

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk melihat efek ekstrak kulit tomat pada tikus jantan jenis *Rattus Norvegicus strain Wistar* model diabetes melitus tipe 2. Tomat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tomat (*Solanum lycopersicum*) yang merupakan buah yang populer dan banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia. Buah tomat biasa digunakan sebagai bahan makanan, dalam bentuk segar, dimasak, saus, dan masih banyak lagi. Buah ini merupakan sumber vitamin dan mineral yang sangat berguna bagi kesehatan. Vitamin C dan E, serta pigmen karotenoid dalam tomat memiliki khasiat antioksidan dan melindungi tubuh dari kanker (Kotzman, 2007). Kulit tomat memiliki konsentrasi karotenoid yang lebih tinggi dan mengandung flavonol, yaitu quercetin.

Diabetes melitus tipe 2 adalah salah satu penyakit metabolik yang angkanya kejadiannya tinggi di dunia, yaitu 95% dari penderita diabetes melitus di dunia. diabetes tipe ini tidak disebabkan oleh ketidak mampuan produksi insulin dalam tubuh, melainkan karena adanya resistensi insulin. Resistensi ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor yang dapat diubah maupun yang tidak. Dalam keadaan hiperglikemia, terjadi overproduksi senyawa oksigen reaktif (ROS) seperti superoksida, yang dapat menyebabkan kerusakan vaskuler. Peningkatan superoksida ini dapat menginduksi peroksidasi lemak dan oksidasi dari *low-density lipoprotein* (LDL) yang selanjutnya menyebabkan berbagai komplikasi vaskuler diabetes (Adachi et. al, 2004). Superoksida dismutase adalah enzim antioksidan dari tubuh yang berfungsi menghilangkan senyawa

oksigen reaktif (ROS) melalui proses katalisa radikal bebas anion superoksida (O₂⁻) menjadi hidrogen peroksida dan oksigen yang tidak berbahaya bagi tubuh (Memon, 2014). Oleh sebab itu, dilakukan penelitian untuk melihat efek kulit tomat terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase pada diabetes melitus tipe 2.

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* yang dilakukan untuk melihat efek ekstrak kulit tomat terhadap aktivitas enzim superoksida dismutase pada tikus jantan jenis *Rattus Norvegicus strain Wistar*.

6.1 Karakteristik Sampel

Sampel yang digunakan adalah tikus jantan jenis *Rattus Norvegicus strain Wistar* dengan usia 8 minggu dengan berat badan berkisar 150-250 gram dalam keadaan sehat. Sehat yang dimaksudkan yaitu dalam keadaan tikus yang aktif bergerak dan memiliki bulu yang putih bersih. Tikus putih jenis *Rattus Norvegicus* galur wistar jantan dipilih menjadi subjek penelitian karena memiliki sistem metabolisme dan kadar glukosa yang mirip dengan manusia. Tikus putih jantan tidak dipengaruhi oleh adanya siklus menstruasi dan kehamilan seperti pada tikus putih betina (Chaiyathullah, 2013).

Penelitian ini menggunakan 25 ekor tikus yang dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan. Jumlah tikus untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah sama yaitu berjumlah 5 ekor, dengan tikus cadangan masing-masing sebanyak 1 ekor yang sudah sesuai dengan kriteria inklusi. Saat penelitian berlangsung tikus pada kelompok kontrol positif mati sebanyak satu ekor, akan tetapi jumlah tikus masih dapat memenuhi minimal jumlah sampel. Kelompok sampel tikus yang digunakan dalam penelitian ini dibagi menjadi lima kelompok perlakuan. Sampel dikodisikan dengan homogen untuk mengurangi hasil bias. Perlakuan pemberian

pakan tinggi lemak dan induksi streptozotocin (STZ) dilakukan pada tikus kelompok positif, perlakuan ekstrak tomat dosis 50mg/kgBB (KP1), perlakuan ekstrak tomat dosis 100mg/kgBB (KP2), dan perlakuan ekstrak tomat dosis 150mg/kgBB (KP3). Induksi dan makanan tinggi lemak diberikan untuk mendapatkan model tikus diabetes melitus tipe 2. Pada sampel dilakukan pengukuran glukosa darah puasa sebelum dan 1 minggu setelah induksi streptozotocin (STZ). Kelompok tikus KP diberikan ekstrak kulit tomat per oral selama tiga minggu yang kemudian dilakukan pemeriksaan serum aktivitas enzim superoksida dismutase. Sampel serum didapatkan secara intrakardial di ventrikel tikus yang dianestesi terlebih dahulu.

Penelitian ini menggunakan 32 ekor tikus yang dibagi menjadi 8 kelompok perlakuan. Pada awal penelitian jumlah tikus untuk masing-masing kelompok perlakuan adalah sama 4 ekor, namun pada saat penelitian berlangsung tikus pada kelompok KVAP1 dan KVAP2 mati masing-masing sebanyak 1 ekor.

6.1.1 Berat Badan Tikus

Dilakukan penimbangan berat badan tikus setiap minggunya untuk mengetahui adanya perubahan berat badan tikus. Dapat dilihat pada Gambar 5.1 grafik tabel berat badan tikus, dapat disimpulkan bahwa terjadi peningkatan berat badan pada minggu ke tujuh dan ke delapan. Rerata berat badan tikus awal yang paling tinggi adalah kelompok kontrol, kelompok yang merupakan model diabetes melitus tanpa terapi (KP) yaitu sebesar 229,40gram. Sedangkan rerata berat badan yang paling rendah pada awal penelitian adalah kelompok control negatif yaitu sebesar 157,93 gram. Rerata berat badan yang paling tinggi pada akhir penelitian adalah kelompok kontrol positif yaitu sebesar 305,78 gram.

Rerata berat badan paling rendah pada akhir penelitian yaitu sebesar 240,70 yang terdapat pada kelompok kontrol negatif.

Didapatkan peningkatan berat badan tikus pada awal penelitian hingga minggu ke tujuh yang dapat dilihat dari grafik 5.1. Peningkatan berat badan pada tikus yang merupakan salah satu pemicu untuk resistensi insulin. Menurut Srinivasan (2005) pemberian pakan tinggi lemak berguna untuk mengkondisikan tikus menjadi obesitas, hiperinsulinemia, dan resistensi insulin. Dilakukan injeksi STZ pada minggu ke tujuh untuk membuat model diabetes yang terbukti dengan adanya peningkatan glukosa seperti tabel 5.2. Pada minggu ke delapan, dapat dilihat pada grafik 5.1 kelompok kontrol positif terjadi penurunan rerata berat badan, hal ini merupakan salah satu tanda diabetes melitus yaitu lipolisis. Pada tikus diabetes melitus terjadi kondisi defisiensi insulin yang menyebabkan keseimbangan metabolisme tubuh menjadi katabolisme protein dan lemak. Hal ini menyebabkan terjadinya pemecahan jaringan adiposa untuk membentuk glukosa. Katabolisme protein dan lemak (lipolisis) menimbulkan penurunan berat badan dan peningkatan nafsu makan (polifagi) yang merupakan salah satu gejala klasik diabetes (Robbins *et.al.*, 2007).

Peningkatan berat badan pada kelompok perlakuan dosis 50 mg/kgBB (KP1), kelompok perlakuan dosis 100 mg/kgBB (KP2), dan kelompok perlakuan dosis 150 mg/kgBB (KP3) menandakan adanya perbaikan keadaan pada tikus. Menurut Zheng *et.al.* (2013) pemberian ekstrak kulit tomat dengan *Ultrafine grinding* secara oral dapat menghambat penurunan berat badan tikus model diabetes melitus, sehingga dapat ditarik kesimpulan adanya penurunan lipolisis. Di dalam tomat terkandung zat gizi seperti vitamin, betakaroten, kuersetin, likopen, mineral, dan serat. Menurut Bhowmik (2012), kulit tomat memiliki

konsentrasi karotenoid yang tinggi dan juga mengandung flavonol yang merupakan salah satu fitokimia termasuk quercetin dan kaempferol. Berdasarkan *World Journal of Diabetes*, kandungan tomat yaitu likopen, beta karoten, dan flavonoid dapat berguna meregulasi lemak dan metabolisme lipoprotein. Zat – zat ini nantinya akan menurunkan oksidasi LDL dan memperbaiki gangguan lemak yang diinduksi oleh diabetes (Mirmiran et. al., 2014). Peningkatan rerata berat badan tikus yang paling tinggi yaitu pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak kulit tomat sebesar dosis 150mg/kbBB.

6.1.2 Glukosa darah Puasa Tikus

Diabetes melitus merupakan kelainan metabolik kronis yang ditandai dengan meningkatnya konsentrasi glukosa darah (hiperglikemia) yang diakibatkan oleh kerusakan sel beta pankreas sehingga produksi insulin terganggu atau adanya gangguan pada reseptor insulin. Pakan tinggi lemak menyebabkan peningkatan profil lipid yang meningkatkan asam lemak dan aktivitas oksidasi. Hal ini menyebabkan menurunnya aktivitas hormon insulin melalui penurunan output glukosa oleh hati dan menurunnya glukosa ke otot, yang kemudian terjadi kompensasi hiperinsulinemia yang merupakan tanda resistensi insulin (Srinivasan et al, 2005). Injeksi STZ menyebabkan alkilasi DNA yang berakibat kerusakan sel beta pankreas. Kombinasi dari injeksi STZ dan pemberian pakan tinggi lemak diharapkan dapat menimbulkan gejala diabetes melitus tipe 2. Menurut Zhang (2008), kadar glukosa darah puasa pada tikus diabetes melitus adalah $\geq 140\text{mg/dL}$, sedangkan kadar glukosa darah acak $\geq 200\text{ mg/dL}$, maka dari data GDP dapat dibuktikan tikus perlakuan terjadi diabetes melitus

Pemeriksaan kadar glukosa yang diperiksa adalah kadar glukosa darah puasa (GDP). Rerata kadar glukosa darah setelah diinjeksi streptozotocin dari

kelompok kontrol positif sebesar 225,67mg/dL, kelompok perlakuan dosis 50 mg/kgBB (KP1) sebesar 353,67mg/dL, kelompok perlakuan dosis 100 mg/kgBB (KP2) sebesar 348mg/dL kelompok perlakuan dosis 150 mg/kgBB (KP3) sebesar 250,25mg/dL. Maka dapat disimpulkan pada kelompok perlakuan stretozotocin terjadi diabetes melitus.

6.2 Profil Serum SOD Tikus

Diabetes melitus merupakan penyakit kronis yang memiliki komplikasi yang sangat luas. Komplikasi ini disebabkan oleh keadaan hiperglikemia yang kronis yang menyebabkan modifikasi oksidatif yang nantinya akan berpengaruh pada stress oksidatif (Setiawan, 2005). Mekanisme terbentuknya senyawa oksigen reaktif (ROS) dari beberapa jalur menyebabkan ketidak seimbangan antara antioksidan tubuh dan senyawa oksigen reaktif. Adanya peningkatan stress oksidatif, enzim superoksida dismutase (SOD) sebagai salah satu antioksidan dalam tubuh akan meningkatkan aktivitasnya untuk mengkompensasi stres oksidatif tersebut. Enzim SOD dapat menghilangkan senyawa oksigen reaktif dengan cara mengkatalisa anion superoksida menjadi oksigen. Menurut Giacco dan Brownlee, pada jantung penderita diabetes terjadi overekspresi dari MnSOD atau katalase melindungi mitokondria dari kerusakan oksidatif, meningkatkan respirasi, dan melindungi mitokondria. Aktivitas MnSOD pada sel endotel akan meningkat untuk menghambat terjadinya hiperglikemia dan inaktivasi dari enzim anti atherosclerosis oleh diabetes. Aktivitas SOD yang ada pada serum darah tikus dipengaruhi oleh stres oksidatif (Giacco dan Brownlee, 2010).

Hasil rerata aktivitas SOD tikus yang diberikan perlakuan ekstrak tomat secara statistik dengan menggunakan uji *One Way ANOVA* memberikan perbedaan hasil yang signifikan ($p = 0,002$) antar kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, dan kelompok perlakuan dosis. Dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tuckey* diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, kelompok ekstrak kulit tomat dosis 50mg/kgBB, kelompok ekstrak kulit tomat dosis 100mg/kgBB, sedangkan kelompok perlakuan yang lain tidak mengalami perbedaan yang signifikan. Selanjutnya dilakukan analisis korelasi *Pearson*, didapatkan hasil tidak terdapat korelasi yang bermakna antara kelompok perlakuan dengan aktivitas SOD. Hasil analisis regresi linear menunjukkan bahwa variansi aktivitas SOD dipengaruhi oleh variabel ekstrak kulit tomat sebesar 64,7%.

Aktivitas SOD pada kelompok kontrol positif meningkat dibandingkan kontrol negatif. Hal ini dapat disebabkan keadaan hiperglikemi diabetes melitus karena induksi streptozotocin yang diberikan pada tikus dan menyebabkan jalur peningkatan produksi senyawa oksigen reaktif (ROS). Streptozotocin sendiri mampu membangkitkan oksigen reaktif yang berperan tinggi dalam kerusakan sel beta pankreas. Streptozotocin menyebabkan terjadinya pembentukan anion superoksida dalam mitokondria dan peningkatan aktivitas xantin oksidase (Szkudelski, 2001). Xantin oksidase ini mengkatalase reaksi pembentukan anion superoksida. Hasilnya terbentuk hidrogen peroksida dan radikal hidroksil. SOD sebagai *first line defense* dalam menghadapi ROS, mendismutasekan H_2O_2 . Dalam keadaan stress oksidatif, SOD sebagai antioksidan enzimatik dalam tubuh akan medetoksifikasi radikal bebas, menyebabkan meningkatnya aktivitas SOD dalam tubuh (Apel dan Hirt, 2004).

Rerata aktivitas SOD kontrol negatif dibandingkan dengan dosis 50 mg/kgBB memberikan perbedaan yang signifikan. Hal ini mungkin dapat disebabkan karena belum terjadi proses glikasi yang dapat menginaktivasi enzim SOD (Giacco dan Brownlee, 2010). Aktivitas enzim SOD yang baik dapat mengkompensasi peningkatan ROS dan menyebabkan peningkatan aktivitas. Menurut Luo dan Wu (2011), pemberian likopen sebesar 100, 200, 300 mg/kgBB dapat meningkatkan kadar SOD dan antioksidan endogen lainnya yang dapat menurunkan toksisitas ROS.

Gambar 5.2 grafik rerata SOD menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok dosis. Dosis 50 mg/kgBB memiliki aktivitas enzim SOD yang paling tinggi dibandingkan dengan dosis yang lain. Sedangkan aktivitas SOD dosis 50 mg/kgBB lebih tinggi dibandingkan dengan dosis 100 mg/kgBB. Hal ini menunjukkan terjadi penurunan aktivitas SOD pada peningkatan dosis. Menurut penelitian Akalin et. al. (2008), meningkatnya aktivitas SOD merupakan hasil dari mekanisme adaptasi dan proteksi, serta dapat menjadi indikator meningkatnya pembentukan radikal bebas yaitu O_2^- pada DM. Penurunan aktivitas SOD menunjukkan adanya efek antioksidan dari ekstrak kulit tomat yang menurunkan ROS pada DM. Tomat mengandung antioksidan seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E, kuersetin. Vitamin A dan provitamin A dapat berguna sebagai antioksidan dengan rantai tetraenya menstabilkan radikal bebas dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan endogen. Karotenoid yang paling banyak pada kulit tomat adalah likopen, pigmen yang menyebabkan warna merah dan dapat menginaktivasi hidrogen peroksida, nitrogen dioksida, dan menurunkan kerentanan kerusakan DNA. Kuersetin dan vitamin E dapat meningkatkan produksi antioksidan GSH yang mereduksi hidrogen peroksida

yang dapat menyebabkan peroksidasi lipid dan kerusakan DNA sel. Vitamin C dapat mengurangi pembentukan AGE dan menstabilkan radikal bebas (Chutani, 2008; Oyehini *et. al.*, 2014; Setiawan dan Suhartono, 2005). Terjadi penurunan aktivitas SOD pada dosis 100 mg/kgBB (38,07 U/ml) dibandingkan dengan dosis 150 mg/kgBB (37,49 U/ml) yang lebih sedikit dibandingkan dengan dosis 50 mg/kgBB dengan 100 mg/kgBB yaitu sebesar 2,02 U/ml. Menurut Buoyaed dan Bohn (2010) antioksidan eksogen berguna untuk mencegah stres oksidatif, yang menyeimbangkan ketidakseimbangan redoks dalam keadaan oksidatif. Namun, senyawa ini dapat berdampak negative bagi tubuh, karena efek prooksidatif pada konsentrasi tinggi yang dapat muncul dalam kondisi tertentu, seperti pada dosis tinggi atau dengan adanya ion logam. Diet antioksidan seperti fenolat dapat menimbulkan efek prooksidan dengan adanya ion logam karena senyawa ini mengurangi kapasitas dan membentuk kelat, seperti dengan besi logam transisi dan tembaga, yang merupakan komposisi penting pada tanaman. Kemampuan mereduksi yang kuat dari antioksidan juga dapat mempengaruhi ion logam, terutama Fe^{3+} dan Cu^{2+} yang dapat meningkatkan kemampuan untuk membentuk konsentrasi radikal hidroksil sangat reaktif, berasal dari peroksida melalui reaksi Fenton. Akibatnya, fenolat dapat juga bertindak sebagai prooksidants oleh proses *chelating* logam dengan cara yang mempertahankan atau meningkatkan aktivitas katalitiknya (Buoyaed dan Bohn, 2010).

Penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit tomat memiliki pengaruh untuk menurunkan aktivitas SOD serum pada tikus model diabetes melitus tipe 2. Hal ini ditunjukkan dengan rerata aktivitas enzim SOD yang menurun dengan pemberian dosis ekstrak kulit tomat yang semakin tinggi. Ekstrak kulit tomat mengandung likopen, flavonol, quercetin, vitamin C, dan vitamin E yang

merupakan suplemen antioksidan. Antioksidan ini berguna untuk membantu mengkonversi radikal bebas yang menyebabkan penurunan penggunaan enzim SOD yang menyebabkan penurunan aktivitas enzim SOD.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan/kelemahan dari penelitian ini adalah peneliti tidak menghitung kadar radikal bebas pada tikus sebelum dan sesudah perlakuan.

