

Pengaruh Pemberian Bubuk Cacing Tanah (*Eudrilus eugeniae*) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Profil Pulau Langerhans Mencit (*Mus musculus*) Diabetes

*The Effect of Earthworm (*Eudrilus eugeniae*) Powder on Blood Glucose Levels and Langerhans Islets Profile of Diabetic Mice (*Mus musculus*)*

Ardine Rahma Sarita* dan Nur Kuswanti

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: ardine.18022@mhs.unesa.ac.id

Abstrak. Salah satu penyebab diabetes melitus (DM) adalah stres oksidatif yang memicu kerusakan sel β pankreas. Salah satu alternatif pengobatan untuk penderita DM yang dapat digunakan adalah cacing tanah, yang selama ini digunakan sebagai obat tradisional Cina. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh bubuk cacing *Eudrilus eugeniae* terhadap kadar glukosa darah dan profil Pulau Langerhans mencit diabetes. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan 6 kelompok perlakuan, yaitu kontrol negatif, kontrol positif, glibenklamid, dosis 1 (bubuk cacing 21.064 mg/kgBB), dosis 2 (28.085 mg/kgBB), dan dosis 3 (42.128 mg/kgBB), masing-masing dengan 4 pengulangan. Mencit diinjeksi dengan aloksan agar mengalami diabetes kemudian diberi perlakuan secara oral selama 14 hari. Kadar glukosa darah puasa (GDP) mencit diukur pada hari ke-0, ke-7, dan ke-15 perlakuan. Profil Pulau Langerhans ditentukan berdasarkan luas Pulau Langerhans dari preparat pankreas dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin. Data GDP dianalisis menggunakan Uji Anava dan Duncan. Data luas pulau Langerhans dianalisis menggunakan Uji Kruskal-Wallis dan Mann-Whitney. Hasil analisis data GDP menunjukkan bahwa pada hari ke-7, kelompok kontrol negatif tidak berbeda nyata dengan dosis 1 dan 2, tetapi pada H-15, hanya dosis 1 yang menunjukkan hasil serupa. Adapun rerata luas Pulau Langerhans antar kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$), dengan hasil terbaik yaitu dosis 3 (42.128 mg/kgBB). Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa bubuk cacing *Eudrilus eugeniae* berpengaruh terhadap kadar GDP dan profil Pulau Langerhans dengan dosis optimum 21.064 mg/kgBB.

Kata kunci: Spesies Oksigen Reaktif; Diabetes Melitus; *Eudrilus eugeniae*; Pulau Langerhans

Abstract. One of the causes of diabetes mellitus (DM) is oxidative stress which triggers pancreatic β cell damage. One of alternative treatments can be used for DM is earthworm, which have been used as traditional Chinese medicine. This study aimed to determine the effect of *Eudrilus eugeniae* worm powder on fasting blood glucose (FBG) levels and profiles of Langerhans Islets in diabetic mice. The study used a completely randomized design with 6 treatment groups; negative control, positive control, glibenclamide, dose 1 (earthworm powder 21,064 mg/kgBW), dose 2 (28,085 mg/kgBW), and dose 3 (42,128 mg/kgBW), each with 4 repetitions. Mice were injected with alloxan to develop DM and then treated orally for 14 days. The fasting blood glucose (FBG) levels of mice was measured on day 0, 7, and 15 of treatment. The islets profile was determined based on the area in pancreas histological slides stained with Hematoxylin-Eosin. The FBG data was analyzed using the Anova and Duncan tests. Islets area was analyzed using Kruskal-Wallis and Mann-Whitney tests. The results of FBG data analysis showed that on day 7, negative control group was not significantly different with doses 1 and 2, but on day 15, only dose 1 showed similar results. The mean area of Langerhans Islets between treatment groups showed significant difference ($p < 0.05$), with the best result being dose 3 (42,128 mg/kgBW). Based on these results, it can be concluded that *Eudrilus eugeniae* worm powder had effect on FBG level and profile of Langerhans Islets with optimum dose of 21,064 mg/kgBW.

Kata kunci: Reactive Oxygen Species; Diabetes mellitus; *Eudrilus eugeniae*; area of Langerhans Islets

PENDAHULUAN

Disfungsi sel β pancreas merupakan salah satu penyebab diabetes melitus (DM) (World Health Organization, 2019). Disfungsi ini menyebabkan terjadinya penurunan sekresi insulin sehingga proses transportasi glukosa ke sel hati, sel otot, dan sel lemak terganggu (Olokoba *et al.*, 2012). Akibat dari

gangguan fungsi fisiologis tersebut, kadar glukagon dan glukosa hepatic meningkat serta menyebabkan terjadinya hiperglikemia atau kondisi pra-diabetes (*American Diabetes Association, 2004*).

Salah satu penyebab disfungsi sel β adalah stres oksidatif. Stres oksidatif berperan dalam memperburuk perkembangan DM, terutama yang disebabkan oleh rusaknya sistem antioksidan oleh radikal bebas (*Henriksen et al., 2011*). Tingginya paparan radikal bebas secara abnormal dapat menimbulkan terjadinya penurunan mekanisme pertahanan antioksidan. Akibatnya, akan terjadi peningkatan peroksidasi lipid (*Oboh et al., 2014*). Stres oksidatif juga dapat memicu terjadinya apoptosis pada sel β pankreas. Dengan adanya apoptosis, jumlah sel β dapat menurun hingga setengah jumlah semula (*Ozougwu et al., 2013*). Penurunan jumlah sel β diketahui dapat menyebabkan terjadinya penurunan luas Pulau Langerhans. Menurut *Skyler et al. (2017)*, reduksi jumlah sel β dapat menurunkan jumlah sekresi insulin yang berdampak pada tidak tercukupinya kebutuhan insulin dalam tubuh.

Pengembangan strategi untuk mencegah terjadinya DM secara efektif sangat penting untuk era sekarang. Sejauh ini, metode pengobatan yang sering direkomendasikan untuk mengurangi kadar gula darah adalah dengan menggunakan obat-obatan kimia (*allopathic*) (*Mir et al., 2018*). Jenis obat yang sering digunakan untuk mengatasi dan meringankan gejala klinis diabetes meliputi *secretagogues non-sulfonylurea, thiazolidinediones, inhibitor α -glukosidase, dan insulin glargine* (*Olokoba et al., 2012*).

Salah satu pendekatan terapeutik yang dianggap mampu dalam mengatasi dan mengurangi keadaan hiperglikemia pada penderita DM adalah mengurangi tingkat produksi dan penyerapan glukosa gastrointestinal melalui penghambatan kerja enzim α -amilase dan α -glukosidase. Penghambatan kerja kedua enzim ini dapat menurunkan kadar glukosa darah (*Ahamad et al., 2011*). Penggunaan obat kimia memiliki risiko efek samping pada kesehatan hati terutama pada penggunaan jangka panjang. Terlebih lagi, pengobatan dan terapi secara *allopathic* untuk mengurangi dan mengontrol kadar gula darah juga membutuhkan biaya yang mahal, terutama bagi negara miskin dan berkembang (*Mir et al., 2018*). Menurut *Zhou et al. (2020)*, biaya pengobatan total untuk menurunkan kadar glukosa darah pada tahun 2015-2017 mencapai US\$2.727 atau hampir 39 juta rupiah dengan nilai tukar 14.248,90 rupiah per dolar.

Sebagai alternatif lain, di samping pengobatan *allopathic* untuk menurunkan dan menjaga kadar gula darah penderita DM, sejumlah penelitian juga telah dilakukan untuk memperoleh sumber alternatif dengan fungsi yang sama. Salah satu bahan alternatif yang dapat digunakan adalah cacing tanah yang selama ini digunakan sebagai obat tradisional Cina. Penggunaan cacing tanah secara tradisional sering dijumpai di sejumlah negara di Asia seperti Cina, India, Korea, Myanmar, dan Vietnam. Cacing tanah terbukti memiliki efek farmakologis seperti anti-ulcerasi, antioksidan, hepatoprotektif, anti-inflamasi, anti-mikroba, anti-kanker, anti-apoptosis, dan anti-koagulasi serta memiliki aktivitas fibrinolitik (*Deng et al., 2018*). Cairan selom cacing tanah diketahui mengandung 18 asam amino, asam lemak, unsur-unsur mikro, lumbricin, lumbrifibrin, terestrolum brolisin, purin, kolin, kolesterol, vitamin, dan senyawa lainnya (*Mei et al., 2006*). Berdasarkan kandungan dan efek farmakologisnya, cacing tanah memiliki potensi untuk digunakan sebagai obat. Terlebih lagi, cacing tanah mudah diperoleh dan dibudidayakan sehingga memerlukan biaya yang relatif murah serta tidak menimbulkan banyak masalah terkait etika (*Ling & Gurupackiam, 2017*).

Beberapa penelitian telah mengonfirmasi efek anti-diabetik dari cacing tanah. *Ling dan Gurupackiam (2017)* menunjukkan bahwa ekstrak cacing tanah *Lumbricus rubellus* memiliki efek antidiabetik dengan menghambat enzim α -amilase. Efek inhibitor terhadap enzim α -amilase dan α -glukosidase oleh ekstrak *Pheretima asiatica* juga dilaporkan oleh *Mir et al. (2018)*. Lebih jauh, *Mir et al. (2018)* menyatakan bahwa ekstrak cacing tanah *Pheretima asiatica* mampu menghambat aktivitas enzim α -amilase dan α -glukosidase secara in-vitro walaupun mekanisme efek penghambatan secara spesifik masih belum diketahui. Selain itu, penelitian *Sun et al. (2020b)* menunjukkan apabila pemberian bubuk cacing tanah *Eisenia fetida* dapat menurunkan kadar gula darah dan total kolesterol.

Salah satu spesies cacing tanah yang mudah ditemukan dan umum dibudidayakan di Indonesia adalah *Eudrilus eugeniae* atau disebut juga *African Night Crawler* (ANC). Cacing tanah spesies ini memiliki bobot, tingkat reproduksi, dan kandungan nutrisi yang lebih tinggi dibanding spesies cacing lain seperti *Lumbricus rubellus* (*Aldaraji et al., 2013*). Bubuk kering cacing ANC diketahui mengandung protein; vitamin A, senyawa fenolik, asam amino esensial, dan antioksidan enzimatis seperti *glutathione s-transferase, glutathione reductase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase*, dan *catalase*, serta antioksidan non-enzimatis seperti *reduced glutathione*, vitamin C, dan vitamin E (*Anitha & Jayraaj, 2012*).

Kandungan antioksidan pada bubuk *E. eugeniae* diduga memiliki potensi untuk menghambat dan melindungi sel β pankreas dari ROS akibat adanya stress oksidatif yang terjadi pada DM. Kandungan senyawa fenolik pada bubuk cacing juga dapat menghambat enzim α -amilase dan α -glukosidase (Mir *et al.*, 2018), sehingga dapat menjaga kadar gula darah tetap rendah. Aktivitasnya terjadi melalui pembentukan ikatan kovalen yang mengubah aktivitas enzim. Dengan demikian, enzim akan mengalami kegagalan dalam proses mengenali substrat (Wahyuni *et al.*, 2020).

Menurut Zhang *et al.* (2009), sel β pankreas pada hewan uji yang diinduksi aloksan mengalami kerusakan pada batas kritis yang memungkinkan terjadinya pembalikan reversibel. Mekanisme regenerasi dengan pengembangan proliferasi, transdiferensiasi, serta neogenesis bisa terjadi bersamaan dengan apoptosis sel. Pemulihan sel ini dapat terjadi dengan normalisasi kondisi metabolik lingkungannya (Chen *et al.*, 2017). Berkaitan dengan ini, pengurangan kadar gula darah diketahui menyebabkan penurunan kebutuhan insulin sehingga dapat mempertahankan keadaan sel β fungsional (Karadimos *et al.*, 2012). Penurunan kadar gula darah yang disebabkan oleh aktivitas penghambatan α -amilase dan α -glukosidase juga akan mengurangi produksi ROS yang diinduksi oleh aloksan. Akibatnya, proliferasi sel β dapat meningkat karena hilangnya penekanan pada glukokinase (Porat *et al.*, 2011) yang dimediasi oleh aloksan (Lenzen, 2008).

Terkontrolnya kadar gula darah diketahui dapat mengurangi stress oksidatif akibat sifat glukotoksik pada sel β pankreas (Sun *et al.*, 2020a). Dengan demikian, dampak kerusakan yang disebabkan oleh paparan ROS pada sel β bisa diminimalkan. Selanjutnya, laju regenerasi dan perbaikan sel β pankreas dapat dipertahankan sehingga diharapkan mampu menjadi solusi untuk mengatasi DM (Nir *et al.*, 2007).

Sejumlah penelitian telah dilakukan untuk mengetahui kandungan cacing tanah dan potensinya sebagai alternatif pengobatan pada DM. Walaupun demikian, penelitian yang telah dilakukan berfokus pada ekstrak cacing tanah spesies lain, seperti *Lumbricus rubellus* (Ling & Gurupackiam, 2017), *Pheretima asiatica* (Mir *et al.*, 2018), dan *Eisenia fetida* (Sun *et al.*, 2020b). Selain belum adanya penelitian menggunakan cacing *E. eugeniae*, pengamatan terhadap profil Pulau Langerhans juga sangat jarang dilakukan. Profil pulau Langerhans merupakan parameter utama untuk mengetahui keadaan dan laju regenerasi sel β pankreas penderita DM setelah diberikan perlakuan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh pemberian bubuk cacing tanah *Eudrilus eugeniae* terhadap kadar glukosa darah dan profil Pulau Langerhans pada mencit (*Mus musculus*) diabetes hasil diinduksi aloksan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 kelompok perlakuan. Perlakuan meliputi pemberian bubuk cacing *E. eugeniae* sebesar 0 mg/kgBB pada kelompok kontrol negatif, kontrol positif, dan glibenklamid serta pada kelompok dosis 1, dosis 2, dan dosis 3 masing-masing 21.064 mg/kgBB, 28.085 mg/kgBB, dan 42.128 mg/kgBB yang diperoleh dari hasil konversi dosis awal manusia sebesar 0 mg/kgBB, 1.500 mg/kgBB, 2.000 mg/kgBB, dan 3.000 mg/kgBB menggunakan rumus dari Nair dan Jacob (2016). Selain itu, juga terdapat kelompok perlakuan glibenklamid serta kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Masing-masing perlakuan diulang 4 kali.

Sebelum perlakuan, mencit (*Mus musculus*) diaklimasi terlebih dahulu. Aklimasi dilakukan selama 7 hari dengan memeliharanya dalam kandang plastik berukuran 36x30x12 cm yang beralaskan sekam padi. Setiap kandang diisi 4 ekor. Mencit diberi pakan *pellet* 2 kali sehari, yaitu pagi dan sore sebanyak 1,5 gram per ekor. Air minum diberikan secara *ad libitum* dan diganti baru setiap pagi.

Setelah aklimasi, mencit diuji kadar GDP. Pengukuran dilakukan dengan mengambil darah dari vena ekor menggunakan *blood lancet* setelah mencit dipuasakan selama 10 jam. Ekor dibersihkan dengan mengusapkan alkohol 70%, lalu kadar GDP diukur dengan menggunakan glukometer. Pengukuran GDP dilakukan pada hari ke-0 (H0) penelitian atau 3 hari setelah induksi *alloxan monohydrate*, hari ke-7 (H7), dan hari ke-15 (H15). Mencit dengan kadar GDP lebih dari 150 mg/dL telah dianggap mengalami DM (Bukhari *et al.*, 2015).

Setelah GDP mencit diperiksa, mencit diinjeksi dengan larutan *alloxan monohydrate* untuk menginduksi DM. Injeksi dilakukan sekali dengan *alloxan monohydrate* 10% (Njogu *et al.*, 2018) pada mencit yang telah dipuasakan (Bukhari *et al.*, 2015) selama 18 jam (Shahid dan Taj, 2019). Sebelum diinjeksikan, *alloxan monohydrate* dilarutkan terlebih dahulu menggunakan larutan *sodium citrate buffer* 0,1 M. Larutan *alloxan* diinjeksikan secara intraperitoneal dengan dosis 130 mg/kg berat badan (Domkat *et al.*, 2012). Kadar GDP dicek kembali tiga hari setelah induksi untuk memastikan bahwa

mencit telah mengalami DM. Diabetes melitus ditandai dengan GDP ≥ 126 mg/dL (Goncalves & Farooki, 2022).

Bubuk cacing *E. eugeniae* merupakan cacing kering yang dihaluskan. Cacing *E. eugeniae* yang digunakan merupakan cacing dewasa yang diperoleh dari peternakan cacing di wilayah Sidoarjo. Hewan dicuci bersih dengan air mengalir dan direndam menggunakan aquades selama 6-8 jam. Kemudian cacing dikeringanginkan di tempat teduh yang terhindar dari sinar matahari langsung selama 8-12 jam. Cacing yang telah kering dibungkus menggunakan kertas dan dioven pada suhu 55°C selama 24 jam, kemudian dihaluskan menggunakan *blender*, dimasukkan dalam wadah kering dan tertutup, lalu disimpan dalam lemari pendingin hingga digunakan untuk perlakuan.

Bubuk cacing diberikan pada mencit secara per oral sekali sehari selama 14 hari. Sebelumnya, bubuk dilarutkan dalam *aquadest* dengan perbandingan 1:2 (w/v). Dasar pemberian dosis bubuk cacing adalah rekomendasi dosis manusia sesuai pernyataan Shen (2010) yang dikonversi menjadi dosis untuk mencit. Konversi dosis dilakukan sesuai dengan metode Nair dan Jacob (2016) dengan menggunakan rumus berikut.

$$HED (mg/kg) = Animal\ NOAEL (mg/kg) \times \left(\frac{animal\ weight (kg)}{human\ weight (kg)} \right)^{(1-0,67)} \quad (1)$$

Keterangan:

Animal NOAEL : Dosis pada hewan coba

HED : Dosis pada manusia

Shen (2010) menyebutkan jika penggunaan bubuk cacing sebagai obat tradisional adalah 1,5-3 gram. Berdasarkan rekomendasi ini, dosis awal atau dosis untuk manusia yaitu 0 mg/kgBB, 1.500 mg/kgBB, 2.000 mg/kgBB, dan 3.000 mg/kgBB berat badan. Dosis untuk mencit setelah dikonversi menggunakan rumus Nair dan Jacob (2016) secara berturut-turut yaitu 0 mg/kgBB, 21.064 mg/kgBB, 28.085 mg/kgBB, dan 42.128 mg/kgBB.

Pada hari ke-15, setelah dilakukan pengecekan kadar gula darah, mencit dikorbankan dengan melakukan *euthanasia* kimia sebelum akhirnya dinekropsi. *Euthanasia* kimia dilakukan dengan klorofom secara inhalasi dalam wadah tertutup. Mencit dinekropsi dengan hati-hati untuk diambil pankreasnya. Pankreas selanjutnya dimasukkan ke dalam botol/pot sampel berisikan larutan NBF 10% untuk difiksasi.

Pankreas yang terfiksasi dilakukan preparasi, kemudian dalam blok parafin. Blok parafin selanjutnya diiris dengan ketebalan 3-5 μm (Cardiff *et al.*, 2014). Pewarnaan preparat dilakukan menggunakan *Hematoxylin-Eosin*. Preparat pankreas selanjutnya diamati di bawah mikroskop cahaya untuk mengetahui profil Pulau Langerhans yang ditentukan berdasarkan luas Pulau Langerhans. Penghitungan dilakukan untuk 10 Pulau Langerhans yang ada pada masing-masing sediaan irisan preparat (Nesti, 2015). Diameter pulau dihitung berdasarkan metode menurut Shofiati *et al.* (2021), dengan rumus sebagai berikut.

$$D (\mu\text{m}) = \sqrt{ab} \quad (2)$$

Keterangan:

D : Diameter

a : Diameter maksimum

b : Diameter minimum

Dengan diketahuinya diameter, luas Pulau Langerhans dihitung menggunakan rumus berikut (Shofiati, *et al.*, 2021).

$$A (\mu\text{m}^2) = \pi \times \left(\frac{D}{2} \right)^2 \quad (3)$$

Keterangan:

A : Luas Pulau Langerhans

π : Konstanta (3.14)

D : Diameter Pulau Langerhans

Data hasil pengamatan yang diperoleh dianalisis secara statistik. Uji statistik yang dilakukan meliputi uji normalitas, uji homogenitas, dan uji lanjutan. Pada data GDP, dilakukan uji *Kolmogorov-*

Smirnov dan dilanjutkan dengan uji *Analysis of Variances*. Selanjutnya, data dianalisis menggunakan uji *Duncan*. Sementara itu, data luas Pulau Langerhans dianalisis menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

HASIL

Kadar GDP pada mencit (*Mus musculus*) diukur pada hari ke-3 setelah induksi (H0), hari ke-7 perlakuan (H7), dan hari ke-15 (H15). Hasil pengukuran kadar gula darah mencit ditampilkan pada Tabel 1.

Pengukuran kadar gula darah puasa mencit saat H0 menunjukkan bahwa selain mencit kontrol negatif memiliki kadar gula darah puasa di atas batas normal. Pada H7, kelompok perlakuan dosis diketahui mengalami penurunan GDP secara signifikan. Berdasarkan hasil uji *Kolmogorov-Smirnov*, diketahui apabila seluruh data GDP berdistribusi normal ($p > 0,05$). Uji *Analysis of Variances* menunjukkan apabila data GDP bersifat homogen ($p > 0,05$). Merujuk pada uji *Duncan* pada H7 dan H15, diketahui jika kelompok dosis 1 tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif.

Tabel 1. Kadar GDP mencit dengan perlakuan bubuk cacing *Eudrilus eugeniae*.

Perlakuan	Rerata Kadar Gula Darah Puasa (mg/dL)		
	H0	H7	H15
Kontrol Negatif	120,50 ± 6,557 ^e	98,75 ± 12,203 ^d	114,75 ± 9,287 ^{de}
Kontrol Positif	141,50 ± 15,676 ^f	142,50 ± 12,477 ^f	178,00 ± 14,306 ^h
Glibenklamid	138,75 ± 9,912 ^f	149,50 ± 17,464 ^g	143,25 ± 14,454 ^f
Dosis 1	138,75 ± 3,697 ^f	109,50 ± 12,124 ^{de}	108,00 ± 6,928 ^{de}
Dosis 2	142,50 ± 8,655 ^f	87,75 ± 6,344 ^c	85,75 ± 8,995 ^c
Dosis 3	150,50 ± 10,017 ^g	64,25 ± 8,770 ^a	70,25 ± 7,500 ^b

Keterangan : Kadar GDP diukur pada H0 = hari ke-3 setelah induksi aloksan, H7 = hari ke-7, dan H15 = hari ke-15. Kontrol Negatif = mencit yang tidak diinjeksi aloksan dan tidak diberi perlakuan, Kontrol Positif = mencit DM tanpa perlakuan, Glibenklamid = mencit DM dengan perlakuan glibenklamid 5 mg/kgBB, Dosis 1 = mencit DM dengan perlakuan bubuk cacing 21.064 mg/kgBB, Dosis 2 = mencit DM dengan perlakuan bubuk cacing 28.085 mg/kgBB, dan Dosis 3 = mencit DM dengan perlakuan bubuk cacing 42.128 mg/kgBB. Notasi yang berbeda menunjukkan beda nyata antar kelompok perlakuan berdasarkan uji *Duncan* ($p < 0,05$).

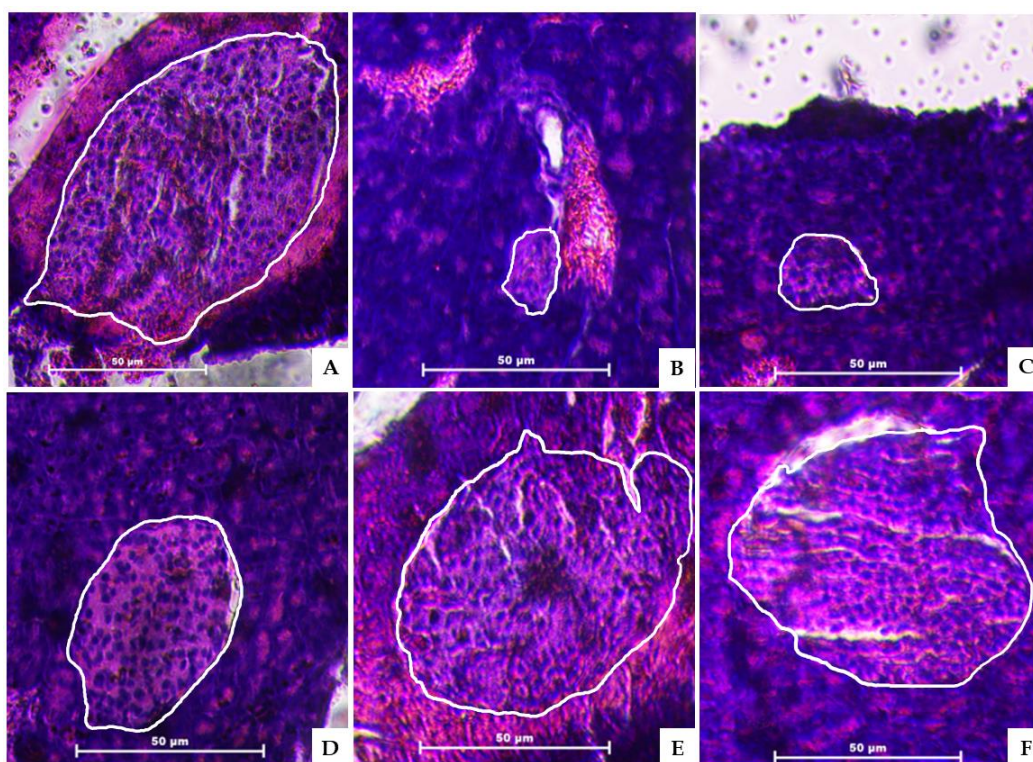
Diameter pulau dihitung untuk mengetahui luas Pulau Langerhans. Penghitungan diameter dan luas pulau dilakukan secara manual dengan menggunakan skala perbandingan dan selanjutnya ditabulasi dan dianalisis secara statistik. Berdasarkan hasil uji *Kruskal-Wallis*, diketahui apabila data rerata luas pulau bersifat homogen ($P < 0,05$). Sementara itu, hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan apabila keseluruhan data berbeda signifikan ($P < 0,05$). Data luas pulau ditampilkan pada Tabel 2

Tabel 2. Rerata luas Pulau Langerhans mencit setelah perlakuan bubuk cacing *Eudrilus eugeniae*

Perlakuan	Luas Pulau Langerhans (μm^2)
Kontrol Negatif	597763,93 ± 22108,998 ^f
Kontrol Positif	164,93 ± 47,824 ^a
Glibenklamid	1411,69 ± 192,736 ^b
Dosis 1	36752,74 ± 3498,918 ^c
Dosis 2	368733,68 ± 17529,846 ^d
Dosis 3	543675,69 ± 256063,147 ^e

Keterangan : Kontrol Negatif = mencit yang tidak diinjeksi aloksan dan tidak diberi perlakuan, Kontrol Positif = mencit DM tanpa perlakuan, Glibenklamid = mencit DM dengan perlakuan glibenklamid 5 mg/kgBB, Dosis 1 = mencit DM dengan perlakuan bubuk cacing 21.064 mg/kgBB, Dosis 2 = mencit DM dengan perlakuan bubuk cacing 28.085 mg/kgBB, dan Dosis 3 = mencit DM dengan perlakuan bubuk cacing 42.128 mg/kgBB. Notasi yang berbeda menunjukkan beda nyata antar kelompok perlakuan berdasarkan uji *Mann-Whitney* ($p < 0,05$).

Profil Pulau Langerhans dapat dilihat pada Gambar 1. Pulau ditandai dengan warna ungu cerah dengan banyak nukleus gelap. Ukuran pulau berbeda-beda antara setiap kelompok perlakuan. Luas pulau terbesar diketahui ada pada kelompok kontrol negatif (A) sementara luas terkecil ada pada kelompok kontrol positif (B).



Gambar 1. Profil Pulau Langerhans pada kelompok Kontrol Negatif (A), Kontrol Positif (B), Glibenklamid (C), Dosis 1 (D), Dosis 2 (E), dan Dosis 3 (F). Garis putih menunjukkan batas pulau Langerhans.

PEMBAHASAN

Aloksan merupakan salah satu bahan yang sering digunakan untuk induksi DM karena memiliki sifat sitotoksik. Aloksan dapat menghambat aktivitas glukokinase dan mendorong pembentukan ROS pada sel β . Mekanisme pembentukan ROS terjadi melalui reaksi siklik dengan produk turunan aloksan yaitu asam dialurat. Reaksi spontan antara asam dialurat dan oksigen menghasilkan ROS berupa anion superoksida, hidrogen peroksida, serta radikal hidroksil yang bersifat sitotoksik (Lenzen, 2008). Meningkatnya jumlah ROS seluler akan memicu produksi radikal baru secara terus-menerus (Zulaikhah, 2017).

Jumlah ROS yang berlebih dapat memicu timbulnya keadaan stress oksidatif (Sharifi-Rad *et al.*, 2020). Keadaan ini terjadi saat jumlah antioksidan tidak mencukupi untuk melindungi sel dari ROS. Terlebih lagi, menurut Zulaikhah (2017), ROS dapat menyebabkan terjadinya reduksi gugus tiol pada senyawa antioksidan, menyebabkan terjadinya penipisan jumlah antioksidan dalam sel. Karena kurangnya jumlah antioksidan, ROS akan bereaksi dan berikatan dengan molekul lipid dan protein dalam sel (Kandola *et al.*, 2015). Adanya oksidasi *poly-unsaturated fatty acid* dan gugus sulfhidril pada protein memunculkan gangguan pada membran dan kerja enzim (Shi *et al.*, 2005). Selanjutnya, produksi ROS berlebihan menyebabkan terjadinya disfungsi organel dan sel yang memicu apoptosis dan nekrosis (Matough *et al.*, 2012).

Berdasarkan Tabel 1, GDP yang diukur pada hari ke-7 dan 15 menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada hari ke-7 dan ke-15, hanya GDP kelompok perlakuan dosis 1 yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok perlakuan kontrol negatif. Sementara itu, dosis 2 menunjukkan hasil GDP normal namun berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Adapun nilai GDP dosis 3 cenderung bersifat hipoglikemia. Dosis 3 menunjukkan nilai GDP di bawah 70 mg/dL pada hari ke-7, dan 70 mg/dL pada hari ke-15. Menurut Matthew & Thoppil (2022), GDP di bawah 70 mg/dL merupakan salah satu indikator hipoglikemia.

Hipoglikemia dapat timbul akibat adanya peningkatan kadar insulin (Altuntaş, 2019). Keadaan ini dapat menjadi indikator penurunan apoptosis sel β dan efektifitas penghambatan α -amilase dan α -glukosidase oleh senyawa fenolik. Seperti yang telah diketahui, penurunan laju apoptosis diketahui dapat meningkatkan viabilitas dan replikasi sel β . Akibatnya, produksi insulin akan mengalami peningkatan (Hosseini *et al.*, 2015). Namun, di sisi lain, kinerja senyawa fenolik dalam menghambat enzim α -amilase dan α -glukosidase, menyebabkan penurunan kadar gula darah (Thilgam *et al.*, 2013), yang pada akhirnya memicu timbulnya hipoglikemia.

Keadaan hipoglikemik yang berkelanjutan dapat menyebabkan terjadinya penurunan massa sel β akibat peningkatan apoptosis dibandingkan proliferasi yang terjadi pada sel. Peningkatan apoptosis ini baru dapat terdeteksi pada hari ke 14 setelah keadaan hipoglikemik (Porat *et al.*, 2011). Ini mendukung hasil yang diperoleh yang menunjukkan luas Pulau Langerhans optimum pada dosis 3, seperti tampak pada Tabel 2, diduga disebabkan akibat belum terdeteksinya peningkatan apoptosis sel β . Dosis ini juga dapat digunakan dalam menentukan kisaran waktu yang lebih pendek selama pengobatan sehingga tidak memicu timbulnya keadaan hipoglikemik.

Kandungan bubuk cacing *E. eugeniae* seperti senyawa fenolik, antioksidan enzimatis seperti *glutathione s-transferase*, *glutathione reductase*, *glutathione peroxidase*, *superoxide dismutase*, dan *catalase*, serta antioksidan non-enzimatis, seperti *reduced glutathione*, vitamin C, dan vitamin E, diperlukan tubuh untuk mereduksi jumlah ROS. *Superoxide dismutase* (SOD) dapat mengkatalis dismutasi $2O_2$ -membentuk H_2O_2 . Enzim *glutathione peroxidase* (GPx) dibutuhkan untuk mengubah H_2O_2 dan *reduced glutathione* (GSH) menjadi air dan *oxidized glutathione* (GSSG). *Glutathione reductase* (GR) selanjutnya akan mengubah kembali GSSG menjadi GSH dengan bantuan NADPH (Ramli *et al.*, 2019).

Enzim *catalase* (CAT) juga diperlukan untuk menguraikan H_2O_2 menjadi air. Peran CAT yang langsung menarget H_2O_2 diduga lebih berpengaruh dalam mengatasi efek toksik aloksan dan asam dialurat (Lenzen, 2008). Akibatnya, penghambatan glukokinase dapat berkurang sehingga sensitifitas glukosa pada sel β akan kembali normal. Vitamin C dan vitamin E juga penting untuk memutus siklus produksi ROS sehingga dapat menyetabilkan membran sel (Rajendiran *et al.*, 2018).

Pengoptimalan proses pembersihan ROS dalam sel sangat penting untuk mempercepat pemulihan. Pembatasan pemasukan glukosa ke dalam tubuh memainkan peran kunci untuk memulai penurunan kadar hiperglikemik, yang juga diketahui memperparah tingkat produksi ROS dalam sel β . Hal ini ditegaskan oleh Sun *et al.* (2020a) bahwa pengurangan dan pembatasan terhadap keadaan hiperglikemia postprandial dibutuhkan untuk mengurangi tingkat keparahan DM. Pembatasan ini dilakukan dengan mengganggu proses penyerapan glukosa dengan menghambat enzim α -amilase dan α -glukosidase (Wahyuni *et al.*, 2020). Kedua enzim ini berperan dalam reaksi hidrolisis oligosakarida dan disakarida menjadi monosakarida sebelum diserap oleh tubuh (de Sales *et al.*, 2012).

Antioksidan dari kelompok fenol dan flavonoid diketahui mampu mengurangi jumlah radikal bebas (Zuraida *et al.*, 2017). Senyawa fenolik juga berperan dalam mekanisme penghambatan α -amilase dan α -glukosidase melalui pembentukan ikatan non-kovalen, seperti ikatan hidrogen, yang mengakibatkan perubahan aktivitas enzimatis (Aleixande *et al.*, 2022). Reaksi senyawa fenolik dalam keadaan basa akan membentuk senyawa kuinon yang reaktif terhadap α -amilase (Rohn *et al.*, 2002). Reaksi senyawa fenolik dengan α -amilase tidak berdasarkan kompetisi dengan substrat lain, melainkan melalui gugus pengikatan spesifik (Funke & Melzig, 2005). Melalui pengikatan ini, enzim akan mengalami kegagalan dalam proses mengenali substrat (Wahyuni *et al.*, 2020).

Pengobatan menggunakan glibenklamid (kelompok gliben) menunjukkan perubahan parameter GDP atau luas Pulau Langerhans yang tidak terlalu baik, seperti yang tersaji pada Tabel 1 dan Tabel 2. Hal ini disebabkan oleh mekanisme kerja glibenklamid yang terbatas pada stimulasi produksi insulin dari sel β yang telah ada. Selain itu, glibenklamid juga diketahui dapat mengurangi tingkat produksi gula oleh hati (Pandarekandy *et al.*, 2017). Dengan demikian, pemberian glibenklamid tidak menurunkan kadar ROS dan status stress oksidatif pada sel β pankreas. Terlebih, Zhang *et al.*, (2009) menyatakan apabila glibenklamid diketahui menginduksi pembentukan ROS dalam jumlah kecil. Akibatnya, pemberian glibenklamid menunjukkan efek yang kurang maksimal dibandingkan dengan perlakuan bubuk cacing *Eudrilus eugeniae*.

Tabel 2 menunjukkan adanya perbedaan luas Pulau Langerhans yang diperoleh dalam penelitian ini. Luas pulau kelompok kontrol positif merupakan yang terkecil di antara semua kelompok perlakuan. Ini sesuai dengan pendapat Suhariningsih *et al.* (2020) bahwa keadaan hiperglikemia menyebabkan penurunan ukuran pulau. Selain itu, luas pulau pada kelompok dosis 3 merupakan yang terbesar setelah kelompok kontrol negatif. Walau hasil uji Mann-Whitney menunjukkan hasil adanya beda nyata, kelompok dosis 3 menunjukkan nilai yang paling mendekati nilai kelompok kontrol negatif.

Kombinasi kandungan senyawa dalam bubuk *Eudrilus eugeniae* seperti yang disebutkan oleh Anitha & Jayraj (2012), terutama antioksidan enzimatis dan non-enzimatis serta kandungan total fenolik, terbukti efektif dalam mengatasi keadaan hiperglikemik dan mendorong regenerasi sel β . Hasil ini ditunjukkan dengan peningkatan signifikan luas Pulau Langerhans, dengan kelompok perlakuan dosis 3 dengan hasil terbaik untuk mendekati kelompok kontrol negatif seperti yang tercantum pada Tabel 2 dan Gambar 1. Hal ini dimungkinkan dengan terpenuhinya jumlah

antioksidan untuk mengatasi stress oksidatif pada sel sejak awal perlakuan, sehingga sel β memiliki waktu yang lebih banyak untuk beregenerasi, yang ditunjukkan oleh semakin besarnya luas pulau yang teramati.

Peningkatan dan pemulihan sel β sangat terkait dengan ukuran Pulau Langerhans. Volume pulau akan berkurang saat kontrol metabolik terhadap glukosa mengalami penurunan. Akibatnya, ukuran pulau menjadi salah satu indikator dari fungsionalitas sel β (Nano *et al.*, 2016). Ukuran pulau terkait erat dalam komposisi sel dan mekanisme respons terhadap kadar glukosa (Ravi *et al.*, 2019). Keadaan hiperglikemia menurunkan diameter Pulau Langerhans (Suhariningsih *et al.*, 2020), yang secara otomatis mempengaruhi luasnya. Dengan demikian, pemulihan dan peningkatan proliferasi sel β dapat diindikasikan dengan perubahan volume Pulau Langerhans mendekati kelompok kontrol negatif. Volume direpresentasikan oleh luas pulau, seperti yang teramati seperti pada Tabel 2.

Mekanisme regenerasi dengan pengembangan proliferasi, transdiferensiasi, serta neogenesis bisa terjadi bersamaan dengan apoptosis sel. Sel β yang mengalami stres berlebih dan kehilangan fungsionalitasnya bisa mengalami regranulasi. Pemulihan sel ini dapat terjadi dengan normalisasi kondisi metabolik lingkungannya (Chen *et al.*, 2017). Pengurangan kadar gula darah diketahui menyebabkan penurunan kebutuhan insulin sehingga dapat mempertahankan keadaan sel β fungsional (Karadimos *et al.*, 2012). Penurunan kadar gula darah juga akan mengurangi produksi ROS yang diinduksi oleh aloksan. Akibatnya, proliferasi sel β dapat meningkat akibat hilangnya penekanan pada glukokinase (Porat *et al.*, 2011), yang dimediasi oleh aloksan (Lenzen, 2008).

Menurut Zhang *et al.* (2009), sel β pankreas pada hewan uji yang diinduksi aloksan mengalami kerusakan pada batas kritis yang memungkinkan terjadinya pembalikan reversibel. Pendapat tersebut dibuktikan dari jumlah sel yang fluktuatif terhadap perubahan fisiologis lingkungannya. Akibatnya, induksi artifisial regenerasi sel β dapat dilakukan secara buatan dengan memanipulasi status metabolik tubuh (Jun, 2010). Hal ini didukung oleh kemampuan potensial sel untuk mengalami regenerasi spontan, yang memungkinkan pemulihan sel dari keadaan hiperglikemik (Nir *et al.*, 2007).

Sel β pankreas memiliki kapasitas antioksidan rendah, sehingga sel lebih sensitif terhadap ROS dan rentan mengalami stress oksidatif (Lei & Vatamaniuk, 2011). Akibatnya, sel lebih rawan mengalami disfungsi, kerusakan, dan kematian (Hosseini *et al.*, 2015). Kerusakan pada sel β menyebabkan jumlah dan volume sel β mengalami pengurangan sehingga terjadi penurunan jumlah sekresi insulin yang memicu timbulnya DM (Ozougwu *et al.*, 2013).

Perbaikan dan regenerasi sel β sangat penting untuk mengatasi DM. Tahap paling mendasar yang diperlukan yaitu melindungi sel dari keadaan stress oksidatif dan serangan ROS. Namun karena rendahnya jumlah antioksidan endogen, antioksidan eksogen diperlukan untuk mereduksi ROS (Zulaikhah, 2017), sehingga keadaan stress oksidatif dapat dinormalkan. Terlebih lagi, kapasitas reduksi aloksan secara endogen tidak cukup untuk mencegah aloksan memasuki sel (Lenzen, 2008).

Berdasarkan hasil penelitian ini, dosis 1 merupakan dosis yang paling optimum untuk memperoleh nilai KGD normal dibandingkan dengan dosis 2, dosis 3, dan glibenklamid. Pernyataan ini didukung dengan nilai KGD dosis 1 pada H7 dan H15 yang tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol negatif. Sementara itu, meskipun dosis 3 memiliki luas pulau paling mendekati normal. Keadaan hipoglikemia dapat memicu apoptosis dan nekrosis pada sel β yang dapat menyebabkan penurunan luas pulau. Terlebih, Tabel 1 menunjukkan keadaan hipoglikemik terjadi sejak hari ke-7 perlakuan, sehingga tidak dianjurkan untuk digunakan lebih dari 7 hari. Dengan demikian, walaupun luas pulau dosis 1 tidak mendekati kelompok kontrol negatif, dengan nilai KGD dalam rentang normal, perbaikan lebih lanjut pada sel β dapat terus terjadi. Pada akhirnya, diameter Pulau Langerhans dapat terus mengalami peningkatan.

SIMPULAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian bubuk cacing *Eudrilus eugeniae* berpengaruh terhadap kadar glukosa darah dan profil Pulau Langerhans mencit diabetes yaitu dengan menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki profil Pulau Langerhans hingga menyamai kadar glukosa darah dan profil Pulau Langerhans pada hewan normal. Adapun dosis optimum untuk digunakan adalah dosis 1, yaitu 21.064 mg/kgBB sebab menunjukkan nilai KGD dalam rentang normal yang dapat mendorong proses perbaikan lebih lanjut pada sel β secara kontinu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahamad J, Naquvi K, Mir S, Ali M, & Shuaib M, 2011. Review on Role of Natural Alpha-Glucosidase Inhibitors For Management of Diabetes Mellitus. *International Journal of Biomedical Research*, 2(6): 374-380.
- Aldarraj Q, Halimoon N, & Majid N, 2013. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Earthworm Paste of *Lumbricus Rubellus* (Red Worm) and *Eudrilus eugenia* (African Night Crawler). *Journal of Entomology and Nematology*, 5(3): 33-37.
- Aleixande A, Gil J, Sineiro J, & Rosell C, 2022. Understanding phenolic acids inhibition of α -amylase and α -glucosidase and influence of reaction conditions. *Food Chemistry*, 372: 131231.
- Altuntaş Y, 2019. Postprandial Reactive Hypoglycemia. *The Medical Bulletin of Sisli Etfal Hospital*, 53(3): 215-220.
- Anitha J & Jayraaj I, 2012. Nutritional and Antioxidant Evaluation of Earthworm Powder (*Eudrillus euginae*). *International Research Journal of Pharmacy*, 3(2): 177-180.
- American Diabetes Association, 2004. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 37(1): S81-S90.
- Cardiff R, Miller C, & Munn R, 2014. Manual Hematoxylin and Eosin Staining of Mouse Tissue Sections. *Cold Spring Harb Protoc*: 655-658.
- Chen C, Cohrs C, Stertmann J, Bozsak R, & Speler S, 2017. Human beta cell mass and function in diabetes: Recent advances in knowledge and technologies to understand disease pathogenesis. *Molecular Metabolism*, 6: 943-957.
- de Sales P, de Souza P, Simeoni L, Magalhães P, & Silveira D, 2012. α -Amylase Inhibitors: A Review of Raw Material and Isolated Compounds from Plant Source. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 15(1): 141-183.
- Deng ZH, Yin JJ, Luo W, Kotian RN, Gao SS, Yi ZQ, Xiao WF, Li WP, & Li Y, 2018. The Effect of Earthworm Extract on Promoting Skin Wound Healing. *Bioscience Reports*, 38 BSR20171366.
- Funke I, & Melzig M, 2005. Effect of different phenolic compounds on α -amylase activity: screening by microplate-reader based kinetic assay. *Pharmazie*, 60: 796-797.
- Goncalves M, & Farooki A, 2022. Management of Phosphatidylinositol-3-Kinase Inhibitor-Associated Hyperglycemia. *Integrative Cancer Therapies*, 21: 1-14.
- Henriksen E, Dlamond-Stanic M, & Marchionne E, 2011. Oxidative Stress and The Etiology of Insulin Resistance and Type 2 Diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*, 51: 993-999.
- Hosseini A, Shafiee-Nick R, & Ghorbani A, 2015. Pancreatic beta cell protection/regeneration with phytotherapy. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51(1).
- Jun H, 2010. Cell Replacement and Regeneration Therapy for Diabetes. *Korean Diabetes Journal*, 34: 77-83.
- Kandola K, Bowman A, & Birch-Machin M, 2015. Oxidative stress – a key emerging impact factor in health, ageing, lifestyle and aesthetics. *International Journal of Cosmetic Science*, 37(2): 1-8.
- Karadimos M, Kapoor A, El Khattabi I, & Sharma A, 2012. β -cell preservation and regeneration for diabetes treatment: where are we now? *Diabetes Manage*, 2(3): 213-222.
- Lei X & Vatamaniuk M, 2011. Two Tales of Antioxidant Enzymes on β Cells and Diabetes. *Antioxidants & Redox Signaling*, 14(3): 489-503.
- Lenzen S, 2008. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51: 216-226.
- Ling S & Gurupackiam M, 2017. In-Vitro Evaluation of The Antidiabetic & Cytotoxic Activities of Earthworm (*Lumbricus rubellus*) Extract. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 8(5): 2302-2308.
- Matough F, Budin S, Hamid Z, Alwahaibi N, & Mohamed J, 2012. The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Complications. *SQU Medical Journal*, 12(1).
- Matthew P, & Thoppil D, 2022. *Hypoglycemia*. Retrieved from Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Web Publication <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534841/>. Diakses tanggal 9 Juni 2022.
- Mei Z, Xu L, Yi L, Feng Y, & Gequan Q, 2006. Effect of Extract of *Dilong* (*Pheretima*) on the Scalded Skin in Rats. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 26(1): 68-71.
- Mir M, Upadhyay S, & Mir B, 2018. Inhibition of Alpha Amylase and Alpha Glycosidase Enzymes by Various Earth Worm Extract. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 11(3): 1261-1268.
- Nano R, Melzi R, Mercalli A, Balzano G, Scavini M, Bonadonna R, & Piemonti L, 2016. Islet Volume and Indexes of β -Cell Function in Humans. *Cell Transplantation*, 25: 491-501.
- Nesti D, 2015. *Morfologi, Morfometri dan Distribusi Sel Immunoreaktif Insulin dan Glukagon Pada Pankreas Tikus (Rattus norvegicus) Obesitas*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Nir T, Melton D, & Dor Y, 2007. Recovery from diabetes in mice by β cell regeneration. *The Journal of Clinical Investigation*, 117(9): 2553-2561.

- Oboh G, Isaac A, Akinyemi A, & Ajani R, 2014. Inhibition of Key Enzymes Linked to Type 2 Diabetes and Sodium Nitroprusside Induced Lipid Peroxidation in Rats' Pancreas by Phenolic Extracts of Avocado Pear Leaves and Fruit. *International Journal of Biomedical Science*, 10(3): 208-216.
- Olokoba A, Obateru O, & Olokoba L, 2012. Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Current Trends. *Oman Medical Journal*, 27(4): 269-273.
- Ozougwu J, Obimba K, Belonwi C, & Unakalamba C, 2013. The Pathogenesis and Pathophysiology of Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology*, 4(4): 46-57.
- Pandarekandy S, Sreejesh P, Thampi B, & Sreekumaran E, 2017. Hypoglycaemic Effect of Glibenclamide: A Critical Study on the Basis of Creatinine and Lipid Peroxidation Status of Streptozotocin-induced Diabetic Rat. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 79(5): 768-777.
- Porat S, Weinberg-Corem N, Tornovsky-Babaey S, Schyr-Ben-Haroush R, Hija A, Stolovich-Rain M, Dadon D, Granot Z, Ben-Hur V, White P, Girard CA, Karni R, Kaestner KH, Ashcroft FM, Magnuson MA, Saada A, Grimsby J, Glaser B, & Dor Y, 2011. Control of Pancreatic β Cell Regeneration by Glucose Metabolism. *Cell Metabolism*, 13: 440-449.
- Rajendiran D, Packirisamy S, & Gunasekaran K, 2018. A Review on Role of Antioxidants in Diabetes. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(2): 48-53.
- Ramli N, Yahya M, Tooyama I, & Damanhuri H, 2019. A Mechanistic Evaluation of Antioxidant Nutraceuticals on Their Potential against Age-Associated Neurodegenerative Diseases. *Antioxidants*, 9(1019).
- Ravi P, Purkait S, Agrawal U, Patra S, Patnaik M, Singh S, & Mishra P, 2019. Regional variation of human pancreatic islets dimension and its impact on beta cells in Indian population. *Islets*, 11(6): 141-151.
- Rohn S, Rawel H, & Kroll J, 2002. Inhibitory Effects of Plant Phenols on the Activity of Selected Enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3566-3571.
- Sharifi-Rad M, Kumar NVA, Zucca P, Varoni EM, Dini L, Panzarini E, Rajkovic J, Fokou PVT, Azzini E, Peluso I, Mishra AP, Nigam M, El Rayess Y, El Beyrouthy M, Polito L, Iriti M, Martins N, Martorell M, Docea AO, Setzer WN, Calina D, Cho WC, & Sharifi-Rad J, 2020. Lifestyle, Oxidative Stress, and Antioxidants: Back and Forth in the Pathophysiology of Chronic Diseases. *Frontiers in Physiology*, 11(694).
- Shen Y, 2010. Earthworms in Traditional Chinese Medicine. *Zoology in the Middle East*, 51(2): 171-173.
- Shi C, Andersson R, Zhao X, & Wang X, 2005. Potential Role of Reactive Oxygen Species in Pancreatitis-Associated Multiple Organ Dysfunction. *Pancreatology*, 5: 492-500.
- Shofiati N, Mardiaty S, Sitaswi A, & Isdadiyanto S, 2021. Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Terhadap Struktur Histologis Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Hiperglikemia. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 6(2): 115-123.
- Skyler JS, Bakris GL, Bonifacio E, Darsow T, Eckel RH, Groop L, Groop PH, Handelsman Y, Insel RA, Mathieu C, McElvaine AT, Palmer JP, Pugliese A, Schatz DA, Sosenko JM, Wilding JPH, & Ratner RE, 2017. Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes*, 66: 241-255.
- Suhariningsih S, Astuti SD, Husen SA, Winarni D, Rahmawati DA, Mukti AT, Putra AP, & Miftahussurur M, 2020. The combined effect of magnetic and electric fields using on/off infrared light on the blood sugar level and the diameter of Langerhans islets of diabetic mice. *Veterinary World*, 13(10): 2286-2293.
- Sun L, Wang Y, & Miao M, 2020a. Inhibition of α -amylase by polyphenolic compounds: Substrate digestion, binding interactions and nutritional intervention. *Trends in Food Science & Technology*, 104: 190-207.
- Sun X, Yue S, Qiao Y, Sun Z, Wang C, & Li H, 2020b. Dietary Supplementation with Selenium-Enriched Warthorn Powder Improves Antioxidative Ability and Immunity of Laying Hens. *Poultry Science*, 99: 5344-5349.
- Thilgam E, Parimaladevi B, Kumarappan C, & Mandal S, 2013. α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Activity of *Senna surattensis*. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies*, 6(1): 24-30.
- Wahyuni L, Hardiansyah H, & Setiawan B, 2020. In-Vitro Alpha Amylase Inhibition and Antioxidant Activities of Leaves Extract of Sundanese Traditional Salad (Lalapan) from Indonesia. *Jurnal Gizi Pangan*, 15(2): 109-118.
- World Health Organization, 2019. *Classification of Diabetes Mellitus*. Geneva: World Health Organization.
- Zhang Z, Jiang J, Yu P, Zeng X, Larrick J, & Wang Y, 2009. Hypoglycemic and beta cell protective effects of andrographolide analogue for diabetes treatment. *Journal of Translational Medicine*, 7(62).
- Zhou X, Shrestha S, Shao H, & Zhang P, 2020. Factors Contributing to the Rising National Cost of Glucose-Lowering Medicines for Diabetes During 2005-2007 and 2015-2017. *Diabetes Care*, 43: 2396-2402.
- Zulaikhah S, 2017. The Role of Antioxidant to Prevent Free Radicals in The Body. *Sains Medika*, 8(1): 39-45.

Zuraida, Sulistiyani, Sajuthi D, & Suparto I, 2017. Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Isonia scholaris* R.Br). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 35(3): 211-219.

Article History:

Received: 7 Juli 2022

Revised: 30 Juli 2022

Available online: 16 Agustus 2022

Published: 30 September 2022

Authors:

Ardine Rahma Sarita, Universitas Negeri Surabaya, Jurusan Biologi FMIPA, Jln. Ketintang, Gayungan, Surabaya, 60231, Indonesia, e-mail: ardine.18022@mhs.unesa.ac.id

Nur Kuswanti, Universitas Negeri Surabaya, Jurusan Biologi FMIPA, Jln. Ketintang, Gayungan, Surabaya, 60231, Indonesia, e-mail: nurkuswanti@unesa.ac.id

How to cite this article:

Sarita, AR dan Kuswanti, N, 2022. Pengaruh Pemberian Bubuk Cacing Tanah (*Eudrilus eugeniae*) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Profil Pulau Langerhans Mencit (*Mus musculus*) Diabetes. *LenteraBio*; 11(3): 525-535.