

Studi Histopatologi Ren Tikus Putih (*Rattus Norvegicus L.*) Diabetes setelah Pemberian Cuka dari Kulit Nanas (*Ananas Comosus (L.) Mer.*)

*Histological Structure Ren in Diabetic Rats (*Rattus Norvegicus L.*) after the Administration of Pineapple Skin Vinegar*

Tazkia Annisa, Agung Janika Sitasiwi*, Sri Isdadiyanto, Siti Nur Jannah

Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang
Jl. Prof. Soedarto No.50275, Tembalang, Kec. Tembalang, Kota Semarang, Jawa Tengah 50275

*Corresponding author, Email: agssiwi@yahoo.co.id

Naskah diterima: 14 Juni 2021, direvisi: 18 Oktober 2021, disetujui: 18 Nopember 2021

Abstract

Diabetes mellitus is a metabolic disease that occurs due to impaired insulin secretion caused by progressive damage to beta cells. Pineapple skin vinegar contained acetic acid and antioxidants which have the potential to help repaired the structure of the nephron ren and other organs affected by diabetes. The purpose of this study was to examine the effectiveness of pineapple skin vinegar on improved the histological structure of diabetic rats (*Rattus norvegicus L.*). This study based on changed in the structure of the nephron in samples of normal and alloxan-induced mice pre-treatment and post-treatment. Twenty-four rats were divided into 6 groups, named normal control, positive control (diabetes + 0.4 mL apple vinegar), negative control (diabetes + water), dose test groups 1, 2, and 3 (pineapple vinegar 0.2 mL; 0.4 mL; 0.8 mL). Statistical analysis test used ANOVA then followed by Duncan test. The conclusion of this research, the pineapple skin vinegar showed the ability to repair the histopathological structure of white rats damaged by diabetes. The optimum dose needed was 0.8 mL to improved the histological structure of the nephron, as indicated by the glomerular diameter and the distance of the Bowman's capsule space to near normal.

Keywords: Alloxan; Bowman's capsule; Diabetes mellitus; glomerulus; pineapple skin vinegar

Abstrak

Diabetes melitus merupakan penyakit metabolik yang terjadi akibat gangguan sekresi insulin yang disebabkan kerusakan progresif sel beta. Cuka kulit nanas mengandung asam asetat dan antioksidan yang memiliki potensi untuk membantu perbaikan struktur nefron ren dan organ lain yang terpengaruh oleh penyakit diabetes. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas cuka kulit nanas terhadap perbaikan struktur histologi nefron tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) diabetes. Penelitian ini didasarkan pada perubahan struktur nefron pada sampel tikus normal dan tikus yang diinduksi aloksan *pre-treatment* dan *pasca-treatment*. Dua puluh empat ekor tikus dibagi ke dalam 6 kelompok, yaitu kontrol normal, kontrol positif (diabetes + cuka apel 0,4 ml), kontrol negatif (diabetes + air minum), kelompok uji dosis 1, 2, dan 3 (cuka nanas 0,2 ml; 0,4 ml; 0,8 ml). Hasil penelitian diuji statistik menggunakan ANOVA yang dilanjutkan dengan uji Duncan. Kesimpulan dari penelitian ini cuka kulit nanas dapat digunakan untuk memperbaiki struktur histopatologi ren tikus putih yang rusak karena diabetes, 0,8 ml merupakan dosis optimum yang mampu memperbaiki struktur histologis nefron yang ditunjukkan dengan diameter glomerulus serta jarak ruang kapsula Bowman yang mendekati normal.

Kata kunci: Aloksan; cuka kulit nanas; Diabetes melitus; glomerulus; kapsula Bowman.

Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolik menahun akibat pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif. Insulin adalah hormon yang mengatur keseimbangan kadar gula darah. Peningkatan konsentrasi glukosa di dalam darah (hiperglikemia) akan terjadi ketika insulin tidak bekerja secara optimal (Kemenkes RI, 2014). Penelitian Schonder *et al.*, (2008) menunjukkan bahwa Nefropati Diabetik (ND) merupakan komplikasi yang terjadi pada 40% dari seluruh pasien DM tipe 1 dan DM tipe 2, dan merupakan penyebab utama penyakit ginjal yang mengakibatkan menyempitnya ruang kapsula Bowman dan pembengkakan pada glomerulus.

Berbagai macam obat kimia sintetis banyak dikembangkan industri farmasi untuk terapi farmakologis diabetes. Penelitian Putra *et al.* (2016) membuktikan bahwa penggunaan obat sintetis untuk diabetes masih memunculkan berbagai efek samping seperti hipoglikemia, mual, pusing, tremor, muntah, dan konstipasi. Penggunaan cuka untuk terapi diabetes sudah cukup banyak diteliti oleh para ilmuwan baik di Indonesia maupun mancanegara. Cuka apel merupakan salah satu cuka yang paling umum digunakan dalam terapi diabetes.

Salah satu buah yang berpotensi untuk dijadikan cuka yaitu nanas. Selain dikonsumsi sebagai buah segar, nanas juga banyak digunakan sebagai bahan baku industri. Industri pengolahan nanas ini tiap jam dapat menghasilkan limbah sebanyak 50-65 % atau sebesar 15-19,5 ton limbah. Kulit nanas mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, dan steroid. Kulit nanas juga mengandung enzim bromelin yang memiliki aktivitas anti-inflamasi, *antiedematous*, dan antitrombotik (Pavan *et al.*, 2012). Berdasarkan kandungan senyawa bioaktif yang dimilikinya, kulit nanas berpotensi tinggi untuk diolah menjadi pangan fungsional (Ketnawa *et al.*, 2012). Kulit nanas dapat diproses menjadi *vinegar* atau cuka melalui proses fermentasi. Perubahan biokimia yang terjadi selama fermentasi turut mengubah rasio komponen nutrisi sehingga mampu berpengaruh terhadap penurunan gula darah (Zhang *et al.*, 2012).

Penelitian ini dilakukan untuk menguji efektivitas cuka kulit nanas terhadap perbaikan struktur histologi ren (ginjal) tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) diabetes. Pemanfaatan kulit nanas sebagai cuka ini diharapkan bisa menjadi alternatif untuk terapi penyakit diabetes baik secara represif, maupun kuratif. Penelitian ini juga diharapkan dapat menjadi acuan untuk riset terkait aktivitas antidiabetes selanjutnya.

Materi dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi dan Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika (FSM), Universitas Diponegoro (UNDIP). Pembuatan preparat histopatologi dilakukan Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Gadjah Mada.

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus L.*) jantan dari *strain Wistar* dengan bobot ± 200 gram, berumur 2-3 bulan, dan berada dalam keadaan normal. Tikus yang digunakan dalam penelitian ini total berjumlah 24 yang telah dikondisikan diabetes (kadar gula darah $>200\text{mg/dL}$) dengan pemberian aloksan melalui injeksi intraperitoneal. Hewan diberi pakan dan minum secara *ad libitum*. Kelompok uji dan kontrol adalah sebagai berikut K0 : Kontrol normal, tikus normal tanpa perlakuan, K+ : Kontrol positif, tikus diabetes diberi 0,4 ml cuka apel, K- : Kontrol negatif, tikus diabetes tanpa perlakuan, P1 : Kelompok Uji Dosis I, tikus diabetes diberi cuka kulit nanas dosis 0,2 ml, P2 : Kelompok Uji Dosis II, tikus diabetes diberi cuka kulit nanas dosis 0,4 ml, P3 : Kelompok Uji Dosis III, tikus diabetes diberi cuka kulit nanas dosis 0,8 ml

Selama masa uji, dilakukan pengukuran terhadap kadar gula darah, bobot tubuh setiap 7 hari sekali, dan pengukuran konsumsi pakan dan minum setiap hari. Pembuatan preparat histopatologi ren dilakukan menggunakan metode parafin, dengan tebal sayatan 5 mikron dan pewarnaan hematoksilin eosin (HE).

Pengamatan preparat histologi struktur ren tikus putih diabetes yang diberi perlakuan cuka kulit nanas dilakukan di Laboratorium Biologi Dasar Kampus FSM UNDIP Semarang.

Preparat histopatologi diamati dan diukur di bawah fotomikrograf dengan perbesaran 400x dan 1000x dan dicatat perubahan mikroskopik yang ditemukan pada 3 bidang pandang yang dipilih secara acak. Parameter yang diamati ialah bobot organ (ren), diameter glomerulus dan jarak ruang kapsula Bowman.

Data hasil penelitian kemudian dikumpulkan dan diuji normalitas dan homogenitasnya. Uji statistik One Way Anova pada taraf kepercayaan 95% dilakukan untuk menganalisis data bobot ren, diameter glomerulus dan jarak ruang kapsula Bowman, lalu dilanjutkan dengan uji Duncan karena hasil dari uji statistik *One Way Anova* mempunyai perbedaan yang nyata. Pengujian statistik dilakukan dengan menggunakan aplikasi SPSS versi 22.0. Data perubahan struktur histologi ginjal disajikan secara deskriptif.

Hasil dan Pembahasan

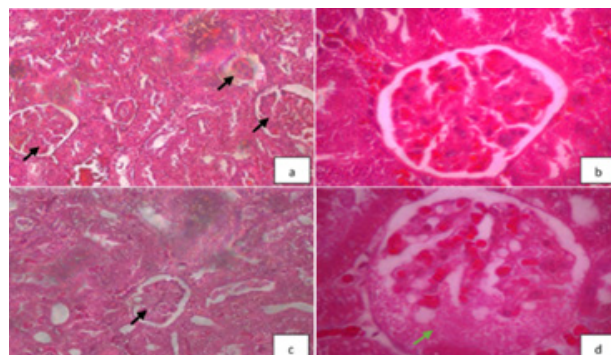
Sebelum dilakukan perlakuan, hewan uji diinduksi aloksan dengan dosis 30mg/200g BB guna membuat kadar gula darah naik (diabetes). Hewan uji dikatakan telah menderita diabetes jika mempunyai kadar gula darah dalam tubuh mencapai >200mg/dL (Akbarzadeh, 2007).

Berdasarkan hasil pengamatan pada Gambar 1 tikus normal dengan perbesaran 400x tampak glomerulus yang masih sempurna, belum ditemukan proliferasi (peningkatan ukuran), serta jumlah glomerulus berkisar antara 3-5 glomerulus. Diameter glomerulus dan jarak ruang kapsula Bowman tampak normal, tanpa ada pembengkakan atau penyempitan. Pengamatan ren yang diinduksi aloksan pada perbesaran 1000x menunjukkan glomerulus dan

kapsula Bowman pada ren mengalami nefrosis yang ditunjukkan dengan adanya proliferasi pada bagian sel glomerulus sehingga terjadi penyempitan pada ruang Kapsula Bowman (Gambar 1). Suarsana, *et al.*, (2010) menjelaskan bahwa pada induksi diabetes eksperimental menggunakan aloksan menyebabkan nefrosis pada 40–50% populasi sel penyusun nefron pada ren. Kerusakan yang ditemukan terdapat pada jumlah glomerulus, diameter glomerulus, dan jarak ruang Kapsula Bowman.

Rata-rata bobot ren kanan, diameter glomerulus dan jarak ruang Kapsula Bowman yang telah dianalisis disajikan pada Tabel 1 sebagai berikut

Hasil analisis menunjukkan bahwa bobot ren K+ berbeda nyata dengan K-, namun tidak berbeda nyata dengan K0, P1, P2, dan P3. K- berbeda nyata dengan K+ dan kelompok uji



Gambar 1. Histologi Ren Tikus Normal dan Diabetes *Pre-treatment* a. Histologi ren tikus normal pada perbesaran 400x; b. Histologi ren tikus normal pada perbesaran 1000x. Tidak ditemukan perlemakan pada ruang Kapsula Bowman; c. Histologi ren tikus diabetes pada perbesaran 400x; d. Pembengkakan sel glomerulus dan ditemukan perlemakan pada ruang kapsula Bowman

Tabel 1. Rerata bobot ren kanan, diameter glomerulus dan jarak ruang Kapsula Bowman.

Kelompok Perlakuan	Bobot Ren Kanan (gram) (Mean ± SD)	Diameter Glomerulus (µm) (Mean ± SD)	Jarak Ruang Kapsula Bowman (µm) (Mean ± SD)
K0	1,07 ^{ab} ±0,12	68,680 ^{ab} ±11,449	10,32 ^b ±0,669
K+	0,80 ^a ±0,18	67,045 ^a ±17,501	10,87 ^b ±0,268
K-	1,30 ^b ±0,24	73,555 ^c ±5,805	8,20 ^a ±0,311
P1	1,08 ^{ab} ±0,11	72,850 ^{bc} ±1,633	8,88 ^{ab} ±0,544
P2	0,90 ^a ±0,16	71,395 ^{bc} ±3,613	9,20 ^{ab} ±0,912
P3	1,04 ^{ab} ±0,34	69,705 ^{ab} ±7,184	10,17 ^b ±0,381

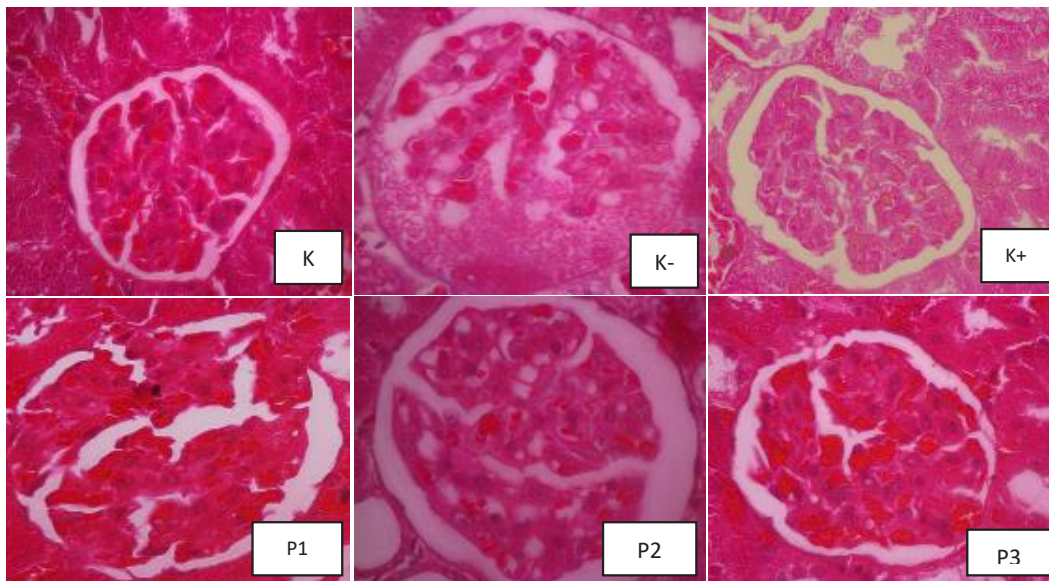
Keterangan: Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

P2. Kelompok uji P2 berbeda nyata dengan K-, namun tidak berbeda nyata dengan K0, K+, P1 dan P3. Hal ini berarti, kondisi ren pada P2 mempunyai kemiripan dengan ren pada K+. Hasil analisis ini menunjukkan bahwa pemberian cuka nanas dosis 0.4 ml (P2) memberikan pengaruh terhadap bobot ren tikus putih yang ditunjukkan dengan ukuran bobot ren dalam kisaran nilai yang normal. Suhita, *et al*, (2013) menyatakan bahwa bobot relatif ginjal tikus dengan berat ± 200 gram adalah ± 0.8 gram.

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa K0 berbeda nyata dengan K-, namun tidak berbeda nyata dengan K+, P1, P2, dan P3. K+ berbeda nyata dengan K-, P1 dan P2, namun tidak berbeda nyata dengan K0, dan P3. K- berbeda nyata dengan K0, K+ dan P3, namun K- tidak berbeda nyata dengan P1 dan P2. Kelompok uji P3 berbeda nyata dengan K-, namun tidak berbeda nyata dengan K0, K-, P1 dan P2. Diameter glomerulus pada P3 tidak mempunyai perbedaan nyata dengan diameter glomerulus K0 dan K+, hal ini membuktikan bahwa pemberian cuka nanas dengan dosis 0,8 ml (P3) memberikan pengaruh terhadap regenerasi sel-sel penyusun glomerulus yang ditunjukkan dengan ukuran diameter glomerulus mendekati normal (dalam nilai yang sama dengan kelompok K0).

Hasil uji Duncan menunjukkan bahwa K0 berbeda nyata dengan K-, namun tidak berbeda nyata dengan K+, P3, P1, dan P2. K+ berbeda nyata dengan K-, namun tidak berbeda nyata dengan K0, P3, P1 dan P2. K- berbeda nyata dengan K0, K+ dan P3, namun tidak berbeda nyata dengan P1 dan P2. P3 berbeda nyata dengan K-, namun tidak berbeda nyata dengan K0, K+, P1, dan P2. Hasil analisis ini membuktikan bahwa pemberian cuka nanas dengan dosis 0,8 ml (P3) memberikan pengaruh terhadap regenerasi struktur sel penyusun ruang kapsula Bowman yang ditunjukkan dengan ukuran mendekati normal.

Berdasarkan hasil pengamatan histologi pada Gambar 2 masing-masing perlakuan, tampak bahwa kondisi glomerulus dan ruang Kapsula Bowman pada kelompok K+ dan P3 mengalami regenerasi menuju normal yang ditandai dengan mengecilnya ukuran diameter glomerulus dan pelebaran jarak ruang kapsula Bowman yang dikarenakan oleh aktivitas antioksidan dari cuka kulit nanas, dimana aktivitas antioksidan yang terkandung dalam cuka kulit nanas ini sebesar 51,46%. Nefron pada kelompok K- tampak paling rusak diantara yang lain karena di dalamnya sudah terdapat kerusakan berupa vakuolisasi, piknosis dan



Gambar 2. Histologi Ren Tikus setelah Pemberian Cuka Kulit Nanas 1,42%. Perbesaran 1000x. K0 menunjukkan histologi glomerulus dan kapsula Bowman normal; K+ regenerasi glomerulus dan kapsula Bowman oleh cuka apel dosis 0,4 ml; K- vakuolisasi glomerulus dan perlemakan pada kapsula Bowman akibat diabetes; P1 vakuolisasi glomerulus masih ditemukan pada uji dosis I; P2 regenerasi kapsula Bowman, namun vakuolisasi glomerulus masih ditemukan pada uji dosis II; P3 regenerasi glomerulus dan kapsula Bowman menyerupai kontrol positif

juga nekrosis dengan tingkat kerusakan berat. Kelompok P1 dan P2 menunjukkan histopatologi nefron yang belum pulih, dikarenakan masih terlihat pembengkakan ukuran glomerulus dan penyempitan ruang Kapsula Bowman serta masih ditemukannya vakuolisasi, piknosis, maupun nekrosis pada derajat ringan hingga berat. Suarsana *et al.*, (2010) menjelaskan bahwa pada kondisi diabetes akibat induksi aloksan dapat menyebabkan nefrosis, degenerasi, infiltrasi fibrosa, dan vakuolisasi

Perbaikan struktur pada ren disebabkan oleh aktivitas senyawa bioaktif dalam cuka seperti antioksidan dan asam asetat berperan dalam regenerasi sel nefron. Cuka yang digunakan memiliki kadar asam asetat sebesar 1,42%. Uji antioksidan terhadap cuka yang digunakan menunjukkan nilai rata-rata % inhibisi sebesar 51,46%. Akbarzadeh (2007) menyatakan bahwa perbaikan sel nefron terkait dengan aktivitas antioksidan yang terkandung pada cuka buah. Antioksidan mampu mengikat radikal bebas yang mampu menyebabkan kerusakan pada sel nefron serta antioksidan juga dapat menghambat kerusakan sel nefron, sehingga sel nefron yang tersisa masih tetap berfungsi. Metabolisme fungsi ren akan kembali normal seiring dengan perbaikan fungsi sel nefron.

Kesimpulan

Pemberian cuka nanas dosis 0,8 ml per ekor per hari merupakan dosis optimum yang mampu memperbaiki struktur histologis nefron yang ditunjukkan dengan rata-rata diameter glomerulus serta jarak ruang kapsula Bowman yang mendekati normal.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terimakasih kepada penyumbang dana DRPM proyek PTUPT Dikti atas nama Ibu Dr.Siti Nur Jannah M.Si.

Daftar Pustaka

Akbarzadeh A. 2007. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 22 (2):60 – 64.

Kemenkes RI. 2014. InfoDATIN : Situasi dan Analisis Diabetes Melitus. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementrian Kesehatan R.

Ketnawa S, P Chaiwut, dan S Rawdkuen, 2012. *Pineapple wastes: A potential source for bromelain extraction. Food and Bioproducts Processing*, 90(3): 385–391

Pavan R, S Jain, Shraddha, dan A Kumar. 2012. Properties and therapeutic application of bromelain: a review. *Biotechnology research international*, 2012, 976203. doi:10.1155/2012/976203

Putra, R. J. S., A. Anisyah, dan Hananditia, R. P. 2016. Kejadian Efek Samping Potensial Terapi Obat Anti Diabetes Pasien Diabetes Melitus Berdasarkan Algoritma Naranjo. *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*. 2(2): 45–50

Schonder, K.S., 2008. Chronic and End-Stage Renal Disease. In Burns, M.A.C., Wells, B.G., Schwinghammer, T.L., Malone, P.M., Kolesar, J.M., Rotschafer, J.C. and J. T. Dipiro, eds. *Pharmacotherapy Principles and Practice*. New York: The McGraw-Hill Companies, p. 373-380.

Suarsana IN, Priosoeryanto BP, Bintang M, dan Wresdiyati T. 2010. Profil Glukosa Darah dan Ultrastruktur Sel Beta Pankreas Tikus yang Diinduksi Senyawa Aloksan. *JITV*. 150: 118-123

Suhita, Ni Luh. P. R., W. Sudira., I. B. Winaya dan Oka. 2013. Histopatologi Ginjal Tikus Putih Akibat Pemberian Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica*) Peroral. *Buletin Veteriner Udayana*. Vol. 5 No. 2

Zhang Z., Lv G, H Pan, L Fan, CR Soccol, dan A Pandey. 2012. Production of powerful antioxidant supplements via solid-state fermentatin of wheat (*Triticum aestivum* Linn.) by *cordyceps militaris*. *Food Technology and Biotechnology*. 50(1): 32-39.