

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

Pada penelitian ini terdapat 6 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor tikus dengan 1 ekor sebagai cadangan. Namun pada proses penelitian terdapat beberapa tikus yang mati sehingga jumlah tikus setiap kelompok menjadi berbeda-beda. Kelompok kontrol negatif (Pn) yang mendapatkan aquadest berjumlah 3 ekor, kontrol positif (Pp) yang mendapatkan metformin berjumlah 3 ekor, perlakuan dosis 24 mg/kgBB (P1) berjumlah 3 ekor, perlakuan dosis 48 mg/kgBB (P2) berjumlah 4 ekor, perlakuan dosis 96 mg/kgBB (P3) berjumlah 3 ekor, dan kelompok tikus tanpa DM tipe 2 (P0) berjumlah 4 ekor. Perlakuan diberikan secara *intragastic* (sonde) sehari sekali. Untuk kelompok kontrol positif, pemberian metformin dilakukan dalam satu waktu sehingga dosisnya digandakan, hal ini dilakukan untuk mendapatkan tingkat stress yang sama pada masing-masing tikus.

5.1 Hasil Uji Fitokimia

Ekstraksi dan uji fitokimia dilakukan di laboratorium Bahan Alam, Farmasi FKUB. Sejumlah 200 gram serbuk biji jintan hitam dimaserasi menggunakan pelarut etanol 80% dengan perbandingan 1:5, didapatkan ekstrak kental sejumlah 33 gram. Dilakukan uji fitokimia secara kualitatif, untuk mengetahui kandungan senyawa dalam ekstrak biji jintan hitam, namun tidak mengetahui jumlahnya. Jenis uji dipilih berdasarkan kemungkinan keberadaan zat aktif dalam ekstrak biji jintan hitam. Berikut merupakan hasil uji fitokimia secara kualitatif:

Jenis Uji	Metode	Hasil	Keterangan
Saponin	Pengocokan	Tidak berbusa	-
Minyak Atsiri	Sudan III	Warna merah	+
Protein	Nitrit Acid	Warna kuning	+
Alkaloid	Meyer (<i>Potassium Mercuric Iodide</i>)	Endapan putih	+
	Wagner (<i>Iodin dalam kalium iodida</i>)	Endapan coklat muda	+

Setelah dilakukan uji fitokimia kualitatif, seharusnya dilakukan uji standarisasi ekstrak. Namun, pada penelitian kali ini tidak dilakukan karena keterbatasan alat dan waktu.

5.2 Hasil Pengukuran Glukosa Darah

Pengukuran glukosa darah sebelum perlakuan (*pre-treatment*) dilakukan setelah tikus mendapat induksi fruktosa selama 6 minggu yakni pada tanggal 02 Mei 2013, yang berfungsi sebagai prediktor kondisi diabetes melitus. Pengukuran glukosa darah setelah perlakuan (*post-treatment*) dilakukan pada setelah tikus mendapat perlakuan selama 30 hari yakni pada tanggal 02 Juni 2013. Pada tikus nomor 18 hingga 21 tidak dilakukan pengukuran glukosa darah pretest karena tikus merupakan kelompok normal yang tidak diinduksi diabetes melitus. Pengukuran dilakukan menggunakan *digital glukosemeter*, dengan merk yang sama pada *pre-treatment* dan *post-treatment*. Berikut merupakan hasil pengukuran glukosa darah:

Nomor Tikus	Hasil Pengukuran (mg/dL)	
	02/05/2013	02/06/2013
1	112	101
2	109	101
3	62	89
4	88	73
5	116	98
6	68	106
7	137	101
8	72	RIP
9	108	83
10	112	62
11	103	83
12	121	68
13	108	103
14	121	87
15	82	76
16	59	106
17	88	93
18	-	94
19	-	86
20	-	83
21	-	91

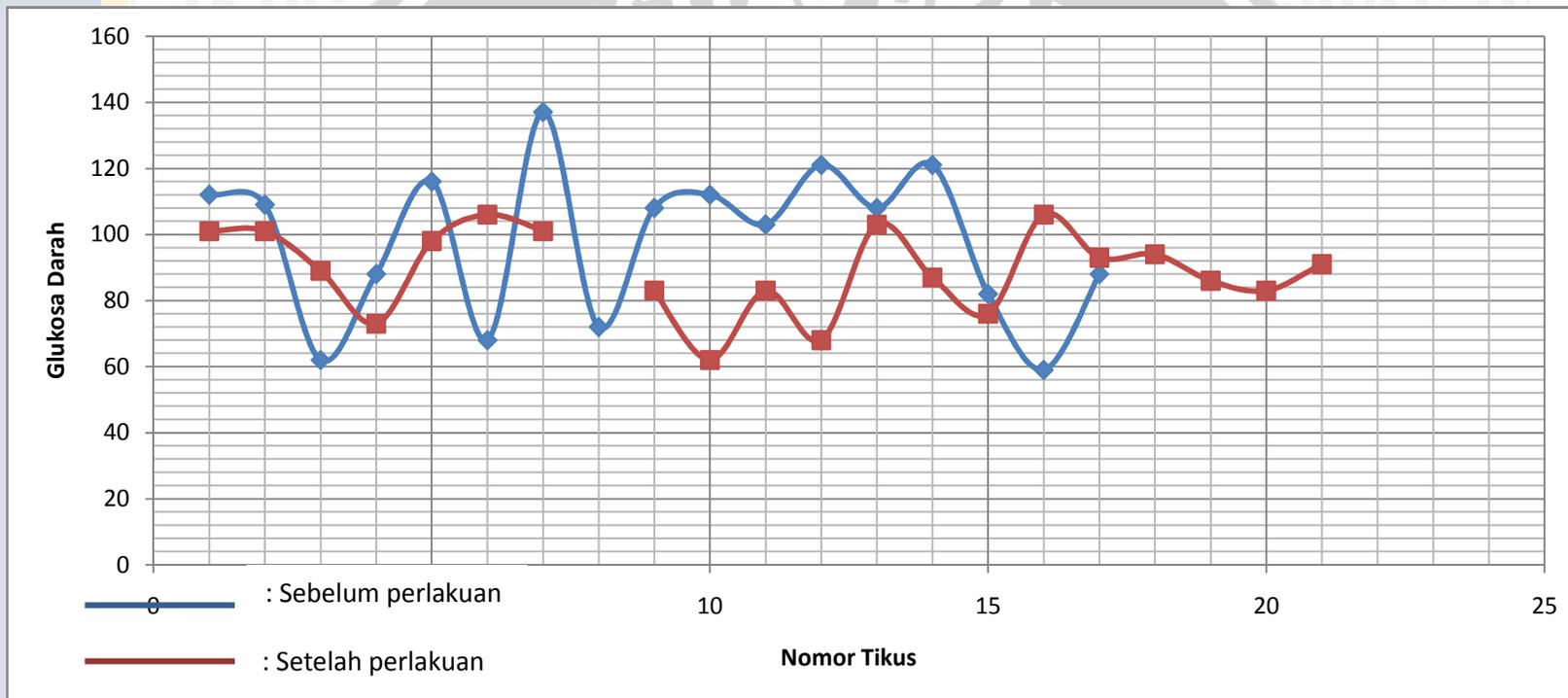
Hasil uji normalitas data dan homogenitas varian tiap kelompok terpenuhi untuk glukosa darah *pre-treatment*, namun sebaran data glukosa darah *post-treatment* tidak normal. Telah dilakukan transformasi data untuk glukosa darah *post-treatment*, namun tidak berhasil. Sehingga digunakan uji non parametrik Wilcoxon test, karena merupakan data berpasangan lebih dari dua kelompok.

Hasil uji Wilcoxon menunjukkan nilai $P = 0,218$ sehingga diketahui tidak terjadi perbedaan glukosa darah yang signifikan antara *pre-treatment* dan *post-treatment*, karena nilai $P > 0,05$. Dilihat secara klinis, terdapat perbedaan glukosa darah sebelum perlakuan dan setelah perlakuan, rata-rata glukosa darah setelah perlakuan mengalami penurunan, namun pada tikus nomor 3, 6 dan 16

mengalami peningkatan glukosa darah. Secara keseluruhan kadar glukosa darah tikus masih <200 mg/dL, sehingga belum mengalami diabetes melitus.



Berikut merupakan grafik glukosa darah sebelum perlakuan dan setelah perlakuan. Glukosa darah setelah perlakuan tikus nomor 8 tidak diukur, karena tikus telah mati sebelum tanggal pengukuran.

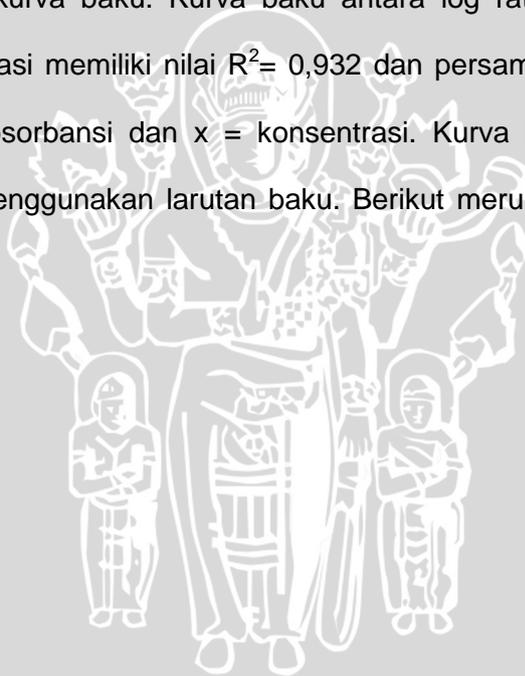


Gambar 5.1
Grafik Glukosa Darah Pre dan Post Perlakuan

5.3 Hasil Pengukuran Kadar GLUT-4 dalam Otot

Konsentrasi GLUT4 merupakan penanda terjadinya translokasi GLUT4 ke permukaan sel. Pengukuran konsentrasi GLUT4 dilakukan menggunakan ELISA kit dan tidak dilakukan pengukuran kadar protein sebelumnya, hal ini dikarenakan berat sampel sudah ditimbang dalam jumlah yang sama sebelum dilakukan homogenasi, dengan demikian jumlah protein yang terekstraksi rata-rata berjumlah sama.

Konsentrasi GLUT4 diperoleh dari memasukkan nilai absorbansi sampel kedalam persamaan kurva baku. Kurva baku antara log rata-rata absorbansi terhadap log konsentrasi memiliki nilai $R^2 = 0,932$ dan persamaan $y = 0,808x + 2,047$ dimana $y =$ absorbansi dan $x =$ konsentrasi. Kurva baku didapat dari pengukuran ELISA menggunakan larutan baku. Berikut merupakan konsentrasi yang didapat:



Kelompok Perlakuan	Nomor Tikus	Konsentrasi Glut4	
		g/L	
Kontrol Positif	1		137,40
	2		198,80
	3		61,42
Kontrol Negatif	4		190,90
	5		152,34
	6		289,50
Perlakuan 1	7		692,75
	8	RIP	
	9		115,58
	10		152,34
Perlakuan 2	11		122,77
	12		422,47
	13		159,91
	14		115,58
Perlakuan 3	15		247,47
	16		743,53
	17		167,56
Normal	18		175,27
	19		159,91
	20		255,78
	21		115,58

Hasil uji normalitas data konsentrasi GLUT4 didapatkan nilai $>0,05$ untuk seluruh kelompok perlakuan kecuali perlakuan 3, sehingga data di transformasi menggunakan $1/\text{squareroot}$ (lihat lampiran 11). Hasil dari transformasi memiliki sebaran normal untuk seluruh kelompok. Hasil uji homogenitas varian dari transformasi menunjukkan data homogen. Kemudian dilanjutkan dengan uji *one way ANOVA* dengan nilai $P = 0,526$, nilai $P > 0,05$ sehingga hasil H_0 diterima, dimana tidak terjadi perbedaan konsentrasi GLUT4 yang signifikan antar kelompok perlakuan, karena tidak terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan maka uji lanjutan *Post Hoc* tidak perlu dilakukan.

Secara statistik tidak terjadi perbedaan konsentrasi GLUT4 yang signifikan antar kelompok perlakuan, namun secara deskriptif perbedaan rata-rata konsentrasi GLUT4 terjadi. Urutan konsentrasi GLUT4 mulai dari terendah adalah:

$$P_n < P_0 < P_p < P_2 < P_1 < P_3$$

Dimana P_n = kelompok kontrol negatif, P_0 = kelompok tikus normal, P_p = kelompok kontrol positif (metformin), P_1 = kelompok tikus mendapat ekstrak biji jintan hitam dosis 24 mg/kgBB, P_2 = kelompok tikus mendapat ekstrak biji jintan hitam dosis 48 mg/kgBB, dan P_3 = kelompok tikus mendapat ekstrak biji jintan hitam dosis 48 mg/kgBB.

5.4 Hasil Perubahan Glukosa Darah

Glukosa darah merupakan prediktor kondisi DM 2. Setelah dilakukan pengukuran glukosa darah *pre-treatment* (02/05/13), tidak nampak nilai glukosa yang melebihi 200 mg/dL yang artinya belum terjadi kondisi DM 2 pada hewan coba. Dari hal tersebut, ingin diketahui pengaruh perubahan glukosa darah *pre-treatment* dan *post-treatment* terhadap konsentrasi GLUT4 pada jaringan otot. Berikut merupakan hasil perubahan glukosa darah *pre-treatment* dan *post-treatment*:

Kelompok Perlakuan	Nomor Tikus	Δ Glukosa Darah	Konsentrasi Glut4 (g/L)
Kontrol Positif	1	11	137,40
	2	8	198,80
	3	-27	61,42
Kontrol Negatif	4	15	190,90
	5	18	152,34
	6	-38	289,50
Perlakuan 1	7	36	692,75
	8	RIP	RIP
	9	25	115,58
Perlakuan 2	10	50	152,34
	11	20	122,77
	12	53	422,47
	13	5	159,91
Perlakuan 3	14	34	115,58
	15	6	247,47
	16	-47	743,53
	17	-5	167,56

Data glukosa darah (perubahan glukosa darah) menunjukkan distribusi normal dan varian data homogen dimana $P > 0.05$, namun data konsentrasi GLUT4 tidak memiliki sebaran normal, sehingga dilakukan transformasi data menggunakan $1/\text{square root}$. Hasil transformasi menunjukkan distribusi normal dan varian homogen dengan nilai $P < 0.05$.

Uji korelasi Persons dilakukan untuk mengetahui korelasi antara perubahan glukosa darah terhadap konsentrasi GLUT4. Dipilih korelasi pearson karena kedua variabel berupa data numerik. Hasil dari korelasi pearsons adalah 0,131 artinya hubungan antara perbedaan glukosa darah dengan konsentrasi GLUT4 sangat lemah.