

Ekstrak *Hibiscus rosa-sinensis* L. Memperbaiki Kadar Glukosa Darah Puasa dan Jumlah Sel Mast pada Model Tikus Diabetes Terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*

(*Hibiscus rosa-sinensis* L. Extract Repair the Fasting Blood Glucose Level and Mast Cells Amount on Diabetic Modelled Rat Infected by *Mycobacterium tuberculosis*)

David Pakaya¹, Marzela Dewi², Arlita Leniseptaria Antari³, Indah Saraswati⁴

¹Departemen Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Tadulako, Palu

²Program Studi Ilmu Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Pelita Mas, Palu

³Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

⁴Departemen Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, Semarang

Article Info:

Received: 12 September 2019

in revised form: 28 September 2019

Accepted: 7 October 2019

Available Online: 24 October 2019

Keywords:

Hibiscus rosa-sinensis L.

TB-DM

GDP

Sel mast

Corresponding Author:

David Pakaya

Departemen Histologi

Fakultas Kedokteran

Universitas Tadulako

Palu

Indonesia

email: davidpakaya@gmail.com

ABSTRACT

The condition of hyperglycemia in Diabetes mellitus (DM) causes a disruption of the function of phagocytes that can facilitate *M. tuberculosis* infection. Immunostimulant from natural ingredients can help improve the condition of hyperglycemia an immune function.

To analyze the effect of *Hibiscus rosa-sinensis* L. extract on fasting blood glucose level and the number of mast cell in TB-DM mouse model. This experimental study used 27 male Wistar rats, 8 weeks of age, 200-230 g weight, divided into 3 groups, K: Normal control group, P1: TB-positive mouse group P2: Group rat TB-DM + *Hibiscus rosa-sinensis* L extract dose 250 mg/kgBW and 3 time measurement of H + 7 DM, H + 14 DM and H + 21 DM. TB-DM model mice were prepared with the administration of nicotinamide (NA) 100 mg/kgBW and streptozotocin (STZ) 65 mg/Kg BW, TB agent 1.5 x 10⁵ CFU. Fasting blood glucose levels were measured by GOD-PAP method and Pulmonary tissue is excised, made in paraffin blocks and stained with blue Toluidine to count the mast cells. There was an improvement in the mean fasting blood glucose levels in the group treated with the *Hibiscus rosa-sinensis* L. extract of 250 mg/kgBW compared to the TB-DM group without extract therapy followed by decreased the number of mast cell. *Hibiscus rosa-sinensis* L. extract. improves fasting blood glucose levels and decreases the number of mast cell of TB-DM rat model.

Copyright © 2019 JFG-UNTAD

This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

How to cite (APA 6th Style):

Pakaya, D., Dewi, M., Antari, A. L., & Saraswati, I. (2019). Ekstrak *Hibiscus rosa-sinensis* L. Memperbaiki Kadar Glukosa Darah Puasa dan Jumlah Sel Mast pada Model Tikus Diabetes Terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*. *Jurnal Farmasi Galenika :Galenika Journal of Pharmacy*, x(x), xxx-xxx. doi:10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13930

ABSTRAK

Kondisi hiperglikemia pada Diabetes mellitus (DM) menyebabkan terjadi gangguan fungsi fagosit yang dapat memfasilitasi infeksi *M. Tuberculosis*. Imunostimulan dari bahan alam dapat membantu memperbaiki kondisi hiperglikemia dan fungsi imunitas tersebut. Menganalisis efek ekstrak bunga sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) terhadap kadar glukosa darah puasa (GDP) dan jumlah sel mast pada model tikus TB-DM. Penelitian eksperimental ini menggunakan tikus Wistar jantan berjumlah 27 ekor, usia 8 minggu, berat badan 200-230 gr, yang dibagi menjadi 3 kelompok perlakuan, K: Kelompok tikus kontrol normal, P1: Kelompok tikus positif TB-DM, P2: Kelompok tikus TB-DM + ekstrak bunga sepatu dosis 250 mg/kg BB dan 3 waktu pengukuran H+7 DM, H+14 DM dan H+21 DM. Tikus model TB-DM dibuat dengan pemberian *nicotinamide* (NA) 100 mg/Kg BB dan *streptozotocin* (STZ) 65 mg/Kg BB, agen TB $1,5 \times 10^5$ CFU. Kadar GDP diukur dengan metode GOD-PAP dan jaringan paru dinekropsi, dibuat dalam blok paraffin dan diwarnai dengan Toluidin biru untuk dihitung sel mast. Terdapat perbaikan rerata kadar GDP pada kelompok yang diterapi dengan ekstrak bunga sepatu dosis 250 mg/kg BB dibandingkan kelompok TB-DM tanpa terapi ekstrak yang diikuti dengan penurunan jumlah sel mast. Ekstrak *Hibiscus rosa-sinensis L.* memperbaiki kadar GDP dan menurunkan jumlah sel mast Tikus model TB-DM.

Kata kunci: *Hibiscus rosa-sinensis L.*, TB-DM, GDP, sel mast.

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan kelainan metabolik akibat defek sekresi maupun kerja insulin, merupakan salah satu faktor risiko terjadinya perburukan tuberkulosis (TB). Tuberkulosis disebabkan oleh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* (M. Tb), sebagai penyebab kematian utama di antara penyakit infeksi bakterial di dunia. Penderita DM mengalami gangguan respon imun, sehingga dapat memfasilitasi infeksi M. Tb. Penderita DM berisiko 2-3 kali lebih tinggi untuk mengidap TB (IDF, 2013; WHO, 2010). Kondisi DM dapat meningkatkan frekuensi maupun tingkat keparahan infeksi, karena adanya abnormalitas sistem imun yang diperantarai oleh sel dan fungsi fagosit berkaitan dengan hiperglikemia, termasuk rusaknya vaskularisasi (Jeon & Murray, 2008).

Bakteri M. Tb merupakan basil intraseluler yang memiliki mekanisme berbeda untuk menghindari respon imun untuk bertahan hidup dalam inang. Saat masuk ke tubuh inang melalui saluran udara dan mencapai alveoli paru-paru, bakteri ini berinteraksi dengan sel-sel berbeda dari respon imun bawaan (Campillo-Navarro *et al.*, 2015). Sel-sel ini mengenali M. Tb melalui berbagai reseptor pengenalan pola yang mengarah pada aktivasi

mekanisme antimikroba yang berbeda (Mishra *et al.*, 2017). Fagositosis adalah cara yang paling sering digunakan inang. Salah satu mekanisme fagosit yang digunakan adalah melalui produksi *ekstraseluler traps* (ET), yang terdiri dari kromatin yang berasal dari kompartemen intraseluler (Stoiber *et al.*, 2015). Sel yang melepaskan ET setelah infeksi meliputi neutrofil, makrofag, eosinofil, basofil, dan sel mast (Mollerherm *et al.*, 2016). Sel mast ditemukan sangat banyak di paru-paru, dan mampu merespons berbagai patogen dengan cepat (Andersson *et al.*, 2009; Campillo-Navarro *et al.*, 2014). Interaksi antara bakteri dengan sel mast menyebabkan pelepasan berbagai mediator inflamasi yang merekrut sel efektor untuk mengendalikan agen infeksi termasuk M. Tb (St John & Abraham, 2013). Bakteri M. Tb mampu mengaktifkan sel mast in vitro mengaktifkan degranulasi, menginduksi produksi sitokin inflamasi, dan menginternalisasi bakteri melalui *lipid rafts* (Munoz *et al.*, 2003; Munoz *et al.*, 2009).

Pengobatan kasus TB-DM salah satunya menekankan pada pengembalian fungsi abnormalitas sistem imun, yang dapat dilakukan dengan imunostimulan, yaitu bahan yang dapat merangsang sistem imun. Imunostimulan bekerja dengan cara menstimulasi sistem imun, antara lain melalui fagositosis termasuk memperbaiki kemampuan sel mast (Orsi, 2000; Price

et al., 2005; Petrunov et al., 2007). Indonesia mempunyai keanekaragaman hayati yang sebagian diantaranya telah dibuktikan mempunyai khasiat obat dan berpotensi sebagai imunostimulan. Salah satunya adalah bunga sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*). Tanaman ini merupakan semak suku *Malvaceae* yang berasal dari Asia Timur dan banyak ditanam sebagai tanaman hias di daerah tropis dan subtropis. Tujuan penelitian ini untuk menganalisis efek ekstrak bunga sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) terhadap kadar glukosa darah dan aktivitas fagositosis yang diperankan oleh sel mast pada model tikus TB-DM.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimen laboratorik dengan rancangan acak lengkap sederhana. Hewan coba yang digunakan yaitu tikus Wistar jantan berjumlah 27 ekor, berusia 8 minggu, berat 200-230 gram, dalam keadaan sehat, aktivitas, dan tingkah laku normal. Hewan coba dikelompokkan menjadi 3 kelompok perlakuan, K: Kelompok tikus kontrol normal, P1: Kelompok tikus positif TB-DM, P2: Kelompok tikus TB-DM + ekstrak bunga sepatu dosis 250 mg/kg BB, dan 3 waktu terminasi pada hari ke-7, 14 dan 21. Hewan coba dibuat model DM dengan pemberian *nicotinamide* (NA) dengan dosis 100mg/Kg BB dan *streptozotocin* (STZ) 65 mg/Kg BB, dan diinjeksikan agen TB sebanyak $1,5 \times 10^5$ CFU. Pemeriksaan kadar glukosa darah puasa (GDP) dilakukan dengan metode GOD-PAP sebelum diterminasi. Pada hari terminasi, tikus dinekropsi jaringan paru, dibuat blok paraffin, diiris menggunakan mikrotom dengan ketebalan 5 μ m. Jaringan diwarnai dengan Toluidin biru. Sampel diamati menggunakan mikroskop *Olympus CX-23* dengan perbesaran 400x dengan *Numerical Aperture* 1,25. Dilakukan pengamatan dan penghitungan sel mast pada 3 lapangan pandang dan direratakan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

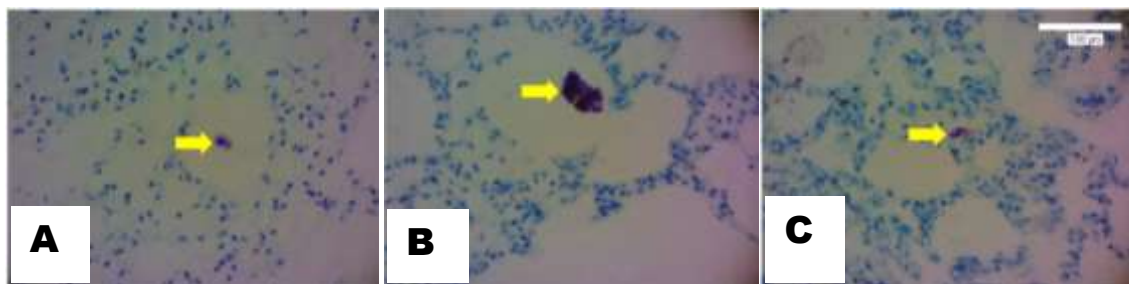
Hasil pemeriksaan kadar GDP kelompok K menunjukkan nilai yang normal dan stabil hingga hari ke-21. Pada kelompok P1 dan P2 pasca induksi STZ dan NA, terjadi peningkatan kadar GDP pada hari ke-7 dan didiagnosis sebagai diabetes. Kadar GDP kelompok P1 terus berada pada nilai di atas 200mg/dL. Pada kelompok P2 menunjukkan penurunan kadar GDP di bawah 200mg/dL pada hari ke-21, seperti tampak pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata kadar glukosa darah puasa

Kelompok	Rerata Kadar Glukosa darah puasa (GDP) (mg/dL)		
	H+7	H+14	H+21
K	72.2 \pm 2.6	71.25 \pm 1.46	78.27 \pm 1.24
P1	262.21 \pm 3.89	261.4 \pm 2.34	264.1 \pm 6.92
P2	244.27 \pm 1.82	205.33 \pm 6.44	181.51 \pm 5.47

Bunga sedap malam memiliki banyak khasiat sebagai herbal alternatif penyakit, salah satunya memiliki efek antidiabetik (Mozaffari et al., 2009). Penurunan kadar GDP yang signifikan diamati pada subyek diabetes, setelah pemberian ekstrak bunga sepatu (Sachdewa et al., 2003; Venkatesh et al., 2008). Ekstrak ini berefek pada penurunan glukosa darah dan profil lipid pada diabetes yang diinduksi streptozotocin pada tikus (Subbarao & Basha, 2015; Sharma et al., 2016). Ekstrak etanol bunga sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) mengandung zat antioksidan seperti steroid, alkaloid, fenolik, saponin dan tannin. Komponen tersebut bekerja menyerupai mekanisme aksi sulfonil urea yang mampu mengendalikan kondisi hiperglikemia sehingga memperbaiki abnormalitas sistem imun yang terjadi (Al-Snafi, 2013). Ekstrak etanolik bunga sepatu juga dapat menurunkan kadar glukosa darah sehingga kondisi hiperglikemia yang menimbulkan keadaan inflamasi dapat ditekan (Mamun et al., 2013; Sachdewa et al., 2001).

Sel mast pada alveoli paru-paru memperlihatkan sel berwarna ungu dan bergranula diantara alveolus yang terpulas biru. Pada kelompok P2 menunjukkan sel mast yang berukuran besar dibandingkan dengan kelompok lain seperti yang tampak pada gambar 1.



Gambar 1. Sel mast pada jaringan paru-paru tikus dengan pewarnaan toluidine biru 400x. (A) Sel mast tikus kelompok K, (B) Sel mast tikus kelompok P1, (C) Sel mast tikus kelompok P2. Panah kuning menunjukkan adanya bakteri.

K: Kelompok tikus kontrol normal, P1: Kelompok tikus positif TB-DM, P2: Kelompok tikus TB-DM + ekstrak bunga sepatu dosis 250 mg/kg BB.

Hasil pengamatan dan penghitungan sel mast pada jaringan paru menunjukkan nilai rerata jumlah kelompok P1 (TB-DM tanpa terapi) menjadi yang paling tinggi dan kelompok K menjadi yang paling rendah pada setiap waktu pengukuran. Jumlah sel mast pada kelompok P2 tampak lebih rendah dengan P1, yang mengisyaratkan adanya perbaikan seperti tampak pada tabel 2.

Tabel 2. Rerata jumlah sel Mast jaringan paru

Kelompok	Rerata jumlah sel mast jaringan paru		
	H+7	H+14	H+21
K	0.7 ± 0.38	1 ± 0.33	1.4 ± 1.26
P1	3.67 ± 2.67	6.56 ± 1.02	6.33 ± 5.13
P2	2.67.27 ± 1.52	3.1 ± 0.38	1.78 ± 1.07

Peningkatan jumlah rerata sel mast P1 dibandingkan kelompok K dan P2 menandakan bahwa terjadi aktivasi sel-sel mast akibat adanya patogen M. Tb. Pada kondisi hiperglikemia akan mempermudah M. Tb menginvasi, sehingga sel mast akan secara cepat membantu proses perlawanan terhadap M. Tb. Pada hari ke-21 menunjukkan nilai rerata sel mast pada P1 lebih rendah dari 2 waktu pengukuran lain yang

mengindikasikan sel mast yang teraktivasi di fase kronis semakin berkurang (Petrunov *et al.*, 2007). Sel mast mengenali Mtb melalui reseptor TLR2 dan CD48. Proses *uptake* ini ditunjukkan dengan adanya internalisasi melalui lipid rafts. Bakteri M. Tb dan antigen *mycobacterial antigenic early secretory 6* (ESAT-6) dan MPT-63 menginduksi degranulasi sel mast dan pelepasan sitokin, yang kemudian menginduksi sekresi peptida antimikroba dan pembentukan *ekstraseluler trap* oleh sel mast sel. Selain itu adanya interaksi sel-sel imun lain seperti neutrofil, sel dendritik dan makrofag berkontribusi terhadap penghancuran Mtb. Interaksi ini selanjutnya menjadi pemicu terbentuknya granuloma Campillo-Navarro *et al.*, 2018; Caramori *et al.*, 2011).

Perbaikan jumlah rerata sel mast setelah pemberian ekstrak bunga sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis L.*) dipengaruhi oleh kemampuan berbagai zat aktif yang terkandung di dalamnya. Ekstrak ini mengandung steroid, alkaloid, fenolik, saponin dan tannin (Tukiran *et al.*, 2014). Dengan pemberian ekstrak ini tampak adanya penurunan jumlah rerata sel mast pada kasus TB-DM. Ekstrak bunga sepatu terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri dengan konsentrasi 1000µg/mL, dan mampu menunjukkan eradikasi M. Tb dan *E. coli* (Kairupan *et al.*, 2014). Fungsi ini bisa didapatkan karena ekstrak ini mengandung saponin, tanin dan fenol yang bekerja sebagai antimikroba (Al-Snafi, 2013). Adanya

eradikasi M. Tb pasca pemberian ekstrak bunga sepatu ini kemudian akan menurunkan rerata jumlah sel mast.

KESIMPULAN

Ekstrak bunga sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) memperbaiki kadar GDP dan menurunkan jumlah sel mast Tikus model TB-DM.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami sampaikan kepada RPP FK Undip 2017 yang telah membantu pendanaan untuk penelitian ini..

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Snafi, A. E. (2013). Chemical constituents, pharmacological effects and therapeutic importance of *Hibiscus rosa-sinensis* A review. *IOSR Journal of Pharmacy*, 8(7), 101-119.
- Andersson, C. K., Mori, M., Bjermer, L., Lofdahl, C. G., & Erjefalt, J. S. (2009). Novel site-specific mast cell subpopulations in the human lung. *Thorax*. 64(4), 297–305.
- Campillo-Navarro, M., Chavez-Blanco, AD., Wong-Baeza, I., Serafin-Lopez, J., Flores-Mejia, R., & Estrada-Parra, S. (2014). Mast cells in lung homeostasis: beyond type I hypersensitivity. *Curr Respir Med Rev*, 10(2), 115–23.
- Campillo-Navarro, M., Leyva-Paredes, K., Donis-Maturano, L., Rodriguez-Lpoez, G. M., Soria-Castro, R., & Garcia-Perez, B. E. (2018). *Mycobacterium tuberculosis* catalase inhibits the formation of mast cell extracellular traps. *Front Immunol*. 9:1161.
- Campillo-Navarro, M., Wong-Baeza, I., Serafín-López, J., Hernández-Pando, R., Estrada-Parra, S., & Estrada-García, I. (2015). Regulation of the immune response by *Mycobacterium tuberculosis* Beijing genotype. In: Ribón W, editor. *Tuberculosis – Expanding Knowledge*, 65–88.
- Caramori, G., Lasagna L., Casalini, A. G., Adcock, I. M., Casolari, P., & Contoli, M. (2011). Immune Response to *Mycobacterium tuberculosis* Infection in the Parietal Pleura of Patients with Tuberculous Pleurisy. *Plos One*, 6(7).
- International Diabetes Federation. Diabetes and tuberculosis. 2013. Diakses dari: <http://www.idf.org/diabetes/5e/diabetes-and-tuberculosis>
- Jeon, C. Y., Murray, M.B. (2018). Diabetes mellitus increases the risk of active tuberculosis: a systematic review of 13 observational studies. *PLoS Med*, 15(7), e152.
- Kairupan, C. P., Fatimawali, & Lolo, W. A. (2014). Uji Hambat Ekstrak Etanol Daun Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Pharmacon*, 3(2), 93-8.
- Mamun, A., Islam, S., Alam, A. H. M. K., Rahman, M. A. A., & Rashid, M. (2013). Effects of Ethanolic Extract of *Hibiscus rosa-sinensis* Leaves on Alloxan-Induced Diabetes with Dyslipidemia in Rats. *Bangladesh Pharm J*, 16(1), 27-31.
- Mishra, A., Akhtar, S., Jagannath, C., & Khan, A. (2017). Pattern recognition receptors and coordinated cellular pathways involved in tuberculosis immunopathogenesis: emerging concepts and perspectives. *Mol Immunol*. 87, 240–8.
- Mollerherm, H., von Kockritz-Blickwede, M., & Branitzki-Heinemann, K. (2016). Antimicrobial activity of mast cells: role and relevance of extracellular DNA traps. *Front Immunol*. 7,265.
- Mozaffari-Khosravi, H., Jalali-Khanabadi, B. A., Afkhami-Ardekani, M., & Fatehi, F. (2009). Effects of sour tea (*Hibiscus sabdariffa*) on lipid profile and lipoproteins in patients with type II diabetes. *Journal of Alternative Complementary Medicine*, 15(8), 899-903.
- Munoz, S., Hernandez-Pando, R., Abraham, S. N., Enciso, J. A. (2003). Mast cell activation by *Mycobacterium tuberculosis*: mediator release and role of CD48. *J Immunol*, 170(11), 5590–6.
- Munoz, S., Rivas-Santiago, B., Enciso, J. A. (2009). *Mycobacterium tuberculosis* entry into mast

- cells through cholesterol-rich membrane microdomains. *Scand J Immunol*, 70(3), 256–63.
- Orsi, R. O. (2000). Immunomodulatory action on macrophage activation. *J Venom Anim Toxin*, 6(2), 205-19.
- Petrunov, B., Nenkov, P., & Shekerdjisky, R. (2007). The role of immunostimulants in immunotherapy and immunoprophylaxis. Bulgaria: *BulBio-NCIPD Natsim Ltd*.
- Price, S. A., & Wilson, L. M. 2005. *Patofisiologi konsep klinis proses-proses penyakit. Edisi 6*. Jakarta: EGC.
- Sachdewa, A., Nigam, R., & Khemani, L. D. (2001). Hypoglycemic effect of *Hibiscus rosa-sinensis* L. leaf extract in glucose and streptozotocin induced hyperglycemic rats. *Indian J Expt Biol*, 39, 284-6.
- Sharma, K., Pareek, A., & Chaulan E. S. (2016). Evaluation of hyperglycemic and hyperlipidemic mitigating impact of *Hibiscus rosa-sinensis* (Gudhal) flower in type II diabetes mellitus subject. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 7(12), 223-228.
- St John, A. L., & Abraham, S. N. (2013). Innate immunity and its regulation by mast cells. *J Immunol*. 190(9), 4458–63.
- Stoiber, W., Obermayer, A., Steinbacher, P., Krautgartner, W. D. (2015). The role of reactive oxygen species (ROS) in the formation of extracellular traps (ETs) in humans. *Biomolecules*, 5(2), 702–23.
- Subbarao, M., & Basha, D. P. (2015). Antidiabetic, Hypolipidemic and Histopathological Studies of Ethanolic Leaves Extract of *Hibiscus rosa sinensis* in Alloxan Monohydrate Induced Diabetic Rats. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 43, 1064-74.
- Tukiran, Suyatno, & Hidayati, N. 2014. Skrining Fitokimia pada Beberapa Ekstrak Dari Tumbuhan Bugenvil (*Bougainvillea Glabra*), Bunga Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dan Daun Ungu (*Graptophyllum pictum* Griff.). Semarang: *Prosiding SemNas Kimia Unesa*.
- Venkatesha, S., Thilagavathib, J., & Shyam S. D. 2008. Anti-diabetic activity of flowers of *Hibiscus rosasinensis*. *Fitoterapia*, 79(2), 79–81.
- World Health Organization. (2010). Global tuberculosis control. Geneva: *World Health Organization*.