
EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN KERSEN (*Muntingia calabura*) TERHADAP PROFIL HISTOLOGI HEPAR TIKUS DIABETES

Theosobia Grace Orno¹, Aswiro Hasan², Fonnice Esther Hasan³
1,2,3 Jurusan Teknologi Laboratorium Medis, Poltekkes Kemenkes Kendari
Jl. Jend. A.H Nasution No.G14, Anduonohu, Kota Kendari
¹ theosobiagracey@gmail.com

Abstract

Background: Diabetes mellitus occurs due to insulin resistance or absolute insulin deficiency as a result of damage to pancreatic beta cells. Long-term conditions of gluconeogenesis lead to auto-oxidation of glucose, protein glycation and activation of the polyol pathway which result in increased production of free radicals which is characterized by the formation of reactive oxygen compounds. Antioxidant compounds contained in *Muntingia calabura* L. leaves are expected to be able to protect liver cells from damage caused by free radicals with flavonoids as the dominant active compound. **Aims:** This study aims to test the effectiveness of *Muntingia calabura* L. leaf ethanol extract on the histological profile of diabetic rats. **Method:** This research method is a laboratory experimental research, tissue staining using the hematoxylin eosin staining method. **The results:** showed that the liver histology of diabetic rats after therapy with ethanol extract of *Muntingia calabura* L. leaves at dose I, dose II and dose III did not appear to be significantly different. Similar to the group of DM rats treated with glibenclamide, the hepatocyte cells appeared to be still experiencing enlargement, widening of the sinusoids and changes in parenchymatous cells. In addition, the ethanol extract of *Muntingia calabura* L. leaves dose I, II and III were also unable to regenerate the central vein. **Conclusion:** ethanol extract of *Muntingia calabura* L. leaf dose groups I, II and III were not effective in repairing hepatocyte necrosis.

Keywords: Diabetes mellitus, *Muntingia calabura* L ethanol extract, liver histology

1. Pendahuluan

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia) (1). Diabetes melitus terjadi akibat resistensi insulin atau defisiensi insulin secara absolut sebagai akibat dari kerusakan sel beta pankreas, dimana diketahui bahwa insulin merupakan hormon yang berperan dalam metabolisme glukosa melalui proses glikolisis maupun glukoneogenesis yang terjadi di sel hepar (hepatosit) (2). Kondisi glukoneogenesis jangka panjang menyebabkan terjadinya autooksidasi glukosa, glikasi protein dan

aktivasi jalur poliol yang mengakibatkan peningkatan produksi radikal bebas yang ditandai dengan pembentukan senyawa oksigen reaktif (3,4).

Kerusakan oksidatif akibat hiperglikemia dapat ditinjau pada histologi organ hepar. Secara teori, organ hepar pada keadaan diabetes akan mengalami degenerasi baik bersifat reversibel maupun ireversibel. Degenerasi merupakan tahap awal kerusakan sel hepar yang ditunjukkan dengan adanya sel hepar yang berwarna lebih gelap dan mengalami pembengkakan yang disebabkan oleh peningkatan

degradasi glikogen. Degenerasi sel hepar dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan kerusakan sel hepar berupa nekrosis (5). Penelitian yang dilakukan oleh Lailatul dkk (2015) melaporkan adanya kerusakan pada organ hepar tikus diabetes berupa perlemakan sel hepatosit, ditemukan hipertrofi pada hepatosit, sinusoid tidak teratur serta adanya infiltrasi sel radang (6).

Kerusakan sel hepatosit dapat dikurangi dengan cara pemberian sejumlah dosis antioksidan yang dapat mencegah pembentukan radikal bebas (*Reactive oxygen species/ ROS*). Tanaman kersen merupakan salah satu jenis tanaman yang mengandung senyawa kimia. Diketahui, daun kersen mengandung terpenoid, karbohidrat, protein, polifenol, flavonoid, asam askorbat, alfa tokoferol dan klorofil (7). Senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun kersen diharapkan mampu melindungi sel hati dari kerusakan akibat radikal bebas dengan flavonoid sebagai senyawa aktif yang dominan (8). Penelitian yang dilakukan oleh Ulfah A (2015) dengan judul pengaruh pemberian ekstrak buah kersen dosis bertingkat terhadap gambaran histologi hepar mencit diabetes menunjukkan terjadinya penurunan angka perlemakan sel hepatosit (9). Berdasarkan latar belakang diatas maka peneliti terdorong untuk melakukan penelitian terkait efektivitas ekstrak etanol daun kersen terhadap profil histologi tikus diabetes.

2. Metode Penelitian

Penyiapan dan Percobaan Hewan Coba

Pada penelitian ini digunakan 24 ekor tikus *Ratus novvergicus* jantan umur tiga bulan dengan BB awal 100-200 gram. Kondisi tikus dalam keadaan sehat yang ditandai dengan gerakan aktif. Sebelum dilakukan percobaan, tikus diadaptasikan selama 1 minggu. Tikus ditempatkan pada kandang polipropilen di ruang pemeliharaan yang dikontrol pada suhu $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ dan kelembaban relatif 60-70% dengan kondisi lingkungan standar (12 jam terang dan 12 jam gelap).

Tikus diberikan pelet dengan diet karbohidrat standar 12 gram per hari dan air minum secara *ad libitum*. Semua protokol eksperimental yang dilakukan dalam penelitian ini dilaksanakan atas persetujuan layak etik dari Lembaga Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Poltekkes Kemenkes Makassar dengan nomor rekomendasi: 375/KEPK-PTKMKS/V/2019 tanggal 21 Mei 2019.

Pembuatan Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*)

Daun kersen dibersihkan secara menyeluruh dengan air mengalir, selanjutnya dibilas menggunakan air suling. Daun dikeringkan pada suhu kamar kemudian dikeringkan secara sempurna pada oven dengan suhu 60°C selama 24 jam. Daun kersen yang telah kering selanjutnya ditumbuk menjadi serbuk

simplisia menggunakan mesin penggiling. Serbuk simplisia disimpan dalam botol tertutup rapat pada suhu ruang.

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan terlebih dahulu menimbang simplisia sebanyak 200 gram, kemudian dimasukkan kedalam maserator, dituang etanol 96% sampai seluruh permukaan simplisia terendam kemudian dibiarkan selama 3 hari. Setelah 3 hari ekstrak tersebut disaring dengan menggunakan kertas saring, diulangi proses tersebut sebanyak 3 kali pengulangan hingga didapatkan ekstrak cair daun kersen. Ekstrak cair daun kersen selanjutnya diuapkan menggunakan alat destilasi vakum dan dilanjutkan dengan pembuatan ekstrak kental yang homogen dengan bantuan *rotary evaporator* (10).

Pembuatan Tikus Diabetes

Pembuatan tikus diabetes dilakukan dengan cara merusak sel beta pankreas dengan menggunakan *streptozotocin* (STZ). Tahapan pertama adalah menimbang berat badan tikus, kemudian mengukur kadar glukosa darah tikus menggunakan metode *point of care testing* (POCT). Tahapan kedua adalah melarutkan STZ kedalam natrium sitrat 0,1 M sampai pH menjadi 4,5. Tahapan ketiga adalah menginduksi STZ pada kelompok tikus dengan dosis tunggal 60 mg/kg bb secara intraperitoneal menggunakan jarum suntik 25 g 1 inci. Setelah 5, 10 dan 15 hari, diukur kadar

glukosa darahnya dengan metode POCT. Tikus dinyatakan diabetes apabila kadar glukosa darah puasa >110 mg/dL (11).

Pemberian Ekstrak Daun Kersen

Ekstrak daun kersen diberikan dengan rute per oral atau *pipa feeding* 1 kali sehari, diberikan 2 jam post prandial (setelah makan) sebanyak 2 ml selama 14 hari menggunakan sonde oral ujung tumpul ukuran 15 g/16 g 2 inci. Sonde oral yang berisi ekstrak daun kersen ditempelkan pada langit-langit mulut tikus, kemudian perlahan-lahan dimasukkan sampai esofagus, selanjutnya cairan ekstrak disuntikkan. Cairan ekstrak yang masuk kedalam saluran intestinal akan memberikan efek sistemik pada tubuh tikus (12).

Pembagian kelompok tikus sebagai berikut: kelompok 1 kontrol negatif: tikus normal dengan diet standar, kelompok 2 kontrol positif: tikus diabetes dengan diet standar, kelompok 3 kontrol positif dengan obat standar: glibenklamid 0,65 mg/kg bb 1 kali sehari per oral selama 14 hari, kelompok 4: pemberian ekstrak daun kersen dosis 100 mg/kg bb/hari sebanyak 2 ml selama 14 hari, kelompok 5: pemberian ekstrak daun kersen dosis 200 mg/kg bb/hari sebanyak 2 ml selama 14 hari, kelompok 6: pemberian ekstrak daun kersen dosis 400 mg/kg bb/hari sebanyak 2 ml selama 14 hari (12).

Pengambilan Organ dan Pembuatan

Sediaan Histologis

Tikus dinekropsi (dilakukan bedah organ pada rongga dada) satu hari setelah perlakuan berakhir. Setelah dinekropsi, organ pankreas segera diambil dan selanjutnya dibuat sediaan histologis dengan menggunakan metode paraffin. Pembuatan preparat histologi menggunakan pewarnaan Hematoksin Eosin (13). Diambil pankreas lalu dicuci dengan NaCl fisiologis, difiksasi dengan formalin buffer 10% selama 18-24 jam, kemudian didehidrasi dengan alkohol bertingkat 80%, 90%, 95%, alkohol absolut. Spesimen dimasukkan ke larutan xylol selama 1 jam

untuk impregnasi, kemudian dimasukkan ke larutan xylol murni selama 1 x 1 jam, parafin cair 1 x 1 jam untuk proses embedding ke dalam blok. Spesimen di dalam blok parafin dipotong dengan mikrotom setebal 5 mikron, secara *cross section*/ melintang. Irisan diletakkan objek glass yang sebelumnya diolesi polysilin. Diinkubasi untuk penguapan parafin yang kemudian diwarnai dengan pewarnaan hematoksin eosin, setelah kering diberi entelan. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop cahaya dan pembuatan foto mikrograf. Data diperoleh dari hasil pengamatan terhadap sel hepatosit.

3. Hasil dan Pembahasan

A. Hasil Penelitian

Tabel 1. Rerata berat badan dan kadar glukosa darah hewan coba penelitian

Perlakuan	Kelompok Normal	Kelompok DM + Obat	Kelompok DM	Kelompok Terapi Dosis I	Kelompok Terapi Dosis II	Kelompok Terapi Dosis III
Berat badan (gram)						
Sebelum DM	127,8	184,2	174	175,4	155,2	169,4
Saat DM	130,8	170,4	194,4	163,2	178,8	176,4
Setelah 5 hari terapi	128,2	180	168,8	164,2	172,6	180,2
Setelah 12 hari terapi	123	180,8	145,6	175	174,8	183
Kadar glukosa darah (mg/dl)						
Sebelum DM	100	102	102,8	98,8	92,2	100,8
Saat DM	102	395	391	389	331	376
Setelah 5 hari terapi	98	323	352	346	308	359
Setelah 12 hari terapi	103	131	496	146	112	98

Sumber: data primer, 2021

Rerata berat badan tikus per kelompok dengan perlakuan sebelum DM, saat DM, setelah 5 hari terapi maupun setelah 12 hari terapi tidak mengalami perubahan yang signifikan. Hal ini berkaitan dengan pemberian makanan/ pelet yang konsisten sehingga energi dan berat badan yang dihasilkan cenderung konstan. Rerata kadar glukosa darah pada kelompok normal tidak mengalami peningkatan (berada dalam batasan kadar glukosa darah normal: <110 mg/dl), rerata kadar glukosa darah pada kelompok DM + obat glibenklamid mengalami penurunan seiring dengan lama konsumsi obat, rerata kadar glukosa darah pada kelompok DM tanpa pengobatan cenderung mengalami peningkatan setelah 12 hari, rerata kadar glukosa darah pada kelompok terapi dosis I

B. Pembahasan

Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kersen mampu menurunkan kadar glukosa secara signifikan terutama pada hari ke-12 terapi. Sejalan dengan itu, penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Fitriana, A. N., & Aisyah, R. (2019) dengan judul pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kersen terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih yang diinduksi aloksan menyimpulkan bahwa dosis ekstrak ke-2 dan ke-3 memiliki kemampuan yang sebanding atau hampir sama dengan dosis glibenklamid yang diberikan dalam

(100 mg/kg bb) mengalami penurunan signifikan terutama setelah 12 hari terapi, hal yang sama terjadi pada kelompok terapi dosis II (200 mg/kg bb) dan kelompok terapi dosis III (400 mg/kg bb).

Histologi hepar tikus diabetes setelah terapi ekstrak etanol daun kersen baik pada dosis I, dosis II dan dosis III tampak tidak berbeda secara signifikan. Sama halnya dengan kelompok tikus DM dengan pengobatan glibenklamid, sel hepatosit tampak masih mengalami pembesaran, pelebaran sinusoid serta perubahan sel parenkimatos. Selain itu, ekstrak etanol daun kersen dosis I, dosis II dan dosis III juga tidak mampu meregenerasi vena sentralis.

menurunkan kadar gula darah dengan nilai $p < 0,05$ (14).

Penelitian serupa juga dilakukan oleh Jumain, J, dkk (2019) tentang efek sari buah kersen terhadap penurunan kadar gula darah mencit jantan serta penelitian yang dilakukan oleh Safna, F. L, dkk (2021) dengan judul peran ekstrak daun kersen terhadap perubahan kadar glukosa darah mencit menyimpulkan hal yang sama bahwa ekstrak etanol daun kersen mampu menurunkan kadar glukosa darah mencit (15,16).

Penelitian terkait efek ekstrak etanol terhadap profil histologi hepar secara spesifik belum pernah diteliti. Penelitian

seputar efek ekstrak etanol terhadap profil histologi ditemukan lebih efektif pada perubahan histologi pankreas tikus diabetes, sebagaimana penelitian yang dilakukan oleh Andalia, N., Safrida, S., & Sabri, M. (2017) dengan judul efektivitas pemberian ekstrak daun kersen terhadap struktur mikroskopis sel beta pankreas tikus hiperglikemik menunjukkan ekstrak daun kersen pada berbagai dosis mempengaruhi proporsi nekrosis sel beta pankreas dengan nilai signifikan 0,036 pada tikus hiperglikemik (17). Efek ekstrak etanol terhadap histologi hepar lebih dominan pada perannya dalam menekan angka perlemakan hati (*fatty liver*) non alkoholik akibat stress oksidatif melalui mekanisme antioksidan yang terkandung didalamnya. Penelitian yang dilakukan oleh Fadil, M (2017) memperlihatkan hasil kelompok perlakuan ekstrak daun kersen dosis 6 mg/20 gBB/hari memberikan gambaran perbaikan histopatologi hepar paling baik (18).

Hasil penelitian ini menunjukkan profil histopatologi tikus diabetes pasca terapi ekstrak etanol daun kersen dosis I, dosis II dan dosis III memiliki kemiripan mikroskopis dengan profil histopatologi kelompok tikus diabetes dengan terapi obat glibenklamid. Sel hepatosit tampak mengalami pembesaran, pelebaran sinusoid serta perubahan sel

parenkimatososa, sedangkan gambaran mikroskopis kelompok DM tanpa pengobatan menunjukkan sel hepatosit mengalami nekrosis berupa piknotik dengan gambaran inti sel yang mengalami kariolisis dan karioreksis serta degenerasi vena sentralis. Piknosis adalah kondisi dimana inti sel mengecil disertai warna basofil yang meningkat, warna basofil inti sel yang memudar disebut kariolisis serta inti sel yang mengalami fragmentasi disebut karioreksis (19). DM tanpa pengobatan yang adekuat secara kronis dapat menyebabkan kerusakan sel hepatosit.

Oleh karena nekrosis bersifat *irreversible* maka perbaikan sel hepatosit yang mengalami nekrosis hanya sampai pada tahapan pembesaran sel hepatosit sebagai upaya pencegahan apoptosis yang tidak terkontrol (20). Kandungan antioksidan seperti flavonoid, tannin dan saponin yang terdapat pada ekstrak etanol daun kersen dapat dimanfaatkan dalam upaya proteksi terhadap sel hepatosit (hepatoprotektor) namun tidak memiliki efek perbaikan sel hepatosit yang telah mengalami nekrosis. Secara teknis, pewarnaan HE dalam penelitian ini memiliki kualitas yang tidak begitu baik, hal ini tampak dari hasil mikroskopis dimana zat warna eosin tidak terserap dengan baik. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kualitas zat warna HE yang digunakan.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa: ekstrak etanol daun kersen kelompok dosis I, II dan III tidak efektif dalam memperbaiki nekrosis sel hepatosit.

Daftar Pustaka

1. Papachristoforou, E., Lambadiari, V., Maratou, E., & Makrilakis, K. (2020). Association of Glycemic Indices (Hyperglycemia, Glucose Variability, and Hypoglycemia) with Oxidative Stress and Diabetic Complications. *Journal of diabetes research*, 2020, 7489795. <https://doi.org/10.1155/2020/7489795>
2. Petersmann, A., Müller-Wieland, D., Müller, U. A., Landgraf, R., Nauck, M., Freckmann, G., Heinemann, L., & Schleicher, E. (2019). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 127(S 01), S1–S7. <https://doi.org/10.1055/a-1018-9078>
3. American Diabetes Association "Diagnosis and classification of diabetes mellitus", 2014, *Diabetes Care* 2014; 37 Suppl 1: S81-S90 [PMID: 24357215 DOI: 10.2337/dc14-S081]
4. Centers for Disease Control and Prevention, "National Diabetes Statistics Report: Estimates of Diabetes and Its Burden in the United States", *US Department of Health and Human Services*, 2014.
5. Lailatul NF, Diana LY dan Mudjiwijono H. Efek Pemberian Asam Alfa Lipoat terhadap Kadar MDA dan Gambaran Histologi pada Hati Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 1. *Jurnal Kedokteran Brawijaya* Vol.28(3):170-177, 2015.
6. Balan, T., Sani, M. H., Mumtaz Ahmad, S. H., Suppaiah, V., Mohtarrudin, N., & Zakaria, Z. A. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activities contribute to the prophylactic effect of semi-purified fractions obtained from the crude methanol extract of *Muntingia calabura* leaves against gastric ulceration in rats. *Journal of ethnopharmacology*, 164, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.017>
7. Zakaria, Z. A., Mohamed, A. M., Jamil, N. S., Rofiee, M. S., Hussain, M. K., Sulaiman, M. R., Teh, L. K., & Salleh, M. Z. (2011). In vitro antiproliferative and antioxidant activities of the extracts of *Muntingia calabura* leaves. *The American journal of Chinese medicine*, 39(1), 183–200. <https://doi.org/10.1142/S0192415X11008749>
8. Mohi-Ud-Din, R., Mir, R. H., Sawhney, G., Dar, M. A., & Bhat, Z. A. (2019). Possible Pathways of Hepatotoxicity Caused by Chemical Agents. *Current drug metabolism*, 20(11), 867–879. <https://doi.org/10.2174/1389200220666191105121653>
9. Ulfah, A., & Purnawati, R. D. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura* L.) Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Mencit Balb/C yang Hiperurisemia (Doctoral dissertation, Faculty of Medicine).
10. Yew, W. W., Chang, K. C., & Chan, D. P. (2018). Oxidative Stress and First-Line Antituberculosis Drug-Induced Hepatotoxicity. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(8), e02637-17.

11. Teratani, T., Tomita, K., Suzuki, T., Furuhashi, H., Irie, R., Hida, S., Okada, Y., Kurihara, C., Ebinuma, H., Nakamoto, N., Saito, H., Hibi, T., Miura, S., Hokari, R., & Kanai, T. (2017). Free cholesterol accumulation in liver sinusoidal endothelial cells exacerbates acetaminophen hepatotoxicity via TLR9 signaling. *Journal of hepatology*, 67(4), 780–790. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.05.020>
12. Triswaningsih, D., Kumalaningsih S, Wignyanto & Pratikto, "Estimation of Chemical Compound and Antioxidant Activity of *Muntingia calabura* Extract", *International Journal of ChemTech Research*10: 17-23, 2017.
13. Ezejiofor, A. N., Orish, C. N., & Orisakwe, O. E. (2015). Morphological changes in the pancreas and glucose reduction of the aqueous extract of *Costus afer* leaf on alloxan-induced diabetic rats. *Journal of basic and clinical physiology and pharmacology*, 26(6), 595–601. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2014-0033>
14. Fitriana, A. N., & Aisyah, R. (2019). *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Kersen (Muntingia calabura L.) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih (Rattus norvegicus) yang Diinduksi Aloksan* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Surakarta).
15. Jumain, J., Asmawati, A., Farid, F. T., & Riskah, R. (2019). Efek Sari Buah Kersen (*Muntingia Calabura L.*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Mencit (*Mus Musculus*). *Media Farmasi*, 15(2), 156-162.
16. Safna, F. L., Kartika, V., Khalid, N., Rachman, M. E., & Surdam, Z. (2021). Peran Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap Perubahan Kadar Glukosa Darah Mencit (*Mus musculus*). *Fakumi Medical Journal: Jurnal Mahasiswa Kedokteran*, 1(2), 88-96.
17. Andalia, N., Safrida, S., & Sabri, M. (2017). Efektivitas Pemberian Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Struktur Mikroskopis Sel Beta Pankreas Tikus Hiperglikemik. *Jurnal Edubio Tropika*, 5(1).
18. FADIL, M. (2017). *PENGARUH EKSTRAK DAUN KERSEN (Muntingia calabura l.) TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI HEPAR PADA MENCIT (Mus musculus) YANG DIINDUKSI DIET TINGGI LEMAK* (Doctoral dissertation, University of Muhammadiyah Malang).
19. Handayani, F & Sentat, T, ""Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar Pada Kulit Mencit Putih Jantan (*Mus musculus*)", *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*1: 131-142, 2016.
20. Lin, Mei-Su., Yu, Zer-Ran., Wang, Be-Jen., Wang, Cheng-Chi., Weng, Yih-Ming&Koo, M, "Bioactive Constituent Characterization and Antioxidant Activity of *Ganoderma lucidum* Extract Fractionated by Supercritical Carbon Dioxide", *Sains Malaysiana*44: 1685–1691, 2015.

