Jurnal Veteriner pISSN: 1411-8327; eISSN: 2477-5665
Terakreditasi Nasional Peringkat 2, Dirjen Riset dan Pengembangan,
Kemendiktisaintek RI SK No 10/C/C3/DT.05.00/2025, 21 Mar.2025

Desember 2025 Vol. 26 No.4: 534-544
DOI: 10.19087/jveteriner.2025.26.4.534
online pada http://ejournal4.unud.ac.id/index.php/juvet

Potensi Jamu Kencing Manis Madura terhadap Struktur Limpa Tikus Jantan Galur Wistar Penderita Diabetes Melitus

(*THE POTENTIAL OF MADURA DIABETES HERBAL MEDICINE ON THE SPLEEN STRUCTURE OF MALE WISTAR RATS WITH DIABETES MELLITUS*)

Cindy Syaharani Ruriasri, Agung Janika Sitasiwi*, Kasiyati

Laboratorium Struktur dan Fisiologi Hewan,
Program Magister Biologi
Fakultas Sains dan Matematika,
Universitas Diponegoro,
Jl. Prof. Soedarto No.13, Tembalang,
Semarang, Jawa Tengah , Indonesia, 50275
Email: agssiwi@yahoo.co.id

ABSTRACT

The Madurese are one of the ethnic groups in Indonesia that preserve traditional knowledge of medicinal plants. In Sumenep and Pamekasan, this wisdom is reflected in the use of herbal remedies to manage diabetes, including *jamu kencing manis* (traditional diabetes medicine), broadly recognized in Pamekasan District. This preparation contains insulin leaves (*Tithonia diversifolia*), red betel (*Piper crocatum*), cinnamon (*Cinnamomum burmannii*), coriander (*Coriandrum sativum*), and temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). This study aimed to evaluate the potential effect of Madurese *jamu kencing manis* on the spleen structure of diabetic rats. Thirty male Wistar rats were divided into six groups: P0 (control, distilled water), P1 (diabetes + metformin), P2 (diabetes + 5 g herbal medicine), P3 (diabetes + 10 g herbal medicine), P4 (diabetes + 15 g herbal medicine), and P5 (diabetes without therapy). Rats were euthanized on days 3, 10, and 20. Spleens were isolated, fixed in 10% neutral buffer formalin, processed by paraffin embedding, and stained with hematoxylin-eosin. Parameters observed included body weight, spleen weight, organ index, and the diameter and area of germinal centers and white pulp. Data were analyzed using one-way ANOVA followed by Duncan's test, while nonparametric parameters were analyzed with the Kruskal-Wallis test. The results showed significant differences in body weight ($p<0.05$). However, spleen weight, organ index, germinal center diameter and area, and white pulp diameter and area did not differ significantly ($p>0.05$). It can be concluded that Madurese jamu kencing manis does not have a negative effect on the histological structure of the spleen in diabetic rats.

Keywords: diabetes;madura herbal medicine kencing manis; spleen structure; white rat

ABSTRAK

Suku Madura merupakan salah satu etnis di Indonesia yang hingga kini mempertahankan pengetahuan tradisional dalam pemanfaatan tumbuhan sebagai obat. Masyarakat Madura, khususnya di Sumenep dan Pamekasan, menjaga kearifan lokal dalam penggunaan tanaman obat untuk mengatasi diabetes, seperti jamu kencing manis yang dikenal di Kecamatan Pamekasan. Jamu ini memanfaatkan beberapa jenis tumbuhan, antara lain daun insulin (*Tithonia diversifolia*), sirih merah (*Piper crocatum*), kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), ketumbar (*Coriandrum sativum*), dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Penelitian ini bertujuan menganalisis potensi jamu kencing manis madura terhadap struktur limpa tikus diabetes melitus. Penelitian menggunakan 30 ekor tikus wistar jantan dibagi menjadi enam kelompok perlakuan: kontrol P0 (akuades), P1 (diabetes + metformin), P2 (diabetes + 5 g jamu), P3 (diabetes + 10 g jamu), P4 (diabetes + 15 g jamu), dan P5 (diabetes tanpa terapi). Tikus dieuthanasia pada hari ke-3, 10, dan 20, kemudian limpa diisolasi dan difiksasi. Preparat histologis dibuat menggunakan metode parafin dan pewarnaan hematoksilin-eosin. Parameter yang diamati meliputi bobot badan, bobot limpa, indeks organ, serta diameter dan luas *germinal center* serta pulpa putih. Data dianalisis dengan uji sidik ragam satu arah, dilanjutkan uji Duncan, sedangkan parameter non parametrik diuji dengan Kruskal-Wallis. Hasil menunjukkan terdapat perbedaan nyata pada bobot badan ($p<0,05$), namun bobot limpa, indeks organ, diameter, dan luas *germinal center* tidak berbeda nyata ($p>0,05$), begitu pula diameter dan luas pulpa putih tidak menunjukkan perbedaan signifikan. Disimpulkan bahwa jamu kencing manis madura tidak berdampak negatif pada struktur histologi limpa tikus diabetes melitus.

Kata-kata kunci: diabetes melitus; jamu kencing manis madura;struktur limpa; tikus putih

PENDAHULUAN

Gangguan metabolisme yang ditandai dengan kejadian hiperglikemia, disebabkan oleh kegagalan sekresi insulin atau kinerja hormone insulin yang kurang memadai, keadaan seperti ini disebut dengan diabetes melitus (Chaudhary dan Tyagi, 2018). Data penderita diabetes melitus di Indonesia diperkirakan mencapai 19,5 juta orang, hal ini diduga akan mengalami peningkatan hingga 28,6 juta pada tahun 2045 (IDF, 2021). Penderita diabetes melitus di dunia diperkirakan 17,7 juta dan proporsi gender pria lebih banyak daripada perempuan (Kautzky-Willer *et al*., 2023).

Peningkatan kadar glukosa darah yang melebihi batas normal memiliki kaitan erat dengan komplikasi kronis penderita diabetes melitus. Inflamasi pada penderita diabetes melitus tipe 2 disebabkan oleh hiperglikemia persisten dan adanya perubahan pensinyalan insulin (Lisco *et al*., 2021). Stres oksidatif dan inflamasi adalah yang menjembatani terja-dinya kerusakan limpa yang disebabkan oleh diabetes melitus (Hanchang *et al*., 2022). Diabetes melitus dapat menyebabkan bagian pulpa putih limpa mengalami atrofi, meningkatnya apoptosis limfosit, peningkatan ukuran dan bobot limpa tikus (Pharma *et al*., 2017; Said *et al*., 2020). Limpa adalah organ yang berperan dalam sistem kekebalan tubuh dan berfungsi untuk melawan antigen yang diangkut oleh aliran darah. Sel-sel imun seperti limfosit B, limfosit T dan sel dendritik letaknya berada di dalam pulpa putih limpa. Sel-sel tersebut berfungsi dalam mendeteksi, merespons antigen dan juga sebagai tempat aktivasi serta proliferasi limfosit. *Germinal center* tersebut letaknya di dalam pulpa putih (Ningtias *et al*., 2024). Fungsi dari *germinal center*, yaitu untuk proliferasi sel B dan

produksi antibodi (Finney *et al*., 2018).

Madura merupakan salah satu daerah di Indonesia dengan masyarakat yang masih mempertahankan pemanfaatan tumbuhan sebagai ramuan obat tradisional. Obat tradisional di daerah Sumenep, Madura banyak memanfaatkan tumbuhan menjadi obat diabetes melitus (Purwanti *et al*., 2020). Daerah Kabupaten Pamekasan, Madura, Jawa Timur memiliki jamu yang diyakini dapat digunakan sebagai obat diabetes, jamu tersebut, yaitu jamu kencing manis. Tumbuhan yang digunakan sebagai bahan jamu madura untuk penderita kencing manis, yaitu tumbuhan insulin atau kipait atau kembang bulan (*Tithonia diversifolia*), sirih merah (*Piper crocatum*), kayu manis (*Cinnamomum Burmannii*), ketumbar (*Coreandrum sativum*), dan temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*). Tumbuhan tersebut memiliki kandungan polifenol, tanin, alkaloid, dan terpenoid yang berfungsi untuk meningkatkan sistem imun. Setiawan *et al*. (2021) menyatakan bahwa golongan senyawa yang memiliki bioaktivitas sebagai agen imunomodulator, yaitu polisakarida, terpenoid, alkaloid dan polifenol.

Sasmita *et al.* (2017) menyatakan bahwa daun kipait atau kembang bulan yang telah diekstrak mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar dengan pemberian dosis sebesar 5,14 mL/200 g BB. Kombinasinya dengan ekstrak sirih merah dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus dan menekan penurunan bobot badan tikus (Safithri *et al*., 2023). Ekstrak kombinasi kayu manis dan jahe dapat mengontrol kadar glukosa darah dalam kondisi kadar glukosa yang tinggi (Nurinda *et al.*, 2022).

Penelitian ini menggunakan jamu kencing manis madura yang terdiri atas multikomponen tumbuhan. Jamu kencing manis madura ini diyakini oleh masyarakat Pamekasan, Madura, Jawa Timur berpotensi sebagai antidiabetes. Namun, belum terdapat bukti ilmiah mengenai hal tersebut. Berdasarkan latar belakang tersebut maka dilakukan penelitian yang bertujuan untuk menganalisis potensi dan pengaruh jamu madura untuk kencing manis dalam memengaruhi struktur histologis limpa tikus penderita diabetes melitus.

METODE PENELITIAN

Kaji Etik/Ethical Clearance

Penelitian ini telah dilakukan berdasarkan prosedur baku dan telah mendapatkan keterangan kelayakan oleh Komisi Etik Universitas Diponegoro dengan nomor sertifikat No. 051/EC-H/KEPK/FK-UNDIP /V/2024.

Persiapan Hewan Uji

Hewan uji sebanyak 30 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus)* galur wistar jantan usia dua bulan, bobot sekitar 200 g diperoleh dari Sekolah Tinggi Farmasi Semarang. Tikus diaklimasi selama dua minggu, diberi pakan dan air minum secara rutin. Penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus wistar jantan. Tikus-tikus percobaan tersebut dibagi menjadi enam kelompok perlakuan, yaitu kontrol P0 (akuades), P1 (diabetes + metformin), P2 (diabetes + 5 g jamu), P3 (diabetes + 10 g jamu), P4 (diabetes + 15 g jamu), dan P5 (diabetes tanpa terapi).

Persiapan Infusa Jamu Kencing Manis

Jamu kencing manis madura diperoleh dari Kecamatan Waru, Kabupaten Pamekasan, Madura, Jawa Timur. Jamu dalam bentuk serbuk kemudian direbus dengan akuades untuk diperoleh infusa. Dosis jamu yang digunakan untuk kelompok P2 sebanyak 5 g, selanjutnya P3 sebanyak 10 g, dan P4 sebanyak 15 g. Dosis jamu tersebut kemudian direbus dengan menggunakan akuades yang volumenya disesuaikan dengan kebiasaan masyarakat madura dalam mengonsumsi serta telah dikonversi menggunakan faktor konversi dosis manusia (70 kg) ke tikus (200 g) = 0,018 (Laurence dan Bacharach, 1964). Volume yang didapatkan untuk pengaplikasian infusa jamu untuk tikus, yaitu: Volume infusa jamu untuk tikus = 125 mL x 0,018 = 2,25 mL

Analisis Senyawa Fitokimia

Analisis senyawa fitokimia pada penelitian ini menggunakan serbuk dari bagian tumbuhan berupa daun, biji dan kulit

batang. Infusa dianalisis kandungan senya-wa fitokimia di Laboratorium Cendekia Nano-tech Hutama di Jl. Madusari I No.76, Pla-mongan Sari, Pedurungan, Semarang, Jawa Tengah. Uji fitokimia jamu kencing manis dilakukan secara kualitatif. Pengujian yang dilakukan yaitu uji kandungan alkaloid, sapo-nin, flavonoid, polifenol, tanin steroid dan triterpenoid. Uji alkaloid menggunakan meto-de Wagner, uji saponin dengan metode Forth, kemudian untuk uji flavonoid dengan metode Wilstater. Selanjutnya, pada uji polifenol dan tanin menggunakan metode Folin-ciocalteau, kemudian untuk uji steroit dan triterpenoid menggunakan metode Liebermann-Burchard.

Persiapan Larutan Streptozotocin

Streptozotocin (STZ) yang diinduk-sikan menggunakan dosis 45 mg/kg BB. Streptozotocin suatu senyawa diabetogenik ini dilarutkan dengan buffer trinatrium sitrat ($Na_3C_6H_5O_7$) pada pH 4,5 (Zafar dan Naqvi, 2010; Abdollahi, 2014). Hasil konversi dosis untuk setiap hewan uji memerlukan 9 mg/kg BB. Streptozotocin dilarutkan dalam buffer natrium sitrat sebanyak 12 mL. Hewan uji diinjeksikan sebanyak 0,5 mL/kg/tikus secara intraperitoneal.

Pembuatan Suspensi Metformin

Metformin yang digunakan pada pene-litian ini, yaitu metformin tablet. Dosis met-formin, suatu obat oral yang digunakan untuk mengendalikan kadar gula darah pendrita diabetes tipe 2 pada manusia dewasa, setara dengan 500 mg per hari, jika dikonversi pada tikus dengan bobot 200 g adalah 0,018 maka dosis metformin untuk setiap tikus adalah 9 mg/kg (Anwar *et al*., 2023). Serbuk metformin yang telah ditimbang, kemudian dilarutkan dengan akuades untuk volume per tikus se-banyak 2,25 mL.

Pemberian Bahan Uji

Hewan uji ditimbang dan diperiksa kadar glukosa darahnya sebelum diberi perla-kuan. Pemberian STZ 9 mg/kg BB dilakukan secara intraperitoneal dalam buffer natrium sitrat pada pH 4,5 dengan volume 0,5 mL/ kg/tikus. Hewan uji pada kelompok P1, P2, P3, P4 dan P5 diinduksi dengan STZ supaya menderita dibetes mellitus. Pem-berian STZ dilakukan satu kali, setelah tikus diinduksi STZ diberi larutan glukosa 10% selama 24 jam bertujuan untuk meng-hindari kematian karena syok hipoglikemik (Furman, 2015).

Hari ke-3 atau 72 jam setelah diin-duksi STZ tikus dengan kadar glukosa darah di atas 200 mg/dL dinyatakan meng-alami hiperglikemik (Rehman *et al*., 2023). Teknik yang digunakan untuk mengambil contoh darah yaitu memotong ujung ekor tikus yang telah dibersihkan menggunakan alkohol 70% dengan gunting tajam. Peng-ukuran glukosa diperoleh dari darah ekor tikus yang diteteskan ke strip glukosa sampai ruang kosong pada strip terisi, kemudian ditunggu sampai angka muncul pada layar monitor glukometer (Samsuri *et al*., 2020).

Hewan uji selanjutnya pada kelom-pok P0 hanya diberi air minum dan pakan tanpa perlakuan jamu, P1 diberi perlakuan metformin, P2 dengan infusa jamu kencing manis madura dosis 5 g, P3 dengan infusa jamu kencing manis madura dosis 10 g, P4 dengan infusa jamu kencing manis madura dosis 15 g, dan pada P5 diberikan STZ tanpa pemberian jamu.

Pemberian metformin dan jamu kencing manis madura dilakukan secara oral. Perlakuan dilakukan selama 10 dan 20 hari. Seluruh tikus percobaan yang menda-patkan perlakuan diberi pakan dan air minum dengan kuantitas yang sama, hal yang membedakan hanya pada perlakuan pengujian bahan uji. Tikus dengan kelom-pok P1 diberi metformin secara per oral, selanjutnya untuk kelompok P2, P3, dan P4 diberi jamu kencing manis madura dengan dosis bertingkat. Pemberian metformin dan jamu kencing manis madura dilakukan setiap pagi pada pukul 07.30 WIB. Setelah perlakuan selesai dilakukan selama 10 dan 20 hari, maka selanjutnya tikus dikorban-kan nyawanya dan tikus telah dieuthanasia kemudian dibedah serta diisolasi organ lim-

panya.

Isolasi Organ Limpa

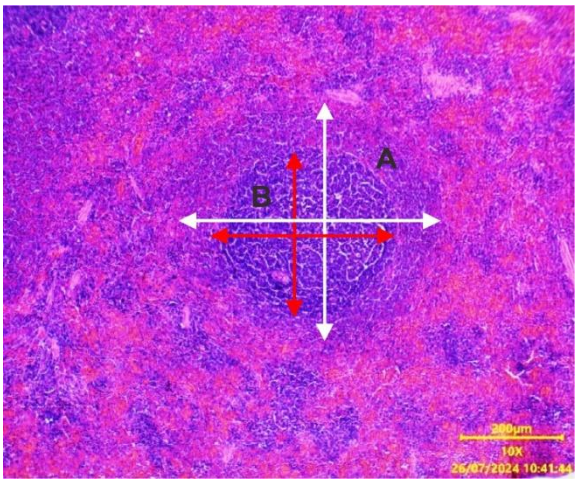
Hewan uji dibius dengan cara dimasukkan kedalam wadah tertutup, diberi kapas yang dibasahi dengan chloroform. Tikus yang telah kehilangan kesadaran , selanjutnya diambil dan diposisikan terlentang di atas papan bedah. Tikus dikorbankan nyawanya dengan cara dieuthanasia pada hari ke-3, 10, dan 20, selanjutnya organ limpa diisolasi. Pengisolasian organ limpa diawali dengan pencucian menggunakan garam dapur fisiologis, yakni NaCl 0,9%, dikeringkan dengan tisu lalu ditimbang. Sampel organ selanjutnya dimasukkan ke dalam botol yang telah diberi Neutral Buffer Formalin (NBF) 10%. Setelah didapat data bobot limpa, organ ini dimasukkan ke dalam rumus untuk memperoleh data indeks organ. Rumus pengukuran indeks organ dengan menggunakan rumus I = A/B × 100%. Dalam hal ini simbol A = bobot organ, B = bobot tikus.

Pembuatan Preparat Histologi Limpa

Organ limpa yang telah diisolasi, difiksasi menggunakan NBF 10%. Fiksasi bertujuan untuk menghentikan aktivitas sel sehingga sel tidak membelah serta mencegah pembusukan. Preparat histologi dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan jaringan menggunakan hematoxylin dan eosin (HE).

Pengamatan Preparat Histologi Limpa

Pengamatan preparat histologi limpa dilakukan menggunakan mikroskop binokuler (Olympus CX23, Olympus Co, Tokyo, Jepang) dan kamera mikroskop (Optilab, PT Miconos, Sleman Yogyakarta, Indonesia). Preparat histologi limpa yang diamati, yaitu diameter dan luas germinal center, pulpa putih limpa. Pengukuran diameter dihitung dengan menjumlahkan diameter maksimum mendatar (transversal) dengan diameter maksimum tegak lurusnya (vertical), selanjutnya dibagi dua (Anggarasari *et al.*, 2014). Pengukuran diameter pulpa putih dan germinal center limpa disajikan pada Gambar 1 dan rumus pengukuran diameter dilakukan sebagai berikut: d= [(x + y) x 0,5]. Dalam hal ini, d adalah diameter, x adalah diameter maksimum transversal dan y adalah diameter maksimum tegak lurus (vertical). Pengukuran luas (Gambar 1) pulpa putih dan germinal center dihitung menggunakan rumus luas lingkaran, yaitu $A = \pi \times r^2$. Dalam hal ini A adalah luas pulpa putih dan luas germinal center (satuan μm^2), π adalahkonstanta phi ($\pi = 3{,}14$), dan r adalah jari-jari pulpa putih dan *germinal center* (Ningtias *et al.*, 2024).



Gambar 1. Pengukuran diameter pulpa putih dan *germinal center*

Keterangan: (A) pulpa putih; (B) germinal center; panah putih menunjukkan garis transversal dan tegak lurus pulpa putih; panah merah menunjukkan garis transversal dan tegak lurus germinal center

Rancangan Penelitian

Penelitian eksperimental ini menggunakan rancangan acak lengkap, dengan hewan uji sebanyak 30 ekor tikus putih galur wistar jantan umur dua bulan, memiliki bobot badan sekitar 200 g, menggunakan enam perlakuan termasuk kontrol dan setiap perlakuan terdiri atas enam ulang an. Variabel penelitian ini, yaitu terdiri atas variabel bebas dan variable terikat. Variabel bebas adalah variasi dosis jamu kencing manis madura dan variabel terikatnya adalah bobot badan, limpa, indeks organ, diameter dan luas germinal center serta pulpa putih.

Analisis Data

Parameter penelitian ini meliputi data bobot badan, bobot limpa, indeks organ, diameter dan luas germinal center serta

pulpa putih. Keseluruhan data dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Pengujian data yang normal dan homogen dilanjutkan dengan uji sidik ragam satu arah atau *one way analysis of variance* ($\alpha = 0,05$), data yang berbeda nyata antar perlakuan selanjutnya diuji dengan uji jarak berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis fitokimia pada penelitian ini didapatkan kandungan senyawa yang positif terdiri atas polifenol, alkaloid, tani, dan terpenoid. Fungsi dari analisis fitokimia, yaitu untuk mengetahui dan meyakini kandungan suatu senyawa di dalam larutan atau ekstrak. Hashmi *et al.* (2021) menyatakan bahwa kandungan biokimia terdiri atas fenol, flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, terpenoid, kumarin, antosianin dan antrakuinon. Data hasil analisis senyawa jamu kencing manis madura disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil analisis kualitatif fitokimia jamu kencing manis Madura

Uji	Hasil pengamatan	Ket
Flavonoid	Tidak terbentuk warna merah oranye	-
Polifenol	Terbentuk warna kehitaman	+
Tanin	Terbentuk warna kehitaman	+
Saponin	Tidak terbentuk buih menetap	-
Alkaloid	Terbentuk sedikit endapan	+
Terpenoid	Terbentuk sedikit warna jingga	+

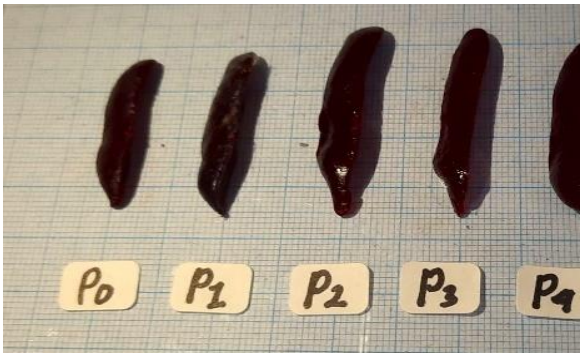
Ket.= keterangan

Zat yang digunakan untuk induksi ekspresi diabetes melitus hewan uji dalam penelitian ini menggunakan STZ. *Streptozotocin* merupakan senyawa nitrosourea yang masuk ke sel β pankreas melalui *Glucose Transporter type*-2 (GLUT2) dan menyebabkan kerusakan DNA, stres oksidatif, serta disfungsi mitokondria, sehingga sel β pancreas mengalami kematian dan sekresi insulin menurun. Induksi STZ dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu intraperitoneal dan intravena. Penelitian ini menggunakan teknik intraperitoneal.

Tabel 2. Data bobot badan, bobot limpa, indeks organ tikus0tikus percobaan

KP	B B (g) ($\bar{X}$ ±SD)	B L (g) ($\bar{X}$ ±SD)	I O (%) ($\bar{X}$ ±SD)
P0	$249,02^{bc}$±36,91	$0,80^{a}$±0,31	$0,33^{a}$±0,13
P1	$250,95^{c}$±38,85	$1,12^{a}$±0,27	$0,45^{a}$±0,11
P2	$195,99^{a}$±27,93	$0,72^{a}$±0,17	$0,36^{a}$±0,07
P3	$209,44^{ab}$±48,14	$0,99^{a}$±0,49	$0,45^{a}$±0,16
P4	$217,13^{abc}$±17,25	$0,92^{a}$±0,34	$0,42^{a}$±0,14
P5	301.3^{d}±6,1	$0,99^{a}$±0,20	$0,32^{a}$±0,06

Keterangan: KP= kelompok perlakuan; BB= bobot badan; BL= bobot limpa; IO= indeks organ. Data yang disajikan berupa rerata ($\bar{X}$) ± standar deviasi. Angka-angka yang memiliki superskrip sama pada kolom yang sama, tidak berbeda nyata (p>0,05). P0 (Kontrol); P1 (Kontrol positif); P2 (diabetes diberi jamu 5 g secara oral), P3 (diabetes diberi jamu 10 g secara oral), P4 (diabetes diberi jamu kencing manis 15 g oral), P5 (diabetes karena induksi *streptozotocin*).



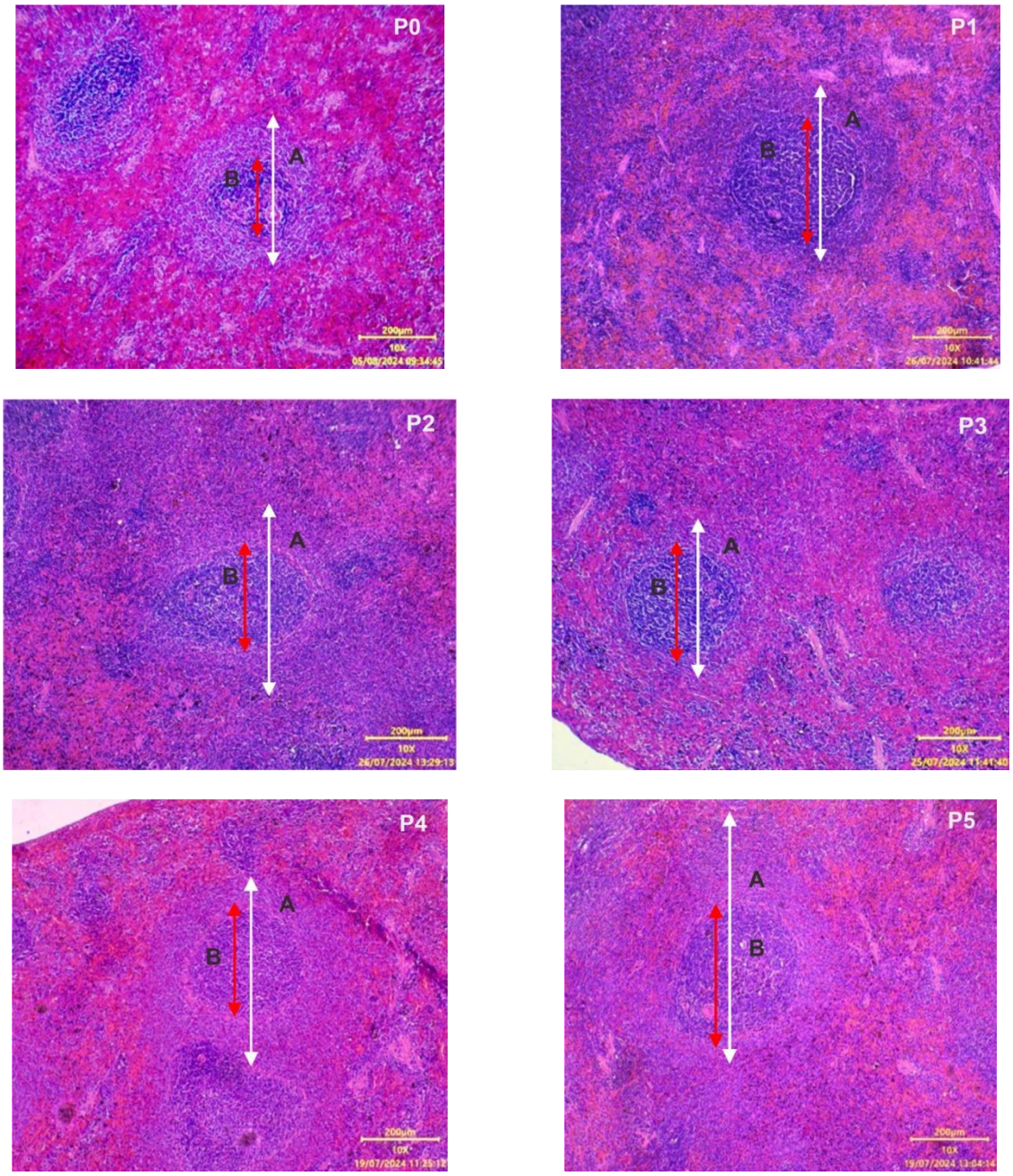
Gambar 2. Gambaran makroskopis limpa tikus jantan percobaan.

Keterangan: P0 (Kontrol); P1 (Kontrol positif); P2 (diabetes diberi jamu 5 g secara oral), P3 (diabetes diberi jamu 10 g secara oral), P4 (diabetes diberi jamu kencing manis 15 g oral), P5 (diabetes karena induksi *streptozotocin*).

Tingkat keberhasilan induksi diabetes mellitus dengan STZ pada penelitian ini menunjukkan persentase hiperglikemia sebe sar 87,5%. Total jumlah tikus yang berhasil dibuat mengalami hiperglikemia sebanyak

21 dari 24 ekor. Hasil rerata data kadar glukosa darah tikus pada penelitian ini setelah diinduksi STZ sebesar 368-535 mg/dL. Tikus dengan kadar glukosa darah di atas 200 mg/dL dinyatakan mengalami hiperglikemik (Rehman *et al*., 2023).

Parameter pengamatan makroskopis pada penelitian ini terdiri atas bobot badan, bobot organ, dan indeks organ limpa.



Gambar 3. Histologi limpa tikus jantan galur wistar dengan pewarnaan hematoksilin-eosin.

Keterangan: P0 (Kontrol akuades), P1 (Kontrol positif kondisi diabetes perlakuan dengan metformin), P(Kondisi tikus diabetes dengan perlakuan ramuan herbal kencing manis 5 g), P3 (Kondisi tikus diabetes dengan perlakuan ramuan herbal kencing manis 10 g), P4 (Kondisi tikus diabetes dengan perlakuan ramuan herbal kencing manis 15 g), P5 (Kondisi tikus diabetes). Garis panah putih menunjukkan A (Pulpa putih), garis panah merah menunjukkan B (*Germinal center*)

Tabel 3. Rerata hari ke-10 diameter dan luas *germinal center*, pulpa putih tikus jantan galur wistar diabetes setelah induksi Streptozotocin (STZ)

Kelompok Perlakuan	Diameter Germinal (µm) Rataan ± SD	Diameter Pulpa Putih (µm) Rataan ± SD	Luas Germinal Center(×100 µm²) Rataan ± SD	Luas Pulpa Putih (×100µm²) Rataan ± SD
P0	187,49±31,15	322,23±61,75	281,03±933,19	1670,09± 642,33
P1	243,68±70,63	399,72±107,6	492,26±258,32	262,97±133,15
P2	210,38±29,51	371,24±71,82	352,00±955,37	221,78±797,79
P3	188,23±26,71	328,27±28,14	281,88±758,84	170,01±285,29
P4	222,03±40,38	365,82±74,96	395,53±140,10	215,98±832,4
P5	198,43±2,82	343,78±6,57	309,17±880,57	185,62±709,29

Keterangan: P0 (Kontrol); P1 (Kontrol positif); P2 (diabetes diberi jamu 5 g secara oral), P3 (diabetes diberi jamu 10 g secara oral), P4 (diabetes diberi jamu kencing manis 15 g oral), P5 (diabetes karena induksi *streptozotocin*).

Tabel 4. Rerata hari ke-20 diameter dan luas *germinal center*, pulpa putih tikus jantan galur wistar diabetes setelah induksi strptozotocin (STZ)

Kelompok Perlakuan	Diameter *Germinal Center* (µm) Rataan ± SD	Diameter Pulpa Putih (µm) Rataan ± SD	Luas *Germinal Center* (×100µm²) Rataan ± SD	Luas Pulpa Putih (×100µm²) Rataan ± SD
P0	252,72±7,32	388,88±42,14	501,66±288,69	239,29± 501,50
P1	259,10±37,60	383,49±45,43	534,40±159,16	233,05±564,99
P2	212,89±19,51	347,28±28,07	358,76±652,16	190,58±306,11
P3	276,51±68,26	456,17±158,2	624,61±317,44	352,92±248,55
P4	232,09±17,08	366,91±3,95	425,14±622,69	211,38±455,94
P5	198,43±2,82	343,78±6,57	309,17±880,57	185,62±709,29

Keterangan: P0 (Kontrol); P1 (Kontrol positif); P2 (diabetes diberi jamu 5 g secara oral), P3 (diabetes diberi jamu 10 g secara oral), P4 (diabetes diberi jamu kencing manis 15 g oral), P5 (diabetes karena induksi *streptozotocin*).

Berdasarkan hasil uji sidik ragam menunjukkan bahwa pemberian jamu kencing manis madura berpengaruh nyata ($p<0,05$) pada bobot badan. Namun. bobot organ dan indeks organ limpa pada uji sidik ragam tidak menunjukkan perbedaan nyata ($p>0,05$).

Peningkatan dan penurunan nilai rerata bobot organ limpa relatif dipengaruhi oleh bobot badan, umur dan asupan pakan. Rerata nilai bobot organ limpa tikus pada penelitian ini masih dalam kisaran normal. Anindiya *et al.* (2019) menyatakan bahwa bobot organ limpa pada tikus jantan normal, yaitu 0,72-1,10 g. Hasil rerata nilai indeks organ limpa pada penelitian ini tergolong normal. Indeks organ limpa pada tikus wistar normal memiliki kisaran 0,37-0,48% (Setiawan *et al*., 2021). Data rerata bobot badan, bobot limpa dan indeks organ disajikan pada Tabel 2.

Data penelitian tersebut menunjukkan bahwa jamu kencing manis madura berpotensi rendah dalam memengaruhi struktur limpa, dan kandungan senyawa fitokimianya bersifat tidak toksik. Berdasarkan penelitian yang dilaporkan oleh Ichwana *et al.* (2021) bahwa ekstrak sirih merah (*Piper crocatum*) tidak bersifat toksik pada organ paru-paru, hati, ginjal, adrenal, limpa, testis (jantan), vesika seminalis (jantan), ovarium (betina) dan tuba falopii (betina). Kandungan senyawa fitokimia yang terkandung dalam ekstrak hidroalkohol *Lampaya medicinalis* (*Verbenaceae*) seperti tanin, dan fenol memiliki kesamaan jenis senyawa pada jamu kencing manis madura. Ekstrak hidroalkohol *L. medicinalis* tersebut bersifat non-toksik dan tidak menyebabkan perubahan bobot organ tikus (Morales *et al*., 2014). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Ceriana dan Rejeki

(2023) bahwa kandungan senyawa terpenoid, tanin, saponin dan flavonoid ekstrak etanol kulit buah rambai (*Baccaurea motleyana*) memberikan pengaruh tidak nyata (p>0,05) pada rerata indeks organ limpa mencit yang diinduksi diabetes mellitus menggunakan sediaan aloksan.

Secara makroskopis limpa tikus percobaan berada dalam keadaan normal, dilihat dari indikator warnanya yang masih merah tua hingga biru kehitaman, kemudian pada bagian tepi memiliki bentuk lancip seperti bulan sabit. Goni dan Wangko (2017) menyatakan bahwa kerusakan organ limpa secara makroskopis dapat dilihat dari warna yang berubah menjadi cokelat tua hingga hitam, kemudian terjadi pembengkakan dengan tepi limpa dan tampilannya membulat atau tumpul. Gambar makroskopis limpa tikus percobaan disajikan pada Gambar 2.

Hasil uji sidik ragam terhadap diameter dan luas *germinal center* limpa menunujukkan berbeda tidak nyata (p>0,05). Analisis terhadap diameter dan luas pulpa putih menggunakan statistika non parametric Kruskal Wallis menunjukkan berbeda tidak nyata (p>0,05). Gambar histologi limpa tikus percobaan disajikan pada Gambar 3. Pemberian jamu kencing manis madura diduga berpotensi rendah dalam memengaruhi struktur limpa.

Hal tersebut diduga karena mA Wkru pemberian perlakuan relaitf singkat, dan dosis jamu belum optimal untuk memengaruhi struktur mikroskopis limpa. Kombinasi ekstrak *C. xanthorrhiza* Roxb, *P. niruri* L. dan *M. citrifolia* L. dengan dosis 600, 800, dan 1000 mg/kg BB tidak menunjukkan perubahan histopatologi pada limpa tikus jantan dan betina (Rosidah *el al*., 2024). Penelitian yang dilakukan oleh Nigatu *et al*., (2017) menyatakan bahwa ekstrak *G. stenophylla* Gilg dengan dosis 400 dan 800 mg/kg BB tidak menunjukkan adanya perubahan histologi maupun kelainan organ limpa

Reactive oxygen species yang berlebih pada kondisi diabetes melitus dapat menyebabkan ketidakseimbangan sehingga terjadi kerusakan dan disfungsi sel (Caturano *et al*., 2023). Anggarasari *et al*. (2014) menyatakan bahwa meningkatnya kadar malondialdehid berpengaruh terhadap sel limfosit nekrosis yang selanjutnya menyebabkan jumlah sel limfosit dalam pulpa putih berkurang dan terjadi penyusutan.

Amira *et al*. (2023) menyatakan bahwa kondisi nekrosis dapat terjadi ketika terdapat penyusutan diameter atau luas pulpa putih. Diameter pulpa putih yang mengalami peningkatan adalah suatu tanda meningkatnya aktivitas sistem imun. Hal yang memengaruhi diameter pulpa putih, yaitu ketika ada agen penyakit yang menyerang sehingga terjadi inflamasi, selanjutnya menyebabkan migrasi dan limfosit berkumpul di organ limpa (Tasminatun *et al*., 2017). Data diameter dan luas *germinal center*, pulpa putih disajikan pada Tabel 3 dan 4.

SIMPULAN

Pemberian jamu kencing manis madura tidak berdampak negatif pada struktur histologi limpa tikus diabetes melitus.

SARAN

Penelitian ini hanya melakukan analisis kualitatif untuk mengetahui kandungan senyawa fitokimia jamu kencing manis madura. Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pengujian secara kuantitatif agar dapat diketahui lebih rinci mengenai jumlah setiap kandungan senyawa.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai melalui sumber selain APBN Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro tahun anggaran 2024 sesuai Surat Tugas Pelaksanaan Kegiatan Penelitian Nomor:27.I.F /UN7.F8/PP/II/2024 1 Februari 2024. Penelitian ini juga dibiayai dengan dana DPA Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro Nomor: 25.IV.C/UN7.F8/PP/II/2024.

DAFTAR PUSTAKA

Abdollahi M, Hosseini A. 2014. Stretozotocin. *Encyclopedia of Toxicology* 3rd. Ed. Oxford. Academic Press. Hlm. 402–404. doi:10.1016/b978-0-12-386454-3.01170-2.

Amira S, Febriani H, Syukriah S, Faizah UN. 2023. Morpho-histological Study of the Rat Spleen Post-Induction of Sodium Nitrite and *Acorus calamus* L. Rhizome Ethanolic Extract. *Jurnal Riset Biologi Aplikasi* 5(2): 89-97.

Anggarasari Y, Luqman EM, Poernomo B, Handijatno D. 2014. The Influence of Carbofuran Exposure Toward White Pulp Diameter of Spleen of Mice (*Mus musculus*). *Veterinaria Medika* 7(2): 100-105.

Anwar I, Zuhriyah A. 2023. Aktivitas Antihiperglikemik Ekstrak Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L. Medik) pada Tikus Model Diabetes Melitus Tipe II: Antihyperglycemic activity of Red Gedi Leaf Extract (*Abelmoschus manihot* L. Medik) in Type II Diabetes Mellitus Model Rats. *Lansau* 1(1): 38-48.

Caturano A, D'Angelo M, Mormone A, Russo, V, Mollica MP, Salvatore T, Sasso FC. 2023. Oxidative Stress In Type 2 Diabetes: Impacts from Pathogenesis to Lifestyle Modifications. *Current Issues in Molecular Biology* 45(8): 6651-6666.

Ceriana R, Rejeki DP. 2023. Uji Toksisitas Makroskopis pada Organ Ginjal, Hati, Jantung dan Limpa Mencit Hiperglikemia yang Diberi Ekstrak Etanol Kulit Buah Rambai (*Baccaurea motleyana*). *Journal of Pharmaceutical and Health Research* 4(2): 183-189.

Chaudhary N, Tyagi N. 2018. Diabetes melli tus: An Overview. *International Journal of Research Develovment and Pharmaceutical Life Science* 7(4): 3030–3033.

Finney J, Yeh CH, Kelsoe G, Kuraoka M. 2018. Germinal center Responses to Complex Antigens. *Immunology Review* 284(1): 42-50.

Furman BL. 2015. Streptozotocin-Induced Diabetic Models in Mice and Rats. *Current Protocol in Pharmacology* 70(1): 5-47.

Goni LR, Wongkar D, Wangko S. 2017. Gambaran Makroskopik dan Mikroskopik Limpa pada Hewan Coba Postmortem. *eBiomedik* 5(1).

Hanchang W, Wongmanee N, Yoopum S, Ro janaverawong W. 2022. Protective Role of Hesperidin Against Diabetes Induced Spleen Damage: Mechanism Associated with Oxidative Stress and Inflammation. *Journal of Food Biochemistry* 46(12): e14444.

Hashmi HF, Bibi S, Anwar M, Rashid Khan M. 2021. Qualitative and Quantitative Analysis of Phytochemicals in *Lepidium pinnatifidum* Ledeb. *Scholars International Journal of Traditional Complement Medicine* 4(5): 67-75.

IDF [*International Diabetes Federation*]. 2021. Diabetes Atlas 10th edition. (n.d.). Brussels, Belgium. www.diabetesatlas.org. [6 March 2024].

Kautzky-*Willer* A, Leutner M, Harreiter J. 2023. Sex Differences in Type 2 Diabetes. *Diabetologia* 66(6): 986-1002.

Laurence DR, AL Bacharach. 1964. *Evaluation of Drug Activities: Pharmacometrics*. Edisi I. London: Academic Press.

Lisco G, Giagulli VA, De Pergola G, Guastamacchia E, Jirillo E, Triggiani V. 2021. Hyperglycemia-Induced Immune System Disorders in Diabetes Mellitus and the Concept of Hyperglycemic Memory of Innate Immune Cells: A Perspective. *Endocrine Metabolic and Immune Disorder Drug Targets* 22(4): 367–370.

Morales G, Paredes A, Olivares A, Bravo J. 2014. Acute oral toxicity and anti-inflammatory activity of hydroalcoholic extract from *Lampaya medici-*

nalis Phil in rats. *Biology Research* 47: 1-7.

Nigatu TA, Afework M, Urga K, Ergete W, Makonnen E. 2017. Toxicological investtigation of acute and chronic treatment with *Gnidia stenophylla* Gilg root extract on some blood parameters and histopathology of spleen, liver and kidney in mice. *BioMedical Central Research Notes* 10(1): 625.

Ningtias PL, Suprihatin T, Sitasiwi AJ. 2024. Histological Structure of Spleen White Rat (*Rattus norvegicus* L.) After Induced of Nanochitosan Preparation of Neem Leaf (*Azadirachta indica* A. Juss) Ethanol Ext-ract. *Jurnal Sain Veteriner* 42(3): 448-456.

Nurinda E, Kusumawardani N, Wulandari AS, Fatmawati A, Emelda E, Nisa H, Hasan NA, Iriyanti WF, Rohmah M, Lestari P, Aprilia V. 2022. Pharmacological Study: Synergistic Antidiabetic Activity of Cinnamon Bark and Zingiber Extract in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Open Access Macedonian Journal of Medical Science* 10(T8): 1–6.

Pharma D, El-Feky AM, Aboulthana WM, El-Khair A, El-Sayed B, Ibrahim NE. 2017. Chemical and Therapeutic Study of *Nannochloropsis oculata* on Spleen of Streptozotocin Induced Diabetes in Rats. *Der Pharma Chemica* 9(18): 36-43.

Purwanti E, Mahmudati N, Faradila SF, Fauzi A. 2020. Utilization of Plants as Traditional Medicine for Various Diseases: Ethnobotany Study in Sumenep, Indonesia. *AIP Conf. Proc* 2231(1).

Rehman HU, Ullah K, Rasool A, Manzoor R, Yuan Y, Tareen AM, Bashir S. 2023. Comparative Impact of Streptozotocin on Altering Normal Glucose Homeostasis in Diabetic Rats Compared to Normoglycemic Rats. *Science Reproduction* 13(1): 7921.

Rosidah I, Renggani T N, Firdausi N, Ningsih S, Yunianto P, Permatasari D, Agustini K. 2024. Acute and Subchronic Toxicological Study of the Cocktail Extract from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb, *Phyllanthus niruri* L. and *Morinda citrifolia* L. *Journal Toxicology* 2024(1): 9445226.

Safithri M, Bintang M, Syaefudin. 2023. Blood Glucose Level, Langerhans Pancreas and Lipid Profile of Diabetic Rats After Administration of Red Betel, Ginger and Cinnamon Combination Extract. *Tropical Life Science Research* 34(1): 41-50.

Said HM, Abdelaziz HO, Abd Elhaliem NG, Mohammed SA. 2020. A Comparative Study between Ginger and Echinacea Possible Effect on the Albino Rat Spleen of Experimentally Induced Diabetes. *Egypt Journal of Histology* 43(3): 763–776.

Sasmita FW, Susetyarini E, Husamah H, Pantiwati Y. 2017. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Alloxan. *Biosfera* 34(1): 22.

Setiawan H, Wulandari SW, Fitriyani AN. 2021. Potensi Imunomodulator Herbal Ekstrak Etanol Daun Pepaya Varietas Calina terhadap Struktur Jaringan Limpa Tikus Putih Galur Wistar. *Jurnal Veteriner* 22(4): 531-539.

Sihombing M, Tuminah S. 2011. Perubahan Nilai Hematologi, Biokimia Darah, Bobot Organ dan Bobot Badan Tikus Putih pada Umur Berbeda. *Jurnal Veteriner* 12(1): 58-64.

Tasminatun S, Pravitasari R, Makiyah N. 2017. Potential Ethanol of *Carica papaya* L. Extract as Immunomodulatory Through Histology Observation at Mice Balb/C Spleen. *Berkala Kedokteran* 13(2): 205-210.

Zafar M, Naqvi SNUH. 2010. Effects of STZ Induced Diabetes on the Relative Weights of Kidney, Liver and Pancreas in Albino Rats: A Comparative Study. *International Journal of Morphology* 28(1): 135-142.