

Pengaruh Ekstrak Metanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) terhadap Penurunan Glukosa Darah dan Perbaikan Jaringan Pankreas Tikus Hasil Induksi MLD-STZ

*Effect of Methanolic *Swietenia mahagoni* Seed Extracts to Decreasing Blood Glucose Content and Repair Pancreatic Tissue Damage of Rat Multiple Low Dose-Streptozotocin (MLD-STZ) Induced*

Nany Suryani*

STIKES Husada Borneo, Jl. A. Yani Km 30,5 No.4 Banjarbaru, Kalimantan Selatan

*korespondensi : nan_cdy@yahoo.co.id

Abstract

*Cancer is a disease that causes most deaths in this century. In general, cancer can affect Diabetes Mellitus (DM) is a disease with metabolism disorder signed by increasing of glucose blood (hyperglycemia), caused by disorder of insulin secretion and or increasing of insulin resistance. Therapy of Methanolic *Swietenia mahagoni* Seed Extracts is an alternative treatment for DM. The objective of this research is to prove the effect of extract of *Swietenia mahagoni* Jacq to decreasing blood glucose content and repair pancreatic tissue damage of rat result Multiple Low Dose-Streptozotocin (MLD-STZ) induced dose of 20 mg/kg weight for 5 days successively. Blood glucose of rat was measured using digital glucometer and categorized as DM if it is ≥ 300 mg/dL. This research used 25 wistar strained white rat (*Rattus norvegicus*). Which were classified into 5 groups, they are one group of negative control, one group of positive control, and three groups of MLD-STZ induced given treatment of Methanolic *Swietenia mahagoni* Seed Extracts with dose of 100, 250 and 400 mg/kg weight for 7 days. The result showed that treatment of Methanolic *Swietenia mahagoni* Seed Extracts with dose of 100, 250 and 400 mg/kgBW decreased blood glucose 55,47%; 81,01% and 73,63% successively, and improved damage of pancreas tissue from decreasing in the degree of insulitis ($p < 0.05$). There was a protective effect of methanolic *Swietenia mahagoni* seed extract to blood glucose and damage of rat pancreas tissue MLD-STZ induced. The therapeutic effect was optimal at dose of 250 mg/kgBW.*

Keywords : *Methanolic *Swietenia mahagoni* seed extract, insulin, TNF- α expression, damage of pancreas tissue, and MLD-STZ*

Pendahuluan

Diabetes mellitus adalah penyakit multifaktorial, yang ditandai dengan sindroma hiperglikemia kronis dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak serta protein yang disebabkan insufisiensi sekresi insulin ataupun aktivitas endogen insulin atau keduanya (1). Data *World Health Organisation* (WHO) pada tahun 2003 tercatat hampir 200 juta orang di dunia menderita diabetes dan diperkirakan pada tahun 2025 jumlah penderita bisa mencapai sekitar 330 juta jiwa (2). Secara epidemiologi, diperkirakan bahwa pada tahun 2030 prevalensi Diabetes Melitus (DM) di Indonesia mencapai 21,3 juta orang (3). Sedangkan hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007, diperoleh bahwa proporsi penyebab kematian akibat DM pada kelompok usia 45-54 tahun di daerah perkotaan menduduki ranking ke-2 yaitu 14,7%. Dan daerah pedesaan DM menduduki ranking ke-6 yaitu 5,8% (4).

Diabetes Melitus (DM) tipe 1 ditandai oleh kerusakan selektif dari sel-sel beta pankreas penghasil insulin melalui mekanisme *cellular mediated autoimmune*. Suatu penyusupan sel-sel inflamatori ke dalam pulau langerhans, yaitu insulitis, yang diikuti oleh kematian sel beta karena proses fagositosis oleh makrofag, ciri khas kondisi patologi DM tipe 1 didominasi respon limfosit T CD4+ penghasil IFN- γ . IFN- γ memicu makrofag mensekresi sitokin-sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , TNF- α oleh sel T (5).

Mahoni merupakan salah satu tumbuhan yang digunakan masyarakat untuk pengobatan diabetes mellitus. Bagian yang digunakan dari mahoni adalah biji. Kandungan bahan kimia dari biji mahoni adalah flavonoid, alkaloid, terpenoid, antraquinon, cardiac glycosides, saponin dan volatile oils (6, 7). Ghosh et al., (8) melaporkan ekstrak methanol biji mahoni dosis 50 dan 100mg/kgBB mempunyai efek

farmakologi sebagai anti inflamasi, analgesik dan antipiretik pada hewan coba yang dilukai bagian telinganya. Selain itu pemberian ekstrak methanol : air (3:1) biji mahoni dosis 250 mg/kgBB selama 21 hari dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus *Rattus norvegicus* strain wistar yang diinduksi streptozotocin (STZ) dosis tunggal 4 mg/grBB (9). Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh pemberian terapi ekstrak metanol biji mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) dapat mempengaruhi kadar glukosa darah dan memperbaiki jaringan pankreas pada tikus hasil induksi Multiple Low Dose Streptozotocin (MLD-STZ).

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratorium dengan desain *post test only controlled group*. Menggunakan tikus putih jantan jenis *Rattus norvegicus* strain wistar (penelitian ini telah mendapat persetujuan komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi, Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran, Laboratorium Fisiologi Hewan dan Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang dari bulan Juni sampai Agustus 2012.

Penyiapan Hewan Coba

Berdasarkan perhitungan dengan menggunakan rumus Federer dihasilkan jumlah sampel sebanyak 25 ekor tikus putih jantan jenis *Rattus norvegicus* strain wistar jantan dengan berat 100-130 gram, umur 2 bulan digunakan dalam penelitian ini. Masing-masing 5 ekor kelompok kontrol negatif, 5 ekor kelompok DM (kontrol positif), 15 ekor kelompok tikus DM yang diberi terapi ekstrak etanol biji mahoni dosis 100 mg/kgBB, 250 mg/kgBB dan 400 mg/kg BB (masing-masing 5 ekor tikus).

Ekstraksi Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq)

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol (7). Serbuk biji mahoni dimasukkan ke dalam botol berwarna gelap, kemudian ditambahkan pelarut metanol, ditutup dan dibiarkan selama dua hari terlindung dari cahaya sambil diaduk, disaring sehingga

didapat maserat. Ampas dimaserasi dengan metanol menggunakan prosedur yang sama, maserasi dilakukan sampai diperoleh maserat yang jernih. Semua maserat metanol digabungkan dan diuapkan dengan menggunakan evaporator pada temperatur $\pm 40^{\circ}\text{C}$ sampai diperoleh ekstrak metanol kental.

Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Tikus diukur kadar glukosa darahnya yang diperoleh dari darah ujung ekor (vena lateralis). Caranya tikus yang diambil darahnya ditempatkan pada tempat yang hanya memuat 1 ekor tikus, dengan posisi ekor berada diluar. Kemuadian ekor tikus dibasahi dengan air hangat dengan tujuan untuk vasodilatasi pembuluh darah, setelah itu baru diambil darah dengan menggunakan blood lancet. Pengukuran glukosa darah menggunakan alat glucometer. Darah dari ekor tikus diteteskan pada strip yang terhubung dengan glucometer kemudian dibiarkan selama 6 detik dan dibaca skala yang terlihat pada layar, dimana satuan skala pengukuran yang terbaca mg/dL.

Pembuatan Preparat Pankreas

Organ pankreas yang telah memadat dalam blok paraffin dipotong dengan menggunakan microtom. Pankreas diiris dengan ukuran 5 μm . Potongan preparat dikeringkan dan diletakkan diatas hot plate 38-40 $^{\circ}\text{C}$ sampai kering selanjutnya preparat disimpan dalam inkubator suhu 38-40 $^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam.

Pewarnaan Hematoxylen-Eosin

Pewarnaan hematoxylen-Eosin diawali dari tahap deparafinasi yakni preparat dimasukkan dalam xylol bertingkat 1-3 masing-masing selama 5 menit. Selanjutnya pada tahap rehidrasi preparat dimasukkan dalam etanol bertingkat 95, 90, 80 dan 70% masing-masing selama 5 menit, direndam dalam aquades selama 5 menit, preparat dimasukkan dalam pewarna hematoxylen sampai didapatkan hasil warna yang terbaik 10 menit. Cuci dengan air mengalir selama 30 menit, kemudian dibilas dengan aquades sebelum diwarnai dengan eosin. selama 5 menit. Selanjutnya tahap dehidrasi dengan memasukkan perparat pada seri etanol bertingkat dari 80, 90 dan 95% hingga etanol absolut 1-3. Lakukan clearing dengan

memasukkan preparat pada xylol 1,2 dan dikeringanginkan. Selanjutnya dilakukan mounting dengan entellan.

Analisa Data

Data yang didapat berupa data diskriptif dan disajikan dalam bentuk tabel. Analisa data dilakukan dengan menguji homogenitas, normagenitas, untuk mengetahui adanya perbedaan antara kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan dilakukan uji ANOVA serta untuk mengetahui adanya hubungan dan pengaruh dari pemberian ekstrak biji mahoni dilakukan uji regresi kuadratik dengan menggunakan perangkat lunak SPSS 14.

Hasil Penelitian

A. Ekstrak Metanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq)

Penelitian ini menggunakan biji mahoni 159 gram biji mahoni basah kemudian dikeringkan, diperoleh 105 gram serbuk biji mahoni, selanjutnya diekstraksi dengan methanol menghasilkan ekstrak kental sebanyak 13243,2 mg.

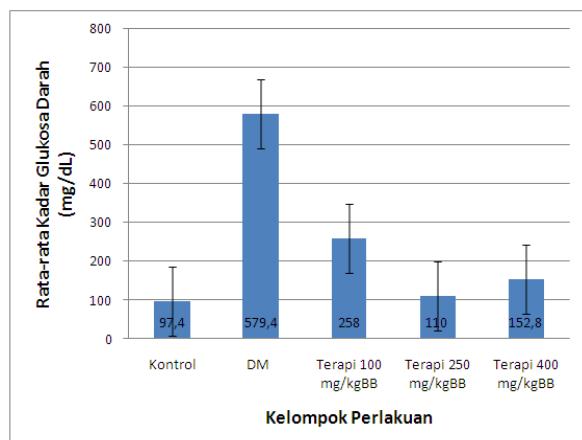
Kadar Glukosa Darah Tikus Hasil Induksi MLD-STZ dan Terapi Ekstrak Metanol Biji Mahoni

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan sebanyak 3 kali yaitu sebelum induksi MLD-STZ, setelah inkubasi 14 hari pasca induksi MLD-STZ dan setelah pemberian terapi ekstrak biji mahoni dosis 100; 250 dan 400 mg/dl terlihat pada Tabel 1, dari hasil tersebut menunjukkan terjadinya peningkatan setelah induksi dengan streptozotocin dan penurunan kadar glukosa darah setelah mendapatkan terapi ekstrak biji mahoni. Kadar glukosa darah ini diukur dengan menggunakan glucometer digital.

Tabel 1. Kadar Glukosa Darah Tikus Kontrol, DM dan Terapi Ekstrak Metanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq)

Kelompok	Rata-rata kadar	p-value
----------	-----------------	---------

Perlakuan	glukosa darah (mg/dL)	terhadap DM
Kontrol	97,4 ± 8,02	0,000
DM	579,4 ± 31,09	-
Terapi 100mg/kgBB	258,0 ± 16,32	0,000
Terapi 250mg/kgBB	110,0 ± 5,43	0,000
Terapi 400mg/kgBB	152,8 ± 6,09	0,000



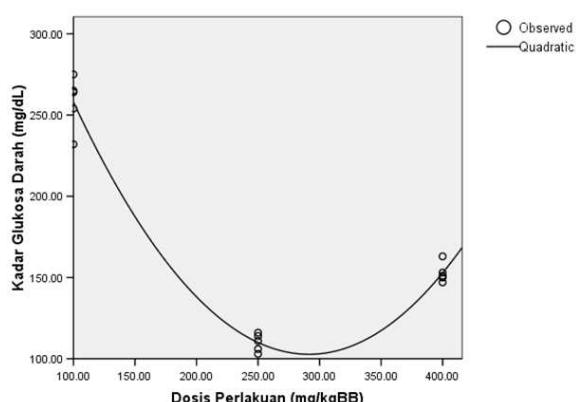
Gambar 1. Kadar Glukosa Darah Tikus Kontrol, DM dan Terapi Ekstrak Metanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq).

Berdasarkan hasil penelitian, terlihat bahwa kadar glukosa darah kelompok tikus kontrol yaitu $(97,4 \pm 8,02)$ mg/dl termasuk dalam rentang kadar glukosa darah tikus normal yaitu 50-135 mg/dl (10). Sedangkan kadar glukosa darah pada kelompok tikus yang diinduksi MLD-STZ dosis 20 mg/kgBB mengalami kenaikan kadar glukosa darah yaitu $(579,4 \pm 31,09)$ mg/dl, juga termasuk dalam rentang kadar glukosa darah tikus DM yaitu ≥ 300 mg/dl (Nurdiana dkk, 1998). Kadar glukosa darah tikus mengalami penurunan yang signifikan pasca terapi ekstrak methanol biji mahoni dosis 100; 250 dan 400 mg/kgBB yaitu $(258,0 \pm 16,32)$; $(110 \pm 5,43)$ dan $(152,8 \pm 6,09)$ mg/dl. Dari hasil analisa statistic menunjukkan terdapat perbedaan yang sangat nyata ($p<0,05$) antara kadar glukosa darah pada tikus dengan tikus yang diinduksi MLD-STZ.

B. Hubungan Dosis Esktrak Metanol Biji Mahoni dengan Kadar Glukosa Darah Tikus Hasil Induksi MLD-STZ

Berdasarkan analisis regresi kuadratik yang dilakukan dengan koefisien

determinasi $R^2=0,978$ dan koefisien korelasi $R=0,989$. Artinya model regresi kuadratik mampu menjelaskan keragaman kadar glukosa darah sebesar 97,8% dan mempunyai hubungan yang sangat kuat antara dosis perlakuan terhadap kadar glukosa darah. Pendugaan model tersebut dilakukan dengan bantuan program SPSS versi 14, sehingga menghasilkan persamaan sebagai berikut: $y = 462,667 - 2,471x + 0,004x^2$ (1). Persamaan (1) dapat digunakan untuk keperluan peramalan respon kadar glukosa darah berdasarkan dosis perlakuan yang diberikan dan sekaligus menentukan kondisi optimum dengan konsep deferensial. Hasil diferensiasi model regresi ordo kedua merupakan suatu persamaan linear, yaitu: $-2,471 + 0,008x = 0$ (2). Penyelesaian dari persamaan (2) menghasilkan titik optimum $x = 308,875$ yang berarti dosis perlakuan ekstrak metanol biji mahoni sebesar 308,875 mg/kgBB. Kadar glukosa darah dapat diketahui dengan cara mensubstitusikan nilai $x = 308,875$ ke dalam persamaan (1), sehingga diperoleh nilai $y = 81,052$. Dengan demikian, penurunan kadar glukosa darah maksimum sebesar 81,052 mg/dL dicapai pada dosis perlakuan sebesar 308,875



mg/kgBB.

Gambar 2. Hubungan Dosis Ekstrak Metanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) terhadap Perubahan Kadar Glukosa Darah Tikus Hasil Induksi MLD-STZ

Gambar 2 menunjukkan bentuk hubungan antara dosis perlakuan dengan kadar glukosa darah tikus yang diberikan ekstrak metanol biji mahoni. Hubungan tersebut menerangkan bahwa kadar glukosa darah terus menurun seiring dengan adanya

pertambahan dosis ekstrak metanol biji mahoni sampai mencapai titik tertentu dan setelah melewati titik optimum akan mengalami peningkatan. Hasil perhitungan secara matematis dari model regresi kuadratik (persamaan 1), telah diperoleh penurunan kadar glukosa maksimum sebesar 81,052 mg/dL yang dicapai pada dosis perlakuan 308,857 mg/kgBB.

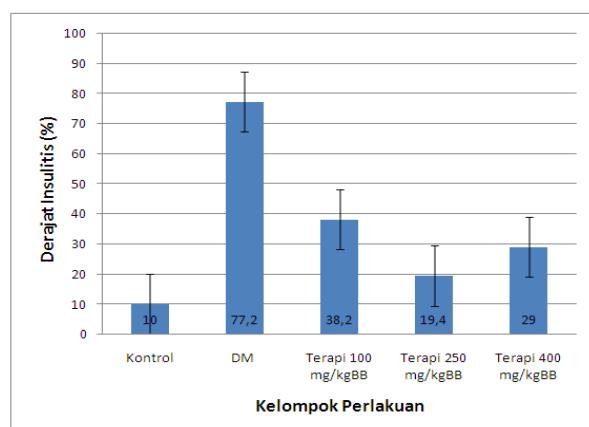
Perbaikan Jaringan Pankreas (Derajat Insulitis) Tikus Kontrol, Tikus DM dan Tikus Terapi Ekstrak Metanol Biji Mahoni

Hasil penelitian (Gambar 4) menunjukkan bahwa pulau langerhans tikus kontrol masih terlihat sedikitnya rongga atau ruang interseluler dan banyak sel beta pankreas penghasil hormon insulin. Sedangkan pada tikus diabetes mellitus terdapat banyak rongga atau ruang interseluler pada pulau langerhans yang menyebabkan berkurangnya jumlah sel beta pankreas penghasil insulin. Data penelitian menunjukkan adanya perbaikan jaringan pankreas yang paling baik pada pemberian terapi ekstrak metanol biji mahoni dosis 250 mg/kgBB. Hal ini sejalan dengan hasil analisa statistic bahwa terapi dosis 250 mg/kgBB berbeda secara signifikan ($p<0,05$) dengan terapi dosis 100 dan 400 mg/kgBB. Terapi dosis 250 mg/kgBB yang diberikan pada tikus DM menunjukkan perbaikan jaringan pankreas yang paling baik, hal ini sesuai dengan data penurunan kadar glukosa darah, peningkatan kadar insulin dan penurunan ekspresi TNF- α yang paling baik dibandingkan dengan pemberian terapi dosis 100 dan 400 mg/kgBB. Rata-rata derajat insulitis dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 3.

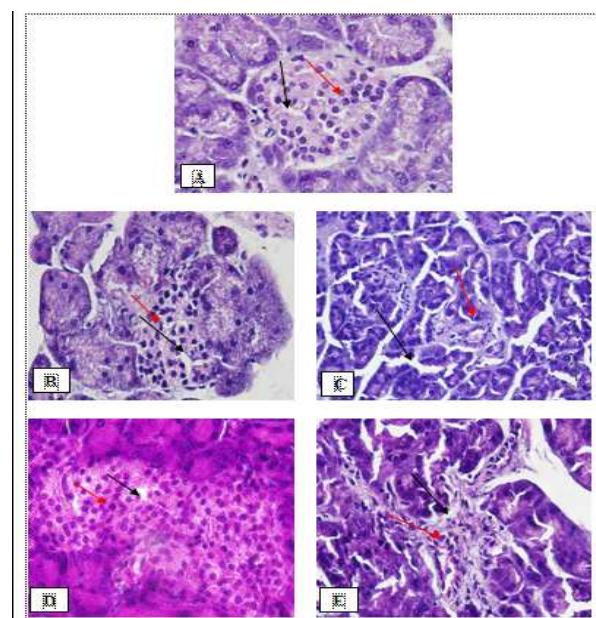
Tabel 2. Kerusakan Jaringan Pankreas (Derajat Insulitis) pada Tikus Kontrol, Tikus DM dan Tikus Terapi Ekstrak Metanol Biji Mahoni

Kelompok Perlakuan	Rata-rata Derajat Insulitis (%)	p-value terhadap DM
--------------------	---------------------------------	---------------------

Kontrol	$10,00 \pm 1,58$	0,000
DM	$77,20 \pm 6,22$	-
Terapi 100mg/kgBB	$38,20 \pm 4,27$	0,000
Terapi 250mg/kgBB	$18,40 \pm 3,58$	0,000
Terapi 400mg/kgBB	$28,00 \pm 4,18$	0,000



Gambar 3. Kerusakan Jaringan Pankreas (Derajat Insulitis) pada Tikus Kontrol, Tikus DM dan Tikus Terapi Ekstrak Metanol Biji Mahoni



Gambar 4. Hasil Pewarnaan HE pada pulau langerhans pankreas

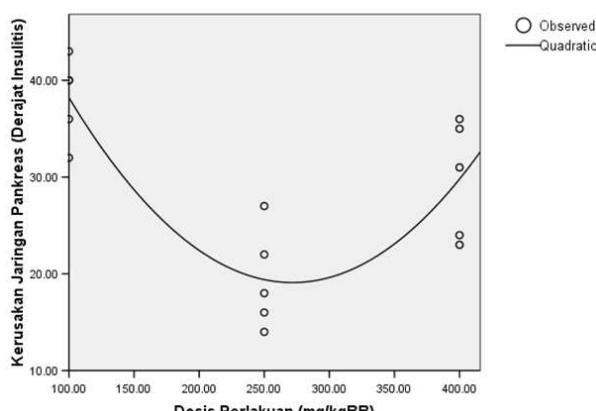
Keterangan: A: Pulau langerhans tikus kontrol (skor 1); B: Pulau langerhans tikus DM (skor 3-4); C: Pulau langerhans tikus terapi ekstrak biji mahoni dosis 100 mg/kgBB (skor 2); D: Pulau langerhans tikus terapi ekstrak biji mahoni dosis 250

mg/kgBB (skor 1-2); E: Pulau langerhans tikus terapi ekstrak biji mahoni dosis 400 mg/kgBB (skor 1-2). Pembesaran 400x; Panah hitam: rongga interseluler; panah merah: sel beta pankreas.

Hubungan Dosis Ekstrak Metanol Biji Mahoni dengan Perbaikan Jaringan Pankreas yang Rusak (Derajat Insulitis) Tikus Hasil Induksi MLD-STZ

Berdasarkan analisa regresi kuadratik dengan koefisien determinasi $R^2=0,731$ dan koefisien korelasi $R=0,855$. Artinya model regresi kuadratik mampu menjelaskan keragaman kadar glukosa darah sebesar 73,1% dan mempunyai hubungan yang sangat kuat antara dosis perlakuan terhadap kadar glukosa darah.

Pendugaan model tersebut dilakukan dengan bantuan program SPSS versi 14, sehingga menghasilkan persamaan sebagai berikut: $y = 71,155 - 0,352x + 0,00059x^2$ (1). Persamaan (1) dapat digunakan untuk keperluan peramalan respon perbaikan jaringan pankreas yang rusak berdasarkan dosis perlakuan yang diberikan dan sekaligus menentukan kondisi optimum dengan konsep deferensial. Hasil diferensiasi model regresi ordo kedua merupakan suatu persamaan linear, yaitu: $-0,352 + 0,00118x = 0$ (2). Penyelesaian dari persamaan (2) menghasilkan titik optimum $x = 298,31$ yang berarti dosis perlakuan ekstrak metanol biji mahoni sebesar 298,31 mg/kgBB. Perbaikan jaringan pankreas yang rusak dapat diketahui dengan cara mensubstitusikan nilai $x = 298,31$ ke dalam persamaan (1), sehingga diperoleh nilai $y = 18,65$. Dengan demikian, penurunan kerusakan jaringan pankreas (derajat insulitis) maksimum sebesar 18,65 dicapai pada dosis perlakuan sebesar 298,31 mg/kgBB.



Gambar 5. Hubungan Dosis Ekstrak Metanol Biji Mahoni (*Swetenia mahagoni* Jacq) terhadap Kerusakan Jaringan Pankreas (derajat insulitis) Tikus Hasil Induksi MLD-STZ

Gambar 5 menunjukkan bentuk hubungan antara dosis perlakuan dengan perbaikan jaringan pankreas tikus yang diberikan ekstrak metanol biji mahoni. Hubungan tersebut menerangkan bahwa kerusakan jaringan pankreas (derajat insulitis) terus menurun seiring dengan adanya pertambahan dosis ekstrak metanol biji mahoni sampai mencapai titik tertentu dan setelah melewati titik optimum akan mengalami peningkatan. Hasil perhitungan secara matematis dari model regresi kuadratik (persamaan 1), telah diperoleh penurunan kerusakan jaringan pankreas (derajat insulitis) maksimum sebesar 18,65 yang dicapai pada dosis perlakuan 298,31 mg/kgBB.

Pembahasan

A. Ekstrak Metanol Biji Mahoni (*Swetenia mahagoni* Jaqc)

Biji mahoni didapatkan dari pekarangan Universitas Brawijaya. Seratus gram bubuk biji mahoni kering diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol yang diendapkan selama 24 jam sampai terbentuk filtrate jernih pada bagian atas. Selanjutnya filtrate yang didapat dipisahkan antara pelarut metanol dengan bahan aktif yang terdapat dalam biji mahoni melalui proses evaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental bila diperhitungkan terhadap kadar keringnya sebesar 13,243 gram (12,61%). Kandungan bahan aktif dalam ekstrak biji mahoni antara

lain flavonoid, alkaloid, terpenoid, antraquinon, cardiac glycosides, saponin dan volatile oils (6, 7). Menurut Sahgal et al. (2009) pada 1 gram ekstrak biji mahoni mengandung phenolic sebesar $26,9 \pm 0,26$ mg setara dengan asam galat dan flavonoid sebesar $2,5 \pm 0,15$ mg setara dengan katekin. Bila dikonversikan dengan penelitian Sahgal et al. (2009) dari 13,243 gram ekstrak biji mahoni pada penelitian ini kandungan phenolic dan flavonoid sebesar $356,24 \pm 3,44$ mg setara dengan asam galat dan $33,11 \pm 88,29$ mg setara dengan katekin.

Kadar Glukosa Darah Tikus Setelah Induksi MLD-STZ dan Terapi Ekstrak Metanol Biji Mahoni

Penyiapan tikus diabetes dilakukan dengan injeksi streptozotocin dosis rendah berulang (MLD-STZ) secara intraperitoneal (i.p). Dosis streptozotocin yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 mg/kgBB/hari selama 5 hari berturut-turut (11) dan diinkubasi selama 14 hari. Injeksi MLD-STZ tersebut dapat menyebabkan tikus menderita diabetes (DM) tipe 1. Dikatakan menderita DM bila kadar glukosa darah > 300 mg/dL (12).

Diabetes tipe 1 ditandai dengan kerusakan sel β pankreas melalui reaksi autoimun yang melibatkan sel T CD4+ (Th) dan peningkatan kadar glukosa darah. Pengaruh dari induksi STZ akan meningkatkan ekspresi sel-sel inflamatori (TNF- α , IFN- γ , IL-1 β) dan menimbulkan manifestasi meningkatnya kadar glukosa darah. Streptozotocin merupakan nitrosurea yang bersifat sitotoksik spesifik pada sel beta pankreas.

Induksi STZ akan menyebabkan terjadinya alkilasi DNA. Kerusakan DNA akan memicu produksi enzim poli (ADP-ribosa) sintase, yaitu enzim yang diperlukan untuk memperbaiki kerusakan DNA. Enzim ini memerlukan NAD (nikotinamida adenine dinukleotida) sebagai substratnya, sehingga kandungan NAD+ dalam sel menurun. Menurunnya kadar NAD+ selular juga menyebabkan penurunan jumlah ATP sehingga sintesis dan sekresi insulin dapat terhambat yang menyebabkan hiperglikemia. Streptozotocin sebagai donor NO yang mampu meningkatkan spesies oksigen reaktif (ROS) diantaranya radikal

superokksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^-) dan hydrogen peroksida (H_2O_2). Radikal NO dalam bentuk bebas ataupun dalam bentuk senyawa peroksinitrit ($ONOO^-$), reaksi yang dihasilkan dari reaksi NO dengan O_2^- bersifat sangat toksik terhadap sel beta pankreas karena dapat menyebabkan kerusakan DNA pankreas. Dalam mitokondria, STZ menyebabkan siklus krebs terhambat serta pemakaian oksigen dalam mitokondria pun menurun sehingga produksi ATP mitokondria menjadi terbatas. Meningkatnya penurunan produksi ATP dalam mitokondria dapat meningkatkan pasokan substrat untuk enzim xantin oksidase akan mengkatalisis reaksi pembentukan anion superokksida (O_2^-) aktif (13). Peningkatan radikal superokksida menyebabkan meningkatnya hydrogen peroksida dan radikal hidroksil yang mengakibatkan terjadinya kerusakan pankreas dan terhambatnya sentesis dan sekresi insulin sehingga terjadi hiperglikemia.

Berdasarkan hasil pengukuran menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus mengalami penurunan yang signifikan pasca terapi ekstrak metanol biji mahoni dengan dosis 100; 250; dan 400 mg/kgBB ($p<0,05$). Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh (Linghuat, 2008 dan Debasis et al., 2010) bahwa terapi ekstrak biji mahoni dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes mellitus. Penurunan kadar glukosa darah terjadi dikarenakan adanya perbaikan jaringan pankreas, sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin akibatnya glukosa dalam darah dapat diserap kedalam sel dan dapat diubah menjadi energi atau disimpan dalam bentuk glikogen dalam hati dan otot. Hal ini juga sesuai dengan analisa korelasi antara kadar glukosa darah dengan insulin yang mempunyai hubungan (korelasi) negatif yang bermakna ($p<0,05$), dimana peningkatan kadar insulin plasma dapat menurunkan kadar glukosa darah.

Menurut Maiti et al (2009) senyawa swietenine yang diisolasi dari jenis *Swietenia macrophylla* memiliki efek hipoglikemik yang dapat menurunkan kadar glukosa darah (15). Ekstrak biji mahoni mengandung senyawa-senyawa yang terdiri dari flavonoid, alkaloid, terpenoid, antraquinon, cardiac glycosides, saponin

dan volatile oils (6, 7) yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan ini mampu menangkap radikal bebas yang menyebabkan perbaikan pada kerusakan sel beta pankreas penyebab DM tipe 1. Dengan adanya perbaikan pada jaringan pankreas, maka terjadi peningkatan jumlah insulin didalam tubuh sehingga glukosa darah akan masuk kedalam sel sehingga terjadi penurunan glukosa darah dalam tubuh.

Pengaruh hipoglikemik ekstrak metanol biji mahoni tidak sesuai dengan dosis yang diberikan, artinya pada peningkatan dosis dari 250 mg/kgBB menjadi 400 mg/kgBB cenderung meningkatkan kadar glukosa darah. Keadaan ini kemungkinan disebabkan karena kandungan ekstrak metanol biji mahoni yang kompleks yang masing-masing dapat bekerja secara non spesifik pada kadar glukosa darah tikus yang diinduksi MLD-STZ. Peningkatan kadar glukosa darah tikus yang diterapi dengan ekstrak metanol biji mahoni dosis 400 mg/kgBB kemungkinan juga menyebabkan kandungan antioksidan yang banyak terdapat dalam ekstrak metanol biji mahoni yang berubah menjadi prooksidan.

Perbaikan Jaringan Pankreas (Derajat Insulitis) Tikus Kontrol, Tikus DM dan Tikus DM yang Mendapat Terapi Ekstrak Biji Mahoni

Induksi agen diabetonik STZ menyebabkan peradangan sel beta pankreas (insulitis). Insulitis merupakan suatu penyusupan atau infiltrasi sel-sel mononuclear ke dalam pulau langerhans dari jaringan pankreas. Pada insulitis sel yang mendominasi adalah sel mononuclear (makrofag, limfosit dan monosit) (21). Tingkatkan infiltrasi sel-sel mononuclear ke dalam pulau langerhans pada jaringan pankreas dapat diketahui dengan menghitung derajat insulitis. Skor derajat insulitis berkisar antara 0-4. Skor 0, tidak ditemukan lesi; skor 1, terdapat insulitis $<25\%$; skor 2, $<50\%$ pulau langerhans diinfiltrasi; skor 3, $<75\%$ pulau langerhans diinfiltrasi; skor 4, $>75\%$ mengalami infiltrasi atau degenerasi.

Berdasarkan analisa statistik menunjukkan perbaikan jaringan pankreas tikus terapi bahwa berbeda sangat nyata

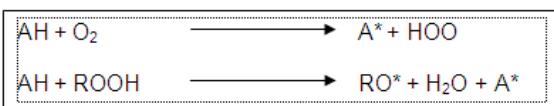
(p<0,05) dengan tikus DM. Hal ini menunjukkan bahwa secara signifikan terapi ekstrak metanol biji mahoni pada tikus DM dapat menurunkan skor derajat insulitis jaringan pankreas. Pemberian terapi ekstrak biji mahoni dosis 100; 250; 400 mg/kgBB menunjukkan penurunan skor derajat insulitis yang berakibat pada perbaikan kerusakan jaringan pankreas. Ekstrak biji mahoni mengandung senyawa-senyawa dan bahan aktif yang memiliki aktivitas antioksidan. Selain itu menurut (8) ekstrak biji mahoni mempunyai efek farmakologi sebagai antiinflamasi. Aktivitas antioksidan pada ekstrak biji mahoni mampu menangkap radikal bebas, sehingga dapat terjadi perbaikan pada kerusakan jaringan pankreas. Dengan demikian proses terjadinya radang akan berkurang dan aktivitas makrofag pun juga terhambat sehingga terjadi penurunan fagositosis sel beta pankreas.

Pengaruh Ketiga Dosis Ekstrak Metanol Biji Mahoni Terhadap Kadar Glukosa Darah, Kadar Insulin, Ekspresi TNF- α dan Derajat Insulitis

Ekstrak metanol biji mahoni secara bermakna (p<0,05) dapat menurunkan kadar glukosa darah, meningkatkan kadar insulin plasma, menurunkan ekspresi TNF- α dan menurunkan derajat insulitis pada kerusakan jaringan pankreas tikus yang diinduksi MLD-STZ. Terlihat pada Table 5 dari ketiga dosis terapi ekstrak metanol biji mahoni, dosis 250 mg/kgBB merupakan dosis yang menunjukkan hasil yang paling mendekati tikus kontrol baik itu dilihat dari penurunan kadar glukosa darah, pengingkatan kadar insulin, penurunan ekspresi TNF- α maupun penurunan derajat insulitis pada perbaikan jaringan pankreas.

Pada dosis 400 mg/kgBB efeknya justru lebih kecil dibandingkan dengan dosis 250 mg/kgBB. Hal tersebut kemungkinan terkait dengan banyaknya kandungan senyawa dan bahan aktif yang ada pada ekstrak biji mahoni yang kompleks yang masing-masing dapat bekerja secara tidak spesifik pada tikus hasil induksi MLD-STZ. Hal ini sering dijumpai pada aktivitas ekstrak bahan alam yang merupakan campuran multikomponen. Dimana komponen-komponen tersebut dapat saling sinergis, aditif maupun antagonis. Kemungkinan pada

dosis yang lebih besar ekstrak metanol biji mahoni dapat memperparah atau tidak berpengaruh pada perbaikan kerusakan jaringan pankreas juga tidak dapat diabaikan. Atau juga kemungkinan diduga peningkatan dosis ekstrak metanol biji mahoni dari 250 menjadi 400 mg/kgBB menyebabkan kandungan senyawa-senyawa dalam biji mahoni yang bertindak sebagai antioksidan mengalami perubahan menjadi prooksidan. Keadaan ini juga sesuai dengan pendapat Gordon (1993) yang menyatakan bahwa besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi (22). Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut berubah menjadi prooksidan. Oleh karena itu peningkatan dosis ekstrak biji mahoni sebagai antioksidan dapat mengubah fungsi antioksidan sehingga beralih fungsi menjadi prooksidan yang dapat merusak sel sebagaimana radikal bebas. Untuk itu perlu dikaji lebih lanjut efek toksik dari ekstrak metanol biji mahoni dalam kaitannya dengan penggunaannya sebagai terapi protektif pada perbaikan kerusakan jaringan pankreas.



Gambar 6. Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi (Gordon, 1993)

Berdasarkan hasil analisa regresi kuadratik, pertama pada analisa hubungan dosis perlakuan dengan kadar glukosa darah terlihat adanya penurunan kadar glukosa darah sampai titik maksimum yaitu pada pemberian dosis maksimum 308,857 mg/kgBB dengan kadar glukosa darah sebesar 81,052 mg/dL. Namun pada pemberian dosis melebihi 308,857 mg/kgBB kadar glukosa darah mengalami peningkatan kembali. Kedua pada analisa hubungan dosis perlakuan dengan kadar insulin terjadi peningkatan kadar insulin sampai pada titik maksimum yaitu pada dosis 290 mg/kgBB dengan kadar insulin sebesar 2,865 ng/dL. Namun pada pemberian dosis melebihi 290 mg/kgBB kadar insulin mengalami penurunan kembali.

Ketiga pada analisa hubungan dosis dengan ekspresi TNF- α terjadi penurunan ekspresi TNF- α sampai pada titik maksimum yaitu pada dosis 290 mg/kgBB dengan nilai ekspresi TNF- α sebesar 5,152. Namun pada pemberian dosis melebihi 290 mg/kgBB ekspresi TNF- α mengalami peningkatan kembali. Keempat pada analisa hubungan dosis perlakuan dengan kerusakan jaringan pankreas (derajat insulitis), dimana terjadi penurunan kerusakan jaringan pankreas sampai pada titik maksimum yaitu pada dosis 298,31 mg/kgBB dengan nilai derajat insulitis sebesar 18,65. Namun pada memberian dosis melebihi dosis 298,31 mg/kgBB kerusakan jaringan pankreas (derajat insulitis) mengalami peningkatan kembali.

Berdasarkan hasil analisa tersebut dapat memberikan informasi rata-rata dosis maksimum yang diberikan pada tikus hasil induksi MLD-STZ. Rata-rata dosis ekstrak biji mahoni maksimum sebesar 296,792 mg/kgBB yang memberikan pengaruh yang maksimum pula pada penurunan kadar glukosa darah, kadar insulin, ekspresi TNF- α dan dalam memperbaiki kerusakan jaringan pankreas. Penggunaan dosis yang melebihi dosis 296,792 mg/kgBB akan memberikan dampak negatif, sehingga dalam penggunaannya harus dengan kehati-hatian.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik kesimpulan bahwa:

Pemberian terapi ekstrak methanol biji mahoni dosis 100; 250 dan 400 mg/kgBB pada tikus yang diinduksi MLD-STZ menunjukkan penurunan kadar glukosa darah berturut-turut sebesar 55,47%; 81,01% dan 73,63%

Pemberian terapi ekstrak methanol biji mahoni dosis 100; 250 dan 400 mg/kgBB pada tikus yang diinduksi MLD-STZ menunjukkan adanya perbaikan gambaran histologis jaringan pankreas dan dosis yang memberikan efek mendekati kontrol adalah dosis 250 mg/kgBB yang menunjukkan efek optimal dari penurunan kadar glukosa darah sebesar 70% dan perbaikan jaringan pankreas yang rusak sebesar 76,17%.

Daftar Pustaka

1. Sivakumar S., Subramanian SP. 2009. Pancreatic tissue protective nature of D-Pinitol studied in streptozotocin-mediated oxidative in experimental diabetic rats. Eur.J of Pharmacol, 622:56-70.
2. WHO. 2006. Diabetes. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>
3. [ADA] American Diabetes Association. 2011. Standards of Medical Care in Diabetes-2011. Diabetes Care, Vol.34, DOI:10.2337/dc11-S011.
4. [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2011. Jumlah Penderita Diabetes Indonesia Ranking ke-4 Di Dunia <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=1183&Itemid=2>. direkam pada 12 Maret 2011.
5. Karen G.B., Iris R. 2010. Imunologi Dasar. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta
6. Hajli Z. 2011. Isolasi Senyawa Golongan Flavonoid Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) yang Berpotensi sebagai Antioksidan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
7. Sahgal G, S. Ramanathan, S. Sasidharan, MN. Mordi, S. Ismail and SM. Mansor. 2009. Phytochemical and antimicrobial activity of *Swietenia mahagoni* crude methanolic seed extract. Tropical Biol 26:274-279.
8. Ghosh S., SE. Besra, K. Roy, JK. Gupta and JR. Vedasiromoni. 2009. Pharmacological effects of methanolic extract of *Swietenia Mahagoni* Jacq (meliaceae) seeds. Int J Green Pharm; 3:206-10
9. Debasis De., C. Kausik, M.A. Kazi, and K.B. Tushar. 2010. Antidiabetic Potentiability of the Aqueous-Methanolic Extract of Seed of *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. In Streptozotocin-Induced Diabetic Male Albino Rat: A Correlative and Evidence-Based Approach with Antioxidative and Antihyperlipidemic Activities Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2011, Article ID

- 892807, 11 pages doi:10.1155/2011/892807.
10. Benjamin E.M. 2002. Self Monitoring of Blood Glucose: The basics. *Clinical Diabetes*, 20(1):454-457
 11. Aulanni'am. 2011. Superoxide Dismutase (SOD) Activity and Histological Pancreas of Type 1 Diabetes Mellitus Rats Which Get the Temu Giring (*Curcuma heyneana*) Extract Treatment. *Media Kedokteran Hewan* Vol.27-No1.
 12. Nurdiana.N, Permatasari, Setyawati dan M. Ali. 1998. Efek Streptozotocin sebagai Bahan Diabetogenik pada Tikus Wistar dengan Cara Intraperitoneal dan Intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw*. Vol. XIV no.2: hal 66-77.
 13. Nugroho BA, dan E. Puwaningsih. 2004. Pengaruh diet ekstrak rumput laut (*Eucheuma sp.*) terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperglikemik. *Media Medika Indonesia* Vol.39 No. 3, 2004 : 154 – 60.
 14. Linghuat R., 2008. Uji Efek Ekstrak Etanol Biji Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih, Fakultas Farmasi Universitas Sumatra Utara, Medan.
 15. Maiti A., S. Dewanjee dan R. Sahu. 2009. Isolation of Hypoglycemic Phytoconstituent from *Swietenia macrophylla* Seeds. *Phytother Res*. 23:1731-33
 16. Wahyu W, 2008. Potensi Antioksidan sebagai Antidiabetes, *JKM*, Vol. 7 No.2:193-202.
 17. Lugasi A, J. Hovari, KV. Sagi, and L. Biro. 2003. The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biol Szeged* 47:119-125.
 18. Botutihe. 2010. Efek Ekstrak Rumput Laut Coklat (*Sargasum duplicatum* Bory) terhadap Profil Radikal Bebas dan Protein Kinase C Paru Tikus (*Rattus norvegicus*) yang dipapar Benzo[A]piren. *Tesis Program Pascasarjana Universitas Brawijaya Malang*.
 19. Geethaa, Sahgal, S. Ramanathan, S.Sasidharan, M. Nizam, Mordi, S. Ismail and S.M. Mansor. 2010. Brine shrimp lethality and acute oral toxicity studies on *Swietenia mahagoni* (Linn) Jacq. Seed methanolic extract, *Pharmacogn Res*. 2(4):215-220.
 20. Li DD, J.H. Chen, Q. Chen, G.W. Li, J. Chen, J.M. Yue, M.L. Chen, X.P. Wang, J.H. Shen and H.L.Jiang. 2005. *Swietenia mahagoni* extract shows agonistic avtivity to PPAR γ and gives ameliorative effects on diabetic db/db mice. *Acta Pharmacol Sinica*. 26(2):220-22.
 21. Robinovitch A., W. Suarez-Pinzon, L. Sorensen, R. Bleackley, and C.Power R.F. 1995. IFNy Gene Expression in Pancreatic Islet Infiltrating Mononuklear Cells Correlates With Autoimmune Diabetes in Non Obese Diabetic Mice. *Journal Immunology*, 154:4874-4882