

PENGARUH EKSTRAK *Averrhoa Bilimbi* L. TERHADAP JUMLAH SEL BETA PANKREAS TIKUS HIPERGLIKEMIA

(The Effect of Averrhoa bilimbi L. Extract on The Amount of Pancreas Beta Cells of Hyperglycemia Rats)

Putu Indrayoni^{*}, Ida Ayu Manik Damayanti^{}**

^{*,**})Institut Teknologi dan Kesehatan Bali

Jalan Tukad Balian Nomor 180 Renon

E-mail : indrayoniputu.itekesbali@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang : Diabetes mellitus merupakan sejumlah gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia pada kondisi tanpa penanganan. Diabetes ditandai dengan tingginya kadar glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dL atau kadar gula darah 2 jam setelah makan ≥ 200 mg/dL selama OGTT (*oral glucose tolerance test*) atau kadar A1C $\geq 6,5\%$ atau adanya krisis hiperglikemia dengan glukosa plasma acak ≥ 200 mg/dL. Bahan makanan dan modifikasi gaya hidup yang berkaitan dengan suplai antioksidan mampu menjadi profilaksis yang efektif melawan stress oksidatif pada diabetes dan komplikasinya. *Averrhoa bilimbi* L. yang merupakan sumber antioksidan alami, telah digunakan secara tradisional sebagai antidiabetes. Daun *A. bilimbi* L. mengandung alkaloid, tannin, saponin, flavonoid, glikosida jantung, glikosida, triterpene, fenol dan karbohidrat. Efek hipoglikemia dari *A. bilimbi* L. diakibatkan oleh kandungan flavonoid dan saponin.

Metode : Penelitian ini menggunakan tikus hiperglikemia yang diinduksi aloksan. Perlakuan diberikan selama 21 hari dan menggunakan glibenclamid (0,66 mg/kg BB) sebagai control positif. Pewarnaan preparate sel beta menggunakan metode *Gomori Aldehyde Fuschine* dan *Nuclear Fast Red*. Pengamatan terhadap jumlah sel beta pancreas tikus dilakukan pada hari ke 7 dan ke 21 dengan menentukan jumlah rerata sel beta yang teramati pada 3 bidang pandang. Analisis statistic dilakukan menggunakan program *SPSS for windows 16,0 version*.

Hasil : Penurunan jumlah sel beta pancreas terjadi secara bermakna pada kelompok control dibandingkan dengan kelompok perlakuan ($p < 0,05$) yaitu sebesar 32,19%

Kesimpulan : Aktivitas antioksidan *A. bilimbi* L. mampu mencegah penurunan jumlah sel beta pada tikus hiperglikemia.

Kata Kunci : *A. bilimbi* L., aloksan, antioksidan, hiperglikemia, sel beta

ABSTRACT

Background : Diabetes mellitus is a number of metabolic disorders characterized by hyperglycemia in untreated conditions. Diabetes is characterized by a high fasting plasma glucose ≥ 126 mg/dL or post prandial plasma glucose ≥ 200 mg/dL during an oral glucose tolerance test (OGTT) or an A1C $\geq 6,5\%$ or a hyperglycemic crisis with randomized plasma glucose ≥ 200 mg/dL. Dietary and lifestyle modification related to the supply of antioxidants can be an effective prophylaxis against oxidative stress in diabetes and its complications. *Averrhoa bilimbi* L. which is a source of natural antioxidants, has been used traditionally as antidiabetic. *A. bilimbi* L. leaves contain alkaloids, tannins, saponins,

flavonoids, cardiac glycosides, glycosides triterpenes, phenols and carbohydrates. The hypoglycemic effect of *A. bilimbi* L. is caused by the content of flavonoids and saponins.

Methods : This study used alloxan-induced hyperglycemic rats. The treatment was given for 21 days and used Glibenclamide (0.66 mg/kg BW) as a positive control. Gomori Aldehyde Fuschine and Nuclear Fast Red is used as staining methods for the beta cell's preparations. Triplicate observations on the number of beta cells were carried out on days 7 and 21 by determining its average number. Statistical analysis was carried out using the SPSS for windows 16.0 version program.

Results : The decrease in the number of pancreatic beta cells occurred significantly in the control group compared to the treatment group ($p < 0.05$), which was 32.19%.

Conclusion : Antioxidant activity of *A. bilimbi* L. was able to prevent a decrease in the number of beta cells in hyperglycemic rats.

Keywords : *A. bilimbi* L., antioxidant, alloxan, beta cells, hyperglycemia,

LATAR BELAKANG

Diabetes mellitus merupakan sejumlah gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia pada kondisi tanpa penanganan. Aetiopatologi penyakit ini meliputi gangguan pada sekresi insulin, aksi insulin ataupun keduanya. Diabetes ditandai dengan tingginya kadar glukosa plasma puasa (*fasting plasma glucose* /FPG) ≥ 126 mg/dL (Fakhrudin dkk., 2017) atau kadar gula darah 2 jam setelah makan ≥ 200 mg/dL selama OGTT (*oral glucose tolerance test*) atau kadar A1C $\geq 6,5\%$ (48 mmol/mol) atau adanya krisis hiperglikemia dengan plasma glukosa acak ≥ 200 mg/dL (11,1 mmol/L) (American Diabetes Association, 2021). Defisiensi insulin memicu hiperglikemia kronis dengan gangguan pada metabolisme karbohidrat, lemak dan protein (Pizzino dkk., 2017). Hiperglikemia dapat meningkatkan pembentukan radikal bebas pada mitokondria (Robertson dkk., 2004). Seiring berjalannya waktu, keadaan ini akan memicu terjadinya kerusakan pada jantung, pembuluh darah, mata, ginjal dan saraf.

Bahan makanan dan modifikasi gaya hidup yang berkaitan dengan suplai antioksidan mampu menjadi profilaksis yang efektif melawan stress oksidatif pada diabetes dan komplikasinya. Antioksidan berperan menunda atau mencegah oksidasi biomolekul intraselular dan ekstraselular (Kawamura dan Muraoka, 2018). Konsumsi antioksidan eksogen dapat meningkatkan status antioksidan, dan memberikan efek secara langsung terhadap pembuluh darah dan endotel (Dal dan Sigrist, 2016). Antioksidan eksogen mampu mengkompensasi rendahnya kadar antioksidan plasma, dimana hal ini sering teramati pada individu prediabetic dan individu dengan diabetes mellitus tipe 2

(Bajaj dan Khan, 2012). Antioksidan mampu mempertahankan sekresi insulin yang distimulasi glukosa dan menurunkan glukosa darah secara moderat, menekan apoptosis sel beta tanpa merubah laju proliferasinya (Kajimoto dan Kaneto, 2004).

Salah satu sumber antioksidan alami adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Daun *A. bilimbi* L. telah digunakan sebagai antibakteri, antiscorbutic, astringent, pengobatan postpartum, penanganan demam, inflamasi pada rectum dan diabetes. Jus buah *A. bilimbi* L. juga digunakan pada pengobatan scurvy, colic, batuk, hipertensi, obesitas dan diabetes (Alhassan dan Ahmed, 2016). Daun *A. bilimbi* L. diketahui mengandung alkaloid, tannin, saponin, flavonoid, glikosida jantung, glikosida, triterpene, fenol dan karbohidrat (Alhassan dan Ahmed, 2016). Buah *A. bilimbi* L. yang termasuk famili Oxalidaceae diketahui memiliki aktivitas antioksidan dikarenakan kandungan senyawa fenolic (Asna dan Noriham, 2014). Efek hipoglikemia *A. bilimbi* L. diakibatkan oleh kandungan flavonoid dan saponin (Susanti dkk., 2017). Efek antioksidan terhadap sel beta telah dilaporkan sebelumnya. Penurunan produksi ROS secara in vivo diketahui menurunkan diferensiasi sel beta (Hoarau et al., 2014). Suplementasi antioksidan diketahui meningkatkan laju proliferasi dan regenerasi sel beta (Wang dan Wang, 2017). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek antioksidan dari *A. bilimbi* L. terhadap jumlah sel beta pancreas pada tikus hiperglikemia yang diinduksi aloksan.

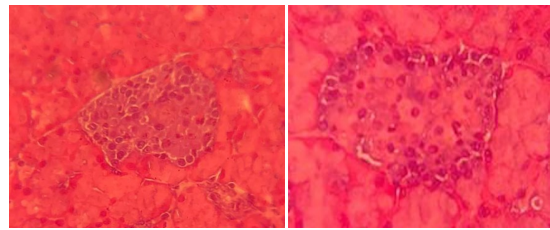
METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan tikus Wistar

albino jantan sebanyak 27 ekor yang terbagi menjadi 3 kelompok perlakuan dengan keterangan kelaikan etik No. 04.0503/KEPITEKES-BALI/IX/2021. Seluruh kelompok perlakuan diinduksi dengan aloksan (150 mg/kg BB) secara intraperitoneal untuk mendapatkan model tikus hiperglikemia. Tikus Wistar albino jantan dengan berat 150-200 gram, diaklimatisasi selama 7 hari sebelum diinduksi dengan aloksan. Kelompok control negative diberikan aquadest, kelompok control positif diberikan glibenclamide (0,66 mg/kg BB) dan kelompok perlakuan diberikan ekstrak *A. bilimbi* L. (270 mg/kg BB) masing-masing sebanyak 1,0 mL selama 21 hari. Ekstrak *A. bilimbi* L. diperoleh dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol selama 3 x 24 jam dengan pengadukan konstan. Hewan coba dipelihara pada kandang terpisah di ruangan dengan suhu terjaga 25°C. Hewan coba diberikan pakan dan air *ad libitum* dan dikorbankan dengan cara euthanasia secara fisik. Organ pancreas hewan coba yang telah dikorbankan digunakan untuk memperoleh preparate sel beta. Pengamatan terhadap jumlah sel beta dilakukan pada hari ke 7 dan 21. Pewarnaan preparate sel beta dilakukan dengan metode *Gomori Aldehyde Fuschine* dan *Nuclear Fast Red*. Pengamatan dilakukan dengan metode analisis digital. Preparat sel beta diamati menggunakan mikroskop Olympus CX41 (Japan), dengan pembesaran 400 kali dan difoto dengan kamera Optilab Pro (Miconos, Indonesia). Masing masing pulau Langerhans pada preparat difoto dengan menggunakan format JPEG menggunakan perangkat lunak *Optilab Viewer 1.0* (Miconos, Indonesia). Analisis terhadap jumlah sel beta pankreas diperoleh dengan menghitung rerata sel beta yang teramati dari seluruh pulau Langerhans preparat dalam 3 bidang pandang. Analisis statistic dilakukan menggunakan program *SPSS for windows 16,0 version*.

HASIL

Sel beta pankreas dengan pewarnaan *Gomori Aldehyde Fuschine* dan *Nuclear Fast Red* merupakan sel dengan inti sel berwarna merah dan pada sitoplasmanya terdapat granule berwarna ungu seperti ditampilkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Sel beta islet pankreas tikus

Pengamatan terhadap rerata jumlah sel beta pada hari ke 7 dan ke 21 disajikan pada tabel 1 sebagai berikut.

Tabel 1. Jumlah sel beta

Ke- lompok	n	Rerata ± s.b. jumlah sel beta		Persen- tase (%)	p
		Hari ke 7	Hari ke 21		
P1	3	116, 33 ± 12,5 0	88,00 ± 9,17	32,19	0,03 4
P2	3	65,3 3 ± 17,6 2	62,33 ± 8,74	4,81	0,80 5
P3	3	52,6 7 ± 13,3 2	48,00 ± 9,85	9,73	0,65 1

Keterangan :

- P1 : tikus hiperglikemia yang diberikan placebo (aquadest)
- P2 : tikus hiperglikemia yang diberikan Glibenklamid (0,66 mg/kg BB)
- P3 : tikus hiperglikemia yang diberikan Ekstrak *A. bilimbi* L. (270 mg/kg BB)

PEMBAHASAN

Sel beta pancreas merupakan sel aerob yang menghasilkan ROS (Reactive Oxygen Species) seperti anion superoksida dan H₂O₂ saat berlangsungnya fosforilasi oksidatif pada mitokondrianya. Transport electron mitokondria merupakan sumber utama anion superoksida pada sel beta pancreas. Enzim antioksidan seperti isoenzim SOD (superoxide dismutase), katalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) dan peroxiredoxin (Prx) berperan dalam mengatasi anion superoksida yang terbentuk. Namun terbatasnya enzim antioksidan pada

sel beta pancreas tidak mampu mengatasi pembentukan anion superoksida yang berlangsung secara kontinyu. Hal ini mengakibatkan sel beta memiliki sensitivitas tinggi terhadap ROS yang berkaitan dengan stress oksidatif dan sitotoksitas (Wang & Wang, 2017). Hiperglikemia merupakan salah satu kondisi yang memicu pembentukan ROS pada sel beta pancreas. Hiperglikemia meningkatkan kadar protein pro-inflamasi dan menginfiltirasi makrofag sehingga mensekresikan sitokin inflamasi. Inflamasi yang berbarengan dengan stress oksidatif merupakan proses yang memicu perkembangan komplikasi diabetic (Dal & Sigrist, 2016).

Kondisi hiperglikemia pada hewan coba diakibatkan oleh induksi aloksan (150 mg/kg BB). Aloksan mempengaruhi degradasi sel beta pancreas secara parsial sehingga mempengaruhi kualitas dan kuantitas insulin yang dihasilkannya (Ighodaro dkk., 2018). Rerata jumlah sel beta yang teramati pada hari ke 7 dan 21 (tabel 1) menunjukkan adanya degradasi jumlah sel beta akibat induksi aloksan. Aloksan bersifat sitotoksik terhadap sel islet pancreas melalui pembentukan radikal bebas dan stress oksidatif (Nugroho, 2006). Induksi aloksan menyebabkan terjadinya aktivitas NFKb pada islet pancreas sehingga memicu reaksi peradangan (Zhang dkk., 2002). Aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria dan mengakibatkan gangguan homeostasis sehingga memicu kematian sel (Suharmiati, 2003). Sel beta pancreas merupakan sel yang sensitive terhadap efek ROS (Reactive Oxygen Species), sehingga pemberian antioksidan memiliki pengaruh yang menjanjikan dalam pencegahan disfungsi sel beta pancreas (Anastasiou dkk., 2021). Antioksidan mempertahankan sekresi insulin yang distimulasi oleh glukosa sehingga menurunkan kadar gula darah secara moderat. Massa sel beta secara signifikan membesar pada mencit yang diberikan antioksidan dan terjadi supresi apoptosis sel beta tanpa mempengaruhi laju proliferasinya (Kajimoto dan Kaneto, 2004). Efek sitoprotektif dari glibenclamide dan aktivitas antioksidan yang dimiliki ekstrak A. bilimbi L. kemungkinan memberikan pengaruh dalam mencegah degradasi sel beta pada tikus hiperglikemia. Daun A. bilimbi L. diketahui mengandung alkaloid, tannin, saponin, flavonoid, glikosida jantung, glikosida, triterpene, fenol dan karbohidrat (Alhassan dan Ahmed, 2016). Buah A. bilimbi L. yang

termasuk famili Oxalidaceae diketahui kaya akan kandungan senyawa fenolic (Asna dan Noriham, 2014). Senyawa fenolik seperti asam fenolat, flavonoid dan tannin merupakan contributor utama kemampuan antioksidan pada tanaman (Rahman et al., 2014). Aktivitas antioksidan A. bilimbi L. dipengaruhi oleh kandungan total fenol dan total flavonoid yang dimilikinya. Efek hipoglikemia A. bilimbi L. diakibatkan oleh kandungan flavonoid dan saponin (Susanti, Candra dan Nissa, 2017).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Analisa statistic menggunakan uji t tidak berpasangan menunjukkan penurunan jumlah sel beta yang signifikan pada kelompok control/P1 ($p < 0,05$) dibandingkan kelompok perlakuan. Kondisi patologis pada jaringan pancreas tikus hingga mereduksi jumlah sel beta disebabkan oleh hiperglikemia. Ekstrak A. bilimbi L. diketahui dapat mencegah penurunan jumlah sel beta pancreas, yang mungkin disebabkan oleh aktivitas antioksidannya.

Saran

Untuk mendukung pengembangan potensi A. bilimbi L., maka diperlukan penelitian lanjutan penentuan dosis optimum ekstrak A. bilimbi L. untuk pencegahan degradasi jumlah sel beta pancreas.

KEPUSTAKAAN

- Alhassan, A.M dan Ahmed, Q.U. (2016). *Averrhoa bilimbi Linn.: a Review of Its Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. Journal of Pharmacy & BioAllied Sciences*, 8(4), 265-271.
- American Diabetes Association. (2021). *Standards of Medical Care In Diabetes. USA: American Diabetes Association.*
- Anastasiou, I.A., Eleftheriadou, I., Tentolouris, A., Koliaki, C., Kosta., O.A., Tentolouris, N. (2021). *The Effect of Oxidative Stress and Antioxidant Therapies on Pancreatic b-cell Dysfunction: Results from In Vitro and In Vivo Studies. Current Medicinal Chemistry*, 28 (7), 1328-1346.
- Asna, A.N. dan Noriham, A. (2014). *Antioxidant Activity and Bioactive Components of Oxalidaceae Fruit Extracts. The Malaysian Journal of Analytical*

- Sciences, 18(1), 116-126.
- Bajaj, S. dan Khan, A. (2012). Antioxidants and Diabetes. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(Supplement 2), 267-271.
- Dal, S. dan Sigrist, S. (2016). The Protective Effect of Antioxidants Consumption on Diabetes and Vascular Complications. *Disease* 4(3), 24.
- Fakhrudin, S., Alanazi, W., Jackson, K.E. (2017). Diabetes-Induced Reactive Oxygen Species: Mechanism of Their Generation and Role in Renal Injury. *Journal of Diabetes Research*. (Online), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5253173/>, diakses tanggal 25 Juli 2021, jam 15.00 WIB).
- Hoarau, E., Chandra, V., Rustin, P., Scharfmann, R., Duvillie, B. (2014). Pro-oxidant/antioxidant Balance Controls Pancreatic b-cell Differentiation through The ERK1/2 Pathway. *Cell Death and Disease*, 5, e1487.
- Ighodaro, O.M., Adeosun, A.M., Akinloye, O.A. (2017). Alloxan-induced Diabetes, a Common Model for Evaluating The Glycemic-control Potential of Therapeutic Compounds and Plants Extracts in Experimental Studies. *Medicina*, 53, 365-374.
- Kajimoto, Y. dan Kaneto, H. (2004). Role of Oxidative Stress in Pancreatic Beta-cell Dysfunction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1011, 168-176.
- Kawamura, T. dan Muraoka, I. (2018). Exercise-Induced Oxidative Stress and the Effects of Antioxidant Intake from a Physiological Viewpoint. *Antioxidants*, 7(9), 119.
- Nugroho, A.E. (2006). Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi dan Mekanisme Aksi Diabetogenik. *Biodiversitas*, 7(4), 378-382.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., Bitto, A., 2017. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Volume 2017, (Online), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5551541/>, diakses tanggal 2 Juli 2021, jam 12.00 WIB).
- Rahman, M., Habib, R., Hasan, A., Al Amin, M., Saha, A., Mannan, A. (2014). Comparative Assessment on in Vitro Antioxidant Activities of Ethanol Extracts of *Averrhoa bilimbi*, *Gymnema sylvestre* and *Capsicum frutescens*. *Pharmacognosy Research*, 6(1), 36-41.
- Robertson, R.P., Harmon, J., Tran, P.O.T., Poitout, V. (2004). b-cell Glucose Toxicity, Lipotoxicity and Chronic Oxidative Stress in Type 2 Diabetes. *Diabetes*, 53, S119-S124.
- Suharmiati. (2003). Pengujian Bioaktivitas Anti Diabetes Mellitus Tumbuhan Obat. *Jurnal Cermin Dunia Kedokteran* 140, 8-12.
- Susanti, E.Y., Candra, A., Nissa, C. (2017). Pengaruh Pemberian Sari Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Wanita Dewasa. *Journal of Nutrition and Health*, 5 (2), 102-115.
- Wang, J. & Wang, H. (2017, 3 Agustus). Oxidative Stress in Pancreatic Beta Cell Regeneration [Review]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017.
- Zhang, H., He, J., Yuan, L., Lin, Z. (2002). In Vitro and In Vivo Protective Effect of *Ganoderma lucidum* Polysaccharides on Alloxan-induced Pancreatic Islets Damage. *Life Sciences*, 73, 2307-2319.