduksi aloksan dengan dosis 200 mg/kg BB secara intraperitoneal. Ekstrak diberikan selama 7 hari secara oral. Hasil penelitian yang dianalisis dengan ANOVA satu arah menunjukkan penurunan pada kadar glukosa darah secara signifikan ($P<0,05$) dan gambaran histopatologi memperlihatkan adanya perbaikan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) dengan dosis 200 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki gambaran pankreas yang telah rusak dengan lebih bagus dibandingkan dengan dosis yang lain.

Kata Kunci : Blumea Balsamifera, Glukosa Darah, Histopatologi Pankreas

ABSTRACT

This study aims to examine the effect of ethanol extract of sembung leaf (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) on blood glucose levels and pancreatic histopathology. The mice devided into five groups ; negative control, positive control, dose group 50 mg/kg BW, 100 mg/kg BW, 200 mg/kg BW. The mice induced by alloxan 200 mg/kg BW intraperitoneally. Extract administrated for 7 days orally. The result data were analyzed by one-way ANOVA showed the decrease of blood glucose leve significantly ($P<0,05$) and the histopathologic features showed the improvement. This study showed that administrated of ethanol extract of sembung leaf (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) by dose 200 mg/kg BW decreased the blood glucose level and improved the pancreatic histopathologic features better the other dose.

Keywords :Blumea Balsamifera, Blood Glucose, Pancreatic Histopathology

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah suatu penyakit metabolismik yang ditandai dengan adanya hiperglikemia, yang disebabkan oleh kurangnya produksi insulin, resistensi insulin, atau keduanya (Dipiro *et al.*, 2011). Umumnya DM digolongkan menjadi DM tipe 1 dan DM tipe 2. DM tipe 1 (*insulin dependent diabetes mellitus*) diderita oleh 5-10 % dari penderita DM, terjadi karena adanya kerusakan sel beta pankreas dan menyebabkan ketergantungan insulin seumur hidup, sedangkan DM tipe 2 (*non insulin dependent diabetes mellitus*) diderita oleh 90-95 % penderita DM, terjadi karena adanya resistensi insulin, kurangnya produksi insulin, atau keduanya (Dipiro *et al.*, 2011).

Banyak penelitian yang telah dilakukan untuk mengobati penyakit DM dengan menggunakan tanaman obat. Diantaranya dengan menggunakan ekstrak daun *Eugenia polyantha* (Studiawan & Santosa, 2005) menyebutkan bahwa salah satu senyawa yang terkandung dalam daun *Eugenia polyantha* adalah flavonoid yang bertindak sebagai penangkap radikal bebas sehingga dapat mencegah aksi diabetogenik dari aloksan. Ariani dan Linawati (2016) melaporkan bahwa jus buah pisang ambon yang juga mengandung flavonoid memiliki aktivitas antihiperglykemik pada tikus. Pada penelitian Prameswari, *et al.*, (2014) dengan judul “Uji Efek Ekstrak Air Daun

Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Melitus” menyebutkan bahwa ekstrak air daun pandan wangi dapat menurunkan kadar glukosa darah namun tidak lebih efektif dari pada metformin, tetapi dapat memperbaiki kerusakan jaringan pankreas dengan lebih baik. Adapun senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak air daun pandan wangi diantaranya adalah tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol.

Daun sembung adalah salah satu tanaman obat tradisional yang banyak digunakan masyarakat sebagai obat demam dan diare, selain itu juga diindikasikan untuk rematik sendi, persendian yang sakit setelah melahirkan, nyeri haid, batuk, sariawan, dan kencing manis (Dalimarta, 1999; Soedibyo, 1998). Beberapa penelitian yang sudah pernah dilakukan diantaranya Nessa *et al.*, (2005) berhasil mengisolasi flavonoid dari ekstrak daun sembung serta menguji aktifitas anti radikal superokksida. Ali *et al.*, (2004) juga berhasil mengisolasi flavonoid dari daun sembung.

Selain kaya akan flavonoid, daun sembung juga memiliki kandungan sepotisaponin, tanin, flavonol, dan minyak atsiri. (Soedibyo, 1998; BPOM RI, 2006). Berdasarkan hal ini peneliti tertarik untuk meneliti tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol daun sembung terhadap kadar glukosa darah serta histopatologi pankreas mencit.

METODE PENELITIAN

Alat Dan Bahan

ALAT

Alat-alat yang digunakan adalah sonde, sput 5 cc (Terumo), timbangan analitik (Ohaus), rotary evaporator (Ika), gelas ukur (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki), waterbath (Memmert), corong (Iwaki), batang pengaduk (Iwaki), pipet mikro (Bio-rad), piknometer (Iwaki), photometer 5010 V5+ (Riele), kaca arloji (Normax), cover glass, kaca objek (Sail Brand), rotary

microtom (Leica Biosistems RM2125 RTS), plat KLT Sillika Gel 60 F254 (Merck), krus porselen, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), Lampu UV(Camag), Tissue Processor (Otomatis Histologi T Jaringan Processor JH-TSGA), Tissue Embedding Center (Dispensing Console EC350-1), mikroskop (Olympus BX 51 DP2- BSW DP 20), tabung hematokrit (Nesco), moisture balance (Ohaus).

BAHAN

Bahan yang digunakan adalah daun sembung, etanol 70 % (PT Bratacem), serbuk glukosa (PT Bratacem), air sulung (PT Bratacem), induksi aloksan monohidrat (Aldin), NaCl fisiologis 0,9 % (PT Widatra Bhakti), alkohol 70 % (PT Bratacem), alkohol 96 % (PT Bratacem), formalin 37 % (PT Bratacem), pewarna Haematoxyllin (SPI-Chem), Eosin (The SCIENCE Company), xylol (Merck), Mayer's albumin (DiaSys), parafin (Merck), dan perekat etellan (Merck), Natrium Carboxy methyl cellulose (NaCMC) (PT Bratacem), raksa klorida (Merck), kalium iodida (Merck), asam klorida anhidrat (Merck), kloroform (PT Bratacem), asam sulfat pekat (Merck), reagen pemeriksaan glikosa darah (PT Rajawali Nusindo), kaempferol (Merck), serbuk magnesium sulfat (Merck), asam asetat anhidrat (Merck), asam borat (Merck), n-Heksan (PT Bratacem), etil asetat (PT Bratacem), asam format (PT Bratacem), asam sitrat (Merck), alumunium klorida (Merck), natrium asetat (Merck).

Cara Kerja

• Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) sebanyak 3 kg yang diperoleh dari Koto Jaya, Kecamatan Kota Mukomuko, Kabupaten Mukomuko, Provinsi Bengkulu.

• Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA), Jurusan Biologi FMIPA Universitas

Andalas Kampus Limau Manih Padang, Sumbar.

- **Pembuatan Ekstrak Daun Sembung**

Sebanyak 200 gram serbuk kering simplisia dimasukkan ke dalam maserator, dan ditambahkan 2 L etanol 70 %. Kemudian direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, dan didiamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara filtrasi menggunakan kain flanel. Proses penyarian dilakukan sebanyak tiga kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Kemudian semua maserat dikumpulkan, dan diuapkan dengan vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

- **Karakterisasi Ekstrak**

1. Penetapan Kadar air

Penetapan kadar air yang dilakukan dengan alat infrared moisture balance dengan metode oven udara. Bahan uji ditimbang sebanyak 1 g di dalam alat dan langsung dengan cepat dapat diperoleh persen kadar air dari sampel pada suhu 100 oC (Rani, et al., 2015).

2. Penetapan Kadar Abu Total

Ditimbang sebanyak 3 g bahan uji dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, dinginkan dan ditimbang. Kadar abu total dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b, dimana kadar abu total tidak boleh lebih dari 12,7 % (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

3. Penetapan Kadar Abu Yang Tidak Larut Asam

Dididihkan abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu total dengan 25 ml asam klorida encer selama 5 menit. Bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, disaring melalui kertas saring bebas abu, dicuci dengan air panas, dipijarkan dalam krus hingga bobot tetap. Kadar abu yang tidak larut

dalam asam dihitung terhadap berat bahan uji, dinyatakan dalam % b/b dan tidak lebih dari 3,9 % (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

- **Uji Kandungan Kimia Ekstrak**

1. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

- a. Penjenuhan Bejana

Kertas saring ditempatkan di dalam bejana kromatografi. Tinggi kertas saring 18 cm dan lebarnya sama dengan lebar bejana. Sejumlah larutan pengembang dimasukkan ke dalam bejana kromatografi hingga tingginya 0,5 sampai 1 cm dari dasar bejana. Kemudian ditutup kedap dan dibiarkan hingga kertas saring harus selalu tercelup kedalam larutan pengembang pada dasar bejana (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

- b. Larutan uji KLT

Lebih kurang 1 g ekstrak daun sembung ditimbang dengan seksama lalu direndam sambil dikocok diatas penangas air dengan 10 mL etanol 70 % selama 10 menit. Kemudian filtrat dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL sambil menambahkan pelarut sampai tanda (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

- c. Fase Gerak

Toluen P-aseton P (10 mL:10 mL + 3 tetes asam asetat)

- d. Fase Diam

Silika gel 60 F254

- e. Prosedur KLT

Larutan uji dan larutan pembanding ditotolkan dengan jarak antara 1,5 sampai 2 cm dari tepi bawah lempeng, dan dibiarkan mengering. Lempeng pada rak ditempatkan ke dalam bejana kromatografi. Larutan pengembang dalam bejana harus mencapai tepi bawah lapisan penjerap, totolan jangan sampai terendam. Tutup bejana diletakkan pada tempatnya dan dibiarkan sistem hingga fase gerak merambat sampai batas jarak rambat. Lempeng dikeluarkan dan dikeringkan di udara, dan diamati bercak dengan

sitroborat LP dan ultraviolet gelombang panjang (366 nm). Jarak tiap bercak diukur dan dicatat dari titik penotolan serta dicatat panjang gelombang untuk tiap bercak yang diamati. Ditentukan harga R_f . Jika diperlukan, semprot bercak dengan pereaksi penampak bercak, kemudian diamati dan dibandingkan kromatogram bahan uji dengan kromatogram pembanding (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

2. Kadar Flavonoid Total

a. Perekensi

Larutan heksametilen 0,5 % b/v; larutan asam asetat glasial 5 % v/v dalam metanol P (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

b. Larutan uji

Ditimbang sejumlah 200 mg dimasukkan ke dalam labu alas bulat, ditambahkan berturut-turut 1 mL larutan HMT, 20 mL aseton P dan 2 mL larutan asam klorida P, direfluks selama 30 menit. Disaring menggunakan kapas, dimasukkan filtrat ke dalam labu ukur 100 mL. Direfluks kembali residu dengan 20 mL aseton P selama 30 menit, disaring dan dicampur filtrat ke dalam labu ukur 100 mL. Ditambahkan aseton P sampai tanda. Dipipet 20 mL ke dalam corong pisah, ditambahkan 20 mL air dan diekstraksi 3 kali, tiap kali menggunakan 15 mL etil asetat P. Fase etil asetat dimasukkan dalam labu ukur 50 mL ditambahkan etil asetat P sampai tanda batas (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

c. Pengenceran larutan uji

Sebanyak 10 mL larutan uji dipipet ke dalam labu ukur 25 mL, ditambahkan larutan asam asetat glasial 5 % v/v dalam metanol P sampai tanda batas (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

d. Larutan uji dengan larutan aluminium klorida

Dipipet 10 mL larutan uji ke dalam labu ukur 25 mL, ditambahkan 1 mL larutan aluminium klorida dan asam asetat

glasial 5 % v/v dalam metanol P sampai tanda (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

e. Larutan pembanding tanpa larutan aluminium klorida

Larutan pembanding flavonoid 0,1 % dalam etil asetat P. dibuat pengenceran hingga diperoleh serapan yang mendekati serapan larutan uji (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

f. Larutan pembanding dengan larutan aluminium klorida

Larutan pembanding ditambah 1 mL larutan aluminium klorida (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

g. Pengukuran

Pengukuran dilakukan setelah 30 menit penambahan larutan aluminium klorida menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 425 nm. Kadar flavonoid total dihitung sebagai flavonoid pembanding dengan rumus : (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

$$\% = \frac{C_p (A_u - A_{bu})}{(A_p - A_{bp})} \times 1,25 \times \frac{100}{\text{Berat sampel}}$$

Keterangan :

%=Kadar flavonoid total sebagai flavonoid pembanding

Cp=Konsentrasi larutan pembanding
Au=Serapan larutan uji dengan larutan aluminium klorida

Abu=Serapan larutan uji tanpa larutan aluminium klorida

Ap = Serapan larutan pembanding dengan larutan aluminium klorida

Abp=Serapan larutan pembanding tanpa larutan aluminium klorida

1,25=Faktor konstanta

• Penyiapan Hewan Uji

Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan dengan umur 2-3 bulan dengan berat badan 20-30 gram sebanyak 15 ekor. Hewan dikelompokkan secara acak menjadi 5 kelompok, dimana tiap kelompok terdiri dari 3 ekor mencit. Sebelum

diperlakukan mencit diaklimatisasi selama 7 hari (sebelum dan sesudah aklimatisasi hewan ditimbang berat badan) dengan diberi makan dan minum yang cukup. Mencit yang akan digunakan adalah mencit jantan yang sehat, tingkah lakunya normal, tidak menunjukkan kelainan yang berarti, deviasi bobot selama pemeliharaan tidak lebih dari 10 %, berat badan normal.

- **Penginduksian Hewan Percobaan**

Penginduksian mencit hiperglikemia dengan cara setiap mencit diinduksi dengan aloksan dosis 200 mg/Kg secara intraperitoneal (i.p) kecuali mencit kelompok kontrol negatif. Volume pemberian penginduksi hiperglikemia diberikan sebanyak 1 % dari berat badan. Kemudian diberikan minum larutan glukosa 10 % selama 2 hari untuk melawan efek hipoglikemik shock.

- **Perencanaan Dosis**

Dosis ekstrak etanol daun sembung yang diberikan 50 mg/Kg BB, 100 mg/Kg BB, 200 mg/Kg BB secara oral.

- **Pembuatan Suspensi Ekstrak Daun Sembung dengan Na CMC 0,5 %**

Serbuk Na CMC ditimbang 50 mg. Ditaburkan di atas air panas sebanyak 20 kalinya (1 mL) dalam lumpang panas dan dibiarkan selama 15 menit. Kemudian digerus sampai homogen, tambahkan ekstrak daun sembung yang sudah ditimbang sesuai dengan dosis yang direncanakan gerus homogen, lalu ditambahkan air suling sampai volume 10 mL.

- **Uji Aktivitas Farmakologi**

Dalam penelitian ini hewan dikelompokkan menjadi 5 kelompok uji perlakuan yang terdiri dari kontrol negatif, kontrol positif, dan 3 kelompok dengan dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB. Untuk kontrol negatif hewan tidak diinduksi, hanya diberikan air suling dan makan selama penelitian. Hewan kontrol positif hanya diinduksi aloksan dan diberi minum

larutan glukosa 10 % selama 2 hari. Sebelum diinduksi aloksan 200 mg/kg BB mencit dipuaskan selama 18 jam, dan setelah 3 hari mencit langsung diberikan ekstrak selama 7 hari secara peroral 1 x sehari pada pagi hari pukul 09.00 WIB. Pada hari ke 8 glukosa darah diukur, hewan dikorbankan untuk diambil darahnya dan pankreasnya dilakukan uji histopatologi pankreas dengan pewarnaan Hematoxilin Eosin (HE).

- **Pengukuran Kadar Glukosa Darah Mencit Putih Jantan**

Sampel (darah) diambil dari leher, masukkan ke dalam tabung hematokrit. Lalu sampel yang telah berada ditabung hematokrit kemudian disentrifus selama 20 menit pada kecepatan 5000 rpm sampai terpisah serum dengan plasma. Disiapkan tiga buah tabung reaksi. Lalu dipipet reagen diabetes sebanyak 1000 μ L, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dimasukkan reagen ke dalam tabung reaksi 1. Lalu dipipet larutan standar 10 μ L dimasukkan ke dalam tabung reaksi 2, dan ditambahkan reagen diabetes sebanyak 1000 μ L. Pada tabung reaksi 3 dipipet sampel/serum sebanyak 10 μ L dan ditambahkan reagen diabetes sebanyak 1000 μ L. Diinkubasi selama 10 menit, kemudian hasil dapat dibaca dengan menggunakan alat photometer 5010 V5+.

- **Pembuatan Preparat Histopatologi**

Organ pankreas diifikasi dengan larutan formalin 10 % selama 3 jam. Didehidrasi secara berurutan dengan alkohol 70 %, 95 %, 100 % masing-masing selama 1 jam. Dilakukan proses clearing dengan xylol dilakukan sebanyak 2 kali, masing-masing selama 1 jam. Diinfiltasi ke dalam paraffin cair selama 2 jam dan inkubasi selama 3,5 jam dalam inkubator pada suhu 56-60 °C. Proses embedding dilakukan dengan menanamkan jaringan ke dalam cetakan dengan media paraffin murni. Jaringan yang telah ditanam dibuat

balok kayu kemudian potong dengan menggunakan rotary mikrotom setebal 5 µm. Ditempel pada kaca objek yang sebelumnya telah diberi perekat mayer's albumin (putih telur dan gliserin), kemudian kering anginkan. Potongan yang berbentuk pita jaringan diletakkan pada waterbatch yang berisi air pada suhu maksimum 40 °C (Leeson, et al., 1995).

- **Pewarnaan Preparat Dengan Warna Haematoxyllin-Eosin**

Sayatan yang telah dilekatkan pada kaca objek dideparafinasi dengan xylol sebanyak 2 kali selama 5 menit. Direhidrasi dengan alkohol 100 %, 95 %, 70 % masing-masing selama 2 menit. Dicuci dengan air mengalir. Diwarnai dengan Haematoxyllin selama 2 menit. Dicuci dengan air mengalir sampai bersih. Dicelupkan ke dalam larutan HCl (asam klorida) 0,4 N sebanyak 2-3 celupan. Dicuci dengan air mengalir. Diwarnai dengan eosin selama 5 menit. Didehidrasi dengan alkohol 70 %, 95 %, 100 % masing-masing selama 2 menit. Dilakukan clearing dengan menggunakan xylol sebanyak 2 kali, masing-masing selama 2 menit setelah itu dikering anginkan. Dilakukan proses mounting dengan memberikan perekat etellan pada preparat dan menutupnya dengan cover glass. Diamati di bawah mikroskop (Leeson, et al., 1995).

- **Analisa Data**

Data pengukuran glukosa darah diolah dengan menggunakan SPSS 21. Data yang diperoleh diolah secara statistik dengan uji ANOVA satu arah dilanjutkan uji Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun sembung diambil di daerah Koto Jaya, Kabupaten Mukomuko, Provinsi Bengkulu. Identifikasi tumbuhan telah dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Andalas

Kampus Limau Manih Padang Sumatra Barat. Tujuan identifikasi adalah untuk mengetahui identitas sampel yang akan digunakan. Berdasarkan hasil identifikasi tersebut dapat diketahui kepastian bahwa sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) keluarga *Compositae*.

Simplisia yang telah dibuat terlebih dahulu dilakukan standarisasi agar simplisia memenuhi standar pada Farmakope Herbal (2008). Sampel dibuat dalam bentuk simplisia dengan tujuan untuk mencegah tumbuhnya jamur yang dapat merusak sampel. Jika jamur tumbuh pada sampel, maka dapat merusak zat aktif, mengurangi maupun mengubah zat aktif yang ada dalam sampel. Simplisia dibuat ekstrak dengan maserasi. Metode maserasi dipilih karena dapat mengekstrak sampel dalam jumlah yang banyak, pelaksanaannya sederhana, tidak memerlukan perlakuan khusus dan kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif oleh pengaruh suhu dapat dihindari karena tidak ada proses pemanasan. Merasasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Penggunaan etanol sebagai pelarut universal disebabkan karena sifatnya yang mudah melarutkan senyawa zat aktif baik yang bersifat polar, semi polar dan non polar (Harborne, 1987).

Dari 200 g serbuk simplisia yang dimerasasi didapatkan ekstrak sebanyak 56,8681 g sehingga persen rendemen diperoleh sebanyak 28,43. Ekstrak yang didapatkan berwarna cokelat gelap, rasanya agak pahit, baunya khas dan bentuknya kental. Penentuan organoleptis ini termasuk salah satu parameter yang ditentukan dengan panca indera dan bertujuan untuk pengenalan awal secara sederhana dan subjektif. Selanjutnya dilakukan standarisasi terhadap ekstrak daun sembung yang meliputi pemeriksaan kadar air dengan nilai rata-rata 8,59 %, kadar abu ekstrak dengan nilai 5,66 %,

kadar abu tidak larut asam ekstrak dengan nilai 2,48 %.

Uji selanjutnya adalah analisis kualitatif dengan kromatografi lapis tipis. Uji kromatografi lapis tipis bertujuan untuk memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram. Uji kromatografi lapis tipis pada noda sampel nilai R_f yang diperoleh yaitu $R_f = 0,51$; $R_f = 0,55$; $R_f = 0,58$ sedangkan nilai R_f pada noda pembanding yaitu $R_f = 0,52$. Nilai R_f

sampel 0,51 mendekati nilai R_f pembanding yaitu 0,52, artinya dalam sampel terdapat kandungan flavonoid yang dinyatakan sebagai kuersetin. Uji kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan nilai 28,1 % sesuai dengan Farmakope Herbal Indonesia dimana kadar flavonoid total tidak boleh kurang dari 2,40 % (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

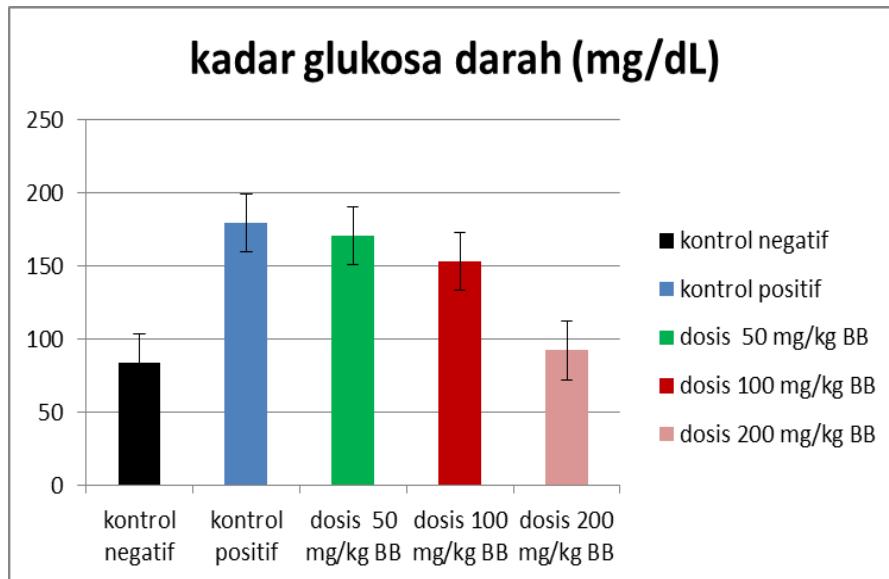
Tabel 1. Kadar Glukosa Darah

Kelompok	Nomor Hewan	Kadar Glukosa Darah (mg/dL)
Kontrol Negatif	1	87
	2	95
	3	68
	Rata-rata	83,33
Kontrol Positif	1	192
	2	158
	3	188
	Rata-rata	179,33
Dosis 50 mg/kg BB	1	151
	2	185
	3	176
	Rata-rata	170,66
Dosis 100 mg/kg BB	1	149
	2	156
	3	154
	Rata-rata	153
Dosis 200 mg/kg BB	1	127
	2	79
	3	71
	Rata-rata	92,33

Kadar glukosa darah setelah penelitian selama 7 hari dari setiap kelompok diperoleh rata-rata kadar glukosa darah kelompok kontrol negatif adalah 83,33 mg/dL, kelompok kontrol positif 179,33 mg/dL. Kelompok yang diberikan ekstrak etanol daun sembung dosis 50, 100 dan 200 mg/kg BB diperoleh kadar glukosa darah rata-rata secara berurutan yaitu 170,66 mg/dL, 153 mg/dL, dan 92,33 mg/dL.

Pada kelompok yang diberi ekstrak dengan kontrol negatif memiliki nilai yang hampir sama sedangkan kelompok yang diberi ekstrak dengan kontrol positif memiliki nilai yang berbeda nyata.

Dari ketiga dosis ekstrak etanol daun sembung yang diberikan ternyata dosis 200 mg/kg BB lebih mendekati nilai kontrol negatif. Artinya dosis 200 mg/kg BB lebih memberikan efek yang dapat menurunkan kadar glukosa darah pada mencit putih jantan yang diinduksi aloksan dari pada dosis 100 mg/kg BB dan dosis 50mg/kgBB.

**Gambar 1.** Diagram batang kadar glukosa darah**Tabel II.** Tabel uji normalitas data dengan Shapiro-Wilk.

	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
perlakuan	,902	15	,103
kadar glukosa darah	,890	15	,066

Dari hasil uji normalitas dengan Shapiro-Wilk didapatkan hasil 0,66 (sig > 0,05) dimana data terdistribusi normal

sehingga bisa dilakukan uji statistik analisa varian (ANOVA) satu arah.

Tabel III. Tabel uji anova hasil perhitungan statistik kadar glukosa darah hewan percobaan (mg/dL).

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24146,267	4	6036,567	16,973	,000
Within Groups	3556,667	10	355,667		
Total	27702,933	14			

Pada uji anova diperoleh nilai signifikansi dari kadar glukosa darah dengan nilai sig. 0,000 ($P < 0,05$) yang berarti hipotesa

diterima. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sembung berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah mencit putih jantan diabetes.

Tabel IV. Tabel uji lanjutan duncan hasil perhitungan statistik kadar glukosa darah hewan percobaan (mg/dL).

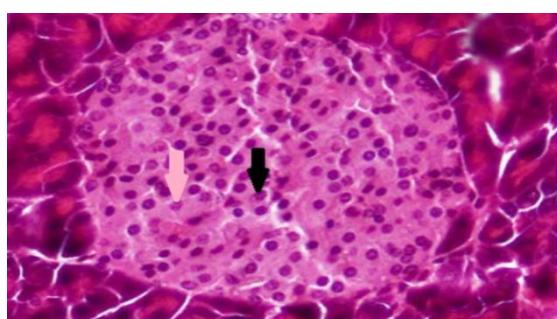
Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
kontrol negatif	3	83,3333	
dosis 200 mg/kg BB	3	92,3333	
dosis 100 mg/kg BB	3		153,0000
dosis 50 mg/kg BB	3		170,6667
kontrol positif	3		179,3333
Sig.		,572	,133

Analisa statistik dilanjutkan dengan uji Duncan, dimana menunjukkan bahwa kadar glukosa darah untuk kontrol negatif dengan dosis 200mg/kg BB tidak berbeda nyata, sedangkan dosis 100mg/kg BB dan dosis 50mg/kg BB berbeda nyata. Pada

Pengamatan histopatologi pankreas dilakukan di bawah mikroskop dengan pembesaran 100 x dengan mengamati bentuk morfologi struktur jaringan pankreas mencit yang diwarnai dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE) pada potongan pankreas dari semua kelompok. Hasil pengamatan histopatologi

kontrol positif dengan dosis 50 dan 100 mg/kg BB menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata sedangkan pada dosis 200 mg/kg BB menunjukkan perbedaan yang nyata.

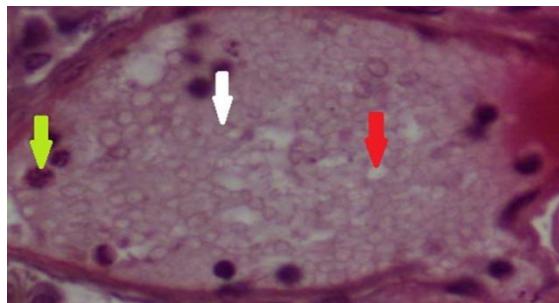
menunjukkan bahwa pada kontrol negatif terlihat adanya keteraturan susunan sel endokrin yang menyebar di pulau *Langerhans* dengan bentuk sel yang seragam dan ukuran sitoplasma terlihat proporsional terhadap besar inti serta tidak mengalami perubahan (normal). Dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Histopatologis pankreas hewan kelompok kontrol negatif dengan perbesaran 100x

Sedangkan pada kontrol positif menunjukkan adanya lesi pada jaringan pankreas berupa degenerasi sel endokrin yang menuju nekrosa sel, degenerasi

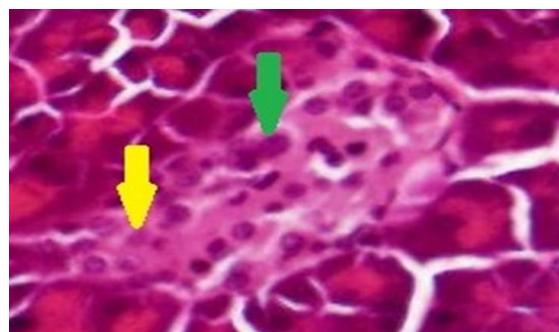
protein dan lemak serta terbentuknya radang pada bagian sel seperti yang terlihat pada gambar 3.



Gambar 3. Histopatologi pankreas hewan kelompok kontrol positif dengan perbesaran 100x.

Gambaran histopatologi pankreas memperlihatkan bahwa pada kelompok kontrol negatif tidak mengalami perubahan struktur morfologi pankreas. Dengan teknik pewarnaan HE dapat terlihat inti sel endokrin berwarna biru keunguan dengan bentuk lebih bulat dan nukleolus tampak jelas, serta sitoplasma berwarna merah muda dan sel masih berbentuk rapat dan masih penuh mengisi ruang pulau *Langerhans* (Fiore, 1992).

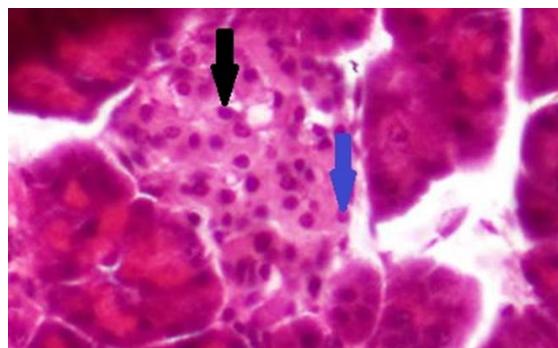
Pengamatan dengan teknik pewarnaan HE pada dosis 1 dapat menunjukkan adanya perubahan pada sel-sel pankreasnya. Perubahan-perubahan tersebut meliputi sel endokrin yang mulai melakukan regenerasi menuju bentuk normal, walaupun masih ditemukan beberapa sel endokrin yang mengalami degenerasi dan masih ditemukan sel radang. Dapat dilihat pada gambar 4.



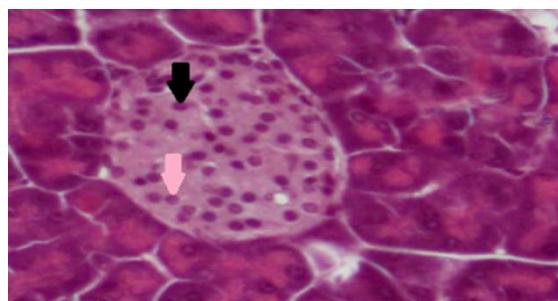
Gambar 4. Histopatologis pankreas hewan coba pada dosis 50 mg/kg BB dengan perbesaran 100x.

Pada dosis 2 memperlihatkan adanya proses regenerasi dari sejumlah sel endokrin yang dapat dilihat pada gambar

5. Tetapi jumlahnya tidak lebih banyak dari dosis 3 yang dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 5. Histopatologis pankreas hewan coba pada dosis 100 mg/kg BB dengan perbesaran 100x.



Gambar 6. Histopatologis pankreas hewan coba pada dosis 200 mg/kg BB dengan perbesaran 100x.

Sejumlah besar sel endokrin pada dosis 1 masih mengalami degenerasi yang hampir mendekati kelompok kontrol positif tetapi gambaran pulau *Langerhans* yang kosong hanya sedikit ditemukan tapi tidak pada dosis 2 dan dosis 3, pada dosis 3 sudah terlihat jelas terjadinya regenerasi pulau *Langerhans* mendekati kontrol negatif dimana sel endokrin yang mengalami nekrosis relatif berkurang (ditunjukkan dengan berkurangnya ruang kosong akibat nekrosis) dan adanya sel-sel endokrin yang tetap dalam kondisi normal. Jika dilihat dari hasil penelitian yang telah dilakukan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak etanol daun sembung dapat menurunkan kadar glukosa darah dan memperlihatkan perbaikan terhadap organ pankreas dengan jelas. Hal ini diperkirakan karena adanya senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun sembung. Senyawa flavonoid termasuk golongan senyawa polifenol yang selama ini terbukti memiliki aktivitas antioksidan.

Aktivitas antioksidan mampu menangkap radikal bebas penyebab kerusakan sel beta pankreas dan

menghambat kerusakan sel beta pankreas sehingga sel beta yang tersisa masih tetap berfungsi. Antioksidan tersebut diduga mampu melindungi sejumlah sel-sel beta yang tetap normal sehingga memungkinkan terjadinya regenerasi sel-sel beta yang masih ada melalui proses mitosis atau melalui pembentukan pulau baru dengan cara proliferasi dan diferensiasi endokrin dari sel-sel ductal dan ductular. Adanya perbaikan pada sel beta penghasil insulin, maka terjadi peningkatan jumlah insulin di dalam tubuh yang mampu memfasilitasi masuknya glukosadarah ke dalam selsehingga terjadi penurunan kadar glukosa darah dalam tubuh (Lukiati, *et al.*, 2016).

KESIMPULAN

- Ekstrak etanol daun sembung dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit putih jantan diabetes. Dari pengujian pada dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg BB, ternyata dosis 200 mg/kg BB mempunyai efek yang paling tinggi.

2.Ekstrak etanol daun sembung dapat memperbaiki kerusakan pankreas mencit putih jantan diabetes.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, D. M. H., Wong, K. C., & Lim, P.K. (2004). Phytochemical communication flavonoids from *Blumea balsamifera*. *Fitoterapia*, 76, 128-130.
- Ariani, K. J., & Linawati Y. (2016). Efek pemberian jus buah pisang ambon terhadap kadar glukosa darah tikus jantan galur wistar yang terbebani glukosa. *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 13, (1), 1-6.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.(2006). *Monografi ekstrak tumbuhan obat Indonesia*. Jakarta : Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia
- Dalimartha, S. (1999). *Atlas tumbuhan obat Indonesia*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia.(2008). *Farmakope Herbal Indonesia*. (Edisi I). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dipiro, J. T., Talbert R. L., Yee G. C., Matzke G. R., Wells B. G., & Posey L. M. (2011). *Pharmacotherapy: A pathophysiologic approach*. New York: Me Graw Hill Medicall.
- Fiore, M.S.H. (1992). *Atlas histologi manusia*. (Edisi 6). Penerjemah: M. Martoprawiro, S.K. Siswoyo, I. Suryono, J. Tambajong, Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Harbone, J.B. (1987). *Metoda fitokimia, penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. (2). Penerjemah: oleh K. Padmawinata dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Leeson, C. J., Carneiro, J. & Kelley, R. O. (1995). *Histologi dasar*. (Edisi 8). Penerjemah: J. Tambayong. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Lukiati, B., Maslikah, S. I., & Nugrahaningsih. (2016). Potensi ekstrak etanol labu siam untuk perbaikan kerusakan sel beta pankreas dan kadar nitrogen oksida pada tikus yang mengalami diabetes melitus. *Jurnal Kedokteran Hewan*, 10, (1), 24-27.
- Nessa, F., Ismail, Z., Mohamed, N., & Haris, M. R. H. (2004). Free radical-scavenging activity of organic extracts and of pure flavonoids of *Blumea balsamifera* DC leaves. *Food Chemistry*, 88, 243-252.
- Prameswari, O. M., & Widjanarko, S. B. (2014). Uji ekstrak air daun pandan wangi terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi tikus diabetes mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2, (2), 16-27.
- Rani, P. S., Nagasowjanya, G., Ajitha, A., & Maheswarao, V. U. (2015). Aquametry – the moisture content determination. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4, (8), 566-580.
- Soedibyo, B. R. A. & Mooryati.(1998). *Alam sumber kesehatan manfaat dan kegunaan*. Jakarta : Balai Pustaka.

- Studiawan, H., & Santosa, M. H. (2005).
Uji aktivitas penurunan kadar glukosa darah ekstrak daun *Eugenia polyantha* pada mencit yang diinduksi aloksan. *Media Kedokteran Hewan*, 21, (2), 62-65.