

**Perbaikan Profil Kolesterol dan Histologis
Jantung Tikus Model Diabetes dengan Nanopartikel
Poly(Lactic-Co-Glycolic Acid) -Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol**

*(IMPROVEMENT OF CHOLESTEROL PROFILE AND HEART HISTOLOGY
IN DIABETIC RATS USING POLY(LACTIC-CO-GLYCOLIC ACID) NANOPARTICLES-
ETHANOL EXTRACT OF JENGKOL FRUIT PEEL)*

**Desak Made Malini*, Firda Mohammad Firdous,
Madiah Madiah, Wawan Hermawan**

Program Studi Biologi,
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Padjadjaran,
Jl. Raya Bandung Sumedang km.21, Hegarmanah,
Jatinangor, Sumedang, Jawa Barat 45363, Indonesia
Email: *desak.made@unpad.ac.id

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a metabolic disorder of glucose resulting from insulin deficiency or decreased effectiveness. This condition triggers the occurrence of hyperlipidemia characterized by high levels of low density lipoprotein (LDL) and low levels of high density lipoprotein (HDL), thereby increasing the risk of heart disease. This study was aimed to assess the effectiveness of poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) nanoparticle-ethanol extract of jengkol (*Archidendron pauciflorum*) fruit peel (EEOJFP) in improving the cholesterol profile and histological structural damage of the hearts of diabetic Wistar rats (*Rattus Norvegicus*) as a model. A total of 30 rats were used, divided into six groups: one normal group and five diabetes groups. The induction of the diabetic rat model was performed through intravenous injection of streptozotocin (STZ) at a dose of 65 mg/kg BW. The treatments administered were CN (0.5% Carboxy Methyl Cellulose (CMC)), positive control (PC) (STZ+0.5% CMC), comparator (Pb) (STZ+10 mg/kg BW Glibenclamide), P1 (STZ+770 mg/kg BW EEOJFP), P2 (STZ+110 mg/kg BW EEOJFP), and P3 (STZ+110 mg/kg BW PLGA nanoparticles-EEOJFP) for 14 consecutive days. The observed parameters were HDL and LDL cholesterol levels, the number of necrotic cells, and the degree of damage to myocardial cells (hydropic degeneration, lipid degeneration, and inflammatory cell infiltration). Statistical analysis was conducted using analysis of variance, such as Kruskal-Wallis, and Duncan multiple range tests. The research findings indicate that the administration of PLGA-EEOJFP nanoparticles significantly decreases LDL levels, reduces the number of necrotic cells, decreases the degree of histological damage, and significantly increases HDL cholesterol levels ($P < 0.05$). The conclusion of this study is that PLGA-EEOJFP nanoparticles at a dose of 110 mg/kg BW effectively improve the cholesterol profile and histological structure of the hearts in diabetic rat models.

Keywords: cholesterol profile; diabetes; heart; jengkol

ABSTRAK

Diabetes mellitus merupakan penyakit kelainan metabolisme glukosa akibat defisiensi atau penurunan efektivitas insulin. Kondisi ini memicu terjadinya hiperlipidemia yang ditandai dengan kadar low density lipoprotein (LDL) yang tinggi dan *high density lipoprotein* (HDL) rendah serta meningkatkan risiko terkena penyakit jantung. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas nanopartikel *poly(lactic-co-glycolic acid)* atau PLGA-ekstrak etanol kulit buah jengkol (EEOJFP) dalam memperbaiki profil kolesterol dan kerusakan struktur histologis jantung tikus (*Rattus Norvegicus*) Wistar model diabetes. Tikus yang digunakan sebanyak 30 ekor yang dibagi menjadi enam kelompok yaitu satu kelompok normal dan lima kelompok diabetes. Induksi model tikus diabetes dilakukan dengan injeksi intravena streptozotocin (STZ) dosis 65 mg/kg BB.

Perlakuan yang diberikan adalah KN (*Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 0,5%), kontrol positif (KP) (STZ+CMC 0,5%), pembanding (Pb) (STZ+Glibenklamid dosis 10 mg/kg BB), P1 (STZ+EEKBJ 770 mg/kg BB), P2 (STZ+EEKBJ 110 mg/kg BB), dan P3 (STZ+nanopartikel PLGA-EEKBJ 110 mg/kg BB) selama 14 hari berturut-turut. Parameter yang diamati adalah kadar kolesterol HDL dan LDL, jumlah sel nekrosis, dan derajat kerusakan pada sel miokardium (degenerasi hidropik, degenerasi lemak, dan infiltrasi sel radang). Uji analisis statistika menggunakan sidik ragam, dilanjutkan dengan uji Kruskal Wallis dan uji jarak berganda Duncan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian nanopartikel PLGA-EEKBJ menurunkan kadar LDL, jumlah sel nekrosis, derajat kerusakan histologis dan meningkatkan kadar kolesterol HDL secara signifikan ($p > 0,05$). Simpulan dari penelitian ini adalah nanopartikel PLGA-EEKBJ dosis 110 mg/kg BB efektif memperbaiki profil kolesterol dan struktur histologis jantung tikus model diabetes.

Kata-kata kunci: profil kolesterol; diabetes; jantung; jengkol

PENDAHULUAN

Data terbaru dari *International Diabetes Federation* (IDF), menunjukkan bahwa pada tahun 2021 Indonesia menduduki peringkat ke-5 dunia dengan jumlah penderita diabetes mellitus (DM) sebanyak 19,5 juta jiwa. *World Health Organization* (WHO) menduga angka kejadian DM di Indonesia akan melonjak drastis menjadi 28,6 juta jiwa pada tahun 2045 dan diprediksi pasien DM di dunia akan meninggal akibat penyakit vaskuler sebanyak 70% dan sebanyak 35% oleh penyakit jantung koroner (Aronson dan Edelman, 2014).

Penyakit jantung koroner pada penderita DM disebabkan oleh adanya berbagai faktor metabolik seperti hiperlipidemia, hiperglikemia dan resistansi insulin. Hiperlipidemia atau dislipidemia merupakan kondisi terjadinya peningkatan kadar triasilgliserol dan kolesterol *Low Density Lipoprotein* (LDL) serta penurunan kadar kolesterol *High Density Lipoprotein* (HDL). Peningkatan kadar kolesterol LDL juga terjadi seiring dengan adanya mobilisasi *Free Fatty Acid* (FFA) dari adiposit ke dalam darah secara berlebihan akibat adanya defisiensi insulin. Kondisi tersebut kemudian menyebabkan terjadinya disfungsi pada sel endotel dan sel-sel otot polos pembuluh darah (Al-Nozha *et al.*, 2016; Sun *et al.*, 2018; Domanski *et al.*, 2020). Adanya penyumbatan pada pembuluh darah jantung dapat menyebabkan fungsi jantung terganggu dan meningkatkan risiko penyakit jantung koroner (Malakar *et al.*, 2019).

Obat oral antidiabetes yang umum digunakan selama ini adalah glibenklamid. Penggunaan glibenklamid dalam jangka waktu lama dapat menyebabkan kerusakan pada fungsi ginjal dan hati (Rakhmat *et al.*, 2021), oleh karena itu perlu dicari alternatif obat

tradisional yang berfungsi sebagai antidiabetes yang tidak menyebabkan efek samping pada organ seperti ginjal dan hati yang merugikan. Saat ini lebih dari 400 jenis tanaman obat sudah dimanfaatkan sebagai antidiabetes ataupun antihiperlipidemia di berbagai negara (Malviya *et al.*, 2010). Salah satu tanaman yang telah digunakan secara tradisional oleh masyarakat di Desa Karangwangi, Cianjur, Jawa Barat, menurut Malini *et al.* (2017) adalah kulit buah jengkol (*Archidendron pauciflorum*). Kulit buah jengkol diketahui mengandung berbagai macam fitokimia di antaranya adalah flavonoid, tanin, polifenol, alkaloida, saponin dan glikosida (Rizal *et al.*, 2016). Menurut Abadi *et al.* (2018) kandungan yang terdapat dalam kulit buah jengkol seperti vitamin A dan B, fosfor, dan kalsium dapat memperbaiki kerusakan sel jantung pada tikus model diabetes. Ekstrak kulit buah jengkol juga diketahui dapat menurunkan kadar kolesterol LDL dan kandungan flavonoidnya dapat memperbaiki kerusakan sel hewan uji tikus (David *et al.*, 2016). Ekstrak etanol kulit buah jengkol dapat menurunkan kadar glukosa dan meningkatkan kadar insulin tikus model diabetes (Malini *et al.*, 2019).

Pengembangan terapi farmasetis menurut Martien *et al.* (2012) mesti memenuhi tiga prinsip utama, yaitu menciptakan sistem yang efektif (*effectiveness*), menekan efek bahaya pada sistem jika diaplikasikan (*safety*) dan sistem dapat diterima dengan baik oleh pasien (*acceptability*). Ketiga prinsip utama ini mendorong pengembangan teknologi formulasi yang fokus pada peningkatan efektivitas penghantaran obat pada dosis yang tepat. Salah satu teknologi yang saat ini dikembangkan yaitu formulasi obat dengan nanopartikel (Blenkinsopp, 2005).

Nanopartikel merupakan polimer sintetis berukuran 100 nm yang berfungsi untuk mengantarkan berbagai macam jenis obat. Salah satu polimer yang digunakan adalah *Poly(lactico-glycolic acid)* (PLGA) karena dapat terurai secara alami menjadi asam laktat, asam glikolat, dan metabolit monomer yang bersifat endogen dalam tubuh. Obat yang terenkapsulasi oleh nanopartikel PLGA memungkinkan pengantarnya lebih efektif menuju ke organ maupun sel target dan melindunginya dari degradasi dalam tubuh (Danhier *et al.*, 2012). Pada penelitian ini dilakukan uji efektivitas nanopartikel PLGA-ekstrak tanol kulit buah jengkol dengan tujuan mengetahui kemampuannya dalam memperbaiki profil kolesterol darah (HDL dan LDL) dan kerusakan struktur histologis jantung tikus model diabet.

METODE PENELITIAN

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di laboratorium, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktor tunggal dengan enam perlakuan dan setiap perlakuan terdiri atas empat ulangan. Model hewan diabetes yang digunakan adalah tikus (*R. norvegicus*) Wistar betina yang memiliki kadar glukosa darah di atas 250 mg/dL pada hari ke-4 setelah induksi dengan STZ (Sajedianfard, 2014). Semua kelompok perlakuan diinduksi STZ kecuali kontrol negatif (KN). Perlakuan yang diberikan adalah kontrol negatif (*Carboxy Methyl Cellulose* (CMC) 0,5%), kontrol positif (CMC 0,5%), pembanding (glibenklamid dosis 10 mg/kg BB), P1 (Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol/EEKBJ 770 mg/kg BB), P2 (EEKBJ 110 mg/kg BB), dan P3 (nanopartikel PLGA-EEKBJ 110 mg/kg BB) selama 14 hari berturut-turut secara dicekoki (*gavage*).

Prosedur kerja

Kulit buah jengkol dipotong kecil-kecil, dicuci, dikering-anginkan dan kemudian *diblender* hingga berbentuk serbuk simplisia. Serbuk simplisia dimaserasi dengan menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 2:1. Perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam. Maserat yang diperoleh, disaring, diuapkan dan dipiekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak dalam bentuk pasta (Khan *et al.*, 2010).

Pembuatan nanopartikel PLGA dilakukan dengan teknik nanopresipitasi berdasarkan Fessi

et al. (1989). Sebanyak 50 mg PLGA dan 10 mg ekstrak etanol kulit buah jengkol ditimbang dan dilarutkan dalam 3 mL aseton, selanjutnya ditambahkan setetes demi setetes (0,5 mL/menit) ke dalam larutan yang mengandung 20 mL *stabilizer* (1% polioksietilena-polioksipropilena dalam aquades), selanjutnya diaduk pada 400 rpm menggunakan *stirer* pada suhu kamar sampai pelarut organik menguap, kemudian dilakukan sentrifugasi pada 25.000 rpm dan 4°C selama 30 menit. Pelet disuspensikan kembali ke dalam air Milli-Q dan dicuci sebanyak tiga kali. Suspensi berisi partikel padat ditempatkan dalam oven pada suhu 30°C selama 24 jam, kemudian ditumbuk sampai halus hingga berbentuk serbuk.

Induksi Streptozotocin pada Tikus

Sebanyak 20 ekor tikus betina galur Wistar diinduksi streptozotocin dosis 65 mg/kg BB dilarutkan dalam larutan buffer sitrat pH 4,5 dingin dan diberikan pada 20 ekor tikus betina galur Wistar secara intraperitoneal setelah dipuasakan selama delapan jam. Setelah 72 jam pascainduksi streptozotocin dilakukan pengukuran kadar glukosa darah tikus. Tikus dinyatakan mengalami hiperglikemik ketika kadar glukosa darahnya di atas 250 mg/dL dan dapat digunakan sebagai objek penelitian ini (Shah dan Muhammad, 2014).

Pemberian Perlakuan

Tikus yang dapat digunakan sebagai hewan uji adalah tikus yang memiliki kadar glukosa darah di atas 250 mg/dL pada hari ke-3 (72 jam setelah induksi STZ). Ekstrak etanol kulit buah jengkol diberikan dengan cara *docekoki (gavage)* setiap hari selama 14 hari berturut-turut sesuai dengan dosis tiap perlakuan. Pemberian ekstrak dimulai pada hari ke-4 setelah injeksi STZ dan ditetapkan sebagai hari ke-1 perlakuan dan dilanjutkan sampai 14 hari (Sajedianfard *et al.*, 2014; Furman, 2015).

Pemeliharaan Hewan

Hewan uji dipelihara dalam kandang di Laboratorium Biosistem FMIPA Unpad dalam suhu ruang kandang antara 23-25°C, pencahayaan 12 jam gelap dan 12 jam terang. Penggantian sekam alas kandang dilakukan secara berkala, yakni dua kali seminggu. Selama perlakuan hewan uji diberi pakan komersial (CP-551® PT. Charoen Pokhpand, Sidoarjo, Indonesia) dan minum berupa air kran secara *ad libitum*.

Isolasi Darah dan Pengukuran kadar HDL & LDL

Darah diambil dari atrium kanan organ jantung tikus menggunakan *syringe* dan ditampung pada tabung Eppendorf sebanyak 3 mL dan selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Serum ditempatkan pada *microtube* dan disimpan di dalam refrigerator pada suhu 4°C sampai serum tersebut digunakan atau diuji. Pemeriksaan kadar HDL dan LDL dilakukan terhadap 500 mikron serum darah menggunakan alat COBAS Integra 400 menggunakan teknik *turbidimetry* (Sabrida *et al.*, 2014).

Isolasi dan Pembuatan Sediaan Histologis Organ Jantung Tikus

Tikus dikorbankan nyawanya dengan cara dislokasi leher kemudian dibedah, diisolasi organ jantungnya dan selanjutnya direndam dalam larutan dengan menggunakan NaCl 0,9% untuk menghilangkan sisa darah dan dikeringkan dengan kertas saring. Kemudian dibuat sediaan histologisnya dengan metode blok parafin dan pewarnaan menggunakan *Hematoxylin-Eosin*. Pengamatan kerusakan histologis jantung dilakukan berdasarkan tingkat kerusakan struktur histologis jantung menurut Karthikeyan *et al.* (2007), dengan kriteria penilaian seperti disajikan pada Tabel 1.

Analisis Data

Hasil pengukuran kadar LDL, HDL, dan jumlah sel nekrosis dianalisis menggunakan uji sidik ragam, sedangkan untuk data kerusakan histologis jantung dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji Duncan. Pengujian statistika dilakukan dengan menggunakan aplikasi SPSS versi 16.0 (Badr, 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Kolesterol HDL dan LDL

Hasil uji sidik ragam dan uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa kelompok perlakuan (KP) memiliki kadar kolesterol HDL lebih rendah dan kadar kolesterol LDL lebih tinggi secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol negatif (Tabel 2). Hasil ini sejalan dengan laporan Meng *et al.* (2013) yang menunjukkan adanya peningkatan kadar lipid, kolesterol, *Free Fatty Acids* (FFA), LDL, fosfolipid, LDL, VLDL dan terjadi

penurunan HDL pada plasma tikus diabetes yang diinduksi STZ. Hal tersebut terjadi karena adanya peningkatan aktivitas *3-hidroxy-3-methylglutaryl-Co-A reductase* (HMG Co-A reduktase) dan penurunan aktivitas *Lipoprotein Lipase* (LPL) serta *Lecithin cholesterol acyl transferase* (LCAT).

Pada kelompok perlakuan EEKBJ dosis 770 mg/kg BB (P1) memiliki rata-rata kadar kolesterol LDL lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok KP dan kelompok Pb serta paling mendekati nilai LDL pada kelompok KN. Namun, hal tersebut tidak berbeda nyata dengan kelompok perlakuan PLGA-EEKBJ. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Daisy dan Saipriya (2012) yang menunjukkan bahwa nanopartikel ekstrak *Cassia fistula* dosis 60 mg/kg BB (1/7 dari ekstrak yang tidak dalam formulasi nanopartikel) memberikan hasil yang efektif dalam pengobatan diabetes. Penurunan kadar kolesterol LDL dan peningkatan kadar kolesterol HDL terjadi pada hewan uji kelompok P1, P2, dan P3. Hal tersebut karena adanya kandungan senyawa fitokimia di dalam kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) yang berperan sebagai antioksidan seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, kuinon, dan polifenol (Sihombing *et al.*, 2015) yang berperan dalam mengontrol kadar kolesterol HDL dan LDL.

Flavonoid merupakan salah satu senyawa kimia fenolik yang terdapat di dalam kulit buah jengkol yang dapat menurunkan kadar kolesterol LDL dan meningkatkan kadar kolesterol HDL dengan mengurangi kadar *3-hidroxy-3-methylglutaryl-CoA* (HMG-CoA) reductase (Hartanti *et al.*, 2019) dan meningkatkan aktivitas *Lecithin Acyl Transferase* (LCAT). Flavonoid meningkatkan kadar kolesterol HDL dengan cara meningkatkan pelepasan kolesterol dari dalam makrofag dan meningkatkan ekspresi *ATP-binding cassette* (ABC) A1 dan meningkatkan apolipoprotein A1 yang menjadi bahan dasar terbentuknya kolesterol HDL (Helal *et al.*, 2013). Adapun penurunan kadar kolesterol LDL terjadi akibat kemampuan flavonoid dalam mencegah peroksidasi lipid yang berperan dalam patogenesis diabetes dan menonaktifkan radikal bebas melalui donor hidrogen. Radikal bebas berupa oksigen dan turunannya dihasilkan pada saat terjadinya metabolisme oksidatif dalam tubuh seperti proses oksidasi lemak dan protein yang tinggi yang menyebabkan tingginya kadar kolesterol LDL (Panche *et al.*, 2016; Aryal *et al.*, 2019).

Tabel 1. Kriteria penilaian parameter histologis jantung

Skor	Parameter			Derajat Kerusakan
	Degenerasi Hidropik	Degenerasi Lemak	Infiltrasi Sel Radang	
0	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Normal
1	Fokal	Fokal	Fokal	Rusak Ringan
2	Meluas, Multifokal	Meluas, Multifokal	Difusa	Rusak Sedang
3	Difusa	Difusa	Difusa	Berat

Tabel 2. Rerata kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) dan *Low Density Lipoprotein* (LDL) kolesterol tikus pascaperlakuan

Perlakuan	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
	Rerata ± SD	Rerata ± SD
Kontrol Negatif (KN): CMC 0,5%	105,37 ± 4,22 ^c	23,84 ± 1,29 ^a
Kontrol Positif (KP): STZ + CMC 0,5%	65,47 ± 3,31 ^a	82,19 ± 2,19 ^c
Pembanding (Pb): STZ + Glibenklamid 10 mg/kg BB	76,88 ± 2,05 ^b	58,95 ± 2,03 ^b
Perlakuan 1 (P1): STZ + EEKBJ 770 mg/kg BB	75,31 ± 2,50 ^b	48,35 ± 3,14 ^b
Perlakuan 2 (P2): STZ + EEKBJ 110 mg/kg BB	70,57 ± 1,94 ^b	59,91 ± 1,75 ^b
Perlakuan 3 (P3) : STZ+ Nanopartikel PLGA-EEKBJ 110 mg/kg BB	101,46 ± 1,89 ^c	29,26 ± 2,19 ^a

Ket: Rerata pada kolom yang sama dengan *superscript* yang berbeda mengindikasikan perbedaan signifikan (P<0,05). CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*); STZ (Streptozotocin); EEKBJ (Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol).

Tabel 3. Rerata jumlah sel nekrosis pada jantung tikus pascaperlakuan

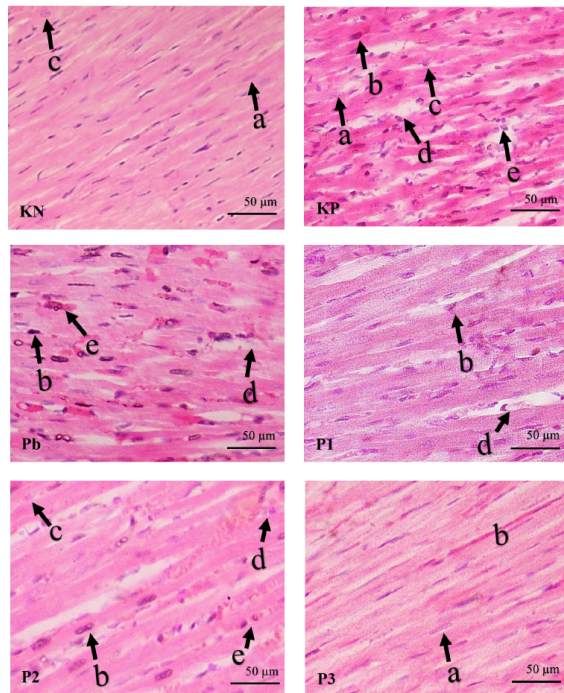
Perlakuan	Rerata Sel Nekrosis Rerata ± SD
Kontrol Negatif (KN): CMC 0,5%	139,25 ± 9,81 ^a
Kontrol Positif (KP): STZ + CMC 0,5%	258,00 ± 14,30 ^d
Pembanding (Pb): STZ + Glibenklamid 10 mg/kg BB	190,25 ± 7,36 ^c
Perlakuan 1 (P1): STZ + EEKBJ 770 mg/kg BB	155,75 ± 12,41 ^{ab}
Perlakuan 2 (P2): STZ + EEKBJ 110 mg/kg BB	169,25 ± 12,76 ^b
Perlakuan 3 (P3): STZ + Nanopartikel PLGA-EEKBJ 110 mg/kg BB	142,25 ± 12,06 ^a

Ket: Rerata pada kolom yang sama dengan *superscript* yang berbeda mengindikasikan perbedaan signifikan (P<0,05). CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*); STZ (Streptozotocin); EEKBJ (Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol).

Tabel 4. Rerata derajat kerusakan histologis jantung tikus pascaperlakuan

Kelompok Perlakuan	Skoring	Derajat Kerusakan
	Rerata ± SD	
Kontrol Negatif (KN): CMC 0,5%	0,20 ± 0,3 ^b	Normal
Kontrol Positif (KP): STZ + CMC 0,5%	2,05 ± 0,7 ^a	Rusak Sedang
Pembanding (Pb): STZ + Glibenklamid 10 mg/kg BB	1,10 ± 0,6 ^c	Rusak Ringan
Perlakuan 1 (P1): STZ + EEKBJ 770 mg/kg BB	1,00 ± 0,7 ^c	Rusak Ringan
Perlakuan 2 (P2): STZ + EEKBJ 110 mg/kg BB	1,55 ± 0,6 ^{ac}	Rusak Sedang
Perlakuan 3 (P3): STZ + Nanopartikel PLGA-EEKBJ 110 mg/kg BB	0,45 ± 0,4 ^b	Normal

Ket: Rerata pada kolom yang sama dengan *superscript* yang berbeda mengindikasikan perbedaan signifikan (P<0,05). CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*); STZ (Streptozotocin); EEKBJ (Ekstrak Etanol Kulit Buah Jengkol).



Gambar 1. Sediaan histologis sayatan melintang organ jantung tikus dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin (400x). KN=CMC 0,5%; KP=STZ + CMC 0,5%, Pb=STZ + Glibenklamid 10 mg/kg BB; P1=STZ + EEKBJ 770 mg/kg BB; P2=STZ + EEKBJ 770 mg/kg BB, P3=STZ + Nanopartikel PLGA-EEKBJ 110 mg/kg BB; [a] sel normal; [b] sel nekrosis; [c] degenerasi hidropik; [d] degenerasi lemak; dan [e] infiltrasi sel radang.

Formulasi nanopartikel PLGA mampu meningkatkan efektivitas EEKBJ dalam meningkatkan kadar kolesterol HDL dan menurunkan kadar LDL pada tikus diabetes. Menurut Ahmad *et al.* (2018), efektivitas obat pada umumnya sering dibatasi oleh kemampuannya dalam mencapai sel target untuk mengantarkan aksi terapeutik dari obat yang diberikan. Nanopartikel PLGA mampu meningkatkan profil bioavailabilitas obat herbal dan mengenkapsulasi ekstrak untuk meminimalisir ekstrak terdegradasi oleh enzim pencernaan, serta lebih cepat diabsorpsi sehingga dapat meningkatkan efektivitas terapi diabetes mellitus (Oktaviana *et al.*, 2016).

Sistem penghantaran obat dengan nanoteknologi dapat meningkatkan pencapaian obat ke dalam target jaringan lebih spesifik (Ezhilarasu *et al.*, 2020). Oleh karena itu EEKBJ dalam formulasi nanopartikel dan dienkapsulasi PLGA paling efektif dalam meningkatkan kadar HDL dan menurunkan kadar LDL dalam darah dibandingkan dengan EEKBJ dan glibenklamid.

Struktur Histologis Jantung Tikus Diabet

Struktur histologis miokardium jantung pascapemberian perlakuan selama 14 hari disajikan pada Gambar 1. Pada gambaran histologis jantung KN, sel-sel miokardium jantung tampak normal dengan susunan sel-sel yang rapat dan teratur. Hasil ini sejalan dengan laporan Velickov (2013) yang menunjukkan bahwa struktur histologis jantung tikus normal terdiri atas susunan sel-sel otot polos yang berbentuk memanjang, bercabang, dan juga terdapat diskus interkalaris. Pada gambaran struktur histologis jantung KP tampak bahwa sel-sel tidak rapat dan tidak beraturan yang mengindikasikan adanya kerusakan sel-sel miokardium jantung.

Jumlah Sel Nekrosis Tikus Model Diabetes

Hasil uji sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan berpengaruh nyata terhadap jumlah sel yang mengalami nekrosis. Hasil uji lanjut dengan uji jarak berganda Duncan menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan ($P < 0,05$) antar kelompok perlakuan, yaitu KP memiliki rata-rata jumlah sel nekrosis lebih tinggi secara signifikan dibandingkan dengan KN. Adapun pada kelompok P3, jumlah sel nekrosisnya tidak berbeda nyata dibandingkan dengan KN dan lebih rendah secara signifikan dibandingkan dengan kelompok KP, P1, P2, dan Pb (Tabel 3). Hal ini menunjukkan bahwa nanopartikel PLGA-EEKBJ dengan dosis 110 mg/kg BB lebih efektif dibandingkan EEKBJ dosis 770 mg/kg BB, EEKBJ dosis 110 mg/kg BB dan obat glibenklamid dalam memperbaiki nekrosis sel jantung pada tikus model diabetes yang diinduksi streptozotocin.

Peningkatan kadar gula darah pada tikus yang diinduksi streptozotocin menyebabkan terjadinya stres oksidatif akibat produksi *reactive oxygen species* (ROS). Melalui peroksidasi lipid, ROS dapat memicu kerusakan pada sel hingga akhirnya mengalami nekrosis (Al-Numair *et al.*, 2014; Kuzgun *et al.*, 2020). Penurunan jumlah sel nekrosis pada kelompok P3 akibat

kandungan fitokimianya seperti flavonoid dan tanin. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dapat mengikat radikal bebas dan mencegah peroksidasi lipid yang dapat memicu nekrosis pada sel (Panche *et al.*, 2016). Gandhi *et al.* (2020) menunjukkan bahwa flavonoid dari buah jeruk dapat mencegah komplikasi atau progresifitas diabetes mellitus dengan mengeliminasi radikal bebas dan mencegah radikal bebas terakumulasi. Aktivitas antioksidan dari flavonoid dapat melindungi tubuh dari penyakit jantung dan diabetes (Bondonno *et al.*, 2018; Gandhi *et al.*, 2020). Senyawa tanin terkandung dalam EEKBJ dapat menghambat terjadinya nekrosis dengan cara meningkatkan glikogenesis sehingga dapat mencegah penimbunan glukosa dalam darah dan stres oksidatif (Anwar *et al.*, 2022). Tanin juga memiliki kemampuan untuk meningkatkan regenerasi dan organisasi jaringan baru yang rusak akibat nekrosis (Edefia *et al.*, 2015). Adapun efektivitas PLGA-EEKBJ dalam menurunkan jumlah sel nekrosis diduga karena kemampuan nanopartikel PLGA yang dapat mengantarkan berbagai agen terapeutik langsung menuju ke sitoplasma sel target tanpa mengalami degradasi selama di dalam tubuh dan memengaruhi sel non-target (Ahmad *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2019).

Tingkat Kerusakan Jantung Tikus Model Diabetes

Hasil uji lanjut Mann-Whitney pada Tabel 4 menunjukkan bahwa kelompok KP memiliki nilai rerata skoring derajat kerusakan tertinggi secara statistika ($2,05 \pm 0,7$) dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya dan termasuk ke dalam kategori rusak sedang. Pada kelompok KN menunjukkan nilai rerata skoring derajat kerusakan terendah sebesar $0,2 \pm 0,3$ dan termasuk ke dalam kategori normal. Pada gambaran struktur histologis jantung kelompok KP (Gambar 1) menunjukkan adanya sel nekrosis, degenerasi lemak, degenerasi hidropik, dan infiltrasi sel radang yang bersifat multifokal. Begitupun dengan gambar struktur histologis jantung kelompok Pb dan P2 menunjukkan adanya infiltrasi sel radang yang menjadi indikasi inflamasi pada miokardium jantung (Abdulkhaleq *et al.*, 2018). Kelompok P3 menunjukkan nilai rerata skoring derajat kerusakan yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan lainnya ($0,45 \pm 0,4$) dan paling mendekati nilai skoring derajat kerusakan pada kelompok kontrol negatif ($0,2$

$\pm 0,3$). Hasil ini menunjukkan bahwa, EEKBJ dalam bentuk sediaan nanopartikel PLGA lebih efektif dalam memperbaiki kerusakan struktur histologis jantung yang dilihat dari degenerasi hidropik, degenerasi lemak, dan infiltrasi sel radang pada tikus wistar betina model diabetes yang diinduksi streptozotocin. Hal ini karena fitokimia yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit buah jengkol dapat memperbaiki kerusakan struktur histologis jantung. Laporan penelitian Chan *et al.* (2013) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak daun murbai dengan flavonoid sebagai komponen utamanya terhadap kelinci putih dengan kolesterol tinggi dapat menurunkan kadar kolesterol LDL secara signifikan, menghambat proliferasi dan migrasi sel-sel otot polos pembuluh aorta, memperbaiki fungsi sel-sel endotel, dan mencegah atheroma pada pembuluh darah. Aktivitas antioksidan flavonoid ditunjukkan dengan kemampuannya dalam menghambat peroksidasi lipid, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD), glutathione peroksidase (GSH), dan katalase. Flavonoid mendonasikan atom hidrogen atau memberikan elektron tunggal melalui proton sehingga radikal bebas dapat tereliminasi (Yan *et al.*, 2020). Tanin juga memiliki kemampuan untuk meningkatkan regenerasi dan organisasi jaringan baru (Edefia *et al.*, 2015).

Berdasarkan pada rata-rata skoring derajat kerusakan pada Tabel 3, nanopartikel PLGA dengan dosis 110 mg/kg BB menunjukkan hasil terbaik dalam memulihkan kerusakan struktur histologis miokardium jantung tikus yang diinduksi STZ. Hal ini diduga karena nanopartikel memfasilitasi sistem penghantar obat yang aman dan efektif. Efektivitas dari PLGA-EEKBJ ini didukung dengan ukurannya yang memungkinkannya masuk ke pembuluh kapiler darah terkecil yang berdiameter 5-10 μm . Rata-rata ukuran partikel EEKBJ yaitu sebesar 150 μm dan setelah diformulasi menjadi nanopartikel PLGA-EEKBJ, ukuran partikelnya menjadi sebesar 596-640 nm (Firdous, 2018). Hal tersebut memungkinkan nanopartikel PLGA-EEKBJ untuk mencapai sel atau jaringan target sehingga nanopartikel PLGA-EEKBJ memiliki efektivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan EEKBJ yang tidak diformulasikan menjadi nanopartikel PLGA dalam memperbaiki kerusakan struktur histologis jantung tikus diabetes.

SIMPULAN

Pemberian nanopartikel PLGA-ekstrak etanol kulit buah jengkol (*A. pauciflorum*) dapat meningkatkan kadar kolesterol HDL, menurunkan kadar kolesterol LDL, dan memperbaiki struktur histologis jantung tikus model diabetes.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh lama pemberian nanopartikel PLGA-EEKBJ terhadap penurunan kadar kolesterol LDL dan peningkatan kadar kolesterol HDL. Perlu dilakukan pula uji formulasi nanopartikel dengan dosis ekstrak yang berbeda untuk mengetahui dosis yang tepat dan paling efektif untuk pengobatan diabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini kami menghaturkan terima kasih kepada Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abadi SA, Illiyyin Z, Rachmadina JR, Malini DM. 2018. The effect of jengkol (*Archidendron pauciflorum*) fruit peel ethanolic extract to heart histologic of rat induced by streptozotocin. *Asian Journal of Natural Product Biochemistry* 16(2): 59-63
- Abdulkhaleq LA, Assi MA, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap YH, Hezmee MNM. 2018. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Veterinary World* 11(5): 627
- Ahmad K, Rabbani G, Baig MH, Lim JH, Khan ME, Lee EJ, Ashraf GM, Choi I, 2018. Nanoparticle-based drugs: A potential armamentarium of effective anti-cancer therapies. *Current Drug Metabolism* 19(10): 839-846
- Al-Nozha MM, Ismail HM, Al Nozha OM. 2016. Coronary artery disease and diabetes mellitus. *Journal of Taibah University Medical Sciences* 11(4): 330-338
- Al-Numair KS, Chandramohan G, Alsaif MA, Veeramani C, Newehy AE. 2014. Morin, a flavonoid, on lipid peroxidation and antioxidant status in experimental myocardial ischemic rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 11(3): 14-20
- Anwar K, Juliantie GC. 2022. February. The effect of n-butanol fraction of gaharu (*Aquilaria microcarpa* Baill.) leaves on blood glucose and liver glycogen levels in alloxan-induced male rats. In: IOP Conference Series. *Earth and Environmental Science* 976(1): 012064
- Aronson D, Edelman ER. 2014. Coronary artery disease and diabetes mellitus. *Cardiology Clinics* 32(3): 439-455
- Aryal S, Baniya MK, Danekhu K, Kunwar P, Gurung R, Koirala N. 2019. Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal. *Plants* 8(4): 96
- Badr AN, Shehata MG, Abdel-Razek AG. 2017. Antioxidant activities and potential impacts to reduce aflatoxins utilizing jojoba and jatropha oils and extracts. *Int J Pharmacol* 13(8): 1103-1114
- Blenkinsopp A. 2005. Effectiveness and acceptability of community pharmacy-based interventions in type 2 diabetes: A critical review of intervention design, pharmacist and patient perspectives. *International Journal of Pharmacy Practice* 13(4): 231-240
- Bondonno NP, Bondonno CP, Blekkenhorst LC, Considine MJ, Maghzal G, Stocker R, Woodman RJ, Ward NC, Hodgson JM, Croft KD. 2018. Flavonoid-rich apple improves endothelial function in individuals at risk for cardiovascular disease: a randomized controlled clinical trial. *Molecular Nutrition & Food Research* 62(3): 1700674
- Chan KC, Yan, MY, Lin MC, Lee YJ, Chang WC, Wang CJ. 2013. Mulberry leaf extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits and in cultured aortic vascular smooth muscle cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61(11): 2780-2788
- Danhier F, Ansorena E, Silv, JM, Coco R, Le Breton A, Pr eat V. 2012. PLGA-based nanoparticles: an overview of biomedical applications. *Journal of Controlled Release* 161(2): 505-522
- Daisy P, Saipriya K. 2012. Biochemical analysis of *Cassia fistula* aqueous extract and phytochemically synthesized gold

- nanoparticles as hypoglycemic treatment for diabetes mellitus. *International Journal of Nanomedicine* 7: 1189–1202
- David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. 2016. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacognosy Reviews* 10(20): 84
- Domanski MJ, Tian X, Wu CO, Reis JP, Dey AK, Gu Y, Zhao L, Bae S, Liu K, Hasan AA, Zimrin D. 2020. Time course of LDL cholesterol exposure and cardiovascular disease event risk. *Journal of the American College of Cardiology* 76(13): 1507-1516
- Edefia A, Tete-Benissan A, Awaga K, Akpagana K. 2015. Review of twelve West Africa medicinal plants: Active phytochemical combinations in direct biochemically wound healing process. *Journal of Medicinal Plants Research* 9(34): 908-917
- Ezhilarasu H, Vishalli D, Dheen ST, Bay BH, Srinivasan DK. 2020. Nanoparticle-based therapeutic approach for diabetic wound healing. *Nanomaterials* 10(6): 1234
- Fessi H, Puisieux F, Devissaguet JP, Ammoury N, Benita S. 1989. Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *Int J Pharm* 55(1): 1-4
- Furman BL. 2015. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Curr. Protoc. Journal of Pharmacol* 70(1): 5-47
- Gandhi GR, Vasconcelos ABS, Wu DT, Li HB, Antony PJ, L, H, Geng F, Gurgel RQ, Narain N, Gan RY. 2020. Citrus flavonoids as promising phytochemicals targeting diabetes and related complications: A systematic review of *in vitro* and *in vivo* studies. *Nutrients* 12(10): 2907
- Hartanti L, Yonas SMK, Mustamu JJ, Wijaya S, Setiawan HK, Soegianto L. 2019. Influence of extraction methods of bay leaves (*Syzygium polyanthum*) on antioxidant and HMG-CoA Reductase inhibitory activity. *Heliyon* 5(4): 01485
- Helal EGE, Samia MA, Anwaar AM. 2013. Comparison between the effect of ozone and vitamin C in treatment of diabetes mellitus. *Journal of Hospital Medicine* 51: 434-447
- IDF [International Diabetes Federation]. 2021. *Diabetes Atlas*, 10th edition. Brussels, Belgium. <https://www.diabetesatlas.org>.
- Karthikeyan K, Sarala BBR, Niranjali SD. 2007. Cardioprotective effect of grape seed proanthocyanidins on isoproterenol-induced myocardial injury in rats. *International Journal of Cardiology* 115: 326–333
- Khan Z I, Badrun N, Abu JM, Shahnaz R, Majeedul HC, Mohammed R. 2012. An Evaluation of Antihyperglycemic and Antinociceptive Effects of Methanol Extract of *Cassia fistula* (Fabaceae) Leaves in Swiss Albino Mice. *Advances in Natural and Applied Sciences* 4(3): 305-310
- Kuzgun G, Başaran R, Arıoğlu İnan E, Can Eke B. 2020. Effects of insulin treatment on hepatic CYP1A1 and CYP2E1 activities and lipid peroxidation levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders* 19(2): 1157-64
- Li S, Zeng YC, Peng K, Liu C, Zhang ZR, Zhang L. 2019. Design and evaluation of glomerulus mesangium-targeted PEG-PLGA nanoparticles loaded with dexamethasone acetate. *Acta Pharmacologica Sinica* 40(1): 143-150
- Malakar AK, Choudhury D, Halder B, Paul P, Uddin A, Chakraborty S. 2019. A review on coronary artery disease, its risk factors, and therapeutics. *Journal of Cellular Physiology* 234(10): 16812-16823
- Malini DM, Madihah M, Kusmoro J, Kamilawati F, Iskandar J. 2017. Ethnobotanical study of medicinal plants in Karangwangi, District of Cianjur, West Java. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education* 9(2): 345-56
- Malini DM, Abadi SA, Hermawan W. 2019. The effect of ethanol extract of fruit peel jengkol (*Archidendron pauciflorum*) to spleen histological structure of streptozotocin-induced diabetic rats (*Rattus norvegicus*). *Nusantara Bioscience* 11(2): 157-161
- Malviya R, Bansal V, Sharma PK. 2014. Characterization of some polymers as pharmaceutical excipient. *Advances in Biological Research* 8(3): 123-126

- Martien R, Adhyatmika, Irianto IDK, Farida, Sari P. 2012. Technology Development Nanoparticles as Drug Delivery System. *Majalah Farmaseutik* 8(1): 133-144
- Oktaviana P, Ema PY, Efta T. 2016. Efek Nanopartikel PLGA Ekstrak Biji Nigella sativa terhadap Kadar Katalase Hepar Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2. *Pharmaceutical Journal of Indonesia* 2(1): 18-24
- Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. 2016. Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science* 5(47): 1-15
- Rakhmat II, Dzulfikri DA, Jusuf H. 2021. The Comparison of Ethanol Extract Breadfruit Leaf and Glibenclamide Towards the Decreasing of Blood Glucose Levels in Rats with Diabetes Mellitus Induced by Alloxan. *Advanced in Health Science Research* 37: 24-28
- Rizal M, Yusransyah, Stiani SN. 2016. Uji aktivitas antidiare ekstrak etanol 70% kulit buah jengkol (*Archidendron pauciflorum* (Benth.) I.C. Nielsen) terhadap mencit jantan yang diinduksi oleum ricini. *Jural Ilmiah Manuntung* 2(2): 131-136
- Sabrina O, Hariadi, Yantri E. 2014. Hubungan Kadar LDL dan HDL Serum Ibu Hamil Aterm dengan Berat Lahir Bayi. *Jurnal Kesehatan Andalas* 3(3): 289-296
- Sajedianfard J, Nazifi S, Shamsaei HA. 2014. The Effects of Oral Administration of Different Doses of Hydroalcoholic Extract of Silymarin on Status of Serum Trace Elements. *Am J Anim Vet Sci* 9(3): 170-176
- Shah NA, Muhammad RK. 2014. Antidiabetic effect of Sida cordata in Alloxan induced diabetic rats. *Journal of Biomed Research International* 2014: 671294
- Sihombing JR, Dharma A, Chaidir Z, Almahdy, Fachrial E, Munaf E. 2015. Phytochemical screening and antioxidant activities of 31 fruit peel extract from Sumatera, Indonesia. *J Chem Pharmaceut Res* 7(11): 190-196.
- Sun YE, Wang W, Qin J. 2018. Anti-hyperlipidemia of garlic by reducing the level of total cholesterol and low-density lipoprotein: A meta-analysis. *Medicine* 97(18): 255
- Velickov A, Jancic N, Dinidic N, Rancic I, Bojanic N, Krstic M. 2013. Histological and Histochemical Characteristics of Rat Myocardium in Cadmium Toxicosis. *Acta Medica Medianae* 52(2): 15-22
- Yan Z, Zhong Y, Duan Y, Chen Q, Li F. 2020. Antioxidant mechanism of tea polyphenols and its impact on health benefits. *Animal Nutrition* 6(2): 115-123