

BAB IV

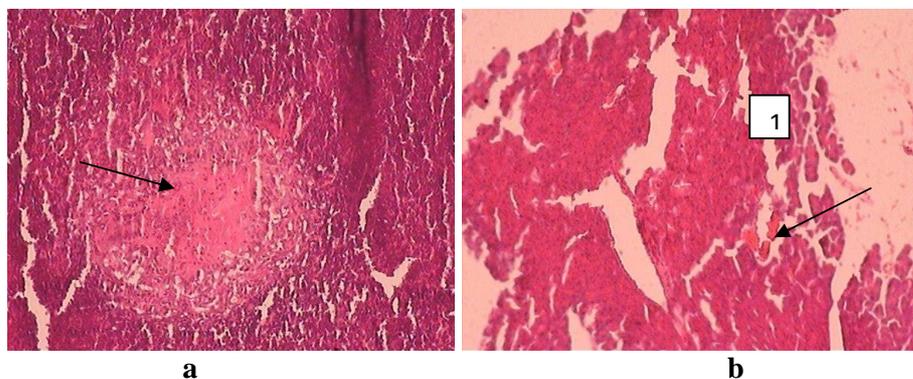
HASIL DAN PEMBAHASAN

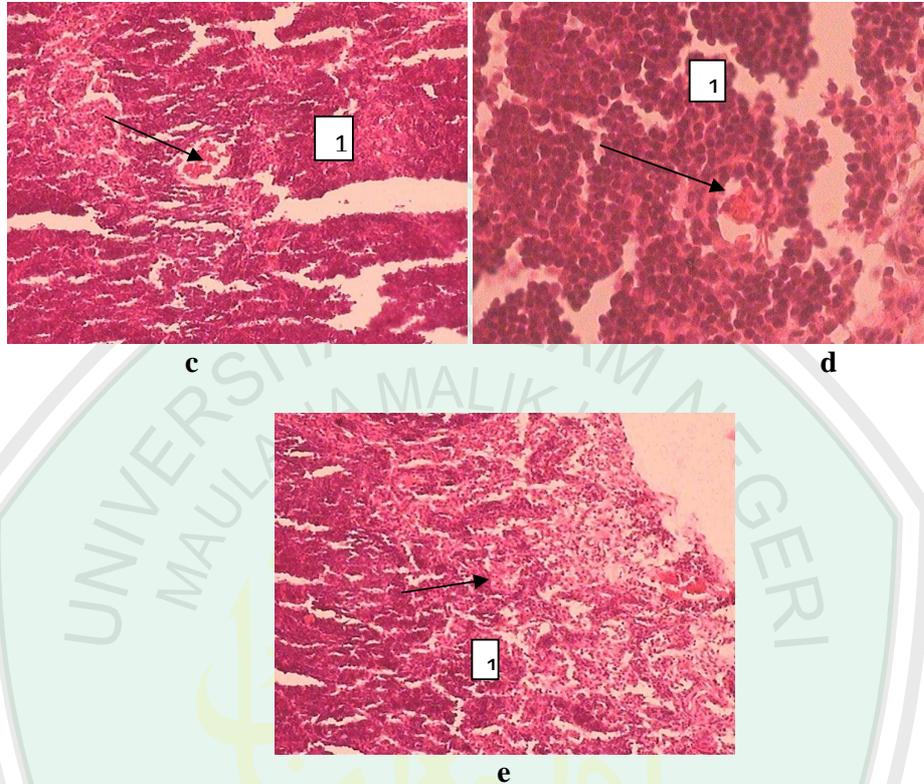
Hasil penelitian pada penurunan kadar glukosa darah dan histology pancreas mencit (*Mus musculus*) diabetes yang diinduksi streptozotocin, dengan perlakuan pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* L) secara oral menggunakan pencekok (*gavage*) dengan tiga dosis berbeda yang dikonversikan dari manusia ke mencit dapat diuraikan sebagai berikut:

4.1 Hasil

4.1.1 Histologi pankreas mencit (*Mus musculus*) diabetes

Pada penelitian ini diamati histologi pankreas mencit diabetes yang diambil setelah satu bulan perlakuan ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum graecum* L). Preparat histologi dibuat dengan metode blok paraffin dengan pewarnaan Hemotoxylen-Eosin. Untuk mengetahui skor kerusakan setiap preparat dapat dilihat pada lampiran 4. Berikut ini adalah gambar histologi pankreas tiap perlakuan:





Gambar 4.1 Penampang melintang pankreas perbesaran 10×40 a) kontrol negative, b) kontrol positif, c) dosis 1, d) dosis 2, e) dosis 3, sel beta ditandai dengan anak panah, sel nekrosis ditandai angka 1

Keterangan:

1. Kontrol negatif dengan skor = 0
2. Kontrol positif dengan skor rata-rata = 2,53
3. Perlakuan dosis 1 dengan skor rata-rata = 1, 13
4. Perlakuan dosis 2 dengan skor rata-rata = 1, 06
5. Perlakuan dosis 3 dengan skor rata-rata = 1,33

4.1.2 Kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) diabetes

Dari tabel pada lampiran 5 dapat diketahui bahwa kisaran rerata kadar glukosa darah mencit diabetes sebelum perlakuan ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum graecum* L) pada kelompok mencit dosis 1, dosis 2, dan dosis 3 adalah 222,6 mg/dl, 148,8 mg/dl dan 175,8 mg/dl. Kadar glukosa darah sesudah

perlakuan dengan ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum graecum* L) selama satu bulan mengalami penurunan pada kelopmok dosis 1, dosis 2, dan dosis 3 yaitu berkisar antara 114,4 mg/dl, 77,2 mg/dl dan 120,8 mg/dl.

Data yang diperoleh selanjutnya diuji dengan menggunakan Analisis Kovarian (ANKOVA) yang dilakukan untuk mengoreksi atau membandingkan pengaruh sebelum dan sesudah pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* L) terhadap kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) diabetes. Hasil ANKOVA dengan taraf signifikansi 5% menunjukkan bahwa pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) memberikan hasil yang signifikan dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) diabetes. Berikut adalah tabel ringkasan hasil perhitungan ANKOVA:

Tabel 4.1 Ringkasan uji BNT 5% kadar glukosa darah mencit diabetes

SK	Db	JK	KT	F hitung	F 5%
Perlakuan	4	2850,09	7125,27	29,75	2,84
Galat	20	3591,113	239,44		

Dari tabel ringkasan ANKOVA tersebut, dapat diketahui bahwa F hitung > F tabel pada taraf signifikansi 5%. Dengan demikian, hipotesis nol (H_0) ditolak dan hipotesis 1 (H_1) diterima. Jadi dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* L) dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) diabetes. Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap perlakuan dan dosis yang efektif dari setiap perlakuan, maka perlu dilakukan Uji Lanjut dengan menggunakan uji BNT pada taraf signifikansi 5% seperti yang terdapat pada lampiran 6.

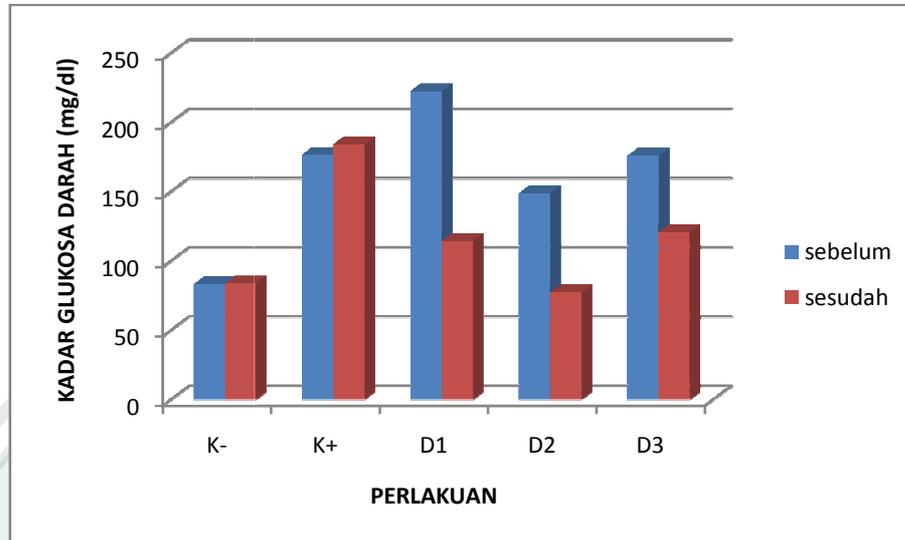
Berdasarkan hasil Uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% yang sudah dikonfirmasi dengan nilai rata-rata kadar glukosa darah, maka didapatkan notasi BNT pada tabel berikut:

Tabel 4.2 Ringkasan Uji BNT Terhadap kadar glukosa darah mencit diabetes

Perlakuan	Rerata	Notasi BNT 5%
D2	77,2	a
K-	83,8	a
D1	114,4	b
D3	120,8	b
K+	184	c

Berdasarkan hasil uji BNT tersebut, menunjukkan bahwa terjadi perbedaan yang nyata pada penurunan kadar glukosa darah pada mencit diabetes yang diinduksi dengan streptozotocin kelompok mencit negatif, kelompok mencit positif, dan kelompok mencit perlakuan (D1, D2, D3). Perlakuan ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum-graecum* L) dengan dosis 1 (0,88 mg/ekor/hr) berbeda nyata dengan dosis 2 (1,76 mg/ekor/hari). Sedangkan antara kontrol negatif dengan dosis 2 tidak menunjukkan perbedaan yang nyata. Hal ini berarti bahwa nilai kadar glukosa darah pada mencit perlakuan dosis 2 sama dengan kadar glukosa darah kontrol negatif (normal).

Berikut ini adalah diagram rerata kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) sebelum dan sesudah diberi perlakuan ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum graecum* L):



Gambar 4.2 Diagram batang nilai rerata perubahan kadar glukosa darah sebelum dan sesudah pemberian ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum graecum L*)

4.2 Pembahasan

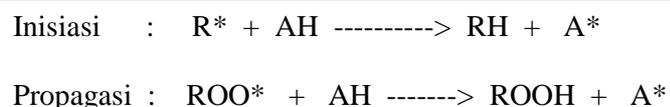
Induksi diabetes pada mencit (*Mus musculus*) dengan suntikan streptozotocin pada dosis 50 mg/kg BB telah berhasil meningkatkan kadar glukosa darah menjadi diabetes. Menurut Kusumowati (2004), bahwa kadar glukosa darah bagi mencit normal ialah $62,8 \pm 176$ mg/dl. Sedangkan pada penelitian ini kadar glukosa darah yang melebihi 140 mg/dl dianggap diabetes karena menurut Maulana (2008), bahwa kadar glukosa darah manusia normal (plasma vena) berkisar antara 90 ± 140 mg/dl.

Streptozotocin dilaporkan menyebabkan diabetes melalui mekanismenya yang menyebabkan kerusakan sel β pulau Langerhans dan akibatnya rembesan insulin menjadi terganggu. Kekurangan insulin membawa kepada keadaan hiperglikemia, glukosuria dan selanjutnya ketoasidosis. Streptozotocin (STZ) merupakan obat pengaruh diabetes yang mempunyai kespesifikan terhadap sel β

pankreas dengan efek toksik yang minimum terhadap ginjal dan hepar. Bagaimanapun juga, kerusakan sel β pankreas ini masih dapat dipulihkan dengan pengobatan jika kerusakan parah.

Antioksidan terlibat dalam pencegahan kerusakan sel yang merupakan situs jalan biasa bagi kanker dan berbagai jenis penyakit seperti diabetes. Untuk menghindari kerusakan sel akibat radikal bebas, antioksidan berfungsi sebagai agen penurun dan menurunkan oksidator sebelum merusak sel, kerusakan sel dapat dikurangi (Sani dan dkk, 2008). Hal ini dapat menerangkan bagaimana ekstrak biji klabat (*Trigonella foenum graecum* L) bertindak sebagai antioksidan yang melindungi sebagai tindakan radikal bebas.

Mekanisme kerja antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama dari antioksidan yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipida. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme diluar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipida ke bentuk lebih stabil (Jati, 2008).



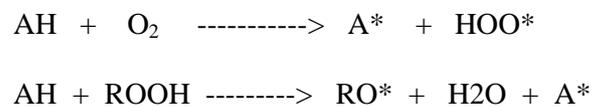
Gambar 4.3. Reaksi Penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipida (Jati, 2008)

Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi (gambar 4.3). Radikal-radikal antioksidan (A*) yang terbentuk pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal lipida baru.

Pada gambar 4.2 hasil foto preparat, telah menunjukkan bahwa terdapat perbedaan tingkat kerusakan pankreas dengan skor rata-rata kelompok kontrol negatif (skor = 0), kontrol positif (skor = 2,53), dosis 1 (skor = 1,13), dosis 2 (skor = 1,06) dan dosis 3 (skor = 1,33). Pada pulau-pulau Langerhans dosis 1, dosis 2, dosis 3 menunjukkan perbedaan dengan kontrol positif akan tetapi sedikit berbeda dengan kontrol negatif. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum graecum* L) dalam memperbaiki histologi sel-sel pulau Langerhans (lampiran 4). Pada dosis 1, skor kerusakan lebih tinggi dibandingkan dengan dosis 2, hal tersebut dimungkinkan bahwa jumlah flavonoid 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 pada dosis tinggi yaitu dosis 3 skor rata-rata kerusakan pankreas lebih tinggi dari pada dosis 1 atau 2. Hal ini dimungkinkan karena terlalu tinggi dosis yang diberikan. Menurut Jati (2008), menyatakan bahwa besar konsentrasi antioksidan yang ditambahkan dapat berpengaruh pada laju oksidasi.

Pada konsentrasi tinggi, aktivitas antioksidan grup fenolik sering lenyap bahkan antioksidan tersebut menjadi prooksidan (Gambar 4.4). Pengaruh jumlah konsentrasi pada laju oksidasi tergantung pada struktur antioksidan, kondisi dan sampel yang akan diuji. Sedangkan menurut Hudson (1990) dalam penelitian Septiana, dkk (2002) menyatakan bahwa kadang-kadang aktivitas fenolik (senyawa flavonoid) berkurang dan berubah menjadi prooksidan karena keterlibatannya pada reaksi inisiasi seperti pada gambar 4.4. Jadi, dapat diambil kesimpulan bahwa dosis optimum yang mampu bertindak sebagai antioksidan yaitu flavonoid yang terkandung pada ekstrak biji klabet pada dosis 2 (1,76 mg/ekor/hr).



Gambar 4.4. Antioksidan bertindak sebagai prooksidan pada konsentrasi tinggi (Septiana, dkk, 2002)

Dengan pewarnaan Hemotosilin-Eosin pada preparat tikus diabetes tanpa perlakuan, dalam histologi pankreas tampak pulau-pulau Langerhans. Inti sel menunjukkan adanya nekrosis baik piknosis maupun hiperkromasi marginal. Dalam sitoplasma sel nekrosis terjadi penurunan hidrofik dan degranulasi, sedangkan sebagian dari inti sel piknotik yang mempunyai sitoplasma eosinofilik ditandai dengan warna gelap (pembekuan nekrosis). Sel yang berkurang menandakan adanya ketidakhadiran lipid dan glikogen. Tikus diabetes dengan perlakuan terdapat perubahan nekrotik dan adanya penurunan didalam parenkim pulau Langerhans, karena beberapa sel dengan inti piknotik sebagian besar sel

menunjukkan penurunan hidrofilik yang signifikan dibandingkan dengan tikus kontrol potitif dan sebagian menandakan pemptoran atau pembentukan kembali pulau Langerhans, dan pulau Langerhans dengan jelas memperbesar ukurannya (Kanter dkk, 2003).

Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan tentang pengaruh ekstrak biji klabet terhadap kadar glukosa darah dan gambaran histologi pankreas mencit yang terpapar STZ. Perlakuan ekstrak biji klabet selama 30 hari, didapatkan hasil bahwa terjadi penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan konsentrasi hormon insulin. Mencit diabetes dengan perlakuan ekstrak biji klabet terdapat perubahan nekrotik, serta terdapat suatu perbaikan sel β pulau Langerhans yang ditunjukkan dengan adanya pembentukan kembali pulau Langerhans (memperbesar ukurannya) (gambar 4.). Telah dijelaskan bahwa prinsip yang aktif dari tumbuhan mungkin bertindak dengan beberapa mekanisme seperti merangsang pengeluaran hormon insulin, meningkatkan perkembangbiakan sel β pankreas dan meningkatkan kemampuan oksidatif. Hasil yang menunjukkan bahwa konsentrasi glukosa darah menurun dengan perlakuan ekstrak biji klabet dimungkinkan terjadi regenerasi atau poliferasi yang parsial didalam sel β pankreas. Bagaimanapun, mekanisme ekstrapankreatik seperti glukosa ditingkatkan mengangkut ke dalam sel dan meningkatkan pembentukan glikogen didalam hati, dimungkinkan ekstrak biji klabet merangsang penurunan konsentrasi glukosa darah pada mencit diabetes. Disimpulkan bahwa tindakan hipoglikemik ekstrak biji klabet dapat berkaitan dengan ameliration didalam sel β

pankreas yang menyebabkan suatu peningkatan dalam pengeluaran hormon insulin.

Kerusakan sel-sel β pankreas tersebut, membawa pengaruh terhadap pensекреasian insulin darah sehingga kadar dalam glukosa akan meningkat. Hal ini terlihat pada mencit kelompok positif, akan tetapi berbeda dengan kelompok perlakuan dengan biji klabet (*Trigonella foenum graecum* L). Setelah dilakukan terapi selama satu bulan, kerusakan pankreas menjadi berkurang dan kadar glukosa darah yang tinggi menjadi menurun (lampiran 5). Menurut Widowati (1989), menyatakan bahwa diduga ekstrak biji klabet (*Trigonella foenum graecum* L) mempunyai aktifitas hipoglikemik karena mengandung berbagai senyawa kimia diantaranya adalah flavonoid dan alkaloid sebagai antioksidan. Hal ini terbukti bahwa dengan terapi ekstrak biji klabet telah memberikan efek dalam menurunkan kadar glukosa darah pada mencit (*Mus musculus*) diabetes secara berarti.

Flavonoid 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 β pankreas dalam mensekresikan insulin. Antioksidan merupakan molekul yang berinteraksi dengan radikal bebas dan mengakhiri reaksi rantai sebelum molekul penting mengalami kerusakan (Sani, dkk, 2008).

Beberapa studi memang menunjukkan adanya efek hipoglikemik dari biji klabet (*Trigonella foenum graecum* L) yang mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, trigonelin, asam nikotinat, dan coumarin. Mekanisme

utamanya adalah penghambatan enzim alfa-glukosidase di usus dan stimulasi sekresi insulin. Beberapa mekanisme tambahan adalah perlambatan penyerapan glukosa, penghambatan transpor glukosa dari kandungan serat, peningkatan reseptor insulin dan modulasi sekresi pankreatik eksokrin. Salah satu cara untuk mengendalikan kadar glukosa darah pada penderita diabetes mellitus adalah dengan menghambat aktivitas enzim alfa glukosidase, yaitu enzim didalam pencernaan yang bertanggung jawab terhadap konversi karbohidrat menjadi glukosa. Karbohidrat yang kita makan sehari-hari misalnya nasi, kentang, roti dan pasta, akan dicerna oleh enzim-enzim didalam mulut dan usus menjadi gula. Proses pencernaan karbohidrat tersebut menyebabkan pankreas melepaskan enzim alfa-amilase ke dalam usus yang akan mencerna karbohidrat tersebut menjadi oligosakarida yang kemudian dirombak lagi menjadi glukosa oleh enzim alfa-glukosidase yang dikeluarkan oleh sel-sel usus kecil yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh. Dengan dihambatnya kerja enzim alfa glukosidase, kadar glukosa dalam darah dapat dikendalikan dalam batas normal (Subroto, 2006).