

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian penurunan kadar glukosa darah tikus diabetes yang diinduksi aloksan, dengan perlakuan pemberian ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) secara oral menggunakan berbagai dosis yang berbeda yang dikonversikan dari manusia ke tikus dapat diuraikan sebagai berikut.

#### 4.1 Hasil Penelitian

##### 4.1.1 Hasil Pengukuran Glukosa Darah Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes

Data hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus diabetes sebelum dan sesudah perlakuan pemberian ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) dapat diketahui bahwa kisaran rerata kadar glukosa darah tikus diabetes sebelum perlakuan ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava* L.) pada kelompok perlakuan D1, D2 dan D3, masing-masing adalah 143,6 mg/dl, 146,6 mg/dl dan 161,8 mg/dl, sedangkan rerata kadar glukosa kelompok D0 (tanpa pemberian ekstrak buah jambu biji) sebesar 157,4 mg/dl. Setelah perlakuan pemberian ekstrak buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) selama 30 hari kadar glukosa darah tikus (*Rattus norvegicus*) mengalami penurunan, pada kelompok D1, D2 dan D3 berkisar antara 104,6 mg/dl, 98 mg/dl dan 94,6 mg/dl. Sedangkan pada kelompok D0 kadar glukosa darah tikus masih pada kisaran 157,4 mg/dl.

Untuk membandingkan kadar glukosa darah antar perlakuan yang diberi ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L) diuji dengan menggunakan Analisis Kovarian (ANKOVA) dengan signifikansi 99%. Hasil ANKOVA dengan taraf

signifikansi 99% menunjukkan bahwa pemberian ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L) memberikan hasil yang signifikan dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes. Tabel dibawah ini adalah ringkasan hasil perhitungan ANKOVA.

Tabel 4.1 Ringkasan ANKOVA Pengaruh Ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L) Terhadap Kadar Glukosa Darah pada Tikus Diabetes

SK	db	JK	KT	F hit	F 1%
Perlakuan	3	12768,179	4256,059	12,459	5,29
Galat	16	3757,518	341,592		
Total	19	16525,697			

Dari data ANKOVA diketahui bahwa nilai  $F_{hitung} = 12,459$  artinya  $F_{hitung} > F_{tabel}$  pada taraf signifikansi 99% yaitu  $12,459 > 5,29$ . Dengan demikian  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Jadi dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava* L) dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus (*Rattus norvegicus*) diabetes.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap perlakuan maka dilakukan uji lanjut BNT pada taraf signifikansi 99%. Dengan uji lanjut BNT akan diketahui perbedaan pada tiap perlakuan. Berdasarkan hasil uji lanjut BNT 1% yang dikonfirmasi dengan nilai rata-rata kadar glukosa darah, maka didapatkan hasil pada tabel berikut:

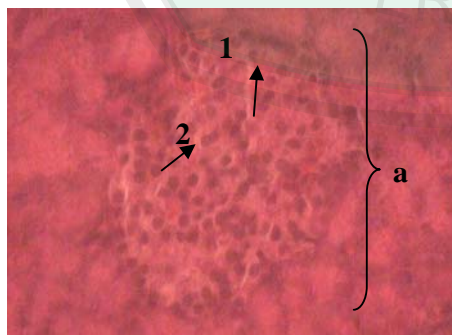
Tabel 4.2 Ringkasan uji BNT 1% dari penurunan kadar glukosa darah tikus diabetes yang diberi ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava* L)

Perlakuan	Rerata kadar glukosa darah terkoreksi	Notasi BNT 1%
P3	94,5433	a
P2	98,0345	a
P1	104,6525	a
P0	157,5697	b

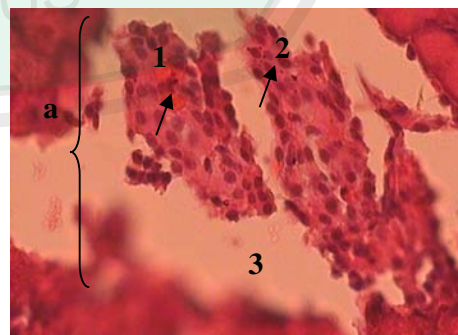
Berdasarkan dari hasil uji BNT signifikansi 99% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada penurunan kadar glukosa darah tikus (*Rattus norvegicus*) diabetes yang diinduksi aloksan. Pada kelompok kontrol positif P0 (tidak diberi ekstrak buah jambu biji) berbeda nyata dengan kelompok perlakuan. Akan tetapi antar perlakuan P1, P2 dan P3 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini berarti pada dosis 1 (0,81 gr/ekor/hari) dikatan sudah bisa menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes begitu juga dengan dosis 2 dan dosis 3.

#### 4.1.2 Histologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*)

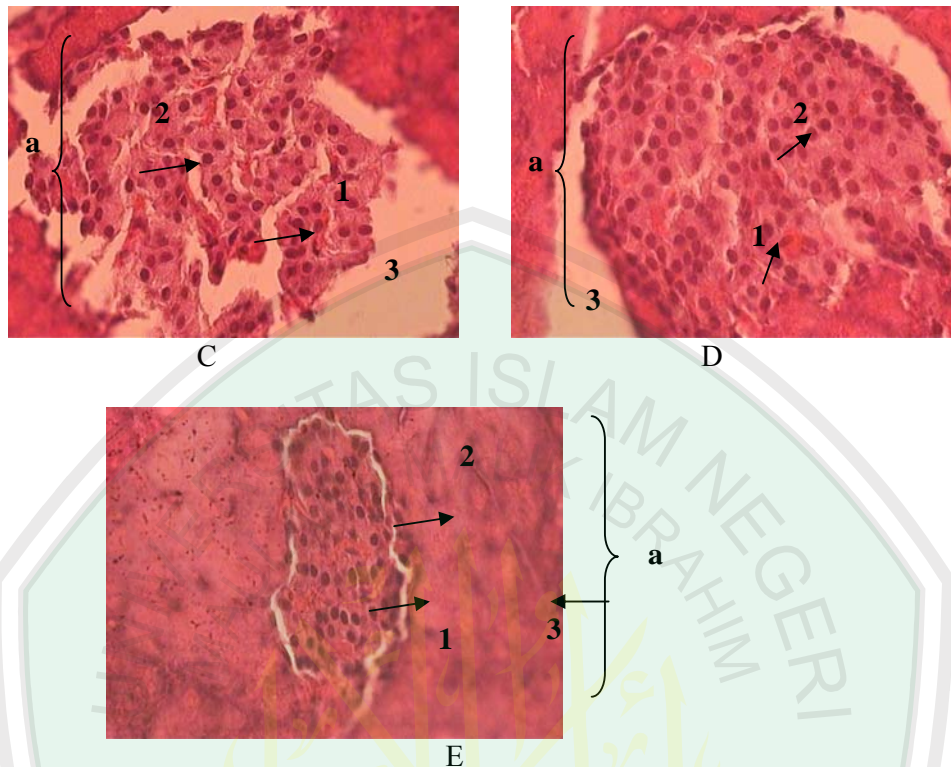
Pada penelitian ini diamati histologi pankreas Tikus diabetes yang diambil setelah 30 hari perlakuan ekstrak Buah Jambu biji (*Psidium guajava* L). Preparat histologi dibuat dengan metode blok paraffin dengan pewarnaan Hemotoxylen-Eosin. Untuk mengetahui nilai kerusakan setiap preparat dapat dilihat pada lampiran 5. Berikut ini adalah gambar histologi pankreas tiap perlakuan:



A



B



Gambar 4.1 Foto Preparat Pulau Langerhans dengan perbesaran 40X10, A: Kontrol negatif, B: Kontrol positif, C: Dosis 1, D: Dosis 2, E: Dosis 3. a: P.langerhans, 1= sel alfa (inti tidak beraturan); 2= sel beta (inti besar dan bulat) dan 3= ruang kosong akibat nekrosis

Dari hasil histologi pankreas diatas dapat diketahui bahwa kisaran rerata tingkat kerusakan islet langerhans tikus diabetes yang diberi ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava* L) pada kelompok perlakuan D1, D2 dan D3 masing-masing adalah 34%, 27,8% dan 16,6%, sedangkan rerata pada kelompok D0 (tanpa pemberian ekstrak buah jambu biji) sebesar 48%.

Tanda angka 4 pada gambar B menunjukkan nekrosis atau kerusakan sel yang ditandai dengan adanya ruang kosong pada islet langerhans. Pada gambar A kontrol negatif tidak terjadi nekrosis dan terlihat jelas sel pada islet langerhans yang sangat padat, sehingga mengindikasikan bahwa islet langerhans dalam keadaan normal (tidak terjadi kerusakan). Pada gambar C dan D dengan nampak

terjadi nekrosis tetapi persentase relatif berkurang dan lebih sempit dibandingkan dengan P0 (tanpa diberi ekstrak buah jambu biji) dan terlihat adanya perbaikan jaringan yang ditandai dengan adanya pertambahan jumlah sel islet langerhans. Sedangkan pada dosis 3 dapat dilihat bahwa terdapat perbaikan pada pulau langerhans.

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan Analisis Variansi (ANOVA) dengan signifikansi 99%. Hasil ANOVA dengan taraf signifikansi 99% menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava* L) memberikan hasil yang signifikan dalam memperbaiki islet pankreas. Tabel dibawah ini adalah ringkasan hasil perhitungan ANOVA:

Tabel 4.3 Ringkasan ANOVA Pengaruh Ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L) Terhadap Histologi Pankreas pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes

SK	db	JK	KT	F hit	F 1%
Perlakuan	3	2586,55	862,183	26,480	5,29
Galat	16	520,95	32,559		
Total	19	3107,5			

Dari data ANOVA dapat diketahui bahwa nilai  $F_{hitung} = 26,480$  artinya  $F_{hitung} > F_{tabel}$  pada taraf signifikansi 99% yaitu  $26,480 > 5,29$ . Dengan demikian  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima. Jadi dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava* L) dapat memperbaiki islet pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) diabetes.

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap perlakuan maka dilakukan uji lanjut BNT pada taraf signifikansi 99%. Dengan uji lanjut BNT akan diketahui perbedaan pada tiap perlakuan. Berdasarkan hasil uji lanjut BNT

1% yang dikonfirmasi dengan nilai rata-rata kerusakan, maka didapatkan hasil pada tabel berikut:

Tabel 4.4 Ringkasan uji BNT 1% dari kerusakan islet pankreas tikus diabetes yang diberi ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L)

Perlakuan	Rerata	Notasi BNT 1%
P3	16,6	A
P2	27,8	B
P1	34,6	B
P0	48	C

Berdasarkan dari hasil uji BNT dengan signifikansi 99% menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada tingkat kerusakan islet pankreas tikus (*Rattus norvegicus*) diabetes. Pada dosis 1, 2 dan 3 berbeda nyata dengan P0 (tanpa ekstrak buah jambu biji), sedangkan dosis 3 berbeda nyata dengan dosis 1 dan 2. Jadi dosis yang paling optimal adalah dosis 1 (0,81 gr/hari).

#### 4.2 Pembahasan

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang berumur 2 bulan. Tikus banyak digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian toksikologi maupun penelitian medis lainnya. Harga tikus relatif murah dan pemeliharaannya mudah (Kusumowati, 2004).

Kondisi diabetes pada hewan coba didapat dengan menginjeksi tikus dengan aloksan. Injeksi aloksan diberikan secara intravena dengan dosis tunggal 150 mg/kg bb. Kondisi diabetes pada tikus ditentukan dengan menggunakan alat glukometer. Setelah diinjeksi aloksan didapatkan rerata kadar glukosa darah berkisar antara 143,6 – 161,8 mg/dl. Menurut Kusumawati (2004), bahwa kadar gula darah normal pada tikus yaitu berkisar antara 50–135 mg/dl. Tikus dikatakan

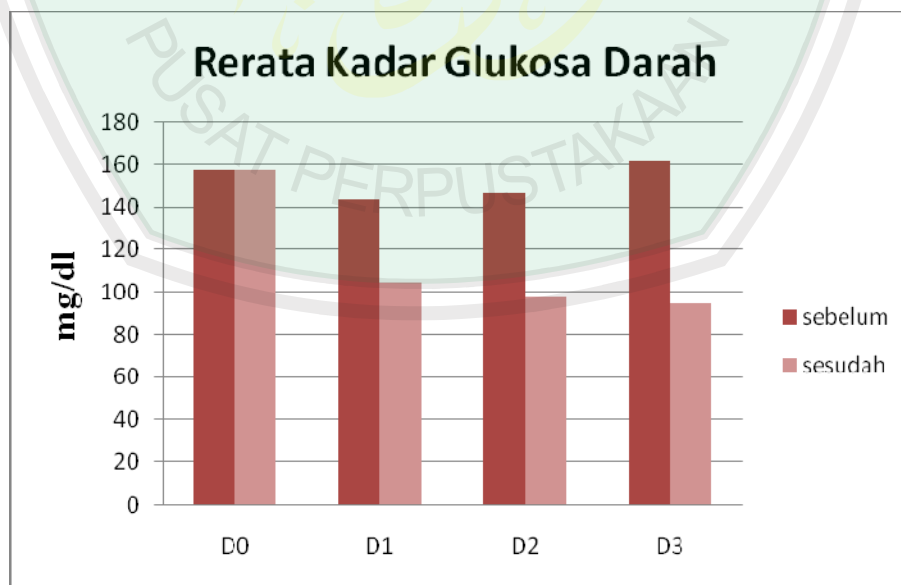
Sedangkan hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) diketahui dapat menghambat pertumbuhan dan kematian sel.



Gambar 4.2 Reaksi fenton (Winarsih, 2007)

Aksi radikal bebas dengan rangsangan tinggi dapat meningkatkan konsentrasi kalsium sitosol yg menyebabkan destruksi cepat sel beta pankreas. Infulus kalsium akibat aloksan dapat mengakibatkan depolarisasi sel  $\beta$  Langerhans, dan 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. (Nugroho, 2008).

Berikut ini adalah diagram rerata kadar glukosa darah tikus (*Rattus norvegicus*) sebelum dan sesudah diberi perlakuan ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava*):



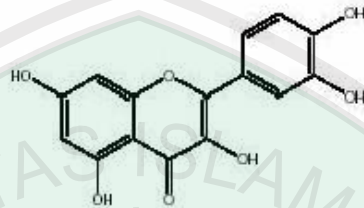
Gambar 4.3 Diagram batang nilai rerata kadar glukosa darah sebelum dan sesudah pemberian ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L).

Dari diagram diatas dapat diketahui bahwa tikus diabetes setelah diterapi menggunakan ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L) selama 30 hari, kadar glukosa darah yang tinggi menjadi menurun. Kadar glukosa darah perlakuan D0 sebelum dan sesudah perlakuan sebesar 157,4 mg/dl, pada perlakuan D1 sebelum perlakuan sebesar 143,6 mg/dl yang mengalami penurunan sebesar 104,6 mg/dl setelah pemberian ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava* L), pada perlakuan D2 sebelum perlakuan sebesar 146,6 mg/dl yang mengalami penurunan sebesar 98 mg/dl setelah pemberian ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava* L) dan pada perlakuan D3 sebelum perlakuan sebesar 161,8 mg/dl yang mengalami penurunan sebesar 94,6 mg/dl setelah pemberian ekstrak buah jambu biji (*Psidium guajava* L). Untuk membandingkan antara perlakuan D3 dengan tikus kontrol dilakukan uji T dan didapatkan hasil yang tidak signifikan, artinya data sama. Jadi pada perlakuan D3 sudah dapat mengembalikan kadar glukosa darah seperti tikus normal. Menurut Permatasari (2008), dari penelitian-penelitian mengenai efek hipoglikemik buah jambu biji, dapat dipastikan bahwa dalam Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L) mengandung berbagai senyawa kimia diantaranya adalah flavonoid berupa quersetin sebagai antioksidan. Hal ini terbukti bahwa dengan terapi ekstrak buah jambu biji telah memberikan efek dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus (*Rattus norvegicus*) diabetes.

Pada Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) mengandung Senyawa flavanoid berupa quersetin yang berpotensi sebagai antioksidan. Potensi tersebut ditunjukkan oleh posisi gugus hidroksilnya yang mampu langsung menangkap radikal bebas. Quersetin memiliki sifat antioksidan paling kuat terhadap radikal



hidroksil. Senyawa ini juga memiliki beberapa sifat seperti hepatoprotektif, antitrombotik, anti inflamasi dan antivirus. (Winarsih, 2007).



Gambar 4.4 Senyawa Quersetin  
(Widyawati, 2009).

Senyawa flavonoid berupa *quersetin* dalam Buah Jambu Biji (*Psidium guajava*) dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes. Senyawa ini memiliki afinitas yang sangat kuat terhadap ion Fe (Fe diketahui dapat mengatalisis beberapa proses yang menyebabkan terbentuknya radikal bebas). Aktivitas antiperoksidatif flavonoid ditunjukkan melalui potensinya sebagai pengkelat Fe. Pengkelatan ion Fe menyebabkan kompleks ion inert dan tidak dapat mengawali terjadinya peroksidasi lipid. Dengan adanya Fe peroksidasi lipid akan berpartisipasi dalam reaksi fenton (Winarsi, 2007).

Pengamatan histologi jaringan pankreas dilakukan dengan blok paraffin menggunakan metode pewarnaan Hematoxylen-Eosin. Pengamatan sel melalui pewarnaan HE dapat menunjukkan bagian endokrin (*islet langerhans*) dari pankreas. Bagian islet langerhans tampak lebih jelas dibanding bagian asini (gambar 4.1).

Pulau Langerhans di kelenjar pankreas berbentuk ovoid dengan besar masing-masing pulau berbeda yang tersebar di seluruh pankreas. Pada pulau

langerhans terdapat 3 jenis sel endokrin yaitu 15% sel  $\alpha$  yang terletak sepanjang jaringan perifer pulau langerhans dan mempunyai inti yang tidak teratur dan granula sekretori, sel  $\beta$  yang terletak di tengah pulau langerhans dan memiliki inti besar dan bulat, 10% sel delta (Kurt, 1994).

Pada pengamatan kerusakan islet pankreas yang dianalisis menggunakan ANOVA diketahui  $F_{hit} > F_{tabel}$  ( $26,489 > 5,29$ ). Jadi,  $H_0$  ditolak  $H_1$  diterima maka ada pengaruh pemberian ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) terhadap perbaikan islet pankreas pada kelompok perlakuan (D1, D2, dan D3) terjadi perbaikan islet pankreas. Untuk membandingkan antar perlakuan (D1, D2 dan D3) dengan tikus kontrol diuji dengan menggunakan uji T dan didapatkan hasil yang tidak signifikan, artinya islet pankreas pada tikus diabetes sudah kembali normal. Hal ini menjelaskan bahwa pemberian ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) pada tikus diabetes telah mampu menurunkan kadar glukosa darah dan dapat mengembalikan kondisi struktur islet pankreas pada keadaan normal.

Pada gambar 4.1 hasil histologi pankreas, telah menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tingkat kerusakan pankreas dengan rata-rata persentase kelompok kontrol (tikus normal) = 5%, D0 (tikus diabetes tanpa ekstrak buah jambu biji) = 48%, dosis 1 = 34,6%, dosis 2 = 27,8% dan dosis 3 = 16,6%. Pada pulau-pulau Langerhans dosis 1, dosis 2, dosis 3 menunjukkan perbedaan dengan D0 (tikus diabetes tanpa ekstrak buah jambu biji).

Nekrosis adalah kematian sel yang terjadi secara tidak alami. Pengaruh nekrosis terhadap sel antara lain, sel akan membengkak, kemudian sel menjadi rusak, sel yang mengalami kerusakan ini tidak dihancurkan oleh fagosit sehingga

dapat merusak sel tetangga (inflamasi). Sedangkan apoptosis merupakan kerusakan sel yang terprogram jadi ukuran selnya tetap, sel yang rusak langsung ditelan oleh fagosit karena adanya sinyal dan tidak mengganggu atau merusak sel tetangga (inflamasi) (Abror, 2010).

Price (2005) menyatakan bahwa nekrosis mempunyai tingkatan, diantaranya: inti sel menyusut atau mengkerut yang disebut *piknosis*, inti hancur yang dapat membentuk fragmen-fragmen materi kromatin yang tersebar di dalam sel yang disebut sebagai *karioeksis*, dan inti sel yang mati tidak dapat diwarnai lagi yang disebut *kariolisis*.

Pulau Langerhans pankreas pada tikus kelompok normal terlihat terisi penuh oleh sel-sel endokrin yang tersebar di area pulau. Sedangkan pada kelompok D0 (tidak diberi ekstrak buah jambu biji) yaitu tikus putih diabetes yang diinduksi aloksan dengan rata-rata persentase 48 % (Gambar 4.1 b) terdapat ruang-ruang kosong (sedikitnya jumlah sel beta) pada area islet langerhans. Ruang-ruang kosong ini disebabkan karena sel beta mengalami lisis sehingga sel yang mati tidak bisa terwarnai (Kanter, 2003). Jumlah sel beta yang sedikit menunjukkan adanya gangguan metabolisme insulin sehingga menyebabkan terjadinya hiperglikemia atau serangan Diabetes Mellitus. Pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) menunjukkan adanya perbaikan sel  $\beta$  langerhans dibandingkan dengan kelompok perlakuan tikus diabetes (D0).

Pada kelompok perlakuan dosis 1 dengan rata-rata 34% lebih besar kerusakannya dibandingkan dengan kelompok dosis 2 dan kelompok dosis 3 yang

masing-masing memiliki rata-rata 27% dan 16,6% dimungkinkan bahwa jumlah flavonoid berupa *quersetin* yang terkandung pada dosis 1 belum cukup untuk menghasilkan antioksidan yang dibutuhkan untuk mencegah kerusakan sel akibat radikal bebas pada hewan coba diabetes, akan tetapi setelah diuji antara tikus kontrol dengan tikus perlakuan mendapatkan hasil yang tidak signifikan. Jadi, dapat diambil kesimpulan bahwa dosis optimum yang mampu bertindak sebagai antioksidan yaitu flavonoid yang terkandung pada ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) pada dosis 1 (0,81 gr/hr).

Pada kerusakan sel-sel  $\beta$  pankreas tersebut, membawa pengaruh terhadap pensекреasian insulin sehingga kadar glukosa darah akan meningkat. Hal ini terlihat pada tikus D0 (tanpa diberi ekstrak buah jambu biji), akan tetapi berbeda dengan kelompok perlakuan dengan Buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.). Setelah dilakukan terapi selama 30 hari, kerusakan pankreas menjadi berkurang dan kadar glukosa darah yang tinggi menjadi menurun (lampiran 2). Menurut Permatasari (2008), menyatakan bahwa ekstrak buah Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) mempunyai aktifitas hipoglikemik karena diduga mengandung berbagai senyawa aktif diantaranya adalah flavonoid berupa *quercetin* sebagai antioksidan.

Senyawa flavanoid banyak ditemukan di dalam sayuran dan buah-buahan yang berfungsi memberi efek antioksidan. Sebagai antioksidan, flavanoid dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang produksi nitrit oksida yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah, dan juga menghambat pertumbuhan sel kanker. Di samping berpotensi sebagai antioksidan dan

penangkap radikal bebas (free radical scavenger), flavanoid juga memiliki beberapa sifat seperti hepatoprotektif, antitrombotik, anti inflamasi dan antivirus (Winarsih, 2007).

Flavonoid berupa *quersetin* merupakan suatu senyawa yang banyak ditemukan dalam buah-buahan dan sayuran yang berfungsi memberi efek antioksidan. Tindakan antioksidatif oleh flavonoid dapat mencegah radikal bebas untuk melepaskan sel  $\beta$  pankreas dalam yang mensekresikan insulin. Senyawa quersetin dapat menghambat sistem peroksidasi lipid yang tergantung oleh ion Fe kemudian mengkelat ion Fe. Pengkelatan ion Fe menyebabkan kompleks ion inert dan tidak dapat mengawali terjadinya peroksidasi lipid sehingga terjadi regenerasi dan perbaikan sel  $\beta$  pankreas yang akhirnya dapat menstimulasi sel beta untuk mensekresikan insulin (Winarsi, 2007).

Antioksidan yang diproduksi dari dalam tubuh (endogen) berupa tiga enzim yaitu, *superoksida dismutase* (SOD), *glutation peroksidase* (GSHx), *katalase*, serta non-enzim, yaitu *glutation*. Ketiga enzim dan senyawa glutation itu bekerja menetralkan radikal bebas. Pekerjaan itu dibantu oleh asupan antioksidan dari luar (eksogen) yang berasal dari bahan makanan. Misalnya, vitamin E, C dan senyawa flavonoid yang diperoleh dari tumbuhan (Minarno, 2008). Menurut Winarsih (2007) *Quersetin* merupakan senyawa flavanoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Potensi tersebut ditunjukkan oleh posisi gugus hidroksilnya yang mampu langsung menangkap radikal bebas, maka sel-sel yang telah dirusak oleh radikal bebas memperoleh kesempatan untuk meregenerasi diri.

Penghambatan peroksidasi lipid oleh bahan aktif jambu biji (*Psidium guajava* L) yang berupa *quersetin* sebagai antioksidan yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dilakukan dengan cara mendonorkan radikal hidroksil kepada radikal bebas yang juga berupa radikal hidroksil sehingga radikal bebas menjadi berpasangan dan radikal bebas tersebut menjadi stabil yang dapat melindungi lipid membran terhadap reaksi yang merusak, sehingga sel-sel yang mengalami kerusakan menjadi pulih kembali (Winarsih, 2007).

