

KOMBINASI EKSTRAK SAMBILOTO DENGAN METFORMIN LEBIH BAIK DALAM MEMPERBAIKI SEL BETA PULAU LANGERHANS DARI PADA METFORMIN TUNGGAL PADA TIKUS DIABETES

Eva Dharma Yanti¹, Ni Wayan Sucindra Dewi², I Made Jawi³

¹Program Studi Sarjana Kedokteran dan Profesi Dokter, FK Universitas Udayana

²Departemen Farmakologi dan Terapi PSPD, FK Universitas Udayana

Email: evayanthi11@gmail.com

ABSTRAK

Diabetes mellitus merupakan penyakit akibat gangguan insulin karena kerusakan pankreas yang ditandai dengan hiperglikemi. Obat lini pertama untuk pasien diabetes adalah metformin yang bekerja di hepar tetapi tidak memiliki efek pada sel beta sehingga pankreas tetap mengalami kerusakan akibat stress oksidatif. Saat ini banyak tanaman di Indonesia yang telah diteliti dapat memproteksi sel beta dan memperbaiki fungsi sekresi insulin, salah satunya adalah sambiloto. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan 25 ekor tikus diabetes diinduksi aloksan dan dikelompokkan menjadi lima kelompok perlakuan. Kelompok P1 sebagai kontrol positif, P2 diberikan metformin 50mg/kg BB, P3 diberikan sambiloto 50mg/200g BB dan metformin 50mg/kg, P4 diberikan sambiloto 100mg/200g BB dan metformin 50mg/kg BB, P5 diberikan sambiloto 50mg/200g BB. Data dianalisis menggunakan uji ANOVA. Skor kerusakan pulau Langerhans pankreas didapatkan perbedaan rerata secara statistik bermakna sebesar 7,00 pada P1; 5,60 pada P2; 2,20 pada P3; 2,00 pada P4; dan 3,00 pada P5, namun gula darah puasa tidak bermakna secara statistik ($p > 0,05$). Sehingga efek kombinasi sambiloto dan metformin lebih baik dalam memperbaiki pulau Langerhans pankreas dari pada metformin tunggal.

Kata Kunci: Diabetes Mellitus, Metformin, Ekstrak Sambiloto, Tikus Diabetes, Pankreas, Kadar Gula Darah

ABSTRACT

Diabetes mellitus is an insulin impaired disease caused by pancreatic damage, with hyperglycemia characteristic. The first line drug for diabetic patients is metformin which works in the liver but did not has effect in beta cells so that the pancreas continues to suffer damage from oxidative stress. At present many plants in Indonesia that have been studied can protect beta cells and improve insulin secretion function, one of it is sambiloto. This is an experimental study using 25 diabetic rats, which is induced by alloxan and grouped into five groups. Group P1 as a positive control, P2 given metformin 50mg/kg BB, P3 given sambiloto 50mg/200g BB and metformin 50mg /kg, P4 given sambiloto 100mg/200g BB and metformin 50mg/kg BB, P5 given sambiloto 50mg/200g BB. The data analysis technique is carried out by ANOVA test. The mean of islets Langerhans pancreas scores were statistically significant which is 7.00 on P1; 5.60 on P2; 2.20 on P3; 2.00 on P4; and 3.00 on P5, but the fasting blood glucose did not significant ($p > 0.05$). Combination effect of sambiloto and metformin was better in repairing pancreatic islets Langerhans than single metformin.

Keywords: Diabetes Mellitus, Metformin, Sambiloto Extract, Diabetes Rats, Pancreas, Blood Glucose

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus merupakan penyakit gangguan metabolisme akibat kerusakan pankreas yang tidak mampu menghasilkan insulin untuk menurunkan glukosa darah. Menurut *World Health Organization* (WHO), jumlah pasien diabetes dari tahun 2000 sampai tahun 2025 akan terjadi peningkatan dari 177 juta menjadi 300 juta orang.¹

Obat lini pertama pasien diabetes adalah metformin yang bekerja mengatur produksi insulin di hati dan otot tetapi tidak memiliki efek langsung pada sel beta pankreas sehingga pankreas tetap mengalami kerusakan akibat stress oksidatif. Saat ini banyak obat tradisional yang digunakan di Indonesia sebagai obat untuk menurunkan glukosa dalam darah diantaranya sambiloto.¹

Sambiloto telah diteliti dapat menurunkan kadar gula darah pada uji hipoglikemik dengan metode densitometri dan didapatkan hasil bahwa tikus yang mengalami diabetes akibat induksi aloksan mengalami penurunan kadar glukosa darah yang signifikan bermakna. Efek ini disebabkan oleh adanya kandungan adrografolid pada sambiloto dan diiringi oleh peningkatan dosis.² Berdasarkan uraian diatas, peneliti tertarik untuk mencari tahu mengenai pengaruh pemberian kombinasi ekstrak sambiloto dengan metformin terhadap perbaikan sel beta pulau langerhans pada tikus diabetes.

BAHAN DAN METODE

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan *post test controlled* pada kelompok penelitian. Tahapan penelitian terdiri dari: 1) Persiapan ekstraksi daun sambiloto yang dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pascasarjana UNUD, 2) Persiapan dan perlakuan kepada sampel dilaksanakan di Laboratorium Bagian Farmakologi dan Terapi/ Divisi Pengembangan Obat dan Hewan Coba, Unit Laboratorium Biomedik Terpadu FK Unud, dan 3) Pembuatan dan pengamatan mengenai preparat pankreas tikus akan dilakukan di Laboratorium Histologi FK Unud. Keseluruhan proses penelitian membutuhkan waktu selama 3 bulan.

Sampel menggunakan 25 ekor tikus wistar jantan berat 150–200mg dan berumur 1,5 bulan. Perhitungan jumlah minimal sampel digunakan rumus Federer dan didapatkan jumlah sampel minimal 25 ekor. Sambiloto dan metformin merupakan variabel bebas dalam penelitian. Variabel tergantung dan kontrol secara berurutan adalah tingkat kerusakan histologi pankreas dan suhu ruangan, jenis pakan tikus, jenis kelamin dan berat badan tikus.

Sampel dialokasikan ke dalam 5 kelompok yaitu: Kelompok kontrol (P1) tikus dibuat diabetes,

diberi larutan CMC 0,5% 1ml/200 g BB; Kelompok perlakuan (P2) tikus dibuat diabetes, diberikan metformin 50mg/kg BB intraperitoneal; Kelompok perlakuan (P3) tikus dibuat diabetes, diberikan ekstrak sambiloto 50mg/200g BB dan metformin 50mg/kg BB intraperitoneal; Kelompok perlakuan (P4) tikus dibuat diabetes, diberikan ekstrak sambiloto dengan dosis 100mg/200g BB dan metformin 50mg/kg BB intraperitoneal; Kelompok perlakuan (P5) tikus dibuat diabetes, diberikan ekstrak sambiloto dengan dosis 50mg/200g BB.

Data yang diambil dan dikumpulkan berupa data semi-kuantitatif melalui hasil pengamatan perbaikan histologi sel beta pulau Langerhans pankreas tikus. Derajat kerusakan pulau Langerhans dinilai menggunakan sistem scoring pada setiap lima luas bidang pandang. Skor 0 untuk normal; 1 jika kerusakan terjadi sebesar 0,1; 2 untuk 0,2 kerusakan; 3 untuk 0,3 kerusakan; 4 untuk 0,5 kerusakan; 5 untuk 0,6 kerusakan; 6 untuk 0,7 kerusakan; 7 untuk 0,8 kerusakan dan jika melebihi diberikan skor 8. Data dianalisis dengan *Compare means* menggunakan uji parametrik ANOVA dengan derajat kemaknaan ditetapkan: $p < 0,05$. Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan kelayakan etik dari Komite Etik Universitas Udayana.

HASIL

Uji Shapiro-Wilk untuk menguji normalitas data menunjukkan distribusi data normal dengan nilai $p > 0,05$. Kemudian dilanjutkan dengan uji *Levene test* untuk mengetahui homogenitas data dan didapatkan bahwa data homogen dengan $p > 0,05$. Karena normalitas dan homogenitas data telah diuji dengan hasil yang didapat berupa data terdistribusi normal serta telah homogen, sehingga dilanjutkan melakukan uji lanjutan berupa uji parametrik dengan ANOVA dan hasil yang didapatkan dari uji yang telah dilakukan, ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1
Skor Histologi Kerusakan Pankreas dan Kadar Gula Darah berdasarkan Perlakuan.

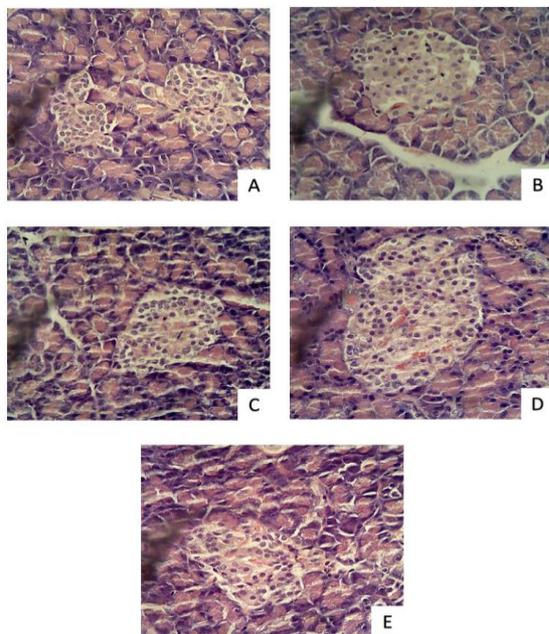
Perlakuan	Skor Histologi Kerusakan Pankreas (Rerata ± SB)	Kadar Gula Darah Puasa (Rerata ± SB)
P1	7,00 ± 0,707	303,60 ± 93,039
P2	5,60 ^a ± 1,140	269,20 ^c ± 33,715
P3	2,20 ^b ± 0,837	284,00 ^c ± 35,595
P4	2,00 ^b ± 0,707	310,60 ^c ± 60,086
P5	3,00 ± 0,707	309,60 ^c ± 44,506

Tabel 1 menunjukkan: ^aPerbandingan antara skor kerusakan pankreas dari perlakuan metformin 50mg/kg BB dengan kontrol positif diperoleh nilai $p < 0,05$. ^bPerbandingan antara skor kerusakan pankreas

dari perlakuan kombinasi sambiloto dan metformin dengan metformin 50mg/kg BB diperoleh nilai $p \leq 0,05$.^c Perbandingan kadar gula darah puasa dari perlakuan metformin, kombinasi sambiloto dan metformin, sambiloto tunggal dengan kontrol positif diperoleh nilai $p > 0,05$. Analisis *One Way Anova*.

Berdasarkan data pada tabel 1 diperoleh skor histologi kerusakan pankreas tikus yang dibuat diabetes dengan aloksan dan kadar glukosa darahnya. Hasil analisis ANOVA diperoleh perbedaan rerata yang bermakna antara kelompok perlakuan kombinasi tikus diabetes diberikan kombinasi ekstrak sambiloto 50mg/200g BB dengan metformin 50mg/kg BB, tikus diabetes diberikan ekstrak sambiloto 100mg/200g BB dengan metformin 50mg/kg BB terhadap tikus diabetes yang diberikan metformin 50mg/kg BB tunggal, namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan bermakna dari hasil pemeriksaan kadar gula darah puasa tikus diabetes yang diberikan kombinasi ekstrak sambiloto 50mg/200g BB dengan metformin 50mg/kg BB, tikus diabetes diberikan ekstrak sambiloto 100mg/200g BB dengan metformin 50mg/kg BB terhadap tikus diabetes yang diberikan metformin 50mg/kg BB tunggal.

Pemeriksaan histopatologi pankreas tikus dengan pengecatan hematoxilin eosin dan perbesaran 400x pada pulau Langerhans pankreas ditampilkan pada gambar 1.



Gambar 1 Histopatologi Preparat pulau Langerhans Hewan Percobaan (Pembesaran 400x).

Keterangan: A: kontrol positif, B: metformin 50mg/kg BB, C: sambiloto 50mg/200g BB dan metformin 50mg/kg BB, D: sambiloto 100mg/200g BB dan metformin 50mg/kg BB, E: sambiloto 50mg/200g BB.

PEMBAHASAN

Kerusakan sel beta pankreas yang disebabkan oleh aloksan terjadi karena aloksan dapat meningkatkan radikal bebas yang dapat memicu terjadinya kerusakan oksidatif atau sering disebut dengan stress oksidatif. Hal itu merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stres oksidatif. Hal ini juga disebutkan dalam penelitian bahwa dengan menggunakan hewan coba yang diberikan agen penghasil ROS, seperti streptozotisin dan aloksan menyebabkan terjadinya kerusakan pada sel beta pankreas.³

Hasil penelitian yang didapat menunjukkan di setiap kelompok perlakuan yang diberikan kombinasi sambiloto dan metformin dengan metformin tunggal terdapat perbedaan yang signifikan bermakna. Perbaikan skor kerusakan histologi pankreas berdasarkan pada sel pulau Langerhans yang mengalami nekrosis lebih dominan terjadi pada perlakuan kontrol positif dan perlakuan dengan pemberian metformin saja pada hewan coba. Selain itu, perbaikan yang bermakna pada kerusakan pankreas oleh sambiloto diduga karena efek antioksidan yang terdapat pada ekstrak sambiloto. Hasil ini didukung juga dari penelitian yang menyatakan bahwa kerusakan pada islet pankreas yang disebabkan oleh efek agen STZ mengalami penurunan karena kandungan antioksidan alkaloid dan flavonoid sehingga stress oksidatif akibat kerusakan menjadi berkurang. Antioksidan alkaloid dan flavonoid yang terkandung pada tanaman sambiloto terbukti dapat meningkatkan produksi insulin oleh sel beta pankreas. Flavonoid mengandung gugus aromatis terkonjugasi menunjukkan serapan yang kuat pada spektrofotometri. Flavonoid berpotensi sebagai antioksidan berkaitan dengan aktivitasnya sebagai anti bakteri, anti inflamasi, dan anti alergi.⁴

Perbedaan rerata yang tidak signifikan didapatkan pada kadar glukosa darah tikus di setiap kelompok perlakuan. Hal ini didukung oleh penelitian yang menyebutkan pemberian metformin tunggal atau ekstrak terpurifikasi secara tunggal didapatkan penurunan daya hipoglikemiknya lebih besar dari pada penggunaan kombinasi ekstrak sambiloto dengan metformin.¹

Histopatologi pankreas tikus diabetes yang diinduksi aloksan hasil pengamatannya menunjukkan bahwa pada tikus kontrol positif terdapat nekrosis dan degenerasi yang banyak sedangkan pada tikus yang kandungan antioksidannya lebih banyak yaitu kelompok yang dikombinasi antara sambiloto dengan metformin menunjukkan jumlah nekrosis lebih sedikit. Hal ini menjadi bukti bahwa pemberian aloksan dapat memicu kerusakan pada sel pankreas dan selektif hanya pada sel beta pankreas saja yang menyebabkan terhambatnya kerja pankreas dalam mensekresi insulin ke dalam pembuluh darah sehingga terdapat ruang-

ruang kosong yang ditemukan pada bagian tengah pulau Langerhans.⁵

Metformin bekerja atau memiliki efek hanya pada penurunan kadar glukosa darah di perifer sehingga pada hasil histologi pankreas kelompok perlakuan metformin tunggal didapatkan sel pankreas mengalami tetap mengalami nekrosis dan terjadi degenerasi sel seperti yang terjadi pada kelompok perlakuan kontrol, hal ini berbeda dengan kelompok perlakuan kombinasi sambiloto dengan metformin yang menunjukkan perbaikan sel beta pankreas yang bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol, walaupun pada kelompok ini masih dapat ditemukan degenerasi sel dan nekrosis berupa ruang-ruang kosong pada pulau Langerhans yang menunjukkan perbaikannya belum mencapai normal.⁶

Pulau Langerhans pada perlakuan kombinasi sambiloto dan metformin terdapat sel-sel yang berkoloni saat pembacaan histologi, hal ini sebagai tanda bahwa terdapat perbaikan atau regenerasi sel pada kelompok perlakuan kombinasi ini.⁷ Kelompok perlakuan kombinasi ekstrak sambiloto dengan dosis 100mg/200g BB dan metformin 50mg/kg BB menunjukkan perbaikan yang lebih baik dibandingkan ekstrak sambiloto 50mg/200g BB dan metformin 50mg/kg BB. Perbaikan ini diduga dipengaruhi oleh terjadinya peningkatan jumlah senyawa bioaktif seiring dengan meningkatnya dosis. Perbaikan pada kelompok perlakuan kombinasi ekstrak sambiloto dan metformin kemungkinan besar dipicu oleh senyawa-senyawa aktif atau bioaktif dalam ekstrak sambiloto seperti tanin, alkaloid, flavonoid, dan polifenol yang merupakan antioksidan sehingga dapat menurunkan kejadian stress oksidatif yang dapat mencegah sel pankreas menjadi lebih rusak.⁸

Senyawa bioaktif alkaloid telah dibuktikan dapat menginduksi terjadinya regenerasi sel β pankreas yang rusak akibat induksi aloksan. Efek antioksidan yang terdapat pada alkaloid menyebabkan terjadinya perbaikan yang bermakna pada sel beta pulau Langerhans pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan.⁹ Dari hasil pengamatan histopatologi, dapat disimpulkan bahwa pemberian kombinasi sambiloto dengan metformin mampu memperbaiki morfologi pulau Langerhans lebih baik dibandingkan dengan metformin tunggal walaupun belum dapat memperbaiki kadar glukosa darah tikus diabetes induksi aloksan hingga mencapai normal.

SIMPULAN

Berdasarkan hasil uji didapatkan bahwa efek kombinasi sambiloto dan metformin lebih baik dalam memperbaiki pulau Langerhans pankreas dari pada metformin tunggal berdasarkan hasil skor histopatologi pulau Langerhans pankreas tikus. Dosis kombinasi sambiloto 100mg/200g BB dan metformin 50mg/kg BB dan sambiloto 50mg/200g BB dan metformin 50mg/kg BB lebih baik dalam memperbaiki pulau Langerhans tikus diabetes dari pada metformin tunggal dosis 50mg/kg BB.

SARAN

Peneliti ingin menyampaikan beberapa saran diantaranya:

1. Efek samping penggunaan kombinasi sambiloto dengan metformin perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut dan spesifik mengenai efek penggunaan kombinasi sambiloto dengan metformin terhadap perbaikan sel beta pulau Langerhans.
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai farmakokinetik dan farmakodinamik kombinasi sambiloto dengan metformin.

DAFTAR PUSTAKA

1. Syamsull, E.S., Nungroho, A.E., Pramano, S. Aktivitas Antidiabet Kombinasi Ekstrak Terpurifikasi Herb Sambiloto (*Andrograpis paniculata* (Burn. F.) Ness) & Metformin pada Tikus DM Tipe 2 Resistensi Insulin. *Majalah Obat Tradisional*. 2011;16(3):124-131.
2. Wibudi A., Kiranadi, B., dkk. The Traditional Plant, *Andrograpis Paniculata*, Exhibits Insulin-Releasing Actions *in Vitro*. *Acta Med Indones*. 2008;40:63-68.
3. Packer, L., Peter R., Hans J.T., dkk. *Antioxidant in Diabetic Management*. Marcel Dekker, Inc: Ney York. 2000
4. Coskun, O., Kanter., A. Korkaz dkk. *Flavonoid Antioxidan, Prevent & Protect Streptozotocin Induced Oxidative Stress & B Cell Damage in Rat Pancreas*. Pharmacological research. Academic press. Turkey. 2004
5. Roberthson, M.D. *Islet Transplantatation as a Treatments for Diabetic*. The New England Journal of Medicine. 2004; 350:694-705
6. Andayani, Y. Mekanisme Aktivitas Antihiperqlikemik Ekstrak Buncis (*Phaseolus vulgaris* Lim) pada Tikus Diabetik & Identifikasi Komponen Aktif. Disertasi. Program Pasca Sarjana Institut Pertanian. Bogor. 2003
7. Skudelski.T. The Mechanism of Aloksan & Steptozotosin Action in Beta Cell of the Rats Pancreas, *Physiol.Res*. 2011;50: 536- 546.

8. Lugasi, A., J. Hovari, K.V. Sagi, L. Biro. The Role of Antioxidant Phytonutrients in The Prevention of Disease. *Acta Biologica Szegediensis*. 2003;47: 119-125
9. Suryani, N., Endang., Aulani'am. Pengaruh Ekstrak Etanol Biji Mahoni terhadap Peningkatan Kadar Insulin, Penurunan Ekspresi TNF- α & Perbaikan Jaringan Pankreas Tikus Diabetes. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. 2013;27:3