

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus merupakan penyakit kronis pada sistem endokrin yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah secara terus-menerus (hiperglikemia). Kondisi ini terjadi akibat kerusakan sel β pankreas yang menyebabkan penurunan sekresi insulin, penurunan efektivitas insulin, atau kombinasi keduanya (Szablewski, 2025; Tully et al., 2025). Prevalensi diabetes melitus terus meningkat secara global, dengan jumlah kasus melebihi 536 juta pada tahun 2021 dan diproyeksikan meningkat menjadi lebih dari 783 juta pada tahun 2045 (Szablewski, 2025). Diabetes melitus tipe 2 (DMT2) mencakup sekitar 90% dari seluruh kasus diabetes dan umumnya terjadi pada orang dewasa. Komplikasi diabetes melitus meliputi komplikasi makrovaskular seperti penyakit kardiovaskular, stroke, dan penyakit arteri perifer, serta komplikasi mikrovaskular seperti retinopati, neuropati, dan nefropati. Diabetes melitus yang tidak ditangani dengan baik dapat menyebabkan komplikasi serius (Kunina et al., 2025; Tully et al., 2025).

Nefropati diabetik merupakan salah satu komplikasi yang menjadi penyebab utama penyakit ginjal tahap akhir (end-stage renal disease/ESRD) di seluruh dunia, di mana lebih dari 40–50% pasien diabetes melitus mengalami komplikasi ini. Kondisi ini ditandai dengan penurunan fungsi ginjal secara progresif. Faktor utama yang menyebabkan nefropati diabetik meliputi hiperglikemia kronis, akumulasi advanced glycation end products (AGEs), stres oksidatif, serta peningkatan produksi sitokin inflamasi. Hiperglikemia yang berlangsung lama akan memicu pembentukan berlebih reactive oxygen species (ROS), yang menyebabkan peroksidasi lipid dan berujung pada kematian sel ginjal. Selain itu, hiperglikemia juga mengaktifasi sistem imun untuk menghasilkan dan mendistribusikan sitokin inflamasi ke ginjal, sehingga memperburuk kondisi inflamasi. Hiperglikemia juga merangsang produksi faktor pertumbuhan dan faktor transkripsi yang berkontribusi terhadap inflamasi kronis, fibrosis ginjal, apoptosis, dan hipertrofi ginjal (Joumaa et al., 2025; Omiyale et al., 2025).

Oleh karena itu, pengelolaan diabetes sangat diperlukan, dimulai dari perubahan gaya hidup seperti olahraga teratur, berhenti merokok, membatasi konsumsi alkohol, serta menjaga pola makan sehat, hingga penggunaan obat konvensional maupun herbal untuk mengontrol kadar gula darah dan mengurangi komplikasi serius akibat diabetes (Li et al., 2025). Obat herbal merupakan berbagai sediaan yang berasal dari tanaman yang umum digunakan untuk pengobatan. Penggunaan obat herbal saat ini semakin populer karena harganya yang relatif terjangkau dan efek samping yang lebih minimal dibandingkan obat konvensional. Namun demikian, penelitian lebih lanjut masih diperlukan untuk memastikan efektivitasnya sehingga dapat mendukung penggunaannya di masyarakat (Thikekar et al., 2025).

Ochna integerrima (Lour.) Merr. merupakan tanaman dari famili Ochnaceae yang terdiri dari lebih dari 80 spesies yang tersebar di wilayah tropis Asia, Afrika, dan Amerika. Tanaman ini tumbuh liar di daerah pegunungan dan tergolong sebagai pohon kecil dengan tinggi rata-rata lebih dari satu meter pada usia lima tahun.

Tanaman ini juga menghasilkan bunga yang sangat indah dan menarik. Di Vietnam, tanaman ini banyak ditemukan di wilayah selatan dan tengah, serta dikategorikan sebagai spesies langka dan terancam punah karena tingginya permintaan untuk budidaya dan perdagangan, terutama pada perayaan Tahun Baru Imlek (Nguyen et al., 2024; Seephonkai et al., 2021). Berdasarkan penelitian oleh Nguyen et al. (2025), ekstrak bunga *Ochna integerrima* mengandung kadar tanin dan proantosianidin yang tinggi serta menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Temuan ini juga didukung oleh penelitian lain yang dilakukan oleh Buranasudja et al. (2022) dan Huynh et al. (2022). Selain itu, ekstrak bunga *Ochna integerrima* juga memiliki aktivitas antiinflamasi (Nguyen et al., 2025), kemampuan menghambat enzim α -glukosidase dan α -amilase (Bui et al., 2025; Huynh et al., 2022), serta efek protektif terhadap stres oksidatif (Buranasudja et al., 2022). Oleh karena itu, bunga *Ochna integerrima* memiliki potensi besar sebagai terapi alami dalam pengelolaan diabetes melitus beserta komplikasinya, termasuk nefropati diabetik.

Dalam pengembangan terapi berbasis tanaman untuk diabetes dan nefropati, studi praklinis menggunakan model hewan yang sesuai sangat diperlukan. Streptozotosin, yang secara kimia dikenal sebagai N-(methylnitrosocarbamoyl)- α -D-glukosamin, merupakan senyawa nitrosourea yang diisolasi dari bakteri *Streptomyces achromogenes* dan saat ini широко digunakan untuk membentuk model hewan diabetes melitus (Ghasemi dan Jeddi, 2023). Pemberian streptozotosin pada tikus menyebabkan nekrosis oksidatif selektif pada sel β pankreas, yang memicu hipoinsulinemia, hiperglikemia, serta kerusakan organ, dan menimbulkan gejala klinis yang menyerupai manusia, seperti polifagia, poliuria, polidipsia, dan penurunan berat badan. Streptozotosin juga dapat menyebabkan disfungsi ginjal yang ditandai dengan penurunan laju filtrasi glomerulus (GFR), klirens kreatinin, dan volume urin, serta memicu uremia, albuminuria, glomerulosklerosis, nekrosis tubular, dan apoptosis, yang dapat memperburuk komplikasi diabetes melitus (Wahono et al., 2023).

Berdasarkan potensi ekstrak bunga *Ochna integerrima* (Lour.) Merr. sebagai terapi alami untuk diabetes melitus dan komplikasi nefropatinya, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk memperoleh bukti ilmiah yang lebih kuat. Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan dapat menjadi langkah awal dalam pengembangan terapi alami yang aman, efektif, dan terjangkau..

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah ekstrak metanol bunga *Ochna integerrima* dapat menurunkan hiperglikemia pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotosin?
- b. Apakah ekstrak metanol bunga *Ochna integerrima* memiliki efek renoprotektif pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotosin?
- c. Apakah ekstrak metanol bunga *Ochna integerrima* dapat memperbaiki perubahan histopatologi ginjal dan pankreas pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotosin?

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Mengevaluasi efek hipoglikemik ekstrak metanol bunga *Ochna integerrima* pada tikus yang diinduksi streptozotosin.

- b. Menentukan efek renoprotektif ekstrak metanol bunga *Ochna integerrima* pada tikus yang diinduksi streptozotosin melalui analisis biomarker fungsi ginjal.
- c. Mengkaji efek ekstrak metanol bunga *Ochna integerrima* terhadap perubahan histopatologi ginjal dan pankreas pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotosin.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini merupakan studi in vivo pertama yang mengkaji potensi antidiabetik dan renoprotektif ekstrak metanol bunga *Ochna integerrima*. Penelitian ini memberikan bukti ilmiah yang mendukung potensi ekstrak tersebut sebagai agen terapeutik alami yang efektif, aman, dan terjangkau dalam pengelolaan diabetes melitus serta komplikasi ginjalnya. Hasil penelitian ini diharapkan dapat berkontribusi dalam pengembangan terapi berbasis tanaman serta menjadi dasar bagi strategi alternatif dalam penanganan diabetes dan pencegahan komplikasinya.

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Tempat dan Waktu

Laboratorium Fakultas Farmasi, Universitas Ton Duc Thang dan Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

2.2 Bahan dan Alat

2.2.1 Alat : neraca elektronik, spuit, aluminium foil, vial, tabung Eppendorf, vacutainer, tabung kapiler, sentrifus, pH meter, freezer (-20°C), glukometer, Humalyzer 3500, gunting bedah, pisau bedah (scalpel), pinset, mortir dan alu.

2.2.2 Materials: bunga *Ochna integerrima*, streptozotosin, metformin, asam sitrat, natrium sitrat, air suling, tikus jantan, pakan standar, air minum, dietil eter, formalin 10%, pewarna hematoksin-eosin (H&E), NaCl 0,9%.

2.3 Metode Ekstraksi

Ekstrak metanol bunga *Ochna integerrima* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Fakultas Farmasi, Universitas Ton Duc Thang. Proses ekstraksi diawali dengan pengumpulan bunga segar *Ochna integerrima* sebanyak 6,5 kg yang dikumpulkan dari Kota Tra Vinh, Vietnam, pada Januari 2024 (Lintang: 9°53'38,2" LU; Bujur: 106°25'28,8" BT; Ketinggian: 8,0 m). Bahan tanaman diidentifikasi oleh Dr. Van Son Dang, seorang ahli botani. Spesimen voucher (TV-OIF) disimpan di Fakultas Farmasi, Universitas Ton Duc Thang, Vietnam.

Sebanyak 6,5 kg bunga segar dikeringkan selama dua minggu dengan menghindari paparan sinar matahari langsung, sehingga diperoleh 0,96 kg bunga kering. Selanjutnya, bahan tersebut diekstraksi menggunakan metanol (MeOH) sebanyak 6 L sebanyak tiga kali, dengan perendaman semalaman pada suhu ruang. Pelarut kemudian diuapkan pada tekanan rendah pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak metanol sebanyak 75,5 g.

2.4 Evaluasi Antidiabetik secara In Vivo

2.4.1 Pembuatan Dapar Sitrat 0,1 M

Pembuatan buffer sitrat dilakukan berdasarkan metode yang dijelaskan oleh Zeng et al. (2024) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 2,1 g serbuk asam sitrat dan 2,94 g serbuk natrium sitrat ditimbang. Masing-masing serbuk dilarutkan secara terpisah dalam 50 mL air suling, kemudian dicampurkan dengan perbandingan 1:1. pH larutan disesuaikan menjadi 4,5 menggunakan pH meter, kemudian disimpan pada suhu 4°C.

2.4.2 Penyiapan Streptozotosin

Larutan streptozotosin disiapkan mengikuti metode Zeng et al. (2024) dan Ghasemi & Jeddi (2023) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 13 mg serbuk streptozotosin ditimbang dan dimasukkan ke dalam vial yang dibungkus aluminium foil, kemudian dilarutkan dalam 1 mL buffer sitrat 0,1 M dingin (pH 4,5). Campuran kemudian dihomogenkan (vortex) dan segera disimpan pada suhu 4°C dalam kondisi gelap untuk mencapai keseimbangan anomerik, sehingga menghasilkan hasil yang lebih konsisten serta menurunkan tingkat mortalitas hewan uji.

2.4.3 Hewan Uji

Sebanyak 25 ekor tikus jantan berumur 8–10 minggu dengan berat badan 250–350 gram dipelihara di Animal House Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin.

Sebelum penelitian dimulai, seluruh tikus menjalani masa aklimatisasi selama 7 hari dalam kondisi laboratorium terkontrol dengan suhu $24^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, kelembaban $55\% \pm 5\%$, serta siklus terang/gelap 12 jam. Tikus diberikan akses bebas terhadap air minum dan pakan standar (Tozcu et al., 2025). Setelah masa aklimatisasi, tikus dibagi secara acak menjadi lima kelompok, masing-masing terdiri dari lima ekor tikus:

- **Kelompok normal:** Tikus diberikan satu kali injeksi intraperitoneal (i.p.) buffer sitrat 0,1 M dingin (pH 4,5).
- **Kelompok diabetes:** Tikus diinduksi dengan streptozotosin melalui injeksi intraperitoneal (i.p.) dengan dosis 65 mg/kg dalam buffer sitrat 0,1 M dingin (pH 4,5).
- **Kelompok OI 50 mg/kg:** Tikus diinduksi streptozotosin, kemudian diberikan ekstrak metanol bunga *Ochna integerrima* dosis 50 mg/kg secara oral sekali sehari selama 28 hari.
- **Kelompok OI 150 mg/kg:** Tikus diinduksi streptozotosin, kemudian diberikan ekstrak metanol bunga *Ochna integerrima* dosis 150 mg/kg secara oral sekali sehari selama 28 hari.
- **Kelompok metformin:** Tikus diinduksi streptozotosin, kemudian diberikan metformin dosis 100 mg/kg sebagai obat standar secara oral sekali sehari selama 28 hari.

Pemberian glukosa 5% secara oral setelah injeksi streptozotosin dilakukan untuk mencegah hipoglikemia akibat kerusakan sel β pankreas dan lonjakan kadar insulin secara tiba-tiba, sehingga dapat mencegah kematian mendadak pada tikus (Ghasemi dan Jeddi, 2023). Dosis metformin pada tikus ditentukan berdasarkan konversi dari Human Equivalent Dose (HED) yaitu 16,67 mg/kg. Dengan mempertimbangkan faktor konversi spesies (K_m) dari manusia ke tikus, diperoleh dosis metformin sebesar 100 mg/kg/hari (Nair dan Jacob, 2016).

2.5 Parameter Pengamatan

2.5.1 Pengukuran Berat Badan

Berat badan tikus diukur berdasarkan metode yang dijelaskan oleh Asdaq et al. (2024) dengan sedikit modifikasi. Pengukuran dilakukan pada hari ke-0 (sebelum induksi STZ), hari ke-3 (setelah induksi STZ), hari ke-14, dan hari ke-29. Seluruh pengukuran dilakukan pada pagi hari untuk memperoleh data yang lebih konsisten (Firouzeh et al., 2024).

2.5.2 Pengukuran Glukosa Darah Puasa (GDP)

Kadar glukosa darah puasa tikus diukur sesuai prosedur yang dijelaskan oleh Asdaq et al. (2024) dengan sedikit modifikasi. Sampel darah diambil dari vena lateral ekor. Pengukuran dilakukan pada hari ke-0 (sebelum induksi STZ), kemudian pada hari ke-3 setelah induksi STZ dilakukan pengukuran kembali. Tikus dengan kadar glukosa darah puasa ≥ 250 mg/dL

diklasifikasikan sebagai tikus diabetes. Pengukuran selanjutnya dilakukan pada hari ke-14 dan ke-29 untuk memantau perubahan kadar glukosa darah puasa. Semua pengukuran dilakukan pada pagi hari menggunakan glukometer untuk memastikan konsistensi (Firouzeh et al., 2024).

2.5.3 Pemeriksaan Biomarker Fungsi Ginjal (Kreatinin dan Urea)

Sampel darah diambil dari pleksus retro-orbital menggunakan tabung kapiler pada hari ke-0 dan hari ke-29, mengikuti metode Aboismaiel et al. (2024) dengan sedikit modifikasi. Sampel darah kemudian disentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan serum dari plasma. Serum yang diperoleh disimpan pada suhu -20°C dan digunakan untuk pengukuran kadar kreatinin dan urea.

2.5.4 Indeks Organ Ginjal dan Pankreas

Pada akhir penelitian, ginjal dan pankreas tikus yang telah dianestesi diambil dan dibilas dengan larutan saline dingin. Berat ginjal dan pankreas diukur menggunakan neraca elektronik, kemudian perubahan berat organ dihitung dengan rumus (Aziz et al., 2024):

$$\% \text{ Indeks organ} = \frac{\text{berat organ (g)}}{\text{berat badan (g)}} \times 100$$

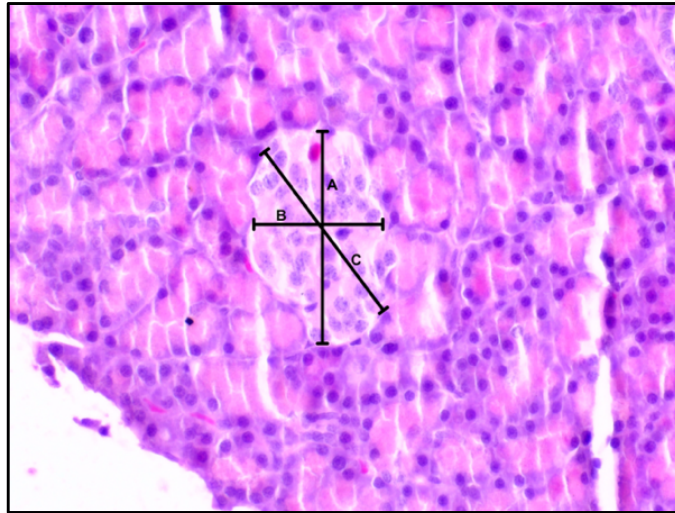
2.5.5 Pemeriksaan Histopatologi Jaringan Ginjal dan Pankreas

Ginjal dan pankreas yang telah dibersihkan dengan larutan saline dingin difiksasi dalam formalin 10% selama 48 jam untuk mempertahankan struktur jaringan. Selanjutnya, jaringan mengalami proses dehidrasi menggunakan etanol dengan konsentrasi bertingkat untuk menghilangkan kandungan air. Untuk menghilangkan lemak, jaringan dijernihkan menggunakan xilena, kemudian ditanam dalam parafin dan dipotong setebal 4 µm menggunakan mikrotom. Preparat jaringan kemudian diwarnai dengan hematoksilin-eosin (H&E), di mana hematoksilin mewarnai inti sel menjadi biru atau ungu, sedangkan eosin mewarnai sitoplasma dan struktur lainnya menjadi merah muda. Prosedur pewarnaan ini memudahkan analisis histopatologi jaringan ginjal dan pankreas menggunakan mikroskop cahaya (Aziz et al., 2024; Djabir et al., 2021).

Kerusakan ginjal dievaluasi menggunakan sistem skoring lima kategori, dimulai dari skor 0 yang menunjukkan tidak adanya perubahan histopatologi atau kerusakan. Skor 1 menunjukkan kerusakan ringan dengan perubahan minimal yang melibatkan kurang dari 25% area ginjal. Skor 2 menunjukkan kerusakan sedang dengan keterlibatan 25–50% jaringan ginjal. Skor 3 menunjukkan kerusakan sedang hingga berat dengan keterlibatan lebih dari 50% jaringan ginjal, sedangkan skor 4 menunjukkan kerusakan berat dengan lebih dari 75% jaringan ginjal mengalami kerusakan. Evaluasi kerusakan ginjal meliputi penilaian penebalan membran basal, iskemia glomerulus, hialinosis glomerulus dan arteriola, glomerulosklerosis interkapiler, infiltrasi inflamasi, serta perubahan tubular seperti akumulasi protein, nekrosis, atrofi, dan hipertrofi (Aziz et al., 2024; Wu et al., 2023).

Analisis histomorfometri pankreas dilakukan berdasarkan metode Djabir et al. (2021) dengan sedikit modifikasi. Jumlah pulau Langerhans (N) dihitung

pada pembesaran 10×, sedangkan diameter pulau dihitung menggunakan rumus: $D = \frac{(A+B+C)}{3}$ (Gambar 1). Rata-rata diameter diperoleh dari lima pulau Langerhans per tikus, termasuk pulau terbesar dan terkecil yang diamati pada pembesaran 40×. Luas pulau kemudian dihitung menggunakan rumus $A = \pi(D/2)^2$, dengan asumsi bentuk pulau mendekati bulat. Evaluasi histopatologi ginjal dan pankreas dilakukan oleh dua pengamat untuk menghindari bias.



Gambar 1. Pengukuran diameter pulau langerhans pada pankreas.

2.6 Analisis Statistik

Data numerik yang diperoleh dianalisis menggunakan uji Shapiro-Wilk dengan perangkat lunak GraphPad Prism 10.5.0 untuk menilai normalitas data. Data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$) disajikan dalam bentuk rerata $\pm$ standar deviasi (SD) dan dianalisis menggunakan uji one-way ANOVA, kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey apabila ditemukan perbedaan yang signifikan.