

## **Aktivitas Antidiabetes dari Fraksi Air Lingzhi (*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst)) pada Tikus Diabetes dengan Induksi Aloksan**

Dwi Ningsih

Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta

Email: dwiee\_nink@yahoo.co.id

### **Abstrak**

Penelitian ini dirancang untuk mengetahui pengaruh fraksi air *G. lucidum* dalam menurunkan kadar glukosa darah dan ekspresi p53 pada jaringan pankreas tikus diabetes yang diinduksi aloksan. Tiga puluh enam tikus dibagi menjadi enam kelompok yaitu normal, diabetes, glibenklamid dan tiga dosis fraksi air pengobatan kelompok *G. lucidum* (225, 450, dan 675 mg / KgBB). Tikus diabetes diinduksi aloksan intraperitoneal pada dosis 150 mg / KgBB. Keadaan diabetes terjadi pada hari ke-3 setelah pemberian aloksan dan menunjukkan peningkatan kadar darah sampai  $274,00 \pm 15,11$  mg / dL. Pemberian oral fraksi air *G. lucidum* dan glibenklamid selama 9 hari setelah kondisi diabetes secara signifikan mengurangi kadar glukosa darah ( $P < 0,05$ ). Pada hari ke-10 setelah pengobatan, tikus yang dimatikan dan jaringan pankreas diambil untuk pengujian Haematoxyllin eosin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi air *G. lucidum* menghambat apoptosis sel  $\beta$ . Perubahan morfologi jaringan pankreas dalam keadaan diabetes secara signifikan menurun dan berubah menjadi keadaan normal setelah pemberian berulang fraksi air *G. lucidum*.

**Kata kunci:** fraksi air *G. lucidum*, Aloksan monohidrat, Diabetes melitus

### **Abstract**

*The present study was designed to investigate the influence of water fraction of G. lucidum toward lowering blood glucose level and p53 expression in pancreatic tissues in alloxan-induced diabetic rat. Thirty six rats were divided into six groups i.e. normal, diabetic, glibenclamide and three dosage of treatment water fraction of G. lucidum groups (225, 450, and 675 mg/KgBW). Diabetic rats were induced by alloxan monohydrate intra peritoneally at the dose of 150 mg/KgBW. Diabetic state occurred on the 3rd day after alloxan administration and it was showed increasing blood level until  $274.00 \pm 15.11$  mg/dL. Orraly administrations of water fraction of G. Lucidum and glibenclamide for 9 days after diabetic condition were significantly reduce of blood glucose level ( $P < 0.05$ ). At the day 10th after treatment, rats were sacrificed and the pancreatic tissues were harvested for Haematoxyllin eosin. The results showed that water fraction of G. lucidum inhibit the  $\beta$  cell apoptotic. The morphological change of pancreas tissue in a diabetic state was significantly decreased and turned into normal state after repeated administration of water fraction of G. Lucidum.*

**Keywords :** Water fraction of *G. Lucidum*, Alloxan Monohidrat, Diabetes Mellitus

## I. PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu gangguan metabolisme yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin dapat disebabkan oleh defisiensi relatif atau absolut produksi insulin oleh sel beta langerhans kelenjar pankreas, atau disebabkan oleh kurang responsifnya reseptor insulin pada jaringan target terhadap insulin (Price & Wilson, 1994). Penyakit ini dapat menimbulkan komplikasi baik makrovaskuler maupun mikrovaskuler, neuropati dan mudahnya timbul ulkus atau infeksi (Waspadji, 2006; Green, 1997).

Berdasarkan etiologinya, DM diklasifikasikan menjadi 2 kelompok yaitu DM tipe 1 dan DM tipe 2. Pada DM tipe I, pankreas tidak mampu menghasilkan insulin, sehingga terjadi defisiensi insulin secara total. Pada DM tipe II, pankreas mampu menghasilkan insulin, tetapi menunjukkan defisiensi insulin relatif, sehingga tubuh kehilangan kemampuan untuk memanfaatkan insulin tersebut secara efektif (Price & Wilson, 1994; Golan, 2008). Lebih dari 90% penderita adalah DM tipe 2 (Underwood, 2000).

Secara fisiologis di dalam tubuh terdapat pengaturan yang konstan terhadap sintesis dan sekresi insulin untuk mengatur kadar gula darah. Terjadinya kelainan pada salah satu mekanisme, yakni sintesis insulin, sekresi insulin, atau perubahan jumlah dari sel  $\beta$  akan menyebabkan

defisiensi insulin yang kemudian dapat berkembang menjadi diabetes (Rane & Reddy, 2000).

Pankreas merupakan bagian dari sistem pencernaan berupa kelenjar yang memegang peranan penting dalam kaitannya dengan DM. Ada 4 jenis sel utama dalam pankreas yakni sel  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\delta$ , dan sel F. Sel  $\beta$  merupakan penghasil insulin dan menempati kurang lebih 60 – 80% pulau Langerhans. Pada DM tipe 1, sel  $\beta$  hanya berjumlah kurang dari 10% (Tjokropawiro, 2002). Sedangkan pada DM tipe 2 terjadi kehilangan 50 – 65% masa sel  $\beta$ , yang dikarenakan meningkatnya apoptosis sel  $\beta$  pankreas (Guerra *et al.*, 2005).

Sel  $\beta$  seperti semua sel yang lain di dalam tubuh, diatur oleh suatu siklus sel yang terdiri dari empat fase yakni G1, S, G2, dan M. Pada siklus inilah akan ditentukan apakah suatu sel akan berproliferasi dan tumbuh atau mengalami apoptosis. Terjadinya perubahan siklus sel akan mempengaruhi kecepatan proliferasi dan tumbuh suatu sel (Rane & Reddy, 2002).

Proses apoptosis pada sel dapat terjadi melalui proses fisiologis maupun patologis. Proses apoptosis secara fisiologis melibatkan peran dan fungsi telomer, sedangkan proses apoptosis yang bersifat patologis dapat terjadi melalui aktivasi protein kinase C (PKC). PKC akan mengaktifasi protein p53 yang ada didalam inti sel. Protein p53 kemudian akan mengaktifasi Bax. Protein Bax akan merangsang mitokondria untuk memproduksi enzim sitokrom c dan mengeluarkannya ke sitosol. Di dalam sitosol, sitokrom c dengan Apoptosis

Protease Activating Factor-1 (APAF1) dan procaspase 9 membentuk caspase 9, kompleks yang terjadi disebut apoptosome. Terbentuknya caspase 9 akan mengaktifkan caspase eksekusioner, yaitu caspase 3, 6 dan 7 sehingga dapat menyebabkan apoptosis (Yalon *et al.*, 2004).

*G. lucidum* merupakan jamur basidiomycotina berkayu, masuk dalam famili Ganodermataceae dari polyporales. *G. lucidum* sering disebut sebagai "Lingzhi" di Cina. *G. lucidum* adalah jamur berbentuk gelang yang tumbuh di berbagai pohon-pohon mati. Di Indonesia *G. lucidum* dikenal sebagai jamur kayu atau jamur merah. *G. lucidum* digunakan pada pengobatan tradisional untuk terapi beberapa penyakit, seperti hepatitis, hipertensi, bronkitis kronis, asma bronkial, dan kanker. Dekokta *G. lucidum* dalam air digunakan sebagai pengobatan DM (Li *et al.*, 2011). *G. lucidum* mengandung elemen aktif diantaranya triterpen (ganoderic acid), polisakarida ( $\beta$ -1-3,  $\beta$ -1-6 homo D-glucans, acidic glucan dan polyglucan, protein bound heteroglucan, arabinoxoyoglucan, heteroglucan, dan peptidoglicans), nukleotida (adenosine dan 5-deoxy-50 methylsulfinyladenosine), ergosterol, asam lemak, dan protein (AHP, 2006; Wasser, 2005).

Zhang *et al.* (2003) menyatakan bahwa pretreatment dengan polisakarida Lingzhi ditemukan untuk menghasilkan efek antihyperglykemik pada tikus hyperglykemik dengan induksi aloksan. Fraksi air *G. lucidum* dosis 500 mg/Kg dan 1000mg/Kg secara oral mempunyai

aktivitas hipoglikemik pada tikus normal dan antihyperglykemik pada tikus diabetes dengan induksi aloksan (Mohammed *et al.*, 2007). Polisakarida *G. lucidum* mampu melindungi pulau pankreas dari kerusakan radikal bebas yang disebabkan oleh aloksan baik *in vivo* maupun *in vitro* (Zhang *et al.*, 2004). Cao *et al.* (2010) melaporkan bahwa polisakarida *G. lucidum* dapat mengurangi dan menunda absorpsi glukosa pada tikus.

Melihat potensi polisakarida *G. lucidum* terutama dalam melindungi sel-sel pankreas dari kerusakan yang disebabkan karena radikal bebas, maka memungkinkan bahan obat tersebut digunakan sebagai obat alternatif pada pengobatan diabetes terutama DM tipe 2.

Pada penelitian ini akan dikaji aktivitas antidiabetes dari pemberian fraksi air *G. lucidum* secara oral pada tikus putih jantan galur wistar diabetes. Efek antidiabetes *G. lucidum* dapat diketahui dengan melihat turunnya kadar glukosa dan pengaruhnya terhadap perlindungan sel-sel beta pankreas tikus diabetes. *G. lucidum* difraksinasi dengan air panas kemudian dipresipitasi dengan etanol untuk mendapatkan senyawa polisakarida yang mempunyai aktivitas antidiabetes. Dosis yang digunakan pada penelitian ini setara dengan jamur segar 225 mg/KgBB, 450 mg/KgBB, dan 675 mg/KgBB. Aktivitas hipoglikemik fraksi air *G. lucidum* akan diteliti melalui pengujian *in vivo* menggunakan tikus diabetes yang diinduksi aloksan.

Dilakukan pengujian histopatologi terhadap jaringan beta pankreas.

Hasil penelitian diharapkan mampu menjelaskan efek *G. lucidum* terhadap kuantitas dan kualitas sel beta pankreas, yang lebih lanjut dapat dikembangkan sebagai alternatif dalam terapi DM.

## II. METODE PENELITIAN

### A. Bahan dan Alat

Jamur *G.lucidum* yang diperoleh petani jamur di Sukoharjo, Jawa Tengah. Air suling, *water for injection*, tablet glibenklamid, Na CMC (*suspending agent*), Larutan garam fisiologis, dapar formalin, bahan penginduksi DM (aloksan dari Sigma Aldrich), standar glukosa, NaOH 0,3 N, HCl 1 N, bufer Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaOH (pH 11,5 mengandung NaCl 0,5 M), *normal saline*, *neutral buffered formalin* 10%, bahan untuk pewarnaan jaringan pankreas (Haematoxylin-Eosin dari Baxter).

Alat yang digunakan adalah sonde tikus, alat gelas, mortir dan stamper, seperangkat alat bedah, mikroskop dengan *camera digital*, kaca obyek, kaca penutup, botol kecil tempat jaringan, kertas label, alat tulis, spektrofotometer UV-Vis, *disposable syringe* 1 ml, jarum suntik 26G, timbangan teknik, timbangan analitik, *easy touch glucometer*, *rotary evaporator*, *water bath*, *microtome*, peralatan untuk pembuatan dan pengamatan sediaan hispatologis, pewarnaan imunohistokimia.

### B. Cara Kerja

#### 1. Penyiapan Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Hewan yang akan digunakan merupakan tikus jantan albino, berasal dari satu galur (galur Wistar), sehat (tidak ada kelainan bawaan dan kadar glukosa darah acak normal), jenis kelamin jantan (usia 2-3 minggu, berat badan 200 gram), dan diadaptasikan selama 1 minggu sebelum digunakan untuk percobaan. Tikus sejumlah 30 ekor dibagi dalam 6 kelompok, masing-masing 5 ekor tikus.

#### 2. Pembuatan Sampel Uji

Pengambilan sampel jamur *G. lucidum* dilakukan secara acak pada jamur yang dipanen sekitar umur 4-5 bulan, diambil dari daerah Sukoharjo, Jawa Tengah. *G. lucidum* yang sudah diperoleh, selanjutnya dibersihkan dari kotoran, dikeringkan dengan cara dipanaskan di bawah sinar matahari, setelah kering dihaluskan, serbuk yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk penelitian.

#### 3. Pembuatan Fraksi Air *G. lucidum*

Serbuk Lingzhi 500 g dibersihkan dari polifenol dan monosakarida dicampur dengan 2,5 L etanol 80% pada suhu 30°C selama 24 jam sambil setiap kali dikocok, kemudian disaring. Residu dikering anginkan, setelah kering difraksi dengan air panas 100°C (1:20CC w/v).

Filtrat dikentalkan dengan evaporator kemudian dipresipitasi dengan etanol 95% pada suhu 4°C selama 24 jam. Hasil presipitasi di sentrifuse (5000 rpm, 10 menit) dan presipitat yang di dapat di vakum *freeze dried* hingga didapatkan “*crude beta glucan*” (Yang *et al.*, 2010).

#### 4. Protokol Penelitian

a. Pemeriksaan kadar glukosa darah acak sebelum dilakukan pengujian.

b. Pada hari pertama, kelompok hewan coba (kecuali kontrol normal) diinduksi aloksan monohidrat dengan dosis 150 mg/kg BB secara intraperitoneal, sebanyak sekali injeksi untuk menginduksi terjadinya DM. Perkembangan hiperglikemia tikus diperiksa pada hari ke- 3. Sampel darah diambil melalui vena caudalis di ekor tikus dengan cara mengiris tipis ekor tikus. Apabila setelah 3 (tiga) hari kadar glukosa darah tikus > 200 mg/dl maka tikus telah menjadi diabetes.

c. Hewan yang diabetes dikelompokkan menjadi 5 kelompok secara random (kontrol diabetes, pembanding, dan 3 kelompok perlakuan fraksi air *G. lucidum*). Hewan tanpa induksi aloksan digunakan sebagai kelompok kontrol normal. Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus.

- kelompok kontrol tikus normal (Na CMC 0,5 %)
- kelompok kontrol tikus diabetes (Na CMC 0,5%)

- kelompok fraksi air *G. lucidum* dosis 225 mg /KgBB
- kelompok fraksi air *G. lucidum* dosis 450 mg / KgBB
- kelompok fraksi air *G. lucidum* dosis 675 mg / KgBB
- kelompok pembanding glibenklamid 0,45 mg/KgBB

Pemberian sediaan uji dilakukan pada hewan coba dengan metode kuratif selama 7 hari secara oral pada pagi hari setelah induksi aloksan. Kadar glukosa darah diukur hari pada hari ke-0, 3, 5, 7, dan 10. Sampel darah diambil dari ekor dengan cara melukai ekor hewan coba. Kadar glukosa darah diukur dengan menggunakan *easy touch glucometer*.

d. Pada hari ke-10, setelah pengukuran glukosa darah, tikus dikorbankan dan dilakukan pembedahan serta pemotongan jaringan pankreas tiap kelompok dengan mikrotom. Jaringan kemudian dipreparasi dengan melakukan fiksasi menggunakan *neutral buffered* formalin 10%, setelah itu pemotongan dan pewarnaan secara histokimia dengan pewarnaan menggunakan *Hematoxylin eosin* (HE) dan imunohistokimia akan dilakukan di laboratorium instalasi patologi anatomi RSUD Dr. Sutomo Surabaya.

e. Tahap pengujian histologi dilakukan dengan pemotongan dan pewarnaan jaringan sampel dengan HE

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Pengamatan Makroskopis *G. lucidum*

Berdasarkan pengamatan makroskopis Lingzhi dari Sukoharjo diperoleh bahwa karakteristik Badan buah bertangkai panjang yang tumbuh lurus ke atas, berbentuk setengah lingkaran, diameter 10-35 cm. Pada badan buah terdapat garis-garis melingkar yang merupakan batas periode pertumbuhan, tepi berombak atau berlekuk, pada sisi atas terdapat lipatan-lipatan radier, warna coklat merah keunguan, mengkilap, konsistensinya keras dan liat (gambar 1).



Gambar 1. Makroskopik *G. lucidum*

#### B. Hasil Pengamatan Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa darah tikus yang diinduksi dengan aloksan monohidrat pada hari ke-3 mengalami kenaikan yang bermakna dari  $118,00 \pm 8,35$  mg/dL menjadi  $274,00 \pm 15,11$  mg/dL. Setelah diuji statistik diperoleh  $p < 0,0001$  yang artinya bahwa injeksi aloksan mampu meningkatkan kadar glukosa darah secara bermakna dibandingkan kelompok normal pada hari ke-3. Kadar glukosa darah tikus pada hari ke-3 setelah mendapatkan injeksi aloksan dapat dilihat pada tabel I.

Tabel I. Kadar Glukosa Darah hewan uji hari ke-3 setelah injeksi aloksan

No	Kelompok Tikus	Jumlah tikus (ekor)	Kadar Glukosa Darah (mg/dl $\pm$ SD) hari ke-	
			0	3
1	Normal	6	$117,18 \pm 11,92$	$117,67 \pm 12,64$
2	Diabetes aloksan	30	$117,00 \pm 8,16$	$274,00 \pm 15,11^*$

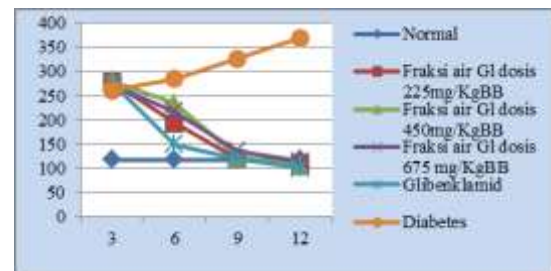
Karakteristik kadar glukosa darah setelah mendapatkan perlakuan selama 9 hari dapat dilihat pada tabel II dan gambar 2.

Tabel II. Karakteristik Kadar Glukosa Darah hewan uji sampai hari ke-12

No	Kelompok Tikus	Jumlah tikus (ekor)	Kadar Glukosa Darah (mg/dl $\pm$ SD) hari ke-				
			0	3	6	9	12
1	Normal	6	$117,85 \pm 11,02$	$117,67 \pm 12,64$	$118,00 \pm 11,98$	$118,17 \pm 11,78$	$117,33 \pm 12,62^*$
2	Fraksi air <i>G.lucidum</i> 225 mg/KgBB	6	$114,87 \pm 4,84$	$279,00 \pm 12,17^*$	$193,90 \pm 19,10$	$119,81 \pm 11,11$	$109,50 \pm 6,03^*$
3	Fraksi air <i>G.lucidum</i> 450 mg/KgBB	6	$112,00 \pm 8,97$	$280,67 \pm 13,83^*$	$234,90 \pm 11,70$	$123,33 \pm 19,20$	$103,83 \pm 12,40^*$
4	Fraksi air <i>G.lucidum</i> 675 mg/KgBB	6	$123,67 \pm 7,66$	$271,00 \pm 15,80^*$	$216,83 \pm 28,68$	$135,33 \pm 30,10$	$114,50 \pm 11,74^*$
5	Glibenklamid	6	$116,67 \pm 8,64$	$238,33 \pm 11,80^*$	$149,33 \pm 29,28$	$119,00 \pm 19,63$	$100,67 \pm 9,63^*$
6	Diabetes	6	$120,00 \pm 7,01$	$281,33 \pm 17,51^*$	$285,53 \pm 26,96$	$326,17 \pm 20,45$	$309,67 \pm 23,84$

\* berbeda signifikan terhadap kelompok normal dengan  $p < 0,0001$

\*\* berbeda signifikan terhadap kelompok diabetes dengan  $p < 0,0001$



Gambar 2. Perkembangan kondisi diabetes pada tikus dengan parameter kadar gula darah

Kelompok diabetes berbeda secara nyata dengan kelompok normal, pembanding (glibenklamid), dan fraksi air *G.lucidum* ( $p < 0,005$ ). Hal ini dapat disimpulkan bahwa fraksi air *G.lucidum* mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah secara nyata. Terdapat efek penurunan kadar glukosa darah yang sama kuat antara fraksi air *G.lucidum* dosis 225, 450, dan 675 mg/KgBB, dan glibenklamid.

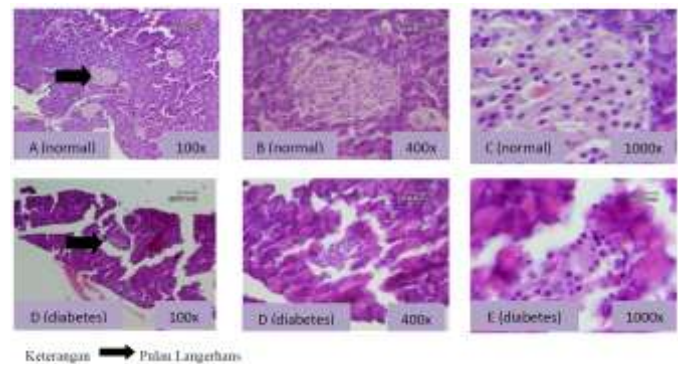
Hasil ini dapat dilihat dari hasil analisa *post hoc test* kadar gula darah antara fraksi air *G.lucidum* dosis 225, 450, dan 675 mg/KgBB dan pembanding (glibenklamid) pada hari ke-12 tidak berbeda secara nyata ( $p > 0,05$ ). Dari hasil pengukuran kadar glukosa darah hewan uji setelah treatment dilakukan perhitungan persentase penurunan kadar glukosa darah (tabel III).

Tabel III. Persentase penurunan kadar glukosa darah hewan uji setelah treatment

No	Kelompok	Persentase Penurunan Kadar Glukosa Darah hari ke-		
		6	9	12
1	Fraksi air GL dosis 225 mg KgBB	30,65%	57,05%	60,75%
2	Fraksi air GL dosis 450 mg KgBB	16,45%	56,06%	62,29%
3	Fraksi air GL dosis 675 mg KgBB	20,58%	50,43%	58,06%
4	Glibenklamid	45,96%	56,94%	63,57%

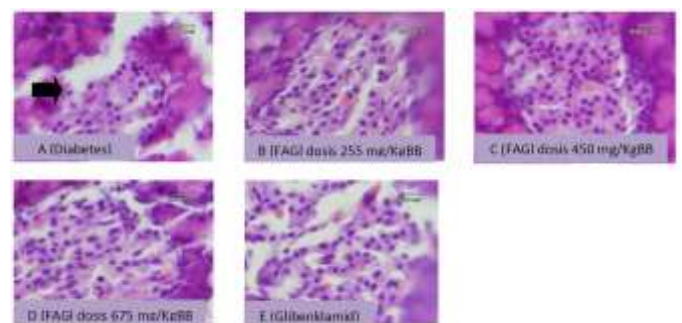
### C. Hasil Pengujian Histokimia Jaringan Pankreas Hewan Uji

Pada gambar 3 tampak perbedaan gambaran histologi antara pankreas tikus normal dengan pankreas tikus DM. Pada pankreas tikus normal (A, B, C) bentuk pulau Langerhans utuh, sel-selnya tersusun rapi, batas antar satu sel dengan sel yang lain jelas kromatin tajam dan warnanya jelas. Pada tikus DM (D,E,F), terjadi perubahan morfologi pada pulau Langerhans. Bentuk pulau Langerhans mulai rusak, ukurannya lebih kecil dibandingkan kelompok normal, susunan sel-selnya tidak teratur, ukuran inti sel tidak sebesar pada kelompok normal, jarak antar sel melebar serta terdapat sel yang mengalami apoptosis.



**Gambar 3.** Penampang melintang jaringan pankreas dengan pewarnaan hematoxylin-eosin tikus Normal (A,B,C) dan diabetes (D,E,F)

Hasil pengamatan histokimia setelah treatment fraksi air *G. lucidum* dosis setara dengan 225, 450, dan 675 mg/KgBB *G. lucidum* segar sehari sekali selama 9 hari menunjukkan terjadi perbaikan morfologi dari pulau Langerhans (gambar 4).



**Gambar 4.** Penampang melintang jaringan pankreas (perbesaran 1000x dengan pewarnaan hematoxylin-eosin tikus diabetes (A), diabetes+fraksi air *G. lucidum* (FAGI) dosis 225 mg/KgBB (B), diabetes + fraksi air *G. lucidum* dosis 450 mg/KgBB (C), diabetes + fraksi air *G. lucidum* dosis 675 mg/KgBB (D), diabetes + glibenklamid 0,45 mg/KgBB (E)

Pada penelitian ini juga dilakukan pengukuran diameter pulau Langerhans dan perhitungan jumlah

sel  $\beta$  pankreas untuk melihat perubahan morfologi karena diabetes. Pada kondisi diabetes ukuran Pulau Langerhans lebih kecil dan jumlah sel  $\beta$  pankreas lebih sedikit dibandingkan normal. Pengukuran dilakukan dengan mikroskop dilengkapi mikrometer pada perbesaran 400x. Hasil pengukuran diameter pulau Langerhans dan perhitungan jumlah sel beta tampak pada tabel IV. Pada kondisi diabetes, rata-rata diameter pulau Langerhans dan jumlah sel  $\beta$  pankreas lebih kecil dibandingkan kelompok normal. Setelah mendapatkan treatment dengan fraksi air *G. lucidum*, maka ukuran diameter pulau Langerhans semakin meningkat. Pada pemberian fraksi air *G. lucidum* dengan dosis setara dengan 225, 450, dan 675 mg/KgBB *G. lucidum* segar diperoleh diameter pulau Langerhans secara berturut-turut  $105,92 \pm 17,55$ ;  $166,11 \pm 111,08$ ; dan  $131,11 \pm 30,38$   $\mu\text{m}$ .

**Tabel IV.** Hasil pengukuran diameter pulau Langerhans dan perhitungan jumlah sel beta pankreas

Kelompok	Rata-Rata Diameter Pulau Langerhans ( $\mu\text{m}$ ) $\pm$ SD	Rata-Rata Jumlah Sel Beta Pankreas $\pm$ SD
Normal	185,55 $\pm$ 16,44	109,22 $\pm$ 29,77
Fraksi air Gl dosis 225 mg/KgBB	105,92 $\pm$ 17,55	49,67 $\pm$ 22,76
Fraksi air Gl dosis 450 mg/KgBB	166,11 $\pm$ 111,08	74,78 $\pm$ 40,96*
Fraksi air Gl dosis 675 mg/KgBB	131,11 $\pm$ 30,38	71,89 $\pm$ 16,65*
Glibenclamid	91,39 $\pm$ 29,61	27,67 $\pm$ 3,21
Diabetes	83,22 $\pm$ 4,44	25,44 $\pm$ 2,83

\* ) berbeda bermakna dengan kelompok diabetes ( $p < 0,05$ )

Hasil analisa statistik t-test menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok normal dan kelompok diabetes dilihat dari diameter Pulau Langerhans dan jumlah sel  $\beta$ -nya ( $p < 0,0001$ ). Hasil

analisa varian satu arah data diameter pulau langerhans menunjukkan bahwa tidak ada beda bermakna pada diameter pulau Langerhans diantara kelompok perlakuan ( $p = 0,065$ ). Sedangkan hasil analisa varian satu arah data jumlah sel  $\beta$  pankreas menyatakan bahwa terdapat perbedaan bermakna diantara kelompok perlakuan ( $p = 0,03$ ). Karena terdapat perbedaan maka dilanjutkan analisis post hoc test untuk mengetahui letak perbedaan tersebut, didapatkan hasil bahwa bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok diabetes dengan treatment fraksi air *G. lucidum* dosis 450 dan 675 mg/KgBB. Kedua kelompok berbeda bermakna dengan kelompok diabetes, diabetes dengan treatment fraksi air *G. lucidum* dosis 250 mg/KgBB dan glibenklamid.

#### IV. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dari analisa efek antidiabetes fraksi air *G. lucidum* pada tikus diabetes yang diinduksi aloksan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa pemberian fraksi air *G. lucidum* dosis 225, 450, dan 675 mg/KgBB mampu melindungi dan meningkatkan proliferasi sel  $\beta$  pankreas hewan uji, ditunjukkan dengan kemampuan fraksi air *G. lucidum* untuk:

1. Menurunkan ekspresi protein p53 dan pada sel-sel  $\beta$  pankreas hewan uji.
2. Meningkatkan jumlah sel-sel  $\beta$  pankreas hewan uji.
3. Dosis 225 mg/KgBB menghasilkan penurunan gula darah, perbaikan gambaran histokimia,



yang lebih kecil dibanding dosis 450 dan 675 mg/KgBB. Peningkatan dosis dari 450 ke 675 mg/KgBB tidak memberikan peningkatan efek.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ahuja, S & H. Rasmussen. 2007. *HPLC Method Development for Pharmaceuticals: Volume 8 of Separation Science and Technology*- Elsevier Academic Press. United Kingdom.
- Ariburnu, E., M. F. Uludag, H. Yalcinkaya & E. Yesilada. 2012. Comparative Determination of Sibutramine as an Adulterant in Natural Slimming Products by HPLC and HPTLC Densitometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 65: 77-81.
- Firdaus, M. I. & P. I. Utami. 2009. Analisis Kualitatif Paracetamol Pada Sediaan Jamu Serbuk Pegal Linu yang Beredar Di Porwokerto. *Pharmacy*. 06: 1
- González B. G., M. Á.Herrador, A. & G. Asuero. 2010. Intra-laboratory Assessment of Method Accuracy (Trueness and Precision) by Using Validation Standards. *Talanta*. 82: 1995-1008.
- Jung, J., M. H. Clausen., & W.W. Weinmann. 2006. Anorectic Sibutramin Detected in a Chinese Herbal Drug for Weight Loss. *Forensic Science International*. 161 : 211-222.30
- Kamil, M. & M.A. Naji. 2009. Determination of Undeclared Chemicals in Herbal Slimming Medicines using HPTLC. *VIVECHAN-IJR*.02: 14-17.
- Permata, D. 2012. Optimasi Metode Identifikasi Antalgin dan Klofeniramin Maleat Secara KCKT Photodiode Array setelah Pemisahan dengan Solid Phase Extraction pada Sediaan Serbuk Obat Tradisional. *Skripsi Program S-1*, Universitas Indonesia, Depok.
- Permenkes RI, 2012. *Permenkes RI : No.007 Tahun 2012 Tentang Registrasi Obat Tradisional*. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Radhakrishna, T., Ch. L. Narayana, D. S. Rao., K. Vyas & G. O. Reddy. 2000. LC Method for The Determination of Assay And Purity Of Sibutramine Hydrochloride And Its Enantiomers by Chiral Chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 22: 627-639.
- Singh, R. 2013. HPLC Method Development and Validation- an Overview. *Journal Pharmacy Education Research*. 4: 26-33.
- Suneetha, D & A. L. Rao. 2011. A Stability Indication HPLC Method for The Determination of Sibutramine Hydrochloride in Bulk and Commercial Formulations. *International Journal of Research in Pharmacy and Chem*. 01: 1-6.
- Suthar, A.P., S. A. Dubey & S. R. Patel. 2009. A Validated Spesific Reverse Phase HPLC for Estimation of Sibutramine Hydrochloride Monohydrate in Bulk Drug and Capsule Dosage Forms. *International Journal of ChemTech Research*. 01: 793-801.