

EFEK EKSTRAK ETANOL DAUN PALA (MYRISCITA FRAGRANS) TERHADAP GAMBARAN HISPATOLOGI AORTA TIKUS (RATTUS NORVEGICUS) DIABETES

Pia Batmomolin

STIKes Maluku Husada

Email: piabatmomolin@gmail.com

Aulia Debby Pelu

STIKes Maluku Husada

Rokia Latuamury

STIKes Maluku Husada

ABSTRACT

Nutmeg leaves (myristica fragrans) are used by the community to treat several diseases such as pain. chemicals contained in nutmeg leaves such as saponins, polyphenols, flavonoids, and essential oils. to prove the activity of ethanol extract of nutmeg leaf (myristica fragrans) against the aorta of diabetic rats (Rattus norvegicus). This research is a type of research that is a laboratory experiment (laboratory experiment) in vivo using male white rats (Rattus norvegicus) wistar strain. nutmeg leaves using 96% ethanol as solvent. obtained the results of maceration as much as 300 grams, concentrated by means of a rotary evaporator obtained as much as 42,673 grams of thick extract with a % yield of 14.23%. Histological picture is obtained, there is a thinner and wider lumen diameter, there are foam cells in the tunica intima and aortic medica of rats.

Keywords: *nutmeg leaf (myristica fragrans), mouse aorta (rattus norvegicus).*

ABSTRAK

Daun pala (Myristica fragrans) digunakan masyarakat untuk mengobati beberapa penyakit seperti nyeri. Bahan kimia yang terkandung dalam daun pala seperti saponin, polifenol, flavanoid, dan minyak atsiri. Untuk membuktikan aktivitas ekstrak etanol daun pala (myristica fragrans) terhadap aorta tikus (rattus norvegicus) diabetes. Penelitian ini merupakan jenis penelitian yang bersifat eksperimen laboratorium (laboratory experimen) secara in vivo menggunakan hewan coba tikus putih (rattus norvegicus) jantan galur wistar. Daun pala menggunakan pelarut etanol 96%. Diperoleh hasil maserasi sebanyak 300 g, dipekatkan dengan alat rotary evaporator diperoleh ekstrak kental sebanyak 42,673 g dengan %rendamen sebesar 14,23%. Didapatkan gambaran histologi terdapat lumen diameter yang lebih tipis dan lebih lebar dan sel busa pada bagian tunika intima dan media aorta tikus.

Kata kunci: Daun Pala (Myristica fragrans), Aorta Tikus (Rattus norvegicus).

LATAR BELAKANG

Diabetes Melitus (DM) merupakan kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Klasifikasi DM secara umum terdiri atas DM tipe 1 atau Insulin Dependent Diabetes Melitus (IDDM) dan DM tipe 2 atau Non Insulin Dependent Diabetes Melitus (NIDDM). DM tipe 2 terjadi karena sel β pankreas menghasilkan insulin dalam jumlah sedikit atau mengalami resistensi insulin. Jumlah penderita DM tipe 1 sebanyak 5-10% dan DM tipe 2 sebanyak 90-95% dari penderita DM di seluruh dunia (ADA, 2020).

Diabetes Melitus (DM) sebagai permasalahan global terus meningkat prevalensinya dari tahun ke tahun baik di dunia maupun di Indonesia. Berdasarkan data International Diabetes Federation (IDF) prevalensi DM global pada tahun 2019 diperkirakan 9,3% (463 juta orang), naik menjadi 10,2% (578 juta) pada tahun 2030 dan 10,9% (700 juta) pada tahun 2045 (IDF, 2019). Pada tahun 2015, Indonesia menempati peringkat 7 sebagai negara dengan penyandang DM terbanyak di dunia, dan diperkirakan akan naik peringkat 6 pada tahun 2040 (Perkeni, 2019).

Gejala penyakit jantung koroner pada penyandang diabetes melitus bisa terlihat jelas namun juga bisa tidak tampak sampai akhirnya penyandang mengalami kematian mendadak. Biasanya manifestasi yang dapat muncul berupa gejala *angina pectoris* yaitu adanya rasa nyeri dada, dapat berupa rasa berat, rasa teriris-iris, seperti diremas, rasa tertindih berat, pada dada bagian kiri atau tengah yang dapat menjalar ke leher, bahu, punggung ataupun lengan kiri. Pasien juga dapat mengeluh adanya sesak nafas, mudah capek, sesak saat melakukan aktivitas atau sindroma dyspepsia seperti nyeri ulu hati, mual ataupun muntah. Keluhan ini dapat muncul pada saat istirahat atau pun pada saat beraktifitas (Lena 2013).

KAJIAN TEORITIS

Aterosklerosis (ATH) merupakan kelainan dinding pembuluh darah yang bisa berlanjut menjadi plak yang sangat mengganggu aliran pembuluh darah apabila cukup besar. Arteri yang paling sering terkena yaitu koroner, aorta, dan arteri serebral. Pemajanan terhadap radikal bebas dalam sel endotel dinding arteri menyebabkan terjadinya oksidasi LDL. Oksidasi LDL dapat ditangkap oleh makrofag melalui reseptor *scavenger*, apabila terpajan dengan LDL yang teroksidasi makrofag menjadi sel busa. Penimbunan sel busa atau yang dikenal *fatty streak*

yang merupakan Tarik-tarikan lemak yang secara makroskopik tidak kelihatan tetapi secara mikroskopik terlihat sebagai sel-sel busa terjadi di subendotel pembuluh dan ini merupakan bukti paling awal adanya pertumbuhan plak aterosklerosis. Aterosklerosis akan mempengaruhi diameter dan gambaran kerusakan hispatologi aorta (Gurujaj HB, 2013). Berdasarkan data rata-rata produksi Pala Indonesia tahun 2012-2016, sentra produksi Pala di Indonesia terdapat di 5 (lima) provinsi, yaitu Aceh, Maluku Utara, Sulawesi Utara, Maluku dan Papua Barat. Kelima provinsi tersebut memberikan kontribusi kumulatif sebesar 86,71 %. Aceh menempati urutan pertama dengan kontribusi sebesar 25,46 % per tahun. Peringkat kedua ditempati oleh Maluku Utara dengan kontribusi sebesar 19,89 % per tahun, diikuti oleh Sulawesi Utara, Maluku dan Papua Barat dengan kontribusi masing-masing sebesar 14,79 %, 14,65 % dan 11,93 % sedangkan kontribusi produksi dari provinsi lainnya sebesar 13,29 % (BPS, 2017).

Pala merupakan antioksidan yang sangat penting untuk meningkatkan kekebalan tubuh selama bulan-bulan musim gugur dan musim flu, serta mencegah penyakit kronis lainnya. Antioksidan adalah senyawa yang melindungi sel dari radikal bebas, yaitu molekul yang terkait dengan penyakit jantung, kanker, dan penyakit lainnya. Buah pala dapat memberikan manfaat anti-inflamasi bagi orang yang hidup dengan kondisi seperti diabetes, penyakit jantung, dan radang sendi (Phytochemistry reviews, 2016).

Daun pala memiliki efek farmakologis mengobati diare, muntaber, kudis. Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam daun pala diantaranya saponin, polifenol, flavanoid, dan minyak atsiri (Hariana 2013). Daun pala memiliki kandungan kimia diantaranya saponin, tanin, flavanoid, steroid/triterpenoid, polifenol dan minyak atsiri (hariana 2013). Agoes (2010) mengatakan daging buah pala kaya akan kalsium, fosfor, vitamin C, vitamin A serta sedikit zat besi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian yang bersifat eksperimen laboratorium (laboratory experimen) secara in vivo menggunakan hewan coba tikus putih (*rattus norvegicus*) jantan galur wistar. Penelitian menggunakan rancangan penelitian *post test control group design*.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian yang bersifat eksperimen laboratorium (laboratory experimen) secara in vivo menggunakan hewan coba tikus putih (*rattus norvegicus*) jantan galur wistar. Penelitian menggunakan rancangan penelitian *post test control group*

design. Penelitian ini dilakukan di laboratorium Zoology dan Histo Fakultas Mipa Universitas Pattimura (Unpatti) Ambon. Penelitian akan dilaksanakan pada 2– 28 April 2022.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Serbuk Daun Pala

Bobot Serbuk	Karakteristik		
	Bentuk	Warna	%Rendame
300 gram	Kasar	Hitam	Khas
42,673 gram	Kental	Hijau	Khas
300 gram			14,23%

Keterangan :

14,23% : hasil perhitungan %Rendamen 300 gram : bobot serbuk

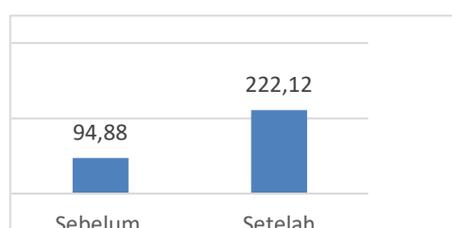
42,673 gram : bobot ekstrak

Hasil Skrining

N0	Pemeriksaan	Perlakuan	Hasil	Ket
1.	Alkaloid	Ekstrak daun pala + pereaksi dragendr	+	Kuning

		off + H ₂ SO ₄		
2.	Flavonoid	Ekstrak daun pala + HCL +magnesium	+	Kuning
3.	Terpenoid	Ekstrak daun pala + pereaksi liebermann-bouchardat	+	Merah
4.	Steroida	Ekstrak daun pala + pereaksi liebermann-bouchardat	+	Merah
5.	Fenolik	Ekstrak daun pala + aquades + FeCl ₃	+	Biru
6.	Saponin tannin	Ekstrak daun pala + HCL	+	Terbentuk busa

Kadar Gula Darah Sebelum Dan Setelah Diberi Aloksan



Rata-rata kadar gula darah sebelum perlakuan 94,88 mg/dl dan rata-rata kadar gula darah setelah perlakuan 222,12 mg/dL. Rata-rata persen kenaikan kadar gula darah sebelum dan setelah pemberian aloksan adalah 42%.

Rerata Jumlah Sel Busa

Nama kelompok	jumlah sel busa (rerata ± sd)
kontrol negatif	4,00 ± 0,406
kontrol positif	5,20 ± 0,406
perlakuan T1	3,00 ± 0,889
perlakuan T2	4,80 ± 0,600
perlakuan T3	1,60 ± 0,240

Rerata Diameter Aorta

Kelompok coba	Rerata	Sd	Min.	Mak.
kontrol (-)	4,00	2,73	1	8
kontrol (+)	5,20	1,97	3	8
Perlakuan T1 (100 grBB/hari)	3,80	2,38	1	7
Perlakuan T2 (200 grBB/hari)	4,60	2,40	2	8
Perlakuan T3 (300 grBB/hari)	1,60	1,51	0	4

Pada penelitian ini sampel yang digunakan yaitu daun pala (*myristica fragrans*) yang diambil dari pohon didesa tulehu, simplisia diambil dengan cara dipetik. Simplisia diambil pada pagi hari karena daun dikumpulkan sewaktu tanaman berbunga dan sebelum menjadi masak, daun pala mencapai kadar alkaloid tertinggi pada pucuk tanaman saat mulai berbunga. Tanaman yang berfotosintesis diambil daunnya saat reaksi fotosintesis sempurna yaitu 09.00-12.00 dan setelah itu simplisia dibersihkan dibawah air mengalir untuk memisahkan kotoran dan bahan asing seperti tanah, kerikil, rumput. Setelah itu simplisia dikeringkan, pengeringan simplisia dilakukan dengan cara diangin-anginkan karena pengering berpengaruh nyata terhadap kadar air bahan, hal ini sejalan dengan dilakukan oleh winangsih (2015) dimana metode pengering berpengaruh secara signifikan terhadap berat kering simplisia. Pengering dilakukan untuk mengeluarkan air dari daun dan mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak. Penurunan kadar air ini dilakukan untuk mencegah tumbuhnya kapang pada simplisia serta menurunkan reaksi enzimatis yang dapat menyebabkan kerusakan simplisia (Maulidiyah, 2018).

Simplisia daun pala kering selanjutnya haluskan menggunakan blender selanjutnya disimpan dalam kantong plastic dan diletak ditempat yang kering, tidak lembab dan terlindung dari sinar matahari langsung, hal ini dilakukan untuk melindungi simplisia agar tidak rusak atau berubah mutunya (Maulidiyah, 2018)

Pada penelitian ini ditimbang daun pala sebanyak 300 gram, ditambahkan pelarut etanol 96% sebanyak 2000 liter lalu direndam selama 3 hari sambil sesekali diaduk di letakan pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Ekstraksi dilakukan dengan tujuan untuk menarik keluar senyawa aktif yang terdapat pada daun pala. Banyaknya ekstrak bahan aktif yang diperoleh dipengaruhi oleh waktu perendaman bahan yang diekstrak dan pengadukan (Yumas, 2017).

Hasil serbuk daun pala yang didapat 300 gram, kemudian diekstraksi dan menghasilkan ekstrak sebanyak 42,673 gram, dan hasil perhitungan % Rendamen 14,23 %

Perhitungan hasil rendamen Randamen ekstrak :

$$= \frac{\text{berat total ekstrak}}{\text{berat simplisia}} \times 100 \%$$

$$= \frac{42,673 \text{ gr}}{300 \text{ gr}} \times 100 \%$$

$$= 14,23 \%$$

Penelitian ini dilakukan dengan metode maserasi karena metode maserasi menggunakan peralatan yang sangat sederhana dan relatif murah serta mudah diperoleh, teknik pengerjaan relatif sederhana dan mudah dilakukan, biaya operasionalnya relatif rendah, dapat dapat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil karena maserasi dilakukan tanpa pemanasan dan sangat baik untuk digunakan pada untuk sampel yang belum diketahui karakteristik senyawanya (Sinta dewi, 2020) esktraksi dilakukan menggunakan pelarut. Pelarut yang digunakan dalam metode maserasi umumnya adalah pelarut non air atau pelarut semi polar maupun non polar. Ketika sampel direndam dalam pelarut cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam sel yang penuh dengan zat aktif dank arena ada pertemuan antara zat aktif dan penyari itu terjadi proses pelarutan, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut akan terjadi berulang sehingga tercapai konsentrasi yang seimbang antara larutan diluar dengan didalam sel (Sinta dewi, 2020). Pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi daun pala adalah etanol 96% adalah pelarut polar yang paling banyak digunakan untuk mengekstraksi bahan alam dan dikenal sebagai pelarut universal, etanol dapat mengekstraksi senyawa aktif lebih banyak dibandingkan dengan jenis pelarut lainnya (Nurjannati, 2018). Hasil maserasi dievaporasi menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 30°c dengan tekanan rendah, evaporasi dilakukan hingga tidak ada lagi pelarut yang menetes dan diperoleh ekstrak kental, proses evaporasi dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut dari hasil ekstraksi hingga dapat diperoleh akstrak murni (Nurjannati, 2018).

Uji Identifikasi Fitokimia Daun Pala

Pengujian fitokimia dilakukan untuk mengetahui komponen kimia yang terdapat pada daun pala (*myristica fragrans*). Pertama dilakukan uji alkaloid yaitu dengan cara diambil sebanyak 0,5 gram ekstrak dimasukkan kedalam tabung reaksi kemudian sampel di tambahkan dengan 3 tetes pereaksi dragendroff dan kemudian ditambahkan 11 tetes H₂SO₄, ekstrak jika terbentuk endapan warna merah pada perekasi drangendroff maka positif adanya alkaloid. Dari hasil perlakuan larutan uji menunjukkan hasil positif karena terbentuk warna kuning pada larutan uji. Kedua dilakukan uji flavonoid ekstrak sampel sebanyak 0,5 gram diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian sampel ditambahkan serbuk magnesium 2 mg dan diberikan 3 tetes HCL pekat. Sampel dikocok dan diamati perubahan yang terjadi terbentuknya warna kuning atau kuning pucat menandakan adanya kandungan flavonoid. Perlakuan menunjukkan hasil positif karena terbentuk warna kuning pucat. Ketiga dilakukan uji terpenoid ekstrak

sampel sebanyak 0,5 gram diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 3 tetes pereaksi liebermen – bouchardat, dibiarkan selama 15 menit jika timbul warna merah menandakan adanya kandungan terpenoid. Perlakuan menunjukkan hasil positif karena terbentuk warna merah. Keempat dilakukan uji Steroida sebanyak 1 gram ekstrak kedalam tabung reaksi tambahkan pereaksi Lieberman – buchard. Apabila terbentuk warna merah maka itu menunjukkan adanya kandungan steroida.dari perlakuan menunjukkan hasil positif karena terbentuk warna merah Kelima dilakukan uji pehnolik ekstrak sampel sebanyak 0,5 gram diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi tambahkan aquades dan FeCl_3 1 %. Ekstrak positif mengandung tanin jika terbentuk warna biru Dan perlakuan menunjukkan hasil positif karena terbentuk warna biru. Keenam dilakukan uji saponin tanin dimasukkan 0,5 gram ekstrak kedalam tabung reaksi tambahkan aquades kemudian dikocok kurang lebih selama 1 menit dan diamkan selama 10 menit kemudian tambahkan HCL 2N. jika menimbulkan buih atau busa maka menandakan adanya kandungan saponin.dari perlakuan menunjukkan hasil positif karena terbentuk busa.

Pembuatan Tikus Diabetes

Pada penelitian ini pembuatan diabetes pada tikus dilakukan dengan cara menginduksi aloksan secara intraperitoneal pada tikus. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik tikus experimental (hiperglikemik) pada hewan coba. Penginduksian dilakukan secara injeksi intraperitoneal yaitu dengan cara menginjeksi aloksan pada bagian abdomen (perut) tikus. Alasan penggunaan secara intraperitoneal karena lebih menguntungkan jika dibandingkan dengan sonde karena aloksan langsung masuk ke perut hewan (Maulidiyah, 2018) pada penelitian ini dosis aloksan yang dipakai adalah 30 mg/tikus 200 gram (Ayu rochmawati, 2018). Alasan penggunaan aquades karena aquades digunakan sebagai kontrol negatif untuk membandingkan glibenklamid dan ekstrak ekstrak etanol daun pala yang mempengaruhi terjadi perubahan kenaikan gula darah pada tikus diabetes. Alasan penggunaan glibenklamid karena digunakan sebagai obat penurunan kadar gula darah (diabetes)

Pengaruh Induksi Aloksan Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kerusakan Aorta Tikus

Diabetes mellitus dapat disebabkan oleh banyak faktor. Faktor tersebut diantaranya faktor genetik, infeksi oleh kuman, faktor nutrisi, zat diabetogenik, dan radikal bebas (stres oksidatif). Senyawa aloksan merupakan salah satu zat diabetogenik yang bersifat toksik, terutama terhadap sel beta pankreas, dan apabila diberikan kepada hewan coba seperti tikus maka dapat menyebabkan hewan coba tikus menjadi diabetes. Mekanisme toksisitas aloksan diawali dengan masuknya aloksan ke dalam sel-sel beta pankreas dan kecepatan pengambilan akan menentukan sifat diabetogenik aloksan. Kerusakan pada sel-sel β terjadi melalui beberapa proses secara bersamaan, yaitu melalui oksidasi gugus sulfidril dan pembentukan radikal bebas. Mekanisme kerja aloksan menghasilkan kerusakan pada selsel β pankreas terutama menyerang senyawa-senyawa seluler yang mengandung gugus sulfidril, asam-asam amino sistein dan protein yang berikatan dengan gugus SH (termasuk enzim yang mengandung gugus SH). Aloksan bereaksi dengan dua gugus SH yang berikatan pada bagian sisi dari protein atau asam amino membentuk ikatan disulfida sehingga menginaktifkan protein yang berakibat pada gangguan fungsi protein tersebut (Szkuldelski, T. 2018). Induksi aloksan pada dosis 120 mg/kg bb secara intraperitoneal mampu meningkatkan kadar glukosa darah dan kerusakan pada sel β pankreas tikus. Tikus dinyatakan hiperglikemia bila kadar glukosa darah > 135 mg/dL.

Tujuan dari pengamatan histopatologi aorta adalah untuk mengetahui secara lebih rinci mengenai pengaruh pemberian glibenklamid dan ekstrak daun pala (EDP) terhadap pemulihan fungsi aorta akibat induksi aloksan. Hal ini membuktikan bahwa pemberian aloksan dapat merusak sel endokrin pankreas khususnya sel beta sehingga sekresi insulin ke dalam pembuluh darah menurun (Nurdiana N.P. 2018). Aorta adalah pembuluh membawa darah dari jantung ke seluruh tubuh. Penurunan jumlah sel beta pankreas menunjukkan adanya gangguan metabolisme insulin pada pankreas yang menyebabkan penurunan volume sel beta.

KESIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian efek ekstrak etanol daun pala (*myristica fragrans*) terhadap gambaran hispatologi aorta tikus (*rattus norvegicus*) diabetes Untuk membuktikan aktivitas ekstrak etanol daun pala (*myristica fragrans*) pada gambaran hispatologi sel busa dan diam eter aorta tikus (*rattus norvegicus*) diabetes. Adapun saran yang diharapkan untuk penelitian selanjutnya Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang efek ekstrak etanol daun pala (*myristica fragrans*) terhadap gambaran hispatologi aorta tikus (*rattus norvegicus*) diabetes.

DAFTAR REFERENSI

- ADA. (2020). Classification and Diagnosis of Diabetes; Standards of Medical Care in Diabetes-2020. In *Diabetes care* (Vol. 43, pp. S14-S31). <https://doi.org/2337/dc20-S002>
- Lena, (2013). *Body mass index and the prevalence, severity, and risk of coronary artery disease: an international multicenter study of 13874 patient*, *European Heart Journal-Cardiovascular*, 14,pp,456-63
- Maulidiyah, A. 2018. No Title. *Skripsi, November*,
- Nurjanati . (2018). *Penilaian Tingkat Kesehatan Bank Dengan Metode RGEC Pada Pt Bank Central Asia Tbk Tahun 2016. Tugas akhir. Departemen Ekonomika Dan Bisnis Universitas Gadjah Mada.*
- Perkeni, (2019). *Pedoman Pemantauan Glukosa Darah Mandiri* (p.28)
- Phytochemistry Reviews, 2016. *That publishes peer-reviewed papers in six issues annually*
- Yumas et al., 2017 *Formulasi Lulur Krim Dari Bubuk Kakao Non Fermentasi Dan Efek Terhadap Kulit. Balai Industry Hasil Perkebunan, Makassar, Indonesia*