

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan model tikus diabetes mellitus tipe II yang diinduksi diet tinggi lemak dan STZ dosis rendah (35 mg/kgBB). Menurut penelitian Shridar, *et al* (2008) menyebutkan bahwa diet tinggi lemak dapat menginduksi resistensi insulin yang ditandai dengan meningkatnya kadar serum insulin. Selain itu, STZ dosis rendah menyebabkan gangguan ringan pada fungsi sel beta pankreas dalam sekresi insulin (Zhang, 2008). Model tikus ini menunjukkan adanya hiperglikemia, hiperlipidemia, dan resistensi insulin yang ditandai dengan hiperinsulinemia, sehingga memiliki karakteristik yang sama dengan patofisiologi *obese diabetes mellitus type II* pada manusia (Srinivasan *et al.*, 2005). Ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia*) menjadi pendekatan terapi *type II obese diabetes mellitus* pada penelitian ini. Kelompok dosis 17,5 mg/kgBB menunjukkan tingkat ketahanan hidup yang rendah yaitu 40% (Indrawati, 2014), menyebabkan hanya ada 2 sampel yang tersisa.

6.1. Uji Fitokimia

Ekstraksi dan uji fitokimia dilakukan di Laboratorium Bahan Alam, Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Penyakit Tropis Universitas Airlangga. Sebanyak 400 gram serbuk Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) yang diperoleh dari Batu Materia Medika Malang Jawa Timur.

Maserasi dipilih sebagai metode ekstraksi karena metode ekstraksi dapat menjaga senyawa yang terkandung dalam daun binahong. Metode *freeze drying* digunakan karena cara pengeringan dengan *freeze drying* lebih baik dari pada *oven* (Sembiring *et al.*, 2009). Secara organoleptis, serbuk ekstrak daun binahong bersifat higroskopis, berwarna hijau tua, rasa pahit, dan berbau khas daun binahong. Hasil uji fitokimia menunjukkan adanya kandungan saponin, flavonoid, dan alkaloid seperti penelitian sebelumnya (Rahmawati *et al.*, 2012; Astuti *et al.*, 2011). Pada penelitian ini tidak dilakukan uji kadar alkohol dalam ekstrak karena telah dilakukan evaporasi dan *freeze drying*.

6.2. Berat Badan dan Sisa Pakan

Diabetes Mellitus Tipe II menyebabkan penurunan berat badan yang disebabkan oleh gangguan pemasukan glukosa ke dalam sel, sehingga lemak dan protein dimetabolisme menjadi asam lemak dan asam amino sebagai sumber energi (koda-kimbel *et al.*, 2009; krentz, 2007). Penurunan berat badan dari kelompok perlakuan dan pembanding terhadap kelompok kontrol DM2 tidak menunjukkan perbedaan dan hubungan yang signifikan. Penurunan berat badan tikus kelompok 17,5 mg/kgBB, dosis 35 mg/kgbb, dan kontrol pembanding lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol DM2, sedangkan kelompok dosis 70 mg/kgbb lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol DM2 jika dilihat dari rerata berat badan tikus. Kelompok dosis 17,5 mg/kgBB dan dosis 35 mg/kgbb menunjukkan penurunan yang lebih rendah diduga karena kandungan flavonoid pada daun binahong yang menstimulasi pengangkutan glukosa ke dalam sel sehingga pemecahan lemak dan protein pada otot dan adipose dapat dikurangi. Penurunan berat badan yang tinggi pada kelompok dosis 70 mg/kgbb diduga disebabkan oleh

asupan makanan yang lebih rendah diantara kelompok lainnya selain akibat kondisi diabetes mellitus (gambar 5.1). Kelompok kontrol pembanding juga menunjukkan penurunan yang rendah dibandingkan dengan kelompok diabetes, disebabkan mekanisme glimepiride yang meningkatkan sekresi insulin dan menurunkan resistensi insulin dapat meningkatkan ambilan glukosa ke dalam sel (Koda-Kimbel *et al*, 2009).

6.3. Penurunan Kadar Glukosa Darah

Analisa statistik pada hari ke-7 tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Kenaikan kadar glukosa darah justru terjadi pada kelompok dosis 70 mg/kgbb, namun masih lebih baik dibandingkan dengan kelompok perlakuan. Penurunan kadar glukosa darah tertinggi terjadi pada kelompok dosis 35 mg/kgbb sebesar $44,5 \pm 169,27$ mg/dl. Pada hari ke-15 terjadi penurunan pada semua kelompok perlakuan. Hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan yang bermakna pada kelompok dosis 35 mg/kgbb dan dosis 70 mg/kgbb terhadap kelompok kontrol DM2 ($p < 0,05$). Kelompok dosis 35 mg/kgbb berbeda bermakna dibandingkan kelompok pembanding glimepiride ($p < 0,05$). Penurunan glukosa darah tertinggi terjadi pada kelompok dosis 35 mg/kgbb (35 mg/kgbb) sebesar $214 \pm 116,75$ mg/dl, dimana dosis 35 mg/kgbb didapatkan dari hasil konversi penelitian sukandar *et al* (2011) yang menyebutkan bahwa dosis 50mg/kgbb (mencit) merupakan dosis optimal dalam menurunkan glukosa darah. Selanjutnya hubungan antara dosis dan penurunan glukosa darah pada hari ke-7 dan hari ke-15 memiliki hubungan yang lemah ($r = -0,223$ dan $r = -143$) dan tidak signifikan ($p = 0,485$ dan $p = 0,693$).

6.4. Profil Glukosa Darah Selama 10 Jam Pasca Terapi

6.4.1. Profil Glukosa Darah I (H1)

Gambar 5.2 menunjukkan profil glukosa darah selama 10 jam pasca terapi pada hari pertama. Tikus yang telah dipuasakan selama 11 jam selanjutnya dilakukan pengecekan kadar glukosa darah. Selanjutnya, tikus diberikan induksi glukosa 20% WFI (*Water for injection*) dan dilakukan pengecekan kembali dua jam berikutnya, sehingga terjadi peningkatan glukosa darah pada semua kelompok. Setelah pemberian glukosa, dapat diketahui profil kadar glukosa setelah perlakuan tiap dua jam. Gambar 5.2 menunjukkan terjadi efek antidiabetik yang cepat dan tajam pada kelompok dosis 17,5 mg/kgBB sampai jam ke-6. Kelompok dosis 35 mg/kgbb menunjukkan profil yang fluktuatif, namun masih terjadi penurunan. Pada kelompok dosis 70 mg/kgbb terjadi penurunan yang landai dan konstan sehingga akan membutuhkan waktu yang lama untuk mencapai kadar gula normal. Penurunan yang cepat dan tajam pada kelompok dosis 17,5 mg/kgBB ini memiliki resiko hipoglikemik yang tinggi. Kelompok kontrol pembanding tidak menunjukkan hasil yang baik pada hari pertama. Diduga dosis 1,08 mg/kgbb glimepiride (tikus) kurang adekuat, sehingga perlu ditingkatkan.

6.4.2. Profil Glukosa Darah II (H7)

Mengingat pada hari pertama (H1) dosis glimepiride 1,08 mg/kgbb glimepiride (tikus) atau setara dengan 2 mg pada manusia tidak menunjukkan hasil yang baik, maka dosis ditingkatkan menjadi 2,16 mg/kgbb. Selain itu, pada hari pertama (H1) terjadi kesalahan peneliti bahwa glimepiride tidak larut dalam air,

sehingga dibuat sediaan suspensi dengan menambahkan CMC Na. Gambar 5.3 menunjukkan profil glukosa darah selama 10 jam pasca terapi pada H7. Tikus yang telah dipuaskan selama 11 jam selanjutnya dilakukan pengecekan kadar glukosa darah. Dapat diketahui bahwa kelompok dosis 35 mg/kgbb memiliki kadar glukosa darah yang rendah dibandingkan kelompok kontrol, dan kelompok perlakuan yang lain. Setelah diberikan larutan glukosa diketahui terjadi peningkatan pada semua kelompok kecuali kelompok kontrol DM2. Gambar 5.3 menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar glukosa darah pada semua kelompok. Namun, penurunan H7 lebih landai dibandingkan dengan H1. Kelompok dosis 17,5 mg/kgBB tidak menunjukkan profil seperti pada H1. Penurunan dosis 17,5 mg/kgBB lebih landau dibandingkan H7. Efek penurunan pada kelompok dosis 17,5 mg/kgBB terjadi sampai jam ke-6. Pada kelompok dosis 35 mg/kgbb, terlihat terjadi penurunan dibandingkan H1 secara keseluruhan. Efek penurunan pada dosis 35 mg/kgbb berlangsung sampai jam ke-8. Kelompok dosis 70 mg/kgbb memiliki efek penurunan sampai jam ke-4. Sedangkan, kelompok kontrol pembanding menunjukkan hasil yang baik setelah peningkatan dosis dan modifikasi sediaan. Efek penurunan kadar glukosa darah pada kontrol pembanding sampai jam ke-6.

6.4.3. Profil Glukosa Darah III (H14)

Gambar 5.4. Menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar glukosa darah pada semua kelompok. Penurunan pada H14 lebih tajam dibandingkan pada H7. Kelompok dosis 17,5 mg/kgBB menunjukkan penurunan yang cepat dan tajam seperti pada H7, hingga mencapai kadar gula darah target. Terlihat kadar glukosa darah dosis 17,5 mg/kgBB mendekati glukosa darah kelompok tikus normal. Efek

penurunan kelompok dosis 17,5 mg/kgBB berlangsung hingga jam ke-6. Kelompok dosis 35 mg/kgbb juga menunjukkan penurunan yang cepat, hingga mencapai kadar glukosa normal pada jam ke-4, namun efek penurunan kelompok dosis 35 mg/kgbb sampai jam ke-8. Selanjutnya tidak terjadi peningkatan yang cukup tajam pada dosis 35 mg/kgbb (tetap dalam kisaran 100 mg/dl), sehingga diduga dosis 35 mg/kgbb masih memiliki efek antidiabetik. Pada kelompok dosis 70 mg/kgbb, terjadi penurunan yang konstan seperti yang terjadi pada H1. Kelompok dosis 70 mg/kgbb baru mencapai kadar glukosa darah <200 mg/dl pada jam ke-10. Kelompok dosis 70 mg/kgbb membutuhkan waktu yang lama dalam penurunan glukosa darah. Penurunan juga terjadi pada kelompok kontrol pembanding dimana kelompok kontrol pembanding memiliki efek penurunan sampai jam ke-4 dan meningkat kembali pada jam ke-6 hingga ke-10. Namun, kelompok kontrol pembanding masih belum mencapai target. Pada kelompok kontrol DM2 terjadi penurunan glukosa darah, diakibatkan kondisi DM2 sel beta pankreas yang masih mampu mensekresi insulin, selain itu adanya resistensi insulin yang menyebabkan keadaan hiperglikemia (zhang, 2008). Dari hasil dapat diketahui bahwa ekstrak daun binahong baru mencapai target atau sama dengan kontrol tikus normal pada dua minggu setelah perlakuan. Penggunaan ekstrak binahong pada dosis 17,5 mg/kgbb memiliki efek antidiabetik hingga 6 jam, sehingga dalam penggunaan terhadap pasien diabetes direkomendasikan menggunakan 4 kali sehari dengan efek samping hipoglikemia. Dosis 35 mg/kgbb ekstrak daun binahong memiliki efek antidiabetik hingga 8 jam yang tajam, namun masih terdapat efek antidiabetik jam ke-10, sehingga dalam penggunaannya pada pasien diabetes mellitus direkomendasikan penggunaan 1

atau 2 kali sehari. Pada dosis 70 mg/kgbb ekstrak daun binahong memiliki efek hingga jam ke-10, namun belum mencapai target. Glimepiride atau kelompok kontrol pembandingan belum mencapai target terapi pada 2 minggu pasca terapi.

6.5. Kadar Serum Insulin

Diabetes Mellitus Tipe 2 ditandai dengan adanya resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin. Resistensi insulin menyebabkan keadaan hiperglikemia yang mengakibatkan sel beta pankreas mensekresi insulin lebih banyak, sehingga menyebabkan hiperinsulinemia (koda-kimbel *et al.*, 2009). Analisa statistik kadar serum insulin puasa akhir menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna pada dosis 35 mg/kgbb, dosis 70 mg/kgbb, dan kontrol pembandingan dibandingkan dengan kontrol DM2. kelompok dosis 35 mg/kgbb dan dosis 70 mg/kgbb mampu menurunkan kadar serum insulin secara signifikan. Jika dibandingkan dengan kontrol tikus normal diketahui dosis 70 mg/kgbb memiliki perbedaan yang signifikan, sedangkan dosis 17,5 mg/kgBB, dosis 35 mg/kgbb, dan kontrol pembandingan tidak ada perbedaan yang bermakna. Kelompok dosis 17,5 mg/kgBB, dosis 35 mg/kgbb dan kontrol pembandingan memiliki kadar serum insulin yang sama dengan kontrol tikus normal. Pembandingan dengan kontrol pembandingan menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna dengan semua kelompok perlakuan daun binahong. Sehingga, dapat diketahui bahwa kelompok kontrol pembandingan memiliki efektivitas yang sama. Terdapat hubungan berkebalikan yang kuat dan signifikan antara dosis dengan kadar serum insulin. Analisa regresi menghasilkan *adjusted r square* 0,684 yang menunjukkan 68,4% penurunan kadar serum insulin disebabkan perlakuan.

6.6. HOMA-IR (*Homeostasis Model Assesment of Insulin Resistance*)

Resistensi insulin ditunjukkan dengan peningkatan nilai HOMA-IR (gambar 5.2). Diketahui bahwa terdapat perbedaan signifikan pada kelompok dosis 35 mg/kgbb ($p=0,034$) dan dosis 70 mg/kgbb ($p=0,034$) dibandingkan dengan kelompok kontrol DM2. Kelompok dosis 17,5 mg/kgBB memiliki resistensi yang rendah. Jika dibandingkan dengan kelompok kontrol tikus normal diperoleh dosis 17,5 mg/kgBB, dosis 35 mg/kgbb, dan dosis 70 mg/kgbb berturut p=0,053 ; p=0,297, dan p=0,014. Pada kelompok dosis 17,5 mg/kgBB dan dosis 35 mg/kgbb tidak ada perbedaan bermakna, yang berarti bahwa dosis 17,5 mg/kgBB dan dosis 35 mg/kgbb sama dengan kontrol kontrol tikus normal. Kelompok dosis 17,5 mg/kgBB tidak berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol DM2, walaupun secara rerata menunjukkan nilai HOMA-IR yang mendekati nilai dosis 35 mg/kgbb disebabkan hanya ada dua data. Obesitas menyebabkan peningkatan ekspresi sitokin inflamasi (Tigl *et al.*, 2007). Beberapa sitokin inflamasi, seperti TNF- α , IL-1 β , dan IL-6 menyebabkan resistensi insulin (Shoelson *et al.*, 2007; Tigl *et al.*, 2007). Distribusi glukosa pada jaringan tubuh dilakukan oleh *protein transport* yang disebut GLUT (*glucose transporter*), yang bekerja sebagai pembawa glukosa melewati membrane sel. Pada jaringan otot dan adipose transport glukosa dilakukan oleh GLUT-4 dan GLUT-1 (Kraegen *et al.*, 1993). Pada kondisi basal stimulasi insulin menyebabkan peningkatan translokasi GLUT-1 16% dan GLUT-4 63%. Sekresi insulin atau olahraga menyebabkan GLUT-4 berpindah ke membran sel (Bryan *et al.*, 2002). Ekstrak daun binahong dosis 17,5 mg/kgBB; 35 mg/kgBB; dan 70 mg/kg yang memiliki aktivitas antiinflamasi diduga mampu menurunkan kadar TNF- α , IL-1 β , dan

IL-6, sehingga meningkatkan translokasi GLUT-1 dan GLUT-4, dimana menurut penelitian Indrawati (2014) menunjukkan adanya peningkatan kadar glikogen otot setelah pemberian ekstrak daun binahong.

6.7. HOMA- β % (*Homeostasis Model Assesment of Beta Cell Function Percentage*)

Peningkatan fungsi sel beta pankreas ditunjukkan dengan nilai HOMA- β % (gambar.5.3). Diketahui nilai HOMA- β pada kelompok dosis 17,5 mg/kgBB, dosis 35 mg/kgbb dan dosis 70 mg/kgbb memiliki perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$), sedangkan pada kelompok kontrol pembanding dibandingkan dengan kontrol DM2. Jika dibandingkan dengan kontrol tikus normal menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna pada tikus dosis 35 mg/kgbb dan dosis 17,5 mg/kgBB, yang berarti bahwa ekstrak daun binahong dosis 17,5 mg/kg dan 35 mg/kgbb mampu meningkatkan fungsi sel beta pankreas. Pada kelompok dosis 70 mg/kgbb dan kontrol pembanding ada perbedaan bermakna dengan kontrol tikus normal yang berarti bahwa pada dosis 70 mg/kgbb dan glimepiride tidak mampu meningkatkan fungsi sel beta pankreas. Penurunan kadar serum insulin yang paling tinggi pada dosis 70 mg/kgbb (gambar 5.5), bukan akibat penurunan resistensi insulin yang paling tinggi, melainkan pada dosis 70 mg/kgbb ekstrak daun binahong tidak mampu menyebabkan peningkatan fungsi sekresi insulin. Penurunan kadar glukosa darah pada kelompok dosis 70 mg/kgbb diduga memiliki mekanisme mengeluarkan glukosa darah melalui urin selain akibat penurunan resistensi insulin, dimana menurut Rositasari (2014) pada dosis 70 mg/kgbb terdapat semut yang cukup banyak. Dari korelasi didapatkan hubungan berkebalikan yang kuat dan tidak

signifikan. Peningkatan glukosa darah menstimulasi sekresi insulin dan menyebabkan peningkatan ambilan glukosa ke dalam sel, sintesis glikogen, dan sintesis protein pada sel (Meija, 2006). Sukandar *et al* (2011) menyebutkan bahwa terjadi penurunan glukosa darah yang bermakna dan juga terjadi perbaikan sel beta pankreas. Selain itu, menurut penelitian Koeswanto (2014) menunjukkan peningkatan jumlah sel beta paling tinggi pada dosis 17,5 mg/kgBB dan 35 mg/kgBB. Dari hasil dapat diketahui bahwa ekstrak binahong dosis 35 mg/kgbb mampu meningkatkan fungsi sel beta pankreas dalam sekresi insulin.

6.8 Keterbatasan Penelitian

- a) Jumlah sampel setiap kelompok perlakuan tidak sama.
- b) Pada kelompok dosis 17,5 mg/kgBB hanya terdapat 2 data, sehingga sulit mewakilkan populasi secara statistik.
- c) Profil glukosa dilakukan sampai jam kesepuluh, sehingga tidak diketahui profil farmakokinetik obat secara lengkap dalam sehari.