

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, dilakukan ekstraksi batang *H. formicarum* dengan menggunakan etanol 70%, bagian batang tumbuhan yang menggelembung dan berongga. Batang yang telah dikupas kulit luarnya dibelah menjadi beberapa bagian dan diiris tipis kemudian dikeringkan di dalam oven. Setelah kering pecahan umbi tersebut diblender hingga menjadi serbuk. Ekstraksi batang *H. formicarum* menggunakan teknik maserasi (direndam). Serbuk dimaserasi dengan larutan etanol selama 24 jam dan diambil filtratnya dengan metode penyaringan. Hasil saringan kemudian diuapkan diatas penangas air dan hasil akhir didapatkan ekstrak murni berupa cairan kental dari serbuk batang *H. formicarum*.

Subyek penelitian dibagi menjadi 5 kelompok dengan masing-masing kelompok sebanyak lima ekor tikus. Lima kelompok ini terdiri dari kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok intervensi *H. formicarum* dengan dosis masing-masing 0,135 gr/KgBB, 0,27 gr/KgBB, 0,54/KgBB. Sebelum perlakuan subyek ditimbang terlebih dahulu. Penimbangan berat badan dilakukan sebanyak 4 kali yaitu: pertama untuk memenuhi kriteria inklusi, kedua bertujuan untuk menentukan jumlah dosis aloksan yang akan diberikan, ketiga untuk penentuan dosis glibenklamid dan *H. formicarum* hingga hari ke-8 intervensi, dan keempat untuk penentuan dosis glibenklamid dan *H. formicarum* hari ke-16 intervensi.

Setelah penimbangan berat badan, kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah dan profil lipid. Pengukuran yang pertama untuk menentukan kadar glukosa darah dan profil lipid normal pada tikus. Pengukuran yang kedua adalah untuk mengetahui keberhasilan induksi diabetes dengan menggunakan aloksan, pengukuran yang ketiga untuk mengetahui efek perlakuan.

Intervensi hanya diberikan pada kelompok uji *H. formicarum* dosis 0,135 gram/KgBB, kelompok *H. formicarum* dosis 0,27 gram/KgBB, kelompok *H. formicarum* dosis 0,54 gram/KgBB, kelompok kontrol negatif diberikan aquades, kelompok kontrol positif diberikan obat standar glibenklamid 0,5 mg/KgBB.

Sebelum intervensi semua subyek diinduksi DM dengan aloksan dosis 130 mg/KgBB, kemudian setelah 72 jam, kadar gula darah, kolesterol total dan trigliserida tikus diukur untuk mengetahui hasil dari induksi aloksan yang ditandai dengan peningkatan kadar gula darah dan juga profil lipid. Perbandingan dan interpretasi kadar glukosa darah sebelum dan sesudah diinduksi dengan aloksan

Tabel 1 Perbandingan Kadar glukosa darah tikus sebelum dan sesudah induksi aloksan

No	Kelompok	Kadar Glukosa Darah (mg/dl)	
		Sebelum Induksi	Setelah Induksi
1	Kontrol Negatif	78,14 ± 2,48	212,58 ± 7,84
2	Kontrol Positif	75,89 ± 3,74	212,19 ± 15,3
3	Ekstrak <i>H. formicarum</i> 0,135 gram/KgBB	76,66 ± 5,58	218,32 ± 7,22
4	Ekstrak <i>H. formicarum</i> 0,27 gram/KgBB	76,47 ± 6,36	219,93 ± 4,80
5	Ekstrak <i>H. formicarum</i> 0,54 gram/KgBB	75,38 ± 4,60	220,38 ± 4,64

Perbandingan kadar kolesterol total dan trigliserida setelah induksi aloksan dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3.

Tabel 2 Perbandingan Kadar Kolesterol Total Tikus Sebelum dan Sesudah Induksi Aloksan

No.	Kelompok	Kadar kolesterol total (mg/dl)	
		Sebelum induksi	Setelah induksi
1.	Kontrol negatif	112,48 ± 1,92	211,79 ± 7,39
2.	Kontrol positif Glibenklamid 0,5 mg/KgBB	116,16 ± 5,13	213,54 ± 6,37
3.	<i>H.formicarum</i> 0,135 gram/KgBB	116,32 ± 6,21	211,63 ± 2,79
4.	<i>H.formicarum</i> 0,27 gram/KgBB	117,47 ± 5,50	215,32 ± 1,17
5.	<i>H.formicarum</i> 0,54 gram/KgBB	105,22 ± 3,08	214,34 ± 4,54

Tabel 3 Perbandingan Kadar Trigliserida Tikus Sebelum dan Sesudah Induksi Aloksan

No.	Kelompok	Kadar Trigliserida (mg/dl)	
		Sebelum induksi	Setelah induksi
1.	Kontrol negatif	68,82 ± 2,62	109,04 ± 1,91
2.	Kontrol positif Glibenklamid 0,5 mg/KgBB	73,38 ± 2,91	110,96 ± 2,47
3.	<i>H.formicarum</i> 0,135 gram/KgBB	71,91 ± 1,90	116,00 ± 10,8
4.	<i>H.formicarum</i> 0,27 gram/KgBB	78,15 ± 3,15	115,70 ± 3,11
5.	<i>H.formicarum</i> 0,54 gram/KgBB	73,61 ± 2,03	120,44 ± 4,98

Tabel 2. menunjukkan rata-rata kadar trigliserida pada semua kelompok uji meningkat setelah diinduksi dengan aloksan dan Tabel 3. menunjukkan rata-rata kadar trigliserida pada semua kelompok uji meningkat setelah diinduksi dengan aloksan. Ini dikarenakan oleh, efek diabetogenik dari aloksan.

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada binatang percobaan. Pemberian aloksan merupakan cara cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada binatang percobaan. Untuk menginduksi diabetes, Aloksan dapat diadministrasikan melalui beberapa rute. Intravena merupakan rute tersering yang digunakan. Saat menginduksi diabetes pada tikus melalui intravena, maka dosis yang dibutuhkan adalah 65 mg/KgBB. Selain melalui intravena aloksan juga dapat diberikan melalui intraperitoneal dan subkutan. Pemberian Aloksan melalui intraperitoneal dan subkutan

subkutan membutuhkan dosis 2-3 kali lebih besar dari dosis intravena. Dalam hal ini, dosis yang dibutuhkan untuk menginduksi tikus menjadi diabetes melalui intraperitoneal adalah ± 130 mg/Kg BB. Meningkatnya kadar glukosa darah pada pemberian aloksan dapat disebabkan oleh dua proses yaitu terbentuknya radikal bebas dan kerusakan permeabilitas membran sel sehingga terjadi kerusakan sel beta pankreas yang berfungsi menghasilkan insulin. Aloksan mungkin mendesak efek diabetogenik oleh kerusakan membrane sel beta dengan meningkatkan permeabilitas. Dean dan Mathew (1972) mendemonstrasikan adanya depolarisasi membrane sel beta pankreas dengan pemberian aloksan. Kerusakan membran akan mempermudah terjadinya kerusan sel beta pankreas sehingga produksi insulin menurun.

Menurunnya produksi insulin mengakibatkan terganggunya metabolisme karbohidrat sehingga meningkatkan kadar glukosa darah. Glukosa darah yang meningkat otomatis akan meningkatkan kadar trigliserida dan kolesterol. Karena karbohidrat merupakan salah satu bahan untuk sintesis trigliserida (Hall, 2007)

Tabel 4 Perbandingan Kadar Kolesterol Total Tikus sebelum dan setelah intervensi *H. formicarum*

No.	Kelompok	Kadar kolesterol total (mg/dl)		
		Sebelum intervensi	Setelah intervensi	Selisih
1.	Kontrol negatif	211,79 ± 7,39	216,39 ± 7,06	4,60 ^a
2.	Kontrol positif Glibenklamid 0,5 mg/KgBB	213,54 ± 6,37	138,95 ± 6,60	74,59 ^b
3.	<i>H.formicarum</i> 0,135 gram/KgBB	211,63 ± 2,79	186,51 ± 3,82	25,12 ^c
4.	<i>H.formicarum</i> 0,27 gram/KgBB	215,3 ± 1,17	172,37 ± 11,2	42,93 ^d
5.	<i>H.formicarum</i> 0,54 gram/KgBB	214,34 ± 4,54	140,24 ± 5,22	74,1 ^b

*(angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda secara signifikan)

Pada Tabel 3. dapat diketahui bahwa rata-rata kadar kolesterol total pada kelompok kontrol negatif kurang lebih $216,39 \pm 7,06$ mg/dl yang berarti bahwa kadar kolesterol total tetap meningkat. Pada kelompok kontrol positif kadar kolesterol total adalah $138,95 \pm 6,60$ mg/dl dengan pemberian Glibenklamid 0,5 mg/KgBB. Glibenklamid merupakan obat antidiabetik golongan sulfonilurea yang dimetabolisme di hati. Obat ini merupakan obat standar yang biasa dipakai oleh penderita DM. Obat ini bekerja dengan cara menstimulasi sel-sel beta pulau langerhans pankreas untuk memproduksi insulin (M... 2005).

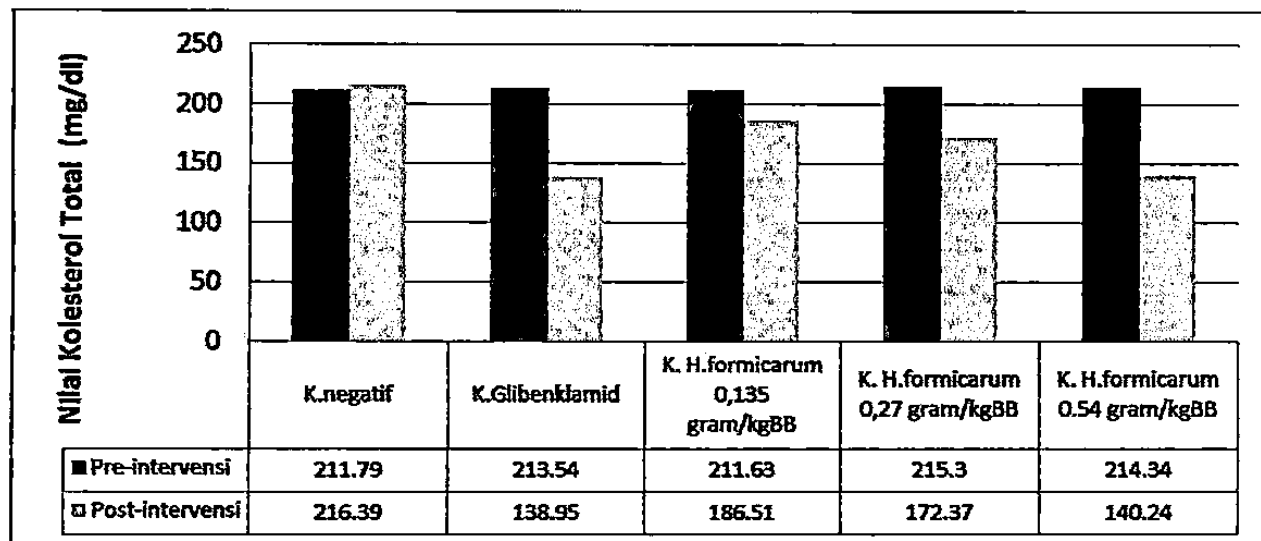
Tabel 5 Perbandingan Kadar Trigliserida Tikus sebelum dan setelah intervensi *H.formicarum*

No.	Kelompok	Kadar Trigliserida (mg/dl)		
		Sebelum intervensi	Setelah intervensi	Selisih
1.	Kontrol negatif	109,04 ± 1,91	111,03 ± 2,49	1,99 ^a
2.	Kontrol positif Glibenklamid 0,5 mg/KgBB	110,96 ± 2,47	78,24 ± 2,35	32,72 ^b
3.	<i>H.formicarum</i> 0,135 gram/KgBB	116,00 ± 10,8	106,3 ± 3,77	9,7 ^c
4.	<i>H.formicarum</i> 0,27 gram/KgBB	115,70 ± 3,11	97,65 ± 10,49	18,05 ^d
5.	<i>H.formicarum</i> 0,54 gram/KgBB	120,44 ± 4,98	86,76 ± 6,13	33,7 ^b

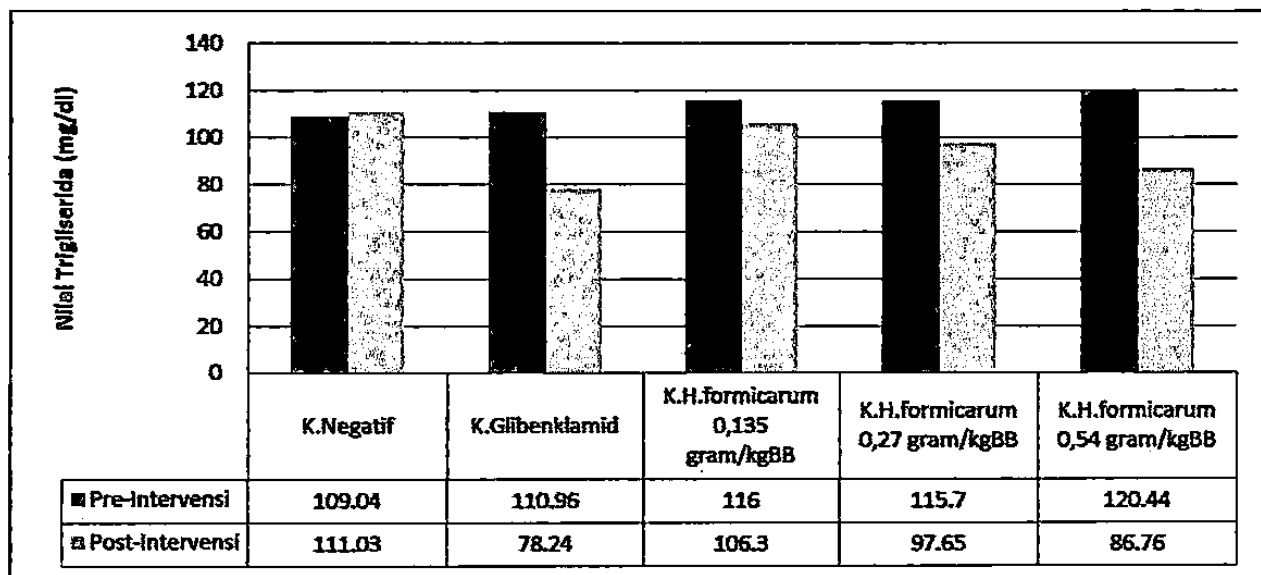
*(angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda secara signifikan)

Pada Tabel 4. dapat dilihat bahwa trigliserida pada semua kelompok juga mengalami penurunan yang cukup bermakna. Dapat diamati kadar rata-rata trigliserida sebelum intervensi pada kelompok perlakuan adalah 116-120 mg/dl dan sesudah intervensi adalah 86-106 mg/dl, ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak *H.formicarum* dapat menurunkan kadar trigliserida pada diabetes melitus.

Gambar 1. menunjukkan selisih kadar kolesterol total pada kelompok kontrol negatif dengan nilai 4,60 mg/dl, kelompok kontrol positif 74,59 mg/dl, kelompok *H.formicarum* dosis rendah 25,12 mg/dl, kelompok *H.formicarum* dosis sedang 42,03 mg/dl dan kelompok *H. formicarum* dosis tinggi 74,1 mg/dl



Gambar 1 Perbandingan kadar kolesterol total sebelum dan sesudah intervensi *H.formicarum*



Gambar 2 Perbandingan kadar trigliserida sebelum dan sesudah intervensi *H.formicarum*

Gambar 2. menunjukkan selisih kadar trigliserida pada kelompok kontrol negatif dengan nilai 109,04 mg/dl, kelompok kontrol positif 110,96 mg/dl, kelompok *H. formicarum* dosis rendah 116 mg/dl, kelompok *H. formicarum* dosis sedang 115,7 mg/dl dan kelompok *H. formicarum* dosis tinggi 120,44 mg/dl

Kelompok yang menunjukkan hasil yang sama adalah kelompok kontrol positif glibenklamid dan kelompok *H. formicarum* dosis tinggi yang berarti selisih pada kedua kelompok tersebut tidak berbeda jauh yakni kadar kolesterol total pada kelompok kontrol positif 74,59 mg/dl dan kelompok *H. formicarum* dosis tinggi 74,1 mg/dl, dan kadar trigliserida pada kelompok kontrol positif 32,7 mg/dl dan kelompok *H. formicarum* dosis tinggi 33,7 mg/dl. Hal ini menunjukkan bahwa efek dari ekstrak batang *H. formicarum* hampir sama dengan efek glibenklamid sebagai obat standar diabetes mellitus.

Naiknya kadar gula darah saat induksi aloksan menyebabkan kolesterol total dan trigliserida meningkat. Korelasi terjadinya hiperglikemia, hiperkolesterolemia, dan hipertrigliseridemia secara bersamaan disebabkan terjadinya penurunan produksi insulin yang mengakibatkan kerja beberapa enzim untuk melakukan metabolisme lemak yaitu enzim lipoprotein lipase dan *lipase sensitive hormone* terganggu. Enzim lipoprotein lipase yang menghidrolisis trigliserida dalam sirkulasi tidak terinduksi, sedangkan enzim *lipase sensitive hormone* yang menghidrolisis trigliserida dalam jaringan tidak terhambat. Akibatnya, kadar lemak dalam sirkulasi darah meningkat dan kadar lemak dalam jaringan adiposa menurun (Inawati, 2006).

Dari *tests of normality* didapatkan hasil Sig. setiap kelompok $> 0,05$ pada Saphiro-Wilk, berarti H_0 diterima atau persebaran data normal. Untuk mengetahui ada tidaknya penurunan kolesterol total, dan trigliserida yang bermakna pada setiap kelompok ini sebelum dan sesudah perlakuan dilakukan paired t test. Hasil analisis

uji-t berpasangan didapatkan semua kelompok mengalami penurunan kadar gula darah yang signifikan, kecuali kelompok kontrol negatif ($P > 0,05$). Sedangkan untuk data profil lipid, seluruh kelompok mengalami penurunan yang signifikan. Data kadar gula darah dan profil lipid setiap kelompok uji, selain kelompok kontrol negatif untuk kadar gula darah, dianalisis variansinya dengan uji *homogeneity of variances*. Pada uji *homogeneity of variances* kolesterol total dan trigliserida didapatkan kadar signifikan $>0,05$ yang berarti keseluruhan populasi adalah identik. Dengan demikian, asumsi kesamaan varians dan distribusi normal sebagai syarat uji *Oneway Anova* telah terpenuhi. Dari uji *Oneway Anova*, didapatkan hasil Sig. 0.00 (<0.05) yaitu berarti H_0 ditolak atau dapat diinterpretasikan sebagai penurunan kolesterol total, dan trigliserida untuk seluruh kelompok berbeda secara signifikan. Untuk mengetahui kelompok intervensi manakah yang mengalami penurunan kadar glukosa darah paling besar, maka dilakukan pengujian statistik dengan *post hoc test (Tukey)*. Dari hasil yang diperoleh, kelompok ekstrak *H. formicarum* dosis 0,135 gr/KgBB) dan dosis 0,54 gr/KgBB merupakan kelompok yang mengalami penurunan kolesterol total, dan trigliserida yang paling besar.

Pada kelompok perlakuan *H. formicarum* dosis 0,135 mg/KgBB, *H. formicarum* dosis 0,27 mg/KgBB dan *H. formicarum* dosis 0,54 mg/KgBB menunjukkan penurunan kadar kolesterol total dan trigliserida. Ini dikarenakan karena adanya kandungan senyawa kimia flavonoid pada ekstrak etanol *Hydnophytum formicarum*. Flavonoid adalah pigmen tumbuhan dengan struktur

kimia dan peran biologi yang sangat beragam (Setyawan & Darusman, 2008). Senyawa-senyawa flavanoid terdapat dalam semua bagian tumbuhan, seperti bunga, daun, ranting, buah, kayu, kulit kayu dan akar (Waji, 2009).

Flavonoid dalam tubuh manusia berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Manfaat flavonoid antara lain adalah untuk melindungi struktur sel, meningkatkan efektifitas vitamin C, antiinflamasi, mencegah keropos tulang, dan sebagai antibiotik. Dalam beberapa kasus, flavanoid dapat berperan secara langsung sebagai antibiotic dengan mengganggu fungsi dari mikroorganisme seperti bakteri atau virus. Salah satu senyawa kelompok flavonol terbesar adalah kuersetin, jumlahnya mencapai 60-70% dari flavanoid. Kuersetin dipercaya dapat melindungi tubuh dari beberapa jenis penyakit degenerative dengan cara mencegah terjadinya proses peroksidasi lemak. Kuersetin memperlihatkan kemampuan mencegah proses oksidasi dari *Low Density Lipoprotein* (LDL) dengan cara menangkap radikal bebas dan menghelat ion logam transisi (Sugrani, 2009).

Pada penelitian yang dilakukan Irwansyah (2012), menyebutkan bahwa terjadi penurunan kadar glukosa darah setelah pemberian ekstrak etanol selama 16 hari, penelitian Utami (2011) juga berhasil menurunkan kadar gula darah dengan pemberian infusa *H. formicarum*. Sedangkan, pada penelitian ini pemberian ekstrak *H. formicarum* dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida dengan dosis 0,54 gram/KgBB. Secara umum, ekstrak tumbuhan mampu menurunkan kadar gula darah tikus diabetes melalui beberapa mekanisme. Pertama, ekstrak tumbuhan

aksi insulin (insulinomimetik), meningkatkan sensitivitas jaringan perifer terhadap glukosa melalui perbaikan seluler dan pencegahan apoptosis, menghambat sintesis glukosa endogen, meregenerasi jaringan pankreas yang rusak, serta menstimulus glukoneogenesis di hati dan otot (Prasad, *et al.*, 2009)

Senyawa aktif flavonoid diketahui bisa menghambat enzim-enzim penting yang berperan dalam pemecahan karbohidrat menjadi monosakarida yang dapat diserap oleh usus yaitu enzim alfa amilase dan enzim alfa glukosidase. Penghambatan pada kedua enzim tersebut berakibat terganggunya proses pemecahan karbohidrat menjadi monosakarida sehingga tidak dapat diserap oleh usus (Utami, 2011). Enzim alfa glukosidase adalah enzim yang bertanggung jawab terhadap konversi karbohidrat menjadi glukosa. Karbohidrat akan dicerna oleh enzim di dalam mulut dan usus menjadi gula yang lebih sederhana yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh dan meningkatkan kadar gula darah. Proses pencernaan karbohidrat tersebut menyebabkan pankreas melepaskan enzim alfa glukosidase ke dalam usus yang akan mencerna karbohidrat menjadi oligosakarida yang kemudian akan diubah lagi menjadi glukosa oleh enzim oleh enzim alfa glukosidase yang dikeluarkan oleh sel-sel usus halus yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh (Bosenberg, 2008). Dengan dihambatnya kerja enzim alfa glukosidase menyebabkan penurunan absorpsi monosakarida dan pengurangan kenaikan glukosa (Soumyanath, 2006). Dengan demikian, kadar glukosa darah tidak meningkat setelah mengkonsumsi makanan dan minuman yang mengandung glukosa. Efek inilah yang dapat menurunkan kadar

glukosa darah kolesterol total dan juga trigliserida pada penderita diabetes mellitus (Oliviany, *et al.*, 2009). Selain itu, *H. formicarum* juga mengandung senyawa fenolik, semakin tinggi senyawa fenolik suatu tumbuhan maka semakin kuat aktivitas antioksidannya (Ahmad, *et al.*, 2010). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas, yaitu suatu atom maupun molekul kimiawi yang dapat merusak sel (Marcovitch, 2005). Dengan adanya antioksidan dan kemampuan menghambat penyerapan glukosa, maka tubuh mampu meregenerasi jaringan pancreas yang mengalami kerusakan akibat radikal bebas.

H. formicarum diketahui memiliki sumber poten berupa antioksidan natural yaitu flavonoid dan komponen fenolik seperti isoliquiritigenin, butin, butein, *protocatechualdehyde*, termasuk stigmasterol. Komponen fenolik merupakan salah satu metabolit natural yang berlimpah dan disintesis oleh tanaman sebagai proteksi diri dari lingkungan (Prachayasittikul *et al.*, 2012).

Sarang semut *Hydnophytum formicarum* kaya akan antioksidan tokoferol (vitamin E) dan beberapa mineral penting untuk tubuh seperti kalsium, natrium, kalium, seng, besi, fosfor dan magnesium (Subrata, 2006).