

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Subyek penelitian ini menggunakan 30 ekor tikus putih jantan galur Sprague Dawley, berusia 3-4 bulan, dan berat badan 170-210 g. Subyek dipilih secara acak, dibagi menjadi 6 kelompok yaitu kontrol tanpa perlakuan, kontrol negatif, kontrol positif, dan 3 kelompok perlakuan dengan masing-masing dosis 1,26 mg/kg BB; 2,52 mg/kg BB, dan 5,04 mg/kg BB. Masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus.

Subyek penelitian sebelum diinduksi aloksan terlebih dahulu ditimbang berat badannya dan diukur kadar glukosa darah. Pengukuran berat badan pada masing-masing subyek penelitian bertujuan untuk menentukan dosis aloksan dan *H. formicarum* yang akan diberikan. Penelitian ini menggunakan aloksan untuk induksi diabetes mellitus. Aloksan adalah suatu produk asam urat teroksidasi yang diberikan pada hewan percobaan dan cenderung merusak sel beta pankreas dan menimbulkan diabetes (Dorland, 2002).

Menurut Prabowo (1997) peningkatan kadar glukosa darah akibat pemberian aloksan, bekerja langsung pada sel beta pankreas, merangsang terbentuknya H_2O_2 dan merusak lisosom sel dan dapat menyebabkan degenerasi dan resorpsi sel pankreas sehingga dapat terjadi defisiensi insulin, sedangkan sel alpha dan jaringan sinus dari pankreas tidak terjadi perubahan. Selain itu menurut Okomoto (1990), aloksan dapat

Penelitian tentang mekanisme kerja aloksan yang dilakukan secara *in vitro* menunjukkan bahwa aloksan menghambat aktivitas calmodulin yang berperan dalam transport ion Ca sel. Calcium sangat diperlukan untuk memulai proses seluler yang meliputi kontraksi, sekresi neurotransmitter dan hormon "ritmik firing" dari jantung dan sel saraf. Calmodulin merupakan protein pengikat Ca berada dalam sel. Akibat hambatan aktivitas calmodulin ini, sekresi insulin juga terhambat. Aloksan menginduksi pengeluaran ion Ca dari mitokondria yang mengakibatkan gangguan homeostasis yang merupakan awal dari kematian sel (Colca, *et al.*, 1983)

Dosis aloksan yang digunakan secara intravena 65 mg/kg BB, sedangkan intraperitoneal dan subkutan adalah 2 sampai 3 kalinya (Szkudelski, 2001; Ress & Alcolado, 2005). Jadi pada penelitian ini digunakan dosis aloksan sebesar 130 mg/kg BB secara intraperitoneal.

Sebelum diinduksi aloksan, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah yang bertujuan untuk menentukan kadar glukosa darah normal pada tikus. Kadar glukosa darah diukur kembali 48 jam setelah diinduksi aloksan. Hasil pengukuran kadar glukosa darah sebelum dan sesudah diinduksi aloksan dapat dilihat pada Tabel 2.

Adanya peningkatan kadar glukosa darah ini menandakan bahwa proses induksi diabetes berhasil karena aloksan merupakan produk asam urat teroksidasi yang merusak sel β pulau pankreas dan menimbulkan diabetes. Kecuali pada kelompok kontrol normal karena tidak diinduksi aloksan jadi peningkatan kadar

Kelompok kontrol positif diberi glibenklamid . Glibenklamid merupakan obat pertama dari antidiabetika oral generasi ke-2 dengan khasiat hipoglikemiknya kira-kira 100× lebih kuat dari tolbutamid. Pola kerjanya dengan *single dose* pagi hari mampu menstimulasi pengeluaran insulin pada setiap pemasukan glukosa selama makan. Dengan demikian selama 24 jam tercapai regulasi darah yang mirip normal (Tjay & Raharja, 2002).

Tabel 2. Perbandingan Kadar Glukosa Darah Sebelum dan Sesudah Diinduksi Aloksan

No	Kelompok	Kadar Glukosa Darah Sebelum diinduksi Aloksan	Kadar Glukosa Darah Setelah diinduksi Aloksan	Selisih Kadar Glukosa Darah
1	Kontrol normal	72,42 ± 1,8 g/dl	73,03 ± 1,32 g/dl	+0,61 g/dl
2	Kontrol negatif	72,94 ± 2,84 g/dl	247,61 ± 3,24 g/dl	+174,67 g/dl
3	Kontrol positif	73,07 ± 2,52 g/dl	246,06 ± 2,86 g/dl	+172,99 g/dl
4	Perlakuan dosis 1,26 mg/kg BB	74,37 ± 1,96 g/dl	245,29 ± 10,58 g/dl	+170,92 g/dl
5	Perlakuan dosis 2,52 mg/kg BB	74,62 ± 4,84 g/dl	246,90 ± 3,98 g/dl	+172,28 g/dl
6	Perlakuan dosis 5,04 mg/kg BB	75,01 ± 2,66 g/dl	243,74 ± 4,52 g/dl	+168,73 g/dl

Dosis glibenklamid yang digunakan pada manusia sebesar 30 mg/kg BB.

Berdasarkan rumus konversi manusia BB 70 kg dikonversi ke tikus 200 g = 0,018

Maka dosis yang digunakan pada penelitian ini adalah

H. formicarum diberikan selama 14 hari. Pada hari ke 15, kadar glukosa darah diukur kembali. Hasil pengukuran kadar glukosa darah sebelum dan sesudah perlakuan bisa dilihat pada Tabel 3.

Pada kelompok kontrol normal terjadi perubahan kadar glukosa darah dan masih dalam batas normal karena hanya diberi pakan dan minum. Kelompok kontrol negatif terjadi perubahan kadar glukosa darah dari sebelum perlakuan dan masih tinggi karena diinduksi aloksan, dan tidak menurun karena hanya diberi pakan dan minum saja tanpa pengobatan. Kelompok kontrol positif terjadi penurunan kadar glukosa darah dari sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan karena diberikan glibenklamid dosis 0,5 mg/kg BB selama 14 hari.

Tabel 3. Perbandingan Kadar Glukosa Darah Sesudah Diinduksi Aloksan dan Sesudah Perlakuan

No	Kelompok	Kadar Glukosa Darah Sesudah diinduksi Aloksan	Kadar Glukosa Darah 14 hari Setelah Perlakuan	Selisih Kadar Glukosa Darah
1	Kontrol normal	73,03 ± 1,32 g/dl	74,17 ± 1,24 g/dl ^a	+1,14 g/dl
2	Kontrol negatif	247,61 ± 3,24 g/dl	249,90 ± 3,08 g/dl ^b	+2,29 g/dl
3	Kontrol positif	246,06 ± 2,86 g/dl	102,65 ± 3,72 g/dl ^c	-143,41 g/dl
4	Perlakuan dosis 1,26 mg/kg BB	245,29 ± 10,58 g/dl	144,85 ± 6,40 g/dl ^d	-100,44 g/dl
5	Perlakuan dosis 2,52 mg/kg BB	246,90 ± 3,98 g/dl	129,64 ± 3,16 g/dl ^e	-117,26 g/dl
6	Perlakuan dosis 5,04 mg/kg BB	243,74 ± 4,52 g/dl	107,12 ± 2,46 g/dl ^f	-136,62 g/dl

Menurut Nio (2007) bahwa tikus laboratorium dalam keadaan sehat dapat hidup 2-3 tahun. Satu minggu umur tikus ekuivalen dengan 30 minggu umur manusia, sehingga penentuan 14 hari atau 2 minggu tikus untuk terapi herbal sama dengan 60 minggu atau 15 bulan pada manusia.

Kelompok perlakuan infusa *H. formicarum* dosis 1,26 mg/kg BB; 2,52 mg/kg BB dan 5,04 mg/kg BB terjadi penurunan kadar glukosa darah dari sebelum perlakuan dan sesudah perlakuan. *H. formicarum* adalah tanaman herbal yang mengandung senyawa kimia golongan flavonoid. Flavonoid adalah pigmen tumbuhan dengan struktur kimia dan peran biologi yang sangat beragam (Setyawan & Darusman, 2008).

Senyawa aktif flavonoid diketahui dapat menghambat enzim-enzim penting yang berperan dalam pemecahan karbohidrat yaitu enzim α amilase dan enzim α glukosidase. Terhambatnya kerja enzim tersebut menyebabkan makanan tidak dapat diserap oleh usus. Efek inilah yang dapat menurunkan kadar glukosa darah pada penderita diabetes mellitus (Oliviany, *et al.*, 2009).

Data hasil pengukuran kadar glukosa darah dianalisis dengan test normalitas untuk mengetahui persebaran data normal atau tidak. Dari *tests of normality* didapatkan hasil Sig. setiap kelompok $> 0,05$ pada Shapiro-wilk, berarti H_0 diterima atau persebaran data normal jadi bisa dilanjutkan dengan *oneway anova*.

Dari uji *Oneway Anova* didapatkan hasil Sig. 0,000 yaitu probabilitas $< 0,05$, maka H_0 ditolak berarti rata-rata kadar glukosa darah dari keenam kelompok tersebut

kelompok yang berbeda dan mana saja yang tidak berbeda maka dilanjutkan dengan *post hoc test*-(Tukey).

Dari uji *post hoc test* dengan menggunakan Tukey didapatkan nilai signifikansi keenam kelompok uji $< 0,05$, maka H_0 ditolak, berarti perbedaan *mean* diantara keenam kelompok tersebut benar- benar nyata (hubungan antar variabel). Hal tersebut juga bisa dilihat dengan adanya tanda (*) dibelakang angka *mean difference*.

Dari hasil perhitungan statistik didapatkan hasil yang menunjukkan bahwa infusa *H. formicarum* menyebabkan penurunan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan, yang berarti *H. formicarum* mempunyai efek hipoglikemik.

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa infusa *H. formicarum* dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang terinduksi aloksan. Uji analisis kimia dari *H. formicarum* menunjukkan bahwa tumbuhan ini mengandung senyawa flavonoid, tanin dan tokoferol (Subroto & Saputro, 2006). Flavonoid adalah pigmen tumbuhan dengan struktur kimia dan peran biologi yang sangat beragam. Klasifikasi flavonoid sangat beragam, di antaranya flavon, flavonon, isoflavon, flavanol, flavanon, antosianin, dan kalkon. Lebih dari 6467 senyawa flavonoid telah diidentifikasi dan jumlahnya terus meningkat. Kebanyakan flavonoid berbentuk monomer, tetapi terdapat pula bentuk dimer (biflavonoid), trimer, tetramer, dan polimer (Setyawan & Darusman, 2008).

Flavonoid mempunyai banyak manfaat untuk kesehatan manusia, diantaranya antioksidan, anti-inflamasi, anti kanker, anti alergi, antimikrobia, antifungi,

anti hipertensi, anti pembekuan darah, dan mempengaruhi metabolisme enzim (Setyawan & Darusman, 2008). Mekanisme utama dari flavonoid adalah aktivitas antioksidan. Termasuk menyaring radikal oksigen (Saija, *et al.*, 1995), dan menghambat xanthine oxidase dan peroksidase lipid (Chang, *et al.*, 1993).

Pada penelitian ini, hewan uji diinduksi dengan aloksan. Aloksan adalah suatu produk asam urat teroksidasi yang diberikan pada hewan percobaan cenderung merusak sel pulau pankeas dan menimbulkan diabetes (Dorland, 2006). Aloksan dapat menghasilkan radikal bebas hidrosil yang merusak substansi essensial sel-sel beta pankreas (Mc.Neil, 1999). Efek diabetogenik aloksan ini dapat dicegah oleh senyawa penangkap radikal hidrosil. Penangkap radikal bebas yang terdapat dalam *H. formicarum* adalah senyawa flavonoid (Subroto, 2006).

Konsumsi *H. formicarum* dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus , karena kandungan flavonoidnya yang berperan sebagai penangkap radikal bebas, yang memiliki efek antioksidan sehingga dapat memperbaiki jaringan pankreas akibat radikal bebas hasil induksi dari aloksan. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilaporkan oleh Prachayasittikul *et al.* (2008) yang membuktikan bahwa flavonoid terutama *isoliquiritigenin*, *protocatechualdehyde* dan *butein* dapat melindungi integritas dari sel β pankreas dan menurunkan kadar gula dalam darah. Flavonoid dapat menyelamatkan jaringan pulau langerhans dari pengkerutan, degenerasi, deganulasi, dan nekrosis akibat dari kerusakan pankreas yang terinduksi aloksan. Selain itu flavonoid memiliki aktifitas hipoglikemik dengan menghambat

monosakarida yang dapat diserap oleh usus yaitu enzim alfa amilase dan enzim alfa glukosidase.- Penghambatan pada kedua enzim tersebut mengganggu proses pemecahan karbohidrat menjadi monosakarida sehingga tidak dapat diserap oleh usus. Dengan demikian, kadar glukosa darah tidak meningkat setelah mengkonsumsi makanan atau minuman yang mengandung glukosa. Efek inilah yang dapat