

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelainan hati dapat diketahui dengan pemeriksaan kadar enzim dari kelompok transaminase. Jenis enzim yang sering digunakan untuk mengetahui kelainan hati adalah Glutamat Piruvat Transaminase (GPT) dan Glutamat Oksaloasetat Transaminase (GOT). Berdasarkan penelitian yang dilakukan terhadap kadar enzim (GPT dan GOT) dan gambaran histologi pada hepar mencit diabetes yang diinduksi streptozotocin dan diberi perlakuan berupa ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) dengan 3 dosis berbeda, diperoleh hasil sebagaimana yang akan diuraikan berikut ini.

4.1 Hasil Penelitian

Data yang diperoleh dari hasil perhitungan kadar GPT pada hepar mencit diabetes mellitus yang diinjeksi STZ kemudian diberi perlakuan berupa ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) dengan 3 dosis berbeda dapat dilihat pada lampiran 3.

Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan analisis variansi (ANOVA) dengan taraf signifikan 99%. Tabel 4.1 berikut ini adalah ringkasan hasil perhitungan ANOVA mengenai pengaruh pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) terhadap kadar GPT mencit diabetes mellitus.

Tabel 4.1 Ringkasan ANOVA pengaruh pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) terhadap kadar GPT mencit diabetes mellitus

SK	db	JK	KT	F hit	F1%
Perlakuan	4	10022,37	2505,59	58,91	4,77
Galat	16	680,48	42,53		
Total	20				

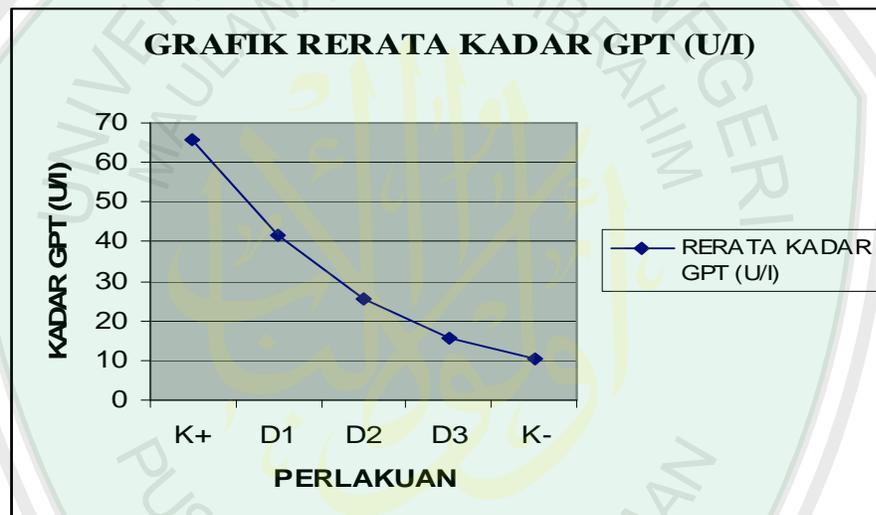
Dari tabel 4.1 dapat diketahui bahwa F hitung perlakuan > F tabel pada taraf signifikan 99%. Hipotesis nol (H0) ditolak dan H1 diterima. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian perlakuan ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) dapat mempengaruhi kadar GPT pada hepar mencit diabetes mellitus.

Untuk dapat mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap perlakuan serta dosis yang paling efektif, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNJ pada taraf signifikansi 99% yang dapat dilihat pada tabel 4.2. Berdasarkan hasil uji BNJ yang sudah dikonfirmasi dengan nilai rata-rata kadar GPT terkoreksi, maka didapatkan notasi BNJ seperti tabel 4.2 berikut ini:

Tabel 4.2 Ringkasan Uji BNJ 1% dari pengaruh pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) terhadap kadar GPT mencit diabetes mellitus

Perlakuan	Rerata	Notasi BNJ 1%
K (-)	10,58	a
D3	15,79	a
D2	25,53	b
D1	41,61	c
K (+)	65,89	d
BNJ 1%	8,52	

Berdasarkan hasil uji BNJ (tabel 4.2) menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata terhadap penurunan kadar GPT pada mencit diabetes mellitus. Kontrol positif berbeda nyata dengan dosis 1, dosis 2, dan dosis 3. Kontrol negatif (mencit normal) berbeda nyata dengan dosis 1 dan dosis 2, tetapi tidak berbeda nyata dengan dosis 3. Jadi, dosis ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) yang efektif untuk menurunkan kadar enzim GPT pada hepar mencit diabetes mellitus adalah dosis 3 (Lihat Gambar 4.1).



Gambar 4.1 Grafik Nilai Rerata Kadar GPT Pada Berbagai Perlakuan Pemberian biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn)

Data yang diperoleh dari hasil perhitungan kadar GOT pada hepar mencit diabetes mellitus yang diinjeksi STZ kemudian diberi perlakuan berupa ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) dengan 3 dosis berbeda dapat dilihat pada lampiran 3.

Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan analisis variansi (ANOVA) dengan taraf signifikan 99%. Tabel 4.3 berikut ini adalah ringkasan hasil perhitungan ANOVA mengenai pengaruh pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) terhadap kadar GOT mencit diabetes mellitus.

Tabel 4.3 Ringkasan ANOVA pengaruh pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) terhadap kadar GOT mencit diabetes mellitus

SK	db	JK	KT	F hit	F1%
Perlakuan	4	37309,64	9327,41	279,01	4,77
Galat	16	534,81	33,43		
Total	20				

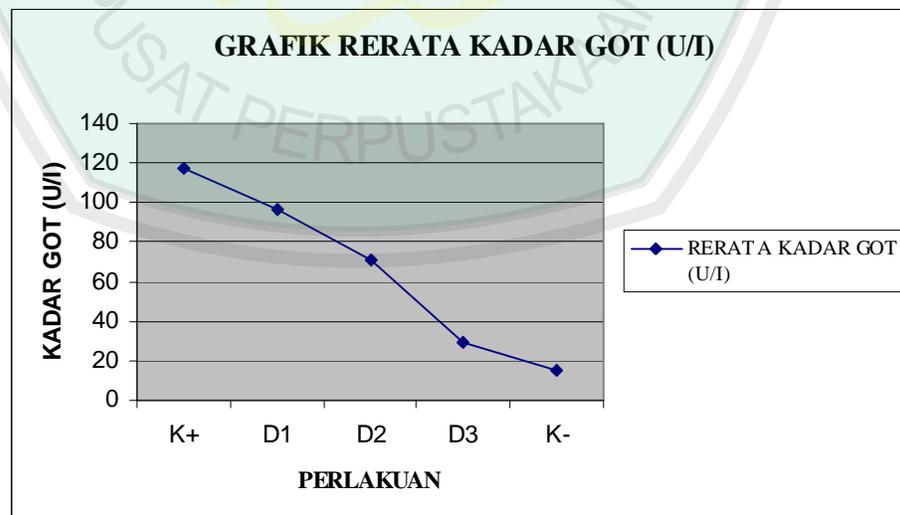
Dari tabel 4.1 dapat diketahui bahwa F hitung perlakuan > F tabel pada taraf signifikan 99%. Hipotesis nol (H0) ditolak dan H1 diterima. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pemberian perlakuan ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) dapat mempengaruhi kadar GOT pada hepar mencit diabetes mellitus.

Untuk dapat mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap perlakuan serta dosis yang paling efektif, maka dilakukan uji lanjut dengan menggunakan uji BNJ pada taraf signifikansi 99% yang dapat dilihat pada tabel 4.2. Berdasarkan hasil uji BNJ yang sudah dikonfirmasi dengan nilai rata-rata kadar GOT terkoreksi, maka didapatkan notasi BNJ seperti tabel 4.2 berikut ini:

Tabel 4.4 Ringkasan Uji BNJ 1% dari pengaruh pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) terhadap kadar GOT mencit diabetes mellitus

Perlakuan	Rerata	Notasi BNJ 1%
K (-)	15,57	a
D3	29,64	b
D2	71,21	c
D1	96,06	d
K (+)	117,67	e
BNJ 1%	7,57	

Berdasarkan hasil uji BNJ (tabel 4.2) menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata terhadap penurunan kadar GOT pada mencit diabetes mellitus. Kontrol positif berbeda nyata dengan dosis 1, dosis 2, dan dosis 3. kontrol negatif (mencit normal) berbeda nyata dengan dosis 1, dosis 2 dan dosis 3. Jadi, pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) dapat menurunkan kadar enzim GOT pada hepar mencit diabetes mellitus dan penurunannya sesuai dengan peningkatan dosis pemberian ekstrak biji klabet.



Gambar 4.2 Grafik Nilai Rerata Kadar GOT Pada Berbagai Perlakuan Pemberian biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn)

4.2 Pembahasan

Dalam penelitian ini hewan coba yang digunakan adalah mencit jantan dari strain balb/c. mencit adalah hewan yang sering digunakan dalam percobaan/penelitian biomedis, karena disamping harganya relatif murah, mudah berkembang biak, selain itu pemeliharaannya juga mudah (kusumawati, 1996). Kahn dan Weir (1994) menambahkan bahwa kerentanan hewan terhadap diabetes yang diinduksi oleh streptozotocin tergantung pada jenis kelamin dan strain. Mencit jantan lebih rentan terhadap diabetes jika dibandingkan dengan mencit betina. Sedangkan jika dilihat dari jenis strain, jenis balb/c termasuk strain yang sensitif terhadap diabetes.

Streptozotocin yang diinjeksikan dengan dosis tunggal yaitu 50 mg/kg BB, ternyata tidak semua mencit menderita diabetes. Karena itu dibuat blok untuk memisahkan mencit yang sudah diabetes sedangkan yang lain diinjeksi kembali sampai mencit menderita diabetes. Setelah diinjeksi rata-rata kadar gula darah hanya 148,8-222,6 mg/dl dan kadar gula darah normal rata-rata 83,2 mg/dl (lihat lampiran 7), sehingga antara kontrol negatif dan mencit yang telah diinjeksi streptozotocin hasilnya signifikan. Berdasarkan hasil signifikan tersebut peneliti memulai perlakuan dengan memberi ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) dengan 3 dosis yang berbeda.

Berdasarkan data yang diperoleh pada tabel 4.2 dapat diketahui bahwa rerata kadar GPT yang tertinggi terlihat pada tabel kontrol positif (mencit diabetes), yaitu 65,89 U/I, sedangkan rerata nilai kadar GPT terendah adalah kontrol negatif (mencit normal) yaitu sebesar 10,58 U/I. Begitu juga pada kadar

GOT pada tabel 4.4 dapat diketahui bahwa rerata kadar GOT yang tertinggi terlihat pada tabel kontrol positif (mencit diabetes), yaitu 117,67 U/I, sedangkan rerata nilai kadar GOT terendah adalah kontrol negatif (mencit normal) yaitu sebesar 15,57 U/I. Kadar enzim pada kontrol positif (mencit diabetes) mengalami peningkatan sedangkan biasanya pada penyakit hepar kadar enzim didalam hepar menurun karena adanya sel hati yang rusak sehingga enzim mengalami kebocoran sel dan masuk ke dalam plasma. Namun enzim dalam hepar tetap tinggi, diduga kerusakan sel hati tidak menyebabkan kebocoran sel sehingga enzim intrasel tinggi didalam sel hati.

Streptozotocin mempunyai efek sitotoksik sehingga dapat merusak sel β pancreas (Goodman & Gilman, 2008). Streptozotocin menginduksi terjadinya diabetes mellitus pada mencit melalui perusakan DNA sel beta pankreas. Di dalam sel beta pankreas, streptozotocin merusak DNA melalui pembentukan NO, radikal hidroksil dan hydrogen peroksida (Szukuldesi, 2001). Radikal hidroksil, radikal peroksida, dan radikal oksigen singlet adalah senyawa radikal bebas yang sangat cepat merusak jaringan sel (Kumalaningsih, 2006).

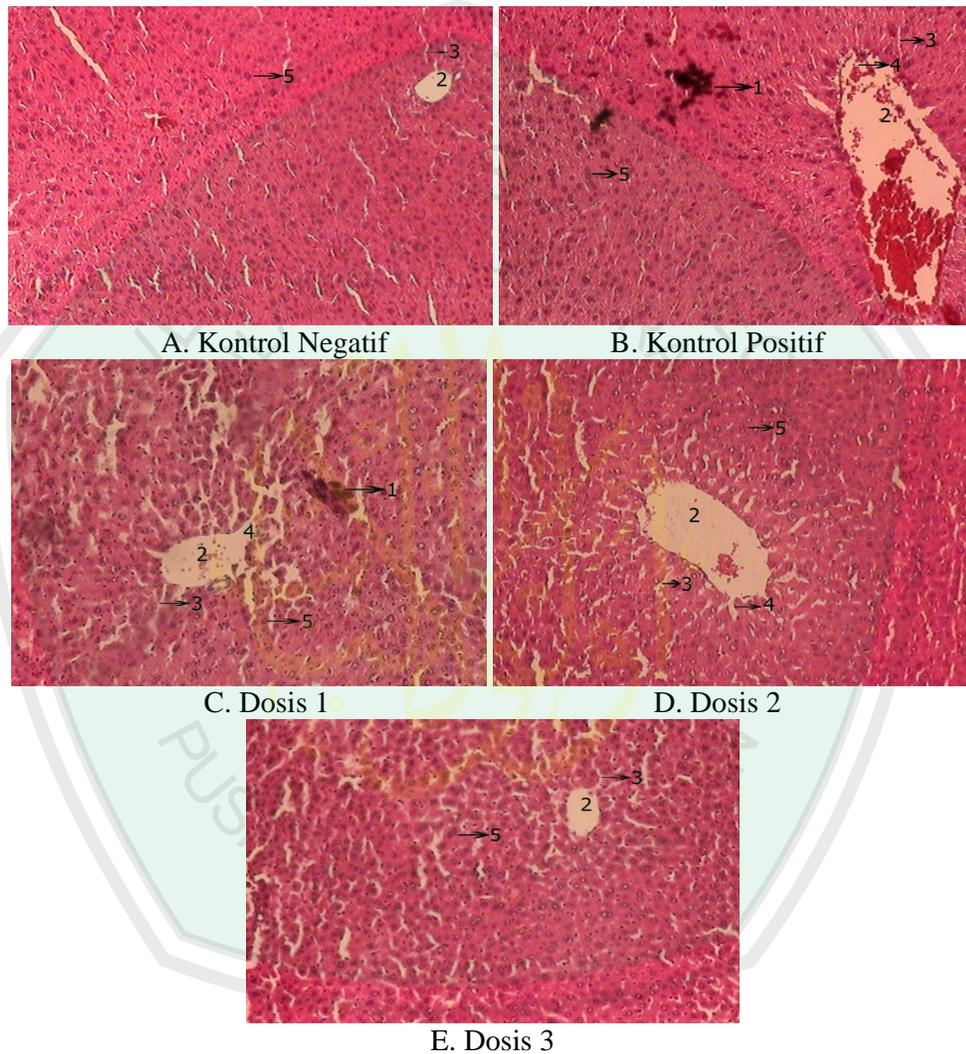
Sel hati merupakan jaringan utama yang menjadi sasaran dari peningkatan konsentrasi radikal bebas karena hati merupakan tempat terjadinya metabolisme senyawa xenobiotik (Ernawati, 2006). Kedua jenis enzim (GPT dan GOT) terdapat dalam sel-sel hati dalam konsentrasi tinggi, GOT juga mungkin terdapat dalam jaringan lain. Pada peningkatan permeabilitas membran sel, enzim dapat keluar dari sel (Latu, 1997).

Dalam penelitian ini, mencit yang di induksi streptozotocin mempunyai kadar gula darah tidak terlalu tinggi dari kadar gula darah normal mencit. Menurut Kusumawati (2004), kadar gula darah normal pada mencit berkisar antara 62,8 mg/dl sampai 176 mg/dl, diduga kadar gula darah tersebut berpengaruh terhadap meningkatnya kadar enzim GPT dan GOT pada kontrol positif.

Diabetes mellitus menyebabkan peningkatan sintesis asam lemak dalam hati (Guyton, 1989). Akumulasi asam lemak pada hati dapat memicu pembentukan radikal bebas (Tolman, dkk, 2006). Menurut Ernawati (2006), asam lemak tak jenuh sangat berperan dalam menjaga keutuhan struktur membran, maka peningkatan proses peroksidasi dalam tubuh akan mengakibatkan kerusakan jaringan terutama hati. Kerusakan hati dapat dideteksi dengan mengukur kadar enzim GPT dan GOT.

Radikal bebas selain dapat merusak membran sel juga merusak komponen intrasel termasuk asam nukleat, protein, dan lipid. Asam deoksiribonukleat (DNA) mitokondria tidak tahan terhadap serangan radikal bebas sehingga membran bagian dalam mitokondria juga menjadi ikut rusak. Peroksidasi lipid selanjutnya mengubah DNA mitokondria dan mengganggu kestabilan membran sel, propagasi siklus oksidatif stres secara besar-besaran yang diikuti dengan peradangan. Peningkatan level oksidatif digambarkan dengan megamitokondria dan steatohepatitis. Radikal bebas dapat menyebabkan stres oksidatif yang ditandai dengan kerusakan membran sel dan protein, termasuk enzim, akibat gangguan pada permeabilitas membran dan fungsi membran itu sendiri (Panjaitan, 2007).

Hasil pengamatan gambaran histologi hepar mencit normal, kontrol positif (mencit diabetes), dosis 1, dosis 2 dan dosis 3 dengan pewarnaan eosin-hematoxilin:



Gambar 4.3 Hasil Foto Preparat Dan Skore Kerusakan Hepar Dengan Perbesaran 400 Kali (1. Degenerasi, 2. Vena sentral, 3. Sinusoid, 4. Peradangan, 5. Sel hati)

Keterangan:

- A. Kontrol negatif (Skore = 0)
- B. Kontrol positif (Skore = 2,53)
- C. Perlakuan dosis 1 (Skore = 2)
- D. Perlakuan dosis 2 (Skore = 0,67)
- E. Perlakuan dosis 3 (Skore = 0,39)

Berdasarkan hasil foto preparat hepar (gambar 4.3), kontrol positif menunjukkan adanya degenerasi dan peradangan vena sentral. Sedangkan pada dosis 1, dosis 2, dan dosis 3 mengalami perbaikan seiring dengan peningkatan dosis ekstrak biji klabet. Dosis 1 mempunyai skor =2, skor ini lebih tinggi dibandingkan skor pada dosis 2 dan dosis 3. Hal ini disebabkan perhitungan skor berdasarkan atas luas degenerasi dan sel yang berwarna lebih gelap. Skor antara kontrol positif dengan perlakuan 3 dosis berbeda mempunyai perbedaan. Kerusakan hepar ini belum menunjukkan adanya nekrosis sehingga kerusakan hepar termasuk kategori ringan dan menyebabkan enzim tidak mengalami kebocoran sel dan tetap tinggi didalam hepar. Berdasarkan tahap-tahap kerusakan hepar, degenerasi adalah kerusakan sel hati sebelum timbulnya nekrosis.

Degenerasi adalah perubahan-perubahan morfologik akibat jejas-jejas yang non fatal dan perubahan-perubahan tersebut masih dapat pulih (reversible), tetapi apabila berjalan lama dan derajatnya berlebih, akhirnya mengakibatkan kematian sel (nekrosis). Degenerasi terjadi akibat jejas sel dan kemudian baru timbul perubahan metabolisme. Pada pemeriksaan, luas degenerasi lebih penting dari jenis degenerasi. Nekrosis adalah kematian hepatosit. Ciri nekrosis ialah tampaknya fragmen atau sel hati nekrotik tanpa pulasan inti atau tidak tampaknya sel disertai reaksi radang. Kelainan ini adalah tingkat lanjut dari degenerasi dan sifatnya tidak reversibel sebab nekrosis hati merupakan kerusakan susunan enzim dari sel. Tampak atau tidaknya sisa sel hati tergantung pada lama dan jenis nekrosis. Kemungkinan lain inti dapat hancur dan meninggalkan zat kromatin yang tersebar dalam sel, proses ini disebut *karioreksis*. Akhirnya pada beberapa

keadaan, inti sel yang mati menghilang yang disebut *kariolisis* (Zimmerman, 1978 dalam Wijayanti, 2008).

Menurut Hussain (2008), keadaan hepar pada diabetes mellitus akan mengalami degenerasi dan kongesti. Degenerasi ditunjukkan dengan adanya sel hati yang berwarna lebih gelap. Hal ini disebabkan oleh peningkatan degradasi glikogen dan glukoneogenesis karena pemanfaatan glukosa terhambat.

Menurut Panjaitan (2007), kerusakan hepatosit diawali dengan perubahan permeabilitas membran yang diikuti dengan kematian sel. Peningkatan enzim dalam darah disebabkan oleh kerusakan hati yang parah dan disertai nekrosis, sehingga enzim dari mitokondria juga ikut keluar sel.

Kerusakan sel dapat terjadi pada berbagai tingkat kedalaman sel. Kerusakan dapat hanya terjadi di membran permukaan sel dan belum mencapai bangunan organel yang berada lebih ke dalam, sehingga menimbulkan kerusakan membran yang ringan saja. Mungkin mekanisme sel sendiri yang dapat mengatasi kerusakan tersebut (Sadikin, 2002).

Kerusakan sel hati yang disebabkan oleh radikal bebas dapat diatasi oleh antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Antioksidan yang baik akan bereaksi dengan radikal asam lemak segera setelah senyawa tersebut terbentuk. Antioksidan alami dapat diperoleh dari tanaman atau hewan yaitu tokoferol, vitamin C, betakaroten, flavonoid dan senyawa fenolik (Kumalaningsih

2006).

Pada pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) dengan dosis 1 (0,88 mg/oral/hari), dosis 2 (1,76 mg/oral/hari), dan dosis 3 (3,52 mg/oral/hari) masing-masing memiliki nilai rata-rata GPT sebesar 41,61 U/I, 25,53 U/I, dan 15,79 U/I. berdasarkan hasil uji lanjut BNJ pada taraf signifikansi 99% tampak bahwa dosis 1 mempunyai perbedaan signifikan dengan kontrol positif (mencit diabetes). Penurunan aktivitas enzim GPT juga terjadi pada dosis 2 dan dosis 3. Pada dosis 3 tidak ada perbedaan secara signifikan dengan kontrol negatif. Hal ini membuktikan biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) memiliki pengaruh cukup baik terhadap enzim GPT dan dosis 3 merupakan dosis paling efektif.

Pada pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) dengan dosis 1 (0,88 mg/oral/hari), dosis 2 (1,76 mg/oral/hari), dan dosis 3 (3,52 mg/oral/hari) masing-masing memiliki nilai rata-rata GOT sebesar 96,06 U/I, 71,21 U/I, dan 29,64 U/I. berdasarkan hasil uji lanjut BNJ pada taraf signifikansi 99% tampak bahwa dosis 1 mempunyai perbedaan signifikan dengan kontrol positif (mencit diabetes). Penurunan aktivitas enzim GOT juga terjadi pada dosis 2 dan dosis 3. Hal ini membuktikan biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) memiliki pengaruh cukup baik terhadap enzim GOT dan dosis 3 merupakan dosis paling efektif.

Dalam penelitian ini jumlah dosis yang paling efektif untuk menyembuhkan hepar akibat diabetes mellitus adalah dosis 3. Flavonoid yang bekerja sebagai zat aktif dapat menurunkan kadar enzim GPT maupun GOT,

meskipun enzim belum mengalami kebocoran sel. Flavonoid dapat memperbaiki sel hati yang mengalami kerusakan dan menyebabkan kadar enzim mendekati normal.

Pada diabetes terjadi stres oksidatif, sehingga dapat merusak berbagai macam sel seperti sel hati (Halliwell & Gutteridge, 1999). Mekanisme kerusakan sel hati disebabkan oleh radikal bebas yang menyerang membran sel hati yang tersusun atas fosfolipid sehingga menyebabkan gangguan permeabilitas membran. Hal ini menyebabkan infus kalsium yang berasal dari ekstrasel maupun pelepasan kalsium dari mitokondria dan retikulum endoplasma. Peningkatan infus kalsium ini memacu pengaktifan sejumlah enzim perusak seperti protease yang dapat merusak DNA (Kurniasih & Wijaya).

Menurut Nurdiana dan Klasum (2003) ketika DNA rusak poliribosom akan meningkat sehingga terjadi pengosongan NAD yang mengakibatkan sintesis ATP terhambat. Pembentukan ATP yang terhambat menyebabkan kerusakan pada sel hati.

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa buah apel memiliki kandungan flavonoid yang tinggi, yaitu 4,42 mg/100 gram buah (Waji & Sugrani, 2009). Sedangkan menurut Al-dalain (2008). dalam biji klabet mengandung flavonoid 100 mg/100 gram biji. Flavonoid berfungsi untuk melindungi mukosa dengan mencegah pembentukan lesi oleh berbagai agen nekrotik. Ternyata flavonoid memiliki kandungan flavonoid lebih besar, sehingga biji klabet dapat bekerja lebih optimal dalam menangkal radikal bebas dan mengatasi kerusakan sel hati.

Mekanisme kerja flavonoid adalah menangkap radikal bebas. Sunarni, dkk (2007) menyatakan bahwa aktivitas antioksidan dari senyawa alamiah yang berasal dari tanaman seperti flavonoid disebabkan adanya gugus hidroksi pada struktur molekulnya. Flavonoid dengan gugus hidroksi bebas mempunyai aktivitas penangkap radikal dan adanya gugus hidroksi lebih dari satu terutama pada cincin B akan meningkatkan aktivitas antioksidannya.

Antioksidan eksogen (flavonoid) berfungsi sebagai pemecah rantai (Antioksidan non enzimatis). Flavonoid juga dapat bertindak sebagai penampung yang baik radikal hidroksil dan superoksida sehingga asam lemak tak jenuh terlindungi, dan dengan demikian melindungi lipid membran hati terhadap reaksi yang merusak (Jawi, 2007).

Flavonoid menghentikan tahap awal reaksi dengan membebaskan 1 atom hidrogen dari gugus hidroksilnya yang kemudian berikatan dengan 1 radikal bebas. Dengan ikatan ini maka akan menstabilkan radikal peroksi yang membuat energi aktivasi berkurang, dan selanjutnya akan menghambat atau menghalangi reaksi oksidasi (Andriani, 2006).

Menurut Soedibyo (1998), biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) mengandung flavonoid. Flavonoid merupakan antioksidan pada kerusakan hepar akibat radikal bebas (Nurdiana, 2007). Flavonoid merupakan salah satu dari sekian banyak senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh suatu tanaman, yang bisa dijumpai pada bagian daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga dan biji (Sriningsih, 1999). Dalam penelitian ini perlakuan yang digunakan untuk membantu mengatasi radikal bebas adalah ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-*

graecum Linn).

Adanya antioksidan alami pada biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) yang berupa flavonoid menjadikan radikal bebas menjadi molekul yang stabil dan tidak dapat mengganggu membran lipid sel. Jika radikal bebas berlebihan dalam tubuh sudah dapat ditangkap oleh antioksidan, maka sel-sel yang telah rusak oleh radikal bebas memperoleh kesempatan untuk memperbaiki diri. Oleh karena itu, biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) dapat dikatakan memiliki efek melindungi sel dari radikal bebas yang dalam hal ini adalah sel-sel hati sehingga disebut memiliki efek hepatoprotektor. Sel-sel hati yang sudah normal juga memiliki kadar GPT dan GOT yang normal pula. Hal ini sesuai dengan data hasil pengukuran dimana terjadi penurunan yang signifikan pada kadar GPT dan GOT setelah pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) dan penurunannya sesuai dengan peningkatan dosis yang diberikan.

Menurut Meera, dkk (2009), biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* Linn) kaya akan flavonoid. Hal ini ditunjukkan melalui berbagai proses biologi yang terkait dengan mekanisme antioksidan. Biji klabet dapat menghambat radikal bebas. Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak biji klabet bertanggung jawab sebagai hepatoprotektor. Flavonoid dalam biji klabet dapat menghambat radikal bebas superoksida 400 µg/ml secara maksimum mencapai 73,01% dan radikal bebas nitrit oksida 400 µg/ml 79,24%.