

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK HABBATUSSAUDA SEBAGAI UPAYA PREVENTIF TERHADAP KERUSAKAN HISTOPATOLOGI PANKREAS TIKUS PUTIH GALUR WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI ALOKSAN

Yesi Nurmalasari¹, Rakhmi Rafie², Toni Prasetya³, Devan Adhyaksa⁴

Medical Nutrition Departement of Medical Faculty Malahayati University¹

Public Health Departement of Medical Faculty Malahayati University²

Intenal Medicine Departement of Medical Faculty Malahayati University³

Medical Student of Medical Faculty Malahayati University⁴

yesinurmalasari.dr@gmail.com¹,rakhmirafie@yahoo.co.id²

ABSTRACT

The pancreas consists of two main types of tissue, namely the acini and the islets of Langerhans. Asini secretes digestive juices into the duodenum and islets of Langerhans which secrete the hormones insulin and glucagon into the blood (Guyton & Hall, 2016). As a result, there is a disorder or disease that will arise as a result of the damage to the pancreas, one of which is hyperglycemia (Ganong, 2012). In a study conducted by Meral et al, (2004), suggested that Black Seed has many pharmacological effects such as antidiabetic, antihypertensive and antioxidant (Meral et al, 2004). The Research objectives to Determine the effect of the extract Seed or black cumin (Nigella sativa) as a preventive measure against damage to the pancreas histopathology white rat (Rattus norvegicus) Male Wistar Strain Inducted by alloxan. The Method An experimental study of pure post-test with control group design. The samples used were 30 male rats were divided into 5 groups. The Results Based on the results of the Kruskal-Wallis test to see the differences in the treatment groups. The Kruskal-Wallis test results showed that the Asymp.Sig value was 0,000 ($p = 0,000$), so it was smaller than 0.05 ($p \leq 0.05$), which means that there was a significant difference between the treatment groups on the histopathological damage to the pancreas. Based on the results of this conclusion, there is a significant effect of extract of Black Seed (Nigella sativa) as a preventative measure against the white rat pancreatic histopathological damage (rattus norvegicus) male Wistar strain induced by alloxan.

Keywords : Extract of Black Seed, Histopathology, White Rat, Alloxan

ABSTRAK

Pankreas terdiri atas dua jenis jaringan utama, yaitu *asini* dan pulau langerhans. *Asini* mensekresikan getah pencernaan ke dalam duodenum dan pulau langerhans yang mensekresikan hormon insulin dan glukagon ke dalam darah (Guyton & Hall, 2016). Akibatnya terjadi sebuah kelainan atau penyakit yang akan timbul akibat dari kerusakan pankreas tadi salah satunya adalah hiperglikemia (Ganong, 2012). Pada penelitian yang dilakukan oleh Meral *et al*, (2004), mengemukakan bahwa habbatussauda mempunyai banyak efek farmakologis seperti antidiabetes, antihipertensi, dan antioksidan (Meral *et al*, 2004). Tujuan penelitian Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak habbatussauda atau jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai upaya preventif terhadap kerusakan histopatologi pankreas tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan yang diinduksi aloksan. Metode Penelitian ini menggunakan eksperimental murni *post test with control group design*. Sampel yang digunakan sebanyak 30 ekor tikus jantan dibagi menjadi 5 kelompok. Hasil uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan pada kelompok perlakuan. Hasil pengujian *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai *Asymp.Sig* adalah sebesar 0,000 ($p=0,000$) maka lebih kecil daripada 0,05 ($p \leq 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan terhadap kerusakan histopatologi pankreas. Berdasarkan hasil terdapat kesimpulan terdapat pengaruh yang bermakna pemberian ekstrak habbatussauda (*Nigella sativa*) sebagai upaya preventif terhadap kerusakan histopatologi pankreas tikus putih (*rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang diinduksi aloksan.

Kata Kunci : Ekstrak Habbatussauda, Histopatologi, Tikus Putih, Aloksan

PENDAHULUAN

Pankreas merupakan suatu organ pipih memanjang yang berada di belakang lambung. Pankreas terdiri atas dua jenis jaringan utama, yaitu asini dan pulau langerhans. Asini mensekresikan getah pencernaan ke dalam duodenum dan pulau langerhans yang mensekresikan hormon insulin dan glukagon ke dalam darah (Guyton & Hall, 2016). Sel- α pada pankreas memproduksi hormon glukagon yang berfungsi untuk meningkatkan kadar glukosa darah dan membuat semua jenis makanan dapat digunakan dan dirubah menjadi energi. Sel- β pada pankreas memproduksi hormon insulin yang merupakan hormon yang terdiri dari rangkaian asam amino (Guyton & Hall, 2016). Respon sekresi insulin terhadap peningkatan konsentrasi glukosa darah memberikan mekanisme umpan balik yang sangat penting untuk pengaturan konsentrasi glukosa darah, yaitu kenaikan glukosa darah,

Terdapat variasi perubahan histopatologi pada pulau langerhans pankreas yang rusak diantaranya adalah batas antar pulau langerhans yang sudah tidak terlihat, jumlah sel- β pankreas yang mulai berkurang, dan kerusakan dari sel- β pankreas seperti bentuk sel yang tidak normal, dan banyak sel- β yang nekrosis (Boudreau et al, 2006). Akibatnya terjadi sebuah kelainan atau penyakit yang akan timbul akibat dari kerusakan pankreas tadi salah satunya adalah hiperglikemia (Ganong, 2012). Hiperglikemia merupakan suatu kondisi medik berupa peningkatan kadar glukosa dalam darah melebihi batas normal. Menurut World Health Organization (WHO) hiperglikemia adalah kadar glukosa darah ≥ 126 mg-dL (7,0 mmol/L). Cara untuk menurunkan kadar glukosa darah yang meningkat yaitu memperbaiki pola hidup dan dengan penggunaan obat antihiperglikemik atau obat antidiabetik, namun menurut

penelitian yang dilakukan oleh Nolte dan Karam (2002), penggunaan obat antidiabetes biasanya berlangsung sangat lama bahkan bisa sampai seumur hidup, dengan efek samping yang ditimbulkan cukup besar.

Penggunaan obat dari ekstrak alami tanaman dan ini salah satunya adalah jintan hitam (*Nigella sativa*), biji dari tanaman jintan hitam ini memiliki kandungan berupa asam linoleat, asam palmitat, timoquinone, timoquin, dan senyawa bermanfaat lainnya (Al-Majed et al, 2006). Kandungan senyawa jintan hitam memiliki efek tertinggi pada antioksidan dan antidiabetik karena memiliki kandungan antosianin untuk antioksidan dan tymoquinone untuk antidiabetik dan antioksidan dibandingkan dengan tanaman obat lainnya (Al-Majed et al, 2006). Timoquinone dan senyawa lainnya yang terkandung dalam biji jintan hitam dapat meningkatkan sensitivitas insulin di dalam jaringan tubuh dan juga memperbaiki kerusakan sel- β pankreas sehingga meningkatkan sekresi insulin (Kanter, 2003; Benhaddou et al, 2008). Belum ada penelitian sebelumnya mengenai pemberian ekstrak jintan hitam sebagai upaya preventif terhadap kerusakan histopatologi pankreas, namun penelitian lain yang menyerupai menyatakan bahwa terdapat pengaruh ubi jalar ungu (*Ipomea batatas* L.) sebagai antioksidan dan antidiabetik terhadap pankreas yang rusak akibat dari induksi aloksan pada tikus Wistar jantan (Herawati et al, 2013). Penelitian yang serupa juga menyatakan bahwa terdapat pengaruh ekstrak jintan hitam (*Nigella sativa*) sebagai antioksidan terhadap gambaran kerusakan pankreas yang dipapar asap rokok (Walda, 2017).

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak habbatussauda (*Nigella sativa*) sebagai upaya preventif terhadap kerusakan

histopatologi pankreas tikus putih (*Rattus novergicus*) galur Wistar jantan yang diinduksi aloksan.

METODE

Metode penelitian ini menggunakan metode eksperimental murni dan menggunakan *post test with control group design*. Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2020-Januari 2021 bertempat di Laboratorium Terpadu Universitas Malahayati Bandar Lampung dan Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Abdul Muluk Bandar Lampung. Populasi dari penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) galur Wistar jantan yang berusia 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram. Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus novergicus*) galur Wistar jantan yang berumur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 gram dan dalam kondisi yang sehat. Sampel pada penelitian ini dibagi dalam 5 kelompok yang dipilih secara acak menurut rumus federer.

Tikus putih jantan sebanyak 28 ekor dikelompokkan kedalam 4 kelompok secara acak, yaitu kelompok kontrol murni (KM) terdiri dari 7 ekor tikus putih jantan yang tidak diinduksi aloksan dan juga tidak diberi ekstrak jintan hitam. Kelompok kontrol negatif (KN) terdiri dari 6 ekor tikus putih jantan yang diinduksi aloksan dengan dosis 125mg/kgBB. Kelompok kontrol positif (KP) terdiri dari 6 ekor tikus putih jantan yang diberi metformin dosis 45 mg/kgBB dan diinduksi aloksan dosis 125 mg/kgBB. Kelompok perlakuan 1 (P1) terdiri dari 7 ekor tikus putih jantan yang diinduksi aloksan dengan dosis 125mg/kgBB dan juga diberi ekstrak jintan hitam dengan dosis 150 mg/kgBB. Kelompok perlakuan 2 (P2) terdiri dari 7 ekor tikus putih jantan yang diinduksi aloksan dengan dosis 125mg/kgBB dan juga diberi ekstrak jintan hitam dengan dosis 300mg/kgBB.

Semua hewan coba dipelihara atau diadaptasikan di Laboratorium Terpadu Universitas Malahayati selama 7 hari dalam kandang dengan suhu ruangan standar pemeliharaan yaitu $\pm 25^{\circ}\text{C}$, dan diberikan pakan standar Comfeed BR-II sebanyak 100 gr/kelompok/hari dan air minum diberikan 2 kali sehari pada pukul 10.00 dan pada pukul 16.00 setiap harinya. Selanjutnya pemberian ekstrak jintan hitam selama 14 hari, pada hari ke-7 dimulai dengan pemberian ekstrak jintan hitam dengan dua tingkatan dosis yaitu, 150 mg/kgBB/hari dan dengan dosis 300 mg/kgBB/hari diberikan kepada tiap kelompok perlakuan 2 jam sebelum pemberian pakan dan diberikan 1 kali sehari, yaitu pada pukul 08.00. Pemberian ekstrak jintan hitam dilakukan dengan menggunakan sonde lambung yang diberikan peroral kepada hewan coba dan pemberian ekstrak jintan hitam dilakukan sampai hari ke-28 kepada tiap kelompok perlakuan. Pemberian aloksan dilakukan pada hari ke-22 atau 14 hari berjalannya pemberian ekstrak jintan hitam. Awalnya tikus dipuaskan selama 10 jam namun tetap diberi akses untuk minum dan diberikan glukosa 5% untuk menghindari hipoglikemia yang muncul sementara selama 30 menit akibat dari pemberian aloksan (Rohilla et al, 2012). Selanjutnya Aloksan diberikan secara intraperitoneal dengan dosis 125 mg/kgBB. Tahap terakhir adalah pengambilan preparat pankreas yang dilakukan pada hari ke-28 setelah pemberian aloksan dan pemberian ekstrak jintan hitam, pengambilan preparat ini dilakukan di Balai Veteriner Bandar Lampung.

Setelah semua proses ditempuh, dilakukan pengambilan pankreas dengan menginjeksi tikus menggunakan ketamin dengan dosis 0,2 cc/100grBB sebagai anestesi secara intravena yang kemudian tikus akan dieuthanasia. Setelah itu pankreas hewan diambil dengan menggunakan peralatan bedah minor untuk

dibuat sediaan preparat histopatologi. Pankreas tikus yang kemudian diawetkan dalam larutan formalin selama satu malam. Setelah itu dilakukan proses dehidrasi menggunakan alkohol untuk mengeringkan pankreas yang sudah diawetkan dalam larutan formalin. Setelah selesai, dilakukan proses clearing dengan cara memasukkan pankreas ke dalam larutan xylol, selanjutnya dilakukan proses impregnasi dengan paraffin yang dilakukan diatas “pan”.

Setelah semua proses selesai, fiksasi organ pankreas dengan proses embedding menggunakan paraffin agar memudahkan dalam proses pemotongan. Pemotongan dilakukan dengan tahap pemotongan kasar dilanjutkan dengan pemotongan halus dengan ketebalan 4-5 mikron. Setelah pemotongan selesai, potongan diletakkan di dalam slide, kemudian tempatkan slide yang berisi jaringan pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam sampai jaringan

HASIL

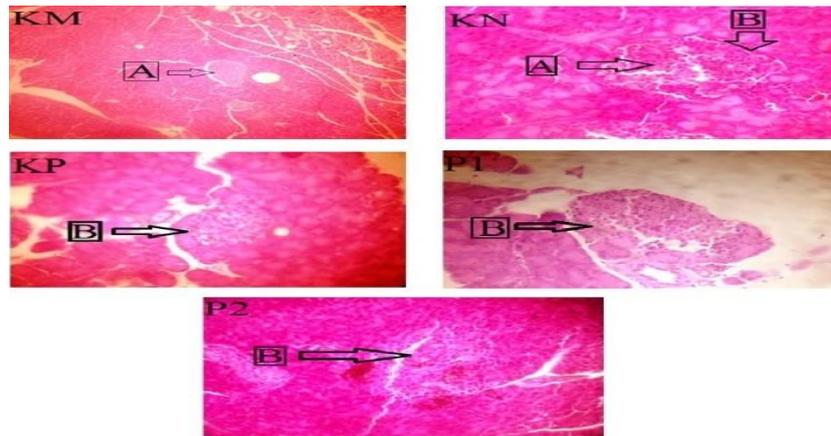
Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2020 s.d. Januari 2021 bertempat di Laboratorium Terpadu Universitas Malahayati Bandar Lampung dan Laboratorium Patologi Anatomi RSUD Abdul Muluk Bandar Lampung.

Tabel 1. Karakteristik Sampel

Masa Penelitian	Karakteristik	KM	KN	KP	P1	P2
Sebelum pemberian ekstrak daun habbatussauda dan induksi aloksan	Jenis Tikus	<i>Rattus norvegicus</i> Galur Wistar				
	Jenis Kelamin	Jantan				
	Usia	2-3 Bulan				
	Jumlah	25 Ekor				
	Warna Bulu	Putih				
	Keadaan Umum	Sehat, aktif, tidak terdapat luka				
Setelah pemberian ekstrak daun habbatussauda dan induksi aloksan (hari ke-22)	jumlah	5	5	5	5	5
	Warna Bulu	Putih				
	Keadaan Umum	Sehat, aktif, tidak terdapat luka				
Setelah pemberian ekstrak daun habbatussauda dan induksi aloksan (hari ke-28)	Jumlah	5	5	5	5	5
	Warna Bulu	Putih				
	Keadaan Umum	Sehat, aktif, tidak terdapat luka				

melekat sempurna. Setelah jaringan melekat sempurna pada slide dipilih yang terbaik, selanjutnya secara berurutan dimasukkan ke dalam zat-zat yang ditentukan. Setelah pewarnaan selesai slide ditempatkan diatas kertas tissue pada tempat datar, etesi dengan bahan mounting yaitu kanada balsam dan ditutup dengan cover glass, cegah jangan sampai terbentuk gelembung udara.

Selanjutnya dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop dan dilakukan perhitungan sesuai dengan parameter yang sudah ditentukan. Analisis data yang telah diperoleh dilakukan dengan pengecekan kelengkapan data dan melakukan entry data ke dalam software SPSS. Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk* karena sampel < 50 sampel. Karena tidak terdistribusi normal, maka analisis bivariat menggunakan uji *Kruskall-Wallis* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.



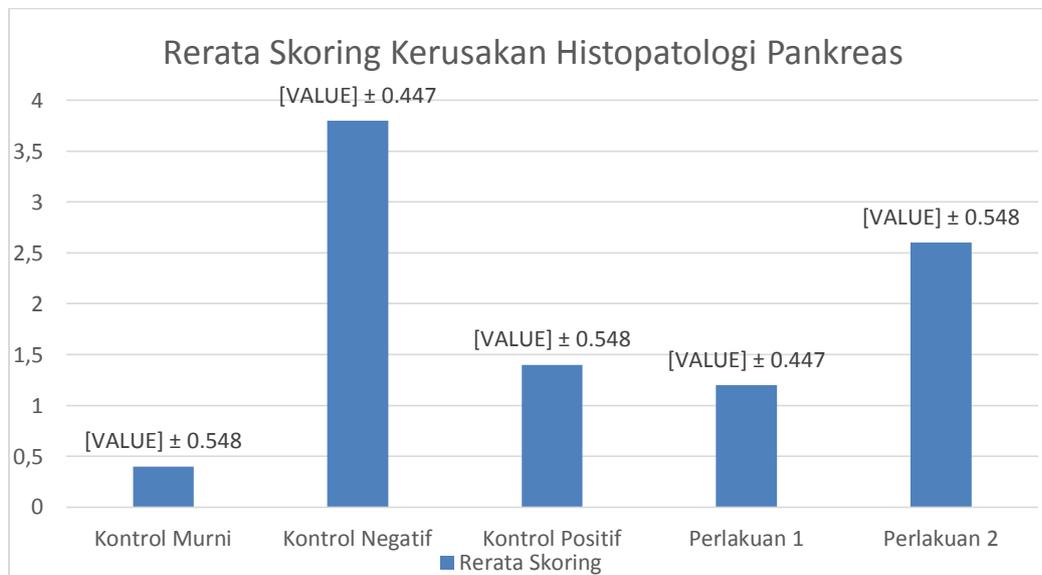
Gambar 1. Gambaran mikroskopis pankreas dengan perbesaran 400x. (A) Pulau langerhans, (B) Nekrosis sel.

Keterangan: KM: Kelompok yang tidak diberi perlakuan, KN: Kelompok yang diinduksi aloksan, KP: Kelompok yang diberi metformin dan diinduksi aloksan, P1: Kelompok yang diberi ekstrak habbatussauda 150mg/kgBB dan diinduksi aloksan, P2: Kelompok yang diberi ekstrak habbatussauda 300mg/kgBB dan diinduksi aloksan

Data yang digunakan sebagai variabel dalam penelitian ini adalah gambaran histopatologi pankreas berupa ukuran pulau langerhans, jumlah pulau langerhans dan luas nekrosis sel. Gambaran tersebut diamati dengan menggunakan mikroskop untuk menghitung skor rerata derajat kerusakan pankreas dengan pembesaran 400x. Masing-masing preparat diamati pada lima lapangan pandang mikroskopis secara acak.

Pengamatan Terhadap Histopatologi Pankreas

Berdasarkan pengamatan Rerata dari hasil penelitian yang dilakukan terhadap 25 ekor tikus putih (*Rattus novergicus*) galur Wistar jantan terhadap derajat kerusakan histopatologi pankreas dilihat pada gambar berikut.



Gambar 2. Grafik Rerata Skoring Kerusakan Histopatologi Pankreas

Keterangan: KM: Kelompok yang tidak diberi perlakuan, KN: Kelompok yang diinduksi aloksan, KP: Kelompok yang diberi metformin dan diinduksi aloksan, P1: Kelompok yang diberi ekstrak habbatussauda 150mg/kgBB dan diinduksi aloksan, P2: Kelompok yang diberi ekstrak habbatussauda 300mg/kgBB dan diinduksi aloksan.

Gambar 2. menunjukkan rerata skoring kerusakan histopatologi pankreas yang terjadi pada kelompok yang tidak diberi perlakuan (KM), kelompok yang diinduksi aloksan 125mg/kgBB (KN), kelompok yang diberi metformin 45mg/kgBB dan diinduksi aloksan 125mg/kgBB (KP), kelompok yang diberi ekstrak habbatussauda 150mg/kgBB dan diinduksi aloksan 125mg/kgBB (P1), dan kelompok yang diberi ekstrak habbatussauda 300mg/kgBB dan diinduksi aloksan

125mg/kgBB (P2) yang mana, kerusakan pada kelompok KM rata-rata $0,4 \pm 0,548$, kelompok KN rata-rata $3,8 \pm 0,447$, kelompok KP rata-rata $1,4 \pm 0,548$, P1 rata-rata $1,2 \pm 0,447$, dan P2 rata-rata $2,6 \pm 0,548$. Setelah dilakukan uji normalitas, data yang ada tidak berdistribusi normal sehingga dilakukan uji non-parametrik *Kruskal-Wallis* untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan pada kelompok perlakuan.

Tabel 2. Rata-rata dan Standar Deviasi Skoring Kerusakan Histopatologi

Kelompok	Analisis Univariat	
	Mean	Standar Deviasi
Histopatologi Pankreas	KM	0,4
	KN	3,8
	KP	1,4
	P1	1,2
	P2	2,6

Tabel 4.2 Menunjukkan rerata dan standar deviasi skoring kerusakan histopatologi pankreas yang terjadi pada kelompok yang tidak diberi perlakuan (KM), kelompok yang diinduksi aloksan 125mg/kgBB (KN), kelompok yang diberi metformin 45mg/kgBB dan diinduksi aloksan 125mg/kgBB (KP), kelompok yang diberi ekstrak habbatussauda 150mg/kgBB dan diinduksi aloksan 125mg/kgBB (P1), dan kelompok yang diberi ekstrak habbatussauda 300mg/kgBB dan diinduksi aloksan 125mg/kgBB (P2) yang mana, kerusakan pada kelompok KM rata-rata $0,4 \pm 0,548$, kelompok KN rata-rata $3,8 \pm 0,447$, kelompok KP rata-rata $1,4 \pm 0,548$, P1 rata-rata $1,2 \pm 0,447$, dan P2 rata-rata $2,6 \pm 0,548$. Terdapat perbedaan rerata skoring kerusakan histopatologi pankreas pada tiap kelompok perlakuan.

Analisis Bivariat

Tabel 3. Analisis Bivariat Uji *Kruskal-Wallis* perbedaan pada kelompok perlakuan

	Histopatologi
Kruskal-Wallis H	20.487
Df	4
Asymp. Sig.	0.000

Dapat dilihat pada tabel 4.3 uji *Kruskal-Wallis* untuk melihat perbedaan pada kelompok perlakuan. Hasil pengujian *Kruskal-Wallis* didapatkan nilai Asymp.Sig adalah sebesar 0,000 ($p=0,000$) maka lebih kecil daripada 0,05 ($p \leq 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan terhadap kerusakan histopatologi pankreas.

Tabel 4. Uji Rank *Kruskal-Wallis* Kelompok Perbedaan Tiap Kelompok

Kelompok	N	Mean Rank	
Histopatologi Pankreas	KM	5	4.40
	KN	5	22.70
	KP	5	10.80
	P1	5	9.40
	P2	5	17.70

Dapat diamati pada tabel 4.4 Rank uji *Kruskal-Wallis* untuk menentukan kelompok perbedaan tiap kelompok, dimana mean rank pada kelompok yang tidak diberi perlakuan atau kontrol murni (KM) sebesar 4,40 menjadi yang paling kecil yang berarti kelompok tersebut memiliki skoring derajat kerusakan histopatologi pankreas yang paling minimal atau bahkan sebagian dari tikus tidak memiliki kerusakan histopatologi pankreas, pada kelompok yang diberi aloksan 125mg/kgBB atau kontrol negatif (KN) mean rank sebesar 22.70 dan menjadi yang paling besar yang berarti kelompok tersebut memiliki skoring derajat kerusakan histopatologi pankreas yang paling berat. Perbedaan selanjutnya ada pada kelompok yang diberi metformin 45mg/kgBB dan diinduksi aloksan 125mg/kgBB atau kontrol positif (KP) dengan mean rank 10.80 yang memiliki derajat kerusakan lebih kecil dibandingkan dengan kelompok yang diberi ekstrak habbatussauda 300mg/kgBB dan diinduksi aloksan 125mg/kgBB atau kelompok perlakuan 2 (P2) dengan mean rank 17.70. Mean rank yang paling kecil yang diberikan induksi aloksan adalah kelompok yang diberi ekstrak habbatussauda 150mg/kgBB dan diinduksi aloksan 125mg/kgBB atau kelompok perlakuan 1 (P1) dengan mean rank sebesar 9.40.

PEMBAHASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Habbatussauda Terhadap Kerusakan Histopatologi Pankreas

Pada penelitian ini didapatkan nilai rerata skoring derajat kerusakan histopatologi pankreas yang dilihat dari ukuran pulau langerhans, jumlah pulau langerhans, dan nekrosis sel- β yang terjadi setelah perlakuan pada kelompok KM rata-rata $0,4 \pm 0,548$, kelompok KN rata-rata $3,8 \pm 0,447$, kelompok KP rata-rata $1,4 \pm 0,548$, P1 rata-rata $1,2 \pm 0,447$, dan P2 rata-rata $2,6 \pm 0,548$. Ini menunjukkan pada tiap kelompok perubahan histologi, hal ini ditandai dengan ukuran pulau langerhans, jumlah pulau langerhans tiap 5 lapang pandang, dan nekrosis sel- β pada pankreas.

Perbedaan gambaran histopatologi pada tiap kelompok juga diperkuat dari hasil uji *Kruskal-Wallis* dimana terdapat perbedaan yang bermakna tiap kelompok perlakuan terhadap kerusakan histopatologi pankreas dimana nilai *Asymp.sig* sebesar 0,000 ($p=0,000$) lebih kecil dari 0,05 ($p \geq 0,05$). Dilihat dari mean rank yang didapat dari hasil pengujian *Kruskal-Wallis*, kelompok KM dengan mean rank sebesar 4,40 ($0,4 \pm 0,548$) menjadi yang paling kecil dibandingkan kelompok lainnya dikarenakan pada KM tidak dilakukan perlakuan seperti pemberian ekstrak habbatussauda, pemberian metformin, ataupun induksi aloksan. Adanya peningkatan skor kerusakan pada KM hal ini dikarenakan kemungkinan pada penelitian ini tikus tersebut sudah memiliki kelainan pada pankreas walaupun peningkatannya tidak signifikan. Kelompok KN memiliki mean rank sebesar 22.70 ($3,8 \pm 0,447$) dan menjadi yang paling besar atau memiliki rerata skoring derajat kerusakan histopatologi pankreas yang paling besar. Ini bisa dilihat dari gambaran histopatologi yang diambil melalui mikroskop dengan perbesaran

400x pada 5 lapang pandang dimana didapatkan jumlah pulau langerhans sebanyak 7/5 LPB, ukuran pulau langerhans yang kecil, dan nekrosis sel- β yang mencapai 50% hal ini disebabkan karena pada kelompok KN hanya diinduksi aloksan 125mg/kgBB. Aloksan adalah suatu zat kimia atau agen oksidan yang kuat yang dapat menyebabkan kerusakan sel. Aloksan biasa digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan coba, pemberian aloksan adalah suatu cara yang cepat untuk mendapatkan kondisi diabetic eksperimental (hiperglikemia) pada hewan coba (Rohilla & Shahjad, 2012). Aloksan dapat menyebabkan keadaan diabetes melitus karena aloksan bersifat toksik selektif terhadap sel- β pankreas yang merupakan suatu sel pada pankreas yang berguna untuk menghasilkan insulin, disebabkan karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT-2 (Rohilla & Shahjad, 2012).

Hasil dari proses reduksi aloksan adalah asam dialurat, yang kemudian mengalami reoksidasi menjadi aloksan, dan membentuk siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida. Radikal superoksida dapat membebaskan ion ferri dari ferritin, dan mereduksi menjadi ion ferro dan ion ferri. Selain itu, ion ferri juga dapat direduksi oleh radikal aloksan. Radikal superoksida mengalami dismutase menjadi hidrogen peroksida, berjalan spontan dan dikatalisis oleh superoksida dismutase. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas. Kerusakan DNA tersebut menstimulasi poly ADP-ribosylation, proses yang terlibat pada DNA repair. Adanya ion ferro dan hidrogen peroksida membentuk radikal hidroksil yang sangat reaktif melalui reaksi Fenton (Wilson et al, 1984; Szkudelski, 2001; Walde et al, 2002; Nugroho, 2006). Aksi radikal bebas dengan rangsangan tinggi meningkatkan konsentrasi kalsium sitosol yang menyebabkan destruksi cepat sel beta Langerhans. Kerusakan DNA baik

terjadi herediter maupun karena induksi mengakibatkan peningkatan supresi ekspresi tumor p53 (protein yang berfungsi menekan tumor, dan mengatur bagian-bagian sel untuk mencegah sel berkembang dan membagi terlalu cepat dengan cara yang tidak terkontrol), peningkatan influks kalsium akibat stimulasi berlebihan terhadap reseptor glutamat, kerusakan komponen membran plasma, formasi radikal bebas (stres oksidatif), dan stres metabolik (hipoksia dan hipoglikemia). Keadaan itu menyebabkan kerusakan membran mitokondria yang mengakibatkan keluarnya sitokrom C dan apoptosis-inducing factor yang berakhir pada kematian sel (Nugroho, 2006).

Pada kelompok KP dengan mean rank 10.80 ($1,4 \pm 0,548$) pada penelitian ini terjadi perbaikan pada kelompok yang diberi metformin 45mg/kgBB dan diinduksi aloksan 125mg/kgBB, ditinjau dari gambaran histopatologis pankreas dimana didapatkan jumlah pulau langerhans 7/5 LPB dengan ukuran pulau langerhans normal dan nekrosis sel sebesar 10% hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Tjandrawinata, (2014) bahwa metformin berpengaruh dalam penurunan stress oksidatif melalui jalur pembentukan AGEs dan peningkatan senyawa karbonil (Tjandrawinata, 2014). Efektivitas metformin pada dasarnya bekerja pada post reseptor dan berdampak terhadap perbaikan mekanisme kerja glucose transporter (GLUT). (Tjandrawinata, 2014).

Pada kelompok perlakuan 1 (P1) dan perlakuan 2 (P2) dimana perlakuan 1 (P1) hewan coba diberikan ekstrak habbatussauda dengan dosis 150mg/kgBB dan diinduksi aloksan dengan dosis 125mg/kgBB sedangkan pada perlakuan 2 (P2) hewan coba diberikan ekstrak habbatussauda dengan dosis 300mg/kgBB dan diinduksi aloksan dengan dosis 125mg/kgBB. Pada perlakuan 1 (P1) mean rank yang di dapatkan dari uji Kruskal-Wallis sebesar 9.40 ($1,2 \pm 0,447$) dan pada

perlakuan 2 (P2) mean rank yang di dapatkan sebesar 17.70 ($2,6 \pm 0,548$).

Terjadi perbaikan gambaran histopatologi pankreas yang dapat dilihat dari jumlah pulau langerhans, ukuran pulau langerhans, dan luas nekrosis pada sel- β , pada perlakuan 1 (P2) gambaran histopatologi didapatkan jumlah pulau langerhans 7/5LPB dengan ukuran pulau langerhans yang normal dan terjadi nekrosis sel- β sebesar 10%. Pada perlakuan 2 (P2) gambaran histopatologi didapatkan jumlah pulau langerhans 6/5 LPB dengan ukuran pulau langerhans yang mengecil dan terjadi nekrosis sel- β sebesar 10%. Perbaikan pada gambaran histopatologi pankreas yang telah diinduksi aloksan ini disebabkan oleh pengaruh dari pemberian ekstrak habbatussauda, ekstrak habbatussauda mengandung senyawa fenolik thymoquinone yang bersifat sebagai antioksidan yang dapat menangkap radikal bebas (Badan penelitian dan pengembangan pertanian Kementerian pertanian, 2020). Efek antioksidan thymoquinone secara *in vitro* terbukti mampu menghambat peroksidasi lipid mikrosomal. Selain itu terbukti bahwa thymoquinone lebih aktif berperan sebagai superoxide anion scavenger dan thymoquinone juga memiliki aktivitas seperti enzim superoksida dismutase (SOD) (Badary & Gamal El-Din, 2003).

Pada pemberian ekstrak habbatussauda dengan dosis 150mg/kgBB lebih efektif dibandingkan dengan pemberian ekstrak habbatussauda dengan dosis 300mg/kgBB, penelitian ini sejalan dengan Penelitian yang dilakukan oleh Kriswandini, (2012) menggunakan percobaan dua dosis yang diberikan kepada tikus dengan model diabetes melitus. Dosis pertama menggunakan ekstrak jintan hitam sebanyak 150 mg/kgBB/hari yang diberikan secara intraperitoneal kepada hewan coba tikus putih jantan dan dosis kedua menggunakan ekstrak jintan hitam

sebanyak 300 mg/kgBB/hari, hasil menunjukkan bahwa penggunaan ekstrak jintan hitam kepada hewan coba tikus putih model diabetes dengan dosis sebanyak 150 mg/kgBB/hari selama 45 hari efektif dapat menurunkan kadar glukosa darah dan juga dapat memperbaiki skoring derajat kerusakan pulau Langerhans. Namun, pada pemberian ekstrak jintan hitam dengan dosis sebanyak 300 mg/kgBB/hari tidak efektif menurunkan kadar glukosa darah serta tidak efektif untuk memperbaiki kerusakan pulau Langerhans (Kriswandini, 2012).

Hal ini diakibatkan karena pemberian habbatussauda dengan dosis tinggi reaksi yang terjadi dengan pelarut akan berjalan semakin lama. Menurut Pudjono (2006), menyatakan bahwa etanol merupakan pelarut protik yang sanggup sebagai donor proton sehingga mengadakan ikatan hidrogen dengan enolat yang terbentuk dari habbatussauda, semakin polar pelarut maka akan semakin kuat ikatan hidrogen yang terbentuk. Akibatnya tidak terhomogenya secara merata antara pelarut dan habbatussauda sehingga pelarut tersebut menyebabkan kerusakan pada jaringan pulau langerhans, walaupun terjadi perbaikan tetapi tidak akan maksimal (Pudjono, 2006).

Penelitian yang dilakukan oleh Kriswandini, (2012) memiliki rerata rank skoring derajat kerusakan histopatologi pada kelompok yang diberikan ekstrak habbatussauda 150mg/kgBB atau perlakuan 1 P1 selama 45 hari sebesar 8.6 sedangkan pada penelitian ini rerata rank skoring derajat kerusakan histopatologi pada kelompok yang diberikan ekstrak habbatussauda 150mg/kgBB selama 28 hari dan diinduksi aloksan 125mg/kgBB sebanyak 1 kali sebagai upaya preventif. Ekstrak Habbatussauda 150mg/kgBB efektif digunakan sebagai upaya preventif dibandingkan dengan kuratif ditinjau dari rerata rank skoring derajat kerusakan

histopatologi dan lama waktu pemberian ekstrak.

KESIMPULAN

Terdapat pengaruh yang bermakna pemberian ekstrak habbatussauda (*Nigella sativa*) sebagai upaya preventif terhadap kerusakan histopatologi pankreas tikus putih (*rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang diinduksi aloksan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih pada semua yang telah terlibat dalam penelitian ini sehingga penelitian ini dapat diselesaikan tepat waktu.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Majed, A. A., Al-Omar, F. A., & Nagi, M. N. (2006). Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. *European journal of pharmacology*, 543(1-3), 40-47.
- Benhaddou-Andaloussi, A., Martineau, L. C., Spoor, D., Vuong, T., Leduc, C., Joly, E., ... & Prentki, M. (2008). Antidiabetic activity of *Nigella sativa*. Seed extract in cultured pancreatic β -cells, skeletal muscle cells, and adipocytes. *Pharmaceutical Biology*, 46(1-2), 96-104.
- Boudreau, M. D., Taylor, H. W., Baker, D. G., & Means, J. C. (2006). Dietary exposure to 2-aminoanthracene induces morphological and immunocytochemical changes in pancreatic tissues of Fisher-344 rats. *Toxicological Sciences*, 93(1), 50-61.
- Ganong, W. (2012). *Fisiologi Kedokteran* (24 ed.). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Guyton, A., & Hall, J. (2016). *Text Book of Medical Physiology*. English: Philadelphia, PA : Elsevier.
- Herawati, E. R. N., & Santoso, U. (2013). Pengaruh Konsumsi Ekstrak Antosianin Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.) terhadap Glukosa Darah, Status Antioksidan Darah, dan Gambaran Histopatologis Pankreas Tikus Hiperglikemia Induksi Aloksan, Thesis. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Meral, I., Donmez, N., Baydas, B., Belge, F., & Kanter, M. E. H. M. E. T. (2004). Effect of *Nigella sativa* L. on heart rate and some haematological values of alloxan-induced diabetic rabbits. *Scandinavian. Journal of Laboratory Animal Sciences*, 31(1), 49-53.
- Meral, I., & Kanter, M. (2003). Effects of *Nigella sativa* L. and *Urtica dioica* L. on selected mineral status and hematological values in CCl 4-treated rats. *Biological trace element research*, 96(1-3), 263-270.
- Pulgarón, E. R., Sanders, L. M., Patiño-Fernandez, A. M., Wile, D., Sanchez, J., Rothman, R. L., & Delamater, A. M. (2014). Glycemic control in young children with diabetes: the role of parental health literacy. *Patient education and counseling*, 94(1), 67-70.
- Rohilla, A., & Ali, S. (2012). Alloxan induced diabetes: mechanisms and effects. *International journal of research in pharmaceutical and biomedical sciences*, 3(2), 819-823.
- Tsania, W. (2017). Pengaruh Preventif Pemberian Ekstrak Ethanol Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Terhadap Kadar MDA dan Gambaran Histopatologi Pankreas pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Dipapar Asap Rokok, Thesis. Universitas Brawijaya. Malang.