

The Effect of Boiled Water from Red Betel Leaves (*Piper crocatum*) on the Histopathology of the Kidneys and Pancreas of Diabetic Mice

Surati¹, Dessy Armalina¹, Erika Wahyuningrum¹, Deva Alfira Cahyaning¹, Poppy Fransisca Amelia^{2*}

¹ Jurusan Analis Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Semarang, Semarang, Indonesia

² Program Studi Sarjana Ilmu Biomedis, FIKKes, Universitas Karya Husada Semarang, Semarang, Indonesia

*Correspondence: ameliapoppy737@gmail.com

ABSTRACT

*Diabetes mellitus remains an expanding metabolic burden, and Indonesia ranks fifth globally with an estimated 10.7 million cases in 2019. Chronic hyperglycaemia damages the kidneys and pancreas through oxidative stress pathways, which keeps plant-derived antioxidants under active investigation as adjunct therapy. Red betel leaf (*Piper crocatum*) contains flavonoids and alkaloids that inhibit α -glucosidase in vitro, yet histopathological evidence on target organs remains limited and inconsistently reported. This experimental study evaluated the effect of boiled red betel leaf water at concentrations of 25%, 50%, 75%, and 100% on renal histopathology (tubular cell size and glomerular diameter) and pancreatic histopathology (nuclear and cytoplasmic clarity of the islets of Langerhans) in alloxan-induced diabetic mice (*Mus musculus*), given a single dose of 100 mg/kgBW. A Completely Randomized Design was used with two control groups (K+ and K-) and four treatment groups (P1-P4), totalling 18 mice with three visual-field replicates per group. The extract was administered by gavage at 0.13 mL per day for seven days. Multivariate Analysis of Variance (MANOVA) on renal parameters showed a significant concentration effect on tubular size and glomerular diameter (Wilks' Lambda = 0.011; $F = 19.205$; $p = 0.000$), with tubular size and glomerular diameter increasing proportionally with concentration, reaching 58.2% and 64.2% at P4 relative to K+. The Kruskal-Wallis test on pancreatic data was also significant ($p = 0.015$), and Mann-Whitney post-hoc analysis indicated that groups P3 and P4 differed significantly from K+ but not from K-. Concentrations of 75% and 100% produced histological features closest to the healthy control. Post-treatment blood glucose values for groups P1-P4 were incompletely recorded in this study, so the magnitude of glycaemic reduction cannot yet be confirmed; this gap should be closed in follow-up work before an effective concentration is recommended for the next stage of preclinical testing.*

Keywords: *diabetes mellitus; kidney; pancreas; *Piper crocatum*; histopathology*

Received: 16 Januari 2024 | **Revised:** 15 Februari 2024 | **Accepted:** 20 Februari 2024 | **Published:** 21 Februari 2024

Cite this article: Surati, Armalina, D., Wahyuningrum, E., Cahyaning, D. A., & Amelia, P. F. (2024). Efek air rebusan daun sirih merah (*Piper crocatum*) terhadap histopatologi ginjal dan pankreas mencit diabetes: kajian ulang metodologis dan interpretasi data. *Journal of Biomedical Sciences and Health*, 1(1), 1-11. <https://doi.org/10.34310/jbsh.v1.i1.6>

Efek Air Rebusan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Terhadap Histopatologi Ginjal dan Pankreas Mencit Diabetes

Diabetes melitus tetap menjadi beban metabolik yang membesar setiap tahun, dan Indonesia berada pada posisi kelima dunia dengan taksiran 10,7 juta kasus pada 2019 (International Diabetes Federation, dikutip dalam Kemenkes RI, 2020). Hiperglikemia kronis merusak ginjal dan pankreas melalui jalur stres oksidatif, sehingga senyawa antioksidan berbasis tumbuhan terus dicari sebagai terapi pendamping. Daun sirih merah (*Piper crocatum*) mengandung flavonoid dan alkaloid yang secara in vitro menghambat enzim α -glukosidase, namun bukti histopatologis pada organ target masih terbatas dan kerap dilaporkan secara tidak konsisten. Penelitian eksperimental ini menilai efek air rebusan daun sirih merah konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% terhadap histopatologi ginjal (ukuran sel tubulus dan diameter glomerulus) serta pankreas (kejelasan inti sel dan sitoplasma pulau Langerhans) pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi aloksan dosis tunggal 100 mg/kgBB. Rancangan Acak Lengkap digunakan dengan dua kelompok kontrol (K+ dan K-) dan empat kelompok perlakuan (P1–P4), total 18 ekor mencit, tiga ulangan lapang pandang per kelompok. Sonde ekstrak diberikan sebanyak 0,13 mL per hari selama tujuh hari. Uji Multivariate Analysis of Variance (MANOVA) pada parameter ginjal menunjukkan pengaruh konsentrasi yang bermakna terhadap ukuran tubulus dan diameter glomerulus (Wilks' Lambda = 0,011; F = 19,205; p = 0,000), dengan kenaikan ukuran tubulus dan diameter glomerulus yang berbanding lurus dengan konsentrasi, mencapai 58,2% dan 64,2% pada P4 dibandingkan K+. Uji Kruskal-Wallis pada data pankreas juga bermakna (p = 0,015), dan uji lanjut Mann-Whitney menunjukkan bahwa kelompok P3 dan P4 berbeda signifikan terhadap K+ namun tidak berbeda terhadap K-. Konsentrasi 75% dan 100% memberikan gambaran histologis yang paling mendekati kelompok sehat. Data glukosa darah pascaperlakuan pada kelompok P1–P4 tidak lengkap terekam dalam catatan penelitian ini sehingga besaran penurunannya belum dapat dipastikan; keterbatasan ini perlu ditutup pada penelitian lanjutan sebelum konsentrasi efektif direkomendasikan untuk uji praklinik tahap berikutnya.

Keyword: diabetes melitus; ginjal; pankreas; *Piper crocatum*; histopatologi

1. PENDAHULUAN

Sekitar 536,6 juta jiwa. Angka itulah taksiran jumlah penyandang diabetes melitus di dunia pada 2021 menurut International Diabetes Federation—setara 10,5% populasi dewasa—dengan proyeksi menembus 783,2 juta jiwa pada 2045 (Sun et al., 2021). Diabetes melitus sendiri didefinisikan secara klinis sebagai kelompok penyakit metabolik yang ditandai hiperglikemia akibat gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2026). Data survei kesehatan dasar nasional turut mengonfirmasi tren yang sama di Indonesia: prevalensi prediabetes dan diabetes meningkat baik di wilayah urban maupun rural antara 2013 dan 2018, seiring bergesernya pola makan dan menurunnya aktivitas fisik masyarakat (Liberty et al., 2024). Penyakit metabolik ini bukan sekadar gangguan gula darah; ia adalah pintu masuk bagi rentetan komplikasi yang jauh lebih mematikan, mulai dari penyakit jantung koroner, stroke, hingga gagal ginjal (Sun et al., 2021).

Yang membuat diabetes begitu berbahaya adalah sifatnya yang diam-diam meruntuhkan organ dari dalam. Insulin, hormon yang semestinya membuka pintu sel bagi glukosa, gagal bekerja secara adekuat—baik karena produksinya berkurang maupun karena resistensi jaringan (Sun et al., 2021). Ketika kondisi ini berlangsung kronis, hiperglikemia kronis memicu serangkaian jalur metabolik dan hemodinamik yang saling berkelindan—stres oksidatif, aktivasi TGF- β 1 pada sel mesangial, hingga perubahan ekspresi transporter glukosa GLUT-1—yang pada akhirnya bermuara pada nefropati diabetik, tercermin pada peningkatan kreatinin serum, asam urat, dan nitrogen urea darah (Ratan et al., 2025). Kerusakan ini tidak berhenti di glomerulus; riset dekade terakhir justru menunjukkan bahwa cedera tubulus proksimal—dipicu hiperglikemia, hipoksia, stres retikulum endoplasma, dan kematian sel terprogram—berperan setidaknya sama besar dalam mendorong perburukan penyakit ginjal diabetik, sebuah pergeseran fokus dari

paradigma lama yang hanya menyoroti glomerulus (Wang et al., 2023).

Pankreas berada tepat di pusat lingkaran ini. Organ berfungsi ganda ini menyimpan pulau-pulau Langerhans yang terdiri atas sel beta penghasil insulin, sel alfa penghasil glukagon, sel delta penghasil somatostatin, dan sel PP penghasil polipeptida pankreatik. Kerusakan pada sel-sel ini, baik berupa nekrosis, degenerasi, vakuolisasi, maupun penurunan jumlah dan ukuran pulau Langerhans, telah berulang kali dilaporkan pada model hewan diabetes (Nubatonis et al., 2015). Ironisnya, organ yang memicu penyakit ini pula yang paling menderita akibatnya.

Terapi farmakologis konvensional, insulin dan obat hipoglikemik oral, tetap menjadi tulang punggung penatalaksanaan diabetes, tetapi keterbatasan akses, efek samping, dan biaya jangka panjang mendorong pencarian alternatif herbal yang lebih terjangkau. Di sinilah sirih merah (*Piper crocatum*) menarik perhatian. Tanaman ini menyimpan metabolit sekunder berupa flavonoid dan alkaloid yang bertindak sebagai agen hipoglikemik; kajian docking molekuler menunjukkan senyawa aktif *Piper crocatum*, termasuk golongan flavonoid, berikatan pada sisi aktif enzim α -glukosidase dan berpotensi menghambat kerjanya (Weni et al., 2020)—mekanisme yang sejalan dengan tinjauan literatur lebih luas atas senyawa flavonoid tumbuhan sebagai penghambat ganda α -glukosidase dan α -amilase pada tata laksana diabetes tipe 2 (Dirir et al., 2021)—sementara kandungan alkaloid dan fenolik lain turut berkontribusi pada aktivitas antioksidan serta antidiabetik tanaman ini secara luas, sebagaimana terangkum dalam tinjauan sistematis atas farmakologi *Piper crocatum* (Apriyanti et al., 2026). Kombinasi sifat antioksidan dan hipoglikemik inilah yang menjadi alasan utama sirih merah terus diuji pada berbagai model diabetes eksperimental.

Bukti awal memang menjanjikan. Hasibuan et al. (2016) mendapati bahwa ekstrak daun sirih merah, dikombinasikan dengan kulit kayu manis (*Cinnamomum burmannii*), menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi streptozotocin secara bermakna, disertai peningkatan jumlah sel beta pada pulau Langerhans hingga 2,2 kali lipat pada dosis 1260 mg/kgBB, sedangkan Handini dan Rohmah

(2018) melaporkan perbaikan histopatologi pankreas mencit setelah pemberian kombinasi ekstrak sirih merah dan daun pandan wangi. Namun demikian, gambaran histopatologi pulau Langerhans pada penderita diabetes tidak selalu seragam, sebagian penelitian menemukan perubahan kuantitatif berupa pengurangan jumlah dan ukuran sel, sebagian lain menemukan perubahan kualitatif seperti nekrosis dan vakuolisasi (Nubatonis et al., 2015). Pada organ ginjal, arah perubahannya bahkan lebih beragam: Dewi et al. (2023) melaporkan efek renoprotektif ekstrak etanol *Piper crocatum* terhadap histopatologi ginjal tikus yang mengalami cedera nefrotoksik akibat gentamisin. Meski model cedera yang digunakan bukan model diabetes, temuan ini menegaskan bahwa tanaman yang sama berpotensi melindungi jaringan ginjal lewat lebih dari satu jalur kerusakan. Keragaman hasil semacam ini justru menegaskan bahwa hubungan dosis-respons sirih merah terhadap histopatologi ginjal dan pankreas dalam konteks diabetes spesifik belum terpetakan secara memadai, celah yang coba dijawab oleh penelitian ini.

Penelitian ini karenanya dirancang untuk menguji pengaruh air rebusan daun sirih merah pada empat taraf konsentrasi—25%, 50%, 75%, dan 100%—terhadap histopatologi ginjal dan pankreas mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi diabetes dengan aloksan, sekaligus mengidentifikasi konsentrasi yang paling efektif memperbaiki gambaran mikroskopis kedua organ tersebut. Mencit dipilih sebagai model karena siklus hidupnya yang pendek, kemudahan penanganan, dan kemiripan struktur anatomis-fisiologis-genetik dengan manusia (Mutiarahmi et al., 2021), sedangkan aloksan dipilih sebagai agen diabetagonik karena kemampuannya merusak sel beta pankreas secara selektif melalui pembentukan spesies oksigen reaktif dan gangguan jalur persinyalan Keap1/Nrf2, sebuah mekanisme sitotoksik yang terukur dan dapat diinduksi melalui pemberian intravena, intraperitoneal, atau subkutan (Lou et al., 2021). Dibandingkan streptozotocin, aloksan juga dilaporkan menghasilkan model diabetes yang lebih konsisten pada sejumlah parameter metabolik dalam studi komparatif tikus Wistar terbaru, meski keduanya tetap merupakan pilihan valid bergantung pada tujuan penelitian (Mindruț et al., 2026).

2. METODE

Penelitian eksperimental ini dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang mulai 20 Januari 2022, menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam kelompok: dua kelompok kontrol—K⁻ (mencit sehat tanpa perlakuan) dan K⁺ (mencit diabetes tanpa perlakuan ekstrak)—serta empat kelompok perlakuan P1, P2, P3, dan P4 yang masing-masing menerima sonde air rebusan daun sirih merah konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%. Besar sampel dihitung dengan rumus Gomez dan Gomez, menghasilkan 18 ekor mencit (*Mus musculus*) jantan sehat berusia 8–12 minggu dengan berat 20–30 gram, tiga ekor untuk tiap kelompok.

Hewan coba diadaptasikan selama tujuh hari sebelum diinduksi aloksan dosis tunggal 100 mg/kgBB—dosis yang telah dikonversi dari dosis manusia ke mencit—pada kelompok K⁺, P1, P2, P3, dan P4. Peningkatan kadar glukosa darah dipantau selama tiga hari pascainduksi; mencit dinyatakan diabetes apabila kadar glukosa darah melebihi 200 mg/dL pada hari ke-11, ambang yang merujuk pada kriteria diagnostik hiperglikemia yang lazim digunakan pada literatur klinis (American Diabetes Association Professional Practice Committee, 2026). Daun sirih merah yang digunakan adalah daun berusia setengah tua dari ruas ke-6 hingga ke-12, direbus untuk memperoleh konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%, kemudian diberikan melalui sonde oral sebanyak 0,13 mL per ekor per hari selama tujuh hari berturut-turut, dengan prosedur penanganan dan pelaporan hewan coba yang merujuk pada prinsip 3R (replacement, reduction, refinement) dan pedoman ARRIVE 2.0 (Percie du Sert et al., 2020).

Setelah periode perlakuan, mencit diterminasi dan organ ginjal serta pankreas diproses melalui teknik histologi standar (maserasi dan histoteknik) untuk menghasilkan preparat yang diamati di bawah mikroskop cahaya pada perbesaran 400×, tiga lapang pandang per preparat. Pada ginjal, dua parameter diukur: (1) ukuran sel tubulus, dinilai dari bentuk tubulus yang mengecil dan menutup, ireguleritas bentuk, serta hilangnya brush border pada tubulus proksimal—penanda cedera tubulus yang kini dipandang berkontribusi signifikan terhadap perburukan penyakit ginjal diabetik, sejajar dengan kerusakan glomerulus

(Wang et al., 2023); dan (2) diameter glomerulus, diukur menggunakan perangkat lunak autovisual pada komputer. Pada pankreas, kejelasan inti sel dan sitoplasma pulau Langerhans dinilai secara semikuantitatif dan dikategorikan sebagai tidak jelas, kurang jelas, atau jelas.

Uji normalitas Shapiro-Wilk pada data tubulus dan diameter glomerulus dari seluruh kelompok menghasilkan nilai signifikansi di atas 0,05, menandakan sebaran data normal, sehingga dilanjutkan dengan uji Multivariate Analysis of Variance (MANOVA). Sebaliknya, data kejelasan inti sel dan sitoplasma pankreas tidak seluruhnya berdistribusi normal—konsentrasi 25% dan 50% memenuhi asumsi normalitas ($p = 0,363$ dan $p = 0,637$), sedangkan konsentrasi 75% dan 100% tidak ($p = 0,000$ untuk keduanya)—sehingga dianalisis dengan uji nonparametrik Kruskal-Wallis, dilanjutkan uji Mann-Whitney untuk membandingkan pasangan kelompok secara spesifik. Seluruh analisis statistik menggunakan taraf kemaknaan $\alpha = 0,05$.

Perlu dicatat bahwa unit analisis pada uji statistik ini adalah lapang pandang ($n = 3$ per kelompok, dari organ yang sama), bukan jumlah hewan coba secara independen. Rancangan semacam ini rentan terhadap pseudoreplikasi karena ulangan yang diambil dari organ yang sama cenderung berkorelasi satu sama lain, sehingga varians antarkelompok berpotensi ditaksir terlalu rendah dan signifikansi statistik berpotensi dilebih-lebihkan—sebuah kekeliruan analisis yang secara khusus diperingatkan pada penelitian fisiologi yang membandingkan kelompok berdasarkan pengukuran bertingkat semacam ini (Eisner, 2021). Keterbatasan ini dibahas lebih lanjut pada bagian Keterbatasan Penelitian.

3. HASIL

Sebelum induksi, ketiga ulangan pada kelompok K⁻ (mencit sehat tanpa perlakuan apa pun) menunjukkan kadar glukosa darah normal, berkisar 62,8–176 mg/dL; ambang hiperglikemia ditetapkan pada kadar >200 mg/dL. Setelah induksi aloksan, kelompok K⁺ menunjukkan kadar glukosa darah 395, 597, dan >600 mg/dL pada ketiga ulangan, yang kemudian turun menjadi 389, 452, dan 486 mg/dL setelah tujuh hari pemberian air rebusan sirih merah—namun nilai ini tetap berada di atas

ambang normal (hiperglikemia persisten). Kadar glukosa darah sebelum perlakuan pada kelompok P1, P2, P3, dan P4 juga tercatat dan disajikan pada Tabel 1.

Naskah asli penelitian ini melaporkan persentase penurunan glukosa darah pascaperlakuan untuk P1 (16,4%), P2 (20,4%), P3 (21,0%), dan P4 (58,4%), tetapi nilai kadar glukosa darah pascaperlakuan yang menjadi dasar perhitungan tersebut tidak tercantum dalam catatan hasil yang tersedia untuk kajian ulang ini. Lebih jauh, dua dari tiga ulangan pada kelompok P1–P4 mencatat glukosa darah “>600 mg/dL”, yaitu nilai terensor pada batas atas alat ukur glukometer, sehingga besaran penurunan yang presisi terhadap baseline tersebut secara matematis tidak dapat dihitung. Oleh karena itu, angka persentase penurunan glukosa darah untuk P1–P4 tidak disajikan kembali pada kajian ulang ini; kami merekomendasikan kepada penulis asli untuk menerbitkan data mentah kadar glukosa darah pascaperlakuan agar klaim efektivitas hipoglikemik dapat diverifikasi secara independen.

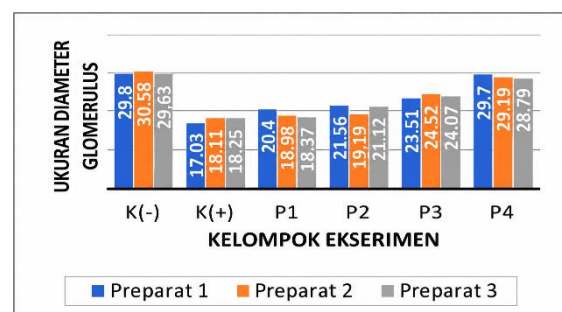
Tabel 1. Kadar glukosa darah mencit sebelum perlakuan (hari ke-11 pascainduksi aloksan)

Kelompok	Glukosa darah sebelum (mg/dL)	Glukosa darah sesudah (mg/dL)
K– (sehat)	62,8 – 176	tidak diinduksi diabetes
K+ (diabetes, tanpa ekstrak)	395 / 597 / >600	389 / 452 / 486 (tetap hiperglikemia)
P1 (25%)	526 / >600 / >600	tidak tercatat dalam naskah asli
P2 (50%)	>600 / >600 / 523	tidak tercatat dalam naskah asli
P3 (75%)	>600 / >600 / 463	tidak tercatat dalam naskah asli
P4 (100%)	>600 / >600 / 440	tidak tercatat dalam naskah asli

Keterangan: “>600” menandakan pembacaan glukometer telah melampaui batas ukur atas (tercensored).

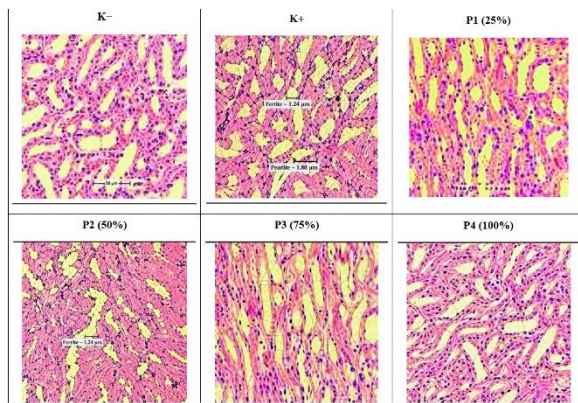
3.1 Histopatologi Ginjal

Ukuran sel tubulus proksimal—diukur dalam mikrometer (μm) dari preparat yang dianotasi perangkat lunak autovisual—menunjukkan pola yang berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak (Gambar 1). Rerata ukuran tubulus pada K– (mencit sehat) mencapai 7,17 μm , tertinggi di antara seluruh kelompok, sedangkan K+ (diabetes tanpa perlakuan) turun tajam menjadi 4,46 μm —penyusutan yang konsisten dengan atrofi tubulus akibat hiperglikemia kronis. Pemberian ekstrak mengembalikan ukuran ini secara bertahap: 4,71 μm pada P1, 5,22 μm pada P2, 5,99 μm pada P3, hingga 7,07 μm pada P4—nilai yang nyaris menyamai kelompok sehat.



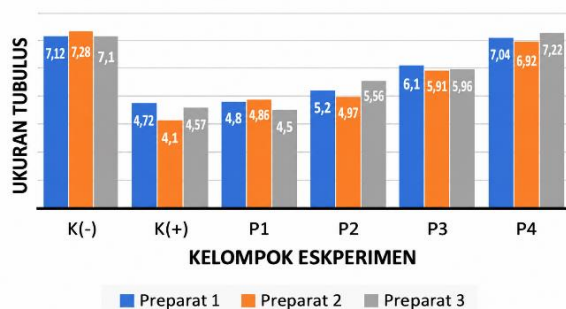
Gambar 1. Rerata ukuran sel tubulus ginjal (μm) per preparat pada tiap kelompok eksperimen.

Dibandingkan dengan K+ sebagai baseline diabetes, kenaikan ukuran tubulus tercatat sebesar 5,6% pada P1, 16,8% pada P2, 34,3% pada P3, dan 58,2% pada P4—pola dosis-respons yang cukup rapi untuk sebuah penelitian pendahuluan. Gambaran mikroskopis pada Gambar 2 memperkuat data kuantitatif ini: tubulus K+ tampak mengecil dan menutup dengan brush border yang nyaris hilang, sedangkan tubulus P3 dan P4 menunjukkan struktur yang jauh lebih teratur, mendekati morfologi K–.



Gambar 2. Histopatologi tubulus ginjal mencit pada kelompok K-, K+, P1, P2, P3, dan P4 (pembesaran 400×).

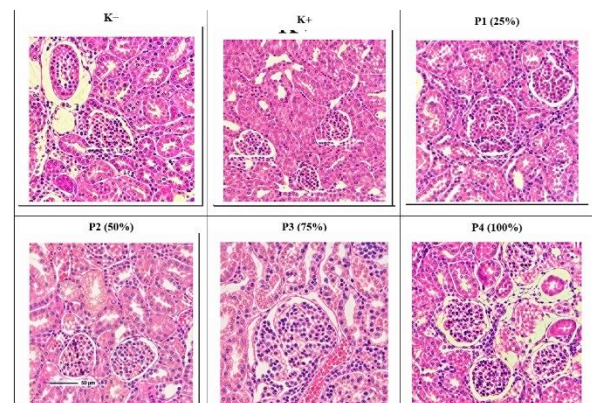
Pola serupa terlihat pada diameter glomerulus (Gambar 3). Kelompok K- mencatat rerata diameter 30,00 μm , sedangkan K+ turun menjadi 17,80 μm . Pemberian ekstrak kembali menaikkan ukuran ini secara bertahap: 19,32 μm (P1), 20,62 μm (P2), 24,03 μm (P3), dan 29,23 μm (P4), setara dengan peningkatan 8,5%, 15,9%, 35,0%, dan 64,2% dibandingkan dengan K+.



Gambar 3. Rerata diameter glomerulus ginjal (μm) per preparat pada tiap kelompok eksperimen.

Patut digarisbawahi bahwa arah perubahan ini—glomerulus yang justru mengecil pada kondisi diabetes dan membesar kembali setelah perlakuan—berlawanan dengan paradigma klasik nefropati diabetik tahap dini, yang umumnya ditandai dengan hipertrofi glomerulus akibat hiperfiltrasi (glomerulomegali), bukan penyusutan. Kemungkinan penjelasannya ada dua: pertama, pengukuran diameter pada satu bidang irisan dua dimensi tanpa koreksi stereologis dapat bias

terhadap orientasi potongan; kedua, model alokasi pada mencit dengan masa observasi tujuh hari mungkin telah melewati fase hiperfiltrasi awal dan memasuki fase sklerosis dini yang justru mengecilkan glomerulus. Naskah asli tidak membahas kemungkinan ini, dan kami menilai diskusi tentang arah perubahan yang tidak lazim ini semestinya menjadi bagian penting dari argumentasi ilmiah penelitian ini, bukan sekadar dilewatkan.



Gambar 4. Histopatologi diameter glomerulus ginjal mencit pada kelompok K-, K+, P1, P2, P3, dan P4 (pembesaran 400×).

Uji Shapiro-Wilk menyatakan bahwa seluruh data ukuran tubulus dan diameter glomerulus berdistribusi normal ($p > 0,05$), dan uji homogenitas varians juga terpenuhi ($p > 0,05$), sehingga data dianalisis dengan MANOVA. Hasil uji menunjukkan pengaruh kelompok eksperimen yang bermakna secara statistik terhadap kombinasi ukuran tubulus dan diameter glomerulus (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil uji Multivariate Analysis of Variance (MANOVA) untuk efek kelompok eksperimen

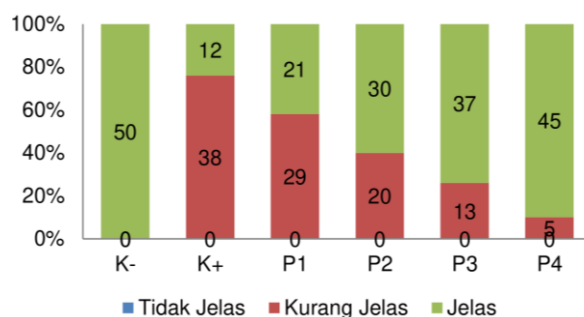
Statistik	Nilai	F	df Hipotesis	df Galat	Sig.
Pillai's Trace	1,117	3,033	10	24	0,013
Wilks' Lambda	0,011	19,205	10	22	0,000
Hotelling's Trace	81,624	81,624	10	20	0,000
Roy's Largest Root	81,476	195,500	5	12	0,000

Nilai F pada Roy's Largest Root ditulis ulang dari notasi ilmiah asli (1,955E2) menjadi bentuk desimal untuk kemudahan pembacaan.

Keempat statistik multivariat sepakat menunjukkan $p < 0,05$, yang berarti kelompok eksperimen (K^- , K^+ , $P1-P4$) memberikan pengaruh yang berbeda secara bermakna terhadap kombinasi ukuran tubulus dan diameter glomerulus. Perlu ditegaskan bahwa hasil ini adalah uji omnibus: uji lanjut berpasangan (pairwise comparison) antarkelompok tidak tersedia dalam naskah asli yang menjadi dasar kajian ulang ini, sehingga klaim mengenai kelompok mana yang berbeda secara signifikan satu sama lain sebaiknya menunggu analisis post hoc yang eksplisit—bukan disimpulkan langsung dari tren deskriptif pada Gambar 1 dan Gambar 3, sebagaimana sempat dilakukan pada naskah asli.

3.2 Histopatologi Pankreas

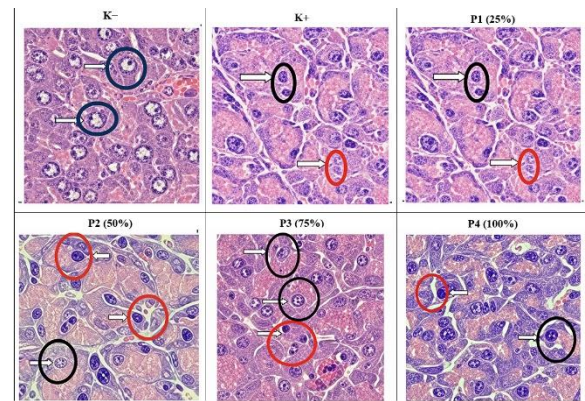
Pengamatan kejelasan inti sel dan sitoplasma pulau Langerhans dikategorikan menjadi tiga kelas: tidak jelas, kurang jelas, dan jelas (Gambar 5). Kelompok K^- mencatat 50 dari 50 unit pengamatan (100%) pada kategori jelas, sebuah baseline sehat yang sempurna. Kelompok K^+ anjlok menjadi 12 dari 50 unit (24%) pada kategori jelas, dengan mayoritas (38 unit, 76%) berada pada kategori kurang jelas. Perlakuan ekstrak memperbaiki proporsi ini secara progresif: 21/50 (42%) pada $P1$, 30/50 (60%) pada $P2$, 37/50 (74%) pada $P3$, dan 45/50 (90%) pada $P4$.



Gambar 5. Distribusi kategori kejelasan inti sel dan sitoplasma pulau Langerhans pankreas mencit per kelompok eksperimen.

Dibandingkan dengan K^- sebagai rujukan sel sehat, penurunan proporsi kategori jelas tercatat sebesar 76% pada K^+ , 58% pada $P1$,

40% pada $P2$, 26% pada $P3$, dan hanya 10% pada $P4$, artinya $P4$ adalah kelompok yang gambaran selnya paling mendekati kondisi sehat, diikuti $P3$. Gambar 6 menampilkan potret mikroskopis yang menjadi dasar kategorisasi ini, lengkap dengan penanda lingkaran hitam (inti sel dan sitoplasma jelas) dan lingkaran merah (inti sel dan sitoplasma kurang jelas).



Gambar 6. Histopatologi inti sel dan sitoplasma pulau Langerhans pankreas mencit pada kelompok K^- , K^+ , $P1$, $P2$, $P3$, dan $P4$ (pembesaran 400 $\times$). Lingkaran hitam menandai inti sel dan sitoplasma yang jelas; lingkaran merah menandai inti sel dan sitoplasma yang kurang jelas.

Uji normalitas Shapiro-Wilk pada data ini menghasilkan hasil campuran: konsentrasi 25% ($p = 0,363$) dan 50% ($p = 0,637$) berdistribusi normal, sedangkan konsentrasi 75% dan 100% (keduanya $p = 0,000$) tidak. Karena tidak seluruh kelompok memenuhi asumsi normalitas, data dianalisis dengan uji nonparametrik Kruskal-Wallis, yang menghasilkan nilai signifikansi 0,015 ($p < 0,05$)—menolak hipotesis nol dan menandakan adanya pengaruh perlakuan terhadap histopatologi pankreas. Uji lanjut Mann-Whitney mengonfirmasi bahwa kelompok $P3$ dan $P4$ berbeda secara signifikan dibandingkan dengan K^+ , tetapi tidak berbeda secara signifikan dibandingkan dengan K^- , memperkuat kesimpulan bahwa kedua konsentrasi tertinggi inilah yang paling efektif mengembalikan gambaran histologis pulau Langerhans mendekati kondisi sehat.

4. PEMBAHASAN

Diabetes melitus adalah kondisi ketika kadar glukosa darah tetap tinggi karena tubuh

gagal melepaskan atau memanfaatkan insulin secara adekuat (Sun et al., 2021). Tanpa penanganan yang memadai, hiperglikemia kronis membuka jalan bagi koma hipoglikemia, penyakit jantung koroner, stroke, gangren, disfungsi ereksi, hingga gagal ginjal (Sun et al., 2021). Fakta inilah yang membuat pencarian agen hipoglikemik alami, termasuk sirih merah, tetap relevan sebagai pelengkap terapi farmakologis konvensional.

Kandungan flavonoid pada daun sirih merah bekerja lewat dua jalur yang saling melengkapi. Sebagai antioksidan, flavonoid menangkalkan radikal bebas dan meminimalkan kerusakan jaringan akibat peroksidasi lipid; sebagai penghambat enzim α -glukosidase, flavonoid *Piper crocatum* terbukti secara *in silico* berikatan pada sisi aktif enzim tersebut sehingga berpotensi memperlambat pemecahan karbohidrat kompleks dan menekan lonjakan glukosa darah (Weni et al., 2020). Kandungan alkaloid dan senyawa fenolik lain pada sirih merah turut memperkuat efek antioksidan ini—pada model tikus diabetes tipe 2 yang diberi nanopartikel ekstrak daun sirih merah, misalnya, kerusakan neuron akibat stres oksidatif pada plexus saraf usus tampak berkurang secara bermakna (Pangestiningih et al., 2023). Kombinasi kedua mekanisme ini secara teoretis masuk akal untuk menjelaskan mengapa histopatologi ginjal dan pankreas membaik seiring naiknya konsentrasi ekstrak pada penelitian ini, meskipun penelitian ini sendiri tidak mengukur kadar flavonoid maupun aktivitas enzimatis secara langsung, sehingga argumen mekanistik ini tetap bersifat inferensial, dipinjam dari literatur lain, bukan dibuktikan langsung oleh data yang dikumpulkan.

Pengamatan mikroskopis ginjal memperlihatkan pola kerusakan yang khas: sel tubulus dan glomerulus pada kelompok K⁺ mengalami degenerasi dan nekrosis, sedangkan degenerasi paling ringan justru ditemukan pada P3 dan P4, kelompok dengan konsentrasi ekstrak tertinggi. Bila ditelusuri ke mekanisme alokan, hal ini konsisten dengan sifat sitotoksik selektif zat tersebut terhadap sel beta pankreas melalui pembentukan spesies oksigen reaktif dan gangguan jalur persinyalan antioksidan seluler, dengan efek sekunder yang turut menjalar ke jaringan ginjal (Lou et al., 2021). Kehadiran antioksidan dosis tinggi dari ekstrak

sirih merah tampaknya cukup untuk meredam sebagian besar kerusakan ini, meskipun—sekali lagi—penelitian ini tidak mengukur biomarker stres oksidatif secara langsung (misalnya malondialdehid atau superoxide dismutase), sehingga klaim “antioksidan meredam kerusakan” tetap berada pada level plausibilitas, bukan pembuktian biokimiawi.

Yang lebih menuntut perhatian adalah arah perubahan diameter glomerulus. Sebagian besar literatur klasik nefropati diabetik menyebut fase dini penyakit ini ditandai dengan hipertrofi glomerulus akibat hiperfiltrasi, bukan penyusutan. Penelitian ini justru mencatat pola sebaliknya: glomerulus K⁺ mengecil dibandingkan dengan K⁻, dan mengembang kembali seiring pemberian ekstrak. Ada dua penjelasan yang masuk akal. Pertama, pengukuran diameter dari satu bidang irisan histologis dua dimensi rentan bias terhadap sudut potongan jaringan tanpa koreksi stereologis, sehingga variasi yang terekam bisa jadi sebagian mencerminkan artefak teknis, bukan murni perubahan biologis. Kedua, dengan masa observasi tujuh hari pascainduksi alokan, tidak tertutup kemungkinan model ini telah melewati fase hiperfiltrasi akut dan memasuki fase awal glomerulosklerosis yang justru mengecilkan struktur glomerulus. Naskah asli penelitian ini tidak menyinggung sama sekali kemungkinan ini, padahal justru di titik inilah nilai ilmiah sebuah diskusi diuji—bukan pada seberapa rapi angka persentase disusun, melainkan pada kejujuran menghadapi data yang tidak sesuai ekspektasi teori mapan.

Pada pankreas, gambaran yang lebih konsisten dengan literatur justru muncul. Kejelasan inti sel dan sitoplasma pulau Langerhans menurun tajam pada K⁺ dan membaik seiring dengan konsentrasi ekstrak, sejalan dengan laporan bahwa ekstrak sirih merah mampu meningkatkan jumlah sel beta pada pulau Langerhans dan mendukung pemulihan kapasitas produksi insulin pada hewan diabetes (Hasibuan et al., 2016; Handini & Rohmah, 2018). Uji Mann-Whitney yang menunjukkan P3 dan P4 tidak berbeda secara signifikan dari K⁻ memberi bobot statistik pada klaim ini—suatu keunggulan metodologis dibandingkan dengan data ginjal yang, sebagaimana dibahas di atas, baru berhenti pada uji omnibus tanpa perbandingan berpasangan yang eksplisit.

Satu pertanyaan yang luput dari naskah asli adalah keamanan konsentrasi tertinggi itu sendiri. Bila 100% justru memberikan gambaran histopatologis paling mendekati kelompok sehat, apakah dosis setinggi itu aman bagi ginjal dalam pemakaian jangka panjang? Di sini literatur toksikologi justru memberi sinyal yang berlawanan arah dengan kekhawatiran itu: uji toksisitas akut dan subkronis 90 hari terhadap formulasi herbal yang mengandung ekstrak *Piper crocatum* bersama dua tanaman obat lain tidak menemukan perubahan bermakna pada parameter hematologi, biokimia darah, maupun gambaran histopatologis organ, termasuk ginjal, pada dosis hingga 90 mg/kgBB per hari (Murwanti et al., 2023). Namun demikian, profil keamanan tersebut berasal dari formulasi kombinasi dan rentang dosis yang berbeda dari ekstrak tunggal berkonsentrasi 100% yang digunakan pada penelitian ini, sehingga klaim “semakin tinggi konsentrasi semakin baik” tetap tidak boleh diperluas begitu saja tanpa uji toksisitas subkronis yang secara spesifik menyasar sediaan dan dosis yang identik. Penelitian lanjutan idealnya menyertakan kelompok dengan konsentrasi di atas 100% atau masa pajanan yang lebih panjang untuk memetakan titik saat efek terapeutik berbalik menjadi efek toksik.

Satu catatan kritis perlu disampaikan mengenai data glukosa darah. Efektivitas hipoglikemik adalah klaim sentral yang mendasari rasional penggunaan sirih merah pada diabetes, namun data pascaperlakuan untuk kelompok P1–P4 pada penelitian ini tidak lengkap dan dari nilai yang tersedia, mayoritas baseline tercatat melampaui batas ukur glukometer (>600 mg/dL). Tanpa nilai pascaperlakuan yang utuh dan baseline yang tidak terensor, argumen bahwa ekstrak sirih merah menurunkan glukosa darah secara bermakna pada penelitian ini tetap menggantung, terlepas dari perbaikan histopatologis yang tercatat cukup meyakinkan pada ginjal dan pankreas. Membaiknya struktur jaringan tanpa data glikemik yang solid membuka kemungkinan lain yang tidak bisa disingkirkan: bahwa efek yang teramati sebagian berasal dari komponen non-glikemik ekstrak (misalnya efek antioksidan langsung pada jaringan), bukan semata-mata perbaikan kontrol gula darah sistemik.

4.1 Keterbatasan Penelitian

Beberapa keterbatasan perlu diakui secara eksplisit agar interpretasi hasil tidak melampaui bukti yang tersedia. Pertama, data kadar glukosa darah pascaperlakuan untuk kelompok P1–P4 tidak tercatat lengkap dalam naskah yang menjadi dasar kajian ulang ini, sementara sebagian besar nilai baseline melampaui batas ukur glukometer (>600 mg/dL); akibatnya, klaim persentase penurunan glukosa darah tidak dapat diverifikasi secara independen dan sebaiknya tidak dikutip sebagai bukti efektivitas hipoglikemik sebelum data mentah dilengkapi. Kedua, satuan ulangan statistik ($n = 3$ per kelompok) berasal dari lapang pandang pada preparat organ yang sama, bukan dari hewan coba yang independen, sehingga terdapat risiko pseudoreplikasi yang dapat mengecilkan estimasi varians dan melebihi-lebihkan signifikansi statistik—persis pola yang diperingatkan pada kajian metodologis mengenai analisis data bertingkat dalam penelitian fisiologi (Eisner, 2021). Ketiga, pengukuran diameter glomerulus dilakukan pada satu bidang irisan dua dimensi tanpa koreksi stereologis, sehingga rentan terhadap bias orientasi potongan jaringan. Keempat, uji MANOVA yang dilaporkan bersifat omnibus; tidak tersedia data uji lanjut berpasangan untuk parameter ginjal, sehingga kelompok mana yang secara spesifik berbeda secara signifikan satu sama lain belum dapat dipastikan. Kelima, penelitian ini tidak mengukur biomarker stres oksidatif seluler secara langsung (misalnya malondialdehid atau superoxide dismutase), padahal kedua penanda ini telah mapan sebagai indikator kunci kerusakan oksidatif pada nefropati diabetik dan akan memperkuat argumen mekanistik yang selama ini bersifat inferensial (Vodošek Hojs et al., 2020).

5. KESIMPULAN

Air rebusan daun sirih merah (*Piper crocatum*) memberikan pengaruh yang bermakna secara statistik terhadap histopatologi ginjal dan pankreas mencit diabetes yang diinduksi aloksan. Pada ginjal, ukuran sel tubulus dan diameter glomerulus meningkat berbanding lurus dengan konsentrasi ekstrak, dari 5,6% dan 8,5% pada konsentrasi 25%, hingga 58,2% dan 64,2% pada konsentrasi 100% dibandingkan kelompok diabetes tanpa perlakuan (K^+) dengan uji MANOVA menegaskan pengaruh kelompok eksperimen yang signifikan (Wilks' Lambda $p = 0,000$).

Pada pankreas, kejelasan inti sel dan sitoplasma pulau Langerhans membaik seiring dengan konsentrasi, dari penurunan 58% (P1) menjadi hanya 10% (P4) dibandingkan dengan kelompok sehat (K-), dengan uji Kruskal-Wallis ($p = 0,015$) dan Mann-Whitney yang mengonfirmasi bahwa P3 dan P4 tidak berbeda secara signifikan dari kelompok sehat. Konsentrasi 75% dan 100% konsisten memberikan gambaran histopatologis yang paling mendekati kondisi sehat pada kedua organ, menjadikan keduanya kandidat konsentrasi paling potensial untuk diuji lebih lanjut.

Meski demikian, klaim efektivitas ekstrak ini sebagai agen hipoglikemik belum dapat dipastikan menunggu kelengkapan data glukosa darah pascaperlakuan yang tidak terensor. Penelitian berikutnya sebaiknya memperbesar jumlah hewan coba independen, mencatat kadar glukosa darah secara utuh dengan metode pengukuran yang tidak terbatas pada rentang 600 mg/dL, menambahkan pengukuran biomarker stres oksidatif, serta menyertakan uji lanjut berpasangan untuk parameter ginjal—dengan rentang perbandingan konsentrasi yang lebih rapat, baik di atas maupun di bawah 75–100%, sebagaimana disarankan pada penelitian awal ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang atas fasilitas yang digunakan selama pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- American Diabetes Association Professional Practice Committee. (2026). 2. Diagnosis and classification of diabetes: Standards of Care in Diabetes—2026. *Diabetes Care*, 49(Supplement_1), S27–S49. <https://doi.org/10.2337/dc26-S002>
- Apriyanti, E., Kurnia, D., Al-Anshori, J., & Takaya, A. (2026). From phytochemistry to drug discovery: A systematic review of multitarget pharmacology and lead compound prioritization of *Piper crocatum* Ruiz & Pav. *Drug Design, Development and Therapy*, 20, 611626. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S611626>
- Dewi, I. P., Fajrin, F. A., Yumna, N. K., Rahmawati, H. N., Christanty, F. M., & Holidah, D. (2023). Protective effects of *Piper crocatum* ethanol extract on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacy Education*, 23(4), 32–36. <https://doi.org/10.46542/pe.2023.234.3236>
- Dirir, A. M., Daou, M., Yousef, A. F., & Yousef, L. F. (2021). A review of alpha-glucosidase inhibitors from plants as potential candidates for the treatment of type-2 diabetes. *Phytochemistry Reviews*, 21(4), 1049–1079. <https://doi.org/10.1007/s11101-021-09773-1>
- Eisner, D. A. (2021). Pseudoreplication in physiology: More means less. *Journal of General Physiology*, 153(2), e202012826. <https://doi.org/10.1085/jgp.202012826>
- Handini, H. D., & Rohmah, J. (2018). Efektivitas formulasi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) dengan ekstrak daun pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) terhadap hiperglikemia serta histopatologi pankreas mencit. *Medicra (Journal of Medical Laboratory Science/Technology)*, 1(2), 54–67. <https://doi.org/10.21070/medicra.v1i2.1477>
- Hasibuan, M. S., Yasni, S., Bintang, M., & Ranti, A. S. (2016). Antihyperglycemic activity of *Piper crocatum* leaves and *Cinnamomum burmannii* bark mixture extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Mathematical and Fundamental Sciences*, 48(2), 178–191. <https://doi.org/10.5614/j.math.fund.sci.2016.48.2.8>
- Liberty, I. A., Kurniawan, F., Wijaya, C. N., Soewondo, P., & Tahapary, D. L. (2024). The impact of lifestyle changes on the prevalence of prediabetes and diabetes in urban and rural Indonesia: Results from the 2013 and 2018 Indonesian Basic Health Research (RISKESDAS) survey. *Diabetology*, 5(6), 537–553. <https://doi.org/10.3390/diabetology5060039>
- Lou, Y., Kong, M., Li, L., Hu, Y., Zhai, W., Qi, X., Liu, Z., & Wu, J. (2021). Inhibition of the Keap1/Nrf2 signaling pathway significantly promotes the progression of type 1 diabetes mellitus. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021, 7866720. <https://doi.org/10.1155/2021/7866720>

- Mîndruț, S.-G., Pop, C., Mârza, S.-M., Hoța, A.-T., Tăbăran, F.-A., Sall, I. M., Uifălean, A., Mogoșan, E.-L., Voștinăru, O., & Mogoșan, C.-I. (2026). Comparative analysis of streptozotocin, streptozotocin–nicotinamide and alloxan-based diabetes models in female Wistar rats. *Methods and Protocols*, 9(3), 72. <https://doi.org/10.3390/mps9030072>
- Murwanti, R., Nurrochmad, A., Gani, A. P., Sasmito, E., Edwina, A. E., Chandra, M. K., Suryawan, F. H., Wardana, A. R., Natalia, & Budiningsih, J. L. S. R. (2023). Acute and subchronic oral toxicity evaluation of herbal formulation: *Piper crocatum* Ruiz and Pav., *Typhonium flagelliforme* (Lodd.) Blume, and *Phyllanthus niruri* L. in Sprague-Dawley rats. *Journal of Toxicology*, 2023, 7511397. <https://doi.org/10.1155/2023/7511397>
- Mutiarahmi, C. N., Hartady, T., & Lesmana, R. (2021). Use of mice as experimental animals in laboratories that refer to the principles of animal welfare: A literature review. *Indonesia Medicus Veterinus*, 10(1), 134–145. <https://doi.org/10.19087/imv.2020.10.1.134>
- Nubatonis, D. C., Ndaong, N. A., & Selan, Y. N. (2015). 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>
- Pangestiningsih, T. W., Primatika, R. A., Budipitojo, T., & Wendo, W. D. (2023). Small intestine histologic neuronal features of type-2 diabetes mellitus rats treated with ethanolic extract red betel leaf (*Piper crocatum*) nanoparticle (EERbLNp). *Livestock and Animal Research*, 21(1), 51–60. <https://doi.org/10.20961/lar.v21i1.67929>
- Percie du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M. T., Baker, M., Browne, W. J., Clark, A., Cuthill, I. C., Dirnagl, U., Emerson, M., Garner, P., Holgate, S. T., Howells, D. W., Karp, N. A., Lazic, S. E., Lidster, K., MacCallum, C. J., Macleod, M., ... Würbel, H. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *PLOS Biology*, 18(7), e3000410. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>
- Ratan, Y., Rajput, A., Pareek, A., Pareek, A., & Singh, G. (2025). Comprehending the role of metabolic and hemodynamic factors alongside different signaling pathways in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(7), 3330. <https://doi.org/10.3390/ijms26073330>
- Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B. B., Stein, C., Basit, A., Chan, J. C. N., Mbanya, J. C., Pavkov, M. E., Ramachandaran, A., Wild, S. H., James, S., Herman, W. H., Zhang, P., Bommer, C., Kuo, S., Boyko, E. J., & Magliano, D. J. (2021). IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 183, 109119. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>
- Vodošek Hojs, N., Bevc, S., Ekart, R., & Hojs, R. (2020). Oxidative stress markers in chronic kidney disease with emphasis on diabetic nephropathy. *Antioxidants*, 9(10), 925. <https://doi.org/10.3390/antiox9100925>
- Wang, Y., Jin, M., Cheng, C. K., & Li, Q. (2023). Tubular injury in diabetic kidney disease: Molecular mechanisms and potential therapeutic perspectives. *Frontiers in Endocrinology*, 14, 1238927. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1238927>
- Weni, M., Safithri, M., & Seno, D. S. H. (2020). Molecular docking of active compounds *Piper crocatum* on the α -glucosidase enzyme as antidiabetic. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 7(2), 64–72. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v7i2.21120>