

**ANTI-HIPERGLIKEMIK TEH CELUP HERBAL KOMBINASI
Fragaria x ananassa, *Camellia sinensis*, *Stevia rebaudiana*
MELALUI MEKANISME ANTIOKSIDAN PADA MENCIT
GANGGUAN METABOLIK YANG DIINDUKSI ALOXAN**

**ANTI-HYPERGLYCEMIC HERBAL TEA COMBINATION OF
Fragaria x ananassa, *Camellia sinensis*, *Stevia rebaudiana*
THROUGH ANTIOXIDANT MECHANISM IN ALLOXAN-
INDUCED METABOLIC DISORDERS MICE**

**Ni Made Dwi Sandhiutami^{1*}, Yuslia Noviani², Milla Fitri Amalia¹, Rafif
Fadhlurrahman Ahmad¹**

¹Departemen Farmakologi, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila
Jl. Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640

²Departemen Teknologi Sediaan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila
Jl. Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640

*Email Corresponding: dwisandhiutami@univpancasila.ac.id

Submitted: 18 October 2022 Revised: 5 January 2023 Accepted: 30 January 2023

ABSTRAK

Daun stroberi (*Fragaria x ananassa*), teh (*Camellia sinensis*), dan stevia (*Stevia rebaudiana*) mengandung flavonoid, epigallocatechin gallate, steviosida, dan rebaudiosida yang memiliki aktivitas tinggi sebagai antioksidan dan secara empiris digunakan sebagai pengobatan alternatif Diabetes Millitus (DM). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan dan anti-hiperglikemik dari teh herbal celup kombinasi daun stroberi, teh dan stevia melalui mekanisme antioksidan. Uji aktivitas anti-hiperglikemik dilakukan dengan metode induksi aloksan (300 mg/kgBB) pada hewan coba mencit yang dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu kelompok normal, kelompok negatif, kelompok positif (glibenklamid), dan 3 kelompok dosis teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh dan stevia (15,6; 31,2; 62,4 mg/20 gBB). Pengukuran kadar malondialdehid dilakukan dengan metode TBARs (Wills) dan SOD dengan metode *Adrenochrome Assay* Kadar glukosa darah mencit diamati pada hari ke-0, 4, 11 dan 18 dengan metode enzimatis *glucose oxidase strip glucometer*. Histopatologi pankreas dilakukan menggunakan pewarnaan Hematoksin-Eosin. Hasil pengujian menunjukkan bahwa persentasi penurunan kadar glukosa darah teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh, stevia kelompok dosis uji 15,6 mg/20gBB; 31,2 mg/20gBB; 62,4 mg/20gBB secara berturut-turut yaitu 9,74%; 13,79%; 20,76%. Dosis 62,4 mg/20gBB memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan anti-hiperglikemik yang lebih baik daripada dosis lain dan pada gambaran histopatologi menunjukkan bahwa teh celup herbal kombinasi tiga daun tersebut dapat memperbaiki Pulau Langerhans mencit. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh, dan stevia dapat menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki gambaran histopatologi Pulau Langerhans pada pankreas mencit.

Kata kunci: *Fragaria x ananassa*, *Camellia sinensis*, *Stevia rebaudiana*, malondialdehid, SOD, anti-hiperglikemik

ABSTRACT

Strawberry (*Fragaria x ananassa*) leaves, tea (*Camellia sinensis*), and stevia (*Stevia rebaudiana*) contain flavonoids, epigallocatechin gallate, stevioside, and rebaudioside which have high activity as antioxidants and are empirically used as alternative treatments for Diabetes Mellitus (DM). This study aims to determine the antioxidant and anti-hyperglycemic activity of herbal tea bags with a combination of strawberry leaves, tea and stevia through antioxidant mechanisms. The anti-hyperglycemic activity test was carried out by the alloxan induction method (300 mg/kgBW) in experimental mice, which were divided into 6 groups, namely the normal group, the negative group, the positive group (glibenclamide), and 3 groups of herbal teabags with a combination of strawberry leaves, tea and stevia (15.6; 31.2; 62.4 mg/20 gBW). Measurement of malondialdehyde levels was carried out using the TBARS (Wills) method and SOD using the Adrenochrome Assay method. Blood glucose levels of mice were observed on days 0, 4, 11 and 18 with the enzymatic method of glucose oxidase strip glucometer. Pancreatic histopathology was performed using Hematoxylin-Eosin staining. The test results showed that the percentage decrease in blood glucose levels of herbal teabags combination of strawberry leaves, tea, and stevia in the test dose group was 15.6 mg/20gBB; 31.2 mg/20gBB; 62.4 mg/20gBW, respectively, namely 9.74%; 13.79%; 20.76%. The dose of 62.4 mg/20gBW has better antioxidant and anti-hyperglycemic activity than other doses and the histopathological picture shows that the herbal teabag combination of the three leaves can improve the Islets of Langerhans in mice. Based on the results of the study, it can be concluded that herbal teabags combination of strawberry leaves, tea, and stevia can reduce blood glucose levels and improve the histopathological picture of the Islets of Langerhans in the pancreas of mice.

Keywords: *Fragaria x ananassa*, *Camellia sinensis*, *Stevia rebaudiana*, malondialdehyde, SOD

PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) merupakan salah satu penyakit dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi, sehingga harus diketahui sedini mungkin untuk mencegah terjadinya komplikasi. Diabetes telah menjadi penyebab kematian terbesar keempat di dunia. Faktanya, setiap tahun terdapat 3,2 juta kematian akibat diabetes yang berarti ada 1 orang per 6 detik atau 10 orang per menit yang meninggal akibat diabetes (Tandra, 2017). Menurut International Diabetes Federation (IDF) edisi ke-9 tahun 2019, diabetes dinilai sebagai salah satu penyakit kronis yang paling cepat tumbuh pada abad ke-21. Berdasarkan catatan 220 negara, jumlah penderita diabetes tahun 2019 diperkirakan 463 juta meningkat menjadi 578 juta pada tahun 2030, dan 700 juta pada tahun 2045. Indonesia menduduki peringkat ketujuh tertinggi penduduk dengan penyakit diabetes, perkiraan di Indonesia jumlah penyandang diabetes tahun 2019 sebesar 10,7 juta dan akan meningkat menjadi 16,6 juta pada tahun 2045 (IDF, 2019).

Diabetes adalah kondisi penyakit jangka panjang dan serius yang terjadi ketika tubuh tidak dapat menghasilkan atau cukup insulin atau tidak dapat digunakan secara efektif insulin yang dihasilkannya. Penyakit diabetes melitus dapat diberikan terapi baik secara farmakologi maupun secara non-farmakologi. Terapi farmakologi dapat dilakukan dengan cara mengkonsumsi obat oral antidiabetes atau terapi injeksi insulin, sedangkan terapi non-farmakologi dapat dilakukan dengan cara peningkatan aktivitas fisik, tidur teratur, diet sehat, dan lain-lain. Terapi farmakologi dikhawatirkan memiliki efek samping yang dapat meningkatkan komplikasi pada penderita diabetes, sehingga banyak penelitian yang bertujuan untuk mencari agen alternatif yang berasal dari tumbuhan yang dapat membantu mengontrol diabetes dengan efek samping seminimal mungkin (Rao et al., 2010).

Teh herbal adalah minuman tradisional yang terbuat dari kombinasi teh dan berbagai bagian tanaman yang memiliki khasiat bagi kesehatan. Minum teh merupakan kebiasaan masyarakat Indonesia, namun seiring dengan perkembangan zaman, masyarakat lebih menyukai produk instan, sehingga dari peluang tersebut terbentuklah produk teh celup yang diseduh dengan lebih praktis tanpa perlu penyaringan (Dewi et al., 2014).

Pengobatan tradisional dengan menggunakan tanaman herbal yang digunakan oleh masyarakat Indonesia diantaranya adalah daun stroberi, daun teh, dan daun stevia karena dipercaya tinggi kandungan bahan aktif yang dapat digunakan untuk mengatasi berbagai penyakit (BPOM RI, 2010).

Pada penapisan fitokimia ekstrak etanol daun stroberi (*Fragaria x ananassa*) yang dilakukan oleh Widyastuti et al. menunjukkan adanya senyawa flavonoid dan fenolik (Widyastuti et al., 2016). Berdasarkan penelitian lain yang telah dilakukan, ditemukan bahwa ekstrak daun stroberi (*Fragaria x ananassa*) mengandung flavonoid yang tinggi yaitu sebesar 50,8 bpj sebagai antioksidan kuat dan memiliki sitotoksitas yang rendah, sehingga dapat menjadi sumber yang sangat baik untuk digunakan dalam berbagai industri (Khan, Tabassum, et al., 2018). Flavonoid yang terkandung bersifat protektif terhadap kerusakan dan regenerasi sel beta pankreas dengan cara merubah metabolisme Ca^{2+} sehingga insulin yang tersimpan dapat dilepaskan dan mengurangi resistensi insulin, hal ini menunjukkan mekanisme kerja yang sama dengan glibenklamid (Sulfonilurea golongan II) yaitu regenerasi sel beta pankreas yang rusak sehingga dapat meningkatkan pelepasan insulin yang tersimpan akibat dari rangsangan glukosa (mengurangi resistensi insulin) (Shaheen, 2019; Tandra, 2017).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Shaheen et al. menunjukkan ekstrak daun stroberi (*Fragaria x ananassa*) telah terbukti menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi oleh streptozotocin dan diamati selama 30 hari (Shaheen, 2019).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Katno et al. ekstrak etanol 70% daun teh (*Camellia sinensis*) memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah pada tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan (Katno, Dian Anistyani, 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Asta Spadiene et al. menyatakan bahwa ekstrak daun teh (*Camellia sinensis* L.) mengandung *epigallocatechin gallate* yang diidentifikasi sebagai antioksidan paling kuat dan dinyatakan sebagai 50% komponen antioksidan pada daun teh, sehingga dapat mencegah terjadinya mortalitas dan morbiditas pada pasien diabetes melitus tipe 2 (Spadiene et al., 2014).

Daun stevia (*Stevia rebaudiana*) merupakan bahan pemanis alami bebas kalori dan memiliki kemanisan 300 kali lebih tinggi dari sukrosa, rasa manis tersebut berasal dari kandungan senyawa glikosida terutama yang dominan yaitu steviosida (4-13%) dan rebaudiosida (2-4%). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sunanda Singh et al. terbukti daun stevia aman dikonsumsi oleh penderita diabetes melitus karena memiliki potensi anti-hiperglikemik dan antioksidan yang signifikan (Singh et al., 2013).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka dilakukan penelitian dalam bentuk sediaan teh celup yang lebih praktis dan dapat disimpan untuk penggunaan jangka panjang dari kombinasi daun stroberi (*Fragaria x ananassa*), teh (*Camellia sinensis* L.) sebagai pemberi aroma yang mudah diterima, dan stevia (*Stevia rebaudiana*) sebagai pemanis alami. Penelitian ini ditujukan untuk melihat efektivitas sebagai anti-hiperglikemik pada mencit (*Mus musculus* L.) galur DDY sindrom metabolik dengan induktor aloksan. Pemberian aloksan dapat mengakibatkan sel beta pankreas membengkak kemudian mengalami degenerasi sehingga dilakukan juga pengamatan terhadap gambaran histopatologi pankreas (Szkudelski, 2001).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Daun stroberi (*Fragaria x ananassa*), daun teh (*Camellia sinensis*), dan daun stevia (*Stevia rebaudiana*) diperoleh dari Balai Penelitian Obat Aromatik (BALITRO), mencit putih (*Mus musculus* L.) jenis kelamin jantan dengan galur DDY, bobot 20-30 gram, umur 2-

3 bulan yang diperoleh dari Institut Pertanian Bogor, Glibenklamid (Indofarma), Aloxan (Fluka Chemicals), Adenosin Difosfat (ADP) (Sigma), 1,1,3,3-Tetraetoksipropiran (TEP) (Sigma), Asam Trikloroasetat (TCA)(Merck), Asam Tiobarbiturat (TBA) (Sigma), Epinefrin (Ethica Industri Farmasi), *Glucose Analytic Test Strip (Easy touch)*, *Glucometer (Easy touch)*

Prosedur Penelitian

1. Pembuatan teh celup herbal kombinasi daun stroberi, daun teh dan daun stevia

Daun stroberi, daun teh dan daun stevia di determinasi Herbarium Bogoriense, Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Bogor. Simplisia kering kombinasi daun stroberi (*Fragaria x ananassa*), daun teh (*Camellia sinensis* L.), dan daun stevia (*Stevia rebaudiana*) yang sudah dihaluskan, diayak, dengan pengayak nomor 4 dan 18 sampai diperoleh serbuk simplisia, kemudian dimasukan kedalam kantong teh berukuran teh ukuran 7 cm x 9 cm. Perbandingan isi pada kantong teh adalah 4:1:1 yaitu 4 gram daun stroberi, 1 gram daun teh, dan 1 gram daun stevia, kemudian satu kantong teh celup herbal diseduh dengan pelarut air panas suhu 70° C sebanyak 150-200 mL selama 10 menit.

2. Pengujian aktivitas antioksidan dan anti-hiperglikemik herbal kombinasi daun stroberi, daun teh dan daun stevia pada mencit

Penelitian ini dilakukan setelah mendapatkan persetujuan dari Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dengan nomor KET-391/UN2.F1/ETIK/PPM.00.02/2021. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Laboratorium Anatomi Fisiologi Manusia Fakultas Farmasi Universitas Pancasila Jakarta, Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, dan Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) Institut Pertanian Bogor.

Tiga puluh ekor mencit dibagi dalam 6 kelompok yaitu kelompok normal (tanpa induksi aloksan dan tidak diberikan perlakuan apapun), kelompok negatif (diinduksi aloksan dan tidak diberikan perlakuan apapun), kelompok positif (diinduksi aloksan dan diberikan Glibenklamid 0,65 mg/kgBB), dan 3 kelompok dosis (diinduksi aloksan dan diberikan teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh dan stevia dosis 15,6; 31,2; 62,4 mg/20 gBB).

Pembuatan model sindrome metabolik hiperglikemik mencit dilakukan dengan merusak sel β -pankreas mencit melalui induksi aloksan tetrahidrat 1% (kecuali kelompok normal) secara intraperitoneal dengan dosis 300 mg/kgBB selama 3 hari berturut-turut. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan pada hari ke-0, 4, 11 dan 18 dengan metode enzimatis *glucose oxidase* (GOD) strip *glucometer*. Prinsip metode enzimatis *glucose oxidase* (GOD) strip *glucometer* yaitu glukosa dalam darah beraksi dengan glukosa oksidase dan kalium ferisianida didalam strip memproduksi kalium ferosianida. Kalium ferisianida yang diproduksi sebanding dengan konsentrasi glukosa dalam darah. Oksidase kalium ferisianida menghasilkan suatu elektrik yang kemudian dikonversi oleh meter untuk menampakkan konsentrasi glukosa pada layar (Kassahun et al., 2014).

Pada hari ke-18 mencit diambil darah untuk pengukuran kadar MDA dan SOD. Pengukuran MDA dilakukan dengan metode TBARS (Wills). Sebanyak 200 μ L plasma ditambahkan 1,0 mL TCA 20% dan 2 mL TBA 0,67%. Larutan dihomogenkan dan dipanaskan di atas tangas air selama 10 menit, kemudian didinginkan. Setelah dingin larutan di sentrifuse pada 3000 rpm selama 10 menit, kemudian diambil filtratnya. Filtrat yang berwarna merah muda diukur serapan dengan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 532 nm (Sandhiutami et al., 2017).

Pengukuran aktivitas SOD dilakukan pada hari ke-18 dengan metode Adrenochrome Assay. Filtrat sebanyak 100 μ L ke dalam tabung reaksi lain, ditambahkan 2800 μ L dapar natrium karbonat pH 10,2 dan 100 μ L larutan epinefrin 0,01 M ke dalam tabung reaksi,

diukur serapan setelah menit ke 1,2,3 dan 4 pada panjang gelombang 480 nm. Rumus pengukuran aktivitas SOD:

$$\% \text{ hambatan} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

$$\text{Aktivitas SOD (unit/mL)} = \frac{\% \text{ hambatan}}{50\%} \times 1 \text{ unit/10 } \mu\text{L} \times 100$$

Keterangan:

A = rata-rata selisih absorban/menit tanpa sampel (Blangko)

B = rata-rata selisih absorban/menit sampel

50% = unit aktivitas SOD didefinisikan sebagai jumlah SOD diperlukan untuk menyebabkan inhibisi 50% dari oksidasi epinefrin (SOD₅₀) (Sandhiutami et al., 2017).

Pembuatan preparat histopatologi pancreas mencit diawali dengan pembuatan blok paraffin dilakukan oleh tenaga ahli di Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Tahap-tahap pembuatan blok paraffin berupa fiksasi, dehidrasi, pembersihan (*Clearing*), Penanaman (*Embedding*), *Blocking*, *section*. Kemudian dilakukan pewarnaan Hematoksilin-Eosin dengan deparafinisasi menggunakan xylol, hidrasi, rendam dalam larutan hematoksilin Mayers, rendam dengan larutan eosin, dehidrasi, dijernihkan dengan xylol dan ditutup dengan cover glass.

Pengamatan dan penilaian histopatologi pancreas mencit dilakukan secara deskriptif dengan mengamati perubahan morfologi Pulau Langerhans pankreas yang dilakukan oleh tenaga ahli di Pusat Studi Satwa Primata (PSSP) Institut Pertanian Bogor. Data yang diperoleh berupa data deskriptif dalam bentuk tabel dengan membandingkan derajat nekrosis yang terjadi pada 6 kelompok. Histopatologi pankreas dilakukan dengan pengamatan terhadap perubahan morfologi pulau Langerhans pankreas dan menilai derajat nekrosis atau kerusakan sel yang ditandai dengan adanya ruang kosong pada pulau Langerhans. Skoring derajat nekrosis dilakukan pada setiap pulau Langerhans dengan penilaian sebagai berikut, skor 0= Tidak ada kerusakan pada pulau Langerhans. Skor 1= Kerusakan pada 1/8 pulau Langerhans. Skor 2= Kerusakan pada 1/4 pulau Langerhans. Skor 3= Kerusakan pada 3/8 pulau Langerhans. Skor 4= Kerusakan lebih dari 1/2 pulau Langerhans (Radenković et al., 2016).

Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit (Geniosa & Aini, 2020). Untuk mengetahui seberapa besar kemampuan menurunkan kadar glukosa darah pada hewan coba dari pemberian sediaan uji yang digunakan, maka digunakan rumus persentase penurunan kadar glukosa darah yaitu :

$$P = \frac{DDK \text{ Kontrol} - DDK \text{ Sediaan}}{DDK \text{ Kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan :

P = Persentase penurunan kadar glukosa darah

DDK = Daerah dibawah kurva

Kontrol = Kontrol negatif

Sediaan = Kontrol Positif, dosis 15,6; 31,2; 62,4mg/20gBB.

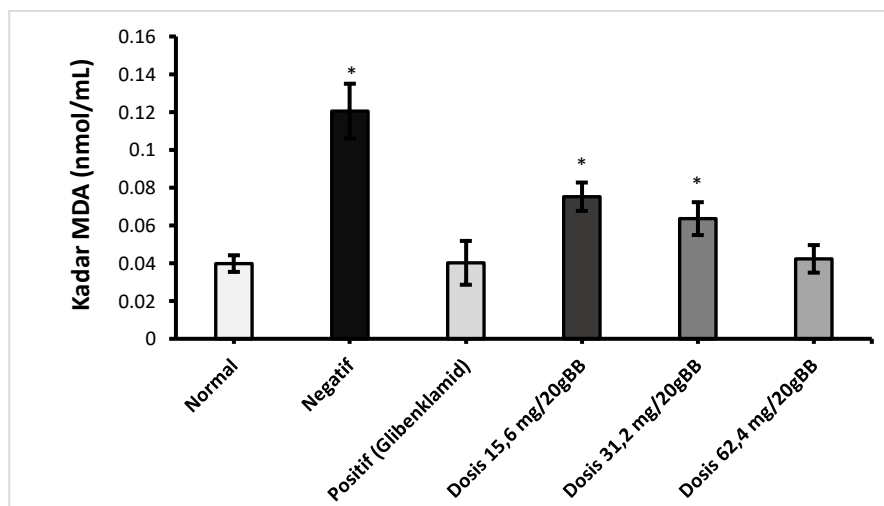
Analisis Data

Analisis data kadar MDA, aktifitas SOD, kadar glukosa darah dan skor histopatologi pankreas dilakukan dengan menguji normalitas, homogenitas. Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok dilakukan uji ANOVA dan apabila terdapat perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan uji *Mann - Whitney* menggunakan perangkat lunak SPSS 25 (Ayala et al., 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi tanaman yang dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO)-LIPI, Bogor menunjukkan bahwa bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun stroberi (*Fragaria x ananassa*) yang mempunyai familia *Rosaceae*, daun teh (*Camellia sinensis*) yang mempunyai familia *Theaceae*, dan daun stevia (*Stevia rebaudiana*) yang mempunyai familia *Rosaceae*.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktifitas antioksidan dari teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh dan stevia dengan melihat kemampuannya dalam menurunkan kadar malondialdehid (MDA) dan meningkatkan aktivitas dari SOD. Hasil pengukuran kadar MDA dapat dilihat pada **Gambar 1** sebagai berikut

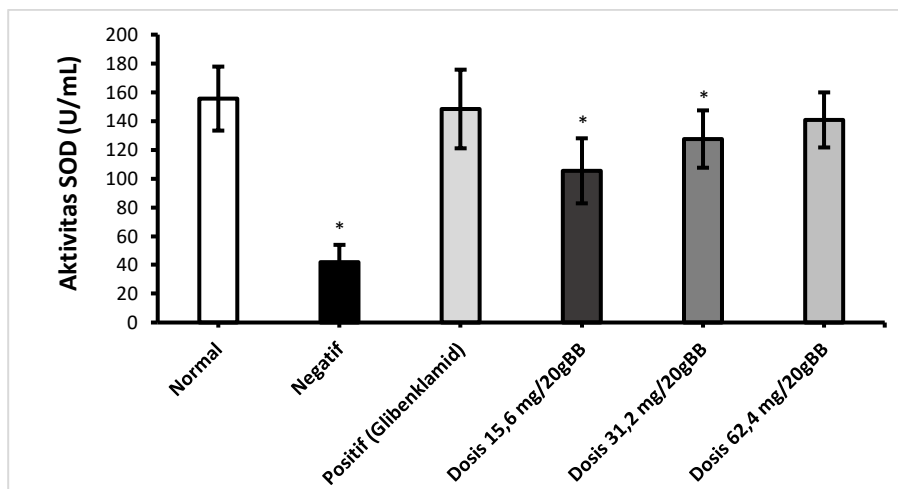


Gambar 1. Kadar MDA (nmol/mL) pada mencit gangguan metabolik dengan induksi aloksan

* terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok normal ($p < 0.05$)

Pada kelompok perlakuan yang diberikan teh herbal celup kombinasi daun stroberi, teh dan stevia dengan 3 variasi dosis terjadi penurunan kadar MDA jika dibandingkan kelompok kontrol negatif. Hal ini dapat menunjukkan bahwa peroksidasi lipid dapat dicegah dengan pemberian teh celup tersebut. Kelompok herbal celup dosis 62,4 mg/kgBB (dosis tinggi) memiliki kadar MDA paling rendah dibandingkan kelompok dosis lainnya meskipun tidak sebaik kelompok kontrol positif. Penurunan kadar MDA pada kelompok dosis teh herbal celup dikarenakan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, epigallocatekin galat, steviosida dan rebaudiosida pada teh herbal celup kombinasi daun stroberi, teh dan stevia (Khan, Tabassum, et al., 2018; Komala et al., n.d.; Spadiene et al., 2014). *Epigallocatechin gallate* pada daun teh (Spadiene et al., 2014), dan steviosida serta rebaudiosida pada daun stevia (Komala et al., n.d.). Kandungan senyawa metabolit sekunder dari ketiga tanaman tersebut terutama senyawa fenolik dan flavonoid dari daun stroberi sebagai penyumbang terbanyak dari komponen teh herbal celup sangat memiliki peran sebagai antioksidan. Kekuatan senyawa fenolik sebagai antioksidan tergantung pada ikatan gugus aromatik dan kemampuannya dalam mendonorkan atom hidrogen. Flavonoid dapat beraksi sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas melalui pemberian atom hidrogen pada radikal bebas tersebut. Penurunan kadar MDA ini terjadi karena flavonoid dapat menghambat peroksidasi lipid dengan cara meredam radikal peroksid. Metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan tersebut bekerja sama dalam mencegah stres oksidatif dan menetralkan radikal bebas, sehingga menimbulkan dampak protektif yang optimal (Khan, Tabassum, et al., 2018).

Hasil pengujian efek antioksidan teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh, dan stevia terhadap aktivitas SOD dapat dilihat pada **Gambar 2** sebagai berikut:

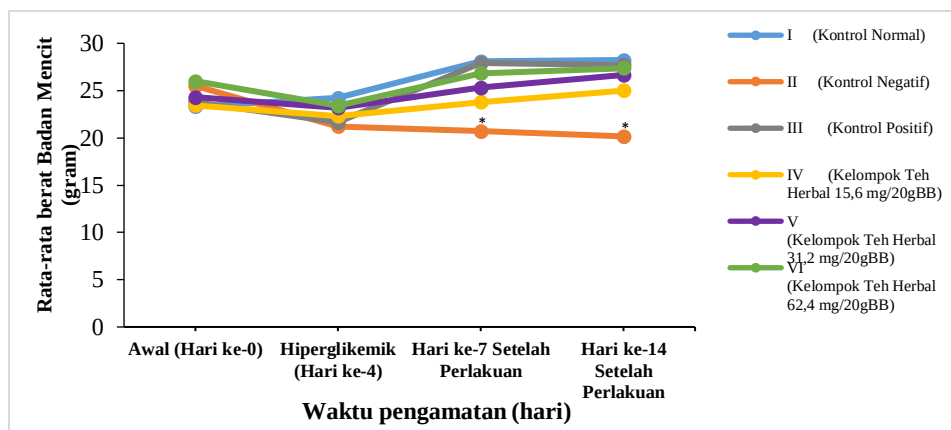


Gambar 2. Aktivitas SOD (U/ml) pada mencit gangguan metabolik dengan induksi aloksan

* terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok normal ($p < 0.05$)

Gambar 2 menunjukkan pengukuran aktivitas SOD paling rendah terdapat pada kelompok kontrol negatif dibandingkan kelompok lain, hal ini terjadi karena mencit kelompok tersebut hanya diberikan aquades dan tidak diberikan senyawa antioksidan eksogen. Rendahnya aktivitas SOD pada kontrol negatif disebabkan oleh peningkatan radikal bebas dari mencit yang mengalami gangguan metabolik yaitu hiperglikemik. Superoksida yang terbentuk pada kondisi gangguan metabolik tersebut bersifat reaktif dan berbahaya bagi tubuh. Peningkatan radikal bebas yang terus berlangsung mengakibatkan aktivitas SOD terganggu, bahkan kadarnya dapat menurun, sehingga menimbulkan ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan endogen (Sandhiutami et al., 2017). Pada kelompok perlakuan yang diberikan teh herbal celup kombinasi daun stroberi, teh, dan stevia bila dilihat dari gambar diatas rata-rata aktivitas SOD yang paling tinggi adalah kelompok dosis 62,4 mg/20gBB dibandingkan dengan kelompok dosis lainnya.

Hasil penimbangan berat badan yang dilakukan sebelum pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke-0, 4, 11, dan 18. dapat dilihat pada **Gambar 3**.

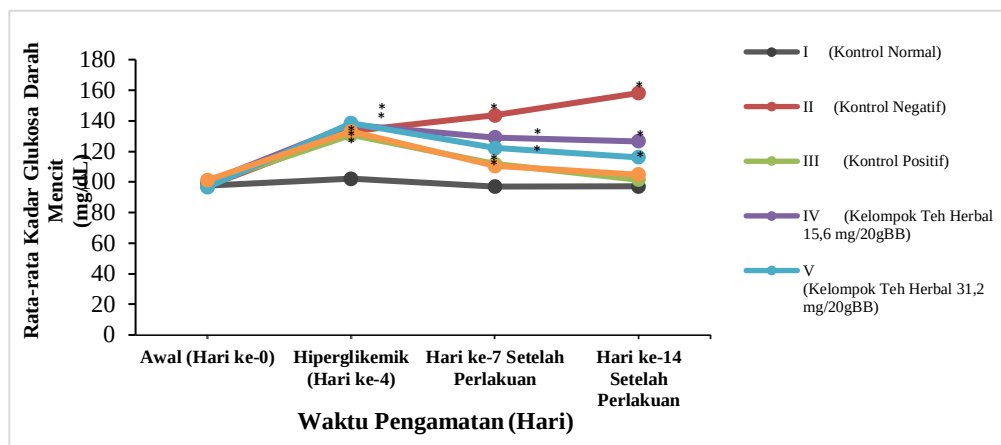


Gambar 3. Grafik Pengamatan Rata-rata Berat Badan Mencit

* terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok normal ($p < 0.05$)

Pada **Gambar 3** dapat dilihat bahwa hasil rata-rata berat badan mencit pada hari ke-0 adalah 24,4 g yang menunjukkan bahwa berat badan tersebut memenuhi rentang berat badan yang digunakan. Pada hari ke-4 (Kondisi hiperglikemia setelah induksi aloksan) terjadi penurunan berat badan mencit pada seluruh kelompok kecuali kelompok kontrol normal, hal ini terjadi disebabkan oleh induksi aloksan yang memengaruhi insulin yang dihasilkan sel β pankreas menjadi sedikit. Ketika tubuh kekurangan insulin, maka sel menjadi kekurangan glukosa sehingga energi diperoleh dari perombakan lemak (Suyono et al., 2011). Peningkatan rata-rata berat badan mencit tiap kelompok terjadi pada hari ke-11 dan 14 setelah pemberian sediaan uji, hal ini disebabkan karena pemberian Glibenklamid sebagai kontrol positif dan senyawa yang terkandung pada teh celup herbal kombinasi daun stroberi, daun teh, dan daun stevia sebagai sediaan uji dapat menstimulasi sel β pankreas untuk meningkatkan sekresi insulin sehingga glukosa dapat masuk ke dalam sel dan kebutuhan energi dapat dipenuhi dengan metabolisme glukosa (Nubatonis & Ndaong, n.d., 2015).

Profil pengukuran kadar glukosa darah mencit sebelum dan sesudah pemberian sediaan uji dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Grafik Rata-rata Kadar Glukosa Darah Mencit

* terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok normal ($p < 0.05$)

Sebelum diinduksi aloksan (kecuali kelompok kontrol normal), dilakukan pemeriksaan kadar glukosa darah pada tiap mencit untuk memastikan bahwa kadar glukosa darah mencit yang akan digunakan tidak ada perbedaan bermakna. Hasil analisis statistik ANOVA (*Analysis of Variance*) diperoleh signifikansi $(0,926) > \alpha (0,05)$ menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan bermakna kadar glukosa darah mencit kondisi awal seluruh kelompok Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah mencit pada awal percobaan sebelum pemberian induksi aloksan menunjukkan nilai rata-rata $< 120 \text{ mg/dL}$, nilai tersebut memenuhi kriteria kadar glukosa darah puasa mencit normal yaitu $70\text{--}120 \text{ mg/dL}$ (Dewi et al., 2016).

Berdasarkan **Gambar 4** dapat dilihat bahwa tidak terdapat perubahan berarti pada kelompok kontrol normal. Sejak hari ke-4 setelah pemberian aloksan terjadi peningkatan kadar glukosa darah pada kelompok kontrol negatif, hal ini membuktikan bahwa aloksan dapat digunakan sebagai penginduksi model hiperglikemia hewan coba melalui perusakan sel β pankreas (Szkudelski, 2001).

Aloksan terbukti menyebabkan kondisi hiperglikemia yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah pada mencit melalui pembentukan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan melalui peningkatan konsentrasi ion kalsium pada sel β pankreas. ROS memiliki sifat yang sangat reaktif dalam menyerang penyusun sel, dalam hal ini yaitu sel β pankreas karena aloksan bersifat toksik yang selektif terhadap sel β pankreas, selain itu aloksan akan mengganggu keseimbangan ion kalsium intrasel, aloksan akan meningkatkan ion kalsium di

sel β pankreas, selanjutnya terjadi pembukaan kanal kalsium tergantung voltase sehingga menambah masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut terjadi peningkatan konsentrasi insulin dengan cepat dan secara signifikan akan mengakibatkan gangguan sekresi insulin dalam waktu singkat. Hiperglikemia terjadi karena penurunan produksi insulin yang menyebabkan glukosa darah tidak dapat diabsorpsi ke dalam sel (Radenković et al., 2016).

Setelah mencapai kondisi hiperglikemia, seluruh mencit (kecuali kelompok kontrol normal) diberikan perlakuan sesuai kelompok masing-masing yaitu glibenklamid 0,65 mg/kgBB sebagai kontrol positif, teh celup herbal kombinasi daun stroberi, daun teh dan daun stevia uji dosis 15,6 mg/20gBB, 31,2 mg/20 gBB, dan 62,4 mg/20gBB sebagai bahan uji yang diberikan selama 14 hari. Baik kontrol positif dan ketiga variasi dosis dari teh celup herbal kombinasi daun stroberi, daun teh dan daun stevia menunjukkan penurunan glukosa darah, sedangkan kelompok negatif tetap mengalami kondisi hiperglikemia sampai akhir percobaan karena tidak diberikan perlakuan.

Berdasarkan uji statistik parametrik menggunakan ANOVA satu arah data kadar glukosa hari ke-18 (14 hari setelah perlakuan) diperoleh nilai signifikansi $P(0,000) < \alpha(0,05)$ yang artinya terdapat perbedaan antar kelompok sehingga uji dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). setelah dilakukan uji BNT data kadar glukosa darah mencit hari ke-18 (14 hari setelah perlakuan) diperoleh hasil yaitu kadar glukosa darah mencit kelompok kontrol normal berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif, teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh, dan stevia uji dosis 15,6 mg/20gBB, dan 31,2 mg/20gBB namun tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif dan kelompok uji dosis 62,4 mg/20gBB yang menunjukkan penurunan kadar glukosa darah sampai keadaan normal. Hasil kadar glukosa darah mencit kelompok kontrol negatif berbeda bermakna dengan seluruh mencit dari kelompok lain sehingga menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah oleh sediaan uji. Hasil kadar glukosa darah kelompok kontrol positif berbeda bermakna dengan dengan kelompok negatif, teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh, dan stevia uji dosis 15,6 mg/20gBB, dan 31,2 mg/20gBB namun tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol normal dan kelompok uji dosis 62,4 mg/20gBB, hal ini menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah. Hasil kadar glukosa darah antar tiga kelompok variasi dosis dari teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh, dan stevia menunjukkan perbedaan bermakna yang artinya terdapat perbedaan penurunan kadar glukosa darah.

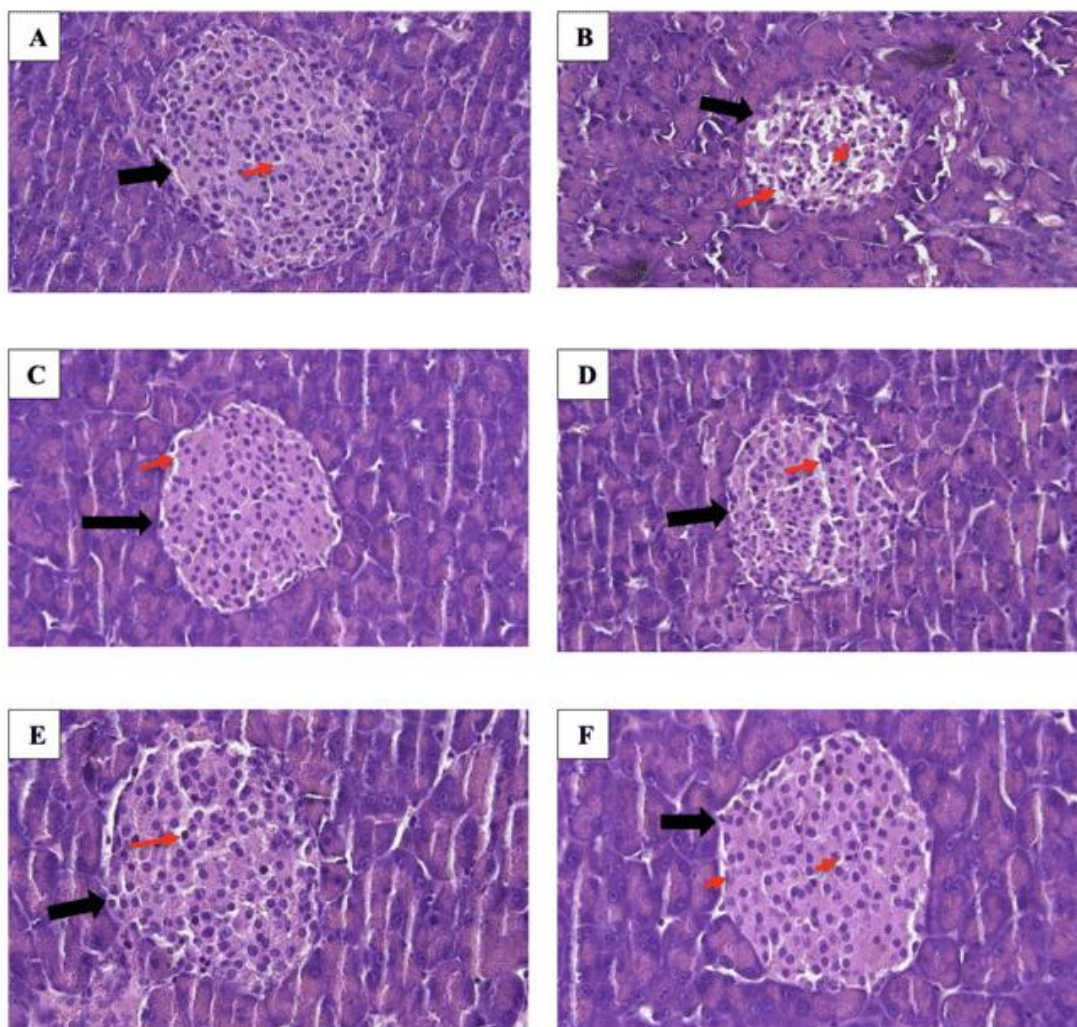
Analisis Daerah Dibawah Kurva (DDK) dilakukan untuk melihat total glukosa darah selama percobaan. Semakin besar nilai DDK, maka semakin besar juga peningkatan kadar glukosa darah yang terjadi. Berdasarkan tabel di atas nilai rata-rata DDK kelompok kontrol negatif paling tinggi dibandingkan semua kelompok. Hasil data tersebut menunjukkan bahwa alokan sebagai agen diabetogenik mampu memberikan kondisi hiperglikemia dan menunjukkan bahwa kontrol positif dan sediaan uji memiliki aktivitas anti-hiperglikemik yang dapat dilihat dari hasil rata-rata DDK. Berdasarkan hasil rata-rata tersebut teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh, dan stevia uji dosis 62,4 mg/20gBB mampu menurunkan kadar glukosa darah yang lebih baik dari dosis 15,6 mg/20gBB, dan 31,2 mg/20gBB. Besarnya kemampuan penurunan kadar glukosa darah dari setiap sediaan uji dapat dilihat pada **Tabel I**.

Tabel I. Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah dari Setiap Sediaan Uji

Sediaan Uji	Penurunan Kadar Glukosa Darah Mencit (%)
Glibenklamid	21,22
Teh Herbal Celup Kombinasi Daun Stroberi, Teh dan Stevia dosis 15,6 mg/20gBB	9,74 [#]
Teh Herbal Celup Kombinasi Daun Stroberi, Teh dan Stevia dosis 31,2 mg/20gBB	13,79 [#]
Teh Herbal Celup Kombinasi Daun Stroberi, Teh dan Stevia dosis 62,4 mg/20gBB	20,75

[#] terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok positif ($p < 0.05$)

Pada penelitian ini digunakan teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh, dan stevia dikarenakan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan fenolik pada daun stroberi, *epigallocatechin gallate* pada daun teh, dan steviosida serta rebaudiosida pada daun stevia. Kandungan senyawa metabolit sekunder dari ketiga tanaman tersebut terutama senyawa fenolik dan flavonoid dari daun stroberi sebagai penyumbang terbanyak dari komponen teh celup herbal terbukti berkhasiat sebagai anti-hiperglikemik melalui stimulasi sel β pankreas sehingga akan meningkatkan sekresi insulin (Nubatonis et al., 2015; Singh et al., 2013; Szkudelski, 2001a). Pada kontrol positif digunakan glibenklamid sebagai pembanding karena glibenklamid merupakan obat golongan sulfonilurea yang biasa digunakan sebagai obat antidiabetik oral dan sudah terbukti berkhasiat dalam menurunkan kadar glukosa darah, selain itu glibenklamid memiliki mekanisme kerja yang sama dengan senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada bahan uji (Tandra, 2017). Hasil pengamatan histopatologi pankreas dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Histopatologi Pankreas Mencit dengan Pewarnaan Hematoksilin dan Eosin

Keterangan :

- (A) Kontrol Normal;
- (B) Kontrol Negatif;
- (C) Kontrol positif (glibenklamid);
- (D) Kelompok uji dosis 15,6 mg/20gBB;
- (E) Kelompok uji dosis 31,2 mg/20gBB;
- (F) Kelompok uji dosis 62,4 mg/20gBB.

() Pulau Langerhans;
 () Ruang Intraseluler. Perbesaran 400x

Berdasarkan hasil penelitian rata-rata lima Pulau Langerhans pankreas mencit dengan lima kali pengulangan menunjukkan terjadi perbedaan gambaran histopatologi pada 6 kelompok perlakuan. Pada kontrol normal yang tidak diinduksi aloksan diperoleh skor 0, yang berarti tidak terdapat kerusakan Pulau Langerhans. Kelompok kontrol normal menunjukkan bentuk sel yang seragam dan kondisi Pulau Langerhans normal terlihat dari susunan sel endokrin yang teratur dan menyebar di Pulau Langerhans, dimana sel endokrin Langerhans terdiri dari 70% sel β yang memproduksi hormon insulin yang berperan dalam mengatur glukosa darah (Suyono et al., 2011). Hasil skoring derajat nekrosis pulau Langerhans mencit dapat dilihat pada **Tabel II**.

Tabel II. Hasil Skoring Derajat Nekrosis Pulau langerhans Mencit

Kelompok	Skoring rata-rata nekrosis
Kontrol normal	$0,0 \pm 0,0$
Kontrol negatif	$3,4 \pm 0,9^*$
Kontrol positif (Glibenklamid)	$0,8 \pm 0,4$
Teh Herbal Celup Kombinasi Daun Stroberi, Teh dan Stevia dosis 15,6 mg/20gBB	$2,0 \pm 0,7^*$
Teh Herbal Celup Kombinasi Daun Stroberi, Teh dan Stevia dosis 31,2 mg/20gBB	$1,6 \pm 0,5^*$
Teh Herbal Celup Kombinasi Daun Stroberi, Teh dan Stevia dosis 62,4 mg/20gBB	$1,0 \pm 0,7$

* terdapat perbedaan signifikan dengan kelompok normal ($p < 0.05$)

Kerusakan jaringan pankreas yang terjadi disebabkan penginduksian aloksan dapat ditunjukkan dengan adanya nekrosis dan degenerasi Pulau Langerhans yang ditandai adanya ruang kosong Pulau Langerhans yang disebabkan pengurangan jumlah sel β , perbatasan area Pulau Langerhans yang tidak beraturan, dan dapat dilihat dari penurunan diameter Pulau Langerhans (Dinullah et al., 2017). Berdasarkan **Gambar 5** Pulau Langerhans kelompok yang diinduksi aloksan terlihat lebih kecil daripada kelompok normal yang tidak diinduksi aloksan. Pada kelompok kontrol negatif dapat diperoleh skor $3,4 \pm 0,9$ karena terjadi perubahan morfologi pankreas yaitu terlihat kerusakan yang relatif berat yang ditandai dengan ruang kosong hingga mencapai setengah dari Pulau Langerhans, hal ini membuktikan bahwa aloksan merupakan agen diabetogenik yang dapat menimbulkan kerusakan pada sel β pankreas melalui pembentukan ROS sehingga terjadi nekrosis sel β yang ditandai dengan adanya ruang kosong pada Pulau Langerhans (Dinullah et al., 2017). Sel β pankreas yang rusak dapat menyebabkan defisiensi insulin yang mengakibatkan terjadinya penyakit diabetes (Szkudelski, 2001).

Pada kelompok uji dosis 15,6 mg/20gBB dapat dilihat terdapat perbedaan bermakna terhadap kelompok kontrol normal, negatif, positif, dan uji dosis 62,4 mg/20gBB serta tidak terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok uji dosis 31,2 mg/20gBB namun dengan nilai signifikansi $0,056 > \alpha$ (0,05) yang dapat diartikan perbaikan yang diberikan belum hampir sama. Pada kelompok uji dosis 31,2 mg/20gBB terdapat perbedaan bermakna dengan kelompok normal, negatif, positif, dan uji dosis 62,4 mg/20gBB diperoleh skor $1,0 \pm 0,7$ yang menunjukkan terjadinya perubahan yaitu ruang intraseluler yang lebih kecil daripada kelompok negatif dan uji dosis 15,6 mg/20gBB, terlihat kerusakan pada 2/8 bagian Pulau Langerhans. Pada kelompok uji dosis 15,6 mg/20gBB terlihat perbaikan jika dibandingkan kelompok negatif, namun perbaikan yang terjadi tidak sebaik kelompok kontrol positif, uji dosis 62,4 mg/20gBB, dan 31,2 mg/20gBB, dengan kerusakan hampir 3/8 bagian Pulau Langerhans (skor 3).

Berdasarkan perbaikan yang terlihat pada Pulau Langerhans kelompok teh celup herbal kombinasi daun stroberi, teh, dan stevia yang ditandai dengan ruang intraselular yang lebih kecil dan lebih banyaknya sel endokrin jika dibandingkan kelompok negatif, maka hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa kandungan flavonoid pada daun stroberi sebagai komponen terbesar dari teh celup herbal kombinasi tersebut, epigallocatekin galat dari daun teh, dan steviosida serta rebaudiosida dari daun stevia mampu memperbaiki kerusakan Pulau Langerhans yang disebabkan oleh radikal bebas, mendorong sel β untuk berkembang, dan memperbanyak diri sehingga menggantikan sel yang rusak (Nubatonis et al., 2015; Singh et al., 2013; Szkudelski, 2001).

KESIMPULAN

Teh celup herbal kombinasi daun stroberi (*Fragaria x ananassa*), teh (*Camellia sinensis* L.), dan stevia (*Stevia rebaudiana*) dengan dosis tertinggi yaitu dosis 62,4 mg/20gBB dapat menurunkan malondialdehid, meningkatkan aktivitas SOD, menurunkan glukosa darah dan perbaikan pada gambaran histopatologi Pulau Langerhans pankreas pada mencit gangguan metabolik model hiperglikemik yang diinduksi aloksan sebanding dengan glibenklamid.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kami berterima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Pancasila atas dukungan dan fasilitas yang diberikan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ayala, J. E., Samuel, V. T., Morton, G. J., Obici, S., Croniger, C. M., Shulman, G. I., Wasserman, D. H., & McGuinness, O. P. (2010). Standard operating procedures for describing and performing metabolic tests of glucose homeostasis in mice. *Disease Models & Mechanisms*, 3(9–10), 525–534.
- Dewi, J. K., Ekawati, P., & Sinung, P. (2014). Kualitas Teh Celup dengan Kombinasi Teh Oolong dan Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana Bertonii*). *Journal*, 1, 1–13.
- Dewi, J. K., Purwijantiningih, L. M. E., & Pranata, F. S. (2016). Kualitas teh celup dengan kombinasi teh oolong dan daun stevia (*Stevia rebaudiana Bertonii*). *Fakultas Teknologi on UniversitasAtma Jaya*.
- Dinullah, L. S., Salim, M. N., & Hamdani, B. (2017). Pengaruh Ekstrak Daun Jamblang (*Syzygium Cumini*) Terhadap Histopatologi Pankreas Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Streptozotosin The (Effect of *Syzygium cumini* leaf Extract on Pancreas Histopathology of Rat (*Rattus norvegicus*) Induced with Streptozotocin). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Veteriner*, 1(4), 678–686.
- Geniosa, B. P., & Aini, Q. (2020). Hospital Preparedness Level and Policy Implementation Analysis of Hospital Disaster Plan in RSUD Kota Yogyakarta. *Journal of Indonesian Health Policy and Administration*, 5(3).
- (IDF), I. D. F. (2019). *International Diabetes Federation: Diabetes Atlas 9th Edition*.
- Kassahun, M., Melak, T., & Abebe, M. (2014). Accuracy of SensoCard glucose meter: comparing with reference glucose oxidase method. *J Med Diagn Meth*, 3(162), 2.
- Katno, Dian Anistyani, S. (2008). Uji Aktivitas Hipoglikemik Ekstrak Etanol Daun Teh (*Camellia sinensis* L.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar. 108–113.
- Khan, I., Tababum, S., Rehman, T. U., Ikram, M., Haq, I. U., & Zia, M. (2018). Antioxidant, cytotoxicity, protein kinase inhibition and antibacterial activities of *Fragaria x ananassa* leaves. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 31(4), 1423–1429.
- Khan, I., Tabassum, S., Ikram, M., Zia, M., & others. (2018). Antioxidant, cytotoxicity, protein kinase inhibition and antibacterial activities of *Fragaria x ananassa* leaves. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 31(4).
- Komala, I., Sari, F. R., & others. (n.d.). Pengaruh Variasi Suhu dan Waktu Ekstraksi Metode Ultrasonik Terhadap Rendemen Ekstrak Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun *Stevia rebaudiana Bert. M.* UIN Syarif Hidayatullah Jakarta-FIKES.

- Nubatonis, D. C., & Ndaong, N. A. N. S. (n.d.). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Terhadap Histopatologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Melitus (DM) Tipe I. *Jurnal Kajian Veteriner*, 3(Dm), 31–40.
- Nubatonis, D. C., Ndaong, N. A., Selan, Y. N., & others. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) Terhadap Histopatologi Pankreas Mencit (*Mus musculus*) Diabetes Melitus (DM) Tipe I. *Jurnal Kajian Veteriner*, 3(1), 31–40.
- Obat, B. P., & Makanan, R. I. (2010). Acuan sediaan herbal. *Volume Kelima Edisi Pertama. Direktorat Obat Asli Indonesia*.
- Radenković, M., Stojanović, M., & Prostran, M. (2016). Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 78, 13–31.
- Rao, M. U., Sreenivasulu, M., Chengaiah, B., Reddy, K. J., Chetty, C. M., & others. (2010). Herbal medicines for diabetes mellitus: a review. *Int J PharmTech Res*, 2(3), 1883–1892.
- Sandhiutami, N.M.D., Desmiaty, Y., & Anbar, A. (2017). Efek antioksidan ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase dan kadar malondialdehid pada mencit stress oksidatif dengan perenangan. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(1), 23–26.
- Shaheen, eman. (2019). Protective effect of *Fragaria ananassa* against streptozotocin-induced diabetes in rats. *The Egyptian Journal Of Experimental Biology (Zoology)*, 15(0), 1. <https://doi.org/10.5455/egysebz.20190415100613>
- Singh, S., Garg, V., & Yadav, D. (2013). Antihyperglycemic and antioxidative ability of *Stevia rebaudiana* (Bertoni) leaves in diabetes induced mice. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 297–302.
- Spadiene, A., Savickiene, N., Ivanauskas, L., Jakstas, V., Skesters, A., Silova, A., & Rodovicius, H. (2014). Antioxidant effects of *Camellia sinensis* L. extract in patients with type 2 diabetes. *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(4), 505–511.
- Suyono, S., Waspadji, S., & Soegondo, S. (2011). Penatalaksanaan diabetes melitus terpadu. *Jakarta: Badan Penerbit FKUI*.
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, 50(6), 537–546.
- Tandra, H. (2017). *Segala sesuatu yang harus anda ketahui tentang diabetes*. Gramedia Pustaka Utama.
- Widyastuti, W., Kusuma, A. E., Nurlaili, N., & Sukmawati, F. (2016). Antioxidant and Sunscreen Activities of Ethanol Extract of Strawberry Leaves (*Fragaria x ananassa* AN Duchesne). *Jurnal Sains Farmasi Dan Klinis*, 3(1), 19–24.

