

## Pengaruh Ekstrak Daun *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histopatologi Pankreas pada Mencit Diabetes

### *Effect of Bruguiera gymnorrhiza Leaf Extract on malondialdehyde (MDA) Levels and Pancreatic Histopathology in Diabetic Mice*

Jannatul Makwa\*, Erlix Rakhmad Purnama

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

\*e-mail: [jnmkw@gmail.com](mailto:jnmkw@gmail.com)

**Abstrak.** Diabetes mellitus menyebabkan peningkatan kadar malondialdehid dan kerusakan  $\beta$  pankreas dalam tubuh. Ekstrak daun bakau (*Bruguiera gymnorrhiza*) memiliki senyawa biokatif yang bermanfaat sebagai penurunan kadar MDA dan perbaikan sel  $\beta$  pankreas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap kadar malondialdehid dan sel  $\beta$  pankreas. Penelitian ini menggunakan 24 ekor mencit yang dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok normal, kontrol positif, (induksi aloksan dan perlakuan glibenklamid), kontrol negatif (induksi aloksan tanpa perlakuan), kelompok dosis 200 mg/kgBB, kelompok dosis 400 mg/kgBB dan kelompok dosis 600 mg/kgBB. Kadar MDA serum mencit diuji menggunakan metode TBARS dan sel  $\beta$  pankreas menggunakan metode skoring. Analisis data menggunakan analisis deskriptif untuk kadar MDA mencit, uji *Kruskall - Wallis* dan *Mann - Whitney* digunakan untuk analisis data skoring kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Hasil penelitian menunjukkan dosis 400 mg/kgBB merupakan dosis yang paling baik menurunkan kadar MDA dan dosis 600 mg/kgBB yang paling baik dalam memperbaiki sel  $\beta$  pankreas. Kesimpulan dari penelitian ini yaitu ekstrak daun bakau (*Bruguiera gymnorrhiza*) berpengaruh dalam menurunkan kadar MDA dan memperbaiki sel  $\beta$  pankreas pada mencit diabetes.

**Kata kunci:** Diabetes; Kesehatan; Imunologi; Kesehatan Universal

**Abstract.** Diabetes mellitus causes an increase in malondialdehyde levels and pancreatic  $\beta$  damage in the body. Mangrove leaf extract (*Bruguiera gymnorrhiza*) has bioactive compounds to decrease MDA levels and repair pancreatic  $\beta$  cells. This study aimed to determine the effect of *Bruguiera gymnorrhiza* leaf extract on malondialdehyde levels and pancreatic  $\beta$  cells. This study used 24 mice divided into 6 groups: control group, positive control (alloxan induction and glibenclamide treatment), negative control (alloxan induction without treatment), 200 mg/kgBB dose, 400 mg/kgBB dose, and 600 mg/kgBB dose group. MDA levels in mice serum were measured using the TBARS method, and pancreatic  $\beta$ -cells were analyzed using the scoring method. Data analysis used descriptive analysis for MDA levels of mice, the *Kruskall-Wallis*, and the *Mann-Whitney* tests used for scoring data analysis of pancreatic  $\beta$ -cell damage. The results showed that a dose of 400 mg/kgBB was the best dose to reduce MDA levels, and a dose of 600 mg/kgBB was the best in repairing pancreatic  $\beta$  cells. The conclusion of this study is that mangrove leaf extract (*Bruguiera gymnorrhiza*) has an effect in reducing MDA levels and repairing pancreatic  $\beta$  cells in diabetic mice.

**Keywords:** Diabetes; Health care; Immunology; Universal Health

## PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan kelainan metabolik yang disebabkan oleh peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia). Menurut Infodatin (2014), penyakit diabetes melitus disebut sebagai "silent killer" karena penderita tidak menyadari adanya penyakit ini. Data terbaru *International Diabetes Federation* (IDF) (2021) menyebut bahwa sekitar 19,46 juta orang di Indonesia mengidap diabetes. Komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular sering terjadi karena diabetes melitus. Resistensi insulin atau turunnya kemampuan insulin untuk merangsang penggunaan glukosa tubuh adalah penyebab utama komplikasi makrovaskular, sedangkan hiperglikemia kronis dengan timbulnya disfungsi endotel akibat glikolisis dan stres oksidatif pada sel endotel merupakan penyebab utama komplikasi mikrovaskular (Decroli, 2019).

Kondisi hiperglikemia pada tubuh dapat meningkatkan radikal bebas dan stres oksidatif (Suastuti *et al.*, 2015). Spesies oksigen reaktif (ROS) dalam mitokondria meningkat pada kondisi

hiperglikemia sehingga terjadi stres oksidatif yang akan memperparah kerusakan sel pankreas (Hendriyani *et al.*, 2018). Glikasi protein nonenzimatik, oksidasi glukosa, dan peningkatan peroksidasi lipid dapat mengakibatkan pembentukan ROS, yang dapat merusak enzim dan meningkatkan resistensi insulin (Chandra *et al.*, 2019). Proses peroksidasi lipid menandakan adanya senyawa malondialdehid (MDA) yang tinggi. Menurut Marjani (2010), peningkatan MDA mengindikasikan adanya peningkatan radikal bebas tubuh yang tidak sebanding dengan jumlah antioksidan yang ada, sehingga berpotensi menimbulkan komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler (Marjani, 2010). Menurut Rahayu (2015), stres oksidatif dapat meningkatkan kadar MDA pada hati tikus normal sebesar 6,359 g/mL dan pada tikus diabetes melitus sebesar 10,641 g/mL. Penelitian Fajarini (2015) menunjukkan bahwa kadar MDA meningkat sebesar 28,37  $\mu\text{M}$  pada plasma darah tikus kelompok normal dan 81,42  $\mu\text{M}$  pada tikus kelompok positif yang diinduksi aloksan.

Senyawa aloksan merupakan salah satu bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan karena senyawa ini bersifat toksik selektif terhadap sel beta pankreas. Aloksan secara selektif menghambat sekresi insulin oleh induksi glukosa melalui penghambatan spesifik glukokinase, deteksi gula oleh sel beta dan menginduksi pembentukan ROS sehingga menyebabkan nekrosis sel-sel beta yang akhirnya menimbulkan kondisi diabetes yang tergantung pada insulin (Lenzen, 2008). Pemberian antioksidan merupakan salah satu cara untuk mencegah produksi ROS dan meningkatkan pertahanan enzim terhadap radikal bebas untuk mencegah stres oksidatif. Antioksidan banyak terkandung dalam berbagai jenis bahan makanan yang berfungsi untuk menetralkan radikal bebas dan menurunkan risiko penyakit yang berkaitan dengan stres oksidatif seperti diabetes mellitus tipe 2 (Fang *et al.*, 2019).

Keberlangsungan hidup manusia sangat bergantung pada tanaman bakau. Mangrove, misalnya, dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai bahan bangunan, bahan pangan, dan obat-obatan. Tanaman mangrove (*Bruguiera gymnorrhiza*) memiliki potensi sebagai penyuplai senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai antioksidan. Senyawa kimia yang terdapat pada daunnya antara lain flavonoid, fenol, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid (Dia *et al.*, 2015). Sementara itu, seperti yang ditunjukkan oleh Nopiyanti *et al.*, (2016) mangrove mengandung banyak zat bioaktif seperti tanin, steroid, saponin, dan flavonoid. Flavonoid dan saponin daun mangrove yang berperan sebagai antioksidan dapat menurunkan produksi senyawa malondialdehid (MDA) dengan cara memutus reaksi berantai dalam peroksidasi lipid dan menetralkan radikal bebas. Penelitian Karimulla dan Pavan (2011) melaporkan bahwa pada tikus wistar putih, ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* dapat menurunkan kadar glukosa darah. Menurut Dheer dan Bhatnagar (2010), flavonoid mengembalikan sel beta yang rusak di pankreas dan menginduksi produksi insulin dalam sel beta (Kawatu *et al.*, 2013). Penelitian - penelitian yang dilakukan tersebut menguji pengaruh tanaman mangrove dalam menurunkan kadar glukosa darah dan kadar malondialdehid namun belum ada penelitian mengenai pengaruh daun mangrove terhadap kadar MDA dan gambaran pulau Langerhans pankreas. Hal tersebut menjadi alasan dilakukan penelitian pengaruh ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap kadar MDA dan gambaran histopatologi pankreas pada mencit diabetes.

## BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Penelitian ini memiliki 6 kelompok perlakuan dengan empat kali pengulangan yang terdiri atas kelompok A (tanpa perlakuan atau kontrol normal), kelompok B (induksi aloksan dengan perlakuan glibenklamid atau kontrol positif), kelompok C (induksi aloksan tanpa perlakuan atau kontrol negatif), kelompok D (induksi aloksan dengan perlakuan dosis ekstrak 200 mg/kgBB), Kelompok E (induksi aloksan dengan perlakuan dosis ekstrak 400 mg/kgBB) dan kelompok F (induksi aloksan dengan perlakuan dosis ekstrak 600 mg/kgBB). Penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Coba dan Mikroteknik Jurusan Biologi, FMIPA Unesa dan dilaksanakan selama 4 bulan yaitu pada bulan Januari - April 2023.

Penelitian ini menggunakan alat seperti kandang mencit, sekam kering, timbangan analitik, botol minum khusus mencit, tempat pakan, spuit 1 ml, jarum sonde, alat pengukur kadar glukosa darah (Easy Touch GCU), *strip test*, sarung tangan lateks, oven, *rotary vacuum evaporator*, wadah maserasi, pipet, tabung mikro 1,5 ml, *microcentrifuge*, *vortex mixer*, *waterbath*, spektrofotometer, dan alat bedah minor. Bahan yang digunakan selama penelitian yaitu mencit jantan, daun *Bruguiera gymnorrhiza*, pakan mencit, air minum, *Alloxan monohydrate*, buffer natrium sitrat 0,1 M (pH 4), akuades, alkohol 70%; 80%; 96%; 100%, TCA 10%, HCl 1N, Na-Thio 1%, Na-CMC 1%, kloroform 10%, glibenklamid, larutan

Buffer Formalin 10%, xylol, parafin, Hematoksilin-Eosin (HE), dietil eter, buffer netral formaldehid 4%, entelan dan larutan sukrosa 10%.

Rancangan acak lengkap (RAL) dengan enam perlakuan dan empat ulangan digunakan dalam penelitian ini. Kelompok normal terdiri dari mencit yang tidak diberi perlakuan dan tidak diberi aloksan; kontrol positif (kelompok mencit yang diberi glibenklamid untuk menginduksi aloksan 125 mg/kgBB); kontrol negatif (kelompok mencit yang diberi induksi aloksan 7 mg/kg BB dengan dosis 140 mg/kgBB tanpa perlakuan); Kelompok dosis 200 (kelompok mencit yang diberi ekstrak dosis 200 mg/kgBB dan diinduksi dengan aloksan 125 mg/kgBB); kelompok dosis 400 (kelompok mencit yang diberi ekstrak dosis 400 mg/kgBB dan diinduksi dengan aloksan 125 mg/kgBB); kelompok dosis 600 (kelompok mencit yang diberi ekstrak dosis 600 mg/kgBB dan diinduksi dengan aloksan 125 mg/kgBB).

Tahapan pertama yang dilakukan pada penelitian ini yaitu proses pembuatan ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza*. Pembuatan ekstrak daun bakau (*Brugeira gymnorhyza*) yang diambil dari nodus ke 5 - 7 yang telah dipisahkan dari tangkai untuk pembuatan simplisia. Proses selanjutnya dilakukan maserasi dengan 3 kali perendaman bertahap dengan pelarut ethanol 96% menggunakan perbandingan 1:3, perendaman kedua dan ketiga perbandingannya 1:2 dengan mengganti pelarut setiap 24 jam (Dewatisari, 2020). Filtrat daun bakau (*Brugeira gymnorhyza*) yang dihasilkan dari maserasi tersebut kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 55°C dengan putaran 30 - 80 rpm hingga dihasilkan ekstrak pekat dari daun bakau (*Brugeira gymnorhyza*).

Tahapan kedua dilakukan aklimasi mencit. Aklimasi mencit dilakukan selama 7 hari sebelum diberi perlakuan. Mencit ditempatkan pada kandang berukuran 35 × 25 × 20 cm. Selanjutnya mencit dikelompokkan menjadi lima kelompok, masing-masing kelompok terdiri atas 4 ekor, kemudian ditempatkan ke dalam bak plastik berukuran 35 × 25 × 20 cm dengan penutup ram kawat yang diberi pakan konsentrat sebanyak 15% dari berat badannya setiap hari dan *aquadest* secukupnya secara *ad libitum*.

Tahapan ketiga dilakukan penginduksian aloksan dan larutan fruktosa. Mencit diinduksi aloksan 125 mg/kgBB secara intraperitoneal. Selanjutnya, mencit diberikan larutan fruktosa sebanyak 10% dengan jeda induksi aloksan dengan induksi larutan fruktosa selama 6 jam untuk menghindari mencit mengalami hipoglikemia. Pada hari ke - 3 dilakukan pengecekan kadar glukosa darah (KGD) puasa mencit, mencit yang mengalami diabetes ( $\geq 126$  mg/dL) yang akan digunakan untuk penelitian.

Tahapan keempat yaitu pemberian ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* selama 21 hari. Kelompok yang diberikan perlakuan ekstrak yaitu kelompok D, E dan F. Kelompok D menggunakan ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* sebanyak 200 mg/kgBB. Kelompok E menggunakan ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* sebanyak 400 mg/kgBB dan kelompok F menggunakan ekstrak daun *Bruguiera gymnorhiza* sebanyak 600 mg/kgBB.

Tahapan kelima yaitu pengukuran kadar glukosa darah puasa mencit. Pengukuran kadar gula darah dilakukan pada semua kelompok mencit setiap 7 hari yang dihitung mulai dari awal perlakuan dengan ekstrak daun bakau (*Brugeira gymnorhyza*) hingga 21 hari perlakuan. Mencit dipuasakan terlebih dahulu sebelum pemeriksaan gula darah selama 12 jam. Pemeriksaan gula darah dilakukan dengan menggunakan glukometer dengan cara mengambil sampel darah di bagian ekor dengan melukai bagian pembuluh vena di ekor menggunakan lanset. Selanjutnya darah yang keluar diteteskan pada striptest yang terpasang di glukometer dan ditunggu beberapa detik hingga muncul angka kadar gula darah (Maulidiyanti, 2017).

Tahapan keenam yaitu pengukuran kadar MDA mencit. Pengambilan sampel darah mencit diambil secara intrakardial pada mencit yang dibius kemudian dibedah dan jarum spuit dimasukkan ke jantung dan pengambilannya dilakukan perlahan. Sampel darah didiamkan hingga terpisah kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit dengan suhu 37° C untuk mendapatkan serum yang digunakan dalam pengukuran kadar malondialdehid. Hasil dibaca menggunakan spektrofotometer UV. Kadar MDA dihitung menggunakan persamaan regresi linear pada kurva baku (Jung dan Choi, 2017)

Tahapan ketujuh yaitu pengamatan histopatologi jaringan pankreas. Jaringan pankreas diamati untuk mengetahui gambaran pulau Langerhans pankreas. Organ pankreas dikeluarkan melalui pembedahan pada hari terakhir. Setelah itu, preparat pankreas dibuat dengan menggunakan metode parafin dan melakukan pewarnaan HE. Dengan menggunakan mikroskop cahaya dengan lima lapang pandang dan pembesaran 400 kali, preparat diamati dan kondisi pankreas dinilai dengan metode skoring. Hasil dari lima perspektif kemudian dihitung reratanya. Metode skoring yang digunakan yaitu metode skoring Tandil *et al.* (2017) seperti pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Skoring kerusakan sel beta pankreas (Tandi *et al.*, 2017)

Skor	Keterangan
0	Normal tidak ada perubahan dari batas pulau Langerhans, jumlah sel, sel nekrosis dan bentuk sel
1	Batas jelas, jumlah sel mulai berkurang, sel nekrosis sangat sedikit (1-25%), bentuk sel normal
2	Batas sel mulai tidak jelas, jumlah sel berkurang, sel nekrosis (25- 50%) dan bentuk sel ada yang tidak normal
3	Batas sel tidak jelas, jumlah sel berkurang, sel nekrosis terlihat (50-75%) dan bentuk sel banyak yang tidak normal
4	Batas sangat tidak jelas, jumlah sel banyak berkurang, sel hampir keseluruhan nekrotik (>75%) dan bentuk sel tidak normal

Tahapan terakhir yakni analisis hasil data. Pada data kadar malondialdehid dan diameter pulau Langerhans dilakukan analisis deskriptif. Sementara itu, data skoring pulau Langerhans dianalisis secara statistik yang meliputi uji normalitas, uji homogenitas, dan uji lanjutan. Uji yang digunakan yaitu uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

## HASIL

Berdasarkan hasil pengukuran malondialdehid serum darah mencit yang diukur dengan menggunakan metode TBA menunjukkan data pengukuran yang berbeda - beda. Kelompok dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB mengalami penurunan kadar malondialdehid pada darah mencit. Data dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Kadar malondialdehid serum darah ( $\mu\text{M/ml}$ ) yang diambil pada hari ke - 21

Kelompok	Absorbance	Kadar MDA ( $\mu\text{M/ml}$ )
Kontrol normal	0,065	10.182
Kontrol positif	0,051	7.826
Kontrol negatif	0,114	18.426
Ekstrak 200 mg/kgBB	0,035	5.134
Ekstrak 400 mg/kgBB	0,023	3.115
Ekstrak 600 mg/kgBB	0,036	5.303

Berdasarkan Tabel 2 data menunjukkan bahwa kadar malondialdehid darah mencit pada kelompok normal yaitu 10.182  $\mu\text{M/ml}$ . Hasil kadar malondialdehid darah mencit pada kelompok positif yaitu 7.826  $\mu\text{M/ml}$ . dan hasil kadar malondialdehid darah mencit pada kelompok negatif yaitu sebesar 18.426  $\mu\text{M/ml}$ , sedangkan pada perlakuan pada dosis 200 mg/kgBB sebesar 5.134  $\mu\text{M/ml}$ , dosis 400 mg/kgBB sebesar 3.115  $\mu\text{M/ml}$ , dosis 600 mg/kgBB sebesar 5.303  $\mu\text{M/ml}$ . Hasil pengukuran kadar Malondialdehid darah mencit yang paling kecil yaitu pada dosis 400 mg/kgBB dibandingkan dengan dosis 200 mg/kgBB dan dosis 600 mg/kgBB.

Berdasarkan hasil skoring kerusakan pulau Langerhans pada setiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Rata-rata skoring kerusakan pulau Langerhans pankreas

Kelompok	Kerusakan pulau Langerhans pankreas*
Kontrol normal	$0 \pm 0^a$
Kontrol positif	$2,4 \pm 0,54^b$
Kontrol negatif	$3,6 \pm 0,54^a$
Ekstrak 200 mg/kgBB	$2,2 \pm 0,44^b$
Ekstrak 400 mg/kgBB	$2,4 \pm 0,54^b$
Ekstrak 600 mg/kgBB	$1,6 \pm 0,54^b$

Keterangan : \*)Notasi berbeda menunjukkan perbedaan signifikan berdasarkan uji Mann-whitney

Berdasarkan hasil pada Tabel 3. diketahui hasil skoring histologi pulau Langerhans pada setiap kelompok perlakuan. Pada pulau Langerhans pankreas mencit kelompok kontrol normal memiliki rata rata hasil yaitu  $0 \pm 0$ . Pada pulau Langerhans pankreas mencit kelompok kontrol positif memiliki rata rata hasil yaitu  $2,4 \pm 0,54$ . pulau Langerhans pankreas mencit kelompok kontrol negatif memiliki rata

rata hasil yaitu  $3,6 \pm 0,54$ . Sedangkan hasil rerata pada kelompok perlakuan dosis 200 mg/kgBB sebesar  $2,2 \pm 0,44$ , dosis 400 mg/kgBB sebesar  $2,4 \pm 0,54$  dan dosis 600 mg/kgBB sebesar  $1,6 \pm 0,54$ . Rata - rata skoring yang memiliki hasil paling kecil dari ketiga perlakuan (200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, 600 mg/kgBB) yaitu pada dosis 600 mg/kgBB. Data yang telah diperoleh selanjutnya akan diuji dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*. Data ditampilkan pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil uji *Kruskal-Wallis* Test skoring kerusakan pulau Langerhans pankreas

Hasil Skoring Kerusakan Pulau Langerhans Pankreas	
Chi-Square	23,021
Df	5
Asymp. Sig.	0,0003345

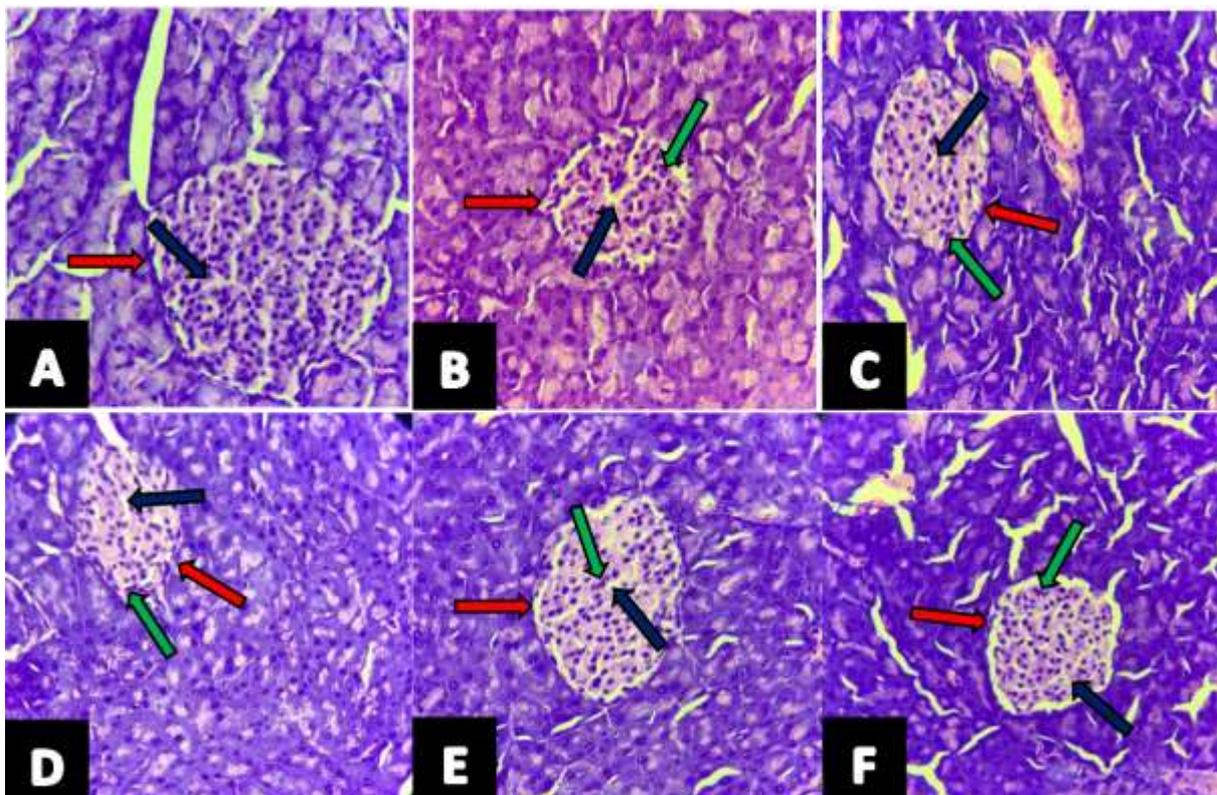
a *Kruskal-Wallis* Test

b Grouping Variable: Kelompok Perlakuan

Hasil analisis menunjukkan adanya perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan melihat  $p = 0,000$  ( $p < 0,05$ ) yang artinya terdapat perbedaan dari tiap kelompok. Kemudian dilanjutkan dengan uji lanjutan yaitu uji *Mann - Whitney* untuk mengetahui perbedaan pada tiap kelompok.

Berdasarkan hasil analisis uji *Mann - Whitney* diketahui kelompok dosis 200 mg/kgBB berbeda signifikan terhadap kelompok normal dan kelompok kontrol negatif namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, dosis 400 mg/kgBB dan dosis 600 mg/kgBB. Kelompok dosis 400 mg/kgBB berbeda signifikan terhadap kelompok normal dan kelompok kontrol negatif namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, dosis 200 mg/kgBB dan dosis 600 mg/kgBB. Kelompok dosis 600 mg/kgBB berbeda signifikan terhadap kelompok normal dan kelompok kontrol negatif namun tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, dosis 200 mg/kgBB dan dosis 400 mg/kgBB.

Gambaran histopatologi pulau Langerhans pankreas masing masing perlakuan yang diamati dengan perbesaran 400x dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Gambaran histopatologi pulau Langerhans pankreas dengan perbesaran 400x. Keterangan: A: kontrol normal, B: kontrol positif, C: kontrol negatif, D: 200 mg/kgBB, E: 400 mg/kgBB, F: 600 mg/kgBB. Panah merah

menunjukkan batas pulau Langerhans, panah biru menunjukkan ruang kosong antarsel, panah hijau menunjukkan sel yang berbentuk tidak normal

Berdasarkan gambaran histopatologi pankreas yang disajikan pada Gambar 1, dapat diketahui bahwa aloksan juga dapat mempengaruhi diameter pulau Langerhans pankreas. Perbandingan ukuran diameter pulau Langerhans pankreas tiap kelompok dapat dilihat pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil rerata diameter pulau Langerhans pankreas

Kelompok	Rerata Diameter Pulau Langerhans Pankreas
Kontrol normal	135,288 ± 14,1 µm
Kontrol positif	80,011 ± 5,1 µm
Kontrol negatif	96,790 ± 5,5 µm
Ekstrak 200 mg/kgBB	100,48 ± 2,2 µm
Ekstrak 400 mg/kgBB	107,33 ± 10,8 µm
Ekstrak 600 mg/kgBB	91,072 ± 1,5 µm

Berdasarkan hasil pada Tabel 5 dapat diketahui perbedaan diameter pada masing-masing perlakuan. Diameter kelompok normal memiliki ukuran lebih besar yaitu 135,288 µm dibandingkan dengan kelompok positif, kelompok negatif, kelompok dosis 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB dengan diameter lebih kecil.

## PEMBAHASAN

Berdasarkan data setiap perlakuan, diketahui rerata kadar gula darah pada hari ke - 0 telah mengalami hiperglikemia dengan ditandai hasil kadar gula darah telah melebihi standar glukosa darah puasa yaitu 126 mg/dL. Hiperglikemia dalam tubuh mampu meningkatkan terjadinya stres oksidatif atau radikal bebas (Suastuti *et al.*, 2015). Kadar MDA digunakan sebagai indikator adanya senyawa radikal bebas dan stress oksidatif dalam tubuh. Semakin tinggi kadar MDA menunjukkan tingginya radikal bebas dan stress oksidatif yang ada di dalam tubuh. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Zaetun *et al.* (2017) bahwa semakin tinggi kadar radikal semakin tinggi kadar MDA yang terbentuk.

Mekanisme terbentuknya malondialdehid ditandai dengan senyawa radikal bebas yang berinteraksi dengan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) sehingga memicu peroksidasi lipid. Tahap pembentukan radikal bebas atau sering disebut tahapan inisiasi merupakan tahap awal pada proses autooksidasi PUFA yang memproduksi MDA. *Carbon Centered radical* merupakan radikal bebas yang terbentuk dari hasil radikal hidroksi yang menyerang PUFA sehingga menyebabkan satu atom hidrogen (H) terlepas dari gugus metil (-CH<sub>2</sub>-). Tahapan berikutnya yaitu tahap pemanjangan rantai radikal yang disebut propogasi. Radikal lipid peroksidil terbentuk dari adanya reaksi antara Dena (hidrokarbon yang mengandung dua karbon yang memiliki ikatan rangkap dua) terkonjugasi dengan molekul oksigen (O<sub>2</sub>). Selanjutnya adalah tahap yang terdapat reaksi senyawa antara radikal satu dengan radikal lainnya atau sering disebut tahap terminasi. Lipid hidroperoksida terbentuk dari proses atom H yang tertarik dari PUFA yang lainnya. MDA, 4-hidroksimenal (HNE) dan 2-alkana merupakan produk akhir yang terbentuk dari lipid hidroperoksida yang terdekomposisi (Tangvarasittuchai, 2015).

Berdasarkan data kadar MDA serum darah mencit pada Tabel 2, kadar MDA kelompok negatif memiliki kadar paling tinggi dibandingkan dengan kelompok normal sehingga mencit telah mengalami stress oksidatif selaras dengan pernyataan Latifa (2015) bahwa Kelompok normal tanpa perlakuan apapun memiliki nilai kadar MDA yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok yang diinduksi. Sehingga dapat diketahui bahwa adanya radikal bebas dari perlakuan induksi aloksan menyebabkan kerusakan seluler sehingga mencit mengalami stress oksidatif. Hasil pengukuran kadar malondialdehid darah mencit yang paling kecil yaitu pada kadar 400 mg/kgBB dan dilanjutkan dengan kadar 200 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB sehingga diketahui bahwa perlakuan ekstrak etanol daun *Brugueira gymnorhiza* 96% dapat menurunkan kadar MDA serum darah mencit pada kelompok kadar 400 mg/Kg BB. Hal ini dapat diketahui bahwa kadar MDA pada kelompok kadar 400 mg/kgBB lebih rendah dibandingkan dengan kadar MDA kelompok kontrol negatif (induksi aloksan).

Penurunan kadar MDA dikarenakan ekstrak etanol daun *Brugueira gymnorhiza* mengandung senyawa metabolik sekunder yang berperan sebagai antioksidan. Flavonoid, fenol, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid adalah beberapa senyawa kimia yang ditemukan pada daun *Bruguiera gymnorhiza* (Dia *et al.*, 2015). Kekuatan senyawa fenolik sebagai anntioksidan tergantung pada ikatan gugus aromatik dan kemampuannya dalam mendonorkan atom hidrogen. Radikal bebas dapat

ditangkap oleh flavonoid yang dapat menjadi antioksidan dengan memberikan atom hidrogen pada radikal bebas. Penurunan kadar MDA ini terjadi karena flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid dengan cara meredam radikal peroksil. Metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan tersebut bekerja sama dalam mencegah stress oksidatif dan menetralsir radikal bebas, sehingga menimbulkan dampak protektif yang optimal (Khan *et al.*, 2018).

Hasil skoring histopatologi pulau Langerhans yang ditampilkan pada Tabel 3 menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol normal menghasilkan skoring kerusakan pulau Langerhans paling kecil yaitu dengan nilai  $0 \pm 0$  dengan batas pulau Langerhans yang jelas, jumlah sel banyak, tidak ada nekrosis, terdapat sel berdegenerasi dan bentuk sel normal. Hal tersebut karena pada kelompok ini mencit tidak mendapat induksi aloksan. Pada kelompok ini dinyatakan sel pulau Langerhans dalam keadaan normal. Hal ini sesuai dengan penelitian Yanti *et al.*, (2016) bahwa hewan coba yang diinduksi aloksan mengalami nekrosis sehingga dapat disimpulkan pemberian aloksan dapat memicu kerusakan pada sel pankreas dan selektif hanya pada sel beta pankreas saja.

Berdasarkan gambaran histopatologi pulau Langerhans pankreas pada Gambar 1, kelompok kontrol negatif *scoring* pulau Langerhans menghasilkan tingkat kerusakan tertinggi dengan rata-rata 3,6 dengan batas pulau Langerhans sangat tidak jelas, jumlah sel sangat sedikit, nekrosis sel > 75% dan banyak sel berbentuk tidak normal sehingga yang terjadi adalah peningkatan kadar gula darah yang signifikan karena adanya induksi aloksan yang merusak sel-sel beta pankreas dan semakin diperparah karena sel-sel yang berdegenerasi dibiarkan sehingga menjadi nekrosis serta mempengaruhi sel normal disebelahnya untuk nekrosis yang akhirnya menyebabkan kadar glukosa semakin meningkat.

Aloksan merusak sel beta dengan cara terakumulasi dalam sel beta pankreas dan masuk ke dalam sitosol melalui proses glukosa GLUT-2. Proses ini menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) melalui reaksi siklus redoks yang menghasilkan reaksi asam dilurat. Setelah itu, siklus redoks menghasilkan radikal superoksida yang berubah menjadi hidrogen peroksida, dan reaksi katalis besi pada tahap akhir menghasilkan senyawa radikal hidroksil. Menurut Dipa *et al.* (2015), radikal hidroksil ini akan mengganggu mobilisasi ion kalsium baik di dalam maupun di luar sel dan menyebabkan kerusakan pada sel beta di pankreas.

Kelompok perlakuan kadar 200 mg/ kg BB dan kadar 400 mg/ kg BB dapat memperbaiki sel pulau Langerhans pankreas mencit (*Mus musculus*) yang telah diinduksi aloksan dengan hasil *scoring* rata-rata pulau Langerhans yaitu  $2,2 \pm 0,44$  dan  $2,4 \pm 0,54$  yang tidak berbeda signifikan dengan rata-rata skoring kelompok normal dan kelompok positif (glibenklamid). Hal tersebut dikarenakan dengan kadar tersebut mampu menetralsir radikal bebas secara maksimal akibat pengaruh zat toksik alloxan dan terjadi regenerasi sel di dalam pulau Langerhans dan berkurangnya ruang kosong akibat nekrosis sel. Rata-rata *scoring* pulau Langerhans pankreas pada kelompok perlakuan kadar 400 dan 600 masing-masing yaitu  $2,4 \pm 0,54$  dan  $1,6 \pm 0,54$ .

Berdasarkan hasil pengamatan, diketahui perbedaan diameter pada masing-masing perlakuan. Diameter kelompok normal memiliki ukuran lebih besar yaitu 149, 026  $\mu\text{m}$  dibandingkan dengan kelompok positif, kelompok negatif, kelompok kadar 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB dan 600 mg/kgBB dengan diameter lebih kecil. Hal ini disebabkan karena kelompok normal tidak diinduksi aloksan sedangkan perlakuan selain kelompok normal diberi perlakuan induksi aloksan. Hal tersebut sama dengan pernyataan Mustofa *et al.*, (2022) kelompok diabetes mempunyai diameter pulau Langerhans rata-rata yang paling kecil. Hal ini diduga pada kelompok yang diinduksi aloksan mempunyai oksidan yang tinggi sehingga dapat mempengaruhi fungsi sel dalam hal penurunan sekresi insulin atau meningkatkan disfungsi dan kematian sel (Newsholme *et al.*, 2019).

Ekstrak daun *Brugueira gymnorrhiza* memiliki kandungan fitokimia yang dapat menjadi antioksidan pada tubuh. Senyawa antioksidan memiliki peranan penting dalam tubuh khususnya pada pankreas. Antioksidan memiliki kemampuan dalam memperbaiki sel beta pankreas yang rusak diakibatkan oleh ROS. Hal ini sesuai dengan pernyataan oleh Tandi *et al.* (2018) bahwa antioksidan yang tinggi mampu menurunkan oksidan pada sel  $\beta$  pankreas tikus penderita DM, dan dapat meregenerasi jaringan pankreas sekaligus memperbaiki pulau Langerhans (Tandi *et al.*, 2018). Kandungan pada daun *Bruguiera gymnorrhiza* yaitu flavonoid meningkatkan kapasitas antioksidan sel beta dengan meningkatkan antioksidan enzimatis (misalnya, katalase, glutathione peroksidase, glutathione S transferase, superoksida dismutase) dan non-enzimatis (misalnya, glutathione tereduksi). Peningkatan antioksidan menghambat akumulasi ROS dan peroksidasi lipid dalam sel beta dan karena itu melindunginya dari autofagi, apoptosis, atau nekroptosis (Ghorbani *et al.*, 2019)

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan yaitu pemberian ekstrak daun *Bruguiera gymnorrhiza* berpengaruh terhadap penurunan kadar MDA mencit yang mengalami diabetes dan berpengaruh terhadap gambaran histopatologi pankreas mencit yang mengalami diabetes. Dosis yang optimal dalam menurunkan kadar MDA mencit yaitu dosis 400 mg/kgBB dan dosis yang optimal terhadap gambaran histopatologi pankreas mencit yaitu pada dosis 600 mg/kgBB.

## DAFTAR PUSTAKA

- Chandra K, Singh P, Dwivedi S and Jain S, 2019. Diabetes Mellitus and Oxidative Stress: A Co-relative and Therapeutic Approach. *Journal of Clinical and Diagnostic Research Vol 13 (5): 7-12.*
- Dia SPS, Nurjanah N and Jacob AM, 2015. Chemical Composition, Bioactive Components and Antioxidant Activities from Root, Bark and Leaf Lindur. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia Vol 18 (2): 205-19.*
- Dipa IPAW, Sudatri NW dan Wiratmini NI, 2015. Efektivitas Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus Communis Forst.*) dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah dan Mempertahankan Jumlah Sperma pada Tikus (*Rattus norvegicus L.*) *THE Vol 3 (1): 317-321.*
- Decroli E, 2019. *Diabetes Melitus Tipe 2*. Padang: Pusat Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.
- Dewatisari WF, 2020. Perbandingan Pelarut Kloroform dan Etanol terhadap Rendemen Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata. Prain*) menggunakan Metode Maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Biologi Vol 6 (1): 127-132.*
- Dheer R and Bhatnagar P, 2010. A Study of the Antidiabetic Activity of *Barleria prionitis Linn.* *Indian Journal of Pharmacology Vol 42 (2): 70-73.*
- Fang JY, Lin CH, Huang TH and Chuang SY, 2019. In Vivo Rodent Models of Type 2 Diabetes and Their Usefulness for Evaluating Flavonoid Bioactivity. *Nutrients Vol 11 (3): 530.*
- Ghorbani A, Rashidi R and Shafiee-Nick R, 2019. Flavonoids for Preserving Pancreatic Beta Cell Survival and Function: a Mechanistic Review. *Biomedicine & Pharmacotherapy Vol 111: 947-957.*
- Hendriyani F, Prameswari ES dan Suharto A, 2018. Peran Vitamin C, Vitamin E, dan Tumbuhan sebagai Antioksidan untuk Mengurangi Penyakit Diabetes Melitus. *Jurnal Riset Kesehatan Vol 8 (1): 36-40.*
- Infodatin, 2014. *Situasi dan Analisis Diabetes*, Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI.
- International Diabetes Federation (IDF), 2021. *IDF Diabetes Atlas*. Abu Dhabi: International Diabetes Federation.
- Jung CH and Choi KM, 2017. Impact of High-Carbohydrate Diet on Metabolic Parameters in Patients with Type 2 Diabetes. *Journal Nutrients Vol 9 (4): 1-21.*
- Karimulla S and Pavan KB, 2011. Anti Diabetic and Anti Hyperlipidemic Activity of Bark of *Bruguiera gymnorrhiza* on Streptozotocin Induced Diabetic Rats, *Asian Journal of Pharmaceutical Science & Technology Vol 1 (1): 19-23.*
- Kawatu C, Bodhi W, and Mongi J, 2013. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Kucing-Kucingan (*Acalypha indica L.*) terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus novergicus*), *Jurnal Ilmiah Farmasi Vol 2 (1): 81-87.*
- Khan I, Tababum S, Rehman TU, Ikram M, Haq IU and Zia M, 2018. Antioxidant, Cytotoxicity, Protein Kinase Inhibition and Antibacterial Activities of *Fragaria × ananaba* leaves. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences Vol 31 (4): 1423-1429.*
- Latifa R, 2015. Peningkatkan Kualitas Preparat Histologi Berbasis Kegiatan Praktikum di Laboratorium Biologi. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Biologi 2015 Vol 794: 794 - 813.*
- Lenzen S, 2008. The Mechanisms of Alloxan and Treptozotocin Induced Diabetes. *Journal Diabetologia Vol 51 (2): 216-226.*
- Marjani A, 2010. Lipid Peroxidation Alterations in Type 2 Diaroraabetic Patients. *Pak J Biol Sci Vol 13 (15): 723-730.*
- Maulidiyanti ETS, 2017. Perbedaan Hasil Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah 2 Jam PP dengan menggunakan Glukometer dan Analyzer pada Penderita Diabetes Melitus. *The Journal of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist Vol 1(1): 16.*
- Mustofa MS, Purwaningsih E dan Pendrianto P, 2022. Pengaruh Ekstrak Daun Kenikir Terhadap Peningkatan Diameter Pulau Langerhans Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences Vol 5 (2): 471-477.*
- Newsholme P, Keane KN, Carlessi R and Cruzat V, 2019. Oxidative Stress Pathways in Pancreatic  $\beta$ -cells and Insulin-Sensitive Cells and Tissues: Importance to Cell Metabolism, Function, and Dysfunction. *American Journal of Physiology-Cell Physiology Vol 317 (3): C420-C433.*
- Nopiyanti HT, Agustriani F, Isnaini I, and Melki M, 2016, Skrining *Nypa Fruticans* sebagai Antibakteri *Bacillus Subtilis*, *Escherichia Coli* dan *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Maspari Vol 8(2): 83-90.*
- Rahayu N, 2015. Profil Malondialdehyde dan Kolesterol Darah Ayam Petelur Fase Layer pada Temperature Humidity Index yang Berbeda. *Students e-Journal Vol 4 (1): 1-11.*

- Suastuti NIGAM, Dwi AIGA, Kunti SPD, dan Ni Komang Ariati, 2015. Pemberian Ekstrak Daun sirsak (*Annona muricata*) untuk Memperbaiki Kerusakan Sel Beta Pankreas melalui Penurunan Kadar Glukosa Darah, *Advanced Glycation and Product* dan 8-Hidroksi-2-Dioksiguanosin pada Tikus Wistar Hiperqlikemia. *Jurnal Kimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana Vol 9 (2): 289-295.*
- Tandi J, Rizky M, Mariani R dan Alan F, 2017. Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson Ex F. A. Zorn) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Kolesterol Total dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia Diabetes. *Jurnal Sains dan Kesehatan Vol 1 (8): 384-396.*
- Tangvarasittichai S, 2015. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes Vol 6(3): 456-480.*
- Yanti ED, Dewi NWS dan Jawi IM, 2019. Kombinasi Ekstrak Sambiloto dengan Metformin Lebih Baik dalam Memperbaiki Sel Beta Pulau Langerhans dari pada Metformin Tunggal pada Tikus Diabetes. *E-Jurnal Medika Vol 8 (2): 1-5.*
- Zaetun S, Dewi LBK, Wiadnya IBR dan Gede LS, 2019. Profil Kadar MDA (*Malondialdehyde*) Sebagai Penanda Kerusakan Seluler Akibat Radikal Bebas pada Tikus yang Diberikan Air Beroksigen. *Jurnal Analis Medika Biosains (JAMBS) Vol 4 (2): 63-68.*

**Article History:**

*Received:* 4 Agustus 2023

*Revised:* 4 Maret 2024

*Available online:* 26 Maret 2024

*Published:* 31 Mei 2024

**Authors:**

Jannatul Makwa, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 6023, Indonesia, e-mail: [jnnmkw@gmail.com](mailto:jnnmkw@gmail.com)

Erlinx Rakhmad Purnama, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Surabaya, Jalan Ketintang Gedung C3 Lt.2 Surabaya 6023, Indonesia, e-mail: [erlixpurnama@unesa.ac.id](mailto:erlixpurnama@unesa.ac.id)

**How to cite this article:**

Makwa J, Purnama ER., 2024. Pengaruh Ekstrak Daun *Bruguiera gymnorrhiza* terhadap Kadar Malondialdehid (MDA) dan Gambaran Histopatologi Pankreas pada Mencit Diabetes. *LenteraBio*; 13(2): 244-252.