

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian ini menggunakan tikus putih (*Rattus novergicus*) galur wistar dengan kriteria inklusi yaitu tikus jantan yang sehat dan belum pernah mendapat perlakuan, berusia 2-3 bulan, berat 150 - 250 gram. Kriteria eksklusi adalah tikus sakit, tikus mati, tikus tidak mau makan. Tikus akan dimatikan bila ada yang sakit dalam penelitian atau mati.

Kelompok tikus (*Rattus novergicus*) galur wistar tersebut dibagi menjadi 6 kelompok yaitu yaitu kelompok Kontrol Normal (K0) hanya diberi pakan biasa, kelompok Kontrol Positif (K1) disuntik aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB dan diberi obat glibenklamide 0,09 mg/200grBB, kelompok Kontrol Negatif (K2) hanya disuntik aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB, kelompok perlakuan (K3) disuntik aloksan 80 mg/KgBB dan diberi air rendaman tempe 40 gr/l, kelompok perlakuan (K4) disuntik aloksan 80 mg/KgBB dan diberi air rendaman tempe 80 mg/l, kelompok perlakuan (K5) disuntik aloksan 80 mg/KgBB dan diberi air rendaman tempe 160 gr/l.

Pada penelitian ini, dilakukan pencatatan berat badan, nilai glukosa, eritrosit, dan hemoglobin tikus pada masing-masing kelompok.

1. Perubahan Berat Badan Tikus

Hasil pengamatan yang dilakukan dengan mencatat penimbangan berat badan kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yaitu sebelum penelitian dilakukan (sebagai penentuan dosis aloksan), sesudah induksi aloksan (sebagai indikator dampak hiperglikemi), dan sesudah terapi (pada hari ke-14) pada nilai rerata dan standar deviasi perubahan berat badan tikus diperlihatkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Berat badan tikus pada pre dan pos terapi

Kelompok (n = 5)	Berat badan (gram)	
	Pre terapi	Post terapi
K0 = Kontrol normal	224,4 ± 5,32	241,8 ± 5,63
K1 = Kontrol positif	219,0 ± 4,89	232,6 ± 5,32
K2 = Kontrol negatif	212,8 ± 5,45	206,8 ± 6,68
K3 = Air rendaman tempe dosis 40 gr/l	219,0 ± 7,48	228,4 ± 7,63
K4 = Air rendaman tempe dosis 40 gr/l	222,2 ± 3,70	236,4 ± 3,71
K5 = Air rendaman tempe dosis 160 gr/l	214,0 ± 4,47	230,8 ± 3,96

Keterangan: Data dikumpulkan dalam bentuk rerata ± simpangan baku. K0 = Pakan biasa, K1 = Aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB dan glibenklamide 0,09 mg/200grBB, K2 = Aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB, K3 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 40 gr/l, K4 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 80 gr/l, K5 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 160 gr/l.

Tampak konsentrasi air rendaman tempe paling tinggi 160 mg/l memberikan efek paling tinggi terhadap kenaikan berat badan tikus, sebagaimana terlihat pada Tabel 6.

2. Perubahan nilai glukosa

Hasil pengamatan yang dilakukan dengan mencatat perubahan nilai glukosa kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yaitu sebelum penelitian dilakukan (sebagai skrining diabetes), sesudah induksi aloksan (memastikan kenaikan gula darah), dan sesudah terapi (pada hari ke-14) pada nilai rerata dan standar deviasi perubahan glukosa diperlihatkan pada Tabel 7.

Tabel 7. Kadar glukosa darah pada pre dan post terapi

Kelompok (n = 5)	Kadar glukosa darah (gr/dl)	
	Pre terapi	Post terapi
K0 = Kontrol normal	63,74 ± 17,34	65,82 ± 1,838
K1 = Kontrol positif	229,35 ± 8,42	93,58 ± 3,328
K2 = Kontrol negatif	220,14 ± 7,04	218,96 ± 4,721
K3 = Air rendaman tempe dosis 40 gr/l	218,99 ± 6,62	162,41 ± 5,422
K4 = Air rendaman tempe dosis 80 gr/l	218,71 ± 6,69	142,13 ± 3,195
K5 = Air rendaman tempe dosis 160 gr/l	216,69 ± 5,81	117,02 ± 5,47

Keterangan: Data dikumpulkan dalam bentuk rerata ± simpangan baku. K0 = Pakan biasa, K1 = Aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB dan glibenklamide 0,09 mg/200grBB, K2 = Aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB, K3 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 40 gr/l, K4 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 80 gr/l, K5 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 160 gr/l.

Tampak konsentrasi air rendaman tempe paling tinggi 160 gr/l memberikan efek paling tinggi terhadap penurunan kadar glukosa darah, sebagaimana terlihat pada Tabel 7.

3. Perubahan angka eritrosit

Hasil pengamatan yang dilakukan dengan mencatat perubahan nilai eritrosit kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yaitu sebelum penelitian dilakukan (sebagai skrining awal), sesudah induksi aloksan (memastikan adanya dampak hiperglikemi), dan sesudah terapi (pada hari ke-14) pada nilai rerata dan standar deviasi perubahan angka eritrosit diperlihatkan pada Tabel 8.

Tabel 8. Hitung eritrosit pada pre dan post terapi

Kelompok (n=5)	Hitung eritrosit (n x10 ⁶ mm)	
	Pre terapi	Post terapi
K0 = Kontrol normal	7,46 ± 0,304	7,44 ± 0,260
K1 = Kontrol positif	3,51 ± 0,289	6,89 ± 0,042
K2 = Kontrol negatif	3,13 ± 0,242	2,98 ± 0,074
K3 = Air rendaman tempe dosis 40 gr/l	3,01 ± 0,168	4,05 ± 0,047
K4 = Air rendaman tempe dosis 80 gr/l	3,52 ± 0,366	5,93 ± 0,068
K5 = Air rendaman tempe dosis 160 gr/l	3,50 ± 0,361	6,30 ± 0,073

Keterangan: Data dikumpulkan dalam bentuk rerata ± simpangan baku. K0 = Pakan biasa, K1 = Aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB dan glibenklamide 0,09 mg/200grBB, K2 = Aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB, K3 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 40 gr/l, K4 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 80 gr/l, K5 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 160 gr/l.

Tampak semakin tinggi konsentrasi air rendaman tempe paling tinggi 160 gr/dl memberikan efek paling tinggi terhadap kenaikan angka eritrosit, sebagaimana terlihat pada Tabel 8.

4. Perubahan kadar hemoglobin

Hasil pengamatan yang dilakukan dengan mencatat perubahan kadar hemoglobin kelompok kontrol dan kelompok perlakuan yaitu sebelum penelitian dilakukan (sebagai skrining awal), sesudah induksi aloksan (memastikan dampak adanya hiperglikemi), dan sesudah terapi (pada hari ke-14) pada nilai rerata dan standar deviasi perubahan angka eritrosit diperlihatkan pada Tabel 9.

Tabel 9. Perubahan kadar hemoglobin pada pre dan post terapi

Kelompok (n=5)	Kadar hemoglobin (gr/dl)	
	Pre terapi	Post terapi
K0 = Kontrol normal	12,68 ± 0,143	12,53 ± 0,128
K1 = Kontrol positif	8,74 ± 0,385	11,77 ± 0,196
K2 = Kontrol negatif	8,13 ± 0,135	8,02 ± 0,152
K3 = Air rendaman tempe dosis 40 gr/l	8,15 ± 0,262	8,49 ± 0,215
K4 = Air rendaman tempe dosis 80 gr/l	8,19 ± 0,329	9,16 ± 0,258
K5 = Air rendaman tempe dosis 160 gr/l	8,04 ± 0,297	10,40 ± 0,274

Keterangan: Data dikumpulkan dalam bentuk rerata ± simpangan baku. K0 = Pakan biasa, K1 = Aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB dan glibenklamid 0,09 mg/200grBB, K2 = Aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB, K3 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 40 gr/l, K4 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 80 gr/l, K5 = Aloksan 80 mg/KgBB dan air rendaman tempe 160 gr/l.

Tampak semakin tinggi konsentrasi air rendaman tempe paling tinggi 160 gr/l memberikan efek paling tinggi terhadap kenaikan kadar hemoglobin, sebagaimana terlihat pada Tabel 9.

Data penelitian yang diperoleh kemudian di uji memakai *SPSS 16.0* untuk *windows*. Langkah pertama adalah uji normalitas memakai *Shapiro-Wilk test* . Peneliti memilih uji normalitas ini karena jumlah sampel < 50 . Dari uji normalitas *Shapiro Wilk* di dapatkan perubahan eritrosit ($p_1 = 0,003$) dan perubahan haemoglobin ($p_2 = 0,001$). Dari uji normalitas didapatkan perubahan eritrosit dan perubahan haemoglobin menunjukkan keduanya terdistribusi tidak normal ($p < 0,05$). Selanjutnya dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis*.

Uji statistik *Kruskal Wallis* digunakan bila dalam uji normalitas data tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) dan untuk mengetahui perbedaan perubahan eritrosit dan perubahan haemoglobin pada ke-6 kelompok. Dari hasil uji *kruskal wallis* didapatkan bahwa pada perubahan eritrosit ($p = 0,008$) dan perubahan hemoglobin ($p = 0,001$) berarti ada perbedaan bermakna antar 6 kelompok yaitu K0, K1, K2, K3, K4, dan K5. Untuk selanjutnya dilakukan *post hoc tes* dari uji *Kruskal Wallis* yaitu *mann whitney test* yang berfungsi untuk menguji perbedaan 2 kelompok dan variasi kelompok secara keseluruhan. Untuk hasil uji *mann whitney* disajikan pada Tabel 9.

Tabel 10. Uji *mann whitney*

Kelompok	Perubahan eritrosit (nx10 ⁶)	Perubahan hemoglobin (gr/dl)
K0 = Kontrol normal	-0,14 ^a	-0,14 ^a
K1 = Kontrol positif	3,03 ^b	3,38 ^b
K2 = Kontrol negatif	-1,02 ^c	-1,44 ^c
K3 = Air rendaman tempe dosis 40 gr/l	0,33 ^d	1,04 ^a
K4 = Air rendaman tempe dosis 80 gr/l	0,97 ^e	2,40 ^e
K5 = Air rendaman tempe dosis 160 gr/l	2,36 ^e	2,80 ^{e,f}

Keterangan: a=K0 berbeda dengan ke-6 kelompok lainnya pada eritrosit sedangkan K3 dan K0 tidak berbeda pada hemoglobin, b=kelompok K1 berbeda dengan ke-6 kelompok lainnya pada eritrosit dan hemoglobin, c=K2 berbeda dengan ke-6 kelompok lainnya pada eritrosit dan hemoglobin, d=K3 berbeda dengan ke-6 kelompok lainnya pada eritrosit, e=K4 tidak jauh berbeda dengan K5 pada eritrosit dan hemoglobin, f=K5 juga memiliki hasil berbeda pada hemoglobin

Data pada tabel 10, terlihat adanya perbedaan bermakna antara kelompok kontrol positif (K1) disuntik aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB dan diberi obat glibenklamide 0,09 mg/200grBB dengan kelompok perlakuan (K5) disuntik aloksan 80 mg/KgBB dan diberi air rendaman tempe 160mg/l.

Akibat pemberian diet air rendaman tempe berbagai dosis yaitu 40 gr/l, 80 gr/l, dan 160 gr/l kepada kelompok perlakuan memberi berbagai efek yaitu peningkatan berat badan, penurunan glukosa, peningkatan eritrosit dan peningkatan haemoglobin. Dosis air rendaman tempe 160 gr/l memberikan efek paling tinggi dalam

menetralisasi efek radikal bebas akibat hiperglikemi sehingga meningkatkan perubahan eritrosit dan haemoglobin.

Dari awal penelitian hingga penelitian berakhir jumlah tikus tetap berjumlah 30 ekor. Secara umum, kondisi tikus pada semua kelompok masih baik dan tidak mati akibat perlakuan. Hanya pada kelompok kontrol negatif (K2) hanya disuntik aloksan intraperitoneal 80 mg/KgBB, tikus terlihat kurus akibat perlakuan aloksan dan hal tersebut akibat efek toksik aloksan.

B. Pembahasan

Penurunan berat badan pada tikus disebabkan pada kondisi diabetes tidak mampu menggunakan glukosa sebagai sumber energi karena terjadi kekurangan hormon insulin. Kekurangan hormon insulin membuat glukosa tidak masuk ke dalam sel sehingga pemakaian energi berasal dari asam lemak bebas dan gliseril yang berasal dari proses lipolisis jaringan (Skulzdeski, 2001). Penelitian (Kim *et al.*, 2006) menyebutkan bahwa penurunan berat badan adalah karakteristik Diabetes Mellitus akibat induksi aloksan dan penurunan berat badan bervariasi setelah efek toksik aloksan kepada sel beta pankreas.

Keadaan hiperglikemik ditandai peningkatan glukosa di atas normal pada tikus yakni berkisar $105,2 \pm 14,2$ mg/dl (Taguchi, 1985). Serat pangan mampu mengikat glukosa, sehingga mengurangi ketersediaan glukosa. Diet cukup serat juga menyebabkan terjadinya kompleks karbohidrat dan serat, sehingga daya cerna karbohidrat

berkurang. Keadaan tersebut mampu meredam kenaikan glukosa darah dan menjadikannya tetap terkontrol (Santoso, 2011).

Serat pangan mampu mengikat glukosa. Tempe mempunyai serat pangan tidak larut air. Kandungannya adalah hemiselulosa, selulosa, ester fenolik, glikoprotein. Kadar dalam tempe sebanyak 1,4% pada setiap 100 gram tempe kering. Diet cukup serat pada tempe berpengaruh pada viskositas dan absorpsi gula sehingga daya cerna karbohidrat diserap secara perlahan (Marsono *et al.*, 2003). Keadaan tersebut mampu meredam kenaikan glukosa darah dan menjadikan glukosa darah tetap terkontrol (Santoso, 2011).

Serat pangan juga berperan sebagai prebiotik yang cenderung dimetabolisme secara lambat dan difermentasi oleh usus besar, sehingga waktu transit menjadi lebih pendek dan membuat rasa kenyang dirasakan menjadi lebih lama. Kondisi itu merangsang stimulasi hormon inkretin *glukagon like peptide* (GLP 1). Hormon GLP 1 berperan penting dalam stimulasi sel Beta pankreas untuk menghasilkan insulin dan secara langsung menghambat sekresi glukagon (Santoso, 2011).

Mekanisme yang diketahui pengaruh kedelai terhadap penurunan glukosa pada Diabetes Mellitus. Mekanisme tersebut terjadi karena efek enzim Tripsin Inhibitor dalam kedelai yang bekerja menurunkan kondisi hiperglikemia dengan cara mensekresi plasma Cholecystokinin (CCK) dalam duodenal sehingga menstimulasi sel

beta (Kanetro *et al.*, 2008). Tripsin Inhibitor diketahui memperbaiki fungsi pankreas dan meningkatkan sekresi insulin (Suzuki & Tobe (1984) dalam Kanetro *et al.* (2008).

Analisis kadar protein menunjukkan dalam 100 gram tempe kukus mengandung 16,85%w/w protein. Pengukusan tempe selama 10 menit menambah kadar air sekitar 4% - 5%, sehingga dalam 100 gram tempe mentah mengandung 17,7%w/w protein. Asam amino yang dominan pada tempe adalah arginin yang merupakan asam amino dengan kadar tertinggi (6,58%w/w) (Utari *et al.*, 2011).

Arginin diketahui terlibat dalam pembentukan nitrit oksida (NO) berperan mengatur metabolisme glukosa, asam lemak dan asam amino, sehingga konsumsi arginin akan menurunkan massa lemak pada tikus yang obesitas dan Diabetes Mellitus. Nitrat oksida juga meningkatkan transport glukosa, menurunkan sintesa glukosa dan glikogen serta menstimulasi pelepasan insulin (Utari *et al.*, 2011).

Selama proses fermentasi tempe, terdapat peningkatan derajat ketidakjenuhan terhadap lemak (PUFA) sehingga meningkat jumlahnya. Asam lemak tak jenuh mempunyai efek penurunan terhadap kandungan kolesterol serum, sehingga dapat menetralkan efek negatif sterol di dalam tubuh (Bintana, 2010).

Penelitian lain menyebutkan penurunan kadar glukosa darah pada pemberian susu kedelai diakibatkan oleh adanya kandungan asam lemak tak jenuh (PUFAs) yang cukup tinggi terutama *alfa linolenid*

acid (n-3) pada penderita DM tipe 2. *Alfa linolenid acid (n-3)* yang merupakan ligan PPAR, meregulasi ekspresi gen yang terlibat dalam homeostasis glukosa. Aktivasi PPAR menyebabkan peningkatan ekspresi gen yang mengkode GLUT 4, sehingga terjadi up take glukosa di sel otot skeletal (Handayani *et al.*, 2009).

Peneliti menetapkan angka eritrosit normal tikus putih berbeda-beda. Nilai normal total eritrosit tikus putih sebesar $5,4 \pm 0,32 \times 10^6 \mu\text{l}$ (Fieldman *et al.*, 2000). Menurut Malole dan Pramono (1989) nilai normal eritrosit sebesar $7-10 \times 10^6 \mu\text{l}$. Untuk nilai haemoglobin ditetapkan berkisar 12,6-16,3 g/dl (Schalm, 2000). Menurut Fieldman *et al.* (2000) nilai haemoglobin normal berkisar $11,5 \pm 0,9 \text{ g/dl}$. Menurut Malole dan Pramono (1989) nilai haemoglobin normal berkisar 11-18 g/dl.

Konsumsi protein membuat hormon eritropoietin yang terbentuk akan semakin sedikit sehingga eritrosit yang terbentuk pun akan semakin sedikit. Asam lemak tak jenuh ikut berperan untuk perkembangan sel eritrosit. Asam lemak tak jenuh tersebut berperan sebagai komponen penyusun membran fosfolipid yang berperan dalam stabilitas membran sel eritrosit (Besumi, 2011).

Tempe kedelai banyak mengandung Vitamin E. Kandungan vitamin E pada kedelai berbentuk alfa tokoferol merupakan pertahanan baris pertama terhadap peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat didalam fosfolipid membran selular dan subselular. Kerja

antioksidan tokoferol berlangsung efektif pada konsentrasi oksigen tinggi, dengan demikian vitamin tersebut cenderung terkonsentrasi di dalam struktur lipid yang terpajan pada tekanan parsial O₂ paling tinggi misalnya membran eritrosit (Lestaringrum, 2012).

Fungsi utama vitamin E (tokoferol) adalah pemutus rantai, penangkap radikal bebas di membran sel dan plasma lipoprotein dengan bereaksi terhadap radikal peroksi lipid hasilnya adalah tokoperoksil (produk tokoferol yang telah teroksidasi yang tidak reaktif) (Lestaringrum, 2012).

Sintesis heme memerlukan banyak senyawa antara dan keterlibatan beberapa zat gizi mikromineral. Kandungan Fe, vitamin B₂, vitamin B₆, vitamin B₁₂ dalam makanan berperan dalam pembentukan hemoglobin. Asam amino glisin dan vitamin B₆ berperan dalam reaksi awal pembentukan heme pada hemoglobin (Murray *et al.*, 2009).

Tempe mengandung vitamin B₁₂ (sianokobalamin) yang biasanya dihasilkan oleh produk hewani. Vitamin B₁₂ terkandung 4% mikromineral Co, diperlukan untuk pematangan eritrosit dan mengubah folat inaktif menjadi aktif. Kombinasi kandungan Fe dengan vitamin B₁₂ membuat efek sinergis dalam absorpsi di usus dan secara tidak langsung meningkatkan kadar Hb dan jumlah eritrosit (Patria *et al.*, 2011).