

AKTIVITAS ANTIDIABETES EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) PADA TIKUS PUTIH RETINOPATI DIABETIK

ANTIDIABETIC ACTIVITY ETHANOL EXTRACT OF RED BETEL LEAVES (*Piper crocatum*) IN DIABETIC RETINOPATHY WHITE RATS

Madyo Adrianto^{1*}, Gunawan Pamudji widodo¹, Rina Herowati¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi

Jalan Letjen Sutoyo, Mojosongo, Kec. Jebres, Kota Surakarta, Jawa Tengah.

*Email Corresponding: madyoadrianto@rocketmail.com

Submitted: 14 January 2023

Revised: 16 January 2023

Accepted: 17 January 2023

ABSTRAK

Salah satu komplikasi mikrovaskuler pada kondisi diabetes yakni retinopati diabetik dimana terjadi akibat kerusakan sel endotel pada pasien diabetes yang dapat meningkatkan ekspresi VEGF. VEGF mampu menginduksi adhesi leukosit sel endotel retina yang mengakibatkan kerusakan retina. Penelitian ini bertujuan guna mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun sirih merah (EDDSM) dalam menurunkan kadar glukosa darah serta aktivitasnya pada kadar VEGF plasma tikus putih retinopati diabetik. Daun sirih merah dikeringkan dan dibuat serbuk halus lalu diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode remaserasi. Pengujian dilakukan pada 35 ekor tikus yang terbagi dalam 5 kelompok perlakuan yakni kelompok kontrol negatif, kontrol positif (Glibenklamid), EEDSM dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB. Metode uji antidiabetes menggunakan induksi STZ-NA secara intraperitoneal kemudian mengukur kadar glukosa, VEGF awal dan setelah perlakuan pada setiap kelompok kemudian dilakukan analisa menggunakan uji oneway Anova. Berdasarkan hasil pengukuran kadar glukosa darah dan VEGF plasma diperoleh perbedaan yang bermakna diantara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif serta EEDSM dengan nilai signifikan ($p < 0,05$). Hasil penelitian diperoleh EEDSM dosis 100 mg/kgBB ialah dosis efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan % PKGD yaitu 18,22%. EEDSM dosis 200 mg/kgBB ialah dosis efektif guna penurunan VEGF plasma tikus retinopati diabetik sebesar 31,20%.

Kata kunci: Antidiabetes; Sirih merah; Glukosa; VEGF.

ABSTRACT

One of the microvascular complications in diabetic conditions is diabetic retinopathy which occurs due to damage to endothelial cells in diabetic patients which can increase VEGF expression. VEGF is capable of inducing retinal endothelial cell leukocyte adhesion resulting in retinal damage. This study aims to determine the activity of the ethanol extract of red betel leaves (EERBL) in reducing blood glucose levels and its activity on plasma VEGF levels in diabetic retinopathy white rats. Red betel leaves were dried and made into a fine powder and then extracted using 70% ethanol solvent with the remaceration method. Tests were carried out on 35 rats which were divided into 5 treatment groups, namely the negative control group, positive control (Glibenclamide), EERBL doses of 50, 100, and 200 mg/KgBW. The antidiabetic test method used STZ-NA induction intraperitoneally then measured glucose levels, initial VEGF and after treatment in each group then analyzed

using the one-way ANOVA test. Based on the results of measurements of blood glucose and plasma VEGF levels, there was a significant difference between the negative control and positive control groups and EERBL with a significant value ($p < 0.05$). The research results obtained by EERBL at a dose of 100 mg/kgBB is an effective dose in reducing blood glucose levels with % PKGD, namely 18.22%. EERBL dose of 200 Mg/KgBW is an effective dose to reduce plasma VEGF of diabetic retinopathy rats by 31.20%.

Keywords: Antidiabetic; Red betel leaves; Glukosa; VEGF.

PENDAHULUAN

Diabetes merupakan penyakit menahun (kronis) seperti gangguan metabolik yang diisyarat dengan kandungan gula darah yang melewati batas normal. Ada beberapa jenis diabetes melitus yakni tipe 1, tipe 2, serta diabetes melitus gestasional (Pangribowo, 2020). Retinopati diabetik merupakan komplikasi utama diabetes mellitus (DM), serta sebagai pemicu utama kehilangan penglihatan pada populasi usia kerja, secara klinis, retinopati diabetik dibagi menjadi dua tahap yakni non-proliferatif diabetik retinopati (NPDR) serta proliferaatif diabetik retinopati (PDR). NPDR mewakili bagian awal retinopati diabetik, dimana kenaikan permeabilitas pembuluh darah serta oklusi kapiler merupakan dua pengamatan utama pada pembuluh darah retina. Selama tahap ini, patologi retina termasuk mikroaneurisma, pendarahan serta eksudat keras dapat dideteksi dengan fotografi fundus walaupun penderita mungkin tidak menampilkan gejala (Wang and Lo, 2018). Retinopati diabetik proliferaatif ditandai dengan neovaskularisasi pada retina serta permukaan posterior vitreous dan bisa menimbulkan ablasi retina (Naderi *et al.*, 2019).

Prevalensi retinopati diabetik pada tahun 2020 sebesar 22,27% secara global dalam populasi DM di mana prevalensi retinopati diabetik di wilayah asia tenggara sebesar 16,99%. Secara global jumlah orang dewasa yang mengidap retinopati diabetik sebesar 103,12 juta pada 2020 dan diproyeksikan akan meningkat sebesar 25,9% menjadi 129,84 juta pada tahun 2030 dan 55,6% atau 160,50 juta di tahun 2045 (Teo *et al.*, 2021). Pengobatan retinopati diabetik menargetkan pada proliferaatif (PDR) serta CSME yang merupakan tahap akhir retinopati diabetik di mana telah terjadi kehilangan penglihatan yang signifikan, Keberhasilan pemberian anti-Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) dalam meningkatkan ketajaman visual yakni sebesar 29% serta pada terapi fotokoagulasi laser dapat mengurangi kehilangan penglihatan yang parah sebesar 50% oleh karena itu pencegahan perkembangan retinopati diabetik sangat penting dalam menjaga penglihatan (En Yng *et al.*, 2021).

Terdapat beberapa efek samping dari pemberian obat DM ini sehingga dibutuhkan pengobatan alternatif yang lebih aman dan efektif untuk pengobatan DM tipe 2 terutama pada komplikasinya yakni retinopati diabetik. Sirih merah merupakan tanaman yang sering dipakai oleh masyarakat Indonesia, daun sirih merah mempunyai beberapa khasiat sebagai anti hiperglikemik, anti proliferaatif pada sel kanker, aktivitas antibakteri gram positif dan gram negatif, aktivitas antioksidan dan lain-lain. Kandungan kimia dalam ekstrak etanol daun sirih merah 96% yakni tanin, saponin, triterpenoid, serta flavonoid. Flavonoid pada daun sirih merah berupa antosianidin flavonon, auron, isoflavon, katekin, serta kalkon (Anggi and Magfirah, 2019).

Pada penelitian sebelumnya diketahui pengujian terhadap tikus putih jantan (*Rattus novergicus*) yang diinduksi aloksan dapat mengalami penurunan kadar gula darah setelah diberikan ekstrak daun sirih merah 2% pada dosis 50 serta 100 mg/kgBB. Kandungan senyawa flavonoid pada dosis tersebut sanggup untuk mengurangi kadar gula darah yang setara setelah pemberian glibenklamid 0,02% (dosis 1 ml/kgBB) (Dharmayudha *et al.*, 2014). Ekstrak daun sirih merah juga diketahui mampu menurunkan kadar TNF- α , menurunkan apoptosis sel serta meningkatkan persentase sel hidup, mengurangi intraseluler ROS, mengurangi CYP2E1 dan meningkatkan level GPX dalam sel HepG2 (Ginting *et al.*, 2021). Ekstrak sirih merah diketahui mempunyai kemampuan mengurangi kandungan glukosa darah pada tikus diabetes akan tetapi belum diketahui aktivitasnya pada kondisi

retinopati diabetik oleh sebab itu penelitian ini melakukan pengujian aktivitas penurunan kadar VEGF plasma tikus retinopati diabetik oleh ekstrak etanol daun sirih merah.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Daun sirih merah (Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah), etanol 70% (Indo classica®, Indonesia), tikus putih jantan galur wistar, rat VEGF ELISA KIT (Fine test®, China), dan glucose GOD FS (DiaSys®, Germany).

Prosedur Penelitian

Pembuatan ekstrak sirih merah

Daun sirih merah yang diperoleh dilakukan pengerian dengan diangin-anginkan serta terlindungi dari cahaya matahari lalu dihaluskan serta diayak menggunakan ayakan mesh 20. Etanol 70% digunakan sebagai pelarut untuk proses maserasi serbuk daun sirih merah. Maserat yang diperoleh kemudian digabungkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* (IKA®, Germany) sampai didapat ekstrak kental.

Identifikasi kandungan senyawa ekstrak sirih merah

Pengujian menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan guna mengidentifikasi kandungan ekstrak etanol daun sirih merah guna mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, tanin, alkaloid, saponin dan steroid/triterpenoid.

Persiapan hewan percobaan

Proposal penelitian ini sudah lolos uji etik RSUD Dr. Moewardi dengan nomor surat layak etik : 829/IX/HREC/2021. Tikus putih galur wistar usia 2 - 3 bulan serta berat badan 180 – 200 gram yang telah diaklimasikan selama 7 hari dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan yakni kelompok kontrol negatif (I), kelompok kontrol positif glibenklamid dosis 0,45 mg/kgBB (II), kelompok ekstrak etanol dosis 50 mg/kgBB (III), kelompok ekstrak etanol dosis 100 mg/kgBB (IV), dan kelompok ekstrak etanol dosis 200 mg/kgBB (V) digunakan sebagai hewan uji pada penelitian ini.

Uji aktivitas antidiabetes

Tikus diinduksi streptozotocin dosis 45 mg/dL dan nicotinamide dosis 110 mg/kgBB melalui intraperitoneal. Sesudah 3 hari induksi streptozotocin tikus diukur kadar gula darahnya, tikus yang memiliki kadar glukosa darah > 250 mg/dL pada 3 hari setelah induksi STZ-NA dipilih sebagai tikus diabetes dan digunakan untuk pengujian. Tikus diabetes kemudian didiamkan selama 4 minggu hanya diberikan makan dan minum guna menunggu sampai terjadinya kenaikan kadar VEGF plasma yang menandakan telah terjadinya kondisi retinopati diabetik kemudian dilakukan pemberian ekstrak etanol daun sirih merah dengan berbagai variasi dosis selama 4 minggu. Berat badan dan kadar glukosa darah tikus diukur setiap minggu sampai dengan minggu ke 8 setelah induksi STZ-NA.

Uji aktivitas penurunan kadar VEGF plasma

Pengukuran kadar VEGF dilakukan sebelum perlakuan (Y0), kemudian setelah 4 minggu induksi STZ-NA (Y1) dan setelah 4 minggu perlakuan sediaan uji (Y3). kadar VEGF plasma diperiksa dengan metode ELISA.

Analisis Data

Data yang didapat yakni kadar glukosa darah tikus putih, persen penurunan kadar glukosa darah dan kadar VEGF plasma. Perhitungan nilai AUC dengan rumus yaitu :

$$AUC_{t_{n-1}}^{t_n} = \frac{C_{t_{n-1}} + C_{t_n}}{2} (t_n - t_{n-1})$$

Keterangan :

$C_{t_{n-1}}$ = kadar glukosa rata – rata pada t_{n-1}

C_{t_n} = kadar glukosa rata – rata pada t_n

Persen penurunan kadar glukosa darah dihitung dengan rumus :

$$\frac{AUC_k - AUC_p}{AUC_k} \times 100\%$$

Keterangan :

AUC_k = AUC kurva kadar glukosa darah rata-rata terhadap waktu pada kontrol negatif.

AUC_p = AUC kurva kadar glukosa darah rata-rata terhadap waktu pada kontrol kelompok perlakuan setiap individu.

Pada hasil penelitian data kuantitatif dinyatakan sebagai rata-rata (*mean*) ($\pm$) standar deviasi (*SD*). Signifikansi statistik dihitung menggunakan analisis varians satu arah (*ANOVA*) jika signifikansi nilainya kurang dari 0,05 ($p < 0,05$), maka nilai dianggap signifikan secara statistik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan senyawa pada ekstrak maupun serbuk daun sirih merah dapat diketahui dengan melakukan identifikasi kandunagn senyawa. Pada hasil identifikasi kandungan senyawa daun sirih merah diperoleh hasil positif terdapat kandungan flavonoid, tanin, saponin dan steroid tetapi tidak ditemukan adanya senyawa alkaloid hal ini berbeda dengan hasil identifikasi ekstrak daun sirih merah yang sudah dilakukan sebelumnya di mana terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, triterpenoid, serta tanin (Lister *et al.*, 2014). Hasil identifikasi senyawa ekstrak etanol daun sirih merah terdapat pada **Tabel I**.

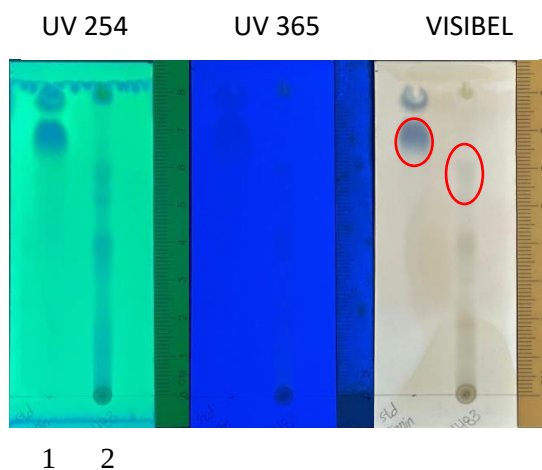
Tabel I. Hasil Identifikasi Senyawa Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah

Identifikasi	Fase gerak	Fase diam	Warna noda	Keterangan
Flavonoid	n-heksana : etil asetat : asam formiat (6:4:0,1)	silika gel 60 F ₂₅₄	Kuning	Positif
Tanin	etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100:5:5:1)	silika gel 60 F ₂₅₄	Biru keabu- abuan	Positif
Alkaloid	metanol : ammonia (100:1,5)	silika gel 60 F ₂₅₄	Biru/oranye	Negatif
Saponin	klorofom : metanol (95:5)	silika gel 60 F ₂₅₄	Biru keunguan	Positif
Steroid	toluene : etil asetat (80:20)	silika gel 60 F ₂₅₄	Merah	Positif
Terpenoid	toluene : etil asetat (93:7)	silika gel 60 F ₂₅₄	Merah violet	Positif



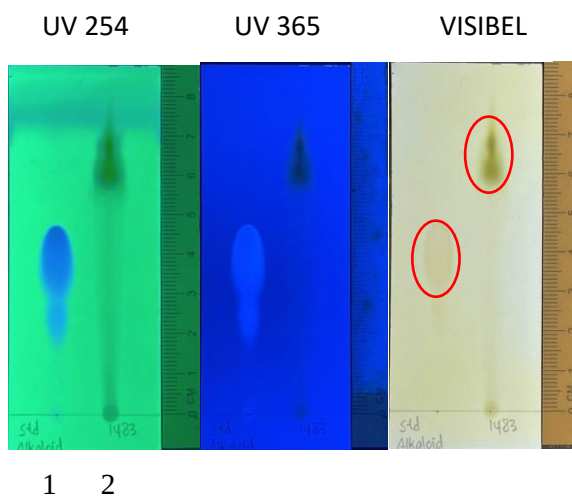
Gambar 1. Hasil KLT Flavonoid

Keterangan : 1 : Pembanding kuersetin. 2 : Ekstrak daun sirih merah



Gambar 2. Hasil KLT Tanin

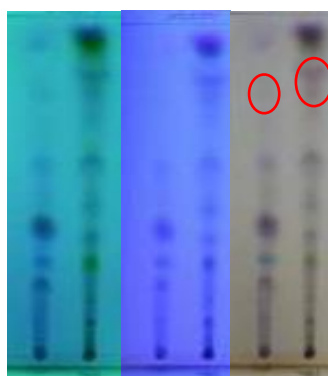
Keterangan : 1 : Pembanding *Tanic acid*. 2 : Ekstrak daun sirih merah



Gambar 3. Hasil KLT Alkaloid

Keterangan : 1: Pembanding quinine. 2 : Ekstrak daun sirih merah.

UV 254 UV 365 VISIBEL



1 2

Gambar 4. Hasil KLT Saponin

Keterangan : 1: Pembanding saponin. 2 : Ekstrak daun sirih merah

UV 254 UV 365 VISIBEL

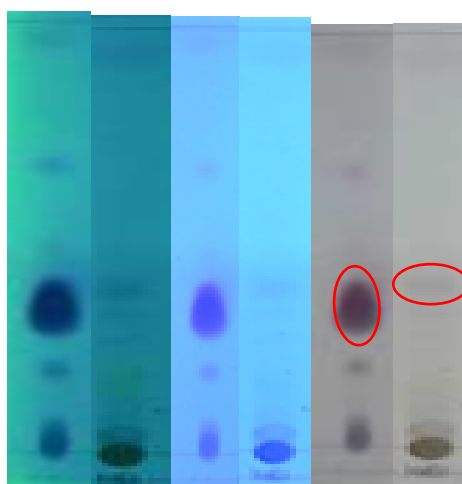


1 2

Gambar 5. Hasil KLT Steroid

Keterangan : 1 : Pembanding beta-sitosterol. 2: Ekstrak daun sirih merah

UV 254 UV 365 VISIBEL



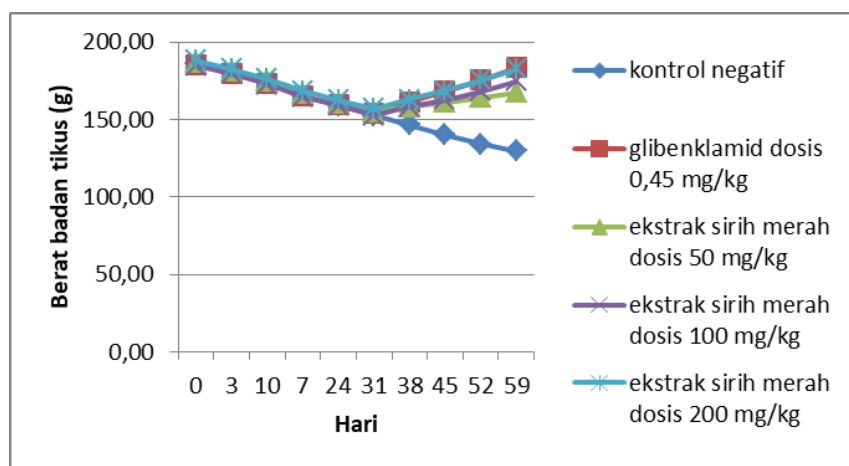
1 2

Gambar 6. Hasil KLT Triterpenoid

Keterangan 1 : Pembanding terpeniol. 2 : Ekstrak daun sirih merah

Pada hasil pengukuran berat badan tikus terjadi penurunan pada hari ke 3 setelah induksi STZ-NA yang ditunjukkan pada **Gambar 7**. Hal ini dikarenakan STZ dapat merusak sel β pankreas sehingga sekresi insulin berkurang dan menyebabkan kelainan metabolisme karbohidrat. Insulin dibutuhkan dalam metabolisme karbohidrat kerusakan pada sel β pankreas dapat mengganggu metabolisme karbohidrat sebagai sumber energi. Kondisi ini menyebabkan tubuh melakukan glukoneogenesis baik dari lemak maupun protein (Mustaghfiroh and Probosari, 2014).

Proses pembuatan glukosa dari senyawa nonkarbohidrat (protein serta lemak) dimana lemak akan digunakan terlebih dahulu daripada protein disebut dengan proses gluconeogenesis. Pada pembentukan glukosa di dalam hati asam lemak akan dioksidasi menjadi casetil-KoA lalu akan masuk dalam siklus Krebs guna pembentukan energi asam amino akan ditransaminasi agar membentuk glukosa. Resistensi insulin juga menyebabkan glikogenolisis yang merupakan proses pemecahan glikogen guna pembentukan energi. Proses glikogenolisis yang berlangsung secara terus-menerus dapat menyebabkan berkurangnya masa otot. Proses glikogenolisis dan glukoneogenesis menghasilkan glukosa yang nantinya akan dibuang melalui urin akibat dari resistensi insulin sehingga pada jangka panjang menyebabkan penyusutan jaringan otot dan jaringan adipose (Dewi, Widyastuti and Probosari, 2020).



Gambar 7. Rata-Rata Berat Badan Tikus

Kenaikan berat badan terjadi pada hari ke 38 dapat dilihat pada **Gambar 7** di mana pada kelompok kontrol positif yaitu glibenklamid terjadi kenaikan berat badan dikarenakan glibenklamid memiliki efek melindungi dan mengatur pengecilan otot atau pengembalian glukoneogenesis dan meningkatkan sekresi insulin dari sel beta pankreas (Kumar *et al.*, 2013). Pada pemberian ekstrak daun sirih merah baik dosis 50, 100 dan 200 mg/kgBB terjadi peningkatan berat badan hal ini dikarenakan ekstrak daun sirih merah memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, dan tanin. Pada kondisi diabetes peningkatan laju glukoneogenik diyakini menjadi salah satu penyebab utama hiperglikemia senyawa flavonoid seperti rutin memiliki aktivitas menghambat proses glukoneogenik dengan cara mengurangi keluaran glukosa hepatic dengan menghambat aktivitas dari enzim glukose-6-phosphatase (G6Pase) di hati dan glikogen fosforilase (Ghorbani, 2017). *Tanic acid* merupakan salah satu senyawa tanin yang memiliki aktivitas antidiabetes dengan cara menurunkan penyerapan glukosa pada sistem pencernaan dengan efek menghambat enzim α -glikosidase dan α -amilase untuk memperpanjang periode pencernaan karbohidrat sehingga memiliki efek menurunkan kadar glukosa darah (Türkan, Taslimi and Saltan, 2019). Inhibitor alfa-glukosidase dapat menghambat proses glukoneogenesis akibatnya lemak maupun protein tidak diubah menjadi glukosa sehingga tidak terjadi penurunan jaringan otot maupun adipose hal ini yang dapat

menyebabkan kenaikan berat badan seperti yang terjadi pada kelompok ekstrak daun sirih merah.

Hasil pengukuran rata-rata kadar glukosa darah tikus setelah perlakuan sediaan uji pada hari ke 59 (T9) untuk kelompok kontrol negatif sebesar 281,23 mg/dl di mana kondisi ini masih dalam kondisi DM hal ini berbeda dengan kelompok kontrol positif yang mempunyai rata-rata kadar glukosa darah sebesar 91,92 mg/dL nilai ini sudah memasuki rentang gula darah normal. Ekstrak daun sirih merah dosis 100 dan 200 mg/kgBB juga berada pada kondisi normal yaitu sebesar 95,20 mg/dL dan 85,55 mg/dL. Tetapi untuk rata-rata kadar gula darah ekstrak daun sirih merah dosis 50 mg/kgBB sebesar 128,83 mg/dL hasil ini masih masuk pada rentang kondisi diabetes.

Kelompok ekstrak daun sirih merah dosis 200 serta 100 mg/kgBB mempunyai % PKGD lebih besar serta berbeda signifikan dibandingkan kelompok ekstrak daun sirih merah dosis 50 mg/kgBB hal dikarenakan dosis 200 mg/kgBB serta 100 mg/kgBB mempunyai kandungan senyawa yang lebih tinggi daripada ekstrak daun sirih merah dosis 50 mg/kgBB oleh karena itu memiliki aktivitas yang lebih baik.

Nilai AUC menunjukkan perubahan jumlah kadar gula darah selama 59 hari efek penurunan kadar gula darah berbanding terbalik dengan nilai AUC dimana semakin besar efek penurunan kadar gula darah maka akan semakin kecil nilai AUC begitu juga sebaliknya semakin kecil efek penurunan kadar gula darah maka nilai AUC akan semakin besar dapat dilihat pada tabel II nilai AUC paling kecil dan % PKGD menunjukkan nilai paling besar terdapat pada ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kgBB daripada kelompok perlakuan lainnya.

Tabel II. Rata-Rata AUC (n= 35) dan % Penurunan Kadar Glukosa Darah (PKGD)

Kelompok perlakuan	AUC $\pm$ SD	% PKGD $\pm$ SD
Kontrol negatif	15456,24 $\pm$ 334,58 ^b	0 $\pm$ 0
Glibenklamid dosis 0,45 mg/KgBB	12531,02 $\pm$ 276,60 ^a	18,91 $\pm$ 0,02
Ekstrak sirih merah dosis 50 mg/kgBB	13421,86 $\pm$ 299,41 ^{ab}	13,11 $\pm$ 0,03 ^b
Ekstrak sirih merah dosis 100 mg/kgBB	12633,45 $\pm$ 187,52 ^{ac}	18,22 $\pm$ 0,03 ^c
Ekstrak sirih merah dosis 200 mg/kgBB	12426,85 $\pm$ 45,94 ^{ac}	19,57 $\pm$ 0,02 ^c

Keterangan : a = berbeda bermakna dengan kontrol negatif hasil uji anova (sig<0,05)
b = berbeda bermakna dengan kontrol positif hasil uji anova (sig<0,05)
c = tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif hasil uji anova (sig<0,05)

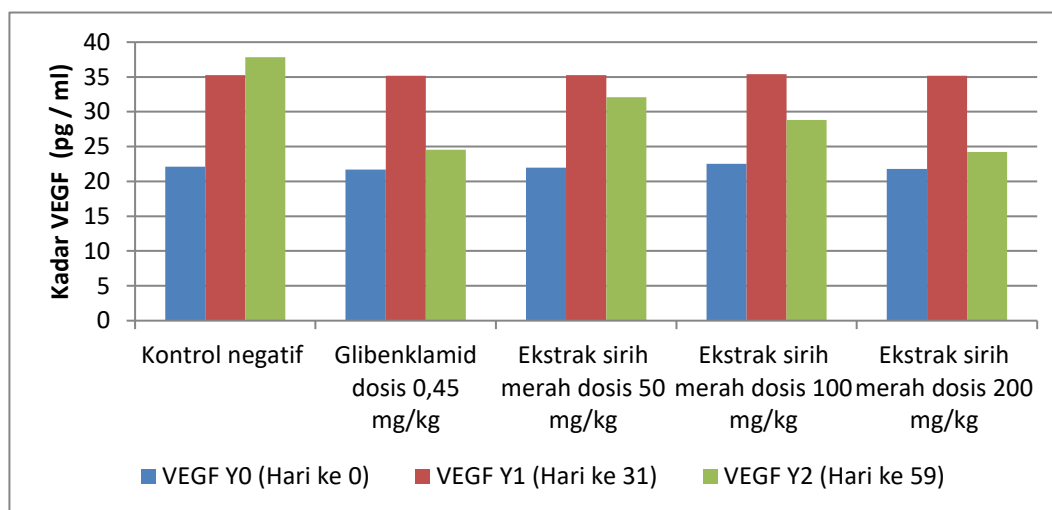
Pada kontrol negatif terjadi kenaikan kadar glukosa darah tertinggi dikarenakan oleh induksi STZ yang dapat memicu kenaikan kadar gula darah dengan menghancurkan sel β pada pulau Langerhans akibatnya tidak tercapai sekresi insulin yang mencukupi dan menyebabkan kenaikan kadar gula darah. Kondisi hiperglikemia ini dapat menyebabkan kerusakan oksidatif oleh pembentukan ROS dan menyebabkan komplikasi diabetes (Kashchenko, Chirikova and Olennikov, 2017).

Pada kontrol positif glibenklamid diketahui dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan merangsang sekresi insulin melalui penyumbatan saluran K⁺ yang sensitif terhadap ATP serta depolarisasi sel β pankreas. Glibenklamid juga memiliki mekanisme aksi yang sama selain pada pankreas yaitu pada hati, ginjal, jantung, tulang dan otot polos. Glibenklamid juga dapat mengurangi senyawa biomarker stress oksidatif dan peroksidasi lipid pada kondisi DM (Alotaibi *et al.*, 2019).

Daun sirih merah memiliki pengaruh menurunkan kadar glukosa darah tikus DM di mana terdapat senyawa seperti flavonoid pada daun sirih merah yang dapat menghambat penyerapan glukosa dengan cara meningkatkan sekresi maupun aktivitas insulin (Al-Numair

et al., 2015). Penurunan kadar glukosa darah melalui penghambatan enzim α -Glucosidase dan α -amylase merupakan salah satu aktivitas senyawa flavonoid dimana kedua enzim α -Glucosidase serta α -amylase merupakan enzim pada sistem pencernaan yang dapat menghidrolisis karbohidrat dan menghasilkan glukosa yang dapat diserap (Matos *et al.*, 2020). Alkaloid mampu mengurangi kadar glukosa darah melalui penghambatan protein tyrosine phosphatase-1B (PTP-1B) sebagai regulator negatif untuk reseptor signal insulin pada DM tipe 2 sehingga dapat meningkatkan induksi glukosa dalam sel β -TC6 dan C2C12, alkaloid juga memiliki aktivitas antioksidan yang dapat mengurangi kerusakan oksidatif sel β -TC6 (Tiong *et al.*, 2013).

Uji oneway anova dilakukan terhadap hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus diperoleh perbedaan diantara kelompok kontrol negatif terhadap kontrol positif maupun kelompok perlakuan ekstrak daun sirih merah dengan nilai signifikan ($p < 0,05$). Terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$) pada kelompok ekstrak daun sirih merah dosis 50 mg/kgBB terhadap kontrol negatif maupun kontrol positif. Untuk kelompok kontrol positif tidak terdapat perbedaan terhadap kelompok ekstrak dosis 100 mg/kgBB serta 200 mg/kgBB nilai signifikan ($p > 0,05$).



Gambar 8. Grafik Kadar VEGF Setelah Pemberian Sediaan Uji

Pada hasil uji kadar VEGF seperti pada gambar 8 diketahui terjadi kenaikan pada setiap kelompok perlakuan diinduksi STZ-NA setelah 4 minggu rata-rata kenaikan kadar VEGF hari ke 31 (Y1) sebesar 60% dari kadar VEGF awal (Y0) kenaikan VEGF ini menunjukkan adanya kondisi retinopati diabetik di mana yang merupakan faktor kondisi retinopati diabetik yaitu terjadi kenaikan ekspresi sitokin inflamasi dan kenaikan faktor pertumbuhan dari berbagai sel misalnya pada proinflamasi peptide VEGF yang merupakan salah satu penyebab retinopati diabetik yang dapat meningkatkan permeabilitas pembuluh darah dan menyebabkan edema makula diabetik (DME). VEGF memiliki peran utama pada kondisi retinopati diabetik selain itu kondisi retinopati diabetik dapat disebabkan karena inflamasi sitokin termasuk $\text{TNF-}\alpha$ dan $\text{IL-1}\beta$ keduanya berkontribusi sebagai penyebab utama pada titik akhir retinopati diabetik (Duh, Sun and Stitt, 2017).

Tabel III. Rata-Rata Kadar VEGF Plasma (n= 35)

Kelompok	Hari ke 0 (Y0) (pg/ml) ± SD	Hari ke 31 (Y1) (pg/ml) ± SD	Hari ke 59 (Y2) (pg/ml) ± SD	% kenaikan VEGF Y0 ke Y1	% penurunan VEGF Y1 ke Y2
Kontrol Negatif	22,1 ± 1,03	35,25 ± 0,75	37,82 ± 0,83	59,50	-7,29
Glibenklamid 0,45 Mg / Kg	21,68 ± 1,27	35,16 ± 0,47	24,54 ± 1,88	62,18	30,20
Ekstrak Daun Sirih Merah 50 Mg / kg	21,98 ± 0,96	35,25 ± 0,55	32,08 ± 0,5	60,37	8,99
Ekstrak Daun Sirih Merah 100 Mg / kg	22,55 ± 1,06	35,41 ± 0,41	28,84 ± 1,15	57,03	18,55
Ekstrak Daun Sirih Merah 200 Mg / kg	21,77 ± 0,89	35,19 ± 0,67	24,21 ± 1,79	61,64	31,20

Kadar VEGF plasma mengalami penurunan pada pemberian kontrol positif glibenklamid seperti yang terdapat pada tabel III, Hal ini dikarenakan glibenklamid memiliki aktivitas menurunkan regulasi ROS. Glibenklamid dapat menghambat *myeloperoxidase* dengan cara memblokir saluran membran KATP, glibenklamid juga dapat menghambat ekspresi NOS2 yang merupakan penyebab terjadinya hipotensi dan hiporeaktivitas vaskular pada vasokonstriktor dengan cara menghambat TNF- α (Zhang *et al.*, 2017).

Penurunan kadar VEGF plasma pada tikus diabetes retinopati setelah diberikan ekstrak daun sirih merah disebabkan karena beberapa kandungan senyawa kimia salah satunya yaitu flavonoid yang dapat mengatur metabolisme karbohidrat maupun lipid, memperbaiki resistensi insulin, menurunkan hiperglikemia, memperbaiki fungsi sel serta mengatur proses inflamasi yang dapat mencegah perkembangan komplikasi diabetes seperti retinopati diabetik. Senyawa flavonoid seperti kaempferol dan kuersetin diketahui memiliki aktivitas menurunkan kadar VEGF plasma. Kaempferol diketahui dapat menghambat kenaikan kadar glukosa yang diinduksi PI3 dan fosforilasi kinase spesifik (Src, Akt1 dan Erk1/2) sehingga memiliki efek sebagai antiangiogenik dengan menghambat jalur pensinyalan (Src, Akt1 dan Erk1/2). Salah satu senyawa flavonoid seperti kuersetin yang dapat menurunkan kadar VEGF dengan melemahkan apoptosis dan peradangan yang diinduksi oleh kenaikan kadar gula darah dengan menurunkan tingkat ROS, molekul pro-inflamasi, MCP-1 dan IL-6. Kuersetin juga menghambat ekspresi NF- κ B dan caspase-3 yang memiliki efek antiapoptosis, kuersetin juga mampu menurunkan regulasi protein yang berperan penting dalam neovaskularisasi, yaitu MMP-9 dan VEGF (Matos *et al.*, 2020).

Pengujian *oneway* anova terhadap hasil kadar VEGF plasma menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna diantara kelompok kontrol negatif dengan kontrol positif serta ekstrak daun sirih merah yang diperoleh signifikan ($p < 0,05$). Pada kelompok ekstrak daun sirih merah dosis 200 mg/kgBB tidak ada perbedaan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol positif akan tetapi berbeda bermakna dengan kelompok ekstrak daun sirih merah dosis 50 serta 100 mg/kgBB.

KESIMPULAN

Dosis efektif untuk menurunkan kadar glukosa darah dengan % PKGD sebesar 18,22% diperoleh pada ekstrak etanol daun sirih merah dosis 100 mg/kgBB dan dosis yang efektif untuk menurunkan kadar VEGF plasma tikus putih retinopati diabetik yaitu dosis 200 mg/kgBB dengan % penurunan VEGF plasma tikus putih retinopati diabetik sebesar 31,20%.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Numair, K. S. *et al.* (2015) 'Ameliorative effect of kaempferol, a flavonoid, on oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats', *Redox Report*, 20(5), pp. 198–209. doi: 10.1179/1351000214Y.0000000117.
- Alotaibi, M. R. *et al.* (2019) 'In vivo Assessment of Combined Effects of Glibenclamide and Losartan in Diabetic Rats', *Medical Principles and Practice*, 28(2), pp. 178–185. doi: 10.1159/000496104.
- Anggi, V. and Magfirah (2019) 'The effect hypoglycemic of ethanol extract combination red betel leaf (*Piper crocatum*) and Dayak onion (*Eleutherine palmifolia* Merr) in streptozotocin-induced', *Pharmacognosy Journal*, 11(6), pp. 1401–1405. doi: 10.5530/PJ.2019.11.216.
- Dewi, A. C., Widyastuti, N. and Probosari, E. (2020) 'Pengaruh Pemberian Tepung Sorgum (*Sorghum Bicolor* L. Moench) Terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Diabetes', *Journal of Nutrition College*, 9(1), pp. 63–70. doi: 10.14710/jnc.v9i1.24266.
- Dharmayudha, A. *et al.* (2014) 'Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) Terhadap Peningkatan Berat Badan Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Jantan Kondisi Diabetes Yang Di Induksi Aloksan', *Buletin Veteriner Udayana*, 6(2).
- Duh, E. J., Sun, J. K. and Stitt, A. W. (2017) 'Diabetic retinopathy: Current understanding, mechanisms, and treatment strategies', *JCI Insight*, 2(14), pp. 1–13. doi: 10.1172/JCI.INSIGHT.93751.
- En Yng, N. *et al.* (2021) 'The Effects of Vitamin E on Non-proliferative Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes Mellitus', *International Journal of Diabetes and Clinical Research*, 8(2). doi: 10.23937/2377-3634/1410142.
- Ghorbani, A. (2017) 'Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin', *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 96(October), pp. 305–312. doi: 10.1016/j.biopha.2017.10.001.
- Ginting, C. N. *et al.* (2021) 'Hepatotoxicity prevention in Acetaminophen-induced HepG2 cells by red betel (*Piper crocatum* Ruiz and Pav) extract from Indonesia via antioxidant, anti-inflammatory, and anti-necrotic', *Heliyon*, 7(1), p. e05620. doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e05620.
- Kashchenko, N. I., Chirikova, N. K. and Olennikov, D. N. (2017) 'Agrimoniin, an active ellagitannin from comarum palustre herb with anti- α -glucosidase and antidiabetic potential in streptozotocin-induced diabetic rats', *Molecules*, 22(1), pp. 1–16. doi: 10.3390/molecules22010073.
- Kumar, V. *et al.* (2013) 'Anti-diabetic, anti-oxidant and anti-hyperlipidemic activities of *Melastoma malabathricum* Linn. leaves in streptozotocin induced diabetic rats', *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13(1), p. 1. doi: 10.1186/1472-6882-13-222.
- Lister, I. N. E. *et al.* (2014) 'Antimicrobial activities of methanol extract of Sirih Merah (*Piper crocatum* L.) lleaf', *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(12), pp. 650–654.
- Matos, A. L. *et al.* (2020) 'The benefits of flavonoids in diabetic retinopathy', *Nutrients*, 12(10), pp. 1–29. doi: 10.3390/nu12103169.
- Mustaghfiroh, I. T. and Probosari, E. (2014) 'of of Nutrition College , Volume Nomor Tahun Halaman Nutrition College Tahun', 3(Ldl), pp. 871–879.
- Naderi, A. *et al.* (2019) 'Long term features of diabetic retinopathy in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats', *Experimental Eye Research*, 184(April), pp. 213–220. doi: 10.1016/j.exer.2019.04.025.
- Pangribowo, S. (2020) 'Infodatin-2020-Diabetes-Melitus.pdf'. Jakarta: kementerian kesehatan Ri, pp. 1–10.
- Teo, Z. L. *et al.* (2021) 'Global Prevalence of Diabetic Retinopathy and Projection of Burden through 2045: Systematic Review and Meta-analysis', *Ophthalmology*, 128(11), pp. 1580–1591. doi: 10.1016/j.ophtha.2021.04.027.

- Tiong, S. H. *et al.* (2013) 'Antidiabetic and antioxidant properties of alkaloids from *Catharanthus roseus* (L.) G. Don', *Molecules*, 18(8), pp. 9770–9784. doi: 10.3390/molecules18089770.
- Türkan, F., Taslimi, P. and Saltan, F. Z. (2019) 'Tannic acid as a natural antioxidant compound: Discovery of a potent metabolic enzyme inhibitor for a new therapeutic approach in diabetes and Alzheimer's disease', *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 33(8), pp. 1–6. doi: 10.1002/jbt.22340.
- Wang, W. and Lo, A. C. Y. (2018) 'Diabetic retinopathy: Pathophysiology and treatments', *International Journal of Molecular Sciences*, 19(6). doi: 10.3390/ijms19061816.
- Zhang, G. *et al.* (2017) 'A Protective Role of Glibenclamide in Inflammation-Associated Injury', *Mediators of Inflammation*, 2017. doi: 10.1155/2017/3578702.