

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) berpengaruh terhadap SOD, berat badan dan histologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan sehingga dapat menyebabkan diabetes mellitus. Data yang diperoleh diuraikan dalam bentuk tabel, grafik dan gambar seperti di bawah ini.

#### **4.1 Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Kadar SOD (*Superoksida dismutase*) Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Aloksan.**

Superoksida dismutase (SOD) adalah antioksidan yang bekerja dengan cara membersihkan radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS) dengan reaksi enzimatik dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. SOD mengkatalisis reaksi dismutase radikal bebas anion superoksida ( $O_2^{\cdot-}$ ) menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen sehingga tidak berbahaya bagi sel (Halliwell 2006). Jika SOD dalam tubuh normal atau meningkat, maka radikal bebas dalam tubuh bisa dikendalikan. Namun, jika SOD menurun mengakibatkan meningkatnya produksi radikal bebas di dalam tubuh sehingga menurunkan enzim-enzim antioksidan intrasel dan menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan sel dapat berakhir pada kematian sel sehingga terjadi percepatan timbulnya berbagai penyakit degeneratif.

Salah satu metode pengukuran kadar SOD (*Superoksida dismutase*) ditentukan berdasarkan pengukuran enzim secara tidak langsung, dengan

menggunakan metode spektrofotometri. Untuk menganalisis enzim ini, dipakai enzim xantin atau xantin oksidase yang menghasilkan anion superoksida.

Pernyataan di atas sesuai dengan pendapat Prasetyawati (2003), bahwa aktivitas SOD diukur berdasarkan laju penghambatan sitokrom c oleh anion superoksida yang dihasilkan oleh xantin atau xantin oksidase. Oksidasi xantin menghasilkan asam urat dan anion superoksida, yang selanjutnya mereduksi sitokrom c. Reduksi sitokrom c diamati berdasarkan kenaikan absorbansi pada panjang gelombang 550 nm.

Data hasil pengukuran kadar SOD dengan menggunakan enzim xantin dan oksidase menunjukkan hasil yang berbeda pada tiap perlakuan. Perlakuan tersebut yaitu hepar tikus kontrol negatif (normal), kontrol positif (diabetes), dan tikus diabetes sesudah perlakuan pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) tiga dosis 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB dapat dilihat pada tabel 4.1 di bawah ini.

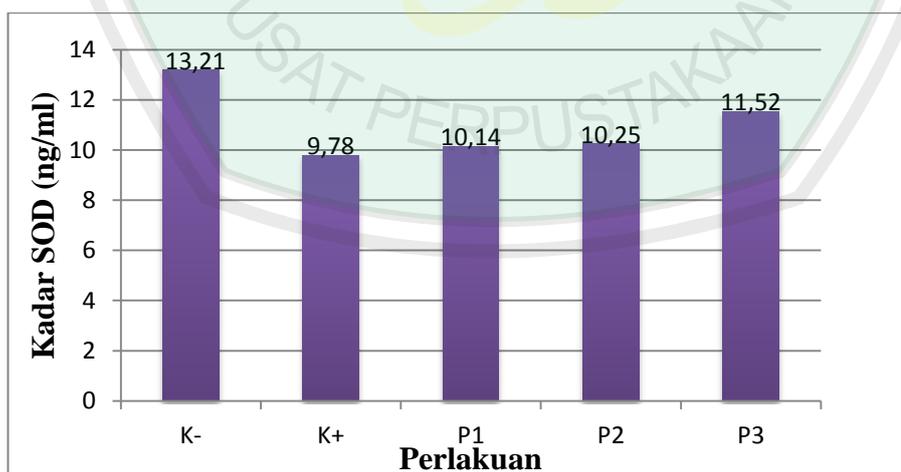
Tabel 4.1 Kadar SOD (ng/ml) pada hepar tikus diabetes sesudah perlakuan pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.)

Kelompok	Kadar SOD (ng/ml) Pada Ulangan Ke-.....			Rerata (ng/ml)
	1	2	3	
K-	13,01	14,34	12,28	13,21
K+	7,45	11,17	10,73	9,78
P1 (50 mg/kg BB)	8,28	10,84	11,28	10,14
P2 (100 mg/kg BB)	10,28	11,23	9,23	10,25
P3 (150 mg/kg BB)	12,40	11,12	11,06	11,52

Berdasarkan tabel 4.1 di atas diketahui bahwa rerata kadar SOD pada tikus kontrol negatif (13,21 ng/ml) lebih tinggi dibandingkan dengan kadar SOD tikus

kontrol positif (9,78 ng/ml). Tubuh dapat menghasilkan antioksidan berupa enzim yang aktif bila didukung oleh nutrisi pendukung atau mineral yang disebut juga ko-faktor, salah satunya yaitu SOD. Ketika SOD di dalam tubuh normal, maka kadar radikal bebas juga akan normal. Namun, ketika radikal bebas dalam tubuh meningkat, kadar SOD dalam tubuh juga meningkat untuk menangkal radikal bebas, sehingga terjadi keseimbangan (homeostasis) antara antioksidan dan radikal bebas.

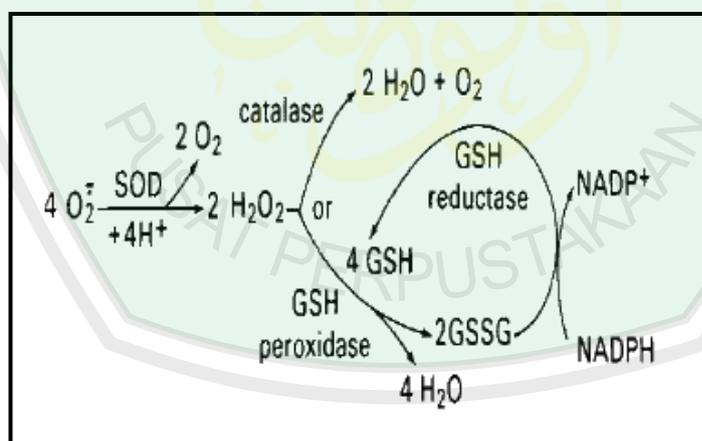
Sedangkan rerata kadar SOD pada ketiga perlakuan lebih tinggi dibandingkan kontrol positif (tabel 4.1). Peningkatan SOD dikarenakan adanya antioksidan dalam senyawa flavonoid daun sirsak. Komponen senyawa flavonoid daun sirsak dimungkinkan dapat bekerja secara sinergis bersama dengan enzim SOD dalam menetralkan radikal bebas endogen sehingga kadar SOD hepar tikus tidak menurun seperti kontrol positif. Rerata peningkatan kadar SOD hepar tikus (*Rattus norvegicus*) lebih jelasnya dapat dilihat pada gambar 4.1 dibawah ini.



Gambar 4.1 Grafik kadar SOD (ng/ml)hepar tikus setelah perlakuan (1: Kontrol negatif, 2: Kontrol positif, 3: Perlakuan1 (50mg/kgBB), 4:Perlakuan 2(100mg/kg BB), 5: Perlakuan 3 (150mg/kg BB)).

Berdasarkan gambar 4.1 di atas diketahui bahwa setelah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam tiga dosis yang berbeda menunjukkan peningkatan kadar SOD dibandingkan tikus kontrol positif. Hal ini sesuai dengan pendapat Widyastuti dan Nyoman (2012), yang menyatakan bahwa senyawa flavonoid mampu merangsang ekspresi Cu-Zn SOD yang berfungsi melindungi sel dari serangan stress oksidatif. Pada penelitian ini P1, P2 dan P3 mengandung senyawa flavonoid dari ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.)

Nurawati (2002), menyatakan bahwa enzim SOD memegang peranan penting sebagai antioksidan endogen. Berdasarkan mekanismenya, enzim ini digolongkan sebagai antioksidan primer yang berperan mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil yaitu radikal  $O_2^-$  menjadi  $H_2O_2$  (Gambar 4.2).

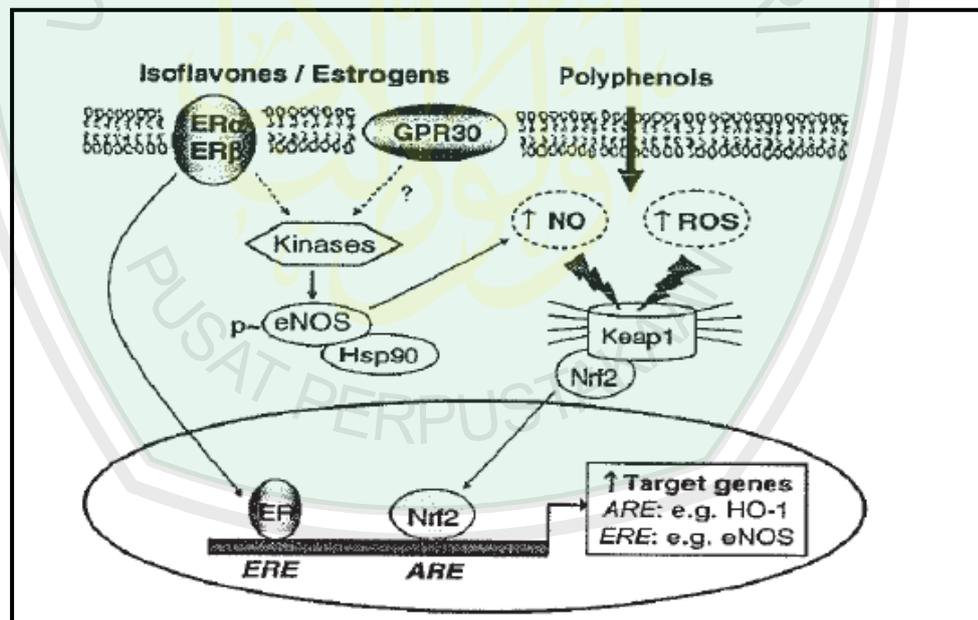


Gambar 4.2. Cara kerja enzim pertahanan tubuh terhadap radikal bebas (Nurawati, 2002)

Radikal bebas khususnya anion superoksida dapat dihasilkan secara alami dalam tubuh, merupakan hasil reduksi satu elektron oksigen dan dapat terjadi pada hampir semua sel aerobik yang menjalankan transfer elektron. Peningkatan jumlah radikal anion superoksida dapat terjadi di bawah kondisi stress yang

diberikan. Jika radikal bebas ini dalam jumlah yang berlebihan sedangkan jumlah antioksidan enzimatis tetap atau lebih sedikit maka kelebihannya tidak bisa dinetralkan dan berakibat pada kerusakan sel (Prasetyawati, 1999).

Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan dalam meningkatkan enzim SOD dijelaskan oleh Sugito (2012) bahwa kenaikan kadar SOD di dalam hepar disebabkan karena adanya komponen fenolik yang menginduksi gen enzim antioksidan, kemudian menginduksi *antioxidant receptor elemen* (ARE) dan menginduksi DNA untuk memproduksi enzim antioksidan. Komponen fenolik pada suatu tanaman diduga mampu memicu terekspresinya gen enzim antioksidan seperti Mn-SOD, Cu/Zn-SOD hepar, sehingga aktivitasnya meningkat.



Gambar 4.3. Nitrik oksida sebagai mediator aktivasi transkripsi gen antioksidan yang diinduksi oleh isoflavon (Mann *et al.*, 2007).

Berdasarkan gambar 4.3 di atas, Mann *et al.*, (2007) menjelaskan bahwa dengan mengkonsumsi senyawa isoflavon (golongan flavonoid) dapat mengaktifasi eNOS (endotel nitrik oksida sintase). Akibat aktivasi ini, sel endotel

akan menghasilkan nitrik oksida (NO). Nitrik oksida ternyata mempunyai peran penting dalam ekspresi gen antioksidan enzimatis yang dimediasi oleh Nrf2.

Mann *et al.*, (2007) menjelaskan pada gambar 19 di atas, nitrik oksida bertindak sebagai mediator aktivasi transkripsi gen antioksidan enzimatis yang diinduksi oleh isoflavon (golongan flavonoid). Senyawa isoflavon berikatan dengan reseptor estrogen (ER)  $\beta$  pada permukaan membran sel kemudian secara reaksi cascade dapat mengaktifkan kinase intrasel, menyebabkan aktivasi secara cepat menghasilkan eNOS dan NO. Meningkatnya kadar NO atau peroksinitrit akan memodifikasi residu sistein pada protein Keap-1 (*Kelch ECH associating protein*) menyebabkan pelepasan dan translokasi faktor transkripsi Nrf2 ke dalam inti. Nrf2 berikatan dengan ARE (*antioxidant response element*) atau dengan EpRE (*electrophile response element*) pada daerah promotor dari gen target sehingga dapat menginduksi enzim antioksidan enzimatis, seperti SOD, GPx dan NQO1 (*NADPH quinone oxidoreductase 1*). Untuk mengetahui pengaruh aktivitas SOD, maka data dapat diuji dengan menggunakan statistik.

Data yang diperoleh selanjutnya diuji normalitas dan homogenitasnya. Hasilnya menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen (lampiran 12). Kemudian data diuji menggunakan Analisis Variansi (ANAVA) satu arah dengan taraf signifikansi 5%. Hasil perhitungan ANAVA satu arah yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap kadar SOD dapat dilihat pada tabel 4.2 di bawah ini.

Tabel 4.2 Hasil perhitungan ANAVA satu arah kadar SOD (ng/ml) sesudah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.)

SK	Db	JK	KT	F	Sig.
Perlakuan	3	5.473	1.824	0.880	0.491
Galat	8	1.579	2.072		
Total	11				

Berdasarkan tabel 4.2 hasil yang diperoleh dari uji ANAVA satu arah dengan taraf signifikansi 5%, didapatkan  $0,05 > \text{sig}$  ( $0,05 < 0,491$ ), sehingga hipotesis nol ( $H_0$ ) ditolak. Jadi dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) tidak berpengaruh terhadap kadar SOD hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. Hal ini terjadi karena meningkatnya radikal bebas yang disebabkan oleh senyawa toksik aloksan.

Hasil penelitian ini tidak sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Adewole (2009), menyatakan bahwa pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dosis 100 mg/kgBB selama 60 hari dapat meningkatkan kadar SOD hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi STZ. Hal ini dimungkinkan karena beberapa hal yaitu 1) penelitian ini waktu pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang digunakan hanya 30 hari. Jadi, pemberian yang diberikan masanya lebih pendek dibandingkan penelitian Adewole (2009). 2) dosis yang digunakan tergolong rendah sehingga tidak dapat meningkatkan kadar SOD hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. 3) dipengaruhi oleh senyawa toksik aloksan sebagai zat diabetik yang meningkatkan radikal bebas, sehingga SOD tidak dapat menangkalnya.

Pemberian aloksan dengan dosis 120 mg/kg BB pada tikus (*Rattus norvegicus*) mengakibatkan peningkatan radikal bebas dalam hepar. Produksi

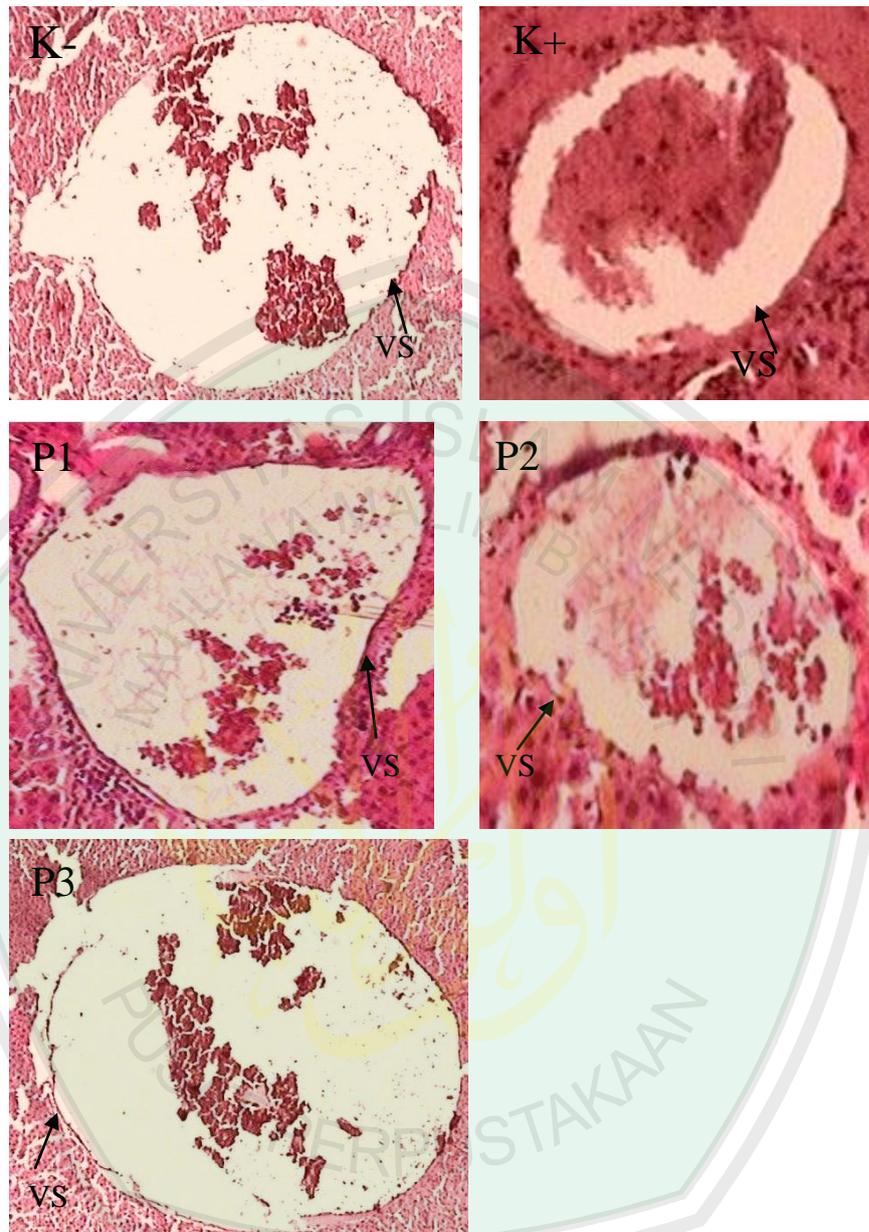
radikal bebas yang berlebihan akan memicu terjadinya stress oksidatif, yaitu suatu keadaan dimana jumlah radikal bebas yang diproduksi melebihi kapasitas tubuh untuk menangkalnya (Syahbuddin, 2000). Meningkatnya radikal bebas terlihat dari menurunnya antioksidan Cu/Zn-SOD yang telah banyak digunakan untuk memerangi radikal bebas (Wresdiyati, 2003).

#### **4.2 Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Histologi Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang diinduksi Aloksan**

Penelitian tentang pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) menggunakan beberapa parameter. Salah satu parameter tersebut adalah tentang histologi hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan sehingga menyebabkan diabetes mellitus. Data histologi hepar tikus kontrol negatif, kontrol positif, dan perlakuan yang diberi ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) 50 mg/kg BB, 100 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB diuraikan dalam bentuk tabel, grafik dan gambar seperti di bawah ini.

##### **4.2.1 Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Luas Vena Sentralis Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang diinduksi Aloksan**

Hasil penelitian pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) berpengaruh terhadap luas vena sentralis hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. Data histologi terkait hal tersebut dapat dilihat pada gambar 4.4.



Gambar 4.4 Histologi vena sentralis hepar tikus (*Rattus norvegicus*) jantan perbesaran 400x. Keterangan : K-. Kontrol negatif ( $4,8 \times 10^8 \mu\text{m}$ ), K+. Kontrol positif ( $1,9 \times 10^6 \mu\text{m}$ ), P1. Perlakuan 1 ( $4,2 \times 10^6 \mu\text{m}$ ), P2. Perlakuan 2 ( $1,9 \times 10^7 \mu\text{m}$ ), P3. Perlakuan 3 ( $3,8 \times 10^7 \mu\text{m}$ ). VS : Vena sentralis.

Vena sentralis merupakan tempat menampung aliran darah dari vena porta dan vena hepatika. Vena sentralis di dalamnya terdapat banyak sel darah merah

(eritrosit) (Daglia, 2000). Vena, karena berfungsi mengalirkan darah kembali ke jantung, memiliki tekanan dinding yang sangat rendah dan sebagai akibatnya dinding vena tipis. Tetapi walaupun begitu, dinding vena berotot yang memungkinkannya untuk mengecil dan membesar, sehingga vena mampu menyimpan darah dalam jumlah kecil atau besar tergantung kepada kebutuhan badan (Guyton, 2000). Rerata luas vena sentralis hepar tikus (*Rattus norvegicus*) sesudah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat dilihat tabel 4.3 di bawah ini.

Tabel 4.3 Rerata luas vena sentralis hepar tikus (*Rattus norvegicus*) sesudah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.)

Perlakuan	Ulangan ( $\mu\text{m}$ )			Total ( $\mu\text{m}$ )	Rerata ( $\mu\text{m}$ )
	1	2	3		
K-	$4,8 \times 10^8$	$4,0 \times 10^8$	$2,5 \times 10^8$	$1,1 \times 10^8$	$3,8 \times 10^8$
K+	$1,9 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$4,8 \times 10^6$	$1,6 \times 10^6$
P1 (50 mg/kg BB)	$4,2 \times 10^6$	$2,0 \times 10^6$	$2,9 \times 10^6$	$9,2 \times 10^6$	$3,0 \times 10^6$
P2 (100mg/kg BB)	$1,9 \times 10^7$	$1,8 \times 10^7$	$2,2 \times 10^7$	$61 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$
P3 (150mg/kg BB)	$3,8 \times 10^7$	$2,9 \times 10^7$	$2,6 \times 10^7$	$9,5 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$

Berdasarkan tabel 4.3 rerata luas vena sentralis K+ ( $1,6 \times 10^6$ )  $\mu\text{m}$  lebih sempit dibandingkan dengan K- ( $3,8 \times 10^8$ )  $\mu\text{m}$ . Hal ini dimungkinkan karena senyawa toksik aloksan. Penambahan aloksan sebagai oksidan menyebabkan jumlah radikal yang terbentuk dalam tubuh meningkat sehingga terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan dimana hal ini dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Apabila stres oksidatif ini berlangsung lama, dapat menyebabkan reaksi fisi homolitik senyawa hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) menjadi spesies radikal bebas hidroksil ( $\text{OH}^\circ$ ) yang sangat reaktif. Radikal hidroksil dapat bereaksi secara

acak terhadap komponen biomolekul seperti karbohidrat, lipid, protein dan asam nukleat.

Martini (1995), menyatakan bahwa vena sentralis merupakan suatu venula yang tersusun dari selapis sel endotel dan tunica eksterna. Tunica eksterna tersusun dari jaringan ikat yang mengandung serat kolagen dan otot polos. Komponen penyusun tunica eksterna tersebutlah yang berperan dalam mengatur diameter vena sentralis. Otot polos bertanggungjawab atas aktivitas tidak sadar, seperti gerakan lambung atau penyempitan pembuluh darah. Selain ciri tersebut, otot polos memiliki kontraksi sangat lambat, tidak cepat lelah, dan tahan lama. Serat kolagen berwarna putih atau disebut serat putih. Seratnya tersusun atas protein kolagen, sehingga memiliki sifat kuat, daya regang tinggi, dan elastisitas yang rendah (Rochmah, 2009).

Kontraksi otot polos berasal dari ion kalsium ekstrasel yang masuk melalui Ca channel ke dalam sel. Ion kalsium akan terikat pada kalmodulin, ikatan Ca-kalmodulin selanjutnya mengaktifkan enzim myosin kinase yang menyebabkan fosforilasi ATP pada kepala myosin. Fosforilase kepala myosin akan menyebabkan aktin membentuk *cross bridge* dengan myosin dan terjadilah kontraksi. Bila konsentrasi ion Ca turun dibawah konsentrasi yang cukup untuk menimbulkan kontraksi, maka akan terjadi proses defosforilase dari kepala myosin yang dikatalisis oleh enzim myosin fosfatase. Enzim ini akan memisahkan gugus fosfat dari kepala misoin sehingga interaksi filament aktin dan myosin akan berhenti, dan terjadilah relaksasi (Rochmah, 2009). Ketika aloksan atau radikal bebas mengenai otot polos dan serat kolagen pada wilayah tunica eksterna

menyebabkan vena sentralis menjadi menyempit. Penyempitan luas vena sentralis dikarenakan kontraksi otot polos yang terus menerus, sehingga mengakibatkan sel mengalami kerusakan bahkan mungkin sel menghilang akibatnya vena sentralis menyempit.

Rerata luas vena sentralis ketiga perlakuan setelah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) P1 ( $3,0 \times 10^6$ )  $\mu\text{m}$ , P2 ( $2,0 \times 10^7$ )  $\mu\text{m}$  dan ( $3,1 \times 10^7$ )  $\mu\text{m}$  lebih luas dibandingkan K+ ( $1,6 \times 10^6$ )  $\mu\text{m}$  tabel 4.3. Peningkatan rerata luas vena sentralis hepar tikus dimungkinkan karena antioksidan yang terdapat pada daun sirsak yaitu flavonoid. Simamora (2008), menyatakan flavonoid adalah senyawa polifenol yang merupakan salah satu golongan antioksidan, suatu senyawa kimia yang dapat menghambat terjadinya proses oksidasi yang dipicu oleh radikal bebas. Kapasitas flavonoid sebagai antioksidan tidak hanya bergantung pada potensial reduksi F1-OH, tapi juga kemungkinan terjadinya reaksi samping pada radikal aroksil. Selain dengan cara memadamkan radikal, flavonoid dapat menstabilkan radikal-radikal bebas yang terlibat dalam proses oksidasi dengan cara berikatan kompleks dengan senyawa flavonoid. Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat menangkal radikal bebas yang dihasilkan oleh senyawa toksik aloksan, sehingga sel yang masih ada dihambat kerusakannya dan mampu beregenerasi akibatnya vena sentralis dapat meluas kembali.

Data yang diperoleh selanjutnya diuji normalitas dan homogenitasnya. Hasilnya menunjukkan data-data tersebut berdistribusi normal dan homogen (lampiran 8). Kemudian data diuji menggunakan Analisis Variansi (ANAVA) satu

arah dengan taraf signifikansi 5%. Hasil perhitungan ANAVA satu arah yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh luas vena sentralis hepar tikus (*Rattus norvegicus*) setelah perlakuan pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat dilihat pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil perhitungan ANAVA satu arah luas vena sentralis ( $\mu\text{m}$ )

SK	Db	JK	KT	F	Sig
Perlakuan	3	1.877	6.256	56.939	.000*
Galat	8	8.789	1.099		
Total	11				

Keterangan: \*=berbeda nyata

Berdasarkan Tabel 4.4 hasil yang diperoleh dari uji ANAVA satu arah dengan taraf signifikansi 5%, didapatkan  $0,05 > \text{sig}$  ( $0,05 > 0,00$ ), sehingga hipotesis nol ( $H_0$ ) ditolak. Jadi, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) berpengaruh terhadap luas vena sentralis hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pengaruh pada tiap perlakuan maka dilakukan uji duncan pada  $\alpha$  5%. Uji duncan pada  $\alpha$  5% dilakukan karena data yang ada memiliki KK 10,25% sebagaimana yang dikemukakan Hanafiah (2014), jika KK besar (minimal 10% pada kondisi homogen atau minimal 20% pada kondisi heterogen), uji lanjutan yang sebaiknya digunakan adalah uji duncan, karena uji ini dapat dikatakan paling teliti. Berdasarkan hasil uji duncan 5% maka didapatkan notasi seperti yang tersaji pada tabel 4.5.

Tabel 4.5 Ringkasan hasil uji duncan pengaruh ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap luas vena sentralis hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan pada  $\alpha$  5%.

Perlakuan	Rata-rata ( $\mu\text{m}$ )	Notasi $\alpha$ 5%
K+	$1,6 \times 10^6$	a
P1 (50 mg/kg BB)	$3,0 \times 10^6$	a
P2 (100 mg/kg BB)	$2,0 \times 10^7$	b
P3 (150 mg/kg BB)	$3,1 \times 10^7$	c
K-	$3,8 \times 10^8$	d

Keterangan : Nilai duncan 5% vena sentralis = 1,77

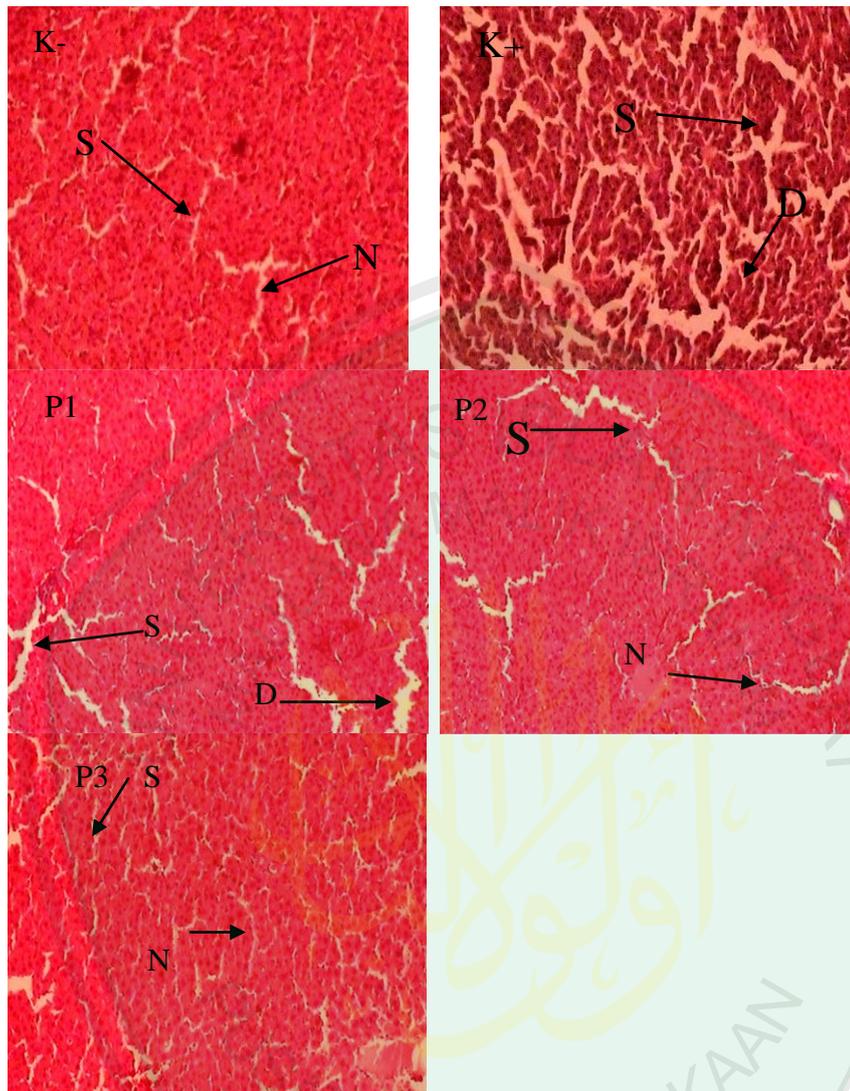
Uji duncan pada tabel 4.5 di atas menunjukkan bahwa ada perbedaan pengaruh yang nyata pada luas vena sentralis tikus kelompok kontrol negatif berbeda nyata dengan kontrol positif dan kelompok perlakuan P1, P2 dan P3. Kelompok P1 berbeda nyata dengan P2 dan P3, akan tetapi K+ tidak berbeda nyata dengan P1.

P1 (50 mg/kg BB) tidak berbeda nyata dengan kontrol positif dimungkinkan karena dosis ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) yang diberikan rendah atau tidak dapat mempengaruhi luas vena sentralis. Sedangkan P1 dengan P2 dan P3 berbeda nyata karena dosis yang diberikan lebih tinggi yaitu P2 (100 mg/kg BB) dan P3 (150 mg/kg BB) sehingga dapat mempengaruhi luas vena sentralis hepar tikus (*Rattus norvegicus*). Hasil tersebut juga menunjukkan bahwa kelompok P3 adalah perlakuan optimal dalam mempengaruhi luas vena sentralis hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. Pada perlakuan 3 (150mg/kgBB) ini minimal berbeda nyata dan atau sangat nyata dengan perlakuan yang bertaraf (dan/atau berinput) lebih rendah, tetapi berbeda tidak nyata dengan pengaruh perlakuan yang bertaraf (dan/atau berinput) sama dan/atau lebih tinggi (Hanafiah, 2014).

#### 4.2.2 Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Sinusoid Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Aloksan

Hasil penelitian pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) berpengaruh terhadap sinusoid hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan sehingga dapat menyebabkan diabetes mellitus. Data histologi terkait hal tersebut dilihat pada gambar 4.5.





Gambar 4.5 Histologi Sinusoid hepar tikus (*Rattus norvegicus*) jantan (perbesaran 400x, pewarnaan HE). Keterangan: K-.Kontrol negatif, K+. Kontrol positif, P1. Perlakuan 1(50 mg/kgBB), P2. Perlakuan 2(100mg/kgBB), P3. Perlakuan 3(150mg/kgBB). S : sinusoid, N: normal, D: dilatasi (pelebaran)

Hasil penelitian histologi sinusoid hepar dapat dilihat pada gambar 4.5. Keadaan histologi sinusoid K- menunjukkan normal. Pada K+ dan P1 sinusoid terjadi dilatasi (pelebaran). Sedangkan pada P2 dan P3, menunjukkan perubahan struktur yang mendekati sinusoid K-.

Sinusoid hepar adalah saluran darah yang berkelu-liku, dilapisi sel endotel bertingkap tidak utuh, yang dipisahkan dari hepatosit di bawahnya oleh ruang perisinusoidal (dari Disse). Akibatnya, zat makanan yang mengalir di dalam sinusoid yang berkelu-liku, menembus dinding endotel yang tidak utuh dan berkontak langsung dengan hepatosit. Hal ini memperlancar perpindahan zat antar darah dan hepatosit (Daglia, 2000). Gambaran sinusoid nampak jelas, sinusoid terdiri atas sel-sel endotel dengan inti gepeng dan gelap serta sedikit sitoplasma. Sel yang nampak di bagian ini yaitu sel kupffer (Muliawan, 2012), namun pada penelitian ini K- tidak ditemukan inti gepeng dan sitoplasma. Greep (1953), menyatakan sebagian sinusoid hepar berfungsi sebagai tempat mengalirnya darah yang bermuara di vena sentralis, namun sebagian lainnya inaktif dan dijadikan tempat penampungan darah.

Kelompok K+ dan P1 sinusoid tidak nampak teratur sebagian besar sinusoid mengalami pelebaran (dilatasi) dibandingkan dengan kontrol negatif. Hal ini dimungkinkan karena senyawa toksis aloksan. Pelebaran (dilatasi) sinusoid menurut Ressang (1984), dapat terjadi karena adanya desakan pada dinding sinusoid akibat adanya zat toksik. Kaplowitz (2002), menyatakan kerusakan sel-sel hepar yang disebabkan oleh bahan toksik, umumnya meliputi partisipasi metabolit terhadap bahan toksik, selanjutnya akan mendatangkan respon imun, bahkan dapat langsung mempengaruhi biokimia sel.

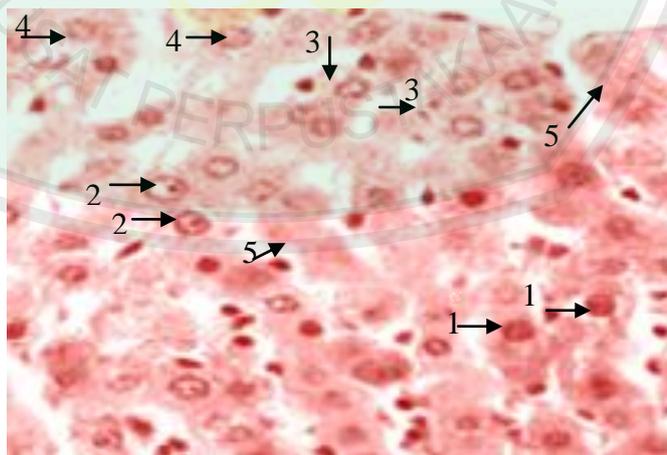
Sedangkan sinusoid pada kedua perlakuan nampak jelas dan teratur dibandingkan kontrol positif gambar 4.5. Perbaikan sinusoid hepar tikus ketiga

perlakuan (P2 dan P3) sinusoid nampak jelas mendekati kontrol negatif dimungkinkan karena antioksidan yang terdapat pada daun sirsak yaitu flavonoid.

Menurut Gotama (1999), senyawa flavonoid berfungsi sebagai antihepatotoksik. Senyawa ini paling berperan dalam memulihkan kerusakan sel hepar dibandingkan alkaloid dan saponin. Antihepatotoksik yaitu senyawa atau zat yang dapat melindungi sel-sel hepar terhadap pengaruh zat toksik yang menyerang sel hepar. Senyawa antihepatotoksik bahkan mampu memperbaiki jaringan hepar yang fungsinya sedang terganggu.

#### 4.2.3 Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Sel Hepatosit Normal dan Abnormal Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Yang Diinduksi Aloksan

Hasil penelitian pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) berpengaruh terhadap jumlah sel hepatosit normal dan abnormal hepar tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi aloksan. Data histologi terkait hal tersebut dapat dilihat pada gambar 4.6 di bawah ini.



Gambar 4.6 Histologi hepatosit hepar tikus (*Rattus norvegicus*) jantan (perbesaran 1000x, pewarnaan HE). Keterangan: 1: sel hepatosit normal (bulat, inti ditengah memadat), 2. Sel hepatosit piknosis (inti menyusut), ; 3. Sel hepatosit karioreksis (inti pecah dan menyebar), ; 4. Sel hepatosit kariolisis (inti pecah dan tidak dapat diwarnai (pucat)), ; 5. sel hepatosit nekrosis (inti sel menghilang).

Hasil penelitian histologi sel hepatosit normal dan abnormal dapat dilihat pada gambar 4.6. Keadaan struktur histologi sel hepatosit normal bentuk sel bulat, oval, inti bulat memadat di tengah dan terdapat lempeng-lempeng hepatosit. Pada struktur sel hepatosit abnormal terjadi adanya nekrosis yang ditandai dengan adanya piknosis, karioreksis dan kariolisis. Data jumlah persentase sel hepatosit normal dan abnormal dapat dilihat pada tabel 4.6 di bawah ini.

Tabel 4.6 jumlah persentase sel hepatosit normal dan abnormal setelah pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.)

Perlakuan	Jumlah Sel Normal (%)	Jumlah Sel Abnormal (%)				Mean±SD
		Piknosis	Karioreksis	Kariolisis	Nekrosis	
K-	79±3,60	5,6±3,21	4,3±1,15	4,6±0,57	6,3±3,51	5,25±2,26
K+	25,3±5,03	30,3±12,66	13,3±2,08	9±3	22±6,55	18,66±10,62
P1	40±3	23,3±10,01	7,6±5,03	13±3,60	19,3±5,50	18,33±6,86
P2	61±3,60	13,3±5,03	7,3±3,05	6±1,73	12,3±3,51	9,75±4,45
P3	73±3,60	9,3±2,51	3,3±2,51	5,3±2,51	9±3,60	6,75±3,57

Tabel 4.6 di atas menunjukkan bahwa jumlah rerata sel hepatosit normal K+ (25,3±5,03)% sel lebih sedikit dibandingkan dengan K- (79±3,60)% sel. Jumlah rerata sel abnormal pada K+ yang mengalami piknosis (30,3±12,66)% sel lebih banyak dibandingkan dengan karioreksis (13,3±2,08)% sel, kariolisis (9±3)% sel dan nekrosis (22±6,55)% sel. Hal ini mungkin disebabkan pada K+ dipengaruhi adanya aloksan sebagai diabetogenik yang diperantarai oleh oksidasi senyawa dengan gugus SH, penghambatan glukokinase, pembangkitan radikal bebas dan gangguan homeostatis ion kalsium intraseluler (Lenzen, 2008). Kerusakan sel berupa nekrosis menyebabkan pembengkakan inti dan sitoplasma kemudian pecah menumpahkan kandungan isi sel ke jaringan ekstraselular karena

adanya gangguan pada pompa natrium yang diakibatkan oleh kekurangan ATP. ATP sangat penting untuk integritas hepatosit. Apabila kadar ATP rendah, maka enzim intraseluler akan keluar dari dalam darah dan menyebabkan kerusakan pada hepar (Kane *et al.* 1985).

Jumlah rerata sel hepatosit normal pada perlakuan sesudah pemberian ekstrak daun sirsak P1(40±3)% sel, P2 (61±3,60)% sel dan P3 (73±3,60)% sel lebih banyak dibandingkan dengan K+(25,3±5,03)% sel. Peningkatan jumlah sel hepatosit normal hepar tikus dimungkinkan karena pemberian ekstrak daun sirsak yang mengandung antioksidan salah satunya yaitu flavonoid. Flavonoid melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif, sehingga struktur membran sel dapat berfungsi dengan baik. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan adalah dengan menangkap radikal bebas secara langsung. Awalnya flavonoid teroksidasi dengan radikal kemudian berubah menjadi lebih stabil sebagai radikal yang kurang reaktif (Ardiani, 2011). Pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat membantu menghambat kerusakan sel dan nantinya sel normal mampu beregenerasi kembali kemudian jaringan menjadi baik.

Hepatosit tersusun dalam rangkaian lempeng-lempeng yang secara radial bermula dari tepi lobulus klasik menuju ke vena sentralis sebagai pusatnya. Tebal lempeng biasanya hanya satu sel, kecuali pada tempat-tempat anastomosis dan percabangan. Hepatosit merupakan sel berbentuk polihedral, mempunyai permukaan 6 atau lebih, dengan membran sel yang jelas, inti bulat di tengah. Sel yang besar dengan inti besar atau inti 2 dapat ditemukan karena terjadi mitosis. Sitoplasma eosinofilik, karena banyaknya mitokondria dan retikulum endoplasma

halus. Di dalam sitoplasmanya terdapat lisosom, peroksisom (mikrobodies), butirbutir glikogen (pengecatan khusus) serta tetes lemak (terutama setelah puasa atau makan makanan banyak lemak) (Daglia, 2000).

Berdasarkan gambar 4.6 di atas hasil pengamatan dengan perbesaran 1000x, hepatosit normal mempunyai ciri-ciri: sel tersusun secara radier, bentuk sel bulat, oval dan terdapat lempeng-lempeng hepatosit. Sel terlihat memiliki satu nukleus, namun ada juga yang memiliki lebih dari satu nukleus (binukleat) yang terdapat di tengah sel. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Sulistianto (2004) tentang pengamatan menyeluruh terhadap sediaan histologi memperlihatkan gambaran normal sel hepar. Setiap lobulus hepar tersusun dari sel hepar dengan inti terpusat biru tua, memiliki kromatin tersebar, jelas dan menyerap zat warna kuat. Sel hepar tampak tersusun radier dalam lobulus. Lempeng sel beranastomosis bebas dan memiliki batas antar sel yang jelas. Beberapa sel hepar dijumpai dengan inti sel lebih dari satu. Sitoplasma sel hepar terpusat merah merata dengan intensitas lebih kuat dibandingkan sitoplasma sinusoid yang berwarna merah muda.

Sedangkan kerusakan (abnormal) pada sel hepatosit dapat dilihat pada gambar 4.6 di atas hasil pengamatan dengan perbesaran 400x, ditemukan adanya kerusakan hingga kematian sel hepatosit. Kematian sel dan kematian jaringan pada tubuh yang hidup disebut nekrosis. Nekrosis ditandai dengan adanya piknosis, karioreksis dan kariolisis. Nekrosis juga dapat diartikan sebagai proses perubahan morfologi sebagai akibat tindakan degenerasi progresif oleh enzim-enzim pada sel yang terjejas letal. Umumnya perubahan-perubahan lisis yang

terjadi pada sel nekrotik dapat terjadi pada semua bagian sel. Tetapi perubahan pada inti sel adalah petunjuk yang paling jelas pada kematian sel (Robbins & Kumar, 1995).

Bagian sel yang telah mati terdapat inti yang menyusut, batas tidak teratur dan berwarna gelap dengan zat warna yang biasa digunakan oleh para ahli patologi anatomi. Proses ini dinamakan piknosis dan intinya disebut piknotik. Karioreksis ditandai dengan inti hancur dan pecahan-pecahan kromatinnya tersebar dalam sel dan kariolisis ditandai dengan inti sel kehilangan kemampuan untuk diwarnai (pucat) atau tampak samar-samar berongga dan menghilang. Adanya nekrosis akan menyebabkan respon peradangan pada jaringan yang masih hidup. (Price & Wilson, 2005).

Namun demikian, pada pemberian ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L) harus sesuai dengan ukuran. Apabila ukuran dosis terlalu tinggi maka dapat berubah menjadi senyawa toksik.

Sebagaimana firman Allah SWT dalam surat al-Hijr (15): 21,

وَإِن مِّن شَيْءٍ إِلَّا عِنْدَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَّعْلُومٍ ﴿٢١﴾

“Dan tidak ada sesuatupun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnya dan Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu.” (QS 1-Hijr:21)

Makna kata “Dan Kami tidak menurunkannya dengan ukuran tertentu,” sebagaimana yang Dia kehendaki dan inginkan semua hikmah dan rahmat diturunkan untuk hamba-hambanya sesuai dengan sunnah-sunnah yang telah Kami letakkan dan aturan yang Kami tentukan. Tidak seorang pun dapat menghalangi dan mencegahnya, semua berada pada genggamannya, jika

memang dia berusaha dengan baik. Makna istilah kata *khazainuh* yaitu perbendaharaan, yang berarti semua ketentuan hikmah, nikmat yang sesuai ukuran berasal dari Allah SWT (al-Maraghi, 1992).

Surat al-Hijr (15):21 menjelaskan bahwa sesungguhnya Allah SWT telah mengatur dan menghendaki hikmah dan rahmat bagi hamba-hambanya sesuai dengan ukuran tertentu. Demikian juga pada penelitian ini, ukuran dosis 150 mg/kgBB ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) mampu menjadi agen antidiabetes. Berdasarkan penelitian ini diketahui ukuran dosis optimal ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) yaitu 150 mg/kgBB dengan pemberian selama 30 hari dapat mencegah diabetes mellitus. Hal ini terbukti bahwa apabila Allah SWT sudah berkehendak, maka tidak ada yang bisa menghalangi dan mencegah keinginan-Nya. Namun demikian Allah SWT, juga akan menentukan ukuran tertentu sehingga segala sesuatu dalam keadaan seimbang.

Sebagaimana firman Allah SWT pada surat al-Infithar (82): 7,

الَّذِي خَلَقَكَ فَسَوَّاكَ فَعَدَلَكَ ﴿٧﴾

“Yang menciptakan engkau, lalu menyempurnakan engkau, lalu membuat engkau seimbang (*proporsional*).” (QS.al-Infithar:7)

Makna kata *fa'adalaka* yang berarti seimbang. Manusia diharuskan menjaga kesehatan sehingga tubuh dalam keadaan seimbang. Seimbang antara makanan yang masuk dalam tubuh dan yang digunakan oleh tubuh. Hal ini dapat bermanfaat bagi manusia, karena dengan menjaga keseimbangan (*homeostasis*) manusia dapat memahami pentingnya kesehatan tubuh (Shihab, 2003).

Berdasarkan surat al-Infithar (82):7, Allah SWT menjelaskan bahwa terdapat keistimewaan pada tubuh manusia apabila ia dapat menggunakan dan

memanfaatkannya, misalnya indra penglihatan, indra pendengar, indra perasa, pusat syaraf, alat pencernaan dan lain-lain. Tetapi, organ-organ tubuh manusia yang sedemikian hebat itu boleh jadi dimiliki pula oleh binatang dalam satu bentuk, namun manusia memiliki kekhususannya yaitu akal dan jiwanya yang merupakan keistimewaan yang ditekankan sebagai anugrah-Nya. Jangkauan aqliyah yang khusus ini yang kita tidak ketahui hakikatnya, karena akal adalah alat yang kita gunakan berpikir bahwa Allah SWT Maha Kuasa dan Maha Pencipta.

Dalam al-Quran banyak terdapat ayat-ayat yang menyerukan manusia untuk memperhatikan, merenung dan memikirkan penciptaan Allah SWT baik yang di langit, bumi maupun diantara keduanya. Di antara ayat-ayat yang menerangkan tentang hal tersebut yaitu surat Ali Imran (3): 190-191,

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَأَخْتَلَفِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لآيَاتٍ لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

*“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka”*(Q.S Ali Imran ayat 190-191).

Makna kata *Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi*. Artinya, yaitu pada ketinggian, keluasan langit dan juga pada kerendahan bumi serta kepadatannya. Terdapat tanda-tanda kekuasaan-Nya dan pada ciptaan-Nya yang dapat dijangkau oleh indera manusia pada keduanya (langit dan bumi), baik yang

berupa; bintang-bintang, komet, daratan dan lautan, pegunungan, dan pepohonan, tumbuh-tumbuhan, tanaman, buah-buahan, binatang, barang tambang, serta berbagai macam warna dan aneka ragam makanan dan bebauan (Katsir, 2007).

“*Dan silih bergantinya malam dan siang.*” Yakni, silih bergantinya malam dan siang, semuanya itu merupakan ketetapan Allah yang Mahaperkasa lagi Maha-mengetahui. Oleh karena itu Allah SWT berfirman “*Terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (Ulul Albab).*” Yaitu mereka yang mempunyai akal yang sempurna lagi bersih, yang mengetahui hakikat banyak hal secara jelas dan nyata. Mereka bukan orang-orang tuli dan bisu yang tidak berakal (Ibnu Katsir, 2007).

Surat Ali Imran (3): 190 menjelaskan bahwa sesungguhnya dalam tatanan langit dan bumi serta keindahan perkiraan dan keajaiban ciptaan-Nya juga dalam silih bergantinya siang dan malam secara teratur sepanjang tahun yang dapat kita rasakan langsung pengaruhnya pada tubuh kita dan cara berpikir kita karena pengaruh panas matahari, dinginnya malam, dan pengaruhnya yang ada pada dunia flora dan fauna merupakan tanda dan bukti yang menunjukkan keesaan Allah SWT, kesempurnaan pengetahuan dan kekuasaan-Nya (Avivah, 2012). Salah satunya adalah bukti kemampuan daun sirsak (*Annona muricata* L.) dalam mencegah penyakit diabetes mellitus.

Pada penelitian ini, bukti yang menunjukkan keesaan Allah SWT, kesempurnaan pengetahuan dan kekuasaan-Nya terdapat pada proses antioksidan pada daun sirsak (*Annona muricata* L.) dapat menangkal radikal bebas dari senyawa toksik aloksan. Radikal bebas akan berubah stabil apabila memiliki

pasangan elektron, ketika tidak berpasangan maka akan tetap menjadi senyawa reaktif yang berbahaya bagi tubuh. Antioksidan pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) mengubah senyawa reaktif tersebut dengan cara mendonorkan elektronnya sehingga radikal bebas menjadi berpasangan dan tidak berbahaya bagi tubuh.

Surat Ali Imran (3): 191 mendefinisikan *ulul albab* yaitu orang yang berakal, orang-orang yang mau menggunakan pikirannya, mengambil faedah, hidayah, dan menggambarkan keagungan Allah SWT. Ia selalu mengingat Allah (berdzikir) di setiap waktu dan keadaan, baik di waktu berdiri, duduk atau berbaring (Avivah, 2012).

Dari keterangan diatas dapat diketahui bahwa objek dzikir adalah Allah SWT, sedangkan objek pikir adalah makhluk-makhluk Allah SWT berupa fenomena alam. Ini berarti pengenalan kepada Allah SWT lebih banyak didasarkan kepada kalbu, sedang pengenalan alam raya oleh penggunaan akal, yakni berpikir. Akal memiliki kebebasan seluas-luasnya untuk memikirkan fenomena alam, tetapi ia memiliki keterbatasan dalam memikirkan Dzat Allah SWT.

Melalui aktifitas penelitian (berpikir) tentang makhluk-makhluk Allah SWT dan fenomena alam membuat kita akan mengingat tentang kekuasaan dan keesaan-Nya. Pada penelitian ini, kekuasaan Allah SWT yaitu dapat mengatur dan membuat struktur antioksidan yang terdapat pada ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) tepat dan dapat berpasangan dengan radikal bebas, sehingga terbukti keesaan Allah SWT.