

PENGARUH EKSTRAK AIR DAUN SIRSAK (*Annona muricata L.*) TERHADAP APOPTOSIS SEL β PANKREAS DAN PERUBAHAN MORFOLOGI ISLET LANGERHANS TIKUS MODEL OBESITAS

Dinda Dwi Anggita, Aris Rosidah, Dini Sri Damayanti*
*Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA)

ABSTRAK

Pendahuluan: Pemberian diet tinggi lemak tinggi fruktosa (TLTF) akan menyebabkan obesitas yang akan memicu terbentuknya radikal bebas, dan akhirnya menginduksi terjadinya kerusakan ada sel β pankreas dan perubahan morfologi islet Langerhans. Daun sirsak memiliki aktivitas antioksidan sebagai pertahanan terhadap radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak air daun sirsak (EADS) terhadap jumlah apoptosis sel β , dan perubahan morfologi (struktur, bentuk, ukuran) islet Langerhans pankreas tikus dengan induksi TLTF.

Metode: Diberikan induksi diet TLTF dan EADS selama 10 minggu pada hewan coba yang dibagi menjadi 5 kelompok secara *in vivo*, yaitu kelompok normal (KN), kelompok positif (KP) dan EADS dosis I (100 mg/kgBB), II (200 mg/kgBB) dan III (400 mg/kgBB) (n=6 ekor). Dilakukan pengambilan sediaan organ pankreas dengan pengecatan *Hematoxylin Eosin* untuk mengetahui jumlah apoptosis sel β , dan perubahan morfologi islet Langerhans, lalu diamati dengan mikroskop *dotSlide* dengan perbesaran 200x. Analisa statistik menggunakan *One Way ANOVA* dan uji *LSD* ($p < 0,05$).

Hasil: Pemberian EADS dosis II dan III secara signifikan menurunkan jumlah apoptosis sel β pankreas sekitar 22% dan 30% dibandingkan kontrol positif ($p < 0,05$), sedangkan pada perubahan struktur islet Langerhans secara signifikan dapat menurunkan sekitar 17% dan 24% ($p < 0,05$), dan pada perubahan bentuk islet Langerhans secara signifikan dapat meningkatkan sekitar 80% dan 95% ($p < 0,05$). Pemberian EADS dosis I, II dan III secara signifikan meningkatkan luas ukuran sekitar 57%, 47%, dan 62% dibandingkan kontrol positif ($p < 0,05$).

Simpulan: Pemberian EADS dosis II dapat menurunkan jumlah apoptosis sel β pankreas, menghambat perubahan struktur, dan meningkatkan perbaikan perubahan bentuk. Sedangkan EADS dosis I dapat meningkatkan luas ukuran islet Langerhans.

Kata Kunci: Daun Sirsak, Diet TLTF, Obesitas, Apoptosis, Morfologi Islet Langerhans

THE EFFECT OF WATER EXTRACT OF SOURSOP LEAF (*Annona muricata L.*) ON PANCREAS β CELL APOPTOSIS, AND LANGERHANS ISLET MORPHOLOGY IN OBESE MODEL RATS

Dinda Dwi Anggita, Aris Rosidah, Dini Sri Damayanti*
Faculty of Medicine, University of Islam Malang (UNISMA)

ABSTRACT

Background: The administration of high fat high and fructose diet will cause obesity which will induce the formation of free radicals, and ultimately induce damage to pancreatic β cells and changes in the morphology Langerhans islet. Soursop leaves have antioxidant activity as a scavenger of free radicals. This study aimed to determine the effect of soursop leaf water extract (SLWE) on the number of β cell apoptosis, and morphology changes (structure, shape, size) of pancreatic islet of Langerhans by high fat high and fructose induction.

Method: Dietary induction of high fat high and fructose and EADS for 10 weeks in experimental animals which were divided into 5 groups *in vivo*, namely the normal group (KN), the positive group (KP) and the soursop leaf water extract group (SLWE) dose I (100 mg / kgBB), II (200 mg / kgBB) and III (400 mg / kgBB) (n = 6 heads). Pancreatic organs preparations were taken with *Hematoxylin Eosin* staining to determine the number of β cells apoptosis, and changes in the morphology of Langerhans islets, then observed with a *dotSlide* microscope with 200x magnification. Statistical analysis using *One Way ANOVA* and *LSD* test ($p < 0.05$).

Results: The administration of EADS doses II and III significantly reduced the number of pancreatic β cell apoptosis by about 22% and 30% compared to positive controls ($p < 0.05$), while changes in Langerhans islets structure significantly decrease about 17% and 24% ($p < 0.05$), and changes in the shape of the islet of Langerhans significantly can increase about 80% and 95% ($p < 0.05$). Administration of SLWE doses I, II and III significantly increased the size of the area by about 57%, 47%, and 62% compared to positive controls ($p < 0.05$).

Conclusion: Administration a SLWE dose II can reduce the amount of pancreatic β cell apoptosis, inhibit structural changes, and increase repair of changes in shape. While SLWE dose I can increase the size area of the islet of Langerhans.

Keywords: Soursop Leaf, TLTF Diet, Obesity, Apoptosis, Langerhans Islet Morphology

*Corresponding author:

Dini Sri Damayanti

Jl. MT Haryono 193, Malang City, East Java, Indonesian, 65145

E-mail: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Obesitas menjadi salah satu faktor peningkatan risiko terjadinya diabetes melitus tipe 2¹. Prevalensi obesitas di seluruh dunia semakin meningkat sejak tahun 1975 hingga 2016. Pada tahun 2016, lebih dari 1,9 miliar orang dewasa usia diatas 18 tahun mengalami *overweight* dan lebih dari 650 juta di antaranya mengalami obesitas². Obesitas merupakan kelainan metabolik yang ditandai dengan adanya akumulasi lemak secara abnormal di jaringan sub kutan dan jaringan viseral. Akumulasi abnormal lemak tersebut menyebabkan peningkatan dari *Free Fatty Acid* (FFA), mengganggu kerja insulin, menginduksi *down regulation receptor*, dan akumulasi lipid intraseluler yang dapat mengubah ekspresi adiposit dan mekanisme aksi insulin, sehingga dapat menimbulkan kegagalan *up take* glukosa, dan peningkatan lipolisis.³ Akibat adanya akumulasi kronis FFA di intestinal akan menyebabkan terjadinya disbiosis mitokondria, sehingga meningkatkan produksi dari radikal bebas dan menurunkan jumlah antioksidan.⁴

Efek akut dari peningkatan asam lemak terhadap sekresi insulin dalam waktu lebih dari 48 jam dapat menyebabkan gangguan dalam respon sel β terhadap glukosa.¹ Kondisi sekresi insulin yang gagal mengkompensasi resistensi insulin dapat menyebabkan disfungsi pankreas yang mengakibatkan resistensi insulin. Resistensi insulin pada pankreas menyebabkan proses kompensasi terhadap kebutuhan insulin yang meningkat pada sel β seperti hiperplasi dan hipersekresi, sehingga sel β pankreas menjadi kurang sensitif dalam mensekresi insulin.⁵ Diabetes melitus tipe 2 terjadi akibat adanya penurunan dari sensitivitas insulin. Pada kondisi tersebut, sel β pankreas masih bisa memproduksi dan mensekresi insulin, namun terjadi penurunan dan keterlambatan pada jumlahnya.⁶ Kelainan pada sel β pankreas akan berpengaruh pada berkurangnya sekresi insulin, sehingga gagal mengkompensasi resistensi insulin. Apabila kerusakan ini tidak ditangani dengan baik, maka akan berlanjut menjadi kerusakan progresif.⁷

Pengobatan anti hiperglikemia yang banyak digunakan sebagai terapi lini pertama diabetes melitus tipe 2 adalah metformin.⁸ Metformin juga digunakan sebagai anti obesitas. Metformin bekerja dengan menghambat proses glukoneogenesis hepatic, memperlambat absorpsi glukosa, dan meningkatkan ambilan glukosa di perifer, sehingga akan meningkatkan *insulin-mediated glucose uptake* di jaringan perifer. Namun penggunaan metformin dalam jangka panjang memiliki efek samping khususnya pada intestinal seperti mual, muntah, diare, dan nyeri abdomen.⁹

Beberapa penelitian berhasil melakukan pencarian obat alternatif dari herbal yang memiliki efek samping minimal dan harganya murah serta mudah didapat.¹⁰ Daun sirsak (*Annona muricata L.*) merupakan tanaman yang memiliki kandungan senyawa aktif seperti alkaloid, acetogenin, terpenoid, flavonoid, senyawa fenol, tannin, dan saponin yang

dapat menstabilkan kadar gula darah dalam kisaran normal dan dapat digunakan sebagai salah satu solusi obat herbal diabetes alami dengan cara mencegah kerusakan sel β pankreas akibat stress oksidatif.¹¹ Menurut penelitian Damayanti *et al* 2019, pemberian daun sirsak secara signifikan mampu menurunkan stress oksidatif dengan menstimulasi sintesis antioksidan sebagai pertahanan terhadap radikal bebas dan meangaktifkan FoxO1 dalam nukleus sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin tanpa meningkatkan proliferasi sel pankreas.¹² Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian ekstrak air daun sirsak terhadap jumlah apoptosis sel β pankreas dan perubahan morfologi islet Langerhans dengan diet tinggi lemak dan tinggi fruktosa.

METODE PENELITIAN

Desain, Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni menggunakan desain penelitian *post test control group only* untuk mengetahui perubahan histologi islet Langerhans pankreas tikus. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, pada bulan Juni-September 2021.

Perlakuan Hewan Coba

Penelitian ini menggunakan tikus wistar putih (*Rattus norvegicus*) yang dilakukan pada penelitian Dini Sri Damayanti *et al.*, 2020. Proses pemeliharaan dan aklimatisasi selama 2 minggu di laboratorium PA FK UB. Setelah proses aklimatisasi, dilakukan pemberian induksi dengan diet tinggi lemak tinggi fruktosa (TLTF) dan ekstrak air daun sirsak (EADS) secara bersamaan selama 70 hari pada hewan coba tikus, dengan jumlah 30 ekor tikus yang dibagi secara acak dalam 5 kelompok.¹² Lima kelompok tersebut adalah kelompok kontrol normal (KN) yaitu kelompok yang tidak diberikan induksi diet TLTF dan EADS (n=6), kontrol positif (KP) yaitu kelompok dengan pemberian induksi diet TLTF tetapi tanpa induksi EADS (n=6), kelompok perlakuan 1 (P1) yaitu kelompok dengan pemberian induksi diet TLTF dan EADS dosis 100 mg/KgBB (n=6), kelompok perlakuan 2 (P2) yaitu kelompok dengan pemberian induksi diet TLTF dan EADS dosis 200 mg/KgBB (n=6), dan kelompok perlakuan 3 (P3) yaitu kelompok dengan pemberian induksi diet TLTF dan EADS dosis 400 mg/KgBB (n=6). Selanjutnya pada akhir perlakuan di hari ke 70 hewan coba tikus dikorbankan untuk dilakukan pembedahan diambil organ pankreasnya. Organ pankreas tikus diblok parafin hingga terdapat 30 sampel pankreas tikus yang akan dilakukan preparasi histologi dengan pewarnaan hemtoksilin eosin. Hewan coba tersebut adalah tikus jantan wistar putih (*Rattus norvegicus*), berat 150-250 gram, usia 8-10 minggu, dalam kondisi sehat dan tidak cacat.

Pembuatan Preparat Histologi Pankreas dengan Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE)

Organ pankreas yang masih dalam bentuk parafin blok dipotong dengan mikrotom ketebalan 4 μm . Kemudian preparat dideparafinisasi dengan dimasukkan ke larutan xylol selama ± 3 menit. Setelah itu, preparat direhidrasi dengan dimasukkan kedalam larutan alkohol 80%, 90% dan 100% selama masing-masing sekitar 2 menit. Kemudian dibilas menggunakan air mengalir selama ± 3 menit. Kemudian dilakukan pewarnaan I yaitu preparat dimasukkan pada larutan hematoksin selama 7 menit. Setelah itu, preparat dideferensiasi dengan dimasukkan larutan HCL 0,6%. Kemudian pada tahap blueing, preparat dimasukkan pada larutan *lithium carbonat* 0,5%. Setelah itu, dilakukan pewarnaan II dengan pemberian eosin. Selanjutnya preparat didehidrasi menggunakan alkohol 80%, 90% dan 100%. Terakhir, tahap mounting yaitu preparat diberi entellan dan ditutup dengan cover glass.¹³

Penghitungan Jumlah Apoptosis Sel β Pankreas

Preparat pankreas yang telah dilakukan pewarnaan HE kemudian dilakukan penghitungan apoptosis sel β pankreas menggunakan mikroskop *Dot Slide* dengan perbesaran lensa okuler 200x pada 10 lapang pandang untuk setiap sampel preparat. Penghitungan jumlah apoptosis sel β pankreas dilakukan secara manual dengan bantuan aplikasi *Image J* dan diamati oleh 3 orang pengamat dengan metode blind. Kemudian hasil perhitungan 3 pengamat yang berbeda dirata-rata untuk mendapatkan jumlah hasilnya. Apoptosis sel β pankreas ditandai dengan adanya inti sel mengalami piknotik/inti sel mengecil atau menyusut dan sel apoptosis muncul sebagai massa bulat/oval dengan sitoplasma eosinofilik gelap serta fragmen inti kromatin padat.¹⁴ Perhitungan apoptosis sel β pankreas dengan rumus proporsi yaitu (%) = $\frac{a}{b} \times 100\%$.

Keterangan:

a = Jumlah sel β apoptosis dalam 1 lapang pandang
b = Jumlah keseluruhan sel β dalam 1 lapang pandang

Perubahan Morfologi Islet Langerhans (struktur, bentuk, ukuran)

Preparat pankreas yang telah dilakukan pewarnaan HE dilakukan pengamatan yaitu struktur, bentuk, dan ukuran menggunakan mikroskop *Dot Slide* dengan perbesaran lensa okuler 200x pada 10 lapang pandang, kemudian dilakukan pengamatan secara manual pada struktur dengan melihat apakah terdapat vakuolisasi, sel leukosit, dan integritas susunan sela tau celah sel. Lalu pengamatan bentuk dengan melihat bentuk islet Langerhans yang normal bulat/oval. Kemudian pengamatan ukuran dengan mengukur luas area islet Langerhans menggunakan bantuan aplikasi *Image J* dengan satuan mikrometer (μm). Penelitian diamati oleh 3 orang pengamat dengan metode blind, kemudian hasil perhitungan 3 pengamat yang berbeda dirata-rata untuk mendapatkan jumlah hasilnya. Untuk mengetahui

perbedaan gambaran morfologi islet Langerhans pada masing-masing perlakuan dibandingkan dengan kontrol negatif/kontrol normal.¹⁵

Teknik Analisa Data

Data dinyatakan dalam bentuk rerata \pm SD. Selanjutnya data dilakukan uji *Saphiro Wilk* untuk mengetahui homogenitas dan normalitas data. Setelah itu, dilakukan uji statistik *Oneway ANOVA* untuk perbedaan antar kelompok dengan derajat signifikansi $p < 0.05$. Apabila terdapat signifikansi, analisa dilanjutkan dengan uji *least significance different* (LSD) untuk mengetahui perbandingan masing-masing kelompok perlakuan. Analisa data dilakukan menggunakan software statistik SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) versi 25.

HASIL DAN ANALISA DATA

Efek Ekstrak Air Daun Sirsak (EADS) Terhadap Jumlah Apoptosis Sel β Pankreas Tikus Model Obesitas

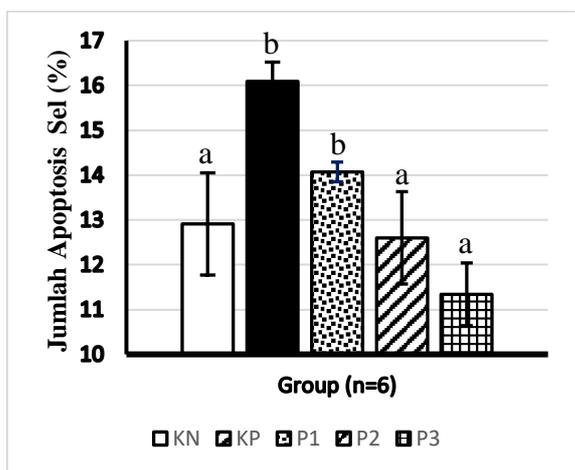
Induksi obesitas pada pemberian diet tinggi lemak tinggi fruktosa (TLTF) meningkatkan secara signifikan jumlah apoptosis sel β pankreas dengan persentase sekitar 25% dibandingkan dengan kontrol normal ($p > 0,05$). Pemberian EADS dosis 200 mg/kgBB (P2) dan 400 mg/kgBB (P3) berbeda signifikan menurunkan jumlah apoptosis sel β pankreas dengan persentase sekitar 22% dan 30% dibandingkan kontrol positif ($p < 0,05$). Sedangkan pada kelompok P1 dengan dosis 100 mg/kgBB tidak berbeda signifikan dengan kontrol positif ($p > 0,05$). Pemberian EADS dosis 100 mg/kgBB (P1) berbeda signifikan dengan kelompok P2 dan P3. Namun tidak didapatkan perbedaan secara signifikan pada kelompok P2 dan P3 dalam menurunkan jumlah apoptosis sel β pankreas tikus, dengan efek paling baik terdapat pada kelompok P2 dengan dosis 200 mg/kgBB. Efek perbedaan jumlah apoptosis sel β pankreas antar kelompok dapat dilihat pada **Gambar 1** dan **Gambar 5**.

Efek Ekstrak Air Daun Sirsak (EADS) Terhadap Perubahan Morfologi (Struktur, Bentuk, Ukuran) Islet Langerhans Pankreas Tikus Model Obesitas

Pemberian diet tinggi lemak tinggi fruktosa (TLTF) pada kondisi obesitas dapat meningkatkan secara signifikan perubahan struktur abnormal islet Langerhans pankreas dengan persentase sekitar 73% dibandingkan kontrol normal ($p < 0,05$). Pemberian EADS dosis 200 mg/kgBB (P2) berbeda signifikan menurunkan perubahan struktur islet Langerhans pankreas tikus dengan persentase sekitar 17% dan pada dosis 400 mg/kgBB (P3) berbeda signifikan menurunkan sekitar 24% dibandingkan kontrol positif ($p < 0,05$). Pemberian EADS dosis 100 mg/kgBB (P1) berbeda signifikan dengan kelompok P2 dan P3. Namun tidak didapatkan perbedaan secara signifikan pada kelompok P2 dan P3 dalam menurunkan perubahan struktur abnormal islet Langerhans pankreas tikus, dengan efek paling baik terdapat pada kelompok P2 dengan dosis 200

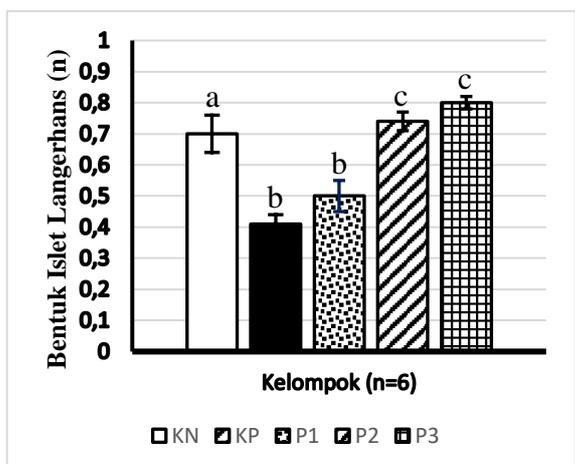
mg/kgBB. Efek perbedaan perubahan morfologi islet Langerhans dapat dilihat pada **Gambar 2 dan Gambar 5**.

Pemberian diet tinggi lemak tinggi fruktosa (TLTF) pada kontrol positif secara signifikan menurunkan jumlah bentuk normal bulat/oval islet Langerhans pankreas tikus sekitar 42% dibandingkan dengan kontrol normal ($p < 0,05$). Pemberian EADS dosis 200 mg/kgBB (P2) berbeda signifikan dalam meningkatkan perbaikan perubahan bentuk normal islet Langerhans pankreas tikus dengan persentase sekitar 80% dan pada dosis 400 mg/kgBB (P3) berbeda signifikan meningkatkan perbaikan perubahan bentuk normal sekitar 95% dibandingkan dengan kontrol positif ($p < 0,05$). Sedangkan pemberian EADS dosis 100 mg/kgBB (P1) tidak berbeda signifikan dalam meningkatkan perbaikan perubahan bentuk islet Langerhans pankreas tikus ($p > 0,05$). Pemberian EADS dosis 100 mg/kgBB (P1) berbeda signifikan dengan dosis P2 dan P3. Namun tidak didapatkan perbedaan secara signifikan pada kelompok P2 dan P3 dalam meningkatkan perbaikan



Gambar 1. Histogram persentase jumlah apoptosis sel β pankreas tikus model obesitas yang diberikan ekstrak air daun sirsak.

Keterangan: huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, *LSD Test*).

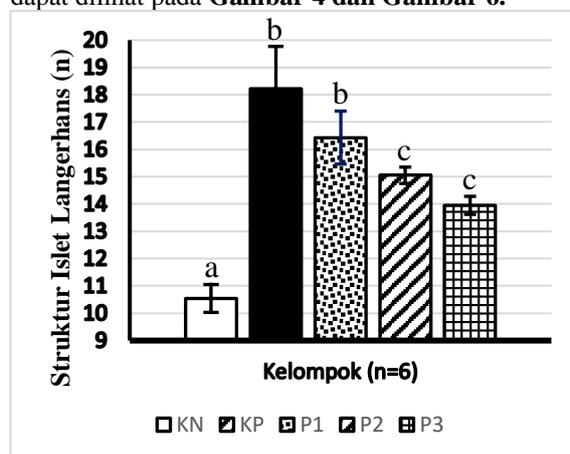


Gambar 3. Histogram jumlah bentuk normal islet Langerhans pankreas tikus model obesitas yang diberikan ekstrak air daun sirsak.

Keterangan: huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, *LSD Test*).

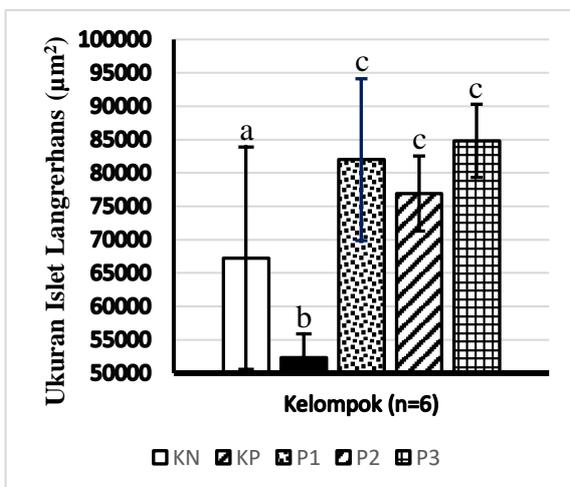
perubahan bentuk islet Langerhans pankreas tikus, dengan efek paling baik terdapat pada kelompok P2 dengan dosis 200 mg/kgBB. Efek perbedaan perubahan morfologi islet Langerhans dapat dilihat pada **Gambar 3 dan Gambar 6**.

Pemberian diet tinggi lemak tinggi fruktosa (TLTF) pada kondisi obesitas secara signifikan menurunkan luas ukuran islet Langerhans pankreas tikus sekitar 22% dibandingkan dengan kontrol normal ($p < 0,05$). Pemberian EADS dosis 100 mg/kgBB (P1), 200 mg/kgBB (P2) dan dosis 400 mg/kgBB (P3) berbeda signifikan meningkatkan luas ukuran islet Langerhans pankreas tikus dengan persentase sekitar 57%, 47%, dan 62% dibandingkan kontrol positif ($p < 0,05$). Pemberian EADS berbeda signifikan antar dosis dalam meningkatkan luas ukuran islet Langerhans pankreas tikus ($p > 0,05$), efek paling baik terdapat pada kelompok P3 dengan dosis 100 mg/kgBB. Walaupun secara statistik tidak didapatkan perbedaan secara signifikan. Efek perbedaan perubahan morfologi islet Langerhans dapat dilihat pada **Gambar 4 dan Gambar 6**.



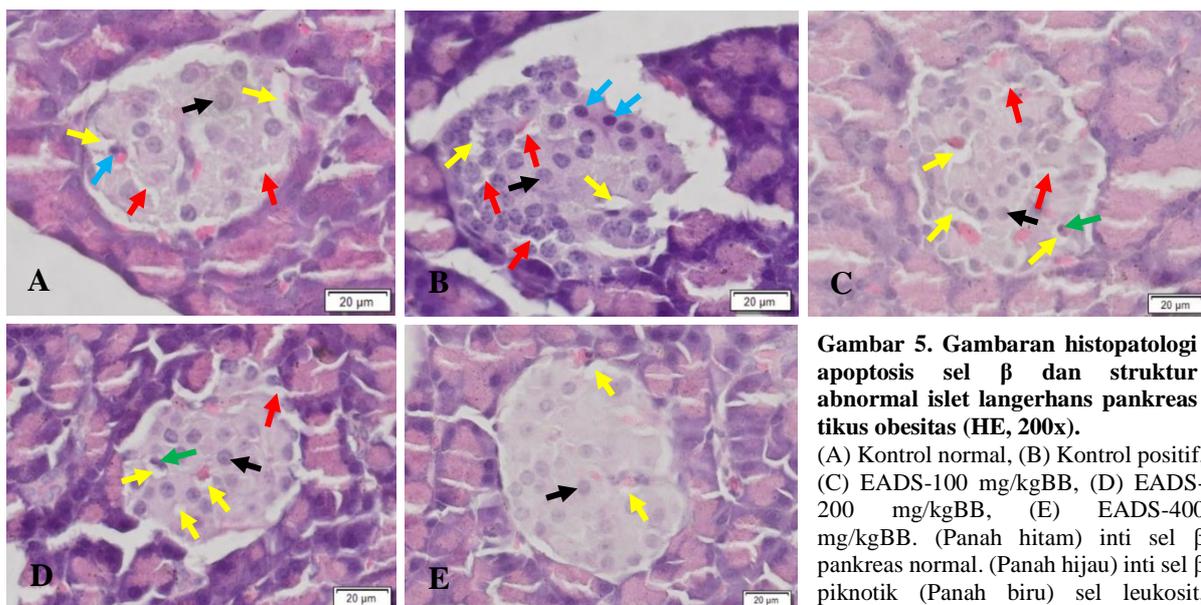
Gambar 2. Histogram jumlah struktur abnormal islet Langerhans pankreas tikus model obesitas yang diberikan ekstrak air daun sirsak.

Keterangan: huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, *LSD Test*).



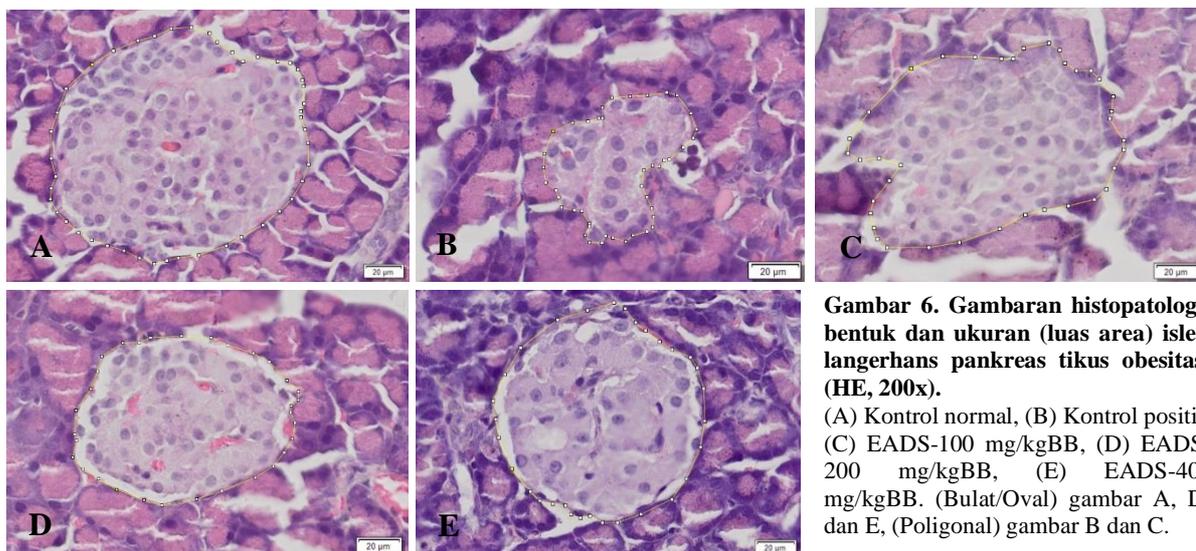
Gambar 4. Histogram ukuran luas area islet Langerhans pankreas tikus model obesitas yang diberikan ekstrak air daun sirsak.

Keterangan: huruf berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, *LSD Test*).



Gambar 5. Gambaran histopatologi apoptosis sel β dan struktur abnormal islet langerhans pankreas tikus obesitas (HE, 200x).

(A) Kontrol normal, (B) Kontrol positif, (C) EADS-100 mg/kgBB, (D) EADS-200 mg/kgBB, (E) EADS-400 mg/kgBB. (Panah hitam) inti sel β pankreas normal. (Panah hijau) inti sel β piknotik (Panah biru) sel leukosit, (Panah kuning) vakuolisasi, (Panah merah) celah antar sel.



Gambar 6. Gambaran histopatologi bentuk dan ukuran (luas area) islet langerhans pankreas tikus obesitas (HE, 200x).

(A) Kontrol normal, (B) Kontrol positif, (C) EADS-100 mg/kgBB, (D) EADS-200 mg/kgBB, (E) EADS-400 mg/kgBB. (Bulat/Oval) gambar A, D, dan E, (Poligonal) gambar B dan C.

PEMBAHASAN

Efek Ekstrak Air Daun Sirsak Terhadap Jumlah Jumlah Apoptosis Sel β Pankreas Tikus Model Obesitas

Pemberian diet TLTF meningkatkan secara signifikan meningkatkan jumlah apoptosis sel β pankreas secara signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok normal (KN). Hal tersebut terjadi karena adanya peningkatan absorpsi fruktosa dan akumulasi asam lemak visceral salah satunya pada pankreas, sehingga jaringan lemak pada sentral tubuh menghasilkan *Free Fatty Acid* (FFA) secara berlebih, dan mengakibatkan peningkatan dari FFA menuju hepar melalui drainase vena porta, kemudian akan dipecah menjadi trigliserida (TG).¹⁶ Dalam kondisi kronis, adanya resistensi insulin menyebabkan FFA di lumen meningkat menuju sirkulasi, kemudian ke pankreas. Selain itu, resistensi insulin mengakibatkan gangguan *signaling* insulin pada sel β pankreas yang

dapat menyebabkan kegagalan dari *uptake* glukosa, sehingga ambilan glukosa oleh sel menurun. Kondisi tersebut akan mengaktivasi c-Jun Kinase dan aktivasi dari FoxO1 di nukleus.¹⁷ Aktivasi FoxO1 di nukleus dipicu oleh kondisi hiperglikemi dan tingginya radikal bebas akibat efek glukolipotoksik sel β pankreas. Aktivasi tersebut akan menginduksi apoptosis sel β beta pankreas dengan mekanisme menghambat ikatan FoxA2 pada gen PDX1. Aktivasi dari gen apoptosis menyebabkan penurunan jumlah sel β pankreas, sehingga kondisi sekresi insulin juga menurun.¹⁸

Peningkatan ROS akibat ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan antioksidan dapat memicu terbentuknya lipid teroksidasi atau *Advanced Glycation End-products* (AGEs). Terbentuknya AGEs tersebut dapat merusak struktur protein, DNA, dan sitoskeleton dalam sel serta membran sel β , sehingga menyebabkan terjadinya kematian sel

apoptosis.¹⁹ Mekanisme jalur ekstrinsik apoptosis melibatkan interaksi yang diperantai oleh reseptor transmembran yaitu TNF- α reseptor dan FasL reseptor. Reseptor tersebut akan mengaktivasi caspase-8, caspase-6, dan caspase-3, sehingga akan terbentuk *apoptotic body*. Sedangkan pada mekanisme jalur intrinsik apoptosis melibatkan sinyal intraseluler yang bertindak langsung pada target sel ditandai dengan terjadi kerusakan membran mitokondria sehingga terjadi kebocoran sel dan terjadi pelepasan sitokrom C, kemudian akan mengaktivasi caspase-9, caspase-8 dan caspase-3, sehingga akan terbentuk *apoptotic body*.²⁰

Pemberian ekstrak air daun sirsak (EADS) dosis 200 mg/kgBB (P2) dan 400 mg/kgBB (P3) secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan jumlah apoptosis sel β pankreas dibandingkan dengan kontrol positif (KP). Hal ini disebabkan karena adanya senyawa aktif daun sirsak yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan antidiabetik. Kandungan senyawa aktif alkaloid dan flavonoid sebagai antioksidan mampu menghambat kerusakan sel beta pankreas, sehingga sel beta pankreas yang tersisa masih tetap berfungsi. Selain itu, antioksidan juga mampu melindungi sejumlah sel β yang masih normal, sehingga sangat memungkinkan terjadinya regenerasi sel β melalui pembentukan pulau baru dengan cara proliferasi dan diferensiasi endokrin dari sel-sel *ductal* dan *ductular*.²¹ Selain itu, efek dari antioksidan mampu mereduksi radikal bebas dengan mekanisme *radical scavenging* yang dapat mengurangi stress oksidatif. Mekanisme kerja antioksidan dengan cara menghambat reaksi inisiasi pada reaksi oksidasi lemak dengan cara menyerap dan menetralkan radikal bebas atau mendekomposisi peroksida.²² Jenis radikal bebas yang paling banyak terbentuk di dalam tubuh adalah superoksida, yang nantinya akan diubah menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2). Kemudian, hidrogen akan diubah menjadi radikal hidroksil ($*OH$) dalam tahap propagasi. Radikal hidroksil tersebut menyebabkan terjadinya peroksidasi lemak pada membran sel, sehingga sel mengalami kerusakan. Proses netralisir radikal bebas dilakukan dengan cara memberikan satu elektronnya sehingga senyawa akan menjadi lebih stabil yaitu pada H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 .²³ Berdasarkan penjelasan diatas, senyawa aktif daun sirsak sebagai antioksidan dapat menghambat produksi radikal bebas, sehingga memperbaiki sensitifitas reseptor insulin dan *signaling* insulin di sel β pankreas. Hal tersebut menyebabkan FoxO1 dari nukleus kembali ke sitoplasma, sehingga FoxO1 di sitoplasma sel β pankreas kembali meningkat dan dapat memicu terjadinya proliferasi sel β pankreas.

Senyawa flavonoid pada daun sirsak memiliki aktivitas sebagai antidiabetik. Senyawa flavonoid tersebut bekerja melalui mekanisme regenerasi sel β pankreas sehingga merangsang sekresi insulin dan terjadi penurunan kadar glukosa darah.²⁴ Selain itu, juga melalui mekanisme penghambatan pada aktivitas α -amilase dan aktivitas α -glukosidase.²⁵ Inhibisi kerja pada enzim tersebut dengan cara mereduksi dan memperlambat absorpsi glukosa pada

intestinal, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa darah postprandial dan penundaan penyerapan glukosa.²⁶

Pemberian ekstrak air daun sirsak (EADS) dosis 100 mg/kgBB (P1) tidak berbeda signifikan ($p > 0,05$) dengan kontrol positif dalam menurunkan jumlah apoptosis sel β pankreas. Hal ini diduga karena pemberian dosis ekstrak daun sirsak yang masih rendah sehingga dapat mempengaruhi mekanisme kerja dari senyawa aktif tersebut dalam memberikan efek menghambat apoptosis sel β pankreas. Keadaan ini dipicu oleh kondisi hiperglikemia kronis yang menyebabkan terjadinya penurunan perbaikan sel β pankreas. Selain itu, sel β pankreas juga memiliki risiko paling tinggi pada kerusakan oksidatif, dan meningkatkan terjadinya sensitifitas kematian sel. Hal ini disebabkan karena sel β pankreas memiliki kadar enzim antioksidan yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan sel-sel lainnya.²⁷

Efek Ekstrak Air Daun Sirsak (EADS) Terhadap Perubahan Morfologi (Struktur, Bentuk, Ukuran) Islet Langerhans Pankreas Tikus Model Obesitas

Pemberian ekstrak air daun sirsak (EADS) pada kelompok P2 dan P3 dengan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB dapat menghambat perubahan struktur islet Langerhans pankreas tikus model obesitas secara signifikan ($p < 0,05$). Hal ini disebabkan karena adanya senyawa flavonoid pada daun sirsak yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antioksidan dengan cara menghambat reaksi lanjutan dari ROS dan RNS melalui penghambatan enzim dan mengikat reseptor yang berperan dalam pembentukan radikal bebas, serta meningkatkan terbentuknya antioksidan endogen seperti GPx, SOD, dan Katalase.²⁸ Pada daun sirsak juga terdapat aktivitas antiinflamasi yang diperankan oleh senyawa flavonoid. Mekanisme flavonoid sebagai antiinflamasi yaitu dengan menghambat aktivitas *nuclear factor-kappa B* (NF- κ B), kemudian akan menghambat adhesi monosit dan proses inflamasi yang lebih lanjut. Efek antiinflamasi juga digunakan untuk melawan peradangan akut dan kronis dengan menekan mediator inflamasi COX-1 dan COX-2. Selain itu, menghambat terbentuknya sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-6, IL-1 β dan interferon- γ , sehingga dapat membantu mengembalikan integritas susunan sel dan menambah viabilitas dari suatu sel.²⁹ Semakin baik perbaikan struktur islet Langerhans diduga karena senyawa flavonoid sebagai antioksidan.³⁰ Adanya vakuolisasi pada struktur islet Langerhans diduga disebabkan oleh tahapan awal dari apoptosis akibat dari peningkatan stress oksidatif yang didapat dari tingginya aktivitas retikulum endoplasma pada sel β pankreas sebagai tanda terjadinya resistensi insulin.³¹

Pemberian ekstrak air daun sirsak (EADS) berbeda signifikan dalam meningkatkan perbaikan perubahan bentuk islet Langerhans pada kelompok P2 dan P3 dibandingkan dengan kontrol positif ($p < 0,05$). Daun sirsak memiliki aktivitas sebagai

antihyperglykemia dengan mekanisme kerja menghambat aktivasi dari radikal bebas yaitu pada kandungan fenolik seperti flavonoid dan alkaloid. Selain itu, dari kandungan senyawa aktif polifenol juga mengurangi stress oksidatif serta dapat meningkatkan produksi enzim katalase yang nantinya akan memecah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air yang tidak berbahaya untuk pertumbuhan sel.³² Pada beberapa penelitian disebutkan bahwa histologi pankreas pada tikus yang diinduksi daun sirsak menunjukkan perbaikan pada islet Langerhans seperti adanya regenerasi ke bentuk normal bulat/oval, meskipun masih ditemukan beberapa bagian islet Langerhans yang mengalami degenerasi.³³

Pemberian ekstrak air daun sirsak (EADS) dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB, dan 400 mg/kgBB memiliki hasil signifikan dalam meningkatkan luas ukuran islet Langerhans pankreas tikus dibandingkan kontrol positif ($p < 0,05$). Hal tersebut berhubungan dengan zat aktif flavonoid yang berperan sebagai antioksidan dan antidiabetes dengan mekanisme regenerasi sel dengan bertambahnya ukuran atau perluasan dari islet Langerhans.¹⁴ Selain itu, flavonoid juga dapat meningkatkan produksi insulin yang dihasilkan oleh sel β pankreas dengan merubah mekanisme Ca^{2+} sehingga menunjukkan perbaikan seperti mulai terlihat batas dari area islet Langerhans, serta adanya pertautan antara islet Langerhans dengan sel-sel asinar. Hal ini diduga karena pengaruh dari meningkatnya jumlah senyawa bioaktif seiring dengan meningkatnya jumlah dosis.³⁵ Beberapa penelitian mengatakan bahwa senyawa aktif dari flavonoid salah satunya adalah *quercetine* bekerja sebagai *scavenger*, sehingga dapat menurunkan radikal bebas.³⁴ Dalam penelitian lain disebutkan bahwa pemberian ekstrak air daun sirsak dengan dosis 400 mg/kgBB dapat menyebabkan ukuran islet Langerhans kembali membesar.³⁵

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Pemberian EADS dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB secara signifikan menurunkan jumlah apoptosis sel β pankreas, menghambat kerusakan perubahan struktur, dan meningkatkan perbaikan perubahan bentuk islet Langerhans pankreas tikus model obesitas dengan dosis paling baik terdapat pada dosis 200 mg/kgBB.
2. Pemberian EADS dosis 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB secara signifikan meningkatkan luas ukuran islet Langerhans pankreas tikus model obesitas dengan dosis paling baik terdapat pada dosis 100 mg/kgBB.

SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka saran dapat disarankan bahwa:

1. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan metode *in silico* untuk mengetahui mekanisme kerja aktif dalam herbal yang diuji.

2. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan mengukur kadar glukosa darah pada sebelum dan sesudah diberikan induksi TLTF.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih peneliti kepada Ikatan Orang Tua Mahasiswa (IOM), Fakultas Kedokteran UNISMA yang telah memberikan dana penelitian, dan tim kelompok penelitian yang telah membantu penelitian ini, serta Bapak Rio Risandiansyah S.Ked., M.P., Ph.D sebagai *peer reviewer*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sandjaja & Sundikno. (2014). Prevalensi Gizi Lebih Dan Obesitas Penduduk Dewasa Di Indonesia. **Gizi Indonesia**, 28(2), 1–7.
2. World Health Organization. (2021). The Global Diabetes Compact: What You Need to Know. Oms, 6.
3. Jameson, L. (2017). Harrison's endocrinology 4th Edition.
4. Samuel VT, S. G. (2016) 'The pathogenesis of insulin resistance: integrating signaling pathways and substrate flux.', **J. Clin Invest.**, 126(1), pp. 12–22.
5. Elmore, S. (2007). Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. **Toxicologic Pathology**, 35(4), 495–516.
6. Prawitasari, D. S. (2019). Diabetes Melitus dan Antioksidan. *Keluwih: Jurnal Kesehatan dan Kedokteran*, 1(1), 48–52.
7. Muliasari, H. (2017). Jurnal Ilmiah Ilmu Biologi. Histologi Pankreas Tikus Diabetes Setelah Pemberian Suspensi Biji Buah Makasar (*Brucea javanica* (L.) Merr). **Jurnal Nasional Teknologi Terapan**, Vol.1. 24-32.
8. Wang, Y. W., He, S. J., Feng, X., Cheng, J., Luo, Y. T., Tian, L., & Huang, Q. (2017). Metformin: A Review of Its Potential Indications. **Drug Design, Development and Therapy**, 11, 2421–2429.
9. Gumantara, M. P. B., & Oktarlina, R. Z. (2017). Perbandingan Monoterapi dan Kombinasi Terapi Sulfonilurea-Metformin terhadap Pasien Diabetes Melitus Tipe 2. **Majority**, 6(1), 55–59.
10. Coria-Téllez A V, Montalvo-González E, Yahia EM, Obledo-Vázquez EN. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. **Arab J Chem**. 2018; 11(5):662–91.
11. Damayanti, D. S., Kusuma, H. M. S. C., & Soeatmadji, D. W. (2019). Soursop (*Annona muricata* L.) Leaf Water Extract (SLWE) Prevent Pancreatic B-Cell Damage in Male Wistar Rats Induced By High Fat and High Fructose (HFHF) Diet. **International Journal of Diabetes & Metabolic Disorders**, 4(6), 4–11.

12. Damayanti, D. S., Chandra Kusuma, H. M. S., Nurdiana, & Soeadamadji, D. W. (2019). Effects of soursop (*Annona muricata*) leaf water extract (SLWE) on body weight, leptin and TNF α plasma levels of rats with high fat and high fructose (HFHF) Diet. **Journal of Global Pharma Technology**, *11*(4), 162–173.
13. Ariyadi T, Suryono H. Kualitas Sediaan Jaringan Kulit Metode Microwave dan Conventional Histoprocessing Pewarnaan Hematoxylin Eosin. **J Labora Med**. 2017; *1*(1):7–11.
14. Hamdin, C. D., Utami, S. W., Muliastari, H., Prasedya, E. S., & Sudarma, I. M. (2019). Histological pattern on pancreas and liver of diabetic rats after treatment of eugenol isolated from leaves of *Syzygium aromaticum*. **AIP Conference Proceedings**, *2199*. *1*(1), 24.
15. Setiadi, E., Peniati, E., & Susanti, R. (2020). Pengaruh Ekstrak Kulit Lidah Buaya Terhadap Kadar Gula Darah Dan Gambaran. *9*(2), 171–185.
16. Pahlevi, R. (2019). Literatur Review: Mekanisme Resistensi Insulin Terkait Obesitas Pendahuluan Metode Hasil Dan Pembahasan. **Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada**, *10*(2), 354–358.
17. Prahastuti, S. (2011). Konsumsi Fruktosa Berlebihan dapat Berdampak Buruk bagi Kesehatan Manusia Consuming Excessive Amount of Fructose may Affect Our Health. **Jurnal Kesehatan Masyarakat**, *10*(2), 173–189.
18. Triandita, N., R. Zakaria, F., Prangdimurti, E., & Eska Putri, N. (2016). Perbaikan Status Antioksidan Penderita Diabetes Tipe 2 Dengan Tahu Kedelai Hitam Kaya Serat. **Jurnal Teknologi dan Industri Pangan**, *27*(2), 123–130.
19. Mutiyani, M., Soeatmadji, D. W., & Sunindya, B. R. (2014). Efek diet tinggi karbohidrat dan diet tinggi lemak terhadap kadar glukosa darah dan kepadatan sel beta pankreas pada Tikus Wistar (Effect of high carbohydrate diet and high fat diet on blood glucose and beta cell pancreas density in wistar rats). **Indonesian Journal of Human Nutrition**, *1*(2), 106–113.
20. Elmore, S. (2007). Apoptosis: A Review of Programmed Cell Death. **Toxicologic Pathology**, *35*(4), 495–516.
21. Dwi, N. G. A. M., Suastuti, A., Sri, I. G. A. K., Dewi, P., & Ariati, K. (2015). *Issn 1907-9850*. *4*, 289–295.
22. Zheng, T., Gao, Y., & Tian, H. (2012). Relationship Between Blood Lipid Profiles and Pancreatic Islet β Cell Function in Chinese Men and Women with Normal Glucose Tolerance: A cross-sectional study. **BMC Public Health**, *12*(1), 1.
23. Iyos, R. N., & Astuti, P. D. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah The Effect of Soursop Leaf Extract (*Annona muricata L.*) to Reduced Blood Glucose Levels. *6*, 144–148.
24. Cahyawati, P. N. (2020). Efek Farmakologi Dan Toksik Sirsak (*Annona muricata*): A Mini-Review. **Biomedika**, *12*(2), 107–116.
25. Yuniarto, A., & Selifiana, N. (2018). Aktivitas Inhibisi Enzim Alfa-glukosidase dari Ekstrak Rimpang Bangle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) secara In vitro. **MPI Media Pharmaceutica Indonesiana**, *2*(1), 22–25.
26. Harahap, M. (2018). Aktivitas Penghambatan Enzim A-Glukosidase Ekstrak Etanol Buah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium DC.*) Secara In Vitro. *Skripsi*, 1–88.
27. Mutiyani, M., Soeatmadji, D. W., & Sunindya, B. R. (2014). Efek diet tinggi karbohidrat dan diet tinggi lemak terhadap kadar glukosa darah dan kepadatan sel beta pankreas pada Tikus Wistar (Effect of high carbohydrate diet and high fat diet on blood glucose and beta cell pancreas density in wistar rats). **Indonesian Journal of Human Nutrition**, *1*(2), 106–113.
28. I Made Oka Adi Parwata. (2009). Bahan Ajar Uji Bioaktivitas: Antioksidan. *Universitas Udayana, April*, 1–5.
29. Moghadamtousi, S. Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Ali, H. M., & Kadir, H. A. (2015). *Annona muricata (Annonaceae)*: A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. **International Journal of Molecular Sciences**, *16*(7), 15625–15658.
30. Esmawati, E. (2015). Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata L.*) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Histologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Alloksan. 1–8.
31. Walean, M., Melpin, R., Rondonuwu, M., & Pinontoan, K. F. (2020). Perbaikan Histopatologi Pankreas Tikus Hiperqlikemia setelah Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba (*Syzygium luzonense (Merr.) Biosfera*, *37*(1), 43–48.
32. Hermawati, C. M., Sitiswiswi, A. J., & Jannah, S. N. (2020). Studi Histologi Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus L.*) Setelah Pemberian Cuka Dari Kulit Nanas (*Ananas comosus L. Merr.*). **Journal Pro-Life Volume**, *7*(1), 61–70.
33. Pujiwidodo, D. (2016). Profil Sel Beta Pankreas Pada Tikus Diabetes Yang Diberi Umbi Kimpul (*Xanthosoma sagittifolia (L.) Schott.*). *Universitas Sebelas Maret*. 44-45
34. Dewi, N. P., Afifah, A. S., Tandi, J., & Yusriadi. (2018). Efek Ekstrak Etanol Daun Jambu Air (*Syzygium aqueum (Burm.f.) Alston*) Terhadap Histopatologi Pankreas Tikus Putih. **Farmakologika: Jurnal Farmasi**, *15*(1), 18–26.
35. Yanti, E. D., Dewi, N. W. S., & Jawi, I. M. (2019). Kombinasi Ekstrak Sambilotto Dengan Metformin Lebih Baik Dalam Memperbaiki Sel Beta Pulau Langerhans Dari Pada Metformin. **E-Jurnal Medika**, *8*(2), 31–40.

36. Damayanti, D. S., Nurdiana, Chandra Kusuma, H. M. S., & Soeatmadji, D. W. (2019). The potency of soursop leaf water extract on activating GLP-1R, inhibiting DPP4 and FOXO1 protein based on in silico analysis. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, *11*(Special Issue 6), 72–79.