

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Penelitian ini merupakan penelitian untuk mengetahui Darapladib terhadap ketebalan tunika intima media pada tikus *Sprague Dawley* dengan Diabetes Mellitus tipe 2

5.1 Hasil Penelitian

Penelitian ini menggunakan tikus *Sprague Dawley* sejumlah 30 ekor yang terbagi ke dalam 3 kelompok besar, yaitu tikus kontrol normal (10 ekor), tikus kontrol positif dengan Diabetes Mellitus Type 2 (10 ekor), dan tikus Diabetes Mellitus dengan Darapladib (10 ekor). Masing-masing terdiri dari 2 serial waktu yaitu fase awal (8 minggu) dan fase lanjutan (16 minggu).

Sebelum kami menyajikan data hasil pengukuran rata-rata *intima media thickness*, terlebih dahulu kami akan menyajikan pengukuran rata-rata intake pakan, perubahan berat badan, profil lipid, glukosa darah, kadar insulin plasma, dan resistensi insulin.

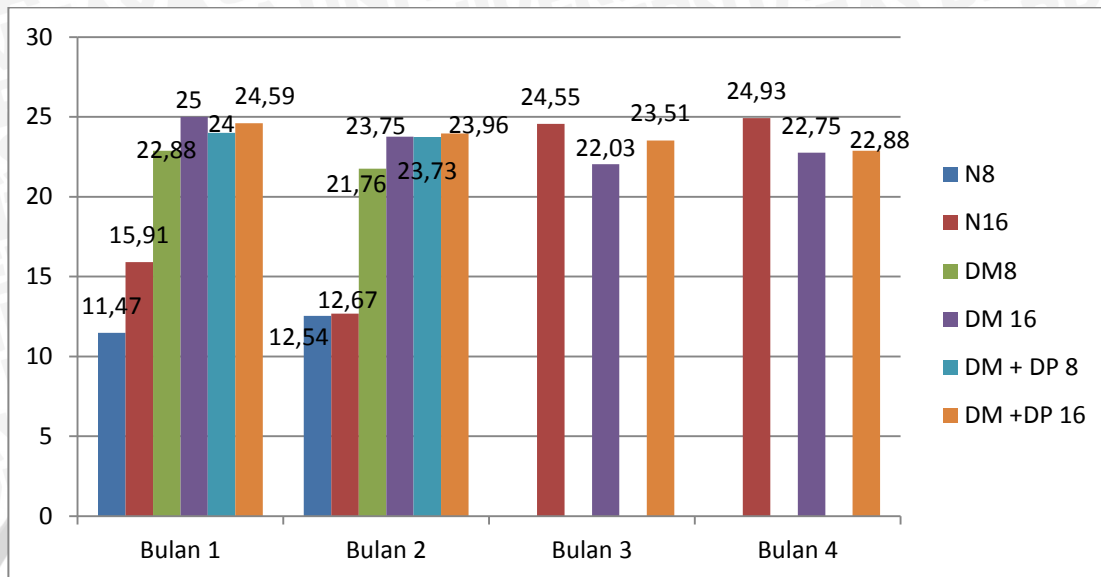
5.1.1 Pengukuran Intake Pakan Tikus

Pengukuran asupan pada tikus *Sprague Dawley* model Diabetes Mellitus Tipe 2 dapat dilihat dari sisa pakan yang diukur setiap harinya. Penyajian data hasil penelitian berikut merupakan rata-rata asupan pakan tiap kelompok dalam tiap bulan sebagaimana gambar 5.1.

Tabel 5.1 Asupan Intake Pakan Tikus Sprague Dawley tiap bulan pada setiap kelompok tikus (gram)

	N 8	N 16	DM 8	DM 16	DM+DP 8	DM+DP 16
Bulan 1	11,47	15,91	22,88	25	24	24,59
Bulan 2	12,54	12,67	21,76	23,75	23,73	23,96
Bulan 3		24,55		22,03		23,51
Bulan 4		24,93		22,75		22,88

Kelompok N 8 dan N 16 mendapatkan pakan normal dan kelompok DM 8, DM 16, DM+DP 8, dan DM+DP 16 mendapatkan pakan HFD. Rataan intake pakan bulan pertama yang paling tinggi dimiliki oleh kelompok DM 16 dengan intake pakan sebesar 25 gram dan intake pakan paling rendah adalah 11,47 gram pada tikus kelompok N 8. Pada bulan kedua dengan pola makan yang sama dengan sebelumnya, rataa intake pakan paling tinggi kelompok DM+DP 16 yaitu 23,96 gram dan paling rendah adalah kelompok N 8. Pada bulan ketiga, rataan intake pakan paling tinggi adalah N16 dengan 24,55 gram dan paling rendah adalah kelompok DM 16 dengan 22,03 gram. Bulan terakhir, rataan intake pakan tikus paling tinggi adalah N 16 dengan 24,93 gram dan paling rendah adalah DM 16 dengan 22,75 gram.



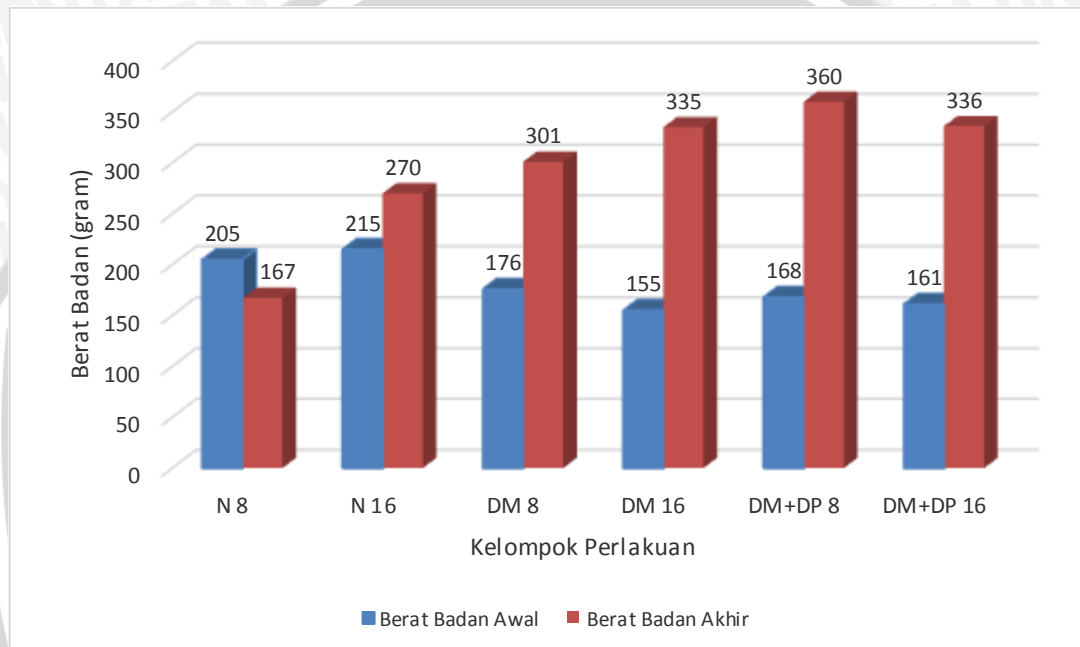
Grafik 5.1 Asupan Intake Pakan Tikus Sprague Dawley tiap bulan pada setiap kelompok tikus (gram)

Grafik 5.1 menunjukkan rata-rata asupan intake pakan tikus Sprague dowley model Diabetes Mellitus Tipe 2 tiap kelompok setiap bulannya. Grafik menunjukkan bahwa rata-rata intake pakan tikus pada bulan pertama dan kedua menunjukkan kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak lebih besar daripada kelompok tikus yang diberi pakan standar. Sedangkan pada bulan ketiga dan keempat, rata-rata asupan pakan kelompok tikus yang diberi pakan standar sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata asupan pakan kelompok tikus yang diberi pakan tinggi lemak.

5.1.2 Pengukuran Berat Badan Tikus

High Fat Diet (HFD) merupakan salah satu faktor dalam proses pembuatan tikus model Diabetes Mellitus Tipe 2 (Muwarni et al, 2006). Efek langsung dari High Fat Diet (HFD) pada tikus Sprague Dowley dapat dilihat dari perubahan berat badan

tikus. Pengukuran perubahan berat badan tikus dilakukan melalui selisih antara berat badan awal pemberian High Fat Diet (HFD) dengan berat badan sebelum dilakukan pembedahan.



Gambar 5.2 Grafik Rata-Rata Berat Badan Tikus Model Diabetes Mellitus tipe 2 (gram)

Gambar 5.2 menunjukkan perubahan berat badan tikus yang diukur melalui selisih antara berat badan awal tikus dan berat badan akhir sebelum dilakukan pembedahan. Terjadi peningkatan berat badan pada tikus kelompok DM 8, DMDP 8, N 16, DM 16, dan DMDP 16 serta terjadi penurunan berat badan pada tikus kelompok N8, hal ini dikarenakan tikus tidak mau memakan pakan AIN yang diberikan. Peningkatan berat badan terbesar terjadi pada kelompok DMDP 8 minggu yaitu sebesar 192 gram dari berat badan awal. Sedangkan penurunan berat badan terjadi pada kelompok N 8 yaitu sebesar 38 gram dari berat badan awal.

5.1.3 Pengukuran Kadar Glukosa Darah, Kadar Insulin Plasma, Resistensi Insulin

Keberhasilan dalam pembuatan tikus model Diabetes Mellitus tipe 2 diketahui dari pengukuran kadar glukosa darah, kadar insulin plasma, dan resistensi insulin. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan alat Accu Check™ dengan metode meneteskan darah yang diambil dari ekor tikus ke glucostick. Rata-rata kadar glukosa darah puasa tertinggi terjadi pada kelompok tikus DM 16 minggu sebesar 148 mg/ml. Sedangkan untuk pengukuran kadar insulin plasma dilakukan dengan metode sandwich ELISA menggunakan RAT INS (insulin) ELISA kit (Cat no. E-EL R2466) didapat dalam satuan mg/mL. Sehingga perlu dilakukan konversi kadar insulin plasma menjadi IU/L. Konversi dilakukan dengan rumus WHO dengan cara membaginya dengan 0.0347 karena 1 IU ekuivalen dengan 0.0347 mg/L (Burns, et al 2010). Rata-rata kadar insulin tertinggi juga terjadi pada kelompok DM 16 minggu sebesar 11.2 IU/L.

Untuk pengukuran resistensi insulin dilakukan menggunakan rumus HOMA-IR (*Homeostatic Model Assasment-Insulin Resistance*). Untuk model hewan coba tikus, dengan data yang dibutuhkan adalah kadar glukosa darah puasa dan kadar insulin plasma dengan rumusan sebagai berikut (*Van Dijk et al, 2013*).

$$\text{HOMA-IR} = \text{FBG} \times \text{FINS} / 22,5$$

Keterangan

HOMA-IR : *Homeostatic Model Assasment-Insulin Resistance*

FBG : Fasting Blood Glucose (Glukosa Darah Puasa) (mmol/L)

FINS : Fasting Insulin Plasma (Insulin Plasma Puasa) (μU/MI)

Berdasarkan rumus HOMA-IR pada hewan coba tikus, interpretasi yang digunakan ketika hasil >1.716 maka dapat dikatakan terjadi resistensi insulin dengan sensitivitas 83.87% dan spesifisitas 80.56% (Cacho, 2008). Dari rumus tersebut kelompok tikus DM 16 minggu sebesar 3.789 ($> 1,716$).

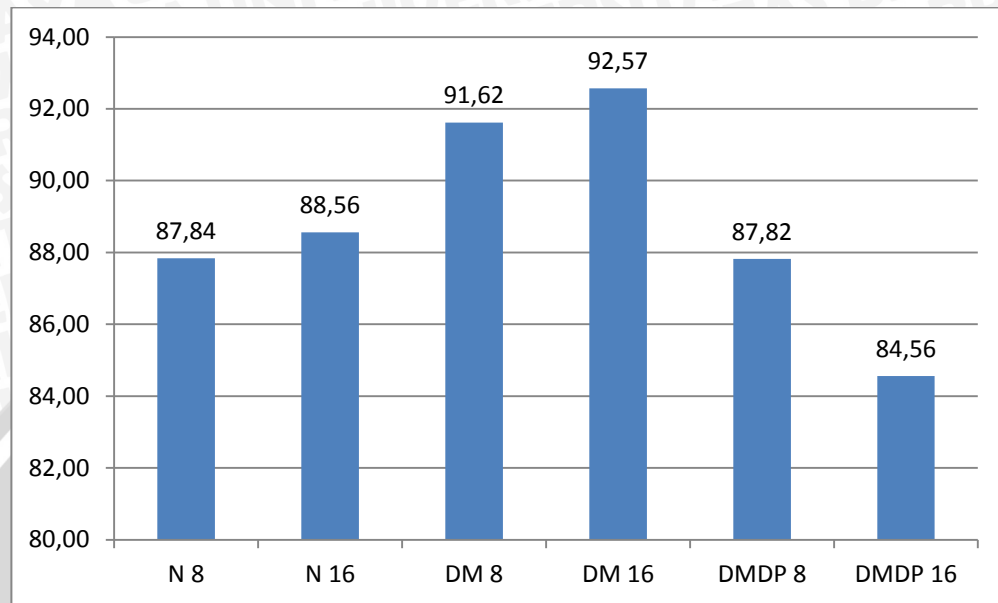
5.1.4 Pengukuran Tebal Tunika Intima Media Pembuluh Darah pada Tikus

Persiapan preparat untuk menghitung tebal tunika intima media pembuluh darah menggunakan proses paraffin block dengan pengecatan Hematoksilin-eosin. Pengukuran tebal tunika intima media pembuluh darah menggunakan software Dot Slide Olyvia. Berikut paparan hasil pengukuran rata-rata tikus tiap kelompok.

Tabel 5.5 Rata-rata Tebal Tunika Intima Media Aorta pada Tiap Kelompok Tikus Model Diabetes Mellitus Tipe 2 (μm)

	8 minggu	16 minggu
Normal	87,8363 \pm 10,9843	88,56 \pm 6,84791
Diabetes Mellitus	91,6243 \pm 0,56537	92,5689 \pm 0,96093
Diabetes + Darapladib	87,821 \pm 1,39084	84,562 \pm 1,25315

Rata-rata tebal tunika intima media pada tiap kelompok memiliki nilai yang berbeda-beda. Rata-rata tunika intima media terkecil didapatkan pada kelompok DM+DP 16 minggu dengan tebal sebesar 84.562 μm dan terbesar didapatkan pada kelompok DM 16 dengan tebal sebesar 92.5689 μm .

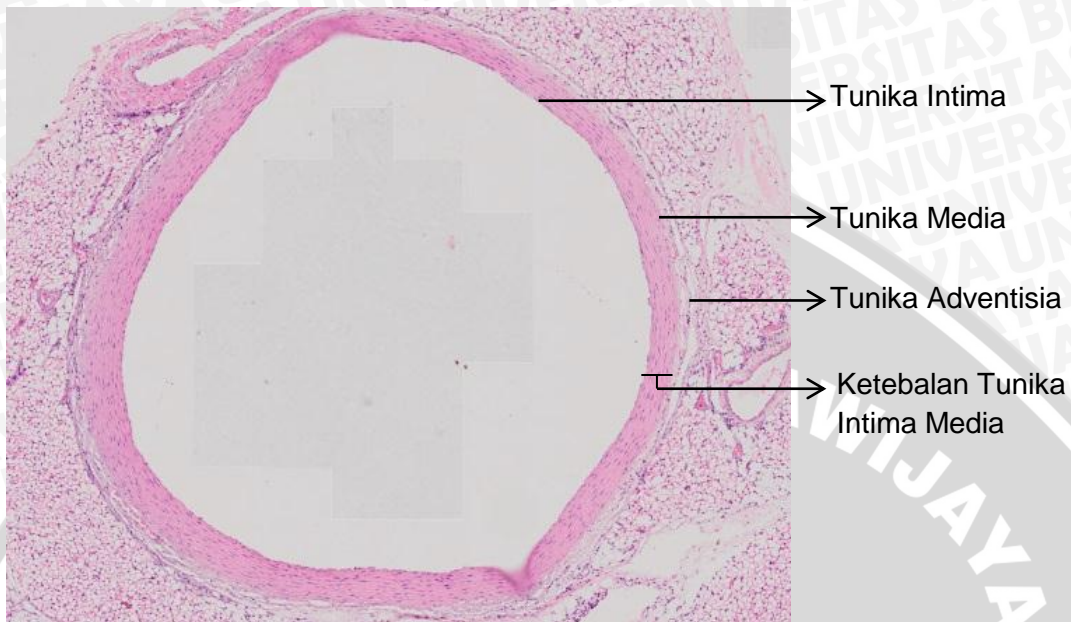


Grafik 5.3 Rata-Rata Tebal Tunika Intima Media Aorta pada Tiap Kelompok Tikus Model Diabetes Mellitus Tipe 2 (µm)

Pada grafik diatas didapatkan peningkatan ketebalan tunika intima media sebesar 0,72 µm antara kelompok N 8 dan N 16. Peningkatan ketebalan tunika intima media sebesar 0,95 µm juga terjadi pada kelompok DM 8 dan DM 16. Sedangkan pada DM+DP 8 dan DM+DP 16 terjadi penurunan dengan selisih 3,26 µm.

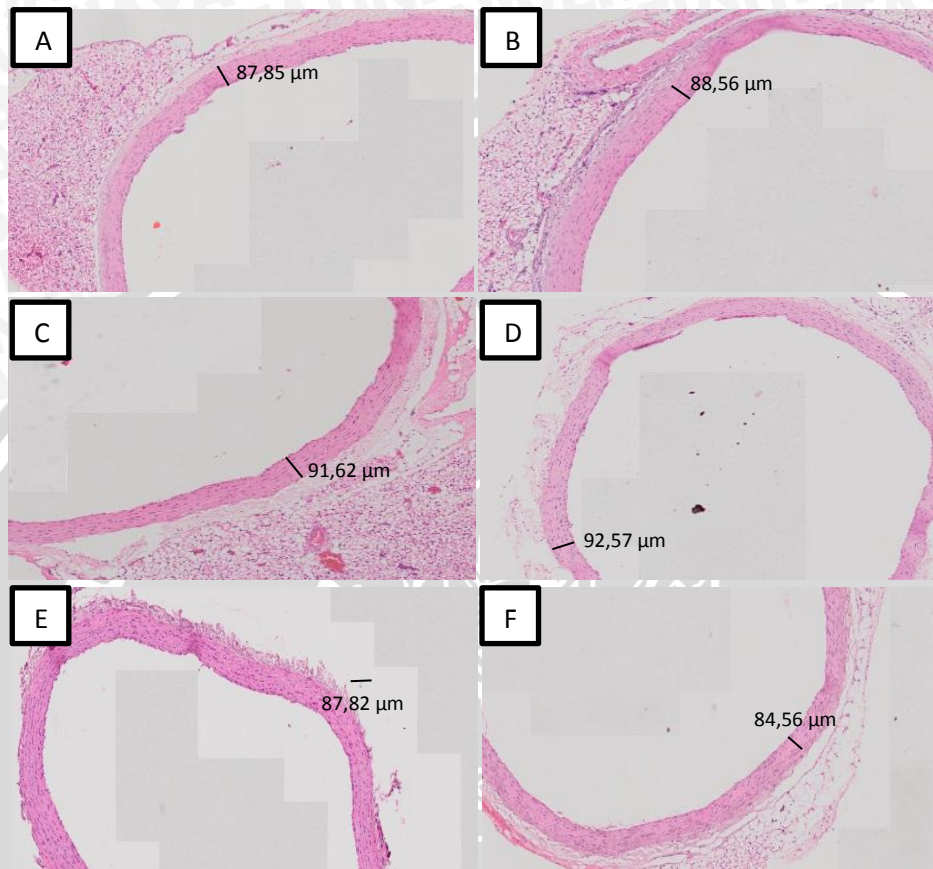
5.2 Hasil Pengamatan Scan Dot Slide Olyvia

Pembacaan Slide preparat menggunakan mikroskop cahaya dengan pembesaran 40x. Pengukuran tebal tunika intima media menggunakan software Scan Dot Slide Olyvia dengan satuan ukur µm.



Gambar 5.4 Penampang melingkar aorta dan bagian struktur pembuluh darah yaitu tunika intima, tunika media, dan tunika adventisia serta ketebalan tunika intima media

Gambar diatas merupakan penampang seluruh struktur pembuluh darah aorta. Terlihat gambaran tunika intima, tunika media, dan tunika advestisia. Pengukuran yang dilakukan pada penelitian ini adalah jarak antara tunika intima dan tunika media yang disebut ketebalan tunika intima media. Berikut adalah hasil dari pengukuran ketebalan tunika intima media.



Gambar 5.5 Pengukuran Penebalan Tunika Intima Media Aorta pada Tikus (A) N 8 dengan rata-rata 87.8363 ± 10.9843 , (B) N 16 dengan rata-rata $88,56 \pm 6,84791$, (C) DM 8 dengan rata-rata $91,6243 \pm 0,56537$, (D) DM 16 dengan rata-rata $92,5689 \pm 0,96093$, (E) DMDP 8 dengan rata-rata $87,821 \pm 1,39084$, dan (F) DMDP 16 dengan rata-rata $84,562 \pm 1.25315$. Menggunakan perwarnaan HE dengan perbesaran 400x.

5.3 Analisis Data

Dari hasil penelitian disajikan dalam rata-rata \pm simpangan baku (mean \pm SD) menggunakan software spss versi 16, yaitu uji one way ANNOVA setelah memenuhi uji normalitas dan uji homogenitas.

- Uji normalitas data dilakukan dengan metode shapiro-wilk karena sampel <50 . Hasil dari uji normalitas didapatkan $p= 0.084$. Hal ini menunjukkan bahwa

sebaran data dalam penelitian ini normal ($p > 0.05$). Selanjutnya di lakukan uji homogenitas.

- Uji Homogenits menggunakan uji levene didapatkan $p = 0.068$. Hal ini menunjukkan bahwa data yang diperoleh memiliki varian yang homogen ($p > 0.05$).

Maka dilakukan uji one way ANNOVA setelah data memenuhi kedua syarat tersebut. Kemudian dilakukan uji post hoc dengan menggunakan metode Duncan untuk mengetahui perbedaan pengaruh darapladib pada 2 serial waktu yang berbeda, yaitu 8 minggu dan 16 minggu.

5.3.1 Uji Oneway ANNOVA

ANOVA digunakan untuk data penelitian untuk membandingkan rata-rata dari masing-masing kelompok perlakuan dan mengetahui minimal ada dua kelompok yang berbeda signifikan. Perbedaan antara dua kelompok dianggap bermakna bila $p < 0,05$. Pada penelitian ini perbandingan tiap-tiap kelompok memiliki nilai signifikansi sebesar $p = 0.000$. Sehingga dapat dinyatakan bahwa pemberian darapladib memberikan perbedaan bermakna pada ketebalan intima media ($p < 0,05$). Pemberian darapladib signifikan ketebalan intima media pada kelompok perlakuan.

5.3.2 Uji Post Hoc

Uji Post Hoc bertujuan untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dari hasil tes ANOVA. Uji Post Hoc yang digunakan dengan tingkat signifikansi 95% ($p > 0,05$) adalah uji Duncan. Dapat diamati bahwa pada kelompok normal 8 minggu memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok normal 16

minggu. Pada kelompok Diabetes Mellitus 8 minggu memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok Diabetes Mellitus 16 minggu. Pada kelompok Diabetes Mellitus dan Darapladib 8 minggu serta 16 minggu didapatkan perbedaan yang signifikan. Sehingga dapat diketahui bahwa kelompok normal 8 minggu memiliki perbedaan yang signifikan dengan kelompok normal 16 minggu, kelompok Diabetes Mellitus 8 dan 16 minggu serta kelompok Diabetes Mellitus dan Darapladib 8 minggu. Namun Normal 8 minggu tidak memiliki perbedaan signifikan dengan kelompok Diabetes Mellitus dengan Darapladib 16 minggu.

