

# Isolat Biji Mahoni (*Swietenia macrophylla* King) Memperbaiki Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Model DM Tipe 2

Muthmainah<sup>1</sup>, Ida Nurwati<sup>2</sup>, Selfi Handayani<sup>3</sup>, Betty Saptiwi<sup>4</sup>, Siti Ma'rufah<sup>5</sup>

1. Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret
2. Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret
3. Bagian Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret
4. Bagian Gigi dan Mulut, Rumah Sakit Universitas Sebelas Maret
5. Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret

Korespondensi : muthmain@gmail.com

## ABSTRAK

**Pendahuluan:** Kasus diabetes mellitus (DM) di dunia terus meningkat, dan sebagian besar merupakan DM tipe 2. Diabetes melitus yang tidak terkontrol dapat menimbulkan berbagai komplikasi, antara lain berupa hepatopati. Komplikasi dapat dicegah dengan pengendalian kadar glukosa darah. Biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) diketahui mengandung isolat 1,4-bis-(3,4,5-trimetoksi-fenil)-tetrahidro-furo(3,4-c) furan yang dapat menurunkan kadar glukosa darah. Penelitian mengenai pengaruh isolat tersebut terhadap gambaran histopatologi hepar pada kasus DM belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh isolat biji mahoni tersebut terhadap gambaran histopatologi hepar tikus model DM tipe 2.

**Metode:** Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan rancangan *post test only control group design*. Sampel 36 tikus putih dibagi menjadi 6 kelompok secara random: KN (kontrol normal), K(-) (DM tanpa perlakuan), K(+) (DM+glibenklamid), P1, P2, dan P3 (DM+isolat biji mahoni berturut-turut 10 mg/kg BB, 20 mg/kg BB, dan 40 mg/kg BB). Induksi terjadinya DM menggunakan streptozotisin dan nikotinamid. Setelah 21 hari perlakuan, tikus putih dikorbankan, kemudian organ hepar diambil untuk dibuat preparat histopatologi dengan pengecatan HE. Dengan mikroskop cahaya, jumlah sel-sel hepar yang mengalami kerusakan akibat nekrosis dari tiap 100 sel hepar di sekitar vena sentralis dihitung. Data dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis*, dilanjutkan uji *Mann Whitney*.

**Hasil:** Uji *Kruskal Wallis* menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,000$ ). Uji *Mann Whitney* menunjukkan rerata sel rusak pada kelompok perlakuan dengan isolat biji mahoni (P1, P2, P3) lebih sedikit secara signifikan dibandingkan kelompok DM tanpa perlakuan (K(-)).

**Kesimpulan:** Isolat 1,4-bis-(3,4,5-trimetoksi-fenil)-tetrahidro-furo(3,4-c) furan dari biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King) dapat memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus model DM tipe 2.

**Kata Kunci:** Isolat biji mahoni; histopatologi hepar; diabetes melitus

## ABSTRACT

**Introduction:** The cases of diabetes mellitus (DM) increase continuously, and most of them are type 2 diabetes. Uncontrolled DM can cause various complications, including hepatopathy. Complications can be prevented by controlling blood glucose levels. 1,4-bis-(3,4,5-trimethoxy-phenyl)-tetrahydro-furo (3,4-c) furan isolate of mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seed can reduce blood glucose levels. This study aims to determine the effect of the mahogany seed isolate on the histopathological image of the liver on type 2 diabetes rat model.

**Methods:** This study used 36 rats divided randomly into 6 groups: KN (normal control), K(-) (DM without treatment), K(+) (DM+glibenclamide), P1, P2, and P3 (DM+10 mg/kg BW, 20 mg/kg BW, and 40 mg/kg BW of mahogany seed isolate respectively). Induction of DM using streptozotocin and nicotinamide. After 21 days of treatment, the rats were sacrificed, then the liver was taken to make histopathological preparations with HE staining. Under light microscope, the number of liver cells that damaged by necrosis of every 100 liver cells around the central vein was counted. The data were analyzed using the Kruskal Wallis test, followed by the Mann Whitney test.

**Results:** The Kruskal Wallis test showed a significant difference ( $p = 0.000$ ). Mann Whitney test showed that the mean of damaged cells in the mahogany seed isolate treatment group (P1, P2, P3) was significantly less than the DM group without treatment (K (-)).

**Conclusion:** 1,4-bis-(3,4,5-trimethoxy-phenyl)-tetrahydro-furo(3,4-c) furan isolate from mahogany (*Swietenia. Macrophylla* King) seeds can improve the histopathological image of the liver on type 2 diabetes rat model.

**Keywords:** Isolate of mahogany seeds; liver histopathology; diabetes mellitus

## PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang pesat serta urbanisasi yang meningkat dapat berdampak pada perubahan gaya hidup berupa *sedentary life* dan pola makan kebarat-baratan yang mengandung banyak protein, lemak, gula, dan garam, namun sedikit serat. Perubahan-perubahan tersebut dapat berakibat pada meningkatnya prevalensi penyakit degeneratif antara lain diabetes melitus (DM).<sup>1,2</sup>

Jumlah penderita DM di dunia terus meningkat, termasuk di Indonesia. Di Indonesia jumlah penderita DM dewasa (usia 20-79 tahun) pada tahun 2015 sebanyak 10,0 juta dan diperkirakan meningkat menjadi 16,2 juta pada tahun 2040. Pada tahun 2015 Indonesia menduduki peringkat ke-7 dalam kaitannya dengan jumlah penderita DM, dan diperkirakan menduduki peringkat ke-6 pada tahun 2040.<sup>3</sup>

Diabetes melitus adalah penyakit metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia sebagai akibat dari kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya. Pada DM tipe 1 terjadi kelainan sekresi insulin karena kerusakan sel  $\beta$  pankreas oleh proses autoimun, sedangkan pada DM tipe 2 terjadi kombinasi kelainan sekresi insulin dan resistensi (kelainan kerja) insulin.<sup>4,3</sup> Sebagian

besar kasus DM di dunia merupakan DM tipe 2, demikian pula di Indonesia.<sup>5</sup>

Diabetes melitus yang tidak terkontrol dapat menimbulkan komplikasi pada berbagai sistem organ dalam tubuh, seperti: nefropati, retinopati, *vasculopathy*, neuropati dan penyakit kardiovaskular, serta hepatopati. Penelitian menunjukkan bahwa DM yang tidak terkontrol berhubungan dengan sejumlah kelainan hepar, salah satu diantaranya adalah *non-alcoholic steatohepatitis* (NASH) yang ditandai oleh adanya inflamasi dan nekrosis pada jaringan hepar. Kondisi NASH yang berkepanjangan akhirnya dapat berakibat sebagai kegagalan fungsi hepar stadium akhir.<sup>6</sup>

Mekanisme terjadinya komplikasi pada DM tidak lepas dari peran stres oksidatif dan inflamasi sebagai akibat dari hiperglikemia yang tidak terkontrol. Hiperglikemia yang tidak terkontrol dapat memicu terjadinya stres oksidatif. Stres oksidatif selanjutnya dapat memicu terjadinya peristiwa inflamasi. Stres oksidatif bersama-sama dengan inflamasi berperan dalam menimbulkan berbagai komplikasi pada DM.<sup>7</sup>

Untuk mencegah timbulnya komplikasi diperlukan pengendalian kadar glukosa darah seoptimal mungkin di sepanjang waktu seumur hidup.<sup>8</sup> Bila pengendalian kadar glukosa darah secara non

medikamentosa belum berhasil, maka harus ditambah dengan terapi medikamentosa yaitu terapi dengan obat-obatan.<sup>1,9</sup>

Pada saat ini terapi dengan obat-obatan yang berasal dari tanaman, telah dikembangkan oleh berbagai negara termasuk Indonesia. Indonesia mengembangkan obat-obatan yang berasal dari tanaman, karena selain Indonesia kaya dengan keanekaragaman hayati, juga semakin banyak masyarakat yang memanfaatkan tanaman sebagai obat untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan. Masyarakat merasa bahwa obat modern/sintetis harganya mahal dan efek sampingnya banyak.<sup>10,11</sup>

Salah satu tanaman yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai tanaman obat di Indonesia adalah mahoni (*Swietenia macrophylla* King/*S. macrophylla* King). Mahoni banyak ditanam di Indonesia dan pohon ini kaya manfaat.<sup>12</sup> Biji mahoni diketahui mengandung berbagai senyawa kimia yang berkhasiat menurunkan kadar glukosa darah. Mursiti (2009) berhasil mengisolasi lima senyawa dari biji mahoni yang berkhasiat menurunkan kadar glukosa darah, salah satu diantaranya adalah 1,4-bis-(3,4,5-trimetoksi-fenil)-tetrahidro-furo(3,4-c) furan. Isolat tersebut mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah (pada tikus yang diberi beban glukosa) paling efektif dibandingkan empat isolat lainnya.<sup>13</sup> Hal ini diperkuat oleh penelitian Nugraha (2012) yang berhasil membuktikan secara *docking molecular* bahwa isolat tersebut mempunyai efek yang paling kuat dalam menurunkan kadar glukosa darah.<sup>14</sup>

Penelitian mengenai isolat biji mahoni 1,4-bis-(3,4,5-trimetoksi-fenil)-tetrahidro-furo(3,4-c) furan belum banyak dilakukan. Penelitian yang mengkaji pengaruh isolat tersebut terhadap gambaran histopatologi hepar pada tikus model DM tipe 2, belum pernah dilakukan. Berdasarkan hal-hal tersebut di atas, maka peneliti tertarik untuk meneliti pengaruh isolat 1,4-bis-(3,4,5-

trimetoksi-fenil)-tetrahidro-furo(3,4-c) furan dari biji mahoni (*S. macrophylla* King) terhadap gambaran histopatologi hepar tikus model DM tipe 2.

## METODE

Penelitian eksperimental laboratorium ini menggunakan rancangan *post test only control group design*. Perlakuan terhadap tikus putih dilakukan di Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi, gedung Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada. Pembuatan preparat histopatologi hepar dan pembacaan preparat dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta. Protokol eksperimental telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Sampel penelitian berupa 36 tikus putih diperoleh dari Laboratorium Pengembangan Hewan Coba Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Sampel diambil secara *purposive sampling*. Kriteria inklusi meliputi: Tikus putih jantan, galur Wistar, umur 8-10 minggu, berat badan 200-250 g, tidak cacat fisik, dan aktivitas tampak normal. Kriteria eksklusi berupa tikus putih yang pada 3 hari pasca induksi STZ dan NA menunjukkan kadar glukosa darah puasa (GDP)  $\leq 250$  mg/dL dan tikus putih yang mati dalam masa perlakuan. Sesudah dilakukan adaptasi selama 1 minggu, tikus putih dibagi menjadi 6 kelompok secara random, masing-masing kelompok terdiri dari 6 tikus putih, yaitu:

KN (Kontrol Normal) : Tikus putih normal.

K(-) (Kontrol Negatif) : Tikus putih DM tidak diberi perlakuan.

K(+) (Kontrol Positif) : Tikus putih DM diberi glibenklamid 0,45 mg/kg BB.

P1 (Perlakuan 1) : Tikus putih DM diberi isolat 10 mg/kg BB.

P2 (Perlakuan 2) : Tikus putih DM diberi isolat 20 mg/kg BB.

P3 (Perlakuan 3) : Tikus putih DM diberi isolat 40 mg/kg BB.

Isolat biji mahoni maupun glibenklamid dilarutkan dalam Na CMC 0,5% dan diberikan dengan volume 2 ml untuk tiap tikus putih secara peroral dengan sonde lambung selama 21 hari berturut-turut. Isolat biji mahoni diperoleh dari Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang.

Model DM pada tikus putih dibuat dengan cara menginjeksi tikus putih dengan STZ dan NA. Sebelum diinjeksi dengan STZ dan NA tikus putih pada kelompok K(-), K(+), P1, P2, dan P3 dipuasakan selama semalam/*overnight*. Injeksi dengan NA 110 mg/kg BB secara ip dilakukan 15 menit sebelum tikus putih diinjeksi dengan STZ 45 mg/kg BB secara ip. Larutan NA dibuat dengan melarutkan serbuk NA dalam *normal saline*. Volume larutan NA yang diinjeksikan adalah 2 ml untuk tiap tikus putih. Larutan STZ dibuat dengan melarutkan serbuk STZ dalam 0,1 M buffer sitrat pH 4,5. Volume larutan STZ yang diinjeksikan untuk tiap tikus putih sebesar 2 ml. Setelah 72 jam (3 hari) pasca injeksi, dilakukan pengambilan darah dari vena retroorbital menggunakan pipa mikrokapiler pada semua tikus putih. Sebelum pengambilan darah, tikus dipuasakan selama semalam. Lima menit sebelum tikus putih diambil darahnya dari vena retroorbital, tikus putih dianestesi dengan ketamin 45 mg/kg BB secara im. Darah yang terambil kemudian diperiksa kadar glukosanya untuk memastikan bahwa tikus putih yang diinjeksi dengan STZ dan NA telah mengalami DM. Tikus dinyatakan mengalami DM jika setelah 3 hari pasca injeksi STZ dan NA, kadar GDP > 250 mg/dL. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan metode enzimatik *Glucose Oxidase-Phenol Aminoantipiryn* (GOD-PAP) *test*. Pengukuran kadar glukosa darah puasa (GDP), selain dilakukan pada saat 3 hari setelah injeksi STZ dan NA, juga dilakukan saat sebelum tikus putih dibuat model DM (sebelum diinjeksi STZ dan NA) dan di akhir

perlakuan (setelah 21 hari perlakuan dengan isolat biji mahoni) sebelum tikus putih dikorbankan.

Tikus putih yang telah diberi isolat biji mahoni maupun glibenklamid selama 21 hari berturut-turut dan telah diambil darahnya, dikorbankan dengan cara *neck dislocation*. Tindakan *neck dislocation* ini dilakukan pada saat tikus masih dalam keadaan teranestesi dengan ketamin yang diinjeksikan sebelum pengambilan darah dari vena retroorbital. Tikus yang telah dikorbankan kemudian diambil organ heparinya. Organ hepar kemudian dimasukkan ke dalam larutan fiksatif yaitu buffer formalin. Dari tiap organ hepar dibuat dua irisan untuk dibuat preparat histopatologi. Irisan tersebut diambil pada bagian tengah dari lobus kanan hepar. Tebal tiap irisan adalah 4 µm. Jarak antara irisan satu dengan irisan berikutnya adalah 100 µm. Selanjutnya irisan tersebut dibuat preparat histopatologi dengan pengecatan *Haematoxyllin Eosin* (HE).

Pembacaan preparat histopatologi hepar dilakukan menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX-21 yang dihubungkan dengan kamera mikroskop digital "Optilab" yang dilengkapi dengan *software Optilab Viewer*. Pengamatan preparat mula-mula dilakukan dengan perbesaran 100x untuk melihat seluruh bagian irisan hepar dalam satu preparat. Selanjutnya dengan perbesaran 400x kita pilih secara acak satu area yang mengelilingi vena sentralis, dan kemudian dengan perbesaran 1000x kita hitung jumlah sel hepar yang mengalami kerusakan (intinya piknosis, karyoreksis, atau karyolisis) dari tiap 100 sel di sekeliling vena sentralis. Untuk mendapatkan jumlah 100 sel, lapang pandang mikroskop dengan perbesaran 1000x digeser mengikuti arah jarum jam di sekeliling vena sentralis.

Data mengenai gambaran histopatologi hepar yang berupa rerata jumlah sel hepar yang mengalami kerusakan pada masing-masing kelompok diperbandingkan

dengan uji statistik, dengan taraf kemaknaan  $\alpha=0,05$ . Analisis data dilakukan dengan program *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 25.0 for Windows.

## HASIL

### Kadar glukosa darah

Hasil pengukuran kadar glukosa darah puasa sebanyak tiga kali, yaitu sebelum tikus putih dibuat model DM (H-), sesudah dibuat model DM namun belum diberikan perlakuan (H0), dan sesudah 21 hari perlakuan (H21) dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata kadar GDP tikus putih saat H-, H0, dan H21 pada masing-masing kelompok

Kelompok	Kadar GDP (mg/dL)		
	Mean $\pm$ SD		
	H-	H0	H21
KN	62,05 $\pm$ 2,25	62,81 $\pm$ 2,09	64,75 $\pm$ 1,72
K(-)	60,99 $\pm$ 1,17	255,70 $\pm$ 1,37	256,88 $\pm$ 1,63
K(+)	63,87 $\pm$ 3,22	256,80 $\pm$ 2,74	98,39 $\pm$ 2,42
P1	63,31 $\pm$ 1,21	258,09 $\pm$ 2,19	151,98 $\pm$ 1,75
P2	65,13 $\pm$ 0,96	257,72 $\pm$ 3,47	130,11 $\pm$ 2,04
P3	65,55 $\pm$ 2,96	258,83 $\pm$ 4,63	101,55 $\pm$ 3,47

Keterangan: H-: saat tikus putih belum dibuat model DM; H0: saat tikus putih sudah dibuat model DM namun belum diberi perlakuan; H21: setelah 21 hari perlakuan dengan isolat biji mahoni.

Dari tabel 1 terlihat bahwa saat tikus putih belum diinduksi dengan STZ dan NA atau belum dibuat model DM (saat H-), rerata kadar GDP tikus putih pada semua kelompok masih dalam batas normal. Kadar GDP tikus putih dalam keadaan normal berkisar antara 47,52 - 94,68 mg/dL.<sup>15</sup>

Pada saat 3 hari setelah tikus putih diinduksi dengan STZ dan NA (sudah dibuat model DM), namun belum diberi perlakuan dengan isolat biji mahoni (saat H0), kadar GDP tikus putih kelompok yang dibuat model DM, yaitu: K(-), K(+), P1, P2, dan P3

menunjukkan kadar GDP yang tinggi ( $> 250$  mg/dL). Hal ini menunjukkan bahwa pembuatan model DM telah berhasil. Tikus dinyatakan mengalami DM jika setelah 3 hari pasca injeksi STZ dan NA, kadar GDP  $> 250$  mg/dL.<sup>16,17,18</sup>

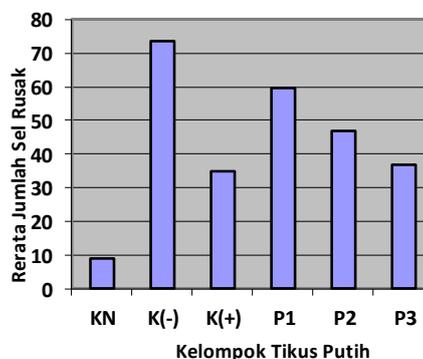
Setelah 21 hari perlakuan (saat H21), kadar GDP tikus putih kelompok yang dibuat model DM dan tidak mendapat perlakuan, yaitu kelompok K(-), kadar GDP tetap tinggi ( $>250$  mg/dL). Hal ini menunjukkan bahwa pembuatan model DM dapat dipertahankan sampai di akhir penelitian (perlakuan).

### Gambaran histopatologi hepar

Hasil pengamatan gambaran histopatologi hepar yang berupa jumlah sel hepar yang mengalami kerusakan (ditandai oleh inti sel yang piknosis, karyoreksis, dan karyolisis) pada masing-masing kelompok, dapat dilihat pada tabel 2.

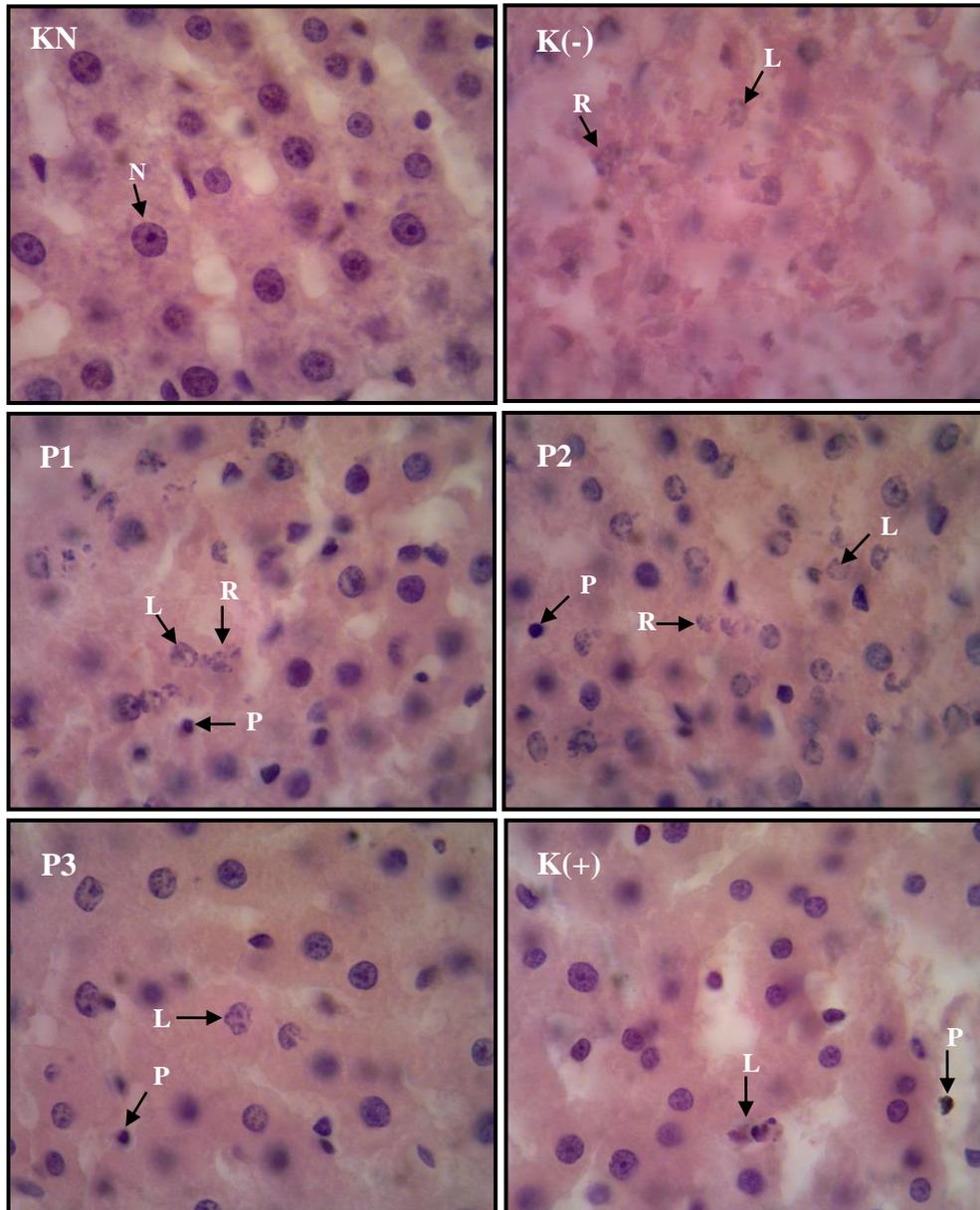
Tabel 2. Rerata jumlah sel hepar yang rusak dari tiap 100 sel di sekitar vena sentralis.

Kelompok Tikus Putih	Rerata Jumlah Sel Rusak Mean $\pm$ SD
KN (Kontrol Normal)	9,08 $\pm$ 1,83
K(-) (Kontrol Negatif)	73,67 $\pm$ 6,92
K(+)	34,83 $\pm$ 5,10
P1 (Kelompok Perlakuan 1)	59,58 $\pm$ 3,29
P2 (Kelompok Perlakuan 2)	47,00 $\pm$ 2,76
P3 (Kelompok Perlakuan 3)	36,92 $\pm$ 2,27



Gambar 1. Diagram rerata jumlah sel hepar yang rusak pada masing-masing kelompok.

Dari tabel 2 dan gambar 1, terlihat bahwa biji mahoni (P1, P2, P3) menunjukkan rerata jumlah sel yang rusak pada kelompok model DM yang mendapat perlakuan dengan isolat yang lebih rendah daripada kelompok DM tanpa perlakuan (K(-)).



Gambar 2. Gambaran Mikroskopis Hepar (Pengecatan HE, perbesaran 1000x). KN: Kelompok kontrol normal; K(-): Kelompok kontrol negatif; K(+): Kelompok kontrol positif; P1: Kelompok perlakuan 1; P2: Kelompok perlakuan 2; P3: Kelompok perlakuan 3. Pada gambar terlihat bahwa pada KN gambaran mikroskopis hepar tampak normal dengan inti sel yang normal, sebaliknya pada kelompok kontrol negatif (tikus DM tanpa perlakuan) tampak sebagian besar selnya mengalami kerusakan dengan inti sel karyorekisis dan karyolisis. Adapun pada kelompok perlakuan dengan isolat biji mahoni (P1, P2, P3) dan glibenklamid (K(+)) memperlihatkan gambaran jumlah sel yang rusak lebih sedikit daripada kelompok K(-), namun masih lebih banyak daripada kelompok KN. N: inti sel normal, P: inti sel piknosis, R: inti sel karyorekisis, L: inti sel karyolisis.

Data rerata jumlah sel yang rusak selanjutnya diperbandingkan secara statistik dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis*, karena syarat untuk menggunakan uji parametrik *One Way Anova* tidak terpenuhi (varians data tidak homogen, meskipun sudah dilakukan transformasi data). Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna diantara semua kelompok tikus putih ( $p=0,000$ ). Data selanjutnya dianalisis dengan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui letak perbedaan terdapat pada perbandingan diantara kelompok mana.

Tabel 3. Ringkasan Hasil Uji *Mann Whitney*

Perbandingan antar kelompok	Nilai p
KN - K(-)	0,000
KN - K(+)	0,000
KN - P1	0,000
KN - P2	0,000
KN - P3	0,000
K(-) - K(+)	0,000
K(-) - P1	0,000
K(-) - P2	0,000
K(-) - P3	0,000
K(+)- P1	0,000
K(+)- P2	0,000
K(+)- P3	0,451
P1 - P2	0,000
P1 - P3	0,000
P2 - P3	0,000

Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan perbedaan yang signifikan pada semua perbandingan diantara dua kelompok, kecuali antara kelompok P3 dan K(+) dengan nilai  $p=0,451(p>0,05)$ .

## PEMBAHASAN

Pada penelitian ini model DM tipe 2 pada tikus putih berhasil dibuat dengan cara menginduksi tikus putih dengan STZ dan NA. Streptozotosin (STZ) pada penelitian ini dapat menginduksi terjadinya hiperglikemia, karena STZ dapat menyebabkan metilasi DNA sel  $\beta$  pankreas sehingga DNA mengalami fragmentasi, yang selanjutnya dapat memicu

terjadinya overstimulasi enzim poly(ADP-ribose) polymerase (PARP), yaitu enzim untuk *repair* DNA. Overstimulasi PARP dapat menyebabkan deplesi  $NAD^+$  yang diikuti dengan terjadinya deplesi ATP.<sup>19,20</sup> Deplesi ATP dapat memicu terjadinya serangkaian peristiwa yang berakibat pada kematian sel karena pecahnya sel. Mula-mula deplesi ATP akan mengakibatkan penurunan aktivitas pompa natrium ( $Na^+$  *pump*) sehingga natrium terakumulasi di dalam sel. Selanjutnya natrium akan menarik air ( $H_2O$ ) ke dalam sel sehingga sel menjadi bengkak (*swelling*), dan lebih lanjut sel pecah dan akhirnya sel mati.<sup>21,22</sup> Adapun pemberian nikotinamid (NA) pada tikus putih 15 menit sebelum pemberian STZ bertujuan agar sel  $\beta$  pankreas tidak semuanya mengalami kematian akibat pengaruh STZ. Nikotinamid berfungsi untuk menghambat aktivitas enzim PARP sehingga deplesi  $NAD^+$  dapat dikurangi, dan lebih lanjut deplesi ATP juga dapat dikurangi. Dengan demikian jumlah sel  $\beta$  pankreas yang mengalami kematian juga dapat dibatasi.<sup>23,24</sup> Kombinasi STZ dan NA telah banyak digunakan sebagai penginduksi untuk membuat model DM tipe 2 pada hewan coba.<sup>24</sup>

Hasil penelitian menunjukkan bahwa rerata jumlah sel hepar yang rusak pada K(-) lebih banyak daripada KN, dan secara statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal ini berarti bahwa DM yang terjadi pada tikus putih dapat menimbulkan kerusakan pada hepar yang ditandai oleh adanya inti sel hepar yang piknosis, karyoreksis, dan karyolisis. Tikus putih yang dibuat model DM akan mengalami hiperglikemia, yang selanjutnya dapat memicu terjadinya stres oksidatif dan lebih lanjut dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai organ.<sup>21</sup> Hiperglikemia melalui berbagai mekanisme, yaitu: Aktivasi jalur polioliol, jalur protein kinase-C (PKC), dan jalur heksosamin, serta peningkatan produksi *advanced glycated end products* (AGEs) dan ekspresi reseptor AGEs (RAGE) dan

ligannya, dapat menyebabkan terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang berlebihan atau menimbulkan stres oksidatif.<sup>25</sup> Stres oksidatif atau ROS yang berlebihan dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai organ, salah satu diantaranya adalah hepar. *Reactive Oxygen Species* mula-mula akan menyebabkan peroksidasi lipid sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan membran sel, yang pada tahap lebih lanjut dapat menyebabkan terjadinya nekrosis. Sel yang mengalami nekrosis antara lain ditandai oleh perubahan pada inti sel berupa piknosis, karyoreksis, dan karyolisis.<sup>21</sup>

Rerata sel hepar yang rusak pada kelompok perlakuan biji mahoni (P1, P2, P3) lebih sedikit dibandingkan pada kelompok DM yang tidak diberi perlakuan (K(-)), dan secara statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian isolat biji mahoni mampu mengurangi terjadinya kerusakan sel hepar pada tikus putih model DM. Berkurangnya kerusakan ini dapat terjadi karena isolat biji mahoni memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah dan stres oksidatif. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa isolat biji mahoni dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih hiperglikemia.<sup>13,14,26</sup> Selain itu, isolat biji mahoni juga telah terbukti dapat menurunkan stres oksidatif pada tikus putih model DM.<sup>26</sup> Adanya kemampuan isolat biji mahoni dalam menurunkan kadar glukosa darah dan stres oksidatif, selanjutnya akan mengurangi terjadinya kerusakan pada sel. Penurunan stres oksidatif dapat mengurangi kejadian peroksidasi lipid, sehingga dapat mengurangi jumlah sel yang rusak.<sup>21</sup>

Perbandingan diantara tiga kelompok perlakuan yang diberi isolat biji mahoni menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Antara P1 dan P2, antara P1 dan P3, antara P2 dan P3 terdapat perbedaan yang signifikan. Semakin tinggi dosis isolat biji mahoni yang diberikan maka jumlah sel yang

rusak semakin sedikit. Jumlah sel yang rusak pada kelompok P3 paling sedikit. Apabila kelompok P3 dibandingkan dengan kelompok K(+) yang diberi glibenklamid terdapat perbedaan yang tidak signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian isolat biji mahoni dosis 40 mg/kg BB mempunyai efek yang sebanding dengan pemberian glibenklamid 0,45 mg/kg BB selama 21 hari berturut-turut. Hasil ini memberikan harapan bahwa isolat biji mahoni nantinya dapat dikembangkan sebagai obat untuk mencegah kerusakan hepar pada penderita DM. Namun tentunya masih memerlukan tahap-tahap penelitian lanjutan yang panjang.

Apabila kelompok P3 dibandingkan dengan kelompok KN (kontrol normal), maka jumlah sel yang rusak pada kelompok P3 masih lebih banyak secara signifikan dibandingkan kelompok KN. Dengan demikian pemberian dosis isolat yang paling tinggi pada penelitian ini (40 mg/kg BB) selama 21 hari berturut-turut belum dapat memberikan hasil yang sama seperti kelompok kontrol normal. Hal ini mungkin dapat disebabkan oleh masih kurang tingginya dosis yang diberikan, atau mungkin juga karena masih kurang lamanya waktu perlakuan.

Penelitian sebelumnya mengenai pengaruh isolat biji mahoni terhadap gambaran histopatologi hepar belum pernah dilakukan. Penelitian sebelumnya yang pernah dilakukan antara lain penelitian yang mengkaji pengaruh isolat biji mahoni terhadap kadar glukosa darah tikus putih yang diberi pembebanan glukosa secara per oral. Isolat biji mahoni tersebut ternyata secara signifikan mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus putih hiperglikemia yang diberi larutan glukosa per oral 1,75 g/kg BB.<sup>13</sup> Penelitian lainnya menunjukkan bahwa isolat biji mahoni secara signifikan dapat menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan ekspresi insulin pada pankreas tikus putih model diabetik yang diinduksi STZ.<sup>14</sup>

Penelitian yang mengkaji efek isolat biji mahoni dalam menurunkan tingkat stres oksidatif pada tikus putih model DM juga pernah dilakukan. Isolat biji mahoni tersebut mampu menurunkan kadar malondialdehid (MDA) darah tikus putih yang diinduksi STZ-NA secara signifikan.<sup>26</sup> Malondialdehid merupakan salah satu bentuk produk akhir dari peroksidasi lipid yang sering digunakan sebagai marker untuk mengetahui tingkat stres oksidatif.<sup>27,28</sup> Isolat biji mahoni juga telah terbukti dapat menurunkan resistensi insulin pada tikus model DM tipe 2 melalui pengurangan nilai indeks *Homeostasis Model Assesment of Insulin Resistance* (HOMA-IR). Indeks HOMA-IR pada tikus yang mendapat perlakuan dengan isolat biji mahoni menunjukkan nilai yang lebih rendah secara signifikan dibandingkan tikus DM yang tidak mendapat perlakuan.<sup>29</sup>

Penulis menyadari terdapat beberapa keterbatasan pada penelitian ini, yaitu: Dosis dan lama waktu perlakuan dengan isolat biji mahoni yang masih terbatas variasinya, sehingga hasil yang dicapai pada penelitian ini belum optimal seperti pada kelompok kontrol normal. Selain itu parameter yang digunakan untuk menilai gambaran histopatologi hepar pada penelitian ini masih terbatas pada gambaran nekrosis sel yang dilihat pada preparat pengecatan HE. Parameter untuk melihat gambaran histopatologi hepar lainnya seperti gambaran apoptosis tidak dilakukan.

## KESIMPULAN

Isolat 1,4-bis-(3,4,5-trimetoksi-fenil)-tetrahydro-furo(3,4-c) furan dari biji mahoni (*S. macrophylla* King) dapat memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus model DM tipe 2, dengan mengurangi jumlah sel hepar yang mengalami nekrosis.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan banyak terima kasih kepada berbagai pihak, yaitu: Dr. Mursiti, M.Kes, Apt. dari Laboratorium Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang yang telah membantu pengadaan isolat biji mahoni, Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi, gedung Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada yang telah banyak membantu jalannya penelitian, Laboratorium Pengembangan Hewan Coba Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada yang telah menyediakan hewan coba untuk penelitian, dan Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret yang telah banyak membantu pada pembuatan preparat histopatologi.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Soelistijo SA, Novida H, Rudijanto A, Soewondo P, Suastika K, Manaf A, *et al.* *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus Tipe2 di Indonesia 2015*. Pengurus Besar Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PB Perkeni), 2015: vi, 10-11, 16-17.
2. Suyono S. Diabetes melitus di Indonesia. Dalam: Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, Simadibrata M, Setiyohadi B, Syam AF (eds). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid II, edisi ke-6. Jakarta: Interna Publishing Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam; 2014: 2315-2316.
3. International Diabetes Federation. *IDF Diabetes Atlas*. 7th ed. IDF, 2015: 22, 28-29, 51-52.
4. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2010; 33(1): 562-569.
5. Fatimah RN. Review: Diabetes Mellitus Tipe 2. *J. Majority*, 2015; 4(5): 93-101.
6. Mohamed J, Nazratun NAH., Zariyantey AH., Budin SB. Review: Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage; The role of oxidative stress and inflammation. *Sultan Qaboos University Med J* 2016; 16(2): 132-141.
7. Wright E, Bacon JLS, Glass LC. Oxidative stress in type 2 diabetes: The role of fasting and postprandial glycaemia. *Int J Clin Prac* 2006; 60(3): 308-314.

8. Manaf A. *Genetical abnormality and glucotoxicity in diabetes mellitus: The background of tissue damage and infection*. Pekanbaru: PDPI; 2008.
9. Soegondo S. Farmakoterapi pada pengendalian glikemia diabetes melitus tipe 2. Dalam: Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, Simadibrata M, Setiyohadi B, Syam AF (eds). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jilid II, edisi ke-6. Jakarta: Interna Publishing Pusat Penerbitan Ilmu Penyakit Dalam; 2014: 2328-2333.
10. Dewoto. Pengembangan obat tradisional Indonesia menjadi fitofarmaka. *Maj Kedokt Indon* 2007; 57(7): 205-211.
11. Febrianti PP. *Ketergantungan Bahan Baku Obat Impor*. Bagian Farmasi Unhas, 2015. Diunggah dari URL: <http://www.kompasiana.com>
12. Krisnawati H, Kallio M, Kanninen M. *Swietenia macrophylla* King: *Ecology, Silviculture and Productivity*. Bogor: CIFOR; 2011: 1-5.
13. Mursiti S. Isolasi, karakterisasi, dan uji aktivitas hipoglikemik senyawa dalam biji mahoni bebas minyak dan minyak biji mahoni (*Swietenia macrophylla* King). *Laporan Penelitian*. Semarang: UNNES; 2009.
14. Nugraha A. *Docking molekuler dan aktivitas antihiperlipidemik senyawa aktif hasil isolasi dari ekstrak metanol biji mahoni (Swietenia macrophylla King) pada tikus diabetes setelah induksi streptozotocin* [Tesis]. Yogyakarta: Program Studi S2 Ilmu Kedokteran Dasar dan Biomedis Universitas Gadjah Mada; 2012.
15. Wang Z, Yang Y, Xiang X, Zhu Y, Men J, He M. Estimation of the normal range of blood glucose in rats. *Wei Sheng Yan Jiu* 2010; 39(2):133-7, 142.
16. El-Gohary A and Said MA. Protective effect of exenatide (glucagon-like peptide-1 receptor agonist) on renal ischemia-reperfusion injury in diabetic rats. *Benha Med J* 2016; 33: 24-30.
17. Sankaranarayanan C and Pari L. Influence of thymoquinone on glycoprotein changes in experimental hyperglycemic rats. *Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis* 2011; 1: 51-55.
18. Rajarajeswari N and Pari L. Antioxidant role of coumarin on streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetes rats. *IJPSR* 2011; 2(4): 968-978.
19. Lenzen S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin - induced diabetes. *Diabetologia* 2008; 51: 216-226.
20. Eleazu CO, Elazu KC, Chukwuma S, Essien UN. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *J Diabetes Metab Disord* 2013; 12(60): 1-7.
21. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology*. Ninth edition. Canada: Elsevier Saunders; 2013: 13-16, 19, 29-49, 58, 68-69.
22. Weerasinghe P and Buja LM. Review: Oncosis: An important non apoptotic mode of cell death. *Exp Mol Pathol* 2012; 93: 302-308.
23. Szkudelski T. Minireview: Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Exp Biol Med*, 2012; 237: 481-490.
24. Ghasemi A, Khalifi S, Jedi S. Review: Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes. *Acta Physiol Hung* 2014; 101(4):408-420.
25. Giacco F and Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res* 2010; 107: 1058-1070.
26. Muthmainah, Kristanto YY, Bambang P, Ambar M, Mustofa. 1,4-bis-3,4,5-trimethoxyphenyl-tetrahydro-furo(3,4-c) furan from mahogany (*Swietenia macrophylla* King) seed significantly reduces glucose and malondialdehyde levels in diabetic Wistar rats. *Bali Med J* 2019; 8 (2): 570-575.
27. Ho E, Galougahi KK, Liu CC, Bhindi R, Figtree GA. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biology* 2013; 1: 483-491.
28. Ayala A, Munoz MF, Arguelles S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014; 2014: 1-31
29. Yusuf M. Pengaruh isolat 1,4-bis-(3,4,5-trimetoksi-fenil)-tetrahidrofuro (3,4-c) furan terhadap resistensi insulin dan ekspresi protein serin 307 IRS-1 di jaringan otot skelet pada tikus DM tipe 2 [Tesis]. Yogyakarta: Program Studi S2 Ilmu Kedokteran Dasar dan Biomedis Universitas Gadjah Mada; 2016.