

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian ini dilakukan selama \pm 1 bulan dengan menggunakan subyek tikus putih (*Rattus novergicus*) jantan yang telah ditentukan kriteria inklusinya yaitu galur *Sprague dawley* dengan berat antara 150-200 gram, umur \pm 8 minggu, dan tikus dikeluarkan jika aktivitas kurang/tidak aktif, mati selama perlakuan, sakit (penampakan rambut botak, kusam, dan rontok), serta mengalami penurunan berat badan $>10\%$. Tikus dalam penelitian ini berjumlah 36 ekor, dibagi menjadi 6 ekor per kelompok perlakuan. Desain penelitian ini adalah *post test only with control group design*. Penelitian ini menggunakan kit BioVision dan pembacaan akhirnya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 450 nm.

Tikus akan diadaptasi terlebih dahulu sebelum ditimbang berat badannya dan dibagi menjadi 6 kelompok secara randomisasi, sehingga per kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih (*Rattus novergicus*). Kelompok 1 yaitu kelompok normal (tanpa induksi STZ-NA dan tanpa perlakuan), Kelompok 2 yaitu kontrol negatif (hanya diinduksi STZ-NA tanpa diberikan perlakuan), kelompok 3 yaitu kontrol positif (di induksi STZ-NA dan diberikan perlakuan metformin 0,9 mg/200 grBB), kelompok 4 yaitu perlakuan 1 (di induksi STZ-NA dan diberikan perlakuan seduhan daun

kersen dosis 250 mg/200 grBB), perlakuan 2 (di induksi STZ-NA dan diberikan perlakuan seduhan daun kersen 500 mg/200 grBB), dan perlakuan 3 (di induksi STZ-NA dan diberikan perlakuan 750 mg/200 grBB). Tikus kemudian diadaptasi di kandang selama 7 hari.

Berat badan tikus pada masing-masing kelompok ditimbang terlebih dahulu diawal penelitian untuk memenuhi kriteria inklusi dan penentuan dosis sebelum di induksi STZ-NA.

Tabel 2. Rerata Berat Badan Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Sebelum Induksi STZ-NA

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 berat badan tikus semua kelompok sebelum induksi STZ-NA >150 gr sehingga semua tikus memenuhi syarat inklusi dengan rerata berat terendah pada kelompok kontrol negatif (168,50 gr) dan rerata berat tertinggi pada kelompok perlakuan 3 (184 gr).

Berat badan tikus juga diukur setelah induksi STZ-NA untuk menentukan dosis metformin maupun seduhan daun kersen sesuai kelompok masing-masing.

Tabel 3. Rerata Berat Badan Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Sesudah Induksi STZ-NA

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

Dari tabel 3 didapatkan bahwa rerata berat badan terendah ada pada kelompok kontrol negatif (171,5 gr) dan berat badan tertinggi pada kelompok perlakuan 3 (188,5 gr).

Setelah Penimbangan berat badan, dilanjutkan pengambilan plasma darah puasa pada sinus orbita tikus untuk mengukur kadar Glukosa Darah Puasa (GDP). Pengambilan sampel darah dilakukan selama 3 kali. Pengukuran pertama untuk menentukan kadar glukosa darah normal pada tikus, pengukuran kedua untuk mengetahui keberhasilan induksi Diabetes Melitus dengan menggunakan STZ-NA, sedangkan pengukuran ketiga untuk mengetahui efek perlakuan terhadap kadar GDP tikus. Di akhir perlakuan, akan dilakukan pembedahan untuk pengambilan organ hepar tikus yang akan digunakan untuk pengamatan enzim superoksida dismutase (SOD).

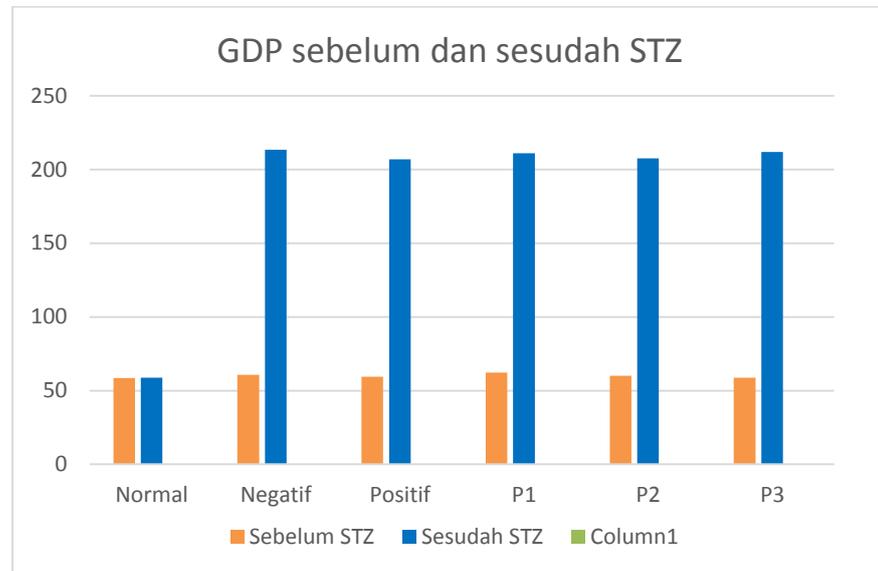
Uji normalitas data dengan uji *shapiro wilk* didapatkan hasil data berdistribusi normal pada uji normalitas sehingga untuk kadar GDP sebelum dan sesudah STZ-NA, sebelum dan sesudah perlakuan digunakan uji *paired t test* sedangkan untuk signifikansi perbedaan serta efektifitas seduhan daun

kersen kadar SOD digunakan uji *One Way Anova* dilanjutkan *post hoc test* dan *uji tuckey*.

Tabel 4. Rerata GDP Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Sebelum dan Sesudah Induksi STZ-NA dengan *paired t test*

Kelompok	Glukosa Darah Puasa (mg/dl) \pm SD		Nilai p (<i>paired-t-test</i>)
	Sebelum STZ-NA	Sesudah STZ-NA	
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 didapatkan bahwa ada perbedaan kadar GDP bermakna secara statistik pada semua kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Setelah di induksi STZ-NA. Kadar GDP pada semua kelompok perlakuan (kecuali kelompok normal) > 135 mg/dl. Menurut puspitasari (2015) kadar GDP normal pada tikus *Sprague dawley* adalah 55-135 mg/dl. Pada kelompok normal, terjadi peningkatan glukosa darah namun bukan akibat induksi STZ-NA dan peningkatan tersebut masih dalam rentang kadar GDP normal. Perbedaan kadar GDP sebelum dan sesudah induksi STZ-NA bisa dilihat lebih jelas pada grafik dibawah ini.



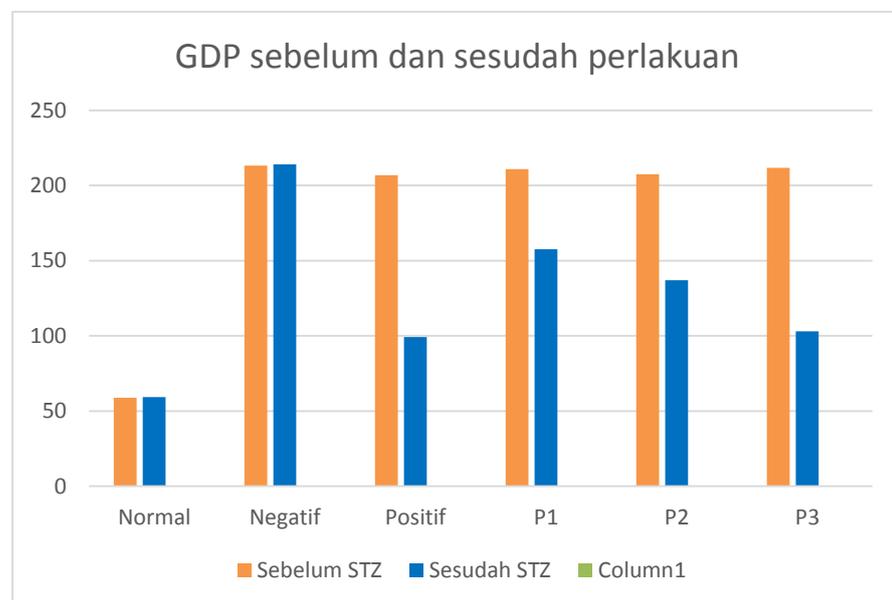
Gambar 7. Rerata Kadar GDP Sebelum dan Sesudah Induksi STZ-NA

Hasil data sebelum dan sesudah diinduksi seduhan daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dengan dosis 250 mg/200 grBB, 500 mg/200 grBB dan 750 mg/200 grBB 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. Rerata GDP Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Sebelum 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-NA	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 semua kelompok sebelum dan sesudah perlakuan ($p < 0,05$). Pada kelompok kontrol positif, kelompok P1, P2, dan P3 terjadi penurunan kadar GDP, sedangkan pada kelompok kontrol negatif dan kelompok normal tidak terjadi penurunan melainkan peningkatan kadar GDP. Perbedaan kadar GDP sebelum dan sesudah perlakuan bisa dilihat lebih jelas pada grafik dibawah ini.



Gambar 8. Kadar GDP Sebelum dan Sesudah Perlakuan daun kersen

Dari grafik 8 terlihat bahwa pada kelompok seduhan daun kersen 750 mg/200 grBB mengalami penurunan rerata kadar GDP yang paling tinggi. Sedangkan yang paling rendah yaitu kelompok seduhan daun kersen 250 mg/200 grBB.

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 grBB (P3) dengan nilai penurunan 108,72 mg/dl. Kelompok yang mengalami penurunan terendah yaitu kelompok seduhan daun kersen 250 mg/200 grBB 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 $p=0,0001$ ($p<0,05$).

Tikus akan dibedah untuk diambil hepar nya dan diamati kadar SOD pada hari ke-26 dengan dibandingkan dengan kadar SOD pada kelompok normal.

Tabel 7. Rerata Kadar Enzim SOD Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Sesudah Perlakuan

Kelompok	Rerata SOD \pm SD (%)	Nilai p (One Way Anova)
Normal	73,13 \pm 5,38	0,0001
Negatif	15,30 \pm 3,82	
Positif	66,32 \pm 6,29	
P1 (250mg Kersen)	23,12 \pm 6,66	
P2 (500mg Kersen)	45,92 \pm 3,81	
P3 (750mg Kersen)	61,22 \pm 5,77	

Tabel 7 menunjukkan terdapat signifikansi perbedaan rerata kadar enzim SOD setelah perlakuan ($p < 0,05$) pada setiap kelompok. Jika dibandingkan dengan kelompok normal, semua kelompok perlakuan mengalami penurunan kadar SOD. Kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 mampu meningkatkan kadar enzim SOD.

Tabel 8. Selisih Kadar Enzim SOD Dibandingkan Kelompok Normal

Kelompok	Rerata selisih SOD (mg/dl)	Nilai p (One Way Anova)
Negatif	57,82	0,0001
Positif	6,80	
P1 (250mg Kersen)	50,00	
P2 (500mg Kersen)	27,21	
P3 (750mg Kersen)	11,90	

Tabel 8 menunjukkan jumlah selisih kadar enzim SOD 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 grBB) 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 grBB).

B. Pembahasan

Penelitian ini menggunakan seduhan daun kersen (*Muntingia calabura L.*) sebagai alternatif pengobatan untuk Diabetes Melitus . Daun kersen mengandung beberapa senyawa kimia diantaranya flavonoid. Menurut Wulandari (2010), flavonoid berpotensi sebagai agen hipoglikemik melalui mekanisme penghambatan terhadap *enzim alpa amylase* yang berperan dalam pemecahan karbohidrat. Dengan terhambatnya enzim alpa amylase maka terhambat juga pembentukan glukosa dari pemecahan pati yang ada pada karbohidrat.

Metformin digunakan sebagai anti diabetik pilihan utama untuk penderita diabetes gemuk, disertai dislipidemia, dan disertai resistensi insulin. Metformin menurunkan glukosa darah melalui pengaruhnya terhadap kerja insulin pada tingkat seluler, distal reseptor insulin, dan menurunkan produksi glukosa hepar (Sugondo, 2006). Metformin digunakan sebagai pembanding dalam penelitian karena banyak digunakan di masyarakat, harganya murah dan mudah didapat.

Dosis yang digunakan pada penelitian ini bertingkat yaitu dosis 250 mg/200 grBB, 500 mg/200 grBB, dan 750 mg/200 grBB. Alasan peneliti menggunakan dosis bertingkat karena dari penelitian sebelumnya yang dilakukan Haqim (2015) juga menggunakan dosis bertingkat yang sama.

Tikus akan dibuat hiperglikemi dengan diinduksi *streptozotocin* 65 mg/kgBB dimana 15 menit sebelumnya diinduksi *nicotinamide* dosis 230 mg/kgBB secara intraperitoneal sebelum diberikan perlakuan. Sesuai dari hasil tabel 2 pemeriksaan kadar GDP sebelum dan sesudah induksi *Streptozotocin-nicotinamide* menunjukkan hasil kadar GDP meningkat diatas kadar normal. Kadar normal GDP tikus SD adalah 55-135 mg/dl (Puspitasari, 2015).

Peningkatan kadar GDP disebabkan karena *streptozotocin* masuk ke sel β pankreas melalui *glucose transporter* (GLUT-2) dan akan menyebabkan *alkilasi deoxyribonucleic acid* (DNA) sehingga terjadi kerusakan 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. Produksi ATP mitokondria yang terbatas selanjutnya mengakibatkan pengurangan secara drastis nukleotida sel β pancreas (Szkudelski, 2001).

Streptozotocin merupakan donor *nitric oxide* (NO) yang juga mempunyai kontribusi terhadap kerusakan sel β pankreas melalui peningkatan aktivitas *guanilil siklase* dan pembentukan *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP). *Nitric oxide* dihasilkan sewaktu *streptozotocin* mengalami metabolisme dalam sel (Lenzen, 2008). Sedangkan

nicotinamide, piridin-3-karboksamida, adalah vitamin B3 (*niacin*) derivat dengan kapasitas antioksidan yang mengurangi tindakan sitotoksik STZ (Szkudelski, 2012).

Kadar glukosa darah tikus akan meningkat setelah induksi *Streptozotocin-nicotinamide*, selanjutnya tikus Diabetes Melitus diberikan perlakuan sesuai kelompok masing-masing. Berdasarkan pada hasil uji beda (tabel 3) menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3 mengalami penurunan bermakna setelah 14 hari perlakuan ($p < 0,05$).

Penelitian tentang efek kersen terhadap Diabetes Melitus masih sangat jarang dilakukan. Penelitian yang dilakukan oleh Erna Apriyanti (2016) menguji efek ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar. Penelitian ini terdiri dari 5 kelompok yaitu kontrol negatif, kontrol positif, kelompok 3 (ekstrak etanol kersen 0,1875 gr/KgBB), kelompok 4 (ekstrak etanol kersen 0,25 gr/KgBB), Kelompok 5 (ekstrak etanol kersen 0,3125 gr/KgBB). Hasil penelitian membuktikan kadar GDP tikus menurun signifikan pada kelompok yang mendapat perlakuan, dengan dosis efektif yaitu 0,25 gr/kgBB dan 0,3125 gr/kgBB yang setara dengan metformin dosis 63 mg/kgBB.

Kelompok kontrol negatif dapat diketahui 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.

Hasil uji *One Way Anova* (tabel 6 dan 7) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antar setiap kelompok yang ditandai dengan nilai $p=0,0001$. Hal ini menunjukkan bahwa kadar GDP dan SOD antar kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Tabel 7 menunjukkan bahwa kadar SOD mengalami penurunan dibandingkan dengan kelompok normal, hal tersebut terjadi karena stress oksidatif yang terjadi pada Diabetes Melitus. Hiperglikemi pada Diabetes Melitus banyak menghasilkan ROS dan kondisi ini akan menimbulkan disfungsi sel beta pancreas, bahwa pada sel beta pankreas yang terganggu fungsinya akan mengalami penurunan kadar enzim-enzim antioksidan seperti SOD, GPx, dan katalase sehingga rawan terhadap stres oksidatif (Poitout, 2008).

Penelitian yang dilakukan oleh Retnaningsih *et al* (2013) dengan judul peningkatan aktivitas antioksidan superoksida dismutase pada tikus hiperglikemi dengan asupan tempe koro benguk (*mucuna pruriens l.*) mendapatkan hasil Pada tikus yang mendapat asupan tempe koro benguk mengalami penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan aktivitas antioksidan SOD serum.

Tabel 6 dan 7 menunjukkan hasil yang bermakna dilanjutkan dengan *post hoc test* dan *rerata tuckey*. Dari hasil *post hoc test* dosis efektif

untuk menurunkan kadar GDP adalah dosis seduhan 750 mg/200 grBB. Sedangkan dosis efektif untuk peningkatan kadar SOD ditunjukkan pada tabel 8, yaitu dosis 750 mg/200 grBB sama seperti dosis paling efektif untuk menurunkan kadar GDP. Jadi, jika kadar GDP menurun pada Diabetes Melitus, maka kadar SOD dalam darah akan meningkat.