

Efek Pemberian Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) Terhadap Struktur Histologis Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) Hiperglikemia

Effects of Ethanolic Neem (*Azadirachta indica* A. Juss) Leaf Extract on the Histological Structure of Pancreas in Hyperglycemic White Rats (*Rattus norvegicus* L.)

Nunuk Shofiati*, , Siti Muflichatun Mardiaty, Agung Janika Sitasiwi, Sri Isdadiyanto

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang 50275, Indonesia

*Email: nunukshofiati037@gmail.com

Diterima 21 Juli 2021 / Disetujui 12 Agustus 2021

ABSTRAK

Indikator klinis penyakit Diabetes Melitus adalah hiperglikemia. Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) merupakan salah satu tumbuhan yang berpotensi sebagai alternatif obat herbal hiperglikemia. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh ekstrak etanol daun mimba terhadap struktur histologis pankreas pada tikus hiperglikemia. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan jumlah tikus 24 ekor yang dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan dan 4 kali ulangan. P0 (kontrol normal) adalah kelompok tikus normal yang diberi akuades, P1 (kontrol negatif) adalah tikus hiperglikemia yang diberi akuades. P2 (kontrol positif) adalah kelompok tikus hiperglikemia yang diberi glibenklamid dosis 2,25 mg/kg BB. P3, P4, dan P5 adalah kelompok tikus yang diberi ekstrak etanol daun mimba dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB. Data dianalisis dengan ANOVA pada signifikansi 95%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak etanol daun mimba dosis 100, 200, dan 400 mg/kg BB tidak memberikan pengaruh nyata terhadap bobot pankreas, diameter, luas, dan densitas pulau Langerhans ($P > 0,05$). Skoring struktur pulau Langerhans berdasarkan uji *Mann-Whitney* menunjukkan hasil beda nyata pada kelompok tikus yang diberi daun mimba ($P \leq 0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini, pemberian ekstrak daun mimba dosis 400mg/kg BB menunjukkan adanya perbaikan morfologi pulau Langerhans.

Kata Kunci: Sel β , luas pulau Langerhans, densitas pulau Langerhans, degenerasi sel, nekrotik sel

ABSTRACT

The clinical indicator of Diabetes mellitus was hyperglycemia. *Azadirachta indica* A. Juss was a plant has the potential to alternative medicine for hyperglycemia. The study was to analyze the ethanol neem leaf extract effect on histological structure of hyperglycemic rat pancreas. This study used a completely randomized design (CRD) with 24 rats were divided into 6 treatment groups and 4 replications. P0 (control) was a normal rats group were given distilled water, P1 (negative control) was a hyperglycemic rats group were given distilled water. P2 (positive control) was a hyperglycemic rats were given 2.25 mg/kg BW of glibenclamide. P3, P4, and P5 were rats were given 100, 200, and 400 mg/kg BW of ethanolic neem leaf extract. The data analyzed by ANOVA at 95% significance showed the treatment of 100, 200, and 400 mg/kg BW ethanolic neem leaf extract had no significant effect on the pancreatic weight, diameter, area, and density of Langerhans islet ($P > 0.05$). The score of Langerhans islet structure based on the *Mann-Whitney* test showed significant differences in the groups of mice given neem leaves ($P \leq 0.05$). Treatment of 400mg/Kg BW neem leaf extract showed an improvement in the morphology of the islets of Langerhans.

Keywords: β cell; area of islets of Langerhans; density of islets of Langerhans; cell degeneration; necrotic cells

PENDAHULUAN

Diabetes Melitus adalah kondisi kronis ketika tubuh mengalami peningkatan kadar glukosa dalam darah karena tubuh tidak dapat memproduksi atau kekurangan hormon insulin yang dihasilkan oleh tubuh. Kekurangan insulin, atau ketidakmampuan sel untuk merespon produksi insulin menyebabkan hiperglikemia, yaitu tingginya kadar glukosa darah yang merupakan indikator klinis Diabetes Melitus (IDF, 2019). Kadar glukosa plasma ≥ 200 mg/dL [11.1 mmol/L] dengan disertai tanda klasik merupakan gejala hiperglikemia (ADA, 2020). Tanda klasik yang dialami penderita DM diantaranya poliuria (produksi urin tinggi), polidipsia (sering haus), polifagia (sering lapar) dan penurunan berat badan, lemah badan, kesemutan, gatal, dan mata kabur. Terapi farmakologis berupa obat oral dan suntik merupakan penanganan utama hiperglikemia yang dilakukan di Indonesia. Obat oral dan suntik seperti glibenklamid dan insulin umum diberikan kepada penderita Diabetes Melitus. Obat kimia dapat menimbulkan efek samping seperti diare, muntah, hipoglikemi, bobot badan naik, dan infeksi saluran kemih (Konsensus PERKENI, 2015). Penggunaan obat tradisional terutama herbal dalam manajemen, pencegahan dan pengobatan penyakit lebih direkomendasikan karena lebih aman dan memiliki efek samping yang relatif kecil dari pada obat kimia modern (Emilda, 2018).

Tanaman mimba (*Azadirachta indica* A. Juss), khususnya bagian daun berpotensi sebagai tanaman obat untuk Diabetes Melitus. Baidarus *et al.* (2019) menyatakan bahwa tanaman mimba memiliki kandungan senyawa bioaktif antara lain saponin, flavonoid, dan tanin. Beberapa jenis senyawa flavonoid tersebut adalah *quercetin*, *katekin*, *karoten*, dan asam karbonat yang merupakan sumber antioksidan. Widowati (2008) menyatakan bahwa senyawa antioksidan mampu menangkal radikal bebas, sehingga dapat mengurangi stress oksidatif pada penyakit Diabetes Melitus. McCalla *et al.* (2014) mengujikan ekstrak etanol daun mimba pada tikus yang dibuat Diabetes dengan induksi *Streptozotocin* menunjukkan hasil ekstrak daun mimba 0,8% tidak cukup potensial untuk mengobati diabetes tetapi dapat memperbaiki

regenerasi sel β . Ekstrak daun mimba (0,8%) memicu pankreas menghasilkan konsentrasi insulin yang sebanding dengan kondisi normoglikemik (kadar glukosa normal). Nagashayana *et al.* (2014) menjelaskan bahwa *A. indica* bekerja dalam meningkatkan pelepasan insulin dari sel β dan meningkatkan serapan glukosa perifer sehingga menyebabkan penurunan kadar glukosa darah pada diabetes tipe 1 dan dapat menurunkan kadar glukosa darah dalam waktu singkat serta meningkatkan toleransi glukosa setelah masa pengobatan 4 minggu.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh ekstrak etanol daun mimba terhadap struktur histologis pankreas pada tikus hiperglikemia dan hasilnya diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam pengembangan dan pemanfaatan mimba sebagai obat herbal alternatif untuk mengobati penyakit Diabetes Melitus dan dapat menjadi acuan dalam penelitian selanjutnya.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan selama 2 bulan di Laboratorium dan Kandang Hewan Biologi struktur dan Fungsi Hewan Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, Semarang. Preparat histologis pengerjaannya dilakukan di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Pengamatan preparat histologis pankreas dilakukan di Laboratorium Kesehatan Hewan, Semarang. Penelitian ini sudah diperiksa oleh Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang dengan No. 101/EC/H/FK-UNDIP/X/2020.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain oven, seperangkat alat pembuatan ekstrak etanol daun (perkolator, *rotary vapour*, dan *vaccum drying*), kotak kandang tikus ukuran 0,0145 m³, *Accu-Chek Active® glucometer* dan glukostrip (Roche, Canada), seperangkat alat pembuatan preparat (mikrotom *rotary*, pisau mikrotom, mesin *tissue processor*), kamera, mikroskop cahaya, dan fotomikrograf.

Bahan yang dibutuhkan antara lain daun mimba (*Azadirachta indica* A. Juss) pada nodus 4-30 yang diambil dari lingkungan Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, tikus putih (*Rattus norvegicus* L.) usia 8 minggu dengan bobot badan berkisar 200 g yang berasal dari rumah percobaan hewan Fakultas Matematika dan MIPA Universitas Negeri Semarang, aloksan monohidrat, pakan standar (HI-PRO-VITE A594K), alkohol 70%, kloroform, BNF (*buffered neutral formalin*) 10% , *xylol*, *toluol*, parafin, pewarna Hematoksin-Eosin.

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel yang digunakan sebanyak 24 ekor tikus (*Rattus norvegicus* L.) jantan dengan bobot seragam (200 g). Pemberian bahan uji dilakukan setiap hari selama 27 hari. Hewan uji dikelompokkan menjadi 6 kelompok perlakuan dengan rincian sebagai berikut:

P0: kontrol normal yaitu tikus normal yang diberi akuades 2 ml

P1: tikus hiperglikemia yang diberi akuades 2 ml

P2: tikus hiperglikemia yang diberi glibenklamid sebanyak 2,25 mg/kg BB

P3: tikus hiperglikemia yang diberi ekstrak etanol daun mimba sebanyak 100 mg/kg BB

P4: tikus hiperglikemia yang diberi ekstrak etanol daun mimba sebanyak 200 mg/kg BB

P5: tikus hiperglikemia yang diberi ekstrak etanol daun mimba sebanyak 400 mg/kg BB

Persiapan Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss)

Daun mimba pada nodus 4 sampai 30 diambil dari pohon mimba di lingkungan kampus Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro, dicuci, kemudian dikering anginkan. Pengeringan dilakukan dengan oven pada suhu 45°C selama 3 hari. Daun selanjutnya diblender sehingga menjadi serbuk. Tahap ekstraksi daun mimba dengan etanol 70% dilakukan sesuai metode Abror *et al.* (2018) dengan cara maserasi daun mimba menggunakan etanol 70% selama 3x24 jam. Ekstrak kemudian

disaring dan dipekatkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 50°C.

Persiapan Hewan Uji

Tikus sebagai hewan uji diaklimatisasi selama 8 hari, kemudian dipuasakan selama 24 jam dengan tetap diberikan minum *ad libitum* (Dholi *et al.*, 2011). Induksi diabetes dengan aloksan dilakukan dengan metode (Walean *et al.*, 2020) dengan cara tikus dipuasakan selama 24 jam kemudian dilakukan induksi aloksan monohidrat dosis 120 mg/kg secara intraperitoneal. Satu jam setelah induksi, tikus diberi pakan *ad libitum* (Dholi *et al.*, 2011). Setelah 48 jam induksi aloksan, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah untuk menentukan tikus hiperglikemia. Kadar glukosa darah diukur dengan cara menggunting sedikit ujung ekor untuk mengeluarkan darah. Darah diteteskan pada *gluco strip* dan ditunggu hingga muncul angka hasil pengukuran kadar glukosanya (Nagashayana *et al.*, 2014). Tikus dengan kadar glukosa darah >200 mg/dL menandakan bahwa tikus sudah hiperglikemia (Vasukeshetty *et al.*, 2016).

Paparan bahan uji pada hewan uji

Hewan Uji diberi ekstrak etanol daun mimba sesuai dosis kelompok perlakuan. Pemberian bahan uji dilakukan secara oral menggunakan jarum *gavage* setiap pagi hari, selama 27 hari. Pengukuran konsumsi pakan dilakukan setiap 3 hari sekali, sedangkan konsumsi minum diukur setiap hari. Bobot badan dan kadar glukosa darah diukur seminggu sekali. Sehari setelah perlakuan berakhir, dilakukan anestesi hewan uji dengan kloroform selanjutnya dilakukan isolasi pankreas. Pankreas yang sudah diisolasi ditimbang dengan timbangan analitik, kemudian dicuci dengan larutan garam fisiologis dan difiksasi menggunakan larutan BNF 10%.

Pembuatan Preparat Pankreas

Pembuatan preparat dilakukan di Laboratorium Riset Fakultas Kedokteran Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Sampel pankreas dari tiap-tiap hewan uji dibuat

sediaan preparat histologis dengan metode parafin dengan tebal sayatan 5 μm dan pewarnaan Hematoksilin-Eosin. Pembuatan preparat menggunakan mesin histoprosesor otomatis.

Pengamatan mikroskopis

Pengamatan mikroskopis preparat pankreas dilakukan di Laboratorium Kesehatan Hewan, Semarang. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop cahaya LEICA dan fotomikrograf dimulai dengan perbesaran 40x, 400x dan 1000x dengan 5 sudut pandang secara acak. Diameter pulau langerhans diukur dengan mengukur sumbu atau diameter maksimum yang dinyatakan dengan a dan sumbu atau diameter minimum yang dinyatakan dengan b (Rosa *et al.*, 2011). Rumus yang digunakan untuk mengukur diameter dan jari-jari pulau Langerhans adalah rumus: $D_i = \sqrt{ab}$ dan $r = D_i : 2$, dengan D_i = diameter pulau langerhans (satuan μm), a = sumbu terpanjang (satuan μm), b = sumbu terpendek (satuan μm), dan r = jari-jari pulau langerhans (satuan μm) (Noor *et al.*, 2017). Penentuan densitas pulau Langerhans ditentukan sesuai metode Farid *et al.* (2014). Luas rata-rata pulau Langerhans diukur sesuai metode Noor *et al.* (2017) dengan rumus $A = \pi r^2$ dengan A = luas pulau langerhans (satuan μm^2) Semua perubahan histologis dilakukan perbandingan dengan kondisi normal atau tanpa perlakuan. Skoring dilakukan berdasar metode Tandi *et al.* (2017).

Analisis Data

Data numerik diuji normalitas dan homogenitasnya dengan uji *Shapiro wilk* dan uji *Levene*. Data bobot pankreas, diameter dan luas pulau Langerhans diuji dengan uji statistik *One Way ANOVA* pada taraf kepercayaan 95%, sedangkan data densitas dan skoring deskripsi struktur pulau Langerhans diuji dengan uji *Kruskal wallis* dengan uji lanjut *Mann-whitney*. Analisis statistik menggunakan aplikasi SSPS 23.0.

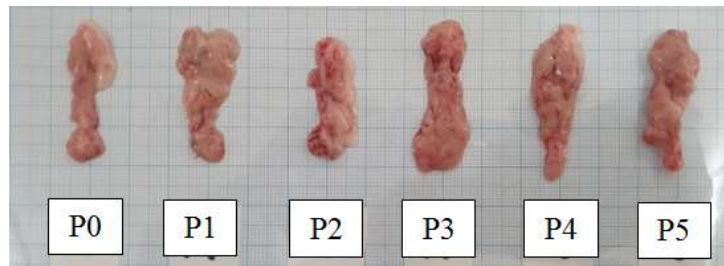
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pankreas *Rattus norvegicus* secara makroskopis berwarna merah muda, bentuk massa

seperti anggur, dan terlihat adanya pembuluh darah. Perbandingan morfologi pankreas hewan uji setelah perlakuan bahan uji selama 27 hari tersaji dalam Gambar 1. Rata-rata bobot pankreas tertinggi yaitu kelompok perlakuan mimba 100 mg/kg BB (P3), dan yang terendah adalah kelompok tikus hiperglikemia yang diberi akuades (P1) (Tabel 1).

Perbandingan morfologi pankreas menunjukkan berbeda tidak nyata. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Treuting *et al.* (2018) yang menyatakan bahwa pankreas merupakan organ yang relatif datar berwarna putih sampai merah muda. Rata-rata bobot pankreas tikus semua kelompok perlakuan berdasarkan uji ANOVA menunjukkan hasil berbeda tidak nyata ($P > 0,05$). Hal tersebut berarti bahwa induksi aloksan dan pemberian bahan uji baik glibenklamid maupun ekstrak etanol daun mimba dengan beberapa dosis tidak memengaruhi keadaan morfologi dan bobot pankreas. Perbedaan respon ini diduga karena perbedaan variasi kandungan senyawa bioaktif dalam daun mimba yang digunakan sebagai bahan uji dan distribusi senyawa bioaktif bahan uji yang tidak sampai ke pankreas.

Penelitian ini menggunakan induksi aloksan untuk membuat kondisi hiperglikemia pada hewan coba. Lenzen (2008) menjelaskan bahwa aloksan bekerja pada sel-sel pankreas dengan cara menginduksi pembentukan ROS atau radikal bebas, mengakibatkan nekrosis pada sel β . Rohilla dan Ali (2012) juga menyatakan bahwa aloksan dapat melakukan penghancuran selektif terhadap pulau β pankreas penghasil insulin. Christian *et al.* (2020) menyatakan pemberian *A. indica* pada tikus hiperglikemia dapat mengurangi radikal bebas dalam tubuh sehingga mengurangi laju pemecahan protein dan lipid, menyebabkan peningkatan berat pankreas. Respon pankreas hewan uji terhadap paparan bahan uji dalam penelitian ini dinyatakan dalam diameter dan luas pulau Langerhans pankreas tikus semua perlakuan tersaji pada Tabel 1. Rata-rata diameter dan luas pulau Langerhans tertinggi yaitu kelompok kontrol normal (P0), dan yang terendah adalah kelompok tikus hiperglikemia yang diberi mimba 200 mg/kg BB (P4) (Tabel 1).



Gambar 1. Pankreas tikus.

Tabel 1. Uji ANOVA bobot pankreas, diameter dan luas pulau Langerhans serta Uji *kruskal wallis* densitas dan skoring keadaan pulau Langerhans

Perlakuan	Parameter				
	Bobot pankreas (g) (Mean ± SD)	Diameter pulau langerhans (µm) (Mean ± SD)	Luas pulau langerhans (µm ²) (Mean ± SD)	Densitas pulau langerhans (N/10 mm) (Mean ± SD)	Skoring keadaan pankreas (Mean ± SD)
P0	0,76 ± 0,28	113,81 ± 16,36	10312,76 ± 2807,25	7,60 ± 2,25	0 ^a ± 0
P1	0,65 ± 0,09	106,86 ± 30,13	9276,90 ± 5374,51	3,93 ± 1,84	2,60 ^d ± 0,20
P2	0,70 ± 0,11	73,57 ± 25,75	4597,03 ± 3168,62	3,60 ± 0,40	3,86 ^b ± 0,11
P3	0,93 ± 0,18	65,87 ± 25,25	3740,74 ± 2771,40	2,33 ± 0,50	3,80 ^{bc} ± 0,20
P4	0,70 ± 0,05	62,30 ± 11,94	3123,00 ± 1170,24	3,73 ± 0,46	3,33 ^{bc} ± 0,41
P5	0,78 ± 0,13	78,93 ± 20,15	5105,92 ± 2551,97	4,33 ± 2,21	2,06 ^d ± 0,41

Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($P \leq 0,05$). P0= kontrol normal (tikus normal yang diberi akuades). P1= kontrol negatif (tikus hiperqlikemia yang diberi akuades). P2= kontrol positif (tikus hiperqlikemia yang diberi glibenklamid 2,25 mg/kg BB). P3= ekstrak etanol daun mimba 100 mg/Kg BB. P4= ekstrak etanol daun mimba 200 mg/Kg BB. P5= ekstrak etanol daun mimba 400 mg/Kg BB.

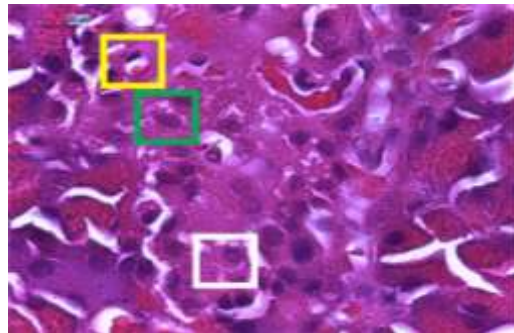
Nilai rata-rata densitas pulau Langerhans tersaji pada (Tabel 1) menunjukkan rata-rata densitas pankreas tertinggi yaitu kelompok kontrol normal (P0), dan yang terendah adalah kelompok tikus hiperqlikemia yang diberi mimba 100 mg/kg BB (P3). Berdasarkan uji ANOVA, diameter dan luas pulau Langerhans ke-enam kelompok perlakuan menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata ($P > 0,05$), begitu juga uji *Kruskal wallis* pada parameter densitas pulau Langerhans menunjukkan hasil yang berbeda tidak nyata ($P > 0,05$). Hasil analisis ini membuktikan bahwa induksi aloksan tidak memberikan efek penurunan ukuran dan jumlah secara signifikan terhadap pulau Langerhans pankreas. Paparan bahan uji glibenklamid dan ekstrak etanol daun mimba pada semua dosis tidak memberikan pengaruh peningkatan pada ukuran dan jumlah pulau Langerhans. Hal ini tidak sejalan dengan Walean *et*

al. (2020) yang melaporkan bahwa keadaan histologis pankreas tikus yang diinduksi aloksan terlihat adanya penyusutan (atrofi) ukuran pulau langerhans, dan atrofi inti sel dalam pulau Langerhans. Cheekati *et al.* (2017) juga menyatakan bahwa histologi tikus yang diinduksi aloksan dosis 120 mg/kg BB menunjukkan pulau Langerhans yang mengalami penyusutan. Perbedaan hasil penelitian ini diduga karena pada saat pengambilan sampel organ, pankreas hewan uji yang diinduksi aloksan telah mengalami *recovery* akibat paparan glibenklamid atau ekstrak etanol daun mimba. Hosseini *et al.* (2015) menyatakan bahwa ekstrak etanol daun mimba yang diberikan pada tikus menunjukkan aksi regeneratif terhadap sel penyusun pulau Langerhans tikus yang diinduksi aloksan. Sama dengan hasil penelitian Ningrum *et al.* (2020) yang menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun mimba tidak dapat

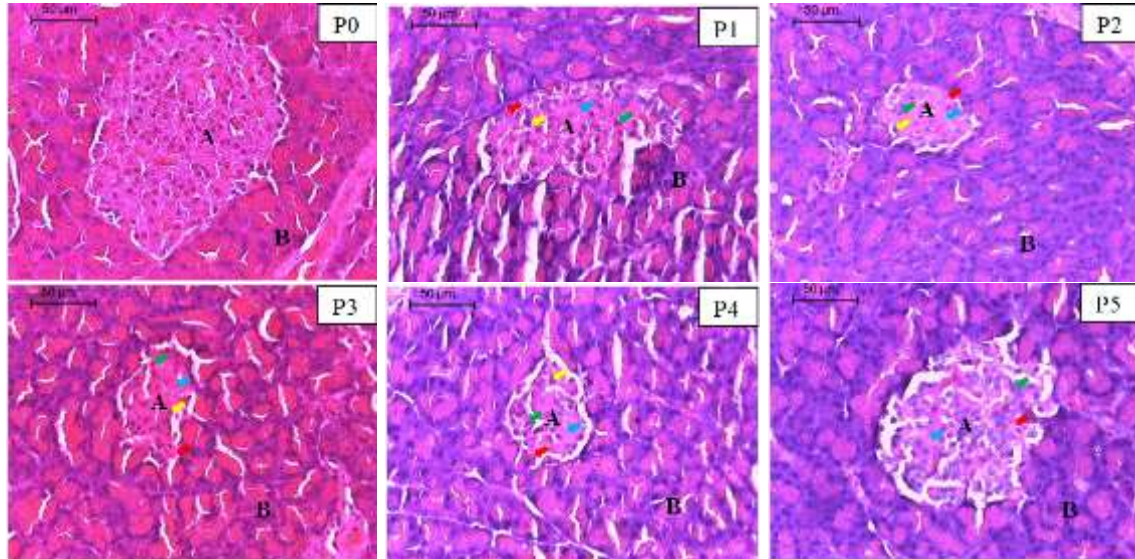
meningkatkan diameter dan luas pulau Langerhans tikus putih, tetapi mampu memperbaiki struktur sel-sel pulau Langerhans dari kerusakan karena kandungan antioksidan didalamnya.

Pengamatan histologis pankreas dengan pewarnaan Hematoksin-eosin terlihat pulau Langerhans yang terwarnai lebih terang (merah muda) dibandingkan jaringan eksokrin pankreas yang terwarnai gelap (ungu). Pulau Langerhans terlihat berbentuk lingkaran, oval dan ada juga yang membentuk saluran. Vikash *et al.* (2019)

menyatakan sebagian besar pulau Langerhans berbentuk bola atau elipsoid, tetapi bentuknya bisa tidak beraturan. Histologi pulau Langerhans perbesaran 1000x (disajikan pada Gambar 2) menunjukkan keadaan sel penyusun pulau Langerhans normal, terdegenerasi dan nekrotik. Gambaran perbandingan histologis pulau Langerhans perbesaran 400x semua perlakuan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Histologis pulau Langerhans tikus hiperglikemia (HE, 1000x). Sel normal (kotak putih). Degenerasi dan bentuk sel tidak normal (kotak hijau). Nekrotik sel (kotak kuning).



Gambar 3. Gambaran histologis pulau Langerhans pankreas (HE, 400x). A. Pulau Langerhans. B. Eksokrin pankreas. Batas tidak jelas (panah merah). Jumlah sel berkurang (panah biru). Degenerasi dan bentuk sel tidak normal (panah hijau). Nekrotik sel (panah kuning).

Berdasarkan uji *Kruskal wallis* dan uji lanjutan *Mann-whitney* rata-rata skoring keadaan pulau Langerhans, kelompok perlakuan mimba 100 mg/kg BB (P3) berbeda nyata dengan kelompok kontrol normal (P0), kontrol negatif (P1), dan

perlakuan mimba 400 mg/kg BB (P5) ($p \leq 0,05$), tapi berbeda tidak nyata dengan kontrol positif (P2) dan perlakuan mimba 200 mg/kg BB (P4) ($p > 0,05$). Kelompok perlakuan mimba 200 mg/kg BB menunjukkan hasil berbeda tidak nyata dengan

kontrol positif (P2) ($p > 0,05$), tetapi dengan kontrol normal (P0), kontrol negatif (P1), dan perlakuan mimba 400 mg/kg BB (P5) menunjukkan hasil beda nyata ($P \leq 0,05$). Tikus yang diberi perlakuan mimba 400 mg/kg BB menunjukkan keadaan beda nyata dengan kelompok perlakuan P0, P2, dan kedua kelompok perlakuan mimba lainnya (P3 dan P4) ($P \leq 0,05$), tetapi berbeda tidak nyata dengan P1 ($p > 0,05$). Kelompok P5 juga menunjukkan adanya perbaikan terhadap keadaan pulau Langerhans pankreas. Hasil analisis skor keadaan pulau Langerhans berdasarkan uji *Mann-whitney* tersaji pada (Tabel 1).

Kelompok kontrol normal (P0) keseluruhan pulau Langerhans diberi skor 0. Skor 0 merupakan pulau Langerhans dengan keadaan normal, tidak ada perubahan pada batas jaringan pulau Langerhans, jumlah sel, nekrotik sel, dan bentuk sel (Tandi *et al.*, 2017). Pulau Langerhans berbentuk oval dengan batas jaringan yang jelas, sehingga pulau Langerhans dapat dengan mudah dibedakan dengan jaringan eksokrin pankreas. Sel normal memenuhi jaringan endokrin, tidak terlihat sel nekrotik, dan sel berbentuk normal.

Tikus hiperglikemia yang diberi akuades atau kelompok kontrol negatif (P1) memiliki rata-rata skor pulau Langerhans $2,60 \pm 0,20$. Kontrol positif (P2), kelompok tikus hiperglikemia yang diberi glibenklamid 2,25 mg/kg BB dan tikus hiperglikemia yang diberi ekstrak etanol daun mimba 200 mg/kg BB (P4) memiliki rata-rata skor pulau Langerhans $3,86 \pm 0,11$ dan $3,33 \pm 0,41$. Kelompok tikus perlakuan ekstrak etanol daun mimba 100 mg/kg BB (P3) memiliki rata-rata skor pulau Langerhans $3,80 \pm 0,20$. Tikus yang diberi perlakuan ekstrak etanol daun mimba 400 mg/kg BB (P5) skor rata-ratanya adalah $2,06 \pm 0,41$ (Gambar 3). Skoring pulau Langerhans berdasarkan Tandi *et al.* (2017), pulau langerhans dengan skor 1 terlihat batas sel jelas, jumlah sel mulai berkurang, nekrotik sel belum terlihat hanya ada degenerasi sel, dan bentuk sel normal. Pulau Langerhans dengan batas mulai tidak jelas, jumlah sel berkurang, degenerasi sel dan bentuk sel ada yang tidak normal diberi skor 2, dan pulau Langerhans dengan skor 3 adalah keadaan pulau Langerhans dengan batas tidak jelas, jumlah sel berkurang, terlihat sel nekrotik dan bentuk sel banyak yang tidak normal.

Keadaan pulau Langerhans skor 4 adalah deskripsi untuk pulau Langerhans yang batasnya sangat tidak jelas, jumlah sel banyak berkurang dan sel hampir keseluruhan nekrotik dan bentuk sel tidak normal.

Histologi pulau Langerhans yang diinduksi aloksan pada penelitian ini menunjukkan batas jaringan yang menghilang, berkurangnya jumlah sel, sel mengalami degenerasi dan nekrosis. Degenerasi terlihat dari morfologi sel yang mengalami perubahan dan bentuk sel yang tidak normal, sedangkan nekrosis dilihat dari ruang kosong pulau Langerhans serta inti sel berwarna hitam karena kondensasi inti sel. Pulau Langerhans mengalami perbaikan berupa berkurangnya sel nekrosis ditandai dengan pulau Langerhans yang penuh terisi sel dengan inti berwarna biru keunguan dan berbentuk bulat tidak mengkerut setelah diberi ekstrak etanol daun mimba dosis 400 mg/kg BB. Nubatonis *et al.* (2019) menjelaskan bahwa pulau langerhans mencit diabetes yang mengalami perbaikan nampak terisi dengan sel-sel sehingga terjadi pengurangan ruang kosong pada pulau Langerhans, juga terlihat jelas pertautan antara pulau Langerhans dengan asinar. Penelitian ini menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian Ajibabe *et al.* (2019) yang memberikan ekstrak mimba mentah pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin dengan dosis 250 mg/kg BB. Dosis paparan tersebut menyebabkan beberapa gambaran histologis normal dari pulau Langerhans dan beberapa sel mengalami perubahan morfologi. Hasil penelitian Ajibabe *et al.* (2019) juga menunjukkan bahwa beberapa sel mengalami nekrotik sementara sebagian besar sel menunjukkan ciri morfologi yang baik, sedangkan pemberian ekstrak mimba dengan dosis 500 mg/kg BB menunjukkan tampilan histologis tampak normal dan memiliki orientasi yang baik.

KESIMPULAN

Paparan ekstrak etanol daun mimba sampai dengan 400 mg/ Kg BB berpotensi memperbaiki kondisi hiperglikemia karena terbukti mampu memperbaiki struktur histologis pulau Langerhans.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro yang telah membiayai penelitian ini dengan dana DIPA Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Nomor: 1970/UN.7.5.8/PP/2020.

DAFTAR PUSTAKA

- Abror, Y., E. D. Woelansari, & Suhariyadi. (2018). Immunomodulator Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica*) terhadap Jumlah Sel Magrofag Peritoneal pada Mencit yang Diinduksi Vaksin BCG. *Journal Teknologi Laboratorium*, 7(1), 8-14. <https://doi.org/https://doi.org/10.29238/teknolabjournal.v7i1.110>.
- ADA (American Diabetes Association). (2020). *Diabetes Care: The Journal Of Clinical And Applied Research And Education Volume 43 Supplement 1*. <https://www.DiAbetes.org/DiAbetesAre>.
- Ajibade, A. J., E.O. James, & B.D. Kehinde. (2019). Effects of Crude Extract of Neem Bark on the Pancreas of Streptozotocin Induced Diabetic Wistar Rats. *Asian Journal of Research in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 6(3): 1-9. <https://doi.org/10.9734/ajrimps/2019/v6i330100>.
- Baidarus, A., A. Hayati, & N. Atiroh AS. (2019). Bioprospeksi Mimba (*Azadirachta indica* Juss) Sebagai Tumbuhan Obat Di Desa Bangsri Kecamatan Wongsorejo Kabupaten Banyuwangi. *e-Jurnal Ilmiah SAINS ALAMI (Known Nature)*, 2(1), 50 - 56. <http://dx.doi.org/10.33474/j.sa.v2i1.3681>.
- Cheekati, R. R., A. S. Rao, & R. Vijayaraghavan. (2017). A Histological Study of Alloxan-induced Diabetes on Experimental male Wistar Rats. *National Journal of Physiology, Pharmacy, and Pharmacology*, 7(12), 1329-1334. DOI: 10.5455/njppp.2017.7.0622711072017.
- Christian, E.O., O. C. Onyeaghana, N. N. Ngozi, O. O. Olivia, E. P. Okwukwe, O. E. Ann, O. F. Uchenna, & O. C. Henrietta. (2020). Evaluation of The Effects of *Azadirachta indica* Leaf on Haematology, Lipid Profile, Body Weight and Organ-system Functions of Streptozotocin-induced Diabetic Male Rats. *African Journal of Biochemistry Research*, 14(3), 57-71. <https://doi.org/10.5897/AJBR2020.1087>.
- Dholi, S. K., R. Raparia, S. K. Mankala, & K. Nagappan. (2011). In vivo Antidiabetic Evaluation of Neem Leaf Extract in Alloxan Induced Rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 1(4), 100-105.
- Emilda. (2018). Efek Senyawa Bioaktif Kayu Manis (*Cinnamomum Burmanii* Nees Ex.Bl.) Terhadap Diabetes Melitus: Kajian Pustaka. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia (JFFI)*, 5(1), 246-252. <https://doi.org/10.33096/jffi.v5i1.316>.
- Farid, M., E. Darwin, & D. Sulastri. (2014). Pengaruh Hiperglikemia terhadap Gambaran Histopatologis Pulau Langerhans Mencit. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 3(3), 420-428. <https://doi.org/10.25077/jka.v3i3.162>
- Hosseini, A. R. Saffiee-nick, & A. Ghorbani. (2015). Pancreatic Beta Cell Protection/regeneration with Phytotherapy. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51(1): 1-16. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502015000100001>.
- IDF (International Diabetes Federation). (2019). *International Diabetes Federation Diabetes Atlas 9th edition*. <https://www.diabetesatlas.org>.
- Konsensus PERKENI (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia). (2015). *Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 Di Indonesia 2015*. PB PERKENI.
- Lenzen, S. (2008). The Mecanism Of Alloxan and Streptozocin-induced Diabetes. *Diabetologia*, 51, 216-226. DOI: 10.1007/s00125-007-0886-7.
- McCalla, G., O. Parshad, P. D. Brown & M. T. Gardner. (2016). Beta Cell Regenerating Potential of *Azadirachta incica* (Neem) Extract in Diabetic Rats. *West Indian Med. J.*, 65(1), 13-17. DOI:10.7727/wimj.2014.224.
- Nagashayana, G., K. Jagadeesh, & S. P. Revankar. (2014). Evaluation of Hypoglycemic Activity of Neem (*Azadirachta Indica*) in Albino Rats. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*, 13(9), 4-11. DOI: 10.9790/0853-13920411.
- Ningrum, E. W. C., S. Isdadiyanto, S. M. Mardiati. 2020. Histopatologi Pankreas Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.) yang Diberi Pakan Tinggi Lemak dan Paparan Ekstrak Etanol Daun Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss).

- Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 5(2), 129-137.
<https://doi.org/10.14710/baf.5.2.2020.%25p>.
- Noor, A., S. Gunasekaran, & M. A. Vijayalakshmi. (2017). Improvement of Insulin Secretion and Pancreatic β -cell Function in Streptozotocin-induced Diabetic Rats Treated with Aloe vera Extract. *Pharmacognosy Research*, 9(1), 99-104. DOI: 10.4103/pr.pr_75_17.
- Nubatonis, D. C., N. A. Ndaong, & Y. N. Selan. (2019). 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.
<https://doi.org/10.35508/jkv.v3i1.1028>.
- Rohilla, A., & S. Ali. (2012). Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Science*, 3(2), 819-823.
- Rosa, M.F., M. R. Pacheco, A. M. Girardi, M. H. M. Silva, E. Santos, & S. M. Baraldi-Artoni. (2011). Morphometric Evaluation Of The Islets Of Langerhans Of Diabetic Rats Treated With Extracts Of *Azadirachta Indica* (Neem) And Streptozotocin 6 Ch. *Arsveterinaria, Jaboticabal, Sp*, 27(3), 175-180.
- Tandi, J., M. Rizky, R. Mariani, & F. Alan. (2017). Uji Efek Ekstrak Etanol Daun Sukun (*Artocarpus altilis* (Parkinson Ex F. A. Zorn) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah, Kolesterol Total dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia-Diabetes. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 1(8), 384-396.
<https://doi.org/10.25026/jsk.v1i8.73>
- Treuting, P. M., S. M. Dintzis, & K. S. Montine. (2018). *Comparative Anatomy and Histology: A Mouse, Rats, and Human Atlas. Second Edition*. London: Academic Press.
- Vasukeshetty, K. Shanker, Jayaveera, & V. Allenki. (2016). A Comparative Evaluation of Gymnemic Acids and Extract of Sylvestre for Its Anti-hiperglicemic Activity. *Indo America Journal of Pharmaceutical Research*, 6(7), 6119-6124.
- Vikash, Sakshi, & S. Upadhyay. (2019). Anatomy And Histology Of The Pancreas: A Review Article. *World Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 5(10), 52-54.
- Walean, M., R. Melpin, M. Rondonuwu, & K. F. Pinontoan. (2020). Perbaikan Histopatologi Pankreas Tikus Hiperqlikemia setelah Pemberian Ekstrak Etanol Kulit Batang Pakoba. *Majalah Ilmiah Biologi Biosfera: A Scientific Journal*, 37(1), 43-48. DOI: 10.20884/1.mib.2020.37.1.1210.
- Widowati. 2008. Peran Antioksidan Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kedokteran Maranatha*, 7(2), 1-11.