

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness)
Terhadap Gambaran Histopatologi Sel dalam Pulau Langerhans Pankreas pada
Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Sistik Ovarium**

**Effect of Sambiloto Leaf Extract (*Andrographis paniculata* Ness) to
Histopathological Pancreatic Langerhans Islet Cells on Rats (*Rattus norvegicus*)
with Cystic Ovary Model**

¹Portia Sumarsono, ²Widjiati, ²Sri Pantja Madyawati

¹PPDH Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

²Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga

Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya 60115

Tlp. 031-5992785 fax.0315993015

e-mail: vetunair@telkom.net

Abstract

Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) or cystic ovary is a disease of endocrine system, which is follicles on the surface were never ovulated and androgen levels in the body increased. Sambiloto leaf extract (*Andrographis paniculata* Ness) can stimulate the release of insulin and increase the effectiveness of insulin receptors so that no insulin resistance. The purpose of this research was to know the influence of sambiloto on decreasing the number of cells in pancreatic islets of Langerhans in rat model of cystic ovaries with insulin resistance. The rats were grouped into five groups, that are a negative control, positive control with testosterone injection 1 mg/kgBW during 28 days, P1 with testosterone injection 1 mg/kgBW during 28 days and extract of sambiloto with the dose 18 mg/kgBW, P2 36 mg/kgBW, and P3 72 mg/kgBW respectively during 21 days. The results of this research were analyzed using ANOVA and Duncan test. The results showed that the number of Langerhans islet cells decrease in compliance with increasing dose of sambiloto leaf extract. The conclusion of this research is sambiloto leaf extract can decrease the number of cells in the pancreatic islets of Langerhans on rats model of cystic ovary through improvement of insulin sensibility.

Keywords: *Andrographis paniculata* Ness, PCOS, insulin resistance, islet of Langerhans

Pendahuluan

Peningkatan usaha peternakan dan kesehatan hewan sangat diperlukan sebagai upaya untuk memenuhi kebutuhan bahan makanan asal hewan. Seiring dengan pertambahan jumlah penduduk Indonesia, maka peningkatan usaha peternakan juga perlu ditingkatkan.

Hardjopranjoto (1995) menyatakan bahwa laju peningkatan populasi ternak akan menjadi cepat bila efisiensi reproduksi lebih baik dan angka gangguan reproduksinya rendah.

Salah satu penyebab gangguan reproduksi adalah adanya gangguan fungsional. Gangguan fungsional merupakan

gangguan karena organ reproduksi yang tidak berfungsi dengan baik, salah satu penyebab infertilitas adalah gangguan fungsi hormonal. Ratnawati dkk. (2007) menyatakan bahwa salah satu bentuk infertilitas adalah sistik ovarium atau *Polycystic Ovary Syndrome*. *Polycystic Ovary Syndrome* (PCOS) merupakan penyakit yang berhubungan dengan sistem endokrin, folikel yang terbentuk di permukaan ovarium tidak pernah diovulasikan dan kadar androgen dalam tubuh meningkat.

Sekarang diyakini bahwa ada dua hal utama yang mendasari pathogenesis PCOS, yaitu resistensi insulin dan gangguan sekresi LH. Keadaan ini berkaitan dengan terganggunya kerja insulin yang menyebabkan hiperinsulinemia dengan resistensi insulin karena sel-sel pada jaringan perifer khususnya otot dan jaringan lemak tidak dapat menggunakan insulin sehingga banyak dijumpai pada sirkulasi darah. Peningkatan kadar insulin yang terjadi akibat adanya resistensi insulin di jaringan perifer yang akan merangsang produksi androgen ovarium. Insulin menyebabkan menurunnya produksi *sex hormone binding globulin* (SHBG), sehingga androgen bebas meningkat. Peningkatan ini akan berpengaruh terhadap lingkungan ovarium menjadi androgenik, gangguan sistem aromatisasi androgen menjadi estrogen sehingga dapat memicu terjadinya atresia folikel lebih dini (Poretsky *et al.*, 1999). Menurut Legro (2001) dan Hopkinson *et al.*, (1998), resistensi insulin atau respon abnormal insulin terhadap stimuli glukosa merupakan *principal underlying etiologic factors* dari PCOS. Pada gangguan sekresi LH, kelebihan produksi androgen di dalam ovarium akan menyebabkan sejumlah besar folikel preovulasi gagal untuk merespon FSH (Fairley *et al.*, 2009).

Penanganan untuk PCOS yang dilakukan selama ini adalah dengan

menggunakan prostaglandin (jika hewan tidak bunting) ataupun dengan penyuntikan HCG/LH (Ratnawati dkk., 2007). Pengobatan secara tradisional sangat sedikit dilakukan walaupun terapi herbal merupakan salah satu pengobatan alternatif yang sedang berkembang saat ini.

Salah satu tanaman yang dipakai masyarakat Indonesia sebagai bahan obat tradisional adalah sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness). Herbal sambiloto yang mengandung andrographolida yang merupakan suatu glikosida diterpenoid yang dapat digunakan sebagai antidiabetik, diuretika, antipiretik, analgesik, dan antiulserogenik. Ciri khas dari tanaman ini adalah rasa pahit yang disebabkan karena adanya andrographolida yang tidak ada di tanaman lainnya (Niranjan *et al.*, 2010).

Pemberian ekstrak daun sambiloto dapat merangsang pelepasan insulin dan meningkatkan efektifitas reseptor insulin sehingga tidak terjadi resistensi insulin yang merupakan penyebab dari sistik ovarium. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun sambiloto terhadap jumlah sel dalam pulau Langerhans pankreas pada tikus model PCOS dengan resistensi insulin.

Materi dan Metode Penelitian

Bahan dan alat Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jenis kelamin betina, umur 3 bulan dengan berat badan 150-200 gram. Bahan lain yang digunakan adalah hormon testosteron propionate, ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness), akuades, pellet (pakan tikus), serbuk kayu, alkohol, *cotton bud*, sarung tangan (*gloves*), masker, pewarna giemsa, air minum *ad libitum*, alkohol, *buffer* formalin, dan pewarna *Hematoxillin Eosin* (HE). Peralatan penelitian yang digunakan selama penelitian adalah kandang hewan coba, botol minum

tikus, timbangan untuk mengukur berat badan tikus, spuit tuberkulin untuk injeksi testosteron propionate, spuit yang telah dimodifikasi dengan sonde untuk memberikan ekstrak sambiloto cara sonde, *object glass* untuk swab vagina yang dilakukan untuk melihat gambaran perubahan sel epitel vagina, mikroskop, timbangan analitik, gelas ukur 10 ml, *beaker glass* 500 cc, dan alat bedah.

Dosis Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness)

Dosis sambiloto yang digunakan berdasarkan dosis ekstrak daun sambiloto pada manusia sebesar 400-800 mg/hari. Konversi dosis pada manusia dengan berat badan 70 kg ke tikus dengan berat 200 gram adalah 0,018 (Ghosh, 1971). Penghitungan dosis konversi dari manusia ke tikus dengan minimum dosis yang digunakan pada manusia : $(1000 \text{ g} : 200 \text{ g}) \times 0,018 \times 400 \text{ mg/hari} = 36 \text{ mg/hari}$. Berdasarkan rumus deret dosis, kemudian dosis ini dibagi menjadi 3 dosis perlakuan, yaitu $\frac{1}{2}$ dari dosis konversi (18 mg/kgBB), 1 kali dari dosis konversi (36 mg/kgBB), dan 2 kali dari dosis konversi (72 mg/kgBB).

Perlakuan

Penelitian ini menggunakan lima kelompok perlakuan dan masing-masing kelompok berisi empat ekor tikus. Kelompok kontrol terdiri dari kelompok kontrol negatif (K-) yang hanya diberi akuades dan kelompok kontrol positif (K+) yang diberi perlakuan dengan injeksi testosteron propionate 1 mg/kgBB secara intramuskular (im) selama 28 hari setiap harinya untuk menimbulkan PCOS dengan resistensi insulin dan diberi akuades sebagai terapinya selama 21 hari. Sedangkan kelompok perlakuan terdiri dari kelompok perlakuan 1 (P1), perlakuan 2 (P2), dan perlakuan 3 (P3) yang diberi perlakuan dengan injeksi

testosteron propionate 1 mg/kgBB secara intramuskular (im) selama 28 hari setiap harinya untuk menimbulkan PCOS dengan resistensi insulin dan diberi ekstrak sambiloto dosis 18 mg/kgBB, 36 mg/kgBB, dan 72 mg/kgBB sebagai terapi selama 21 hari pada masing-masing kelompok perlakuan.

Penghitungan sel dalam pulau Langerhans pankreas dengan cara pengambilan satu irisan kelenjar pankreas dalam sediaan histopatologi untuk tiap ulangan dalam satu perlakuan dengan menggunakan pembesaran 100x dan 400x terhadap lima (5) lapangan pandang pulau Langerhans yang berbeda. Pada setiap pulau Langerhans yang dipilih dihitung jumlah sel yang berada didalamnya tanpa melihat tipe sel yang ada didalamnya karena teknik pewarnaan HE tidak dapat membedakan jenis sel yang ada secara spesifik. Hasil rerata penghitungan tersebut disusun dan dianalisis dengan menggunakan uji statistik parametrik, yaitu menggunakan *Analisis Of Variance* (ANOVA) pada tingkat kepercayaan 5% dan apabila terdapat perbedaan nyata antar perlakuan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (Kusriningrum, 2010). Data dianalisis menggunakan program *Statistical Analysis Software* (SPSS).

Hasil dan Pembahasan

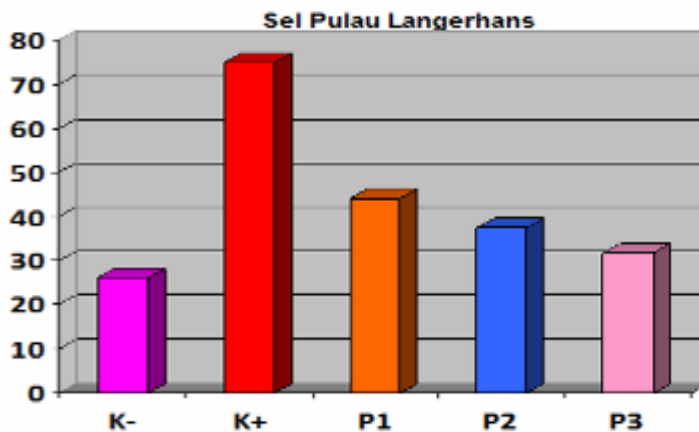
Hasil uji statistik *Analisis Of Variance* (ANOVA) menunjukkan perbedaan yang nyata 0.000 ($p < 0.05$). Selanjutnya dilakukan uji jarak berganda Duncan dengan hasil yang diperoleh menunjukkan perlakuan K- berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan K+, P1, P2, dan P3. Perlakuan K+ berbeda nyata ($p < 0.05$) dengan K-, P1, P2, dan P3.

Tabel 1. Rerata jumlah sel dalam pulau Langerhans ± SD (Standart Deviasi) tikus putih (*Rattus norvegicus*)

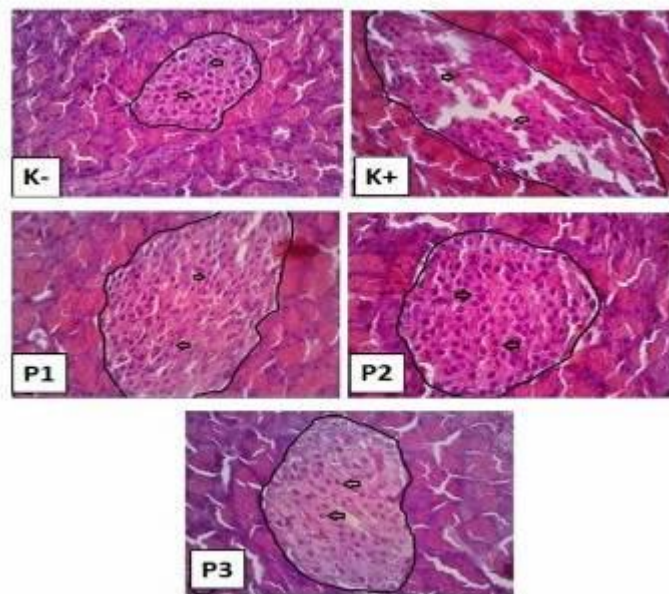
Perlakuan	Rerata jumlah sel ± SD
K-	26,00 ^a ± 1,826
K+	75,00 ^e ± 3,916
P1	44,25 ^d ± 4,573
P2	37,50 ^c ± 3,416
P3	31,75 ^b ± 4,272

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0.05$)

Hasil pemeriksaan histopatologi pankreas tikus yang telah diberikan perlakuan ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah sel dalam pulau Langerhans tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Jumlah rerata sel dalam pulau Langerhans tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada berbagai perlakuan



Gambar 2. Histopatologi sel dalam pulau Langerhans pankreas (Pewarnaan *Hematoxylin Eosin*; perbesaran 400 kali; Mikroskop Olympus® CX-41)

Hasil perlakuan K+ sebagai kontrol positif menunjukkan nilai tertinggi banyaknya jumlah sel dalam pulau Langerhans dibandingkan dengan K-, P1, P2, dan P3. Pada perlakuan P1, P2, dan P3 menunjukkan berkurangnya jumlah sel dalam pulau Langerhans tikus model PCOS resistensi insulin dengan pemberian terapi ekstrak daun sambiloto berbagai dosis, semakin tinggi dosis yang diberikan menunjukkan semakin menurunnya jumlah sel β dalam pulau Langerhans. Pada kelompok kontrol positif (K+) $75,00^e \pm 3,916$ menunjukkan adanya peningkatan jumlah sel pada pulau Langerhans bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif (K-) $26,00^a \pm 1,826$. Hal ini menunjukkan keadaan hiperinsulinemia yang merupakan hal yang mendasari terjadinya sistik ovarium yang akan berdampak pada penurunan respon reseptor atau penurunan kemampuan insulin untuk menstimulasi pemasukan glukosa kedalam jaringan target yang disebut dengan resistensi insulin (Nugroho, 2006).

Kelainan metabolik utama pada sistik ovarium adalah tidak ada respon tubuh terhadap kadar insulin yang normal, sehingga resistensi insulin ini mengakibatkan pankreas bekerja lebih keras sementara kadar gula yang tidak terolah akan meningkat (Cibula *et al.*, 2000). Patofisiologi dari resistensi insulin adalah pada awalnya terjadi pelepasan insulin oleh sel beta yang meningkat untuk mengkompensasi penurunan dari sensitivitas insulin. Sensitivitas insulin adalah kemampuan hormon insulin menurunkan kadar gula darah dengan menekan produksi glukosa hepatic dan menstimulasi pemanfaatan glukosa didalam otot dan jaringan adipose. Hubungan ini terganggu ketika sel beta pankreas tidak mampu lagi untuk mengkompensasi. Keadaan resistensi insulin yang berlangsung lama ini menimbulkan disfungsi sel beta (Dunaif, 1997).

Pada kelompok tikus yang diberi ekstrak sambiloto (P1, P2, dan P3) dapat diketahui bahwa ada perbedaan

jumlah sel dalam pulau Langerhans yang tidak sebanyak dengan kelompok kontrol positif. Hal ini mengindikasikan bahwa sambiloto mampu merangsang pelepasan insulin dan menghambat absorpsi glukosa melalui penghambatan enzim *alfaglukosidase* dan *alfa-amilase* (Subramanian *et al.*, 2008). Kandungan *Andrografolide* pada ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness) dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetes mellitus melalui peningkatan ekspresi protein GLUT-4 yang berguna mengikat dan membawa glukosa masuk ke sel-sel target, yaitu sel lemak, otot, dan hepar, sehingga kadar glukosa dalam darah menurun (Yu *et al.*, 2003). Penurunan kadar glukosa dalam darah menyebabkan kompensasi tubuh dalam memproduksi insulin juga akan menurun. Hal ini sejalan dengan penurunan jumlah dari sel beta pankreas.

Subramanian *et al.*, (2008) menyatakan bahwa secara invitro tanaman sambiloto mempunyai khasiat antidiabetik dengan cara mempengaruhi sekresi insulin dari pulau Langerhans. Kandungan *Andrographolide* sebagai bahan aktif dalam daun sambiloto berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah dan antiinflamasi. Selain itu pemberian sambiloto dengan dosis yang meningkat ini membuat sel dalam pulau Langerhans, terutama sel beta pankreas menurun jumlahnya, karena insulin yang dihasilkan membawa glukosa yang ada dalam darah masuk ke sel target. Penelitian yang dilakukan oleh Aryani (2013) menunjukkan bahwa pemberian sambiloto selama 15 hari masih menghasilkan kadar insulin yang belum berbeda, namun telah mampu memberikan perubahan terhadap perkembangan folikel primer dan folikel *de graaf* pada tikus model sistik ovarium.

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak daun sambiloto

dapat menurunkan jumlah sel dalam pulau Langerhans pankreas pada tikus model sistik ovarium dengan resistensi insulin.

Daftar Pustaka

- Aryani, H.P. 2013. Perubahan Kadar Insulin dan Gambaran Perkembangan Folikel Tikus (*Rattus norvegicus*) Model SOPK Dengan Resistensi Insulin yang Diterapi Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*) [Thesis]. Fakultas Kedokteran. Universitas Airlangga.
- Cibula D., R. Cifkova and M. Fanta M. 2000. Increased risk of non-insulin dependent diabetes mellitus, arterial hypertension and coronary artery disease in perimenopausal women with a history of the polycystic ovary syndrome. *Hum Repro.* 15(4): 785-789.
- Dunaif, A. 1997. Insulin Resistance and Polycystic Ovary Syndrome: Mechanism and Implication for Pathogenesis. *Endocrine Reviews.* 18 (6): 744-810.
- Fairley, H., Diana, and A. Taylor. 2009. Anovulation. *BMJ.* 327: 546-549.
- Hardjopranjoto, S. 1995. Ilmu Kemajiran Pada Ternak. Surabaya: Airlangga University Press.
- Hidayah, R. 2008. Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) Terhadap Glukosa Darah dan Gambaran Histologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes [Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Malang.
- Hopkinson, Z.E, N. Sattar, and R. Fleming. 1998. Polycystic Ovarian Syndrome: The Metabolic Syndrome Comes To Gynaecology. *BMJ.* 317: 329-333.
- Kusriningrum, D. 2010. Perancangan Percobaan. Surabaya: Airlangga University Press.
- Legro, R.S. 2001. Diabetes Prevalence and Risk Factors in Polycystic Ovary Syndrome. *Obstetrics and Gynecology Clinics of North America.* 28: 99-109.
- Nirajan A, S.K. Tewari, and A. Lehry. 2010. Biological activities Of *Kalmegh* (*A.paniculata* Ness) and its active principles, *Ind. J. Nat. Prod. Res.* 1 (2): 125-135.
- Nugroho, A.E. 2006. Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi Dan Mekanisme; Aksi Diabetogenik Animal Models Of Diabetes Mellitus : Pathology And Mechanism Of Some Diabetogenics [Review]. 7 (4): 378-382.
- Nurdiana,N.P., Setyawati dan M. Ali. 1998. Efek Streptozotocin Sebagai Bahan Diabetogenik Pada Tikus Wistar dengan Cara Pemberian Intraperitoneal dan Intravena. *Majalah Kedokteran Unibraw.* 14 (2): 66-77.
- Poretsky L, N.A. Cataldo, Z. Rosenwaks, and L.C. Giudice. 1999. The Insulin Related Ovarian Regulatory System in Health and Disease. *Endocrine Reviews,* 20(4): 535-582.
- Subramanian R, M.Z. Asmawi and A. Sadikun. 2008. In vitro alpha-glucosidase and alphaamylase enzyme inhibitory effects of *Andrographis paniculata* extract and andrographolide. *J. Acta Biochem.* 55 (2): 391-398.
- Yu, B.C., C.R. Hung, W.C. Chen, and J.T. Cheng. 2003. Antihyperglycaemic effects of andrographolide in streptozotocin-induced diabetic rats, *Planta Medica.* 69 (12): 1075-1079.