

## **BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN**

### **A. Gambaran Umum Penelitian**

Penelitian mengenai efektifitas seduhan daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap kadar Malondialdehid (MDA) pada tikus Diabetes Melitus yang diinduksi *streptozotocin-nicotinamide* telah dilakukan.

Penelitian yang dilakukan selama kurang lebih 3 bulan ini menggunakan 36 hewan uji tikus putih berkelamin jantan galur *Sprague dawley* dengan rentang berat badan 150 gram-220 gram. Tikus dibagi menjadi 6 kelompok dengan 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 25°C 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 dan kadar gula darah puasanya (GDP). Pengukuran berat badan dilakukan guna menentukan dosis *streptozotocin-nicotinamide* yang akan diberikan.

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

| Kelompok          | Rerata Berat Badan (gram) $\pm$ SD |
|-------------------|------------------------------------|
| Kontrol Normal    | 171,83 $\pm$ 10,3                  |
| Kontrol Negatif   | 168,50 $\pm$ 21,9                  |
| Kontrol Positif   | 179,83 $\pm$ 15,2                  |
| P1(250 mg kersen) | 169,50 $\pm$ 16,1                  |
| P2(500 mg kersen) | 176,17 $\pm$ 14,8                  |
| P3(750 mg kersen) | 184,00 $\pm$ 10,6                  |

Tabel 2 menunjukkan bahwa rerata berat badan tikus tertinggi sebelum induksi *streptozotocin-nicotinamide* ada pada kelompok perlakuan 3 dengan rerata berat badan 184 gram dan rerata berat badan terendah ada pada kelompok kontrol negatif dengan rerata berat badan 168,5 gram. Semua tikus memiliki berat badan lebih dari 150 mg.

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

| Kelompok          | Rerata Berat Badan (gram) $\pm$ SD |
|-------------------|------------------------------------|
| Kontrol 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 setelah induksi *streptozotocin-nicotinamide* tertinggi ada pada kelompok perlakuan 3 dengan rerata berat badan 188,5 gram dan rerata berat badan terendah ada pada kelompok kontrol negatif dengan rerata berat badan 171,5 gram.

Pengambilan sampel darah untuk menilai kadar gula darah puasa (GDP) melalui pembuluh darah sinus orbita tikus dilakukan sebelum injeksi

*streptozotocin-nicotinamide*, 5 hari setelah injeksi *streptozotocin-nicotinamide* dan 14 hari setelah perlakuan guna menilai penurunan kadar GDP. Kemudian pengambilan sampel hepar pada hari ke 26 untuk menilai kadar Malondialdehid (MDA).

## B. HASIL PENELITIAN

Rata-rata kadar gula darah puasa (GDP) sebelum dan sesudah induksi *streptozotocin-nicotinamide* diuji menggunakan analisis statistik *paired sample t Test*. Hasil *paired sample t Test* ditunjukkan pada tabel 4 dan 5.

Tabel 4 menunjukkan terjadi peningkatan bermakna kadar GDP tikus putih (*Rattus novergicus*) setelah induksi *streptozotocin-nicotinamide* dengan nilai  $p=00001$  ( $p<0,05$ ). Seluruh kelompok dinyatakan sebagai tikus Diabetes Melitus dengan kadar  $GDP>135\text{mg/dl}$  (Puspitasari, 2015).

Tabel 4. Rerata GDP Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Sebelum dan Sesudah Induksi *Streptozotocin-nicotinamide*

| Kelompok          | Glukosa Darah Puasa (mg/dl) $\pm$ SD |                   | Nilai p<br>(paired-t-test) |
|-------------------|--------------------------------------|-------------------|----------------------------|
|                   | 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                     |
|                   | 59,47 $\pm$ 1,62                     | 206,82 $\pm$ 1,91 | 0,0001                     |
| Positif           | 62,24 $\pm$ 1,72                     | 211,00 $\pm$ 4,26 | 0,0001                     |
|                   | 59,97 $\pm$ 1,91                     | 207,52 $\pm$ 2,22 | 0,0001                     |
| P1(250 mg kersen) | 58,83 $\pm$ 2,08                     | 211,84 $\pm$ 3,18 | 0,0001                     |
| P2(500 mg kersen) |                                      |                   |                            |
| P3(750 mg kersen) |                                      |                   |                            |

Tabel 5. Rerata GDP tikus putih (*Rattus novergicus*) sebelum dan sesudah perlakuan seduhan daun kersen (*Muntingia calabura L.*) dengan *paired sample t Test*.

| Kelompok          | Glukosa Darah Puasa (mg/dl) $\pm$ SD |                   | Nilai p<br>(paired-t-test) |
|-------------------|--------------------------------------|-------------------|----------------------------|
|                   | 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                      |
|                   | 206,82 $\pm$ 1,91                    | 99,25 $\pm$ 1,57  | 0,0001                     |
| Positif           | 211,00 $\pm$ 4,26                    | 157,65 $\pm$ 1,88 | 0,0001                     |
| P1(250 mg kersen) | 207,52 $\pm$ 2,22                    | 136,99 $\pm$ 2,35 | 0,0001                     |
|                   | 211,84 $\pm$ 3,18                    | 103,11 $\pm$ 2,42 | 0,0001                     |
| P2(500 mg kersen) |                                      |                   |                            |
| P3(750 mg kersen) |                                      |                   |                            |

Tabel 5 menunjukkan bahwa terdapat penurunan bermakna kadar GDP tikus putih (*Rattus Novergicus*) sebelum dan sesudah diberi perlakuan dengan nilai  $p=0,0001$  ( $p<0,05$ ).

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

| Kelompok          | Rerata Penurunan<br>GDP $\pm$ SD (mg/dl) | Nilai $p$ (One Way<br>Anova) |
|-------------------|--|------------------------------|
| Normal            | 0,39 $\pm$ 0,09                          |                              |
| Negatif           | 0,90 $\pm$ 0,72                          |                              |
| Positif           | -107,56 $\pm$ 0,53                       | 0,0001                       |
| 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 pada kelompok P3 (750mg kersen) dengan nilai penurunan 108,72 mg/dl. Kelompok yang mengalami

penurunan terendah yaitu kelompok P1 (250mg kersen) dengan nilai penurunan 53,34 mg/dl. Kelompok yang mengalami peningkatan kadar glukosa darah puasa yaitu kontrol negatif dengan nilai peningkatan 0,90mg/dl. Perbedaan yang bermakna terdapat pada semua kelompok percobaan pada penelitian yang ditunjukkan nilai  $p=0,0001$  ( $<0,05$ ).

Pada hari ke 26, tikus dibedah untuk kemudian diambil heparnya dan diamati kadar Malondialdehid dan dibandingkan dengan kadar Malondialdehid pada kelompok normal.

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

| Kelompok          | Rerata MDA (U/mg) $\pm$ SD | Nilai $p$ (One Way Anova) |
|-------------------|----------------------------|---------------------------|
| Normal            | 2,21 $\pm$ 0,16            |                           |
| Kontrol Negatif   | 9,52 $\pm$ 0,24            |                           |
| Kontrol Positif   | 3,24 $\pm$ 0,20            | 0,0001                    |
| P1(250 mg kersen) | 6,93 $\pm$ 0,20            |                           |
| P2(500 mg kersen) | 5,18 $\pm$ 0,20            |                           |
| P3(750 mg kersen) | 3,64 $\pm$ 0,16            |                           |

Pada tabel 7 dapat dilihat bahwa terjadi penurunan kadar Malondialdehid pada kelompok kontrol positif (metformin), P1 (250mg kersen), P2 (500mg kersen) dan P3 (750mg kersen) apabila dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu 9,52 U/mg. Dengan nilai  $p=0,0001$  ( $p<0,05$ ) menunjukkan bahwa terdapat pengaruh seduhan daun kersen terhadap kadar MDA.

Tabel 8. Selisih Kadar Malondialdehid dibandingkan kelompok negatif.

| Kelompok          | Rerata selisih<br>MDA (mg/dl) | Nilai <i>p</i> (One Way<br>Anova) |
|-------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| Positif           | 6,28                          |                                   |
| P1 (250mg Kersen) | 2,59                          |                                   |
| P2 (500mg Kersen) | 4,34                          | 0,0001                            |
| P3 (750mg Kersen) | 5,88                          |                                   |

Tabel 8 menunjukkan jumlah selisih kadar Malondialdehid pada semua kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok negatif dimana jumlah selisih yang paling besar yaitu pada kelompok kontrol positif (metformin) kemudian diikuti dengan kelompok P3 (750mg kersen). Sedangkan selisih yang paling kecil yaitu terdapat pada kelompok P1 (250mg kersen) diikuti kelompok P2 (500mg kersen).

### C. PEMBAHASAN

Penelitian eksperimen ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas seduhan daun kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap kadar Malondialdehid (MDA) pada tikus putih DM yang diinduksi streptozotocin-nicotinamide. Tahap awal tikus dibuat menjadi diabetes dengan menginduksinya menggunakan streptozotocin 65mg/kgBB dan nicotinamide 230mg/kgBB. Selanjutnya tikus putih yang telah dibagi menjadi 6 kelompok yang salah satunya merupakan kelompok normal (pemanding), kelompok kontrol negatif yang hanya diinduksi *streptozotocin-nicotinamide*, kelompok kontrol positif akan diberikan intervensi metformin dan kelompok P1, P2, dan P3 yang masing-masing akan diberikan seduhan daun kersen yang dibagi menjadi 3 dosis yaitu 250mg/200gramBB, 500mg/200gramBB, dan 750mg/200gramBB selama 14 hari.

Hasil analisis GDP tikus putih sebelum dan sesudah induksi *streptozotocin-nicotinamide* dengan menggunakan *paired-t-test* menunjukkan perbedaan bermakna pada 6 kelompok dengan nilai  $p=0,0001$  ( $p<0,05$ ). Seluruh sampel tikus mengalami kenaikan gula darah puasa setelah diinduksi *streptozotocin-nicotinamide*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Puspitasari (2015) bahwa sampel tikus dinyatakan diabetes melitus tipe 2 apabila  $GDP > 135\text{mg/dl}$ .

Model tikus yang diinduksi *streptozotocin-nicotinamide* untuk mendapatkan tikus diabetes melitus tipe 2 telah dilakukan di berbagai penelitian. Penelitian yang dilakukan oleh Suhardinata (2015) membuktikan tikus putih yang diinduksi *streptozotocin* dosis  $65\text{mg/kg}$  BB tikus dan  $230\text{mg/kg}$  BB tikus menjadi diabetes melitus dalam waktu 5 hari. Penelitian lain yang dilakukan oleh Siswanto dan Purwaningsih (2012) membuktikan bahwa tikus putih yang diinduksi *streptozotocin* menjadi diabetes. Dosis efektif *streptozotocin* adalah  $65\text{mg/kg}$  dan Nicotinamide adalah  $230\text{mg/kg}$  (Ghasemi, 2014).

*Streptozotocin* adalah senyawa campuran glukosamin-nitrosourea. Nama kimiawi senyawa ini adalah 2-deoksi-3-(3-metil-3-nitrosoureido)-D-glukopiranos (C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>). Senyawa ini dapat masuk ke dalam sel melalui *transporter* glukosa (GLUT 2). Sel beta pankreas memiliki jumlah GLUT 2 lebih banyak daripada sel-sel tubuh lainnya sehingga STZ memiliki toksisitas selektif terhadap sel beta pancreas (Szkudelski, 2001). *Streptozotocin* biasa digunakan untuk menginduksi hewan eksperimental

diabetik melalui berbagai cara, yaitu STZ menyebabkan kerusakan DNA pada islet pankreas dan menstimulasi *poly adenosin diphosphate* (ADP) *ribosylation*. Proses ini akan mengakibatkan penghabisan *nicotinamide adenine dinucleotide* ( $\text{NAD}^+$ ) seluler, lebih lanjut akan terjadi pengurangan *adenosine triphosphate* (ATP) dan akhirnya akan menghambat sekresi dan sintesis insulin. STZ juga menginduksi terbentuknya radikal-radikal bebas, misalnya superoksida ( $\text{O}_2^-$ ), hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), hidroksil ( $\text{OH}^-$ ), dan lain-lain (Szkudelski, 2001).

*Nicotinamide* (*pyridine-3-carboxamide*) adalah amida dari vitamin B3 (Niacin). Efek protektif Nicotinamide dalam melindungi sel beta pankreas, telah dibuktikan. Banyak penelitian *in vitro* dan *in vivo* menyimpulkan bahwa Nicotinamide dapat melindungi sel beta pankreas terhadap efek toksik Streptozotocin (Szkudelski, 2012). Nicotinamide digunakan pada eksperimen kali sesuai dengan kegunaannya yaitu untuk melindungi sel beta pankreas agar sampel tikus putih menjadi diabetes melitus tipe 2.

Hasil analisis GDP tikus putih sebelum dan sesudah perlakuan dengan menggunakan *paired-t-test* menunjukkan perbedaan bermakna pada 6 kelompok dengan nilai ( $p < 0,05$ ). Kelompok kontrol positif, P1, P2 dan P3 mengalami penurunan kadar GDP dikarenakan masing-masing kelompok diberikan intervensi berupa metformin, seduhan daun kersen 250mg/200gramBB, seduhan daun kersen 500mg/200gramBB, dan seduhan daun kersen 750mg/200gramBB. Pada kelompok kontrol negatif tidak



mengalami penurunan bahkan meningkat dikarenakan pada kelompok kontrol negatif hanya diberikan aquades. Untuk menentukan dosis seduhan mana yang paling efektif dalam menurunkan kadar GDP maka dilakukan uji analisis *Post-Hoc*. Hasil uji *Post-Hoc* menunjukkan penurunan kadar GDP yang paling efektif pada kelompok P3 (seduhan daun kersen 750mg/200gramBB) dengan selisih penurunan terbesar yaitu 108,72 mg/dl. Sehingga daun kersen efektif dalam penurunan gula darah puasa tikus Diabetes Melitus. Hal ini dikarenakan kandungan daun kersen yaitu flavonoid. Flavonoid dapat berperan sebagai antioksidan yang mampu menurunkan stress oksidatif sehingga menimbulkan efek protektif terhadap sel beta pankreas dan meningkatkan sensitivitas insulin (Kaneto *et al*, 1999). Flavonoid terutama quercetin merupakan penghambat terhadap GLUT 2 pada mukosa usus, suatu lintasan absorpsi glukosa dan fruktosa pada membran usus. Mekanisme penghambatan ini bersifat nonkompetitif sehingga terjadi pengurangan penyerapan kadar glukosa darah (Oran *et al*, 2002).

Data post-test kadar MDA yang didapat kemudian dianalisis normalitasnya menggunakan uji shapiro-wilk. Hasil uji normalitas pada tiap kelompok berdistribusi normal dengan signifikansi  $p=0,2$  ( $p>0,05$ ). Kemudian dilakukan uji Levene untuk menguji homogenitas dan didapatkan nilai signifikansi  $p=0,936$  ( $p>0,05$ ) yang menunjukkan antar kelompok memiliki data yang homogen. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas, maka dilakukan uji parametrik *one way anova*. Hasil uji

parametrik *one way anova* menunjukkan signifikansi  $p=0,0001$  ( $p<0,05$ ) yang menunjukkan bahwa terdapat pengaruh seduhan daun kersen terhadap kadar MDA.

Hasil analisis data pada *one way anova* menunjukkan adanya peningkatan kadar MDA pada kelompok kontrol negatif bila dibandingkan dengan kelompok kontrol normal. Hal ini dipicu oleh tingginya radikal bebas yang diakibatkan oleh hiperglikemia. Adanya hiperglikemia pada DM akan menyebabkan peningkatan produksi ROS oleh mitochondria, yang kemudian menyebabkan kerusakan strand dari nuclear DNA. Kerusakan ini akan mengaktifkan poly ADP-ribose polymerase (PARP) suatu DNA repair enzyme, yang kemudian memodifikasi dan menurunkan aktivitas GADPH dengan akibat peningkatan produksi AGEs, aktivasi PKC, aktivasi jalur hexosamine, dan jalur polyol. Hal tersebut akan menyebabkan ketidakseimbangan antara radikal bebas dengan pertahanan antioksidan yang berada dalam tubuh yang merupakan awal terjadinya stress oksidatif. Kadar antioksidan yang rendah dapat meningkatkan kerusakan seluler oksidatif sehingga meningkatkan produk peroksidasi lipid berupa MDA.

Sedangkan pada ada kelompok kontrol positif, P1, P2, dan P3 terjadi penurunan rerata kadar MDA yang bermakna apabila dibandingkan dengan kelompok negatif. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian metformin, seduhan daun kersen dosis 250mg/200gramBB, 500mg/200gramBB, dan 750mg/200gramBB dapat menurunkan kadar

MDA pada diabetes melitus secara signifikan. Penurunan kadar MDA paling banyak apabila dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu pada kelompok positif yaitu sebesar 6,28mg/dl dan disusul kelompok P3 (seduhan daun kersen 250mg/200gramBB) sebesar 5,88 mg/dl.

Hal ini sejalan dengan penelitian Siswanto dan Purwaningsih (2012) dengan judul Pemberian Suspensi Bubuk Kedelai Dapat Menurunkan Kadar Malondialdehid (MDA) Serum Pada Tikus Putih Diabetes Melitus yang Diinduksi Streptozotocin mendapatkan hasil pemberian suspensi bubuk kedelai dapat menurunkan kadar MDA pada tikus diabetes melitus yang diinduksi streptozotocin. Penelitian yang dilakukan oleh Siswanto dan Purwaningsih juga menggunakan 3 dosis bertingkat (200mg, 400mg, dan 800mg). Perbedaan penelitian ini dengan penelitian yang dilakukan oleh Siswanto dan Purwaningsih adalah intervensi yang digunakan, Siswanto dan Purwaningsih menggunakan suspensi bubuk kedelai sedangkan penelitian ini menggunakan seduhan daun kersen.

Penelitian yang dilakukan oleh Vembriarto Jati Pramono dan Rahmad Santoso (2014) dengan judul Pengaruh Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia calabura*) terhadap Kadar Gula Darah Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) yang Diinduksi Streptozotocin (STZ) juga mendapatkan hasil penurunan kadar glukosa darah puasa bermakna pada kelompok perlakuan. Perbedaan penelitian yang dilakukan Vembriarto dengan penelitian ini

adalah variabel yang digunakan pada penelitian Vembriarto yaitu ekstrak buah kersen sedangkan penelitian ini menggunakan seduhan daun kersen. Perbedaan kedua yaitu penelitian Vembriarto meneliti kadar glukosa darah puasa sedangkan penelitian ini meneliti kadar MDA.

Penelitian mengenai efek kersen terhadap kadar MDA juga masih sangat jarang dilakukan sebelumnya. Penelitian yang mirip yaitu penelitian yang dilakukan oleh Anggraini Respati Sekar Siwi (2010) yang meneliti tentang pengaruh ekstrak daun sendok (*Plantago major L*) terhadap kadar MDA pada mencit Balb/b induksi *streptozotocin*. Persamaannya yaitu sama sama menggunakan tanaman yang mengandung flavonoid untuk diabetes melitus, dan perbedaannya yaitu tanaman yang digunakan dalam penelitian Siwi adalah ekstrak daun sendok sedangkan pada penelitian ini menggunakan daun kersen dan hewan coba yang digunakan dalam penelitian Siwi adalah mencit sedangkan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih. Namun, hanya terdapat 1 dosis ekstrak daun sendok pada penelitian Siwi yaitu 1000mg/kgBB/oral setiap hari tidak dibagi menjadi 3 dosis seperti pada penelitian ini.