

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolik kronis yang ditandai dengan hiperglikemia (kadar glukosa darah tinggi) akibat gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Pada tahun 2021, dilaporkan sebanyak 537 juta orang dewasa berusia 20–79 tahun menderita diabetes, dan jumlah ini diproyeksikan meningkat menjadi 643 juta pada tahun 2030 serta 784 juta pada tahun 2045 (Pelle et al., 2022). Indonesia menempati peringkat kelima sebagai negara dengan jumlah penderita diabetes terbanyak pada tahun 2021, dengan 19,5 juta kasus. Angka ini diperkirakan akan meningkat menjadi 28,6 juta pada tahun 2045. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) tahun 2021, prevalensi diabetes melitus tipe 2 pada individu berusia di atas 60 tahun diperkirakan berkisar antara 15% hingga 20% (Siregar et al., 2025).

DM menjadi perhatian serius karena sifatnya yang progresif, yang apabila tidak ditangani dengan baik dapat menyebabkan kerusakan organ multisistem, disfungsi, hingga kegagalan organ, terutama pada mata, saraf perifer, ekstremitas bawah, ginjal, dan sistem kardiovaskular (Li et al., 2025). Salah satu komplikasi mikrovaskular yang paling umum pada diabetes melitus tipe 1 (T1DM) maupun tipe 2 (T2DM) adalah nefropati diabetik, yang ditandai dengan hiperglikemia persisten, penurunan laju filtrasi glomerulus estimasi (estimated glomerular filtration rate/eGFR) hingga < 60 mL/menit/1,73 m², dan/atau peningkatan ekskresi albumin dengan rasio albumin terhadap kreatinin (albumin-to-creatinine ratio/ACR) > 30 mg/g (Al-azzawi, 2025; Parvathy et al., 2024). Diperkirakan sekitar 50% individu dengan T2DM dan 30% dengan T1DM akan mengalami nefropati sepanjang hidupnya (Qiu et al., 2025). Selain itu, risiko terjadinya albuminuria sedang mendekati 100% pada pasien T2DM yang didiagnosis pada usia 15–24 tahun (Habli, 2024).

Indonesia sebagai negara kepulauan memiliki sekitar 70% wilayah berupa lautan, sehingga menyimpan potensi sumber daya laut yang sangat besar, khususnya di bidang farmasi. Senyawa bioaktif yang berasal dari laut umumnya memiliki kompleksitas molekul yang tinggi, gugus fungsi yang unik, serta stereokimia yang khas, sehingga berpotensi besar dalam penemuan obat dan aplikasi medis (Wulandari et al., 2020). Di antara invertebrata laut, teripang memiliki nilai tinggi di Asia, baik sebagai bahan pangan maupun sebagai bahan obat tradisional, dengan sekitar 1.400 spesies yang telah diidentifikasi (Pulga & Orale, 2022; Wodi et al., 2024). Salah satu spesies yang banyak diteliti adalah teripang pasir (*Holothuria scabra*), yang tersebar luas di wilayah tropis Pasifik dan hidup di substrat pesisir berlumpur dan berpasir. Spesies ini umumnya memakan bahan organik seperti protozoa, diatom, dan detritus (Gustini et al., 2023; Pulga & Orale, 2022).

Selain nilai nutrisinya, *H. scabra* telah banyak diteliti karena aktivitas farmakologisnya yang berasal dari berbagai senyawa bioaktif seperti fenol, kuersetin, saponin, tanin, dan flavonoid (Hossain et al., 2022). Selain itu, beberapa senyawa spesifik seperti bivitoside, echinoside A, frondoside A, holothurin B, dan magnumosides dilaporkan memiliki efek antiinflamasi dan antioksidan (Anugrah et al., 2025; Wargasetia et al., 2023). Dengan sifat antioksidan dan antiinflamasi yang kuat, *H. scabra* berpotensi

sebagai agen nefroprotektif pada nefropati diabetik. Stres oksidatif dan inflamasi diketahui sebagai faktor utama dalam progresi nefropati diabetik. Kadar glukosa yang tinggi memicu produksi berlebih spesies oksigen reaktif (reactive oxygen species/ROS), yang menyebabkan disfungsi mitokondria, peroksidasi lipid, oksidasi protein, serta kerusakan DNA (Singh et al., 2024). Kondisi oksidatif dan inflamasi yang berkepanjangan ini berkontribusi terhadap disfungsi endotel, hipertrofi glomerulus, dan fibrosis, yang pada akhirnya dapat menyebabkan gagal ginjal (Aboolian et al., 2025).

Mengingat senyawa bioaktif dalam *H. scabra* memiliki potensi dalam mengurangi kerusakan oksidatif dan inflamasi, maka senyawa tersebut berpotensi membantu mempertahankan fungsi dan struktur ginjal pada kondisi diabetes. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak etanol *H. scabra* dalam mencegah nefropati diabetik menggunakan model tikus diabetes yang diinduksi streptozotosin. Metode ekstraksi menggunakan etanol dipilih karena pertimbangan keamanan untuk konsumsi serta kemampuannya dalam mengekstraksi berbagai komponen bioaktif. Etanol dikenal efektif dalam mengekstraksi saponin, flavonoid, dan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi yang kuat (Oro et al., 2025). Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan wawasan ilmiah mengenai potensi nefroprotektif *H. scabra* serta peluang pengembangannya dalam aplikasi klinis di masa depan.

1.2 Rumusan Masalah

- a. Apakah ekstrak etanol *H. scabra* dapat memperbaiki kontrol metabolik pada tikus diabetes, yang ditunjukkan melalui penurunan kadar glukosa darah dan perbaikan berat badan?
- b. Apakah pemberian ekstrak etanol *H. scabra* dapat mencegah kerusakan sel β pankreas pada tikus yang diinduksi streptozotosin?
- c. Apakah pemberian ekstrak etanol *H. scabra* dapat mencegah perubahan histopatologi pada ginjal tikus yang diinduksi streptozotosin?

1.3 Tujuan Penelitian

- a. Untuk mengetahui apakah ekstrak etanol *H. scabra* dapat memperbaiki kontrol metabolik pada tikus diabetes, yang ditunjukkan melalui penurunan kadar glukosa darah dan perbaikan berat badan.
- b. Untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak etanol *H. scabra* dapat mencegah kerusakan sel β pankreas pada tikus yang diinduksi streptozotosin.
- c. Untuk mengetahui apakah pemberian ekstrak etanol *H. scabra* dapat mencegah perubahan histopatologi pada ginjal tikus yang diinduksi streptozotosin.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini berkontribusi dalam mengisi kesenjangan pengetahuan ilmiah dengan mengeksplorasi peran *H. scabra* sebagai agen potensial yang bersifat protektif terhadap nefropati diabetik. Dengan menawarkan alternatif yang lebih efektif dan berkelanjutan dalam pengelolaan komplikasi diabetes, penelitian ini mendukung kebutuhan yang terus meningkat terhadap terapi nefropati.

BAB II METODE PENELITIAN

2.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi serta Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin di Indonesia, serta Laboratorium Farmasi, Ton Duc Thang University di Vietnam pada bulan Maret hingga Oktober 2025.

2.2 Peralatan dan Bahan

2.2.1 Peralatan

Toples kaca, batang pengaduk, rotary evaporator, aluminium foil, kapas, spuit, tabung tanpa antikoagulan (plain tube), Humalyzer 3500, gelas beker, kertas saring Whatman No. 1, timbangan analitik, kit diagnostik kreatinin, labu ukur, cawan porselen, dan pipet.

2.2.2 Bahan

Teripang pasir (*Holothuria scabra*), akuades, buffer sitrat 0,1 M (pH 4,5), NaCl 0,9%, formalin 10%, glukosa 5%, natrium karboksimetil selulosa (Na-CMC) 1%, etanol 96%, metformin, dan streptozotisin.

2.3 Metode

2.3.1 Ekstrak *Holothuria scabra*

H. scabra diperoleh dari Pusat Pendidikan Lingkungan Hidup Putondo, Kabupaten Takalar, Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia, berdasarkan penelitian sebelumnya oleh Octiara et al. (2025) dan Rasyid et al. (2023) dengan beberapa modifikasi. Identifikasi spesies dilakukan di Laboratorium Zoologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Setelah dikumpulkan, sampel dicuci hingga bersih dan bagian isi perutnya dibuang. Teripang yang telah dibersihkan kemudian dipotong menjadi bagian-bagian kecil. *H. scabra* segar dimaserasi menggunakan 1000 mL etanol 96% selama tiga hari, dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Hasil maserasi kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 dan dikonsentrasikan menggunakan rotary evaporator pada suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak tersebut kemudian disimpan dalam desikator untuk menghilangkan sisa pelarut.

2.3.2 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi golongan utama metabolit sekunder dalam ekstrak. Flavonoid diuji dengan menambahkan magnesium dan HCl pekat ke dalam 3 mL ekstrak, di mana perubahan warna menjadi kuning hingga merah menunjukkan hasil positif (Alqethami & Aldhebiani, 2021; Godlewska et al., 2023; Maheshwaran et al., 2024). Tanin dideteksi menggunakan FeCl₃ 5%, dengan terbentuknya warna hijau kehitaman yang mengonfirmasi keberadaannya (Godlewska et al., 2023). Saponin diidentifikasi dengan cara mengocok kuat ekstrak dengan air, dan terbentuknya busa stabil setinggi 1–10 cm yang bertahan selama 15–60 menit menunjukkan hasil positif (Alqethami & Aldhebiani, 2021).

Triterpenoid/steroid dianalisis dengan menambahkan kloroform, asam asetat, dan H_2SO_4 ke dalam ekstrak, di mana perubahan warna menjadi ungu, hijau, atau biru menunjukkan hasil positif. Metode Carr–Price menggunakan SbCl_3 dalam kloroform juga digunakan sebagai konfirmasi (Godlewska et al., 2023; Maheshwaran et al., 2024; Traore et al., 2015). Selain itu, pengujian triterpenoid/steroid dengan metode Carr–Price dilakukan dengan menambahkan larutan antimon triklorida (SbCl_3) dalam kloroform ke dalam ekstrak.

Pengujian glikosida jantung dilakukan menggunakan metode Keller–Killiani dengan menambahkan campuran 2 mL asam asetat glasial, 1 tetes FeCl_3 , dan 1 mL H_2SO_4 ke dalam 5 mL ekstrak. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya cincin cokelat atau cincin ungu di bawah cincin cokelat. Metode Legal dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam piridin, kemudian menambahkan beberapa tetes larutan natrium nitroprusida dan natrium hidroksida (NaOH). Munculnya warna merah muda atau merah menunjukkan hasil positif glikosida. Pengujian glikosida jantung juga dapat dilakukan dengan metode Baljet, yaitu dengan menambahkan beberapa tetes reagen Baljet (campuran 95 mL asam pikrat 1% dengan 5 mL natrium hidroksida 10%) ke dalam ekstrak. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya warna jingga atau jingga kemerahan.

Uji alkaloid dilakukan dengan menambahkan masing-masing tiga tetes pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff ke dalam 2 mL ekstrak. Terbentuknya endapan kuning kecokelatan (Mayer), cokelat kemerahan (Wagner), serta cokelat atau kekuningan (Dragendorff) menunjukkan hasil positif (Maheshwaran et al., 2024).

2.3.3 Uji Antidiabetik Secara In Vivo

- Preparasi Larutan Streptozotosin

Preparasi larutan streptozotosin dilakukan berdasarkan metode dari penelitian sebelumnya oleh Ghasemi & Jeddi (2023) dan Yang et al. (2025) dengan beberapa modifikasi. Secara singkat, streptozotosin dimasukkan ke dalam tabung yang dibungkus aluminium foil untuk melindunginya dari cahaya, kemudian dilarutkan dalam buffer sitrat dingin 0,1 M pH 4,5 dan dihomogenkan menggunakan vortex. Larutan yang telah disiapkan segera diinjeksi ke hewan uji.

- Model Hewan

Penentuan jumlah sampel dilakukan menggunakan rumus Federer $(n - 1)(t - 1) \geq 15$, di mana (t) merupakan jumlah kelompok dan (n) merupakan jumlah hewan uji per kelompok. Perhitungannya adalah sebagai berikut (Yoon et al., 2023):

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(5-1) \geq 15$$

$$(n-1)(4) \geq 15$$

$$(n-1) \geq \frac{15}{4}$$

$$(n-1) \geq 3,75$$

$$n \geq 4,75 \rightarrow 5$$

- Kelompok Perlakuan
 - a. Kelompok 1 (Kontrol Normal): Tikus diberikan pakan standar dan natrium karboksimetil selulosa (Na-CMC) 1% secara oral.
 - b. elompok 2 (Kontrol Negatif): Tikus menerima injeksi streptozotosin 55 mg/kg secara intraperitoneal.
 - c. Kelompok 3 (Perlakuan Ekstrak): Tikus menerima injeksi streptozotosin (55 mg/kg), kemudian diberikan ekstrak *H. scabra* (200 mg/kg/hari) selama 28 hari.
 - d. Kelompok 4 (Perlakuan Ekstrak): Tikus menerima injeksi streptozotosin (55 mg/kg), kemudian diberikan ekstrak *H. scabra* (400 mg/kg/hari) selama 28 hari.
 - e. Kelompok 5 (Kontrol Positif): Tikus menerima injeksi streptozotosin 55 mg/kg, kemudian diberikan metformin 100 mg/kg/hari secara oral selama 28 hari.

Larutan glukosa 5% diberikan selama 24 jam untuk mencegah tikus mengalami hipoglikemia berat (Ghasemi & Jeddi, 2023).

2.3.4 Pengukuran Berat Badan dan Glukosa Darah Puasa

Pengukuran berat badan tikus dan kadar glukosa darah puasa (GDP) dilakukan berdasarkan metode Esawie et al. (2025) dan Mitra et al. (2024) dengan beberapa modifikasi. Berat badan dan kadar glukosa darah puasa diukur pada hari ke-0 (sebelum injeksi STZ) dan pada hari ke-3 setelah injeksi STZ. Tikus dengan nilai GDP lebih dari 250 mg/dL dinyatakan sebagai diabetes. Pengukuran berat badan dan kadar glukosa darah puasa selama periode perlakuan dilakukan pada hari ke-14 dan hari ke-29 untuk mengamati perubahan kadar glukosa darah dan berat badan.

2.3.5 Pengukuran Biomarker Fungsi Ginjal

Tikus dianestesi menggunakan dietil eter, kemudian serum diambil melalui pleksus retroorbital pada hari ke-0, ke-3, dan ke-29. Sampel darah disimpan dalam tabung tanpa antikoagulan (plain tube), kemudian disentrifugasi pada 4000 rpm selama 15 menit. Serum yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk mengukur kadar kreatinin dan urea menggunakan kit diagnostik Liquicolor urea dan kreatinin. Analisis absorbansi dilakukan menggunakan Humalyzer 3500 (Human Diagnostics) (Fiqardina et al., 2022).

2.3.6 Histopatologi

Ginjal dan pankreas diambil dan dicuci menggunakan NaCl 0,9%, kemudian indeks organ dihitung berdasarkan rumus (Aziz et al., 2024):

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

Selanjutnya, organ difiksasi menggunakan formalin 10%, kemudian dipotong dengan ketebalan 0,5–1 cm untuk memperoleh preparat ginjal dan pankreas. Setelah melalui proses pengolahan jaringan, preparat ditempatkan dalam cetakan yang berisi parafin. Blok parafin kemudian dipotong menggunakan mikrotom dengan ketebalan 3–4 µm, lalu diwarnai

menggunakan hematoksin dan eosin. Jaringan ginjal dan pankreas diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 10x dan 40x.

Derajat kerusakan ginjal pada tikus dinilai secara independen dengan menjumlahkan skor dari lima indikator histopatologi, yaitu: 0 = normal; 1 = <25%; 2 = 25–50%; 3 = 50–75%; dan 4 = >75%. Nekrosis tubular ditandai dengan pembengkakan sitoplasma, vakuolisasi, piknosis atau karioreksis inti, serta adanya debris seluler di dalam lumen tubulus. Inflamasi interstisial diidentifikasi melalui infiltrasi sel inflamasi, terutama limfosit, pada area interstisial. Sklerosis glomerulus ditentukan berdasarkan adanya oklusi lumen kapiler, ekspansi mesangial, penyusutan glomerulus, atau hialinisasi. Skor total cedera ginjal dihitung sebagai jumlah dari seluruh skor parameter individu (Fiqardina et al., 2022; Simovic et al., 2023).

Analisis histomorfometri pankreas dilakukan mengikuti metode Djabir et al. (2021) dengan beberapa modifikasi. Jumlah pulau Langerhans pankreas (N) dihitung pada perbesaran 10×, dan diameter pulau dihitung menggunakan $D = \frac{(A+B+C)}{3}$, di mana A, B, dan C masing-masing merepresentasikan sumbu vertikal, horizontal, dan diagonal dari pulau tersebut. Diameter rata-rata diperoleh dari lima pulau pankreas pada setiap tikus, termasuk pulau terbesar dan terkecil yang diamati pada perbesaran 40×. Luas pulau kemudian dihitung menggunakan rumus $A = \pi(D/2)^2$ dengan asumsi bahwa bentuknya menyerupai bola.

Evaluasi histopatologi ginjal dan pankreas dilakukan oleh dua pengamat untuk menghindari bias.

2.4 Statistika Analisis

Data numerik terlebih dahulu diuji normalitasnya menggunakan uji Shapiro-Wilk pada GraphPad Prism 10.5.0. Data yang terdistribusi normal ($p > 0,05$) disajikan dalam bentuk mean ± standar deviasi dan dianalisis menggunakan uji one-way ANOVA. Apabila ditemukan perbedaan yang signifikan antar kelompok, maka dilakukan uji lanjutan Tukey untuk mengetahui pasangan kelompok yang memiliki perbedaan signifikan.