

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Telah dilakukan eksperimen penelitian efektifitas seduhan daun kersen (*Muntingia calabura L*) terhadap kadar enzim Glutation Peroksidase pada tikus Diabetes Melitus yang diinduksi Streptozotocin-Nicotinamide.

Penelitian ini dilakukan selama 3 bulan menggunakan hewan uji tikus putih (*Rattus Novergicus*) berkelamin jantan galur *Sprague-Dawley* sejumlah 36 ekor dengan berat badan 150-200 gram dan berumur 8 minggu. Subyek dipelihara dengan pencahayaan cukup dengan suhu ruangan 20-25 derajat celcius. Jenis makanan AD 2 ad libitum.

Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan yaitu, kelompok 1 sebagai Kontrol negatif (hanya mendapatkan induksi streptozotocin-nicotinamide), kelompok 2 sebagai kontrol positif (mendapatkan induksi *Streptozotocin-nicotinamide* dan metformin dosis 0,9 mg/200gramBB), kelompok 3 sebagai kelompok perlakuan 1 (mendapatkan induksi strptozotocin-nicotinamide dan perlakuan seduhan daun kersen 250 mg/200 gramBB), kelompok 4 sebagai kelompok perlakuan 2 (mendapatkan induksi *Streptozotocin-nicotinamide* dan perlakuan seduhan

daun kersen 500 mg/200 gramBB), kelompok 5 sebagai kelompok perlakuan 3 (mendapatkan induksi *Streptozotocin-nicotinamide* dan perlakuan seduhan daun kersen 750 mg/200 gramBB), dan kelompok 6 sebagai kontrol normal (tanpa induksi STZ-NA). Masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor tikus. Perlakuan dilakukan selama 14 hari (Haqim, 2015).

Seluruh tikus ditimbang berat badannya untuk mengetahui perkembangan berat badan selama penelitian. Tikus menjalani adaptasi di tempat pemeliharaan dengan suhu ruangan 25⁰C dan kelembaban 75% selama 7 hari. Ukuran kandang panjang 25 cm, lebar 12cm, dan tinggi 15 cm, masing-masing kandang terdapat 1 subyek. Setelah adaptasi, tikus kemudian diukur berat badannya, kadar gula darah puasa (GDP), glutation peroksidase (GPx). Pengukuran berat badan dilakukan guna menentukan dosis *streptozotocin-nicotinamide* yang akan diberikan.

Tabel 2. Rerata Berat Badan Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Sebelum Induksi *Strettozotocin-Nicotinamide*

Kelompok	Rerata Berat Badan (gram) \pm SD
Normal	171,83 \pm 10,30
Kontrol Negatif	168,50 \pm 21,99
Kontrol Positif	179,83 \pm 15,22
P1(250 mg kersen)	169,50 \pm 16,12
P2(500 mg kersen)	176,17 \pm 14,85
P3(750 mg kersen)	184,00 \pm 10,64

Tabel 2 menunjukkan bahwa Rerata berat badan tikus tertinggi ada pada kelompok perlakuan 3 (750 mg kersen) dengan berat badan 184 gram dan rerata berat badan terendah ada pada kelompok kontrol negatif (hanya

diberikan *streptozotocin-nicotinamide* tanpa perlakuan apapun) dengan berat badan 168,5 gram. Semua tikus memiliki berat badan lebih dari 150 mg.

Kadar glukosa darah puasa didapatkan dari pembuluh darah sinus tikus yang sebelumnya dipuasakan 8 jam. Pengukuran kadar gula darah puasa ini menggunakan metode enzimatik GOD-PAP. Sedangkan pengukuran GPx dilakukan menggunakan alat spektrofotometer melalui metode UV. Setelah itu, dilanjutkan dengan injeksi nicotinamide 230mg/kgBB intraperitoneal 15 menit sebelum injeksi streptozotocin dosis 65mg/kgBB intravena. Setelah 5 hari setelah injeksi, berat badan tikus dan kadar glukosa darah puasa. Pengukuran berat badan bertujuan untuk menentukan dosis metformin dan seduhan daun kersen yang akan diberikan ke masing-masing kelompok perlakuan.

Tabel 3. Rerata Berat Badan Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Sesudah Induksi *Strettozotocin-Nicotinamide*

Kelompok	Rerata Berat Badan (gram) \pm SD
Normal	178,67 \pm 11,21
Kontrol Negatif	171,50 \pm 21,99
Kontrol Positif	183,67 \pm 15,25
P1(250 mg kersen)	173,17 \pm 15,80
P2(500 mg kersen)	179,83 \pm 14,79
P3(750 mg kersen)	188,50 \pm 11,60

Tabel 3 menunjukkan Rerata berat badan tikus tertinggi ada pada kelompok perlakuan 3 (750 mg kersen) dengan berat badan 188,5 gram dan rerata berat badan terendah ada pada kelompok kontrol negatif (hanya

diberikan makan dan minum seperti biasa tanpa perlakuan apapun) dengan berat badan 171,5 gram.

Pengambilan sampel darah kedua dilakukan 5 hari setelah induksi *Streptozotocin-nicotinamid*, parameter yang diukur antara lain kadar gula darah puasa (GDP) untuk mengetahui apakah terjadi kenaikan gula darah/hiperglikemia sehingga tikus bisa dinyatakan diabetes.

Setelah diketahui kadar GDP meningkat, sampel pada kelompok I hanya diberikan placebo aquades, kelompok II diberikan metformin 0,9 gr/kgBB/hari/tikus, kelompok III diberikan seduhan daun kersen (*Muntingia calabura*) 250 mg/200 gramBB/hari/tikus, kelompok IV diberikan seduhan daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) 500 mg/200 gramBB/hari/tikus, kelompok V diberi seduhan daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) 750 mg/200 gramBB/hari/tikus. Pemberian semua perlakuan dilakukan selama 14 hari. Setelah 14 hari post perlakuan, dilakukan pengambilan sampel darah melalui pembuluh darah sinus orbita mata pada tikus, dengan parameter kadar gula darah puasa, selanjutnya dilakukan pembedahan untuk mengambil hepar tikus yang akan menjadi bahan pemeriksaan enzim GPx.

Uji normalitas data dengan uji shapiro wilk mendapatkan hasil data berdistribusi normal untuk GDP dan data sebelum dan sesudah induksi *Streptozotocin-nicotinamide* diuji menggunakan analisis statistik *paired sample t Test* dan untuk signifikansi perbedaan serta efektifitas seduhan

daun kersen kadar GPx digunakan uji *one way anova* dilanjutkan *post-hoc* test dan uji *rata-rata tuckey*.

Tabel 4. Rerata Glukosa Darah Puasa Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) Sebelum dan Sesudah Induksi *Streptozotocin-nicotinamide*

Kelompok	Glukosa Darah Puasa (mg/dl) \pm SD		Nilai p (<i>paired-t-test</i>)
	Sebelum STZ	Sesudah STZ	
Normal	58,52 \pm 1,53	58,81 \pm 1,71	0,65
Negatif	60,73 \pm 2,26	213,32 \pm 5,71	0,0001
Positif	59,47 \pm 1,62	206,82 \pm 1,91	0,0001
P1(250 mg kersen)	62,24 \pm 1,72	211,00 \pm 4,26	0,0001
P2(500 mg kersen)	59,97 \pm 1,91	207,52 \pm 2,22	0,0001
P3(750 mg kersen)	58,83 \pm 2,08	211,84 \pm 3,18	0,0001

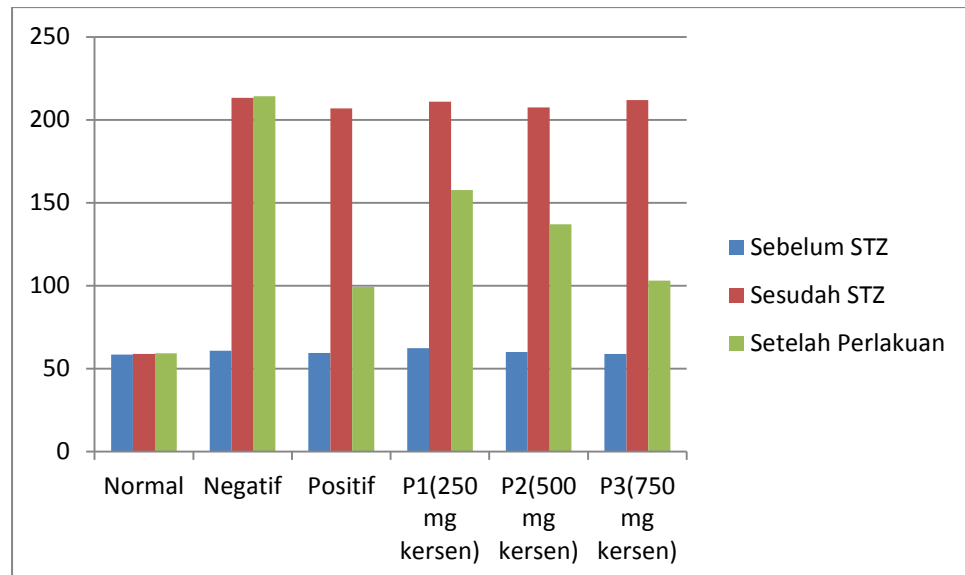
Tabel 4 menunjukkan terjadi peningkatan bermakna kadar GDP tikus putih (*Rattus Novergicus*) setelah induksi *Streptozotocin-nicotinamide* ($p < 0,05$). Seluruh kelompok dinyatakan tikus diabetes melitus dengan kadar GDP > 200 mg/dl (Mangkoewidjojo, 2006).

Hasil data sebelum dan sesudah diinduksi seduhan daun kersen (*muntingia calabura L.*) dengan dosis 250 mg/200 gramBB, 500 mg/200 gramBB dan 750 mg/200 gramBB akan diuji menggunakan analisis statistik *paired sample t Test* untuk menunjukkan adanya penurunan kadar GDP yang signifikan. Hasil uji *paired sample t Test* tersebut ditunjukkan pada tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata kadar GDP tikus putih (*Rattus Novergicus*) sesudah induksi *streptozotocin-nicotinamide* dan sesudah perlakuan seduhan daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) dengan *paired sample t Test*.

Kelompok	Rerata Glukosa Darah Puasa (mg/dl) \pm SD		Nilai p (<i>paired-t-test</i>)
	Sesudah STZ	Sesudah Perlakuan	
Normal	58,81 \pm 1,71	59,21 \pm 1,84	0,01
Negatif	213,32 \pm 5,71	214,22 \pm 5,26	0,029
Positif	206,82 \pm 1,91	99,25 \pm 1,57	0,0001
P1(250 mg kersen)	211,00 \pm 4,26	157,65 \pm 1,88	0,0001
P2(500 mg kersen)	207,52 \pm 2,22	136,99 \pm 2,35	0,0001
P3(750 mg kersen)	211,84 \pm 3,18	103,11 \pm 2,42	0,0001

Tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna kadar GDP tikus putih (*Rattus Novergicus*) sebelum dan sesudah diberi perlakuan ($p < 0,05$). Perbedaan kadar GDP sebelum induksi *Streptozotocin-nicotinamide*, sesudah induksi *Streptozotocin-nicotinamide* dan sesudah perlakuan bisa dilihat lebih jelas pada grafik dibawah ini.



Gambar 8. Perbandingan Kadar GDP Tikus Putih Sebelum dan Sesudah Perlakuan

Tabel 6. Selisih Penurunan Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Sesudah Perlakuan dan Sebelum Perlakuan

Kelompok	Rerata Penurunan GDP \pm SD (mg/dl)	Nilai <i>p</i> (<i>One Way Anova</i>)
Normal	-0,39 \pm 0,09	0,0001
Negatif	-0,90 \pm 0,72	
Positif	107,56 \pm 0,53	
P1 (250mg Kersen)	53,34 \pm 3,36	
P2 (500mg Kersen)	70,53 \pm 0,75	
P3 (750mg Kersen)	108,72 \pm 1,82	

Tabel 6 menunjukkan rerata penurunan kadar glukosa darah puasa tikus sebelum dan sesudah diberi perlakuan selama 14 hari. Kelompok yang mengalami penurunan tertinggi yaitu kelompok seduhan daun kersen 750 mg/200 gramBB (P3) dengan nilai penurunan 108,72 mg/dl. Kelompok yang mengalami penurunan terendah yaitu kelompok seduhan daun kersen 250 mg/200 gramBB dengan nilai penurunan 53,34 mg/dl. Kelompok yang mengalami peningkatan kadar glukosa darah puasa yaitu kontrol negatif dengan nilai peningkatan 0,90 mg/dl. Perbedaan yang bermakna terdapat pada semua kelompok percobaan pada penelitian yang ditunjukkan nilai $p=0,0001$ ($p<0,05$).

Di hari ke 26, tikus akan dibedah untuk diambil heparnya dan diamati kadar GPx dengan dibandingkan dengan kadar GPx pada kelompok normal.

Tabel 7. Rerata Kadar Enzim GPx Tikus Putih (*Rattus Novergicus*)

Kelompok	Rerata GPx (U/mg) \pm SD	Nilai <i>p</i> (<i>One Way Anova</i>)
Normal	73,96 \pm 1,53	
Kontrol Negatif	11,44 \pm 0,69	
Kontrol Positif	68,70 \pm 0,47	0,0001
P1(250 mg kersen)	28,68 \pm 0,46	
P2(500 mg kersen)	44,11 \pm 0,67	
P3(750 mg kersen)	66,70 \pm 0,83	

Tabel 7 menunjukkan bahwa rerata diantara kelompok perlakuan P1, P2, dan P3 dibandingkan dengan rerata kelompok negatif 11,44 U/mg mengalami peningkatan.

Tabel 8. Selisih Kadar enzim GPx dibandingkan kelompok normal

Kelompok	Rerata selisih GPx (mg/dl)	Nilai <i>p</i> (<i>One Way Anova</i>)
Negatif	62,51	
Positif	5,25	
P1 (250mg Kersen)	45,28	0,0001
P2 (500mg Kersen)	29,85	
P3 (750mg Kersen)	7,26	

Tabel 8 menunjukkan jumlah selisih kadar enzim GPx pada semua kelompok perlakuan dibandingkan kelompok normal dimana jumlah selisih yang paling kecil adalah kelompok kontrol positif diikuti kelompok perlakuan 3 (seduhan daun kersen 750 mg/200 gramBB) yang berarti kedua kelompok ini yang paling mendekati angka normal. Sedangkan selisih yang paling besar yaitu pada kelompok kontrol negatif diikuti kelompok P1 (250 mg/200 gramBB).

B. Pembahasan

Penelitian ini menggunakan tikus yang diinduksi *Streptozotocin-nicotinamide* untuk mendapatkan tikus diabetes melitus tipe 2. Dari hasil analisis GDP pada Tabel 4 tikus putih sebelum dan sesudah induksi *Streptozotocin-nicotinamide* menggunakan *paired-t-test* menunjukkan perbedaan bermakna pada kelima kelompok dengan nilai $p=0,0001$ ($p<0,05$), dimana pada kelima kelompok kecuali pada kelompok normal mengalami peningkatan kadar GDP setelah diinduksi *Streptozotocin-nicotinamide*. Seluruh sampel tikus dinyatakan diabetes melitus tipe 2 (GDP > 200 mg/dl) (Mangkoewidjojo, 2006). Penelitian yang dilakukan oleh Suhardinata (2015) juga membuktikan bahwa tikus putih yang diinduksi streptozotocin dosis 65 mg/kg BB tikus dan 230 mg/kg BB tikus menjadi diabetes melitus dalam waktu 5 hari.

Setelah induksi *Streptozotocin-nicotinamide* dan terjadi peningkatan pada kadar glukosa darah pada tikus, selanjutnya tikus diabetes melitus diberikan perlakuan sesuai kelompok masing-masing. Berdasarkan pada hasil uji beda (tabel 5) menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 mengalami penurunan bermakna setelah 14 hari perlakuan ($p<0,05$).

Peningkatan kadar GDP disebabkan karena Efek toksik *streptozotocin* yang dapat mendestruksi sel β pankreas dan jaringan hepar. *Streptozotocin* masuk ke sel β pankreas melalui glucose transporter (GLUT2) dan akan menyebabkan alkilasi DNA. Alkilasi atau masuknya

gugus metil dari *streptozotocin* ke dalam molekul DNA ini akan menyebabkan kerusakan fragmentasi DNA. Kerusakan DNA tersebut nantinya akan mengaktifkan *poly adenosine diphosphate* (ADP)-*ribosylation*. Proses ini akan mengakibatkan penghabisan *Nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD⁺) seluler, lebih lanjut akan terjadi pengurangan *adenosine triphosphate* (ATP) dan akhirnya akan menghambat sekresi dan sintesis insulin. Nicotinamide yang merupakan prekursor langsung dari NAD⁺ dan sebagai inhibitor poly ADP ribose, akan menghambat kerusakan fragmentasi DNA berlebih yang dapat menyebabkan hepatotoksik sehingga tikus hanya akan menjadi diabetes melitus tipe 2 (Szkudelski, 2012).

Penelitian ini digunakan dosis bertingkat yaitu dosis 250 mg/200 gramBB, 500 mg/200 gramBB, dan 750 mg/200 gramBB. Alasan peneliti menggunakan dosis bertingkat karena dari penelitian sebelumnya yang dilakukan Haqim (2015) juga menggunakan dosis bertingkat yang sama. Dari hasil analisis GDP tikus putih setelah perlakuan menunjukkan perbedaan bermakna pada kelompok kontrol positif, P1 (250 mg/200 gramBB), P2 (500 mg/200 gramBB) dan P3 (750 mg/200 gramBB) dengan nilai $p=0,0001$ ($p<0,05$). Pada kelompok kontrol positif memang mengalami penurunan kadar GDP karena diberikan perlakuan dengan metformin. Metformin digunakan sebagai pembanding dalam penelitian karena banyak digunakan di masyarakat, harganya murah dan mudah

didapat dan juga metformin dianjurkan sebagai terapi obat lini pertama pada semua pasien diabetes melitus tipe 2 (Ndraha, 2014).

Kelompok kontrol negatif rata-rata kadar glukosa darah sebelum perlakuan dan setelah perlakuan tidak mengalami penurunan melainkan peningkatan. Ini menunjukkan aquades tidak mampu menurunkan kadar glukosa darah puasa tetapi hanya mengganti cairan yang hilang karena pada keadaan hiperglikemik rentan terhadap dehidrasi. Pada kelompok perlakuan P1 (250 mg/200 gramBB), P2 (500 mg/200 gramBB) dan P3 (750 mg/200 gramBB) mengalami penurunan kadar GDP, hal ini dikarenakan pada kersen mengandung flavanoid. Efek flavanoid secara signifikan menurunkan glukosa darah dan meningkatkan sekresi insulin (Sasaki *et al.*, 2007).

Penelitian dengan hasil yang sama juga dilakukan oleh Feranose Panjuantiningrum (2009) dengan judul Pengaruh pemberian buah naga merah (*hylocereus polyrhizus*) terhadap kadar glukosa darah Tikus putih yang diinduksi aloksan dengan hasil pemberian perlakuan jus buah naga merah pada dosis 3,6 gr/2,5 ml, 7,2 gr/2,5 ml, 10,8 gr/2,5 ml serta pemberian glibenklamid sebagai kelompok kontrol positif cukup efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus putih hingga dalam kisaran kadar glukosa darah mula – mula.

Dari hasil uji *one way anova* (tabel 6 dan 8) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antar setiap kelompok yang ditandai dengan nilai

$p=0,0001(p<0,05)$. Hal ini menunjukkan bahwa selisih kadar GDP dan GPx antar kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Hasil analisis GPx tikus putih pada Tabel 7 menunjukkan bahwa kadar GPx pada kelompok perlakuan P1(250mg/200gramBB), P2 (500mg/200gramBB) dan P3 (750mg/200gramBB) mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif dan mendekati kelompok kontrol positif dan normal. Penelitian dengan hasil yang sama juga dilakukan oleh Aswani *et al* (2015) dengan judul Potensi Ekstrak Pegagan (*Centella Asiatica*) dan Kunyit (*Curcuma longa*) Untuk Meningkatkan Aktivitas Enzim Glutation Perksidase (GSH-Px) pada Jaringan Hati Tikus mendapatkan hasil Pemberian konsentrasi ekstrak pegagan dan kunyit pada hati normal, terlihat adanya peningkatan aktivitas enzim GSH-Px. Perbedaan penelitian ini dengan penelitian yang dilakukan oleh Aswani *et al* adalah intervensi yang digunakan yaitu ekstrak pegagan dan kunyit dan dosis yang bervariasi antara ekstrak pegagan dan kunyit sedangkan pada penelitian ini hanya menggunakan 3 dosis yaitu 250 mg/200 gramBB, 500 mg/200 gramBB, dan 750 mg/200 gramBB.

Penurunan kadar GPx paling rendah dibandingkan dengan kelompok normal terdapat pada kelompok kontrol negatif, hal tersebut terjadi karena stress oksidatif yang terjadi pada diabetes melitus akibat induksi *Streptozotocin-nicotinamide* (Eleazu *et al.*, 2013). Hiperglikemia menyebabkan autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur

metabolisme poliol yang selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein pada berbagai jaringan. Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) seperti enzim-enzim antioksidan seperti SOD, GPx, dan katalase dan peningkatan produksi radikal bebas. Hal itu merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stress oksidatif (Setiawan & Suhartono, 2005).

Pemberian ekstrak daun kersen (*Muntingia Calabura L.*) terlihat menunjukkan peningkatan kadar GPx. Dapat dilihat pada Tabel 7 bahwa pada kelompok perlakuan P1 (250 mg/200 gramBB), P2 (500 mg/200 gramBB) dan P3 (750 mg/200 gramBB) mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok negatif.

Flavanoid pada kersen mampu berperan menangkap radikal bebas atau berfungsi sebagai antioksidan alami. Penelitian pada hewan percobaan membuktikan bahwa antioksidan dapat menghambat tahap awal retinopati, nefropati, dan neuropati. Aktivitas antioksidan tersebut memungkinkan flavanoid untuk menangkap atau menetralkan radikal bebas (seperti ROS atau RNS) terkait dengan gugus fenolik sehingga ketidakseimbangan antara antioksidan protektif seperti enzim GPx dapat meningkat (Botutihe, 2010).

Dosis efektif untuk menurunkan kadar GDP adalah dosis seduhan 750 mg/200 gramBB ditunjukkan pada Tabel 5. Sedangkan dosis efektif untuk peningkatan kadar GPx ditunjukkan pada Tabel 7, yaitu dosis 750mg/200gramBB sama seperti dosis paling efektif untuk menurunkan kadar GDP.