

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Pada penelitian ini menggunakan tikus putih galur spargue dawley jantan sebagai objek penelitian, tikus spargue dawley yang digunakan berumur \pm 2 bulan, mempunyai berat badan lebih dari 150 gram, dan sehat. Pemeliharaan tikus putih dimulai tanggal 16 april 2013 di Laboratorium PAU Universitas Gajah Mada, aklimatisasi tikus putih dilakukan selama 5 - 7 hari.

Pada penelitian ini digunakan 25 tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok. Setiap kelompok akan diberi perlakuan berbeda. Pada kelompok 1 hanya diberi larutan Na-CMC 0,5% sebanyak 2 ml, kelompok 2 diberi obat anti diabetik yaitu dengan dosis 0,09 mg/200gr BB ditambah 2 ml Na-CMC 0,5 %, dan kelompok 3, 4, dan 5 diberi perlakuan ekstrak kulit manggis dengan dosis yang berbeda 50mg/kgBB, 100 mg/kgBB, dan 200 mg/kgBB ditambah 2 ml Na-CMC 0,5 %.

Tikus diambil darahnya melalui periorbital dan diukur kadar LDL dan glukosa untuk mengetahui kadar awal sebelum tikus diinduksi alloxan. Kadar glukosa diukur untuk mengetahui tikus telah diabetik atau belum. Tikus diinduksi alloxan dengan dosis 80 mg /kgBb. Tikus diukur kadar LDL darah dan glukosa setelah 2 hari diinduksi alloxan untuk mengetahui telah diabetik atau belum.

Hasil pengukuran kadar LDL sebelum dan sesudah induksi alloxan pada kelompok negatif, positif, dosis I, II, dan III akan ditampilkan dalam bentuk diagram. Hasil pengukuran tersebut akan diujikan menggunakan Paired sample t test. Hasil pengukuran kadar rerata LDL pada masing-masing kelompok sebelum dan sesudah perlakuan alloxan disajikan pada tabel di bawah ini.

Tabel 1. Pre-post tes Alloxan untuk LDL

Kelompok	Pre alloxan (mg/dl)	Post alloxan (mg/dl)
K (-)	24.78 ± 3.11	66.50 ± 1.64
K (+)	25.27 ± 3.28	62.73 ± 4.47
D (50)	30.06 ± 7.10	64.55 ± 2.12
D (100)	28.09 ± 6.51	71.97 ± 3.61
D (200)	25.64 ± 3.93	74.28 ± 3.02

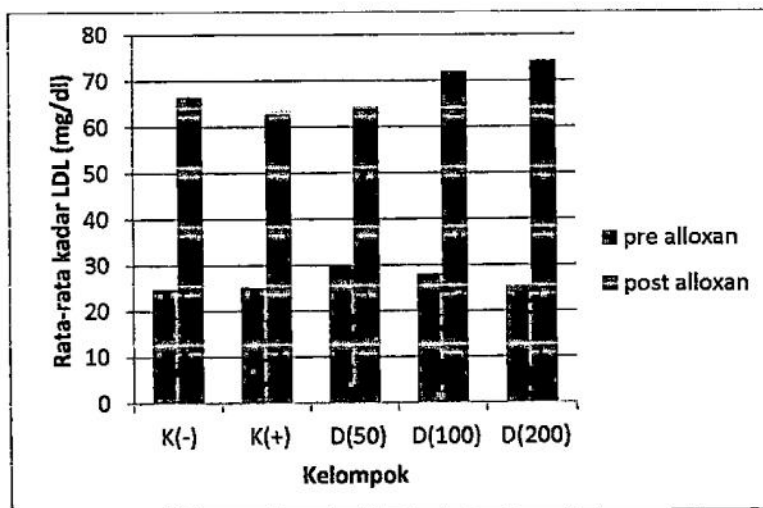


Diagram 1. Rata-rata kadar LDL pre-post test Alloxan

Dari table di atas dapat diketahui bahwa rata-rata LDL darah kontrol negatif sebelum perlakuan adalah 24.78 ± 3.11 mg/dl dan sesudah perlakuan adalah 66.50 ± 1.64 mg/dl sehingga didapatkan rerata kenaikan 41.72 ± 3.18 mg/dl. Pada kontrol positif sebelum perlakuan adalah 25.27 ± 3.28 mg/dl dan sesudah perlakuan adalah 62.73 ± 4.47 mg/dl sehingga didapatkan rerata kenaikan 37.46 ± 6.58 mg/dl. Pada dosis I sebelum perlakuan adalah 30.06 ± 7.10 mg/dl dan sesudah perlakuan adalah 64.55 ± 2.12 mg/dl sehingga didapatkan rerata kenaikan 34.49 ± 9.12 mg/dl. Pada dosis II sebelum perlakuan adalah 28.09 ± 6.51 mg/dl dan sesudah perlakuan adalah 71.97 ± 3.61 mg/dl sehingga didapatkan rerata kenaikan 43.88 ± 6.54 mg/dl. Pada dosis III sebelum perlakuan adalah 25.64 ± 3.93 mg/dl dan sesudah perlakuan adalah 74.28 ± 3.02 mg/dl sehingga didapatkan rerata kenaikan 48.64 ± 4.74 mg/dl.

Berdasarkan diagram diatas didapat kenaikan rerata kadar LDL 41.72 ± 3.18 mg/dl. Pada kontrol positif didapatkan kenaikan rerata 37.46 ± 6.58 mg/dl. Pada dosis I didapatkan kenaikan rerata 34.49 ± 9.12 mg/dl. Pada dosis II didapatkan kenaikan rerata 43.88 ± 6.54 mg/dl. Pada dosis III didapatkan kenaikan rerata 48.64 ± 4.74 mg/dl.

Sebelumnya data diuji kenormalitasannya, data menunjukkan hasil tidak normal karena sig. menunjukkan 0,005 pada prealloxan, sedangkan normalnya $P > 0,05$. Maka dari itu paired t-tes diturunkan menjadi wilcoxon. Berdasarkan tabel diatas hasil pengukuran kadar LDL darah sebelum dan sesudah induksi alloxan digunakan uji wilcoxon menunjukkan

peningkatan yang signifikan masing-masing $p < 0,05$ pada semua kelompok. Artinya terdapat perbedaan rata-rata kadar LDL yang signifikan sebelum dan sesudah diberi alloxan.

Tabel 2. Pre post induksi alloxan untuk glukosa

Kelompok	Pre-alloxan (mg/dl)	Post-alloxan (mg/dl)
K(-)	73.01±1.61	197.23±6.17
K(+)	77.99±3.08	188.83±5.11
D(50)	82.27±2.42	181.99±9.89
D(100)	75.02±3.68	184.33±2.81
D(200)	84.10±1.49	183.11±7.31

Dari table di atas dapat diketahui bahwa kadar glukosa sebelum dan sesudah induksi alloxan mengalami kenaikan pada masing-masing kelompok.

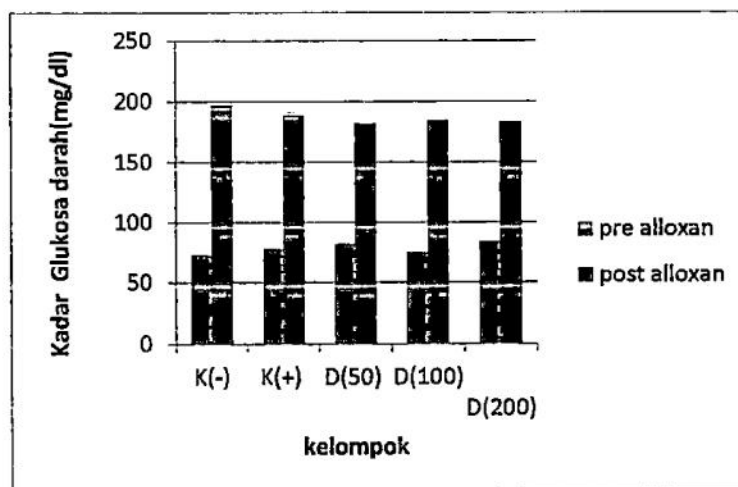


Diagram 2. Rata-rata kadar glukosa darah (mg/dl)

Berdasarkan grafik diatas didapat rerata kenaikan kadar Glukosa darah 124.21 ± 7.35 mg/dl pada kontrol negatif, hal ini berarti terjadi peningkatan kadar glukosa sebesar 124.21 ± 7.35 mg/dl. Pada kontrol positif didapatkan rerata kenaikan 110.84 ± 6.91 mg/dl. Pada dosis I didapatkan rerata kenaikan 99.72 ± 12.26 mg/dl. Pada dosis II didapatkan rerata kenaikan 99.72 ± 12.26 mg/dl. Pada dosis III didapatkan rerata kenaikan 99.012 ± 7.16 mg/dl.

Setelah itu kadar glukosa diuji menggunakan uji paired t-tes dan menunjukkan peningkatan yang signifikan masing-masing $p < 0,05$ pada semua kelompok. Artinya terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan pada kadar glukosa sebelum dan sesudah diberi alloxan.

Setelah tikus diabetik, tikus dikelompokkan dan diberi perlakuan yang berbeda tiap kelompoknya, tikus diberi perlakuan selama 14 hari, setelah itu tikus diukur kadar LDL darahnya. Setelah mendapatkan hasil dilakukan uji oneway anova.

Tabel 3. Kadar LDL sebelum dan sesudah perlakuan

Kelompok	Post Alloxan (mg/dl)	Post Perlakuan (mg/dl)
K (-)	66.50 ± 1.64	69.65 ± 2.21
K (+)	62.73 ± 4.47	46.23 ± 3.48
D (50)	64.55 ± 2.12	64.17 ± 2.20
D (100)	71.97 ± 3.61	58.19 ± 2.09
D (200)	74.28 ± 3.02	42.36 ± 4.29

Dari table 3 dapat diketahui bahwa rata-rata LDL darah sebelum dan sesudah perlakuan pada semua kelompok mengalami penurunan kecuali pada kelompok kontrol negatif mengalami kenaikan karena tidak diberi perlakuan.

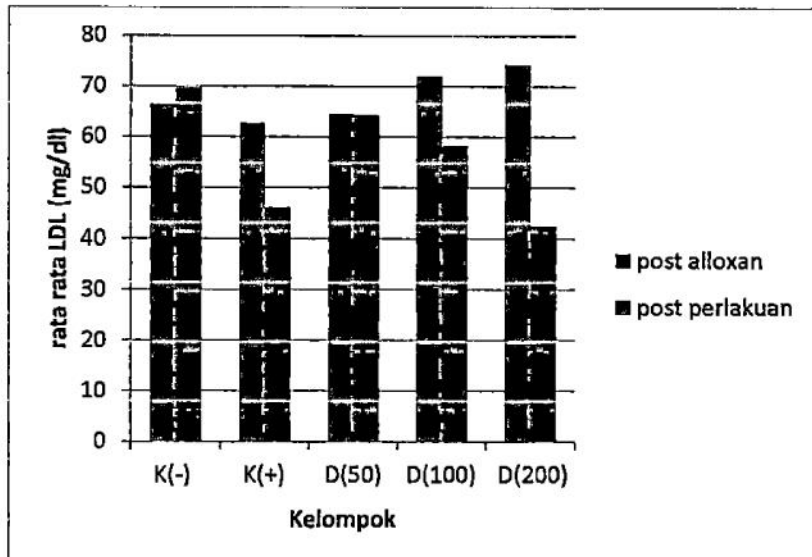


Diagram 3. Rata-rata kadar LDL sebelum dan sesudah perlakuan

Berdasarkan grafik diatas didapat rerata penurunan kadar LDL darah 3.15 ± 0.95 mg/dl pada kontrol negatif. Pada kontrol positif rerata penurunan 16.50 ± 3.58 mg/dl. Pada dosis I rerata penurunan 0.38 ± 2.93 mg/dl. Pada dosis II rerata penurunan 13.78 ± 4.88 mg/dl. Pada dosis III rerata penurunan 31.92 ± 5.97 mg/dl.

Untuk mengetahui dosis mana yang paling optimal dalam menurunkan LDL, kita dapat melihat pada tabel 4. Pada tabel 4. menunjukkan bahwa rerata kadar LDL yang paling kecil setelah diberi perlakuan adalah pada kelompok dosis 200mg/kg BB.

Tabel 4. Rata-rata Kadar LDL post terapi

Kelompok	N	Rata-rata Kadar LDL post terapi (mg/dl) \pm SD
K (-)	5	69.65 \pm 2.21
K (+)	5	46.23 \pm 3.48
D (50)	5	64.17 \pm 2.20
D (100)	5	58.19 \pm 2.09
D (200)	5	42.36 \pm 4.29
Total Rerata	25	56.12 \pm 10.9

*N: jumlah hewan uji

Setelah itu hasil pengukuran dihitung dengan uji Anova, didapat sig .000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan rata-rata kadar LDL pada kelima kelompok setelah perlakuan. Lalu dilakukan uji analisa Post Hoc untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan rerata. Didapatkan hasil bahwa seluruh kelompok menunjukkan perbedaan rata-rata yang signifikan kecuali kelompok kontrol positif dengan ekstrak kulit manggis dosis 200mg/dl karena nilai sig. .282 ($p < 0,05$) dan kelompok dosis 50 mg/kg BB dengan kelompok kontrol negatif dengan nilai sig .061.

B. Pembahasan

Sebelum perlakuan, tikus diadaptasikan terlebih dulu selama 5-7 hari lalu tikus putih dihitung berat badan, kadar glukosa dan kadar LDL normal. Rata-rata glukosa darah sebelum diinduksi alloxan 78.4804 ± 4.89 mg/dl dan setelah perlakuan menjadi 187.1000 ± 8.34 mg/dl. Kenaikan kadar glukosa ini karena efek pemberian dosis alloxan sebesar 80 mg/kgBB tikus secara intraperitoneal. Terjadi tiga fase pada subyek

setelah induksi alloxan. Pertama terjadi reaksi hiperglikemia yang berlangsung selama 1-4 jam. Kemudian diikuti reaksi hipoglikemia yang berlangsung antara 6-12 jam dan terakhir terjadi reaksi hiperglikemia permanen pada 12-24 jam setelah pemberian alloxan. Setelah dua hari dilakukan pengukuran terhadap kadar glukosa darah pada masing-masing kelompok subyek. Sebelum pemeriksaan kadar glukosa darah subyek dipuasakan selama 8-12 jam. Hasil pengukuran kadar glukosa darah setelah induksi alloxan mengalami kenaikan yaitu yang semula 78.4804 ± 4.89 mg/dl menjadi 187.1000 ± 8.34 mg/dl dan setelah itu diuji dengan paired T-tes menunjukkan nilai sig .000 ($p < 0.05$) ini artinya bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar glukosa sebelum dan sesudah diinduksi alloxan. Kadar LDL dalam darah juga mengalami peningkatan setelah diinduksi alloxan, yang semula kadarnya 26.77 ± 5.064 mg/dl menjadi 68.01 ± 5.33 mg/dl. Setelah itu kadar LDL diuji dengan uji wilcoxon dan menunjukkan sig .000 ($p < 0.05$) artinya terdapat perbedaan yang bermakna pada rata-rata kadar LDL sebelum dan sesudah diberi alloxan.

Hal ini dapat dikatakan bahwa hewan uji telah mengalami hiperglikemia dan kadar LDL dalam darahnya telah mengalami peningkatan. Ini dikarenakan terdapat reduksi dari alloxan yang menghasilkan asam dialurat disertai adanya oksigen radikal yang akan berubah menjadi hydrogen peroksida dan akhirnya timbul hidroksil radikal

jika terdapat ion logam seperti Fe, Cu, dan Zn. Zat radikal bebas itu merusak sel β pancreas sehingga insulin tidak dapat dihasilkan.

Penyebab lainnya yakni adanya gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler. Alloxan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas sitosolik pada sel β Langerhans pankreas. Efek tersebut diikuti oleh beberapa kejadian : influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, dan eliminasinya yang terbatas dari sitoplasma. Influks kalsium akibat alloxan tersebut mengakibatkan depolarisasi sel β Langerhans, lebih lanjut membuka kanal kalsium tergantung voltase dan semakin menambah masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. (Szkudelski, 2001; Walde *et al.*, 2002).

Akibat defisiensi insulin, kadar glukosa dalam darah akan meningkat atau biasa disebut hiperglikemia. Adanya hiperglikemia akan meningkatkan ROS (reactive oxygen species) dalam berbagai mekanisme. ROS akan mengganggu keseimbangan reaksi redoks dalam tubuh dan menurunkan enzim antioksidan dan menyebabkan peningkatan radikal bebas. Inilah yang disebut dengan stress oksidatif. Meningkatnya stress oksidatif menyebabkan disregulasi jaringan adiposa (Meigh, *et al.*, 2007). Pada resistensi insulin terjadi kelainan profil lipid serum yang khas yaitu kadar trigliserida tinggi, kolesterol HDL rendah dan meningkatnya

subfraksi LDL kecil padat, dikenal dengan nama fenotipe lipoprotein aterogenik atau *lipid triad* (Adam, 2006).

Setelah hewan uji mengalami keadaan diabetic, masing masing kelompok akan diberi perlakuan selama 14 hari. Setelah perlakuan, kadar LDL hewan uji dihitung dan didapat adanya penurunan. Selanjutnya dilakukan uji pre-post perlakuan dan menunjukkan penurunan yang signifikan masing-masing pada uji paired T-tes sig 0.00 ($p < 0,05$) pada kelompok II, III, IV, V dan pada kelompok I terjadi peningkatan LDL karena pada kelompok ini tidak diberi perlakuan. Artinya terdapat perbedaan rerata LDL yang bermakna sebelum dan sesudah perlakuan pada 5 kelompok . Pada pemberian kontrol positif yakni pemberian glibenklamid dengan dosis 0,09mg/200gr BB tikus terdapat penurunan kadar LDL dari 62.73 ± 4.47 mg/dl menjadi 46.2320 ± 3.48 mg/dl. Cara kerja obat glibenklamid sendiri adalah dengan menstimulasi sel beta dari pulau langerhans, sehingga sekresi insulin ditingkatkan. Kepekaan sel sel beta bagi kadar glukosa darah di perbesar melalui pengaruhnya atas transpor glukosa (Hoan, 2008). Dengan naiknya kadar insulin maka kadar gula darah dapat menurun dan diikuti dengan menurunnya kadar LDL, serta naiknya kadar HDL karena adanya perbaikan metabolisme lipid. Pada penelitian sebelumnya dikatakan bahwa menurunnya kadar LDL pada pemberian glibenklamid tidaklah signifikan, akan tetapi kenaikan HDL mengalami kenaikan yang signifikan (Mughal *et al.*2000).

Pada kelompok III, IV,V juga terdapat penurunan LDL, yaitu pada dosis 50mg/kg BB penurunan LDL dari 64.55 ± 2.12 mg/dl menjadi 64.1740 ± 2.20 mg/dl . Dosis 100 mg/kg BB turun dari 71.97 ± 3.61 mg/dl menjadi 58.1920 ± 2.09 mg/dl, dan untuk dosis 200mg/kg BB penurunan LDL dari 74.28 ± 3.02 mg/dl menjadi 42.3660 ± 4.29 mg/dl. Penurunan ini dikarenakan efek ekstrak kulit manggis yang diberikan. Seperti yang kita ketahui sebelumnya bahwa pada DM tipe 2 terjadi hiperglikemia yang nantinya akan mengakibatkan disregulasi metabolisme lipid. Berkurangnya hormon insulin akan mengakibatkan beberapa proses yakni turunnya aktivasi lipoprotein lipase didalam kapiler darah, yang sebenarnya enzim ini berfungsi untuk menghidrolisis trigliserida. Berkurangnya hormon Insulin juga menurunkan pengangkutan glukosa ke dalam sel hati, yang pada normalnya glukosa akan masuk jalur glikolisis, diubah menjadi piruvat dan hasil akhir berupa asetil-KoA, yang merupakan substrat awal sintesis asam lemak. Apabila kadar insulin berkurang, maka sintesis asam lemak dan trigliserida akan berkurang sehingga tubuh banyak memecah lemak. Kadar enzim lipoprotein lipase yang berkurang akan menimbulkan terganggunya katabolisme VLDL. Apabila terganggu, kadar VLDL akan semakin meningkat didalam darah dan hasil katabolisme VLDL yaitu asam lemak bebas tidak dapat disimpan di jaringan adiposa dan nantinya VLDL ini akan berubah menjadi LDL yang menyebabkan peningkatan kolesterol total dan dapat memicu aterosklerotik (Price, *et al.*, 2006 ; Guyton, 2006). Keadaan hiperglikemia

juga menyebabkan meningkatnya ROS atau radikal bebas yang memacu terjadinya pembentukan ekspresi (TNF- α) sebagai agen proinflamasi yang akan memperparah ROS dan juga dapat memperparah aterosklerotik sehingga menyebabkan rusaknya endotel pada pembuluh darah. Tiwari (2002) berpendapat bahwa efek stress oksidatif pada DM tipe 2 dapat menyebabkan disregulasi pada jaringan adipose sehingga terjadi gangguan metabolise lemak yakni tingginya lipolisis sehingga LDL pada darah meningkat. Stress oksidatif dapat membentuk ROS dan berefek terjadi pembentukan ekspresi *Tumour necrosis factor- α* (TNF- α) yang akan memperparah oksidasi LDL oleh makrofag. Kulit Manggis mengandung senyawa fenolic yaitu xanthone, tanin dan antosianin. Xanthone disini mengandung alfa-mangostin dan gamma mangostine sebagai antilipid, anti inflamasi dan antioksidan. Alfa-mangostin dan gamma-mangostin sebagai antioksidan menunjukkan dapat menangkap radikal bebas, mengurangi stress oksidatif sehingga menurunkan ekspresi TNF- α sehingga dapat menghambat pembentukan sel busa dipembuluh darah sehingga menurunkan faktor resiko terbentuknya plak aterosklerosis. Sebagai antiinflamasi alfa-mangostin dan gamma-mangostin dapat menekan dan mengurangi produksi ekspresi TNF- α dan NO (nitrit oksida). Kadar NO dapat meningkat pada keadaan hiperlipid karena adanya stimulasi dari makrofag (Chen *et al.*, 2008). Berkaitan antilipid, alfa-mangostin mampu menghambat proses oksidasi lipoprotein densitas rendah (LDL) yang sangat berperan dalam aterosklerosis (William *et al.*, 1995). Zat aktif

xanthone menghambat terjadinya oksidasi LDL menjadi LDL teroksidasi yang berikatan dengan reseptor scavenger-A yang terdapat di makrofag (Guyton, 2007). Apabila oksidasi LDL dihambat, maka pembentukan formasi foam cell oleh makrofag akan menurun sehingga dapat mengurangi resiko terjadinya aterosklerosis. Alfa-mangostine juga dapat meningkatkan aktifitas enzim lipoprotein lipase yang kemudian akan meningkatkan katabolisme VLDL (Dachriyanus, *et al.*, 2007) . Apabila banyak VLDL yang mengalami katabolisme, trigliserida akan dipecah menjadi FFA dan gliserol sehingga kadarnya di dalam darah akan menurun. VLDL yang dikatabolisme oleh enzim lipoprotein lipase juga akan mengurangi pembentukan LDL sehingga kadar LDL dapat menurun di darah. Cintya (2011) juga mengemukakan dalam penelitiannya tentang efek ekstrak kulit manggis terhadap kadar HDL dan LDL pada tikus aterogenik bahwa kulit manggis berguna sebagai antikolesterol karena mengandung senyawa xanthone dapat meningkatkan aktivitas enzim lipoprotein lipase yang menyebabkan peningkatan katabolisme VLDL. VLDL yang kaya trigliserida akan mengalami hidrolisis menjadi asam lemak dan gliserol. Hasil samping penguraian ini berupa kolesterol, fosfolipid dan apoprotein yang akan dipindahkan ke HDL. Akibatnya, kadar kolesterol total, trigliserida, dan LDL akan menurun dan kadar HDL meningkat. Meningkatnya enzim lipoprotein lipase yang mengkatabolisme VLDL menjadi HDL. LDL menurun penguraian VLDL yang menjadi HDL sehingga kadar HDL menjadi normal dan mekanisme homeostasis

dalam tubuh membuat hidrolisis HDL menjadi LDL juga normal sehingga penurunan LDL terjadi sesuai dengan pengaturan tubuh terhadap keberadaan HDL.

Selanjutnya dilakukan uji anova untuk mengetahui apakah ada perbedaan rerata pada kelima kelompok tersebut. Hasil anova menunjukkan sig .000 ($p < 0.05$) yang artinya terdapat perbedaan rerata yang bermakna pada kelima kelompok setelah pemberian perlakuan. Setelah itu data dihitung dengan uji Anova, didapat sig .000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat perbedaan rata-rata kadar LDL pada kelima kelompok setelah perlakuan. Lalu dilakukan uji analisa Post Hoc untuk mengetahui kelompok mana saja yang mempunyai perbedaan rerata. Didapatkan hasil bahwa seluruh kelompok menunjukkan perbedaan rata-rata yang signifikan kecuali kelompok kontrol positif dengan ekstrak kulit manggis dosis 200mg/dl karena nilai sig .282 ($p < 0.05$) ini artinya dua kelompok tersebut mempunyai efek yang sama dalam menurunkan kadar LDL, dan kelompok dosis 50 mg/kg BB dengan kelompok kontrol negatif dengan nilai sig .061 yang artinya tidak ada pengaruh pemberian ekstrak dosis 50mg/kgBB dan dosis 50mg/kg BB tidak dapat menurunkan kadar LDL secara signifikan.