



PENGARUH EKSTRAK ETANOL DAUN KITOLOD (*Isotoma longiflora* L.) TERHADAP KADAR MALONDIALDEHID DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI HATI PADA TIKUS PUTIH JANTAN HIPERGLIKEMIA

Ria Afrianti¹, Lola Azyenela¹, Siti Triani¹, Riki Ranova²

¹ Universitas Perintis Indonesia, Padang, Sumatera Barat

² Akademi Farmasi Imam Bonjol, Bukittinggi, Padang, Sumatera Barat

Email Korespondensi : riaafrianti.apt@gmail.com

ABSTRAK

Hiperglikemia merupakan peningkatan glukosa dalam darah sehingga radikal bebas mengalami peningkatan yang dapat memicu peroksidasi lipid darah ditandai dengan peningkatan kadar malondialdehid (MDA) dan memberikan kerusakan pada organ hati yang disebabkan oleh deksametason yang digunakan sebagai penginduksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.) terhadap kadar MDA dan gambaran histopatologi organ hati pada tikus putih jantan hiperglikemia. Pada penelitian ini hewan percobaan dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, pembanding, dosis ekstrak 100 mg/kgBB, dosis ekstrak 200 mg/kgBB dan dosis ekstrak 400 mg/kgBB. Pengukuran kadar MDA menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan gambaran histopatologi menggunakan metode pewarnaan *Hematoksin-Eosin* (HE). Nilai rata-rata kadar MDA kelompok kontrol negatif adalah $2,04 \pm 0,51$ nmol/ml, kontrol positif adalah $3,51 \pm 0,59$ nmol/ml, pembanding adalah $2,71 \pm 0,53$ nmol/ml, kelompok dosis 100 mg/kgBB adalah $2,81 \pm 0,35$ nmol/ml, kelompok dosis 200 mg/kgBB adalah $2,37 \pm 0,29$ nmol/ml dan kelompok dosis 400 mg/kgBB adalah $2,16 \pm 0,31$ nmol/ml. Hasil nilai rata-rata kadar MDA kelompok dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB secara signifikan ($p < 0,05$) mendekati nilai rata-rata MDA kelompok kontrol negatif dan kelompok pembanding. Dan pada hasil pengamatan histopatologi hati dengan dosis 400 mg/kgBB terdapat perbaikan yang baik serta mendekati kontrol pembanding namun masih dibawah kontrol negatif. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kitolod dapat menurunkan kadar MDA dan perubahan organ hati yang baik pada tikus putih jantan hiperglikemia.

Kata kunci : Hiperglikemia, *Isotoma longiflora* L., Malondialdehid, Histopatologi hati

THE EFFECT OF KITOLOD LEAF ETHANOL EXTRACT (*Isotoma longiflora* L.) ON MALONDIALDEHYDE LEVELS AND LIVER HISTOPATHOLOGY PICTURE IN HYPERGLYCEMIC MALE WHITE RATS

ABSTRACT

Hyperglycemia is an increase in blood glucose so that free radicals increase which can trigger blood lipid peroxidation characterized by increased levels of malondialdehyde (MDA) and damage to the liver caused by dexamethasone used as an inducer. This study aims to determine the effect of administering ethanol extract of kitolod leaves (*Isotoma longiflora* L.) on MDA levels and histopathological images of the liver in hyperglycemic male white rats. In this study, the experimental animals were divided into 6 groups, namely the negative control group, positive control, comparison, extract dose of 100 mg/kgBW, extract dose of 200 mg/kgBW and extract dose of 400 mg/kgBW. Measurement of MDA levels using a UV-Vis spectrophotometer and histopathological images using the Hematoxylin-Eosin (HE) staining method. The average value of MDA levels in the negative control group was 2.04 ± 0.51 nmol / ml, the positive control was 3.51 ± 0.59 nmol / ml, the comparator was 2.71 ± 0.53 nmol / ml, the 100 mg / kgBW dose group was 2.81 ± 0.35 nmol / ml, the 200 mg / kgBW dose group was 2.37 ± 0.29 nmol / ml and the 400 mg / kgBW dose group was 2.16 ± 0.31 nmol / ml. The results of the average MDA levels of the 200 mg / kgBW and 400 mg / kgBW dose groups were significantly ($p < 0.05$) close to the average MDA values of the negative control group and the comparator group. And in the results of histopathological observations of the liver with a dose of 400 mg / kgBW there was good improvement and approached the comparator control but still below the negative control. So it can be concluded that administration of ethanol extract of kitolod leaves can reduce MDA levels and good liver organ changes in hyperglycemic male white rats.

Keywords : Hyperglycemia, *Isotoma longiflora* L., malondialdehyde, Liver Histopathology

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) adalah salah satu penyakit yang tidak dapat ditularkan dan masih menjadi masalah global di dunia yang terus menerus mengalami peningkatan. Diabetes melitus juga suatu penyakit metabolik dengan kondisi hiperglikemia kronis karena adanya kelainan sekresi insulin, kerja insulin maupun keduanya. Secara umum, diabetes melitus tipe 1 berbeda dengan diabetes melitus tipe 2. Diabetes melitus tipe 1 dikenal sebagai diabetes melitus yang bergantung dengan insulin sedangkan diabetes melitus tipe 2 tidak bergantung dengan insulin. Diabetes

melitus tipe 2 merupakan diabetes melitus yang banyak dijumpai dimasyarakat yang ditandai dengan kondisi hiperglikemia, resistensi insulin dan defisiensi relatif insulin (Baynest, 2015). Salah satu diagnosa dari diabetes melitus tipe 2 yaitu dengan cara melakukan pemeriksaan kadar glukosa darah puasa (GDP) ≥ 126 mg/dL (Lestari *et al.*, 2021).

Pada tahun 2021 International Diabetes Federation (IDF) mencatat bahwa terdapat 537 juta orang dewasa di dunia yang mengidap diabetes melitus ini. IDF juga memperkirakan adanya peningkatan diabetes melitus menjadi 592 juta (55%) pada tahun 2035. Indonesia berada di urutan ke-7 dengan jumlah 8,5 juta penderita diabetes melitus (*International Diabetes Federation (IDF)*, 2021). Menurut data Dinas Kesehatan Provinsi Sumatera Barat pada tahun 2022, terdapat sebanyak 13.733 orang penderita diabetes melitus. Kota padang menjadi kota dengan kasus tertinggi yaitu 13.519 orang (Dinkes Kota Padang, 2022).

Terjadinya diabetes melitus disebabkan oleh hiperglikemia. Hiperglikemia merupakan kondisi dimana fungsi hormon insulin menurun sehingga gula darah menumpuk pada tubuh karena gula yang dikonsumsi tidak dapat dicerna dengan baik dan mengalami peningkatan glukosa darah. Metabolisme glukosa, protein dan lainnya terganggu oleh efek sekresi insulin ketika hiperglikemia menyebabkan penumpukan glukosa dalam darah (Dewi, 2020).

Hiperglikemia kronis pada diabetes melitus tipe 2 menyebabkan peningkatan suatu radikal bebas dan penurunan antioksidan (Pieme *et al.*, 2017). Peningkatan radikal bebas seperti superoksida, hidrogen peroksida, nitrit oksida dan hidroksil dapat menurunkan kadar antioksidan pada sel beta pankreas sehingga dapat merusak sel beta pankreas dan insulin yang dihasilkan sangat terbatas serta terjadinya peningkatan hiperglikemia (Decroli, 2019). Kadar radikal bebas yang terus meningkat pada diabetes melitus tipe 2 menyebabkan pengaruh terhadap peroksidasi lipid, oksidasi DNA dan protein yang dapat meningkatkan kadar malondialdehid (MDA) (Kadri *et al.*, 2019).

Pada kadar glukosa yang tinggi, dapat mengalami autooksidasi yang mampu menghasilkan radikal bebas (Mahmud *et al.*, 2023). Pembentukan radikal bebas akan menyebabkan stres oksidatif, yang ditandai dengan penurunan aktivitas superoksida dismutase (SOD) sebagai antioksidan alami tubuh dan peningkatan kadar malondialdehid (MDA) sebagai pemicu tingkat stres oksidatif (Younus, 2018).

Malondialdehid (MDA) merupakan hasil dari proses peroksidasi lipid oleh radikal bebas setelah terpapar ROS (*Reactive Oxygen Species*) (Yustika *et al.*, 2013). Antioksidan yang digunakan dapat mengurangi stres oksidatif dan juga dapat menurunkan kadar MDA pada penderita diabetes melitus, sehingga antioksidan dapat mencegah meningkatnya glukosa darah (Rahayu, 2017).

Salah satu cara untuk mencegah meningkatnya kadar glukosa darah yaitu dengan cara mengkonsumsi obat-obatan namun pasti akan memiliki efek samping karena obat-obatan tersebut disintesis secara kimia (Mahmud *et al.*, 2023). Sekarang ini masyarakat lebih banyak memilih *back to nature*, pengobatan menggunakan tanaman obat. Salah satu tanaman obat yang memiliki khasiat sebagai penurunan kadar glukosa darah adalah tanaman kitolod (*Isotoma longiflora* L.). Berdasarkan penelitian Burhan (2024) menunjukkan hasil uji fitokimia daun kitolod memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, fenolik, tanin dan saponin.

Pada penelitian yang dilakukan Egarani (2020) kadar kandungan antioksidan pada ekstrak etanol kitolod banyak didapatkan pada bagian daun, sedangkan kadar antioksidan yang terendah terdapat pada bagian akar. Berdasarkan pengujian secara *in vitro* dengan pengujian menggunakan metode DPPH memiliki aktivitas antioksidan atau penghambat radikal bebas dengan total kadar senyawa flavonoid, fenolik, klorofil, dan karotenoid masing-masing sebesar 10,48; 1,46; 7,25 dan 56,98 ppm yang terdapat pada bagian daun. Nilai ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena memiliki IC_{50} kurang dari 200 ppm yaitu 52,70 ppm. Semakin tinggi kandungan senyawa metabolit yang dihasilkan maka semakin kecil nilai IC_{50} yang didapatkan sehingga semakin kuat kemampuan antioksidan untuk menangkap radikal bebas.

Pada penelitian sebelumnya Maharani (2018) menunjukkan bahwa dengan pengujian ekstrak etanol daun kitolod pada hewan yang mengalami hiperglikemia dengan penginduksi aloksan dan pembanding metformin menyatakan bahwa ekstrak etanol daun kitolod dapat menurunkan kadar glukosa tikus dengan rentang dosis yang efektif yaitu 200 mg/kgBB tikus dengan lama pemberian dosis yaitu 14 hari.

Golongan obat yang menyebabkan terjadinya peningkatan kadar glukosa darah yaitu golongan obat kortikosteroid contohnya deksametason. Efek samping penggunaan deksametason yaitu lipolisis, glikogenolisis di perifer dan di hati.

Keadaan ini menyebabkan kadar glukosa darah meningkat sehingga terjadi hiperglikemia. Penggunaan jangka panjang deksametason dapat menyebabkan peningkatan kadar insulin dan penurunan glukosa yang signifikan (Satiavani, 2010).

Pada penderita diabetes melitus terdapat perubahan histopatologi pada organ hati. Deksametason meningkatkan kadar glukosa darah dengan menurunkan kemampuan insulin untuk menstimulasi translokasi glukosa transporter-4 (GLUT-4), glukoneogenesis di hati, peningkatan dan stimulasi lipolisis jaringan adiposa, dan gangguan penyerapan dan penggunaan glukosa pada jaringan perifer. Pada organ hati deksametason dapat meningkatkan stimulasi glukogenesis (Santi, 2013).

Berdasarkan uraian penjelasan di atas maka peneliti tertarik untuk untuk meneliti mengenai pengaruh ekstrak etanol daun kitolod terhadap kadar malondialdehid (MDA) secara *in vivo* dan gambaran histopatologi hati pada tikus putih jantan hiperglikemia.

METODE PENELITIAN

Material

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu botol maserasi yang berwarna gelap, seperangkat alat *rotary evaporator*, blender, kertas saring, kain flanel, gelas ukur, batang pengaduk, spatel, vial, cawan penguap, lumpang, stamper, pipet tetes, plat tetes, tabung reaksi, jarum oral, spuit, kapas alkohol, gunting, pisau bedah, krus porselen, alat pengukur glukosa darah dan strip test, alat sentrifus, tempat serum, *micropipette*, *vortex mixer*, *waterbath*, mikroskop, timbangan analitik, timbangan hewan, kandang hewan dan spektrofotometer UV-vis.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.), tikus putih jantan, makanan standar tikus, etanol 70%, 80%, 90%, 96%, NBF 10%, serum sampel, aquadest, fruktosa, Tri Chloro asetat (TCA), Thio Barbiturat Acid (TBA), standar MDA, Na-CMC, deksametason, metformin, pewarnaan histologi *hematoksilin-eosin*.

Rancangan Penelitian

Penyiapan Sampel

Penyiapan sampel yang akan dibuat yaitu dengan mengambil daun kitolod segar sebanyak 2,5 kg lalu dibersihkan menggunakan air mengalir hingga tidak ada kotoran

yang menempel. Kemudian daun kitolod dikering anginkan pada suhu ruang yang tidak terkena cahaya matahari langsung. Daun kitolod yang telah kering dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk (simplisia) dan ditimbang berat simplisia yang didapatkan (Depkes, 2017).

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kitolod

Sampel sebanyak 500 gram dimaserasi dalam pelarut etanol sebagai cairan pengestraksi selama 3 hari sambil di aduk sesekali. Setelah 3 hari perendaman, filtrat disaring untuk mendapatkan maseratnya, ampasnya dimaserasi kembali dengan pelarut yang sama sambil sesekali diaduk hingga maserat yang dihasilkan jernih. Gabungkan semua maserat yang telah didapatkan kemudian uapkan maserat dengan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C hingga didapatkan ekstrak kental.

Evaluasi Ekstrak

Parameter Spesifik :

1. Pemeriksaan Organoleptis

Pemeriksaan organoleptis ini dilakukan dengan cara mengamati bentuk, warna dan juga bau.

2. Pemeriksaan Rendemen

Pemeriksaan randemen pada ekstrak etanol daun kitolod yang didapat dengan berat sampel awal lalu dihitung hasilnya (Depkes RI, 2000).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat Ekstrak yang diperoleh}}{\text{Berat sampel kering}} \times 100\%$$

3. Pemeriksaan Susut Pengerinan

Pemeriksaan susut pengeringan untuk daun kitolod menggunakan krus porselen. Sebelum itu krus porselen dibersihkan dan dikeringkan dalam oven selama 1 jam pada suhu 105°C. Dinginkan dalam desikator, setelah dingin lalu ditimbang. Lalu masukkan 1-2 gram sampel ke dalam krus porselen dan timbang. Krus porselen yang berisi sampel dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Setelah itu krus dikeluarkan dari oven dan didinginkan ke dalam desikator selama 10-15 menit dan kemudian timbang. Pemanasan dilanjutkan hingga berat tetap. Kandungan air dapat diperoleh dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Susut Pengerinan} = \frac{(B - A) - (C - A)}{(B - C)} \times 100\%$$

4. Pemeriksaan Kadar Abu Total

Pemeriksaan kadar abu dilakukan dengan menimbang ekstrak terlebih dahulu yaitu sebanyak 2-3 gram, lalu dimasukkan ke dalam krus porselen yang telah dipijarkan dan ditara, kemudian dipijar kembali. Dipijar perlahan-lahan hingga warna asap putih hilang, dinginkan dan ditimbang. Setelah itu, masukkan ke dalam furnace suhu 600°C selama 4 jam. Kemudian dinginkan ke dalam desikator lalu ditimbang kembali, selanjutnya menghitung presentase kadar abu menggunakan rumus:

$$\% \text{ Kadar Abu} = \frac{C - A}{B - A} \times 100\%$$

Uji Kandungan Kimia Ekstrak Etanol Daun Kitolod

Ekstrak kental daun kitolod ditimbang sebanyak 0,5 gram lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu ditambahkan masing-masing 5 mL (1:1) kloroform dan aquadest kemudian dihomogenkan, dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan (air dan kloroform). Lapisan air digunakan untuk pengujian flavonoid, fenolik dan saponin. Sedangkan lapisan kloroform digunakan untuk pengujian alkaloid dan terpenoid/steroid.

Pembuatan Sediaan Uji

Larutan Suspensi Na-CMC 0,5%

Na CMC digunakan sebagai larutan kontrol dengan konsentrasi 0,5%. Timbang sebanyak 0,5 gram Na-CMC, kemudian diberi air panas sebanyak 10 ml (20 kalinya) di dalam lumpang lalu dibiarkan selama 15 menit hingga mengembang. Setelah mengembang dan menjadi transparan kemudian digerus hingga terbentuk massa yang homogen dan diencerkan dalam labu ukur dengan aquadest hingga volume 100 ml.

Pembuatan Suspensi Ekstrak Etanol Daun Kitolod

Untuk sediaan 100 ml, ditimbang 0,5 g serbuk Na-CMC, kemudian diberi air panas sebanyak 10 ml (20 kalinya) di dalam lumpang lalu dibiarkan selama 15 menit hingga mengembang. Setelah mengembang dan menjadi transparan kemudian digerus hingga terbentuk massa yang homogen dan diencerkan dalam labu ukur dengan aquadest hingga volume 100 mL.

Perlakuan Hewan Percobaan

1. Hewan yang sudah diaklimatisasi selama 1 minggu.

2. Hewan percobaan semuanya dipuaskan selama 10 jam, lalu diukur glukosa sebagai kadar glukosa awal. Kemudian hewan percobaan diinduksi dengan deksametason injeksi 5 mg/ml secara subkutan dan diberi minum larutan fruktosa 10% (kecuali kontrol negatif) diberikan selama 7 hari.
3. Setelah penginduksi diberikan diukur kadar glukosa darah melalui vena ekor dengan menggunakan alat glucocheck untuk melihat apakah hewan percobaan telah mengalami hiperglikemia.
4. Setelah hewan percobaan mengalami hiperglikemia maka diberikan sediaan uji ekstrak daun kitolod berdasarkan dosis yang telah ditentukan selama 14 hari.
5. Pada hari ke-15 hewan percobaan dianestesi dan diambil darahnya melalui vena orbitalis dan ditampung dengan tabung reaksi sebanyak kurang lebih 3 ml untuk pengukuran kadar malondialdehid.
6. Pada hari ke-15 hewan percobaan dianestesi dan dilakukan dislokasi leher serta dilakukan pembedahan untuk diambil organ hati dan dibersihkan dengan cairan NaCl fisiologis 0,9% lalu ditimbang untuk menghitung ratio organ hati.
7. Organ hati yang telah diambil tadi disimpan kedalam wadah yang telah berisi dengan NaCl fisiologis dan disimpan dalam freezer untuk pengujian histopatologi.

Pengukuran Kadar MDA

1. Darah disentrifuge, kemudian pisahkan serumnya.
2. Siapkan tabung sesuai kelompok dengan 200 μ serum didalamnya.
3. Tambahkan masing-masing 1000 μ TCA 5%.
4. Campur dengan menggunakan alat *vortex mixer*.
5. Sentrifuge selama 25 menit dengan kecepatan 2000 rpm.
6. Pipet masing-masing 800 μ filtrat jernih, masukan ke dalam tabung sesuai dengan labelnya.
7. Tambahkan masing-masing 200 μ MDA standar 36,5 nmol/ml.
8. Kemudian di tambahkan pewarna MDA sebanyak 1000 μ .
9. Campur dengan menggunakan *vortex mixer*.
10. Inkubasi dalam water bath selama 30 menit pada suhu 100 °C lalu dinginkan.

Pemeriksaan Gambaran Histopatologi

1. Pemotongan jaringan basah, jaringan dipotong dan dimasukkan kedalam pot plastik.
2. Fiksasi dengan menggunakan NBF 10% dengan pH normal (7) agar preparat tidak cepat rusak.
3. Pemotongan organ hati yang telah difiksasi dan dimasukkan ke dalam *tissue cassette* lalu dicuci dibawah air mengalir selama 30 menit.
4. Dehidrasi atau proses penarikan cairan jaringan bertingkat dengan masing-masing selama 60 menit dalam larutan etanol 70%, 80%, 90%, kemudian etanol absolut I, absolut II, dan absolut III masing-masing selama 60 menit.
5. *Clearing* atau penjernihan dalam larutan xylol, untuk menghilangkan alkohol dan untuk mentransparankan jaringan dengan memasukan jaringan hati ke dalam xylen I selama 20 menit, begitu juga dengan xylen II dan xylen III.
6. Proses infiltrasi parafin, hati dimasukkan ke dalam parafin panas, untuk membuat jaringan menjadi lebih keras dan lebih mudah dipotong dengan mikrotom. Proses pertama yang dilakukan adalah dengan memasukan jaringan ke dalam parafin I, II, dan III masing-masing selama 1 jam pada suhu 60°C.
7. Tahap *embedding* atau penanaman jaringan dalam parafin yaitu dengan memasukan jaringan ke dalam blok parafin. Pemotongan dengan mikrotom menghasilkan lapisan dengan ketebalan 5 µm, lapisan jaringan diletakan di atas kaca objek untuk siap diwarnai.
8. Tahap pewarnaan *Hematoxylin Eosin*. Pertama dengan deparafinisasi dengan xylol yang bertujuan untuk menghilangkan parafin pada jaringan. Dimulai dengan jaringan ke xylol I selama 3 menit dan xylol II selama 3 menit.
9. Proses rehidrasi yang bertujuan mengembalikan cairan ke dalam jaringan dengan menggunakan larutan etanol. Tahap pertama yaitu dengan memasukan jaringan ke dalam etanol absolut I dan II masing-masing selama 3 menit, selanjutnya jaringan dimasukkan ke dalam etanol 80% dan 70% secara bergantian masing-masing selama 3 menit.
10. Tahap staining dimana jaringan dimasukkan ke dalam larutan pewarna. Jaringan dimasukkan ke dalam pewarna hematoxylin selama 10 menit sampai 20 menit, kemudian diamati jaringannya sudah berwarna ungu. Selanjutnya, jaringan yang telah diwarnai kemudian dicuci dibawah air mengalir selama 10 menit. Setelah

itu, pewarnaan dilanjutkan dengan memasukan sediaan ke dalam pewarna eosin selama 10 menit.

11. Tahap rehidrasi bertujuan untuk menarik air dan jaringan agar awet dan tidak cepat rusak. Jaringan dicelupkan 4 kali secara berurutan ke dalam larutan etanol 70%, 80% dan 90% masing-masing selama 30 detik. Selanjutnya direndam dengan etanol absolut dicelupkan sebanyak 4 kali masing-masing selama 1 menit.
12. Proses *clearing* atau penjernihan dengan memasukan jaringan ke dalam larutan xylol.
13. *Mounting* yaitu penutupan sediaan dengan menggunakan gelatin sebagai perekat dan ditutup dengan *cover glass*.
14. Melakukan pengamatan menggunakan mikroskop perbesaran 40-1000x.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sampel yang digunakan yaitu ekstrak daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.). Sampel ini digunakan untuk melihat pengaruh dari ekstrak daun kitolod terhadap kadar malondialdehid tikus putih jantan yang hiperglikemia. Daun kitolod yang digunakan diambil di Padang Datar, Kec. Payakumbuh Barat, Kota Payakumbuh, Sumatera Barat.

Hasil identifikasi tanaman yang telah dilakukan pada herbarium Universitas Andalas, diperoleh hasil identifikasi sampel yang digunakan adalah daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.) dengan famili Campanulaceae. Hasil identifikasi tanaman ini bertujuan untuk mengetahui identitas sampel dari tanaman yang akan digunakan dalam penelitian.

Dari 500 g daun kitolod diperoleh ekstrak kental daun kitolod sebanyak 100,9343 g. Ekstrak kental daun kitolod yang telah diperoleh, selanjutnya dilakukan karakterisasi antara lain yaitu pemeriksaan organoleptis. Selain itu, standarisasi parameter yang tidak spesifik dilakukan pada penelitian ini yaitu penentuan rendemen, pemeriksaan susut pengeringan, pemeriksaan kadar abu serta pemeriksaan kandungan metabolit sekunder (Skrining fitokimia).

Pada pemeriksaan organoleptis dilakukan dengan menggunakan panca indra. Sehingga diperoleh hasil yaitu ekstrak daun kitolod berupa cairan kental yang berwarna coklat kehijauan, berbau khas dan memiliki rasa pahit. Selanjutnya, dilakukan evaluasi terhadap perhitungan nilai rendemen daun kitolod yang diperoleh

yaitu sebesar 20,18%. Tujuan penentuan rendemen adalah untuk menentukan berat sampel yang telah diekstraksi dari berat sampel segar. Selanjutnya dilakukan pemeriksaan susut pengeringan yang bertujuan untuk mengetahui berapa banyak senyawa yang hilang selama proses pemanasan, termasuk air dan senyawa lain yang menguap. Berat susut pengeringan ekstrak etanol daun kitolod yang diperoleh adalah 5,1%. Dari hasil Persentase susut pengeringan dinyatakan bahwa daun kitolod memenuhi persyaratan yang dimana persentase susut pengeringan pada literatur tidak lebih dari 10% (Depkes, 2017). Hasil perhitungan kadar abu dari ekstrak etanol daun kitolod diperoleh dengan nilai 3,48%, dimana nilai standar dari kadar abu menurut Farmakope Herbal Indonesia Edisi 2 adalah tidak lebih dari 10,6% (Depkes, 2017). Dari hasil persentase kadar abu yang telah diperoleh dari ekstrak etanol daun kitolod dinyatakan telah memenuhi persyaratan. Tujuan pemeriksaan kadar abu adalah untuk mengetahui dan menunjukkan kandungan mineral dari awal hingga akhir pembuatan ekstrak, saat senyawa organik dan turunannya rusak dan menguap, sehingga hanya unsur mineral dan senyawa anorganik yang tersisa (Depkes, 2017).

Pada uji skrining fitokimia, dinyatakan bahwa ekstrak etanol daun kitolod mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, dan fenolik. Senyawa kimia dari daun kitolod flavonoid dan fenolik yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid dan fenolik bergantung pada jumlah dan letak gugus -OH. Semakin tinggi kandungan flavonoid dan fenolik, maka semakin tinggi pula kemampuan mendonorkan elektronnya, sehingga antioksidan yang didapat semakin tinggi (Tungmunnithum *et al.*, 2018).

Hewan percobaan diaklimatisasi selama 7 hari, selanjutnya dilakukan pengukuran kadar glukosa darah awal, hewan percobaan terlebih dahulu dipuasakan selama 10 jam dengan tujuan untuk menghindari peningkatan kadar glukosa darah akibat makanan yang masuk. Pengukuran kadar glukosa darah awal tikus dilakukan agar mengetahui kadar glukosa darah sebelum perlakuan sehingga dapat dibandingkan dengan kadar glukosa setelah diberi perlakuan. Rata-rata kadar glukosa darah awal sebelum dilakukan perlakuan pada kelompok I, II, III, IV, V dan VI adalah; 84,67 mg/dL; 95 mg/dL; 94,34 mg/dL; 93,67 mg/dL; 107,34 mg/dL dan 99,34 mg/dL.

Setelah didapatkan kadar glukosa darah awal tikus yang bernilai normal, maka dilanjutkan dengan penginduksian pada kelompok II, III, IV, V dan VI yang

diinduksi menggunakan deksametason injeksi dengan dosis 10 mg/kgBB secara subkutan dan diberi minum larutan fruktosa 10% untuk mempertahankan kadar gula dalam darah pada hewan percobaan selama 7 hari penginduksian. Setelah 7 hari penginduksian hewan percobaan kembali dipuaskan selama 10 jam untuk pemeriksaan kadar glukosa darah setelah dilakukan penginduksian deksametason. Rata-rata kadar glukosa darah setelah penginduksian pada kelompok II, III, IV, V dan VI adalah; 366 mg/dL; 250,67 mg/dL; 259 mg/dL; 248,67 mg/dL dan 285 mg/dL. Dapat dilihat dari rata-rata kadar glukosa darah sebelum dan setelah penginduksian terdapat perbedaan kadar glukosa darah yang dimana setelah penginduksian dengan deksametason mengalami peningkatan kadar glukosa darah.

Hal ini membuktikan bahwa deksametason dapat meningkatkan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan atau menyebabkan terjadinya kondisi gangguan toleransi glukosa pada tikus putih jantan. Deksametason merupakan obat golongan glukokortikoid yang dimana obat golongan tersebut dapat meningkatkan kadar glukosa dalam darah. Glukokortikoid merangsang pembentukan glukosa melalui peningkatan sekresi hormon glukagon, karena hormon glukagon tersebut merangsang pembentukan glukosa dari simpanannya berupa glikogen dari otot dan hati, selain itu hormon glukagon ini menurunkan pengambilan dan penggunaan glukosa sehingga mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) (Nugroho, 2012).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Maharani (2018) menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak etanol herbal kitolod yang diberikan maka semakin tinggi pula efek penurunan kadar gula darah yang dihasilkan. Dari dosis yang diberikan yaitu dosis herba kitolod 50 mg/kgBB, 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB didapatkan hasil dosis 200 mg/kgBB lah yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi dengan aloksan.

Pada penelitian ini, rata-rata kadar malondialdehid (MDA) pada kelompok I, II, III, IV, V dan VI adalah 2,04 nmol/ml; 3,51 nmol/ml; 2,71 nmol/ml; 2,81 nmol/ml; 2,37 nmol/ml dan 2,16 nmol/ml. Pada kelompok kontrol positif terjadi peningkatan kadar MDA dibandingkan kelompok lain. Peningkatan kadar MDA serum pada kelompok kontrol positif disebabkan oleh keadaan hiperglikemia sehingga terjadinya peningkatan radikal bebas memicu peroksidasi lipid darah dan penurunan antioksidan dalam darah. Sehingga bila terjadi peningkatan kadar gula dalam darah maka akan terjadi peningkatan kadar malondialdehid (MDA) (Mahmud *et al.*, 2023).

Tabel 1. Hasil Pengukuran kadar glukosa darah dan MDA

Rata-rata Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Tikus dan Pengukuran Kadar MDA				
Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah				Kadar MDA
Kelompok	No. Tikus	Sebelum Induksi (mg/dL)	Setelah Induksi (mg/dL)	Hari ke-15 (nmol/ml)
Kelompok 1 (Kontrol Negatif)	1	92	74	2,45
	2	80	80	1,63
	3	82	88	1,51
Rata-rata ± SD		84,66 ± 6,42	80,66 ± 7,02	2,04 ± 0,51
Kelompok 2 (Kontrol Positif)	1	91	360	4,01
	2	107	369	2,85
	3	87	369	3,67
Rata-rata ± SD		95 ± 10,58	366 ± 5,19	3,51 ± 0,59
Kelompok 3 (Pembanding)	1	82	253	3,33
	2	113	247	2,35
	3	88	252	2,47
Rata-rata ± SD		94,33 ± 16,44	250,66 ± 3,21	2,71 ± 0,53
Kelompok 4 (Dosis 100 mg/kgBB)	1	90	262	2,41
	2	99	238	3,1
	3	92	277	2,92
Rata-rata ± SD		93,66 ± 4,72	259 ± 19,67	2,81 ± 0,35
Kelompok 5 (Dosis 200 mg/kgBB)	1	118	270	2,64
	2	109	240	2,06
	3	95	236	2,41
Rata-rata ± SD		107,33 ± 11,59	248,66 ± 18,58	2,37 ± 0,29
Kelompok 6 (Dosis 400 mg/kgBB)	1	93	279	2,01
	2	112	286	2,52
	3	93	290	1,95
Rata-rata ± SD		99,33 ± 10,96	285 ± 5,56	2,16 ± 0,31

Hasil perhitungan statistik analisa varian ANOVA satu arah terhadap kadar malondialdehid serum tikus terlihat signifikan yang dinyatakan dengan ($P < 0,05$) antara kelompok yang diberikan sediaan uji terhadap kelompok kontrol positif dan kontrol negatif.

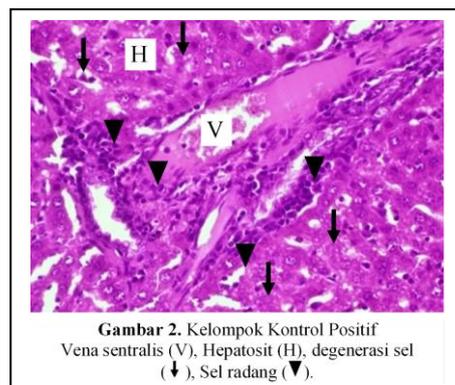
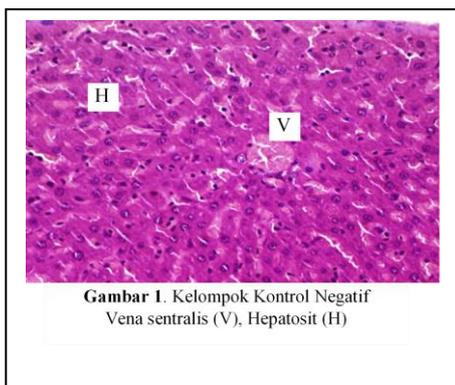
Dari data kadar malondialdehid (MDA) hasil analisa statistik dapat dilihat bahwa pada dosis 200 mg/kgBB dan dosis 400 mg/kgBB telah memberi efek terhadap penurunan kadar malondialdehid yang hampir mendekati kelompok pembanding dan kontrol negatif.

Berdasarkan uji duncan terlihat bahwa rata-rata kadar MDA pada seluruh kelompok dengan adanya variasi dosis ekstrak etanol daun kitolod, kelompok kontrol negatif, dosis 400 mg/kgBB, dosis 200 mg/kgBB dan kelompok pembanding tidak berbeda nyata tetapi berbeda nyata dengan kelompok dosis 100 mg/kgBB dan kelompok kontrol positif. Kelompok dosis 100 mg/kgBB berbeda nyata dengan kelompok negatif, dosis 400 mg/kgBB, dosis 200 mg/kgBB, kelompok pembanding dan kelompok kontrol positif. Kelompok kontrol positif berbeda nyata dengan semua kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, dosis 400 mg/kgBB, dosis 200 mg/kgBB, kelompok pembanding dan dosis 100 mg/kgBB.

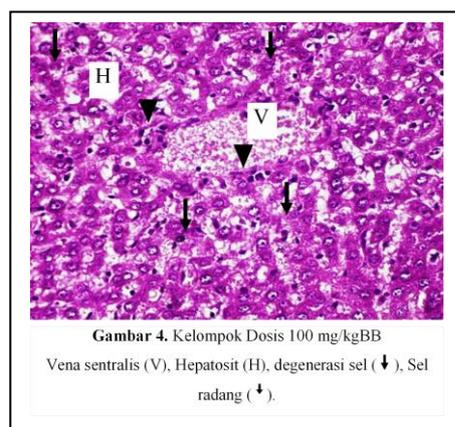
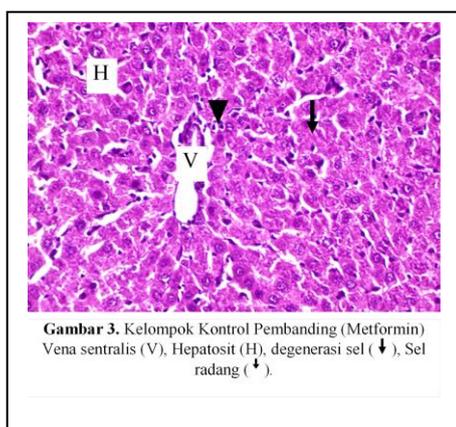
Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat terlihat bahwa ekstrak etanol daun kitolod dapat menurunkan kadar MDA tikus pada dosis 200 mg/kgBB dan dosis 400 mg/kgBB dapat digunakan sebagai antioksidan.

Parameter selanjutnya yaitu dengan dilakukannya pemeriksaan histopatologi terhadap jaringan organ hati tikus yang dilakukan pada hari ke-15 yakni dengan dilakukannya pembedahan terhadap hewan coba untuk mengamati organ pada hewan. Histopatologi merupakan pemeriksaan mikroskopik yang mempelajari keadaan organ sebagai tanda terdapatnya penyakit. Organ dibuat dalam preparat di slide kaca dan telah dilakukan pewarnaan. Salah satu tujuan dari pewarnaan adalah agar memperjelas komponen sel maupun jaringan guna pemeriksaan keadaan organ (Gupta, 2016). Yang bertujuan untuk mengamati perubahan serta kerusakan yang timbul pada organ hati. Uji histopatologi yang dilakukan adalah pengamatan terhadap degenerasi dan nekrosis sel dari jaringan hati tikus putih jantan (Muhammad-Azam *et al.*, 2019).

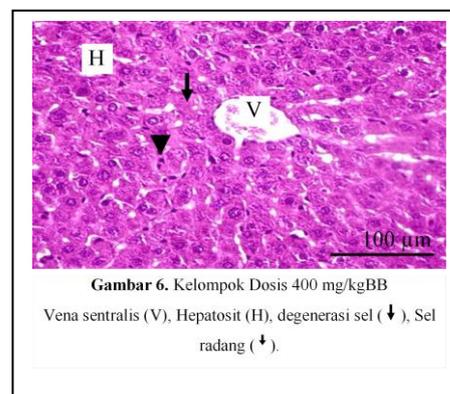
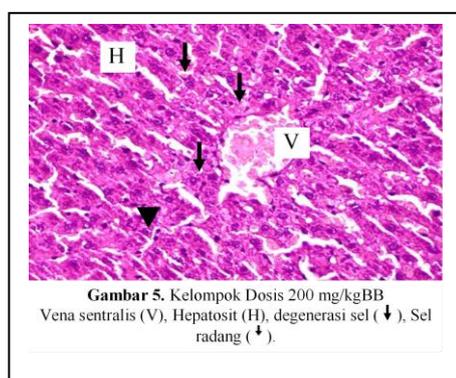
Hasil yang didapatkan dari pemeriksaan histopatologi terhadap jaringan organ hati.



Pada kelompok kontrol negatif pada gambar 1 tampak jaringan hati dengan degenerasi sel hepatosit (H) yang tersusun teratur, dalam lobulus dengan sentral terdapat vena sentralis (V). Kelompok kontrol negatif tampak tersusun teratur tanpa degenerasi, nekrosis maupun tanda radang. Pada kelompok kontrol positif (Gambar 2) tampak jaringan hati dengan berupa degenerasi (↓) sel hepatosit, ditandai oleh sitoplasma bervakuol jernih dan inti lisis, dan pelebaran pembuluh darah vena sentralis, serta sebaran sel radang (▼). Hal ini terjadi karena induksi deksametason yang menyebabkan rangsangan eksternal melebihi kapasitas sel beradaptasi sehingga terjadi cedera sel dan akhirnya sel mati. Kematian sel patologik ini disebut nekrosis (O'Neil & Damjanov, 2009).



Pada kelompok kontrol pembandingan di gambar 3 yang menggunakan metformin didapatkan hasil berupa perubahan yang baik histologi hati dengan jumlah sel berdegenerasi atau nekrosis lebih rendah, pelebaran pembuluh dan sebaran sel leukosit lebih rendah, mendekati gambaran hati hewan normal namun masih ditemukan kerusakan minimal. Pada kelompok dosis 100 mg/kgBB di gambar 4 didapatkan hasil kerusakan berupa degenerasi (↓) sel hepatosit, ditandai oleh sitoplasma bervakuol jernih dan inti lisis, dan pelebaran pembuluh darah vena sentralis, serta sebaran sel radang (▼), yang masih banyak tetapi tidak sebanyak dengan kontrol positif. Kelompok dosis 100 mg/kgBB ini tidak terlalu mempengaruhi perbaikan sel.



Pada kelompok dosis 200 mg/kgBB di gambar 5 didapatkan terjadinya perbaikan sel, gambaran histologis hati dengan jumlah sel berdegenerasi lebih rendah, pelebaran pembuluh dan sebaran sel leukosit yang lebih rendah dibandingkan dengan kelompok dosis 100 mg/kgBB. Pada kelompok dosis 400 mg/kgBB di gambar 6 didapatkan hasil berupa perbaikan histologi hati dengan jumlah sel berdegenerasi/nekrosis lebih rendah, pelebaran pembuluh dan sebaran sel leukosit lebih rendah. Perlakuan dengan dosis 400mg/kgBB memperlihatkan perbaikan gambaran histologis yang paling baik mendekati setara kontrol pembandingan, namun masih sedikit dibawah gambaran histologis hewan normal.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Maharani (2018) pada pengujian histopatologi pankreas menggunakan ekstrak etanol daun kitolod menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kitolod dapat meningkatkan jumlah pulau serta menurunkan persentase nekrosis sel endokrin pulau Langerhans pada organ pankreas dan semakin berkurangnya jumlah kerusakan yang timbul akibat pemberian

glibenklamid. Sementara dari hasil pengamatan histopatologi hati yang dapat dinyatakan bahwa sediaan ekstrak etanol daun kitolod dengan dosis 400 mg/kgBB didapatkan terjadinya perubahan yang baik pada organ hati tikus putih jantan yang mendekati setara dengan kontrol pembanding, namun masih dibawah gambaran histologi hewan kelompok normal.

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Pemberian ekstrak etanol daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.) dapat menurunkan kadar MDA pada tikus putih jantan hiperglikemia secara signifikan pada dosis 200 mg/kgBB dan dosis 400 mg/kgBB yang mendekati nilai MDA kelompok kontrol negatif dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.
2. Pemberian ekstrak etanol daun kitolod (*Isotoma longiflora* L.) memberikan perbaikan gambaran histologi organ hati dengan dosis 400 mg/kgBB yang paling baik mendekati kontrol pembanding namun masih dibawah kontrol negatif.

DAFTAR PUSTAKA

- Baynest, H. W. (2015). *Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus*. Journal of Diabetes & Metabolism, 06(05).
- Burhan, A., Ratnadewi, D., Setiyono, A., Astuti, R. I., & Umar, A. H. (2024). *Phytochemical Profiling of Hippobroma longiflora Leaf Extract Using LC-MS/MS Analysis and Pharmacological Potential*. Egyptian Journal of Chemistry, 67(7), 83–90.
- Decroli, E. (2019). *Diabetes Melitus Tipe 2*. Padang: Ilmu Penyakit Dalam.
- Depkes. (2017). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II*. Pills and the Public Purse, 97–103.
- Dewi, H. D. R. K. (2020). *Diabetes Mellitus*. Semarang: Semarang Health Polytechnic.
- Dinkes Kota Padang. (2022). *Profil Kesehatan Kota Padang*. Dinas Kesehatan Kota Padang (Vol. 01).
- Egarani, G. R., Kasmiyati, S., & Kristiani, E. B. E. (2020). *The Antioxidant Content and Activity of Various Plant Organs of Kitolod (Isotoma longiflora)*. Biosaintifika, 12(3), 297–303.
- Gupta, A. (2016). *Immunopharmacological Activity of Saponin from Terminalia arjuna and Journal of Pharmacological Reports Immunopharmacological*

Activity of Saponin from Terminalia arjuna and Prosopis spicigera.
February.

- International Diabetes Federation (IDF). (2021). *IDF Atlas Eight Edition 2021*.
- Kadri, H., Muhammad, A., & Julizar. (2019). *The Effect of Kawa Daun Gambir (Uncaria gambir Roxb.) on the Malondialdehyde (MDA) Level of Heart Alloxan Induced Hyperglycemic*. 3rd International Conference on Security in Food, Renewable Resources, and Natural Medicine, 9–14.
- Lestari, Zulkarnain, & Sijid, S. A. (2021). *Diabetes Melitus: Review Etiologi, Patofisiologi, Gejala, Penyebab, Cara Pemeriksaan, Cara Pengobatan dan Cara Pencegahan*. UIN Alauddin Makassar, November, 237–241.
- Maharani, R. (2018). *Aktivitas Antihiperlikemia Ekstrak Etanol Herba Kitolof (Isotoma longiflora (L.) Terhadap Kadar Gula Darah dan Hitopatologi Pankreas Tikus Wistar Yang Diinduksi Aloksan*. Universitas Setia Budi.
- Mahmud, A. R., Ema, T. I., Siddiquee, M. F. R., Shahriar, A., Ahmed, H., Mosfeq-Ul-Hasan, M., Rahman, N., Islam, R., Uddin, M. R., & Mizan, M. F. R. (2023). *Natural flavonols: actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for various diseases*. Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences, 12(1).
- Muhammad-Azam, F., Nur-Fazila, S. H., Ain-Fatin, R., Noordin, M. M., & Yimer, N. (2019). *Histopathological changes of acetaminophen-induced liver injury and subsequent liver regeneration in BALB/C and ICR mice*. Veterinary World, 12(11), 1682–1688.
- O’Neil, M., & Damjanov, I. (2009). *Histopathology of Colorectal Cancer after Neoadjuvant Chemoradiation Therapy*. The Open Pathology Journal, 3(2), 91–98.
- Pieme, C. A., Tatangmo, J. A., Simo, G., Biapa Nya, P. C., Ama Moor, V. J., Moukette Moukette, B., Tankeu Nzufu, F., Njinkio Nono, B. L., & Sobngwi, E. (2017). *Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and non-enzymatic antioxidants in African patients with type 2 diabetes*. BMC Research Notes, 10(1), 1–7.
- Rahayu, D. S. (2017). *Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (Terminalia catappa L) dengan Metode 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil (DPPH)*. Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical, 44(8), 51–66.
- Santi, D. A. (2013). *Efek Jus Buah Jambu Biji (Psidium guajava Linn) Terhadap Gangguan Toleransi Glukosa Pada Tikus Putih Jantan (Rattus norvegicus) Akibat Efek Samping Deksametason*. Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya, 2(1), 1.
- Satiavani, I. (2010). *Pengaruh Pemberian Deksametason Dosis Bertingkat Per Oral 30 Hari Terhadap Kerusakan Sel Hepar Tikus Wistar*. Ejournal UNDIP.
- Tungmunnithum, D., Thongboonyou, A., Pholboon, A., & Yangsabai, A. (2018).

Flavonoids and Other Phenolic Compounds from Medicinal Plants for Pharmaceutical and Medical Aspects: An Overview. Medicines, 5(3), 93.

Younus, H. (2018). Younus, H. (2018). *Therapeutic potentials of superoxide dismutase.* International Journal of Health Sciences, 12(3), 88–93.

Yustika, A. R., Aulannia'am, & Prasetyawan, S. (2013). *Kadar malondialdehid (mda) dan gambaran histologi pada ginjal tikus putih.* Student Journal, 1(2), 222–228.