

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan kelainan atau gangguan metabolisme yang ditandai dengan abnormalnya kadar glukosa darah akibat dari defisiensi sekresi insulin, tidak optimalnya fungsi insulin, atau terjadinya resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin pada sel-sel β -pankreas (Tandi, Paerunan, *et al.*, 2020). Menurut *International Diabetes Federation* (IDF), kasus penderita diabetes pada tahun 2021 naik sebesar 167% dibanding saat tahun 2011 yang mencapai 7,29 juta kasus. Prevalensi kematian akibat diabetes pada tahun 2021 di Indonesia mencapai 236.711 kasus, dimana angka tersebut mengalami kenaikan sebesar 58% jika dibandingkan dengan tahun 2011 yaitu sebanyak 149.872 kasus (IDF, 2021).

Diabetes melitus tipe 2 (T2DM) atau dikenal dengan *diabetes mellitus non-insulin dependent* adalah suatu gangguan metabolisme yang diakibatkan adanya resistensi insulin sehingga terbatasnya respon terhadap insulin oleh target organ dan penurunan sekresi insulin karena terjadinya kerusakan sel β -pankreas (Tripathi & Verma, 2014). Gejala yang sering dialami oleh penderita T2DM diantaranya sering merasa haus (polidipsia), frekuensi kencing meningkat saat malam hari (poliuria), nafsu makan bertambah namun berat badan menurun, mudah lelah dan sering merasa kesemutan. Faktor yang berpengaruh terhadap meningkatnya resiko terkenanya T2DM ini diantaranya faktor keluarga, umur, obesitas, tekanan darah tinggi, dislipidemia, kurangnya aktivitas fisik, merokok (Fatimah, 2015).

Pankreas merupakan organ kelenjar penting dalam tubuh dimana terdapat jaringan endokrin dan eksokrin yang memproduksi enzim-enzim dalam sistem pencernaan. Pada bagian endokrin, terdapat pulau Langerhans yang bertugas dalam menghasilkan hormon insulin. Hormon insulin merupakan hormon yang mengatur kadar glukosa darah dalam tubuh. Tingginya jumlah radikal bebas

ataupun banyaknya zat kimia yang masuk ke dalam tubuh dapat menimbulkan kerusakan pada sel Langerhans. Kerusakan yang terjadi pada sel Langerhans menyebabkan terjadinya kondisi hiperglikemia atau tingginya kadar glukosa darah tubuh (Utami *et al.*, 2022).

Masyarakat Indonesia sejak dulu telah banyak memanfaatkan tanaman herbal untuk menjaga kesehatan dan mengobati berbagai penyakit. Penggunaan tanaman herbal dapat digunakan sebagai terapi alternatif dalam mengobati T2DM (Fitrilia *et al.*, 2017). Salah satu tanaman yang diketahui memiliki aktivitas dalam mengobati berbagai penyakit adalah tanaman benalu. Benalu merupakan tanaman semak semi parasit yang biasa tumbuh di cabang-cabang pohon seperti apel, pinus, teh, mangga, jeruk, kopi dan beberapa jenis tanaman lainnya (Marvibaigi *et al.*, 2014). Tanaman benalu sering digunakan dalam pengobatan diabetes, antihiperlipidemia, antiproliferasi, antikanker dan agen antioksidan (Fitrilia *et al.*, 2017). Kandungan metabolit sekunder dan khasiat dari benalu dapat berbeda jika inangnya berbeda (Ndruru & Kosasih, 2019).

Benalu jeruk (*Dendrophthoe glabrescens* (Blakely) Barlow) merupakan salah satu jenis benalu yang dapat digunakan sebagai terapi alternatif pengobatan suatu penyakit. Efek klinis pada ekstrak daun benalu jeruk diduga karena terdapat kandungan senyawa bioaktif di dalamnya (Slamet *et al.*, 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ndruru & Kosasih (2019), daun benalu jeruk memiliki kandungan metabolit sekunder berupa alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin.

Aloksan adalah senyawa kimia yang sering digunakan dalam menginduksi hewan uji pada penelitian eksperimental mengenai diabetes. Aloksan merupakan senyawa turunan urea yang menyebabkan terjadinya nekrosis pada sel β yang terdapat dalam pulau Langerhans. Apabila terjadi nekrosis pada sel β -pankreas, maka akan terjadi penurunan produksi insulin. Insulin bertugas dalam mengatur kadar glukosa darah di dalam tubuh sehingga apabila produksi insulin terganggu maka kadar glukosa darah pada tubuh akan meningkat. Dosis yang diperlukan untuk menginduksi diabetes tergantung pada spesies hewan dan rute

pemberiannya. Tingkat keparahan atau kerusakan pada sel β dapat diatur dengan memvariasikan dosis aloksan yang digunakan (Tripathi & Verma, 2014).

Berdasarkan uraian tersebut, daun benalu jeruk diduga dapat memperbaiki kerusakan pada sel β -pankreas. Maka dilakukan penelitian untuk menguji pengaruh pemberian ekstrak etanol 80% daun benalu jeruk terhadap jumlah sel β yang masih memproduksi insulin pada tikus putih jantan setelah diinduksi dengan aloksan.

1.2. Rumusan masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol 80% daun benalu jeruk memiliki pengaruh terhadap jumlah sel β -pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan?

1.3. Tujuan penelitian

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak etanol 80% daun benalu jeruk terhadap jumlah sel β -pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat teoritis

Penelitian mengenai ekstrak etanol 80% daun benalu jeruk diharapkan dapat menjadi acuan atau referensi bagi peneliti selanjutnya mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol 80% daun benalu jeruk terhadap jumlah sel β -pankreas.

1.4.2. Manfaat praktis

Penelitian diharapkan mampu memberikan informasi kepada masyarakat mengenai aktivitas daun benalu jeruk dalam memperbaiki jumlah sel β -pankreas.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Benalu Jeruk

Tanaman benalu jeruk merupakan salah satu tanaman famili *Loranthaceae* yang hidup sebagai parasit pada pohon jeruk (Ndruru & Kosasih, 2019). Bagian tumbuhan benalu jeruk yang sering digunakan adalah bagian daunnya. Daun benalu jeruk memiliki khasiat dalam mengobati beberapa penyakit. Efek klinis yang dimiliki daun benalu jeruk karena adanya kandungan metabolit sekunder di dalamnya (Slamet *et al.*, 2020).



Sumber: Dokumentasi Pribadi

Gambar 2. 1 Tanaman Benalu Jeruk

2.2. Klasifikasi Tanaman Benalu Jeruk

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Santales</i> R. Br. Ex Bercht. & J. Presl
Suku	: <i>Loranthaceae</i> Juss.

Marga : *Dendrophthoe* Mart.
Jenis : *Dendrophthoe glabrescens* (Blakely) Barlow

2.3. Kandungan Kimia Daun Benalu Jeruk

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Ndruru & Kosasih (2019), serbuk simplisia daun benalu jeruk memiliki kandungan metabolit sekunder, yaitu alkaloid, saponin, flavonoid, dan tanin. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan karena memiliki sifat melepas elektron sehingga menghentikan rantai senyawa radikal. Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Udayani *et al.*, (2023) diketahui bahwa antioksidan yang terkandung di dalam daun benalu jeruk memiliki aktivitas yang kuat. Senyawa-senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun benalu jeruk memiliki aktivitas sebagai antioksidan sehingga mampu meregenerasi sel-sel β -pankreas dan reseptor-reseptor insulin yang rusak sehingga defisiensi insulin dapat teratasi dan meningkatkan sensitivitas reseptor insulin (Kong *et al.*, 2023; Zhafira, 2019).

2.4. Diabetes Melitus

Diabetes Melitus merupakan penyakit yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang dikaitkan dengan kurangnya aktivitas kerja dan atau sekresi insulin (Fatimah, 2015). Secara umum, penyakit ini dibedakan menjadi 2 tipe, yaitu diabetes melitus tipe 1 dan diabetes melitus tipe 2. Namun, seiring berkembangnya dunia medis, klasifikasi diabetes pun ikut bertambah sesuai dengan penyebab kejadiannya. Saat ini, diabetes melitus terbagi menjadi 4 tipe, yaitu diabetes melitus tipe 1, diabetes melitus tipe 2, diabetes melitus gestasional, dan diabetes tipe lainnya (Szatko *et al.*, 2020).

2.5. Klasifikasi dan Patofisiologi Diabetes Melitus

Pada keadaan normal, di dalam tubuh terjadi mekanisme regulasi dan interaksi yang dinamis antara sensitivitas jaringan terhadap insulin dan sekresi insulin oleh pankreas untuk menjaga keseimbangan konsentrasi glukosa plasma. Pada diabetes melitus, kondisi ini tidak berjalan dengan baik dan terjadi kegagalan

sekresi insulin melalui disfungsi sel β -pankreas dan kegagalan aksi insulin akibat resistensi insulin (Prawitasari, 2019). Berikut merupakan klasifikasi beserta patofisiologi dari diabetes melitus:

2.5.1. Diabetes melitus tipe 1

Diabetes melitus tipe 1 (T1DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah dalam tubuh. Diabetes tipe ini disebabkan karena defisiensi insulin sejak lahir sehingga kebanyakan penderita diabetes ini adalah anak-anak (Zhafira, 2019). Defisiensi insulin terjadi karena kurang atau menurunnya produksi hormon insulin oleh kelenjar pankreas (Kenta *et al.*, 2018). Diabetes melitus tipe 1 ditandai dengan rusaknya sel β -pankreas karena autoimun pada organ pankreas. Pada diabetes melitus tipe 1, pasien memiliki antibodi sel islet pankreas yang bersirkulasi dan mayoritas memiliki antibodi anti-insulin. Sehingga pasien perlu menerima terapi insulin (Hardianto, 2021).

2.5.2. Diabetes melitus tipe 2

Diabetes melitus tipe 2 (T2DM) adalah penyakit dimana tingginya kadar glukosa darah dalam tubuh yang diakibatkan insensitivitas sel terhadap insulin. Pada diabetes ini, insulin tetap dihasilkan oleh sel-sel β -pankreas sehingga T2DM dianggap sebagai *non-insulin dependent diabetes mellitus*. Pada penderita diabetes melitus umumnya ditemukan 2 faktor penyebab, yaitu resistensi insulin dan defisiensi insulin. T2DM tidak disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, namun disebabkan karena sel-sel sasaran insulin gagal atau tidak mampu merespon insulin secara normal yang disebut dengan 'resistensi insulin'. Sedangkan defisiensi insulin merupakan keadaan dimana terjadi produksi glukosa hepatic yang berlebihan sehingga terjadi kerusakan sel-sel β -Langerhans sehingga produksi insulin berkurang (Fatimah, 2015; Prawitasari, 2019). Pasien dengan T2DM memiliki sekelompok faktor risiko metabolik termasuk obesitas, Resistensi Insulin (IR), hiperglikemia, dislipidemia, hipertensi, pengendapan lemak ektopik dan peradangan yang mempengaruhi untuk penyakit kardiovaskular di masa depan (Valaiyapathi *et al.*, 2019).

2.5.3. Diabetes gestasional

Diabetes melitus gestasional (GDM) merupakan diabetes yang dapat didiagnosa pada saat trisemester kedua atau ketiga kehamilan baik pada diabetes tipe 1 atau tipe 2 yang sudah ada sebelumnya. Wanita yang memiliki diagnosis prediabetes dan diabetes pada trisemester pertama kehamilan harus diklasifikasikan prediabetes gestasional atau diabetes gestasional (Szatko *et al.*, 2020).

2.5.4. Diabetes tipe lainnya

Diabetes tipe lainnya, termasuk diabetes monogenik, kelainan eksokrin pankreas, penyakit endokrin, diabetes yang disebabkan obat, infeksi atau diabetes yang disebabkan sindrom genetik. Diabetes yang disebabkan cacat monogenik terbagi menjadi sindrom dengan defisiensi insulin yang ditentukan secara genetik (*maturity onset diabetes of the young* atau yang dikenal dengan sebutan *MODY*) dan kelainan kerja insulin yang disebabkan genetik (Szatko *et al.*, 2020).

2.5.5. Stres oksidatif

Stres oksidatif adalah suatu kondisi yang disebabkan oleh adanya peningkatan produksi radikal bebas atau berkurangnya aktivitas pertahanan antioksidan atau keduanya. Kondisi ini dikenal dengan istilah *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS). Kondisi stres oksidatif yang diinduksi hiperglikemia pada diabetes melitus dikaitkan dengan peningkatan apoptosis sel endotel secara *in vitro* dan *in vivo* yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan pembentukan radikal bebas dan penurunan kapasitas antioksidan.

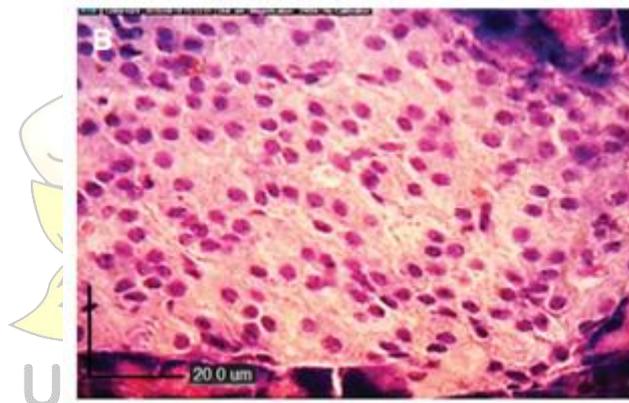
Hiperglikemia akan merangsang over produksi superoksida pada mitokondria dan over produksi *nitric acid* (NO), dimana produksi superoksida berlebih yang disertai dengan peningkatan NO dapat merusak DNA dan menghasilkan disfungsi endotel yang mengakibatkan komplikasi pada diabetes melitus. Adanya asam lemak berlebih atau pada kondisi hiperlipidemia juga dapat menyebabkan over produksi ROS yang selanjutnya dapat mengakibatkan kerusakan DNA mitokondria dan malfungsi dari sel β -pankreas yang akan berdampak pada munculnya stres oksidatif pada diabetes (Prawitasari, 2019).

2.5.6. Pankreas

Pankreas merupakan organ kelenjar penting dalam tubuh yang terdiri dari jaringan eksokrin dan endokrin. Unit endokrin yang disebut sebagai pulau Langerhans memiliki 4 macam sel, yaitu sel alfa (α), sel beta (β), sel delta (δ), dan sel F (polipeptida pankreas). Perubahan histopatologis pulau Langerhans dapat terjadi secara kuantitatif dan kualitatif. Pengurangan secara kuantitatif seperti pengurangan jumlah dan ukuran pulau Langerhans, sedangkan secara kualitatif seperti terjadi nekrosis (kematian sel), atrofi (penyusutan sel), dan fibrinosis (kerusakan jaringan sel) (Tandi, Mariani, *et al.*, 2020).

2.5.7. Sel β -pankreas

Sel β -pankreas merupakan sel dengan jumlah terbanyak yang terdapat dalam pulau Langerhans. Secara spesifik, sel β -pankreas dapat dilihat dengan metode pewarnaan *aldehyde fuchsin*, dimana sel beta memiliki warna violet dan tersebar di dalam pulau Langerhans (Kaptaner, 2019).



Sumber: Majd et al., (2018)

Gambar 2. 2 Sel β -Pankreas Normal dengan Pewarnaan *Aldehyde Fuchsin*

Sel β -pankreas bertugas dalam menghasilkan hormon insulin dan berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah. Kerusakan pada sel β -pankreas dapat menyebabkan kecacatan regulasi insulin dalam darah disertai peningkatan kadar glukosa darah sehingga terhambatnya metabolisme karbohidrat, protein, dan lipid yang menyebabkan komplikasi di berbagai organ seperti neuropati, nefropati, dan

retinopati (Ahmed *et al.*, 2023). Kerusakan sel-sel β -pankreas dapat disebabkan faktor genetik, infeksi oleh kuman dan radikal bebas.

2.6. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan pemisahan suatu komponen dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi berdasarkan kemampuan pelarut yang berbeda dari komponen-komponen dalam campuran. Ekstraksi berlangsung secara sistematis pada suhu tertentu dengan bantuan pelarut. Berdasarkan bentuknya, ekstraksi dibedakan menjadi ekstraksi padat-cair dan cair-cair (Supaya, 2019).

2.6.1. Maserasi

Maserasi merupakan teknik ekstraksi yang digunakan untuk mengambil atau menarik senyawa yang diinginkan dari suatu sampel dengan cara merendam bahan dalam satu atau campuran pelarut organik selama waktu tertentu pada temperatur kamar dan terlindungi dari cahaya. Selama proses perendaman, pelarut atau cairan penyari akan menembus dinding sel tanaman yang diekstraksi dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut. Adanya perbedaan konsentrasi di dalam dan di luar sel akan membuat larutan dengan konsentrasi yang lebih pekat akan terdesak keluar (Riwanti *et al.*, 2020).

2.6.2. Pelarut etanol

Etanol merupakan salah satu pelarut organik yang sering digunakan dalam melakukan proses ekstraksi. Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena lebih, kapang dan kumbang sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Sa'adah & Nurhasnawati, 2017). Etanol termasuk ke dalam pelarut polar yang dapat menarik senyawa-senyawa bersifat polar dalam proses ekstraksi. Konsentrasi dari etanol sangat mempengaruhi hasil dari ekstrak yang didapat. Meningkatkan konsentrasi etanol dapat meningkatkan laju disolusi dan ekstraksi (Hakim & Saputri, 2020).

2.7. Potensi Antioksidan pada Diabetes Melitus

2.7.1. Potensi Flavonoid sebagai anti DM

Flavonoid merupakan kelompok yang paling luas dan beragam dari polifenol. Flavonoid termasuk ke dalam senyawa fenolik alam yang memiliki potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Flavonoid memiliki sifat antioksidan yang melindungi tubuh terhadap efek hiperglikemia pada T2DM, dengan bertindak pada target biologis seperti α -glukosidase, *glucose co-transporter*, atau aldosa reduktase (Fang *et al.*, 2019). Flavonoid mampu menurunkan kadar glukosa darah dengan cara meregenerasi sel β -pankreas dan merangsang sekresi insulin (Juliana, 2018). Flavonoid berperan dalam meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dalam mengurangi stres oksidatif penyebab nekrosis dan mampu meregenerasi sel β -pankreas yang rusak sehingga defisiensi insulin dapat teratasi (Nuralifah *et al.*, 2022; Pitriya *et al.*, 2017). Mekanisme flavonoid dalam melawan radikal bebas yaitu mencegah terjadinya reaksi berantai pengubahan superoksida (LOO) menjadi hidrogen superoksida dengan mendonorkan atom hidrogen dan elektronnya dari kelompok aromatik hidroksil untuk mengikat radikal bebas dan mengubahnya menjadi hidrogen superoksida (H₂O₂) dan radikal flavonoid yang reaktif (LOOH) yang akan memberikan efek perlindungan pada sel β -pankreas (Pay *et al.*, 2022).

2.7.2. Potensi Alkaloid sebagai anti DM

Senyawa alkaloid memiliki kemampuan untuk menghentikan reaksi berantai radikal bebas secara efisien (Pitriya *et al.*, 2017). Alkaloid bekerja dengan menstimulasi hipotalamus untuk meningkatkan *Growth Hormone Releasing Hormone* (GHRH), sehingga sekresi *Growth Hormone* (GH) pada hipofisis meningkat. Kadar GH yang tinggi akan menstimulasi hati untuk mensekresikan *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1). IGF-1 mempunyai efek dalam menginduksi hipoglikemia dan menurunkan glukoneogenesis sehingga kadar glukosa darah dan kebutuhan insulin menurun (Prameswari & Wdjanarko, 2014). Alkaloid dapat juga berperan sebagai α -glukosidase inhibitor dimana alkaloid menunda proses penyerapan glukosa pada usus sehingga dapat mengontrol kadar

glukosa darah (Ajebli *et al.*, 2020). Selain itu alkaloid dapat berperan dalam perbaikan sel β -pankreas dengan berbagai mekanisme, salah satunya meningkatkan enzim katalase yang memecah hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air yang tidak berbahaya bagi sel dan pertumbuhan sel. Aktivitas antioksidan alkaloid juga membantu sel terus mengalami mitosis atau pembelahan dan mengembalikan kondisi sel seperti semula (Pay *et al.*, 2022).

2.7.3. Potensi Tanin sebagai anti DM

Tanin merupakan salah satu antioksidan karena kemampuannya dalam menangkap radikal bebas, menghambat radikal bebas dan tumor. Tanin memiliki aktivitas hipoglikemia yaitu meningkatkan glikogenesis. Tanin menghambat kerja enzim α -glukosidase di dalam usus untuk mengubah disakarida menjadi glukosa sehingga laju peningkatan glukosa darah tidak terlalu tinggi. Tanin merupakan antioksidan potensial yang dapat memperbaiki keadaan oksidatif patologis dari situasi diabetes (Pitriya *et al.*, 2017). Mekanisme kerja tanin dalam menurunkan kadar glukosa darah yaitu menurunkan absorpsi nutrisi dengan menghambat penyerapan glukosa di intestinal, selain itu juga menginduksi regenerasi sel β -pankreas yang berefek pada sel adiposa sehingga meningkatkan aktivitas insulin (Fatmawati *et al.*, 2021).

2.7.4. Potensi Saponin sebagai anti DM

Mekanisme kerja saponin pada diabetes melitus yaitu terjadinya regenerasi pankreas yang menyebabkan adanya peningkatan jumlah sel β -pankreas dan pulau-pulau Langerhans sehingga sekresi insulin akan mengalami peningkatan. Regenerasi sel β -pankreas terjadi karena adanya sel *quiescent* pada pankreas yang memiliki kemampuan regenerasi (Kumalasari *et al.*, 2019). Saponin juga bekerja dalam menghambat pengangkutan glukosa oleh *Glucose Transporter 2* (GLUT2). GLUT2 terdapat pada membran usus dan merupakan salah satu protein transporter glukosa yang mengangkut glukosa dari saluran cerna untuk masuk ke peredaran darah. Sehingga, apabila enzim ini dihambat maka dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah (Pratiwi & Santika, 2023).

2.8. Tikus Putih

2.8.1. Taksonomi tikus putih (*Rattus norvegicus*)



Sumber: Dokumentasi Pribadi

Gambar 2.3 Tikus Putih Jantan

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Filum	: <i>Chordata</i>
Kelas	: <i>Mamalia</i>
Bangsa	: <i>Rodentio</i>
Suku	: <i>Muridae</i>
Marga	: <i>Rattus</i>
Jenis	: <i>Rattus norvegicus</i>

2.8.2. Karakteristik tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus merupakan hewan yang melakukan aktivitasnya pada malam hari (nokturnal). Tikus sering digunakan sebagai hewan uji pada berbagai penelitian dikarenakan tikus memiliki karakteristik genetik yang unik, mudah berkembang biak, murah serta mudah di dapat. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu jenis tikus yang paling sering digunakan sebagai hewan uji pada berbagai penelitian. Tikus putih memiliki beberapa sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji diantaranya perkembangbiakan cepat, mempunyai ukuran yang lebih besar dibanding mencit, mudah dipelihara dalam jumlah banyak dan memiliki temperamen yang baik. Tikus putih juga memiliki ciri-ciri morfologis

seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibanding badannya (Juliana, 2018).

2.9. Aloksan

Aloksan (*2,4,5,6-tetraoxypyrimidine*; *2,4,5,6-pyrimidine tetrone*) adalah zat yang dapat terakumulasi di sel β -pankreas melalui jalur pengangkut glukosa. Aloksan banyak digunakan sebagai agen diabetogenik untuk menginduksi diabetes melitus pada hewan percobaan seperti kelinci, tikus, anjing dengan berbagai variasi dosis yang disesuaikan dengan keparahan penyakit yang diinginkan (Tripathi & Verma, 2014).

Aloksan merupakan salah satu zat diabetogenik yang bersifat toksik terutama pada sel β -pankreas yang memproduksi insulin. Dalam waktu 24-48 jam setelah pemberian aloksan, integritas sel-sel β -pankreas menghilang dan terjadi degranulasi yang menyebabkan terjadinya kondisi hiperglikemia. Aloksan di dalam tubuh mengalami metabolisme oksidasi reduksi menghasilkan radikal bebas dan radikal aloksan. Radikal ini menyebabkan kerusakan pada sel β -pankreas, dimana pada pulau Langerhans akan terjadi pengurangan jumlah massa sel dan terjadi kerusakan bahkan ada yang hancur dan hilang. Akibat kerusakan sel β -pankreas, sel beta tidak mampu menghasilkan insulin sehingga terjadi penyakit diabetes yang ditandai dengan keadaan hiperglikemia (Suarsana *et al.*, 2012).

Rute pemberian aloksan dapat mempengaruhi diabetogenitas dari aloksan. Pemberian aloksan pada hewan uji dapat dilakukan melalui dua cara, yaitu secara intravena (iv) ataupun intraperitoneal (ip), dimana pemberian intravena lebih memberikan efek yang kuat dibandingkan dengan intraperitoneal. Namun, tingkat kematian hewan uji yang diberikan aloksan secara intravena juga lebih tinggi sehingga pemberian aloksan melalui intraperitoneal lebih sering dilakukan (Ighodaro *et al.*, 2017).

2.10. Glibenklamid

Glibenklamid merupakan derivat-klormetoksi yang merupakan obat pertama dari antidiabetik generasi ke-2 dengan khasiat hipoglikemia yang kira-

kira 100 kali lebih kuat daripada tolbutamid. Mekanisme kerja glibenklamid yaitu mereregenerasi sel β -pankreas kemudian merangsang sekresi hormon insulin dari granul sel-sel β -Langerhans pankreas (Juliana, 2018). Glibenklamid berinteraksi dengan *ATP-sensitive K channel* pada membran sel-sel β -pankreas menimbulkan depolarisasi membran sehingga kanal Ca terbuka. Setelah kanal Ca terbuka, maka ion Ca^{2+} akan masuk ke dalam sel β -pankreas kemudian merangsang granula yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin (Tjay & Rahardja, 2015).

2.11. Histopatologi

Teknik histopatologi merupakan seni dan ilmu pengetahuan yang dilakukan oleh teknisi untuk membuat potongan jaringan dengan kualitas baik sehingga memungkinkan patologis untuk mendiagnosis ada atau tidaknya suatu kelainan pada jaringan (Amelia, 2018; Musyarifah & Agus, 2018). Struktur jaringan ditentukan oleh bentuk dan ukuran makromolekul di sekitar serta dalam sel. Makromolekul utama yang terdapat dalam sel berupa protein dan asam nukleat. Proses pengolahan dalam teknik histopatologi jaringan dimulai dari proses pengiriman status dan jaringan ke laboratorium patologi anatomi, pemotongan jaringan, fiksasi jaringan, proses pembuatan blok parafin dan pewarnaan (Musyarifah & Agus, 2018).

Pada teknik histopatologi, terdapat 2 (dua) macam metode pewarnaan jaringan, yaitu pewarnaan rutin dan spesifik. Pewarnaan rutin digunakan dalam mempelajari struktur mikroskopis sel dimana pada metode ini digunakan *Hematoxylin* dan *Eosin* (HE) yang merupakan pewarna basa yang memiliki kemampuan dalam membedakan nukleus dan sitoplasma. Sementara untuk pewarnaan spesifik biasanya digunakan untuk membedakan terbagi menjadi 2 (dua) macam lagi yaitu metode histokimia (HC) dan imunohistokimia (IHC). Metode histokimia (HC) merupakan teknik pewarnaan yang digunakan untuk memvisualisasikan struktur biologis. Teknik ini digunakan untuk pemetaan distribusi berbagai komponen jaringan. Beberapa pewarna HC yang digunakan adalah *aldehyde fuchsin*, *toluidine blue*, Giemsa. Pada metode pewarnaan IHC, terbagi menjadi 3 (tiga) yaitu, pewarnaan langsung, tidak langsung, dan pewarnaan ganda (Ardiyani, 2020).

2.12. *Aldehyde fuchsin*

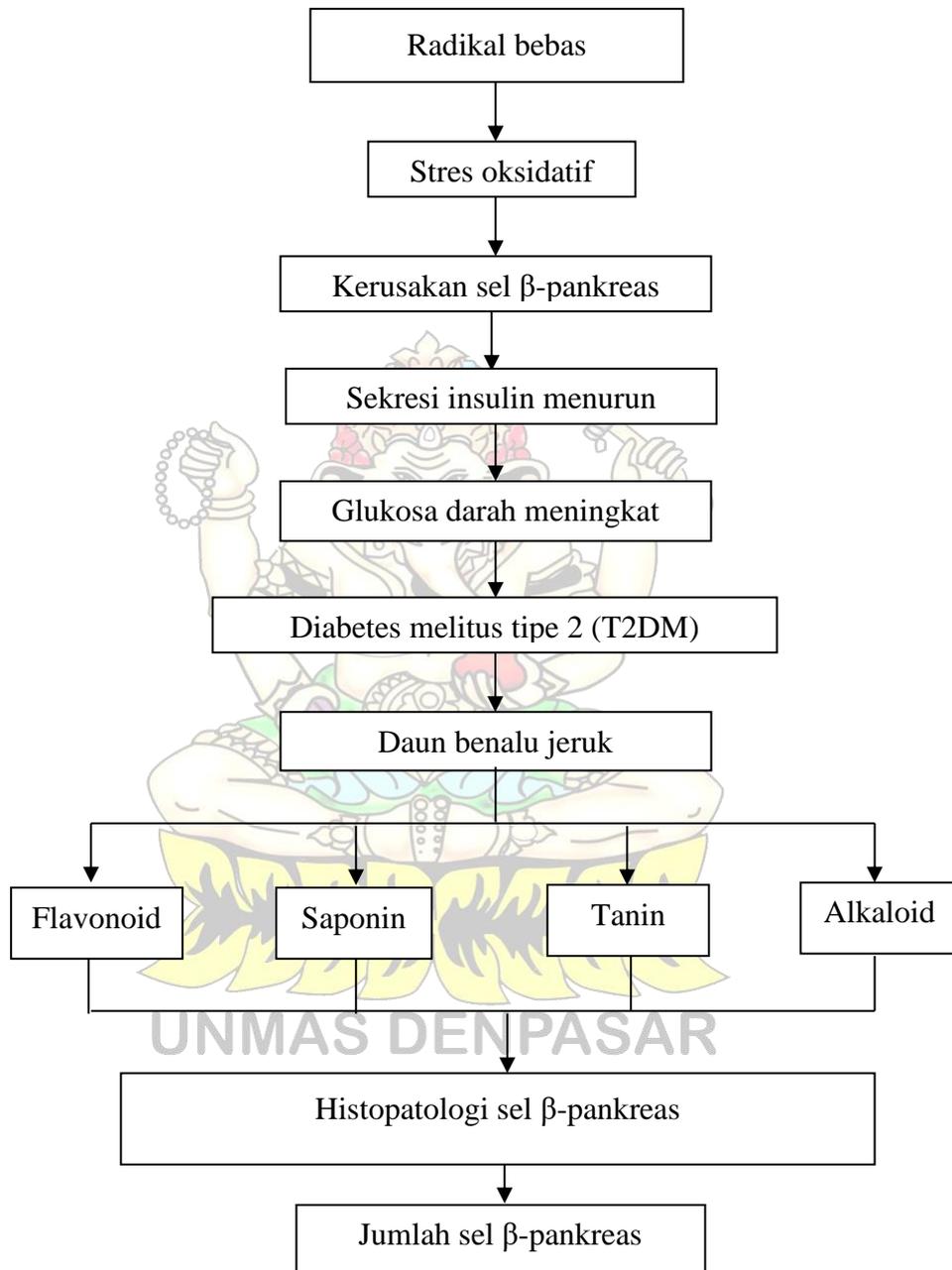
Aldehyde fuchsin merupakan pewarnaan histokimia yang dikemukakan oleh George Gomori untuk serat elastis dan juga pewarnaan sitoplasma butiran sel β -pankreas serta berbagai jenis sel endokrin lainnya, termasuk basophil, *adenohypophyseal*, sel *neurohypophyseal neurosecretory*, sel mast. Teknik ini, dikenal sebagai “*Gomori aldehyde fuchsin stain*”, yang mampu menghasilkan pewarnaan intens terhadap sel β -pankreas (Baskin, 2015). Pewarnaan ini memiliki kelebihan karena pewarnaan sel β -pankreas memiliki hubungan dengan kandungan insulin yang dihasilkan. Selain itu, sel lain di sekitar sel β tidak ikut terwarnai.

2.13. Analisis Statistik

Statistika merupakan ilmu yang mempelajari cara-cara mendeteksi suatu objek, mendeskripsikan objek, dan menganalisa setiap aspek-aspek yang mempengaruhi objek, untuk disimpulkan secara alamiah tentang keberadaan objek sebagai pedoman sains atau pengambilan keputusan. Sedangkan statistik adalah pengetahuan yang berhubungan dengan cara-cara pengumpulan fakta, pengolahan serta penganalisisannya, penarikan kesimpulan serta pembuatan keputusan yang cukup beralasan berdasarkan fakta dan analisa yang dilakukan. Statistik juga digunakan untuk menyatakan ukuran sebagai wakil dari kumpulan data mengenai suatu hal. Ukuran ini didapat berdasarkan perhitungan sebagian kumpulan data tentang persoalan tersebut (Wahyuning, 2021).

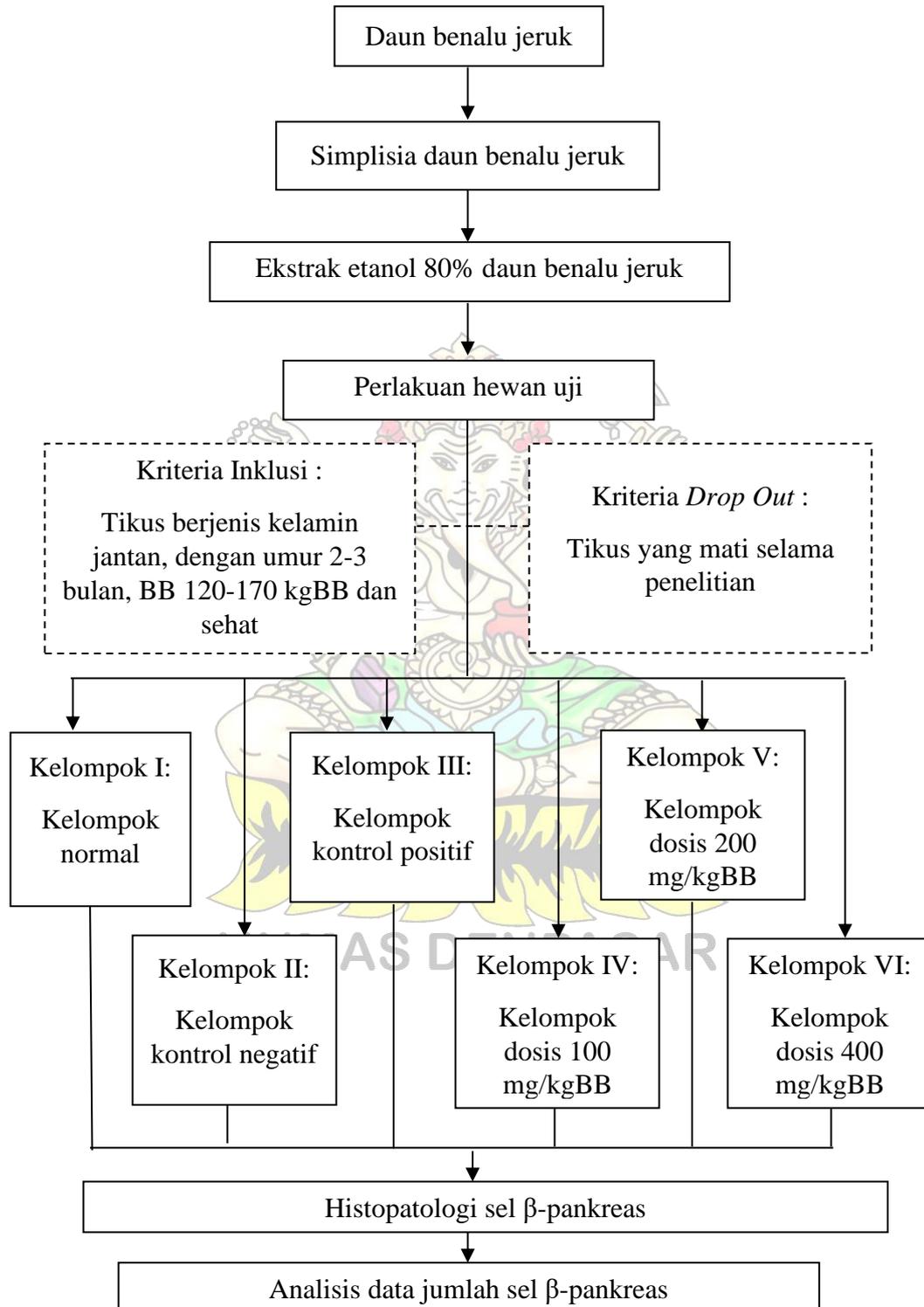
2.14. Kerangka Konseptual

2.14.1. Kerangka teori



Gambar 2. 4 Kerangka Teori

2.14.2. Kerangka konsep



Gambar 2. 5 Kerangka Konsep

2.15. Hipotesis

Diduga pemberian ekstrak etanol 80% daun benalu jeruk memiliki pengaruh terhadap jumlah sel β -pankreas pada tikus yang diinduksi aloksan.

