

Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Daun *Phyllanthus acidus* L. pada Mencit Diabetes Mellitus Tipe 2

Hepatoprotective Activity of Phyllanthus acidus L. Leaf Extract in Type 2 Diabetes Mellitus Mice

Erin Eka Putri Oktaviona*, Nur Qomariyah, Firas Khaleyla

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: erinputri782@gmail.com

Abstrak. Pada penderita hiperglikemia dan hiperkolesterol terjadi stres oksidatif yang menyebabkan hiperinsulinemia sehingga terjadi pembentukan radikal bebas yang dapat memicu inflamasi dan kematian sel pada hati. *Reactive oxygen spesies* (ROS) merupakan radikal bebas yang dapat merusak jaringan, ditangkap atau dinetralkan oleh senyawa flavonoid dalam daun *P. acidus* yang bertindak sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji pengaruh ekstrak daun *P. acidus* terhadap histopatologi hati dan *Hepatosomatic Index* (HSI) pada model mencit DM tipe 2 yang diinduksi *High Fat Diet* HFD. Dalam penelitian ini, digunakan 24 tikus strain *Deutsch Denken Yoken* (DDY) jantan, dan terdapat enam kelompok perlakuan, yaitu kelompok normal, kelompok negatif, kelompok positif, dosis 215 mg/kgBB, dosis 230 mg/kgBB, dan dosis 245 mg/kgBB. Analisis data dengan uji statistik. Skoring histologi hati, dilakukan dengan uji *Kruskal-Wallis* ($p < 0,05$) yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*, untuk hasil data HSI dilakukan uji *One Way ANOVA* ($p < 0,05$), jika hasil normal dilanjutkan uji *Duncan*. Hasil penelitian menunjukkan terdapat pengaruh pemberian ekstrak daun *P. acidus* pada tingkat kerusakan hepar ($p < 0,05$). Selain itu, pemberian ekstrak juga berpengaruh pada nilai HSI ($p < 0,05$). Berdasarkan hasil disimpulkan bahwa dosis 215 mg/kg BB ekstrak daun *P. acidus* berpengaruh terhadap tingkat kerusakan hepar dan *Hepatosomatic Index* (HSI).

Kata kunci: Diabetes; *Phyllanthus acidus*; hepar; *Hepatosomatic Index*; kegemukan

Abstract. In patients with hyperglycemia and hypercholesterolemia, oxidative stress that causes hyperinsulinemia resulting in the formation of free radicals that can trigger inflammation and cell death in the liver. *Reactive oxygen species* (ROS) are free radicals that can damage tissues and are captured or neutralized by flavonoid compounds in *P. acidus* leaf that act as antioxidants. This study aims to examine the effect of *P. acidus* leaf extract in liver histopathology and *Hepatosomatic Index* (HSI) in a type 2 diabetes mellitus mice model. In this study, 24 male *Deutsch Denken Yoken* (DDY) strain mice were used, and divided into six treatment groups, namely the control group, the negative control group, the positive group, a dose of 215 mg/kg BW, a dose of 230 mg/kg BW, and a dose of 245 mg/kg BW. Data analysis with statistical tests. Liver histology scoring was calculated using the *Kruskal-Wallis* test ($p < 0.05$) followed by the *Mann-Whitney* test. A one-way ANOVA test was performed for HSI data results ($p < 0.05$) and resumed with *Duncan's* test. The results of the research on the level of liver damage showed there was an effect of giving *P. acidus* leaf extract on the level of liver damage ($p < 0.05$). In addition, the administration of *P. acidus* extract also affects the HSI value ($p < 0.05$). Based on the results, it can be concluded that the dose 215 mg/kg BW of *P. acidus* leaf extract affected liver damage and *Hepatosomatic Index* (HSI).

Kata kunci: Diabetes; *Phyllanthus acidus*; liver; *Hepatosomatic Index*; obesity

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus tipe 2 dicirikan dengan resistensi insulin perifer dan produksi insulin yang menurun, disertai dengan jaringan perifer yang mengalami inflamasi kronik seperti adiposa, hepar, dan otot (Soelistijo *et al.*, 2021). Menurut Ma'ruf *et al.* (2020) pada tahun 2019, Organisasi *International Diabetes Federation* (IDF) memperhitungkan penderita DM pada usia 20-79 tahun terdapat 463 juta atau setara dengan angka 9,3% populasi penduduk dunia dengan usia tersebut.

Penderita DM yang tidak memperoleh penanganan dengan tepat dapat mengalami komplikasi (Narulita *et al.*, 2019). Kematian yang disebabkan DM umumnya karena komplikasi, diantaranya adalah kerusakan pada hati (Mohamed *et al.*, 2016). Penderita DM mengalami masalah

pada kerja insulin dalam membantu metabolisme gula ke dalam sel, sehingga menyebabkan tubuh tidak memperoleh tenaga yang memadai dari gula. Hal tersebut mengakibatkan tubuh memperoleh energi yang berasal dari zat lain, misalnya lemak (Rias dan Sutikno, 2017).

Kondisi DM menyebabkan resistensi insulin yang mengakibatkan adiposit perifer mengalami lipolisis, sehingga terjadi peningkatan asam lemak bebas. Peningkatan lipolisis dapat meningkatkan trigliserida di hepar (Sundaram *et al.*, 2013). Pelepasan asam lemak bebas dalam darah menyebabkan penumpukan di hepar. Selain itu, faktor nekrosis tumor α dan leptin yang dilepaskan adipositokin dapat memperparah kerusakan pada hepatosit dengan meningkatkannya stres oksidatif di mitokondria. Adanya stres oksidatif di mitokondria menyebabkan hiperinsulinemia, dan terjadinya hiperglikemia, sehingga terjadi produksi radikal bebas yang memicu inflamasi juga kematian sel pada hati (Mohamed *et al.*, 2016).

Hepar dapat mempengaruhi berat tubuh. Hal ini disebabkan oleh peran hati dalam proses metabolisme zat makanan yang digunakan untuk aktivitas dan akan disimpan sebagai cadangan makanan (Niendya *et al.*, 2011). Berat tubuh dan berat hepar dapat dijadikan acuan dalam menetapkan nilai *Hepatosomatic index* (HSI), sesuai dengan fungsi hepar yaitu tempat menyimpan energi dan kegiatan metabolik (Ashwini *et al.*, 2016). Kerusakan pada hepar tentunya memerlukan pengobatan dalam upaya untuk memperbaiki kerusakan tersebut yang biasa disebut hepatoprotektif. Hepatoprotektif atau pelindung hepar adalah senyawa obat yang memiliki efek penyembuhan yang berfungsi untuk memperbaiki, menjaga, dan membantu memulihkan kerusakan dari peran hati (Armansyah *et al.*, 2010).

Pada penderita hiperglikemia dan hiperkolesterol, pengobatan yang dilakukan umumnya menggunakan bantuan obat kimia dalam proses penyembuhannya. Penggunaan obat kimia tersebut terkadang memiliki efek samping bagi tubuh (Riwu *et al.*, 2015). Penelitian sebelumnya menjelaskan bahwa senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, dan tanin terkandung dalam daun ceremai (Tatto *et al.*, 2017). Menurut Fakhurrizi *et al.* (2020), kandungan senyawa daun ceremai yaitu polifenol dan flavonoid yang dapat berfungsi sebagai antioksidan sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan atau nekrosis jaringan. Flavonoid juga memiliki daya antibakteri, sedangkan saponin bermanfaat sebagai antioksidan dan antimikroba. Selain itu, menurut Jain dan Singhai (2011) kandungan senyawa daun ceremai yaitu polifenol dan saponin memiliki sifat hepatoprotektif dan antioksidan pada cedera hati.

Berdasarkan penelitian Tatto *et al.* (2017), ekstrak daun ceremai yang diberikan dengan dosis 200 mg/Kg BB dalam waktu 14 hari memiliki efek untuk menurunkan kadar gula dalam darah dan berbeda signifikan dengan kontrol positif metformin. Sedangkan penelitian Tram *et al.* (2017) yang menggunakan glikosida kaempferol, yaitu turunan senyawa flavonoid dari *P. acidus* menunjukkan bahwa kaempferol memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi dalam menghambat produksi *tumor necrosis factor alpha* (TNF α). Oleh karena itu, tujuan penelitian ini adalah untuk memastikan dampak pemberian ekstrak daun ceremai (*P. acidus*) pada gambaran histopatologi hepar dan *Hepatosomatic index* (HSI) pada mencit dalam kondisi DM tipe 2 yang diinduksi HFD.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dengan 24 sampel ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan, meliputi kelompok A (kontrol normal), B (kontrol negatif), C (kontrol positif), D (dosis ekstrak 215 mg/kgBB), E (dosis ekstrak 230 mg/kgBB), dan F (dosis ekstrak 245 mg/kgBB). Pembuatan ekstrak daun ceremai (EDC) dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar, proses perawatan hewan coba dilakukan di Laboratorium Hewan Coba, dan proses pembuatan serta pengamatan histologi dilakukan di Laboratorium Mikroteknik, Jurusan Biologi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya.

Pembuatan ekstrak ceremai mengacu pada penelitian Tatto *et al.* (2017). Daun ceremai didapatkan dari daerah Buduran Sidoarjo dengan daun yang digunakan mulai dari nodus ketiga. Daun ceremai dihancurkan menjadi bubuk atau simplisia dan dimaserasi. Serbuk daun ceremai ditimbang dan dilarutkan dengan etanol 96% yang direndam sebanyak 3 kali. Untuk memperoleh ekstrak daun ceremai pekat, filtrat yang dihasilkan diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Kemudian ekstrak kental yang dihasilkan dibuat sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan. Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak pekat daun ceremai dilakukan dengan mencampurkan ekstrak dengan larutan Na CMC 1%.

Perlakuan hewan coba dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu proses aklimasi mencit selama 7 hari dengan diberikan pakan normal (CP511) sebanyak 15 gram per ekor dan minum *ad libitum*.

Kemudian diberi pakan *High Fat Diet* (HFD) yang memiliki komposisi 80% pakan standar, 15% minyak padat, dan 5% kuning telur bebek selama 2 bulan. Setelah itu, dilakukan pengukuran kadar gula darah, namun sebelum dilakukan pengukuran mencit akan dipuasakan selama 8-12 jam. Sebanyak 5 kelompok perlakuan (B, C, D, E, dan F) diinduksi dengan aloksan menggunakan aloksan dosis 100 mg/kgBB yang dilarutkan menggunakan *sodium citrate buffer* dengan pH 4 (Zhang *et al.*, 2016). Menurut Setiadi *et al.* (2020) mencit dinyatakan dalam kondisi diabetes jika kadar gula darah puasa ≥ 126 mg/dL pada 24-72 jam setelah induksi dilakukan. Setelah 3 hari dan dinyatakan diabetes mencit diberi perlakuan A (tanpa HFD, tanpa induksi aloksan dan tanpa pemberian ekstrak), B (induksi aloksan), C (metformin), D (dosis ekstrak 215 mg/kgBB), E (dosis ekstrak 230 mg/kgBB), dan F (dosis ekstrak 245 mg/kgBB). Perlakuan tersebut dilakukan selama 21 hari dan hari ke-22 dibius dan dibedah untuk diambil dan ditimbang organ hatinya serta dijadikan preparat.

Perhitungan HSI dilakukan dengan menimbang terlebih dahulu berat badan akhir mencit dan berat organ hati mencit (Putri *et al.*, 2021a). Pada hari ke-22 mencit dibius dan dilakukan pembedahan untuk diambil organ hatinya dan ditimbang. Sebelum ditimbang organ hati dicuci dengan NaCl 0,9% dan dikeringkan terlebih dahulu dengan kertas penyerap. Menurut Putri *et al.* (2021b) perhitungan HSI menggunakan rumus:

$$HSI = \frac{\text{Berat Hepar (g)}}{\text{Berat Badan Mencit (g)}} \times 100\%$$

Pembuatan preparat dilakukan dengan metode *paraffin* dan pewarnaan HE. Organ hepar yang telah dicuci dan ditimbang dilakukan fiksasi dengan dimasukkan ke dalam *Neutral Buffer Formalin* (NBF) 10%. Setelah difiksasi organ hepar dicuci dengan air mengalir selama 2-24 jam. Proses *dehidrasi* dilakukan dengan memasukkan ke dalam alkohol bertingkat 70% (4x), 80% (2x), 90%, 96%, dan 100% selama 30 menit dalam setiap konsentrasi. Proses *clearing* dilakukan dengan memasukkan organ ke dalam *xylol* I selama 15 menit dan *xylol* II selama 24 jam (*overnight*). Proses infiltrasi dengan *paraffin* : *xylol* (1:1) selama 30 menit dan diikuti 3 kali larutan *paraffin* masing-masing selama 1 jam. Kemudian untuk proses *embedding* dilakukan dengan memasukkan organ ke dalam cetakan yang diberi cairan *paraffin* dan menunggu sampai *paraffin* mengeras. Setelah itu, dilakukan proses *section* menggunakan *microtome* dengan ketebalan 4-5 μm . Potongan organ direndam dalam *water bath* (40-45°C) dan diambil dengan *object glass* yang telah diberi mayer albumin sebelumnya. *Object glass* yang sudah terdapat potongan organ dimasukkan ke dalam oven (50°C) minimal 2 jam. Setelah itu dilakukan pewarnaan dengan pewarna *Hematoxylin-Eosin* (HE) (Khaleyra *et al.*, 2021).

Preparat organ hepar diamati menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x10 pada lima lapang pandang. Evaluasi preparat hepar dilakukan dengan sistem skoring, sebagaimana tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Skoring derajat kerusakan histologi hepatosit (Mordue *et al.*, 2001).

Nilai Skor	Tingkat Kerusakan
0	Satu lapang pandang tidak dijumpai degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati
1	Satu lapang pandang dijumpai 1-20% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati
2	Satu lapang pandang dijumpai 21-50% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati
3	Satu lapang pandang dijumpai 51-75% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati (kerusakan ringan)
4	Satu lapang pandang dijumpai >75% degenerasi dan nekrosis pada bagian yang diamati (kerusakan berat)

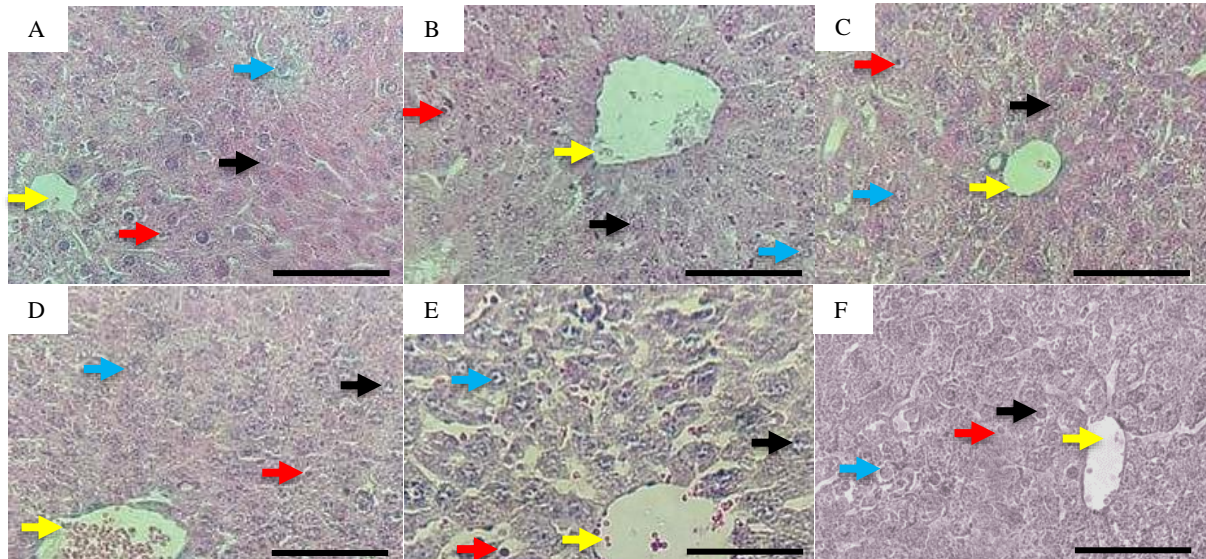
Analisis data dilakukan menggunakan *software* uji statistik SPSS. Data HSI dianalisis secara statistika dengan uji normalitas yang dilanjutkan dengan uji *One Way Anova*, dan dilanjutkan dengan uji *Duncan*. Data dari hasil skoring histopatologi hepar dianalisis secara statistika dengan uji *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

HASIL

Pemberian EDC pada mencit berhenti pada hari ke-21 perlakuan. Kemudian dilakukan pengamatan gambaran histopatologi hepar mencit menggunakan mikroskop. Pada gambar preparat tersebut mengamati banyaknya sel yang mengalami kerusakan baik nekrosis atau degenerasi pada semua perlakuan, kemudian diberikan skor derajat kerusakan hepar. Hasil pengamatan preparat

hepar menunjukkan adanya sel normal, sel degenerasi, sel nekrosis dan vena sentralis dapat dilihat pada (Gambar 1).

Semua perlakuan terdapat sel yang mengalami degenerasi dan nekrosis (Gambar 1). Jumlah sel degenerasi dan nekrosis pada kelompok A lebih sedikit dibandingkan kelompok B, C, D, E, dan F. Kelompok B pada gambar menunjukkan masih banyak sel yang mengalami pembengkakan (degenerasi) dan sel yang menghitam (nekrosis) begitu pula pada kelompok E dan F. Namun, untuk kelompok C dan D juga masih menunjukkan sel yang memiliki ukuran sedikit lebih besar dari sel normal dan memiliki warna yang agak terang yang menandakan pada kelompok C dan D terdapat sel yang mengalami degenerasi.



Gambar 1. Gambaran histopatologi hepar mencit kelompok perlakuan A= Kontrol normal, B= Kontrol negatif, C= Kontrol positif, D= Dosis ekstrak 215 mg/kgBB, E= Dosis ekstrak 230 mg/kgBB, F= Dosis ekstrak 245 mg/kgBB. Keterangan : Panah warna kuning: Vena Sentralis, Panah merah: Sel Nekrosis, Panah biru: Sel Degenerasi, Panah hitam: Sel Normal. Scale bar pada gambar menunjukkan panjang 50 μm .

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis kerusakan sel pada (Gambar 1). dihitung dan dilakukan skoring kerusakan hepar pada setiap perlakuan dan hasil skoring. Rata-rata tingkat kerusakan hepar terendah adalah kelompok A (kontrol normal) yaitu $1,05 \pm 0,50$ dan kelompok F (dosis 245 mg/kg BB) memiliki rata-rata kerusakan tertinggi yaitu $3,25 \pm 0,96$. Selain itu, berdasarkan hasil analisis dengan uji *Kruskal-Wallis* didapatkan hasil dengan nilai signifikansi sebesar $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,001 dimana pada masing-masing kelompok memiliki perbedaan pada kerusakan hepar. Kemudian untuk hasil analisis uji *Mann-Whitney* kelompok yang memiliki notasi sama atau dikatakan tidak berbeda nyata adalah kelompok B dan F di mana kedua kelompok ini memiliki tingkat kerusakan yang tinggi dan hampir sama (Tabel 2). Selain itu, kelompok C, D, dan E juga merupakan kelompok yang tidak berbeda nyata dimana dalam kelompok ini kerusakan dapat ditekan dengan adanya senyawa obat dan pemberian EDC.

Tabel 2. Hasil rata-rata kerusakan hepar mencit DM tipe 2 yang diinduksi *High Fat Diet*

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Kerusakan Hepar
A	$1,05 \pm 0,50^a$
B	$3,15 \pm 0,96^b$
C	$1,65 \pm 0,96^c$
D	$1,85 \pm 0,96^{cd}$
E	$2,15 \pm 0,96^d$
F	$3,25 \pm 0,96^b$

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda menunjukkan ada pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) berdasarkan uji *Mann-Whitney*. A: Kontrol Normal, B: Kontrol Negatif (HFD + Induksi Aloksan), C: Kontrol Positif (HFD + Induksi Aloksan + Metformin), D: HFD + Induksi Aloksan + EDC 215 mg/kgBB, E: HFD + Induksi Aloksan + EDC 230 mg/kgBB, F: HFD + Induksi Aloksan + EDC 245 mg/kgBB.

Selain mengamati kerusakan pada organ hati, dilakukan juga penimbangan berat badan dan berat hepar pada hari ke-21 setelah dilakukan pembedahan pada mencit. Penimbangan tersebut dilakukan untuk menentukan nilai *Hepatosomatic Index* (HSI). Nilai rata-rata HSI setelah pemberian ekstrak daun ceremai pada mencit DM tipe 2 yang diinduksi *High Fat Diet* menunjukkan nilai terendah dimiliki oleh kelompok A (kontrol normal) dengan nilai $3,89 \pm 0,46$. Nilai HSI tertinggi dimiliki oleh kelompok F (dosis 245 mg/kg BB) dengan nilai $6,53 \pm 0,73$. Hasil uji ANOVA pemberian ekstrak daun ceremai berpengaruh signifikan terhadap nilai HSI dengan signifikansi $p < 0,05$ yaitu sebesar 0,000. Hasil perhitungan HSI dapat dilihat pada (Tabel 3).

Tabel 3. Rata-rata *Hepatosomatic Index* setelah pemberian ekstrak daun ceremai pada mencit DM tipe 2 yang diinduksi *High Fat Diet*

Kelompok Perlakuan	Rata-rata berat hepar mencit (g)	Rata-rata berat badan mencit (g)	Rata-rata <i>Hepatosomatic Index</i> (%)
A	$1,55 \pm 0,26^a$	$39,75 \pm 3,86^b$	$3,89 \pm 0,46^a$
B	$2,10 \pm 0,22^{bc}$	$40,00 \pm 1,63^b$	$5,27 \pm 0,71^c$
C	$1,80 \pm 0,24^{ab}$	$45,25 \pm 2,50^c$	$3,97 \pm 0,43^{ab}$
D	$1,88 \pm 0,39^{abc}$	$40,50 \pm 3,11^b$	$4,60 \pm 0,67^{abc}$
E	$2,00 \pm 0,34^{abc}$	$40,50 \pm 3,00^b$	$4,94 \pm 0,74^{bc}$
F	$2,28 \pm 0,22^c$	$35,00 \pm 2,94^a$	$6,53 \pm 0,73^d$

Keterangan: Notasi huruf yang berbeda menunjukkan ada pengaruh yang signifikan ($P < 0,05$) berdasarkan uji *Duncan*. A: Kontrol Normal, B: Kontrol Negatif (HFD + Induksi Aloksan), C: Kontrol Positif (HFD + Induksi Aloksan + Metformin), D: HFD + Induksi Aloksan + EDC 215 mg/kgBB, E: HFD + Induksi Aloksan + EDC 230 mg/kgBB, F: HFD + Induksi Aloksan + EDC 245 mg/kgBB.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa dosis yang terbaik untuk mengurangi atau memperbaiki kerusakan hepar dan nilai HSI adalah dosis 215 mg/kg BB karena memiliki rata-rata yang paling rendah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lain yang diberikan EDC dan rata-rata hampir sama dengan kelompok yang diberikan metformin.

PEMBAHASAN

Kondisi DM tipe 2 pada mencit dibuat dengan pemberian HFD dan aloksan. Pemberian HFD dan aloksan dimaksudkan agar mendekati patogenesis untuk menjadi DM yang berkaitan dengan pola hidup dalam pemilihan makanan. Tujuan pemberian HFD adalah agar mencit mengalami obesitas dan dapat meningkatkan asam lemak bebas yang dapat menyebabkan sensitivitas terhadap insulin pada jaringan perifer menurun. Pemberian HFD dan aloksan pada hewan coba memicu meningkatnya kadar asam lemak bebas dan terganggunya metabolisme glukosa, sehingga menyebabkan resistensi reseptor insulin (Ratri *et al.*, 2021). Resistensi reseptor insulin dapat menyebabkan lipolisis pada adiposit perifer, sehingga dengan peningkatan lipolisis juga dapat menyebabkan peningkatan trigliserida di hepar (Sundaram *et al.*, 2013).

Hepar mencit DM tipe 2 yang diberi EDC dapat menyebabkan perubahan pada gambaran histopatologi hepar (Gambar 1). Pada pengamatan mikroskopis degenerasi dan nekrosis terjadi pada semua kelompok perlakuan tak terkecuali kelompok kontrol normal. Kerusakan tersebut dapat disebabkan karena proses apoptosis. Apoptosis merupakan kematian sel terprogram yang bertujuan untuk mempertahankan jumlah sel dan salah satu ciri apoptosis adalah terjadinya fragmentasi DNA. Apoptosis merupakan respon tubuh dalam menyingkirkan sel yang berlebih atau rusak. Menurut Sari (2018), terdapat 2 penyebab apoptosis, yakni kondisi fisiologis dan patologis di mana kondisi tersebut berperan dalam mempertahankan normalnya homeostasis dan beberapa patogenesis penyakit.

Kelompok positif dan kelompok 215 mg/kgBB memiliki tingkat kerusakan hepar yang memiliki skor yang hampir mendekati kelompok normal. Pemberian metformin mampu membantu dalam menambahkan sensitivitas insulin, membatasi sintesis glukosa hati, menurunkan kadar glukosa darah, dan mengurangi perkembangan senyawa oksigen reaktif yang disebabkan oleh hiperglikemia (Tatto *et al.*, 2017). Menurut Gumantara dan Oktarlina (2017), metformin dapat menurunkan glukosa dalam darah sehingga dapat menurunkan glukoneogenesis pada hati. Dalam kondisi tersebut metformin dalam mitokondria mengakumulasi konsentrasi yang lebih tinggi dari media ekstraselulernya. Metformin membawa muatan positif dan potensial pada membran plasma dan membran dalam mitokondria sehingga metformin terdorong ke dalam sel (Rena *et al.*, 2017). Selain itu, flavonoid juga dapat menangkap atau menetralkan radikal bebas seperti *reactive oxygen*

spesies (ROS) yang terkait dengan gugus OH fenolik, sehingga membantu perbaikan kondisi jaringan yang rusak (Prameswari dan Widjanarko, 2014).

Kelompok negatif, dosis 230 mg/kgBB, dan dosis 245 mg/kgBB memiliki tingkat kerusakan hepar yang tinggi. Hal tersebut menunjukkan bahwa kondisi hiperglikemia dan hiperkolesterolemia dapat memicu terjadinya kerusakan pada hepar. Sebab menurut Sunaryo *et al.* (2015), kondisi hiperglikemia dan hiperkolesterolemia adalah dua kondisi yang dapat menyebabkan produksi radikal bebas di luar apa yang dapat dikendalikan tubuh. Terjadinya kerusakan pada hepar dapat disebabkan karena kondisi hiperglikemia yang disebabkan peningkatan kadar glukosa darah melebihi normal (Sari, 2018).

Hepatosomatic Index (HSI) dipengaruhi oleh berat badan mencit dan berat hepar. Berdasarkan hasil uji statistik berat hati terdapat pengaruh pemberian EDC terhadap berat hepar. Menurut Wahyuningtyas *et al.* (2018), pada hewan uji perubahan bobot, fisiologi dan morfologi hepar berhubungan dengan konsumsi pakan, kesehatan, serta zat beracun yang ada di dalam tubuh, karena salah satu peran hepar adalah menghilangkan zat berbahaya yang masuk ke dalam tubuh.

Nilai HSI kelompok kontrol normal dapat menjadi petunjuk senyawa toksik di dalam tubuh hal tersebut dilihat dari nilai HSI yang dibandingkan dengan kontrol normal. Selain itu, nilai HSI juga dapat menunjukkan besaran energi pada hepar untuk mengetahui kesehatan hewan coba (Putri *et al.*, 2021a). Menurut Treuting *et al.* (2017), kisaran HSI pada mencit dapat dihitung dari 2-3 gram bobot hati atau 3-5% dari berat badan. Namun, nilai HSI bervariasi karena dipengaruhi spesies dan strain atau mencit.

Pada kelompok positif, dosis 215 mg/kgBB, dan dosis 230 mg/kgBB nilai HSI mendekati antara satu sama lain. Sedangkan untuk kelompok negatif dan 245 mg/kgBB memiliki nilai HSI tergolong tinggi dibandingkan kelompok perlakuan yang lainnya. Hal ini dikarenakan jika nilai HSI semakin mendekati nilai dari kontrol normal maka hepar dapat dikatakan dalam kondisi sehat, dan jika nilai HSI semakin naik dan menjauhi nilai HSI kontrol normal. Hal tersebut dikarenakan volume cairan yang tertahan dalam sel, hati membengkak sebagai hasilnya, sehingga mengganggu pengaturan cairan di dalam sel. Selain itu, menurut Sitasiwi *et al.* (2018), rasio organ hepar dan berat badan pada hewan coba yang diberikan perlakuan dapat menyebabkan adanya atrofi atau hipertrofi organ. Hipertrofi dapat terjadi apabila paparan zat toksik menyebabkan pembengkakan sel, yang kemudian dapat menyebabkan hipertrofi di hepar yaitu adanya akumulasi lipid intraseluler (hati berlemak).

Rata-rata berat hepar berbanding lurus dengan nilai HSI, sebab semakin tinggi rata-rata berat hepar maka akan semakin tinggi nilai HSI. Bertambahnya berat hepar jika dihubungkan dengan kerusakan dapat diakibatkan adanya degenerasi dan nekrosis pada sel hepatosit. Kondisi hiperglikemia dan hiperkolesterolemia dapat memicu terjadinya kerusakan pada hepar, karena kondisi tersebut mampu memicu terjadinya radikal bebas. Jika terjadi dalam jangka panjang, kondisi tersebut dapat meningkatkan senyawa *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang kemudian berikatan dengan hepatosit sehingga menyebabkan kerusakan yang diawali dengan degenerasi hingga nekrosis (Yuneldi *et al.*, 2018).

Degenerasi dan nekrosis berpotensi menurunkan kemampuan sel hati dalam proses regenerasi. Degenerasi sel hati merupakan perubahan pada sel yang diakibatkan oleh hilangnya struktur normal sel hati sebelum kematian sel yang merupakan awal kerusakan hati (Sijid *et al.*, 2020). Degenerasi bersifat reversibel dan akan bersifat ireversibel apabila tidak mendapatkan penanganan yang baik, sedangkan nekrosis bersifat ireversibel (Nazarudin *et al.*, 2017). Sel yang mengalami degenerasi memiliki ukuran sel yang membengkak, sitoplasma berwarna terang, dan terdapat inti sel rusak (Andreas *et al.*, 2015). Sebaliknya, ketika sel mengalami nekrosis, inti sel awalnya berubah menjadi hitam sebelum pecah dan hancur (Sijid *et al.*, 2020).

Dalam penelitian ini, kerusakan hati dan nilai HSI semakin meningkat seiring dengan dosis yang digunakan. Oleh karena itu, kelompok dosis 215 dan 230 mg/kgBB memiliki efek yang hampir sama dengan kelompok yang diberikan metformin. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Navarro *et al.* (2017), pemberian obat herbal secara oral dengan dosis tertentu dapat menyebabkan terganggunya fungsi hepar. Hal tersebut juga sesuai dengan penelitian Totto *et al.* (2017), yang menyebutkan bahwa untuk penggunaan dosis EDC yang optimal adalah dosis 200 mg/kgBB yang mana pemberian dosis tersebut berbeda signifikan dengan kontrol positif metformin dalam menurunkan kadar gula darah dan kadar kolesterol mencit, sehingga dapat disimpulkan bahwa penggunaan dosis 215 dan 230 mg/kgBB masih dapat digunakan dalam membantu proses penurunan kerusakan yang terjadi pada hepar. Namun, untuk penggunaan dosis 215 mg/kgBB memerlukan waktu yang cukup lama untuk

mengoptimalkan proses penurunan kerusakan pada hepar sedangkan untuk dosis 230 mg/kgBB membutuhkan waktu yang lebih singkat.

SIMPULAN

Ekstrak daun ceremai (*Phyllanthus acidus*) berpengaruh pada tingkat kerusakan hepar dan nilai *Hepatosomatic Index* (HSI) pada mencit. Kerusakan hepar dan nilai HSI mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya dosis ekstrak daun ceremai. Dosis ekstrak daun ceremai yang optimal sebagai agen hepatoprotektif pada mencit dalam kondisi DM tipe 2 adalah dosis 215 mg/kgBB.

DAFTAR PUSTAKA

- Andreas H, Trianto HF, Ilmiawan MI, 2015. Gambaran Histologi Regenerasi Hati Pasca Penghentian Pajanan Monosodium Glutamat pada Tikus Wistar. *EJournal Kedokteran Indonesia*, 3(1): 29-36.
- Armansyah TRT, Sutriana A, Aliza D, Vanda H, Rahmi E, 2010. Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Daun Kucing-Kucingan (*Acalypha indica* L.) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Parasetamol. *Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Peternakan*, XIII(6): 292-298.
- Ashwini L, Benakappa S, Anjanayappa HN, Akshay L, 2016. Observation on the Gonado-Somatic Index-GSI and Hepato-Somatic Index-HSI of *Decapterus russelli* Mangaluru coast. *International Journal of Engineering Science and Computing*, 6(6): 7396-7399.
- Fakhrurrazi, Hakim RF, Chairunissa A, 2020. Efek Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) Terhadap Penyembuhan Luka Mukosa Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*). *Cakrodonya Dental Jurnal*. 12(2): 119-125.
- Gumantara MPB, Oktarlina RZ, 2017. Perbandingan Monoterapi dan Kombinasi Terapi Sulfonilurea-Metformin terhadap Pasien Diabetes Melitus Tipe 2. *Majority*, 6(1): 55-56.
- Jain NK, dan Singhai AK, 2011. Protective Effect *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels Leaf Extracts on Acetaminophen and Thioacetamide Induce Hepatic Injuries in Wistar Rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 470-474.
- Khaleyla F, Ducha N, Bashri A, 2021. *Metode Parafin untuk Sediaan Irisan Jaringan Hewan*. Surabaya: Jurusan Biologi UNESA.
- Ma'rif A, Hardhana B, Widiyanti W, Pangribowo S, Mulya D, 2020. *Tetap Produktif, Cegah, dan Atasi Diabetes Mellitus*. Jakarta: P2PTM Kementerian Kesehatan RI.
- Mohamed J, Nafizah AHN, Zariyanti AH, Budin SB, 2016. Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage. *SQU Medical Journal*, 16(2):132-141.
- Mordue DG, Monroy F, Regina ML, Dinarello CA, Sibley LD, 2001. Acute Toxoplasmosis Leads to Lethal Overproduction of Th1 Cytokines. *Jurnal of Immunology*, 167:4574-4584.
- Narulita E, Iqbal M, Surakhman G, 2019. A Novel Agent of Myrmeleon formicarius Ekstract for Diabetic Ulcer Infection. *Indonesian Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 3(2): 48-54.
- Navarro V, Khan I, Björnsson E, Seeff LB, Serrano J, Hoofnagle JH, 2017. Liver Injury from Herbal and Dietary Supplements. *Hepatology*, 65(1): 363-373.
- Nazarudin Z, Muhimmah I, Fidianingsih I, 2017. Segmentasi Citra untuk Menentukan Skor Kerusakan Hati secara Histologi. *Seminar Nasional Informatika Media*, VIII: 15-21.
- Niendya A, Djaelani MA, Suprihatin, 2011. Rasio Bobot Hepar-Tubuh Mencit (*Mus musculus* L.) setelah Pemberian Diezepam, Formalin, dan Minuman Beralkohol. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 19(1): 16-27.
- Prameswari OM, Widjanarko SM, 2014. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 2(2): 16-27.
- Putri RA, Sitasiwi AJ, Kasiyati, 2021a. Pengaruh Paparan Ekstrak Biji Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap Kadar Hemoglobin, Indeks Hepatosomatik dan Kadar Protein Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.). *Jurnal Pro-Life*, 8(3): 218-226.
- Putri WCW, Yuliawati, Rahman H, 2021b. Uji Aktivitas Hepatoprotektor Ekstrak Etanol Daun Rambutan (*Naphelium lappaceum* L.) pada Mencit Putih Jantan Yang Diinduksi Parasetamol. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(2): 148-156.
- Ratri PR, Yulianti A, Restuti ANS, 2021. Pengaruh Pemberian Minuman Coklat (*Theobroma cacao* L.) Terhadap Berat Basah Organ Hati Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Ilmu Kesehatan*, 2(3): 74-79.
- Rena G, Hardie DG, Pearson ER, 2017. The Mechanism of Action of Metformin. *Diabetologia*, 60: 1577-1585.
- Rias YA, Sutikno E, 2017. Hubungan Antara Berat Badan dengan Kadar Gula Darah Acak pada Tikus Diabetes Mellitus. *Jurnal Wiyata*, 4(1): 72-77.
- Riwu M, Subarnas A, Lestari K, 2015. Korelasi Faktor Usia, Cara Minum, dan Dosis Obat Metformin terhadap Risiko Efek Samping pada Penderita Diabetes Melitus Tipe 2. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*, 4(3): 151-161.
- Sari LM, 2018. Apoptosis: Mekanisme Molekuler Kematian Sel. *Cakrodonya Dental Journal*, 10(2): 65-70.
- Setiadi E, Peniati E, Susanti R, 2020. Pengaruh Ekstrak Kulit Lidah Buaya Terhadap Kadar Gula Darah dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus yang Diinduksi Aloksan. *Life Science*, 9(2): 171-185.

- Sijid StA, Muthiadin C, Zulkarnain, Hidayat ArS, Amelia RR, 2020. Pengaruh Pemberian Tuak Terhadap Gambaran Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) ICR Jantan. *Jurnal Pendidikan Matematika dan IPA*, 11(2):193-205.
- Sitasiwi AJ, Isdadiyanto S, Mardiaty SM, 2018. Effect of Ethanolic Neem (*Azadirachta indica*) leaf extract as an herb contraceptive on Hepato-somatic Index of the male mice (*Mus musculus*). *Journal of Physics*. doi: 10.1088/1742-6596/1025/1/012043.
- Soelistijo SA, Suastika K, Lindarto D, Decroli E, Permana H, Sucipto KW, Kusnadi Y, Budiman, Ikhsan R, Sasiarini L, Sanusi H, Nugroho N, Susanto H, 2021. *Pedoman Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe 2 Dewasa Di Indonesia 2021*. PB PERKENEI.
- Sunaryo H, Rahmania RA, Dwitiyanti, Siska, 2015. Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Jahe Gajah (*Zingiber officinale* Rosc.) dan Zink Berdasarkan Pengukuran MDA, SOD dan Katalase pada Mencit Hiperkolesterolemia dan Hiperглиkemia dengan Penginduksi Streptozotocin. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13(2): 187-193.
- Sundaram R, Naresh R, Shanthi P, Sachdanandam P, 2013. Modulatory Effect of Green Tea Extract on Hepatic Key Enzymes of Glucose Metabolism in Streptozotocin and High Fat Diet Induced Diabetic Rats. *Phytomedicine*, 1-8.
- Tatto D, Dewi NP, Tibe F, 2017. Efek Antihiperkolesterol dan Antihiperглиkemik Ekstrak Daun Ceremai (*Phyllanthus acidus* (L.) Skeels) pada Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterol Diabetes. *Jurnal Farmasi Gelenika*, 3(2): 157-164.
- Tram NCT, Son NT, Nga NT, Phuong VTT, Cuc NT, Phuong DT, Truan G, Cuong NM, Thao DT, 2017. The Hepatoprotective Activity of a New Derivative Kaempferol Glycoside from the Leaves of Vietnamese *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels. *Medicinal Chemistry Research*, 26: 2057-2064.
- Treuting PM, Dintzis S, Montine KS, 2017. *Comparative Anatomy and Histology: a Mouse, Rat, and Human Atlas*. Academic Press.
- Wahyuningtyas P, Sitasiwi AJ, Mardiaty SM, 2018. Hepatosomatic Index (HSI) dan Diameter Hepatosit Mencit (*Mus musculus*) Setelah Paparan Ekstrak Air Biji Pepaya (*Carica papaya* L.). *Jurnal Biologi*, 7(1): 1-10.
- Yuneldi RF, Saraswati TR, Yuniwati EYW, 2018. Profile of SGPT and SGOT on Male Rats (*Rattus norvegicus*) Hyperglycemic After Giving Insulin Leaf Extract (*Tithonia diversifolia*). *Biosaintifika*, 10(3): 519-525.
- Zhang Y, Dong H, Wang M, Zhang J, 2016. Quercetin Isolated from *Toona sinensis* Leaves Attenuates Hyperglycemia and Protect Hepatocytes in High-Carbohydrate/High-Fat Diet and Alloxan Induced Experimental Diabetic Mice. *Journal of Diabetes Research*, 8492780. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/8492780>.

Article History:

Received: 09 Juni 2023

Revised: 20 Juli 2023

Available online: 24 Juli 2023

Published: 30 September 2023

Authors:

Erin Eka Putri Oktaviona, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: erinputri782@gmail.com
Nur Qomariyah, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: nurqomariyah@unesa.ac.id
Firas Khaleyla, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 60231, Indonesia, e-mail: firaskhaleyla@unesa.ac.id

How to cite this article:

Oktaviona EEP, Qomariyah N, Khaleyla F, 2023. Aktivitas Hepatoprotektif Ekstrak Daun *Phyllanthus acidus* L. pada Mencit Diabetes Mellitus Tipe 2. *LenteraBio*; Vol(No): 381-388.