

Potensi Nikotin Dalam Mencegah Diabetic Vascular Disease Pada Tikus Model Diabetes Melitus Tipe 2

Satria Nur Firmansyah*, Sumarno**

ABSTRAK

Diabetic Vascular Disease (DVD) merupakan komplikasi tersering Diabetes Melitus tipe 2, berupa penyempitan pembuluh darah (Aterosklerosis) yang menyebabkan morbiditas dan mortalitas penderita Diabetes Melitus tipe 2 tinggi. Telah dilaporkan Nikotin terbukti memiliki efek meningkatkan kadar insulin plasma tikus dan juga memiliki efek antiinflamasi, dimana inflamasi merupakan proses awal terjadinya aterosklerosis. Sehingga Nikotin memiliki potensi yang besar sebagai terapi aterosklerosis pada penderita Diabetes Melitus Tipe 2 dengan menghambat inflamasi yang berlebihan, serta menurunkan kadar gula dalam darah. Penelitian ini bertujuan membuktikan potensi ekstrak Tobacco nicotinia untuk mencegah Diabetic Vascular Disease (DVD) dengan melihat penurunan tingkat ketebalan Aorta abdominalis. Penelitian *In vivo true experimental and randomized posttest only controlled group* dilakukan pada Rattus norvegicus berusia 18-20 minggu. Diabetes Melitus tipe 2 diinduksi dengan pemberian diet aterogenik selama 2 minggu, di injeksi Streptozotocin dosis rendah intraperitoneal. Penelitian ini terdiri dari 5 kelompok tikus dengan 5 tikus per kelompoknya. Kelompok I adalah kontrol Negatif, kelompok II adalah kontrol Positif. Kelompok III, IV, V merupakan kelompok perlakuan dengan masing-masing diberi ekstrak Tobacco nicotinia per oral dengan dosis 90mg/kg, 180mg/kg, 270mg/kg. Hari ke-46 tikus dibedah dan diambil organ aorta abdominalis untuk pemeriksaan histopatologis. Ketebalan aorta abdominalis diperiksa dengan 400x perbesaran pada 8 lapangan pandang. Pemberian ekstrak Tobacco nicotinia tidak dapat menurunkan ketebalan Aorta Abdominalis tikus Wistar Jantan model Diabetes Melitus tipe 2 (Anova $p > 0,05$). Hubungan dosis ekstrak Tobacco nicotinia dengan tingkat ketebalan aorta abdominalis signifikan namun lemah korelasinya (uji regresi linier, $p=0,002$, korelasi:-0,432). Pemberian ekstrak Tobacco nicotinia per oral tidak dapat menurunkan ketebalan aorta abdominalis pada hewan model Diabetes Melitus tipe 2. Pemberian ekstrak Tobacco nicotinia per oral tidak berpotensi sebagai terapi pencegahan Diabetic Vascular Disease.

Kata kunci: Diabetic Vascular Disease, Ketebalan aorta, Nikotin.

The Potential of Nicotine to Prevent Diabetic Vascular Disease on Diabetic Melitus type 2 Rat Models

ABSTRACT

Diabetic Vascular Disease (DVD) is the most frequent complications of Diabetes mellitus type 2. Diabetic Vascular Disease is thickening of the arteries that causes morbidity and mortality of Diabetes mellitus type 2 is high. It has been reported that the nicotine is proven to have the effect of increasing the levels of plasma insulin of rats and have the effect of anti-inflammatory which is a process of early onset of atherosclerosis. This study aimed to demonstrate the potential of Tobacco nicotinia extract as an effective treatment to prevent Diabetic Vascular Disease (DVD) by looking at the decline in the level of thickness of the Abdominal Aorta. This study is In vivo true experimental and randomized posttest only controlled group research was conducted in 18-20 weeks old *Rattus norvegicus*. Type 2 diabetes mellitus induced by high-fat diet were given for 2 weeks, then intraperitoneal injection of low dose streptozotocin. Five groups of rats with five rats per groups were used for the study. The negative control is a group I, group II is positive control. Group III, IV, V, each given extract dose per oral nicotinia Tobacco 90mg/kg 180mg/kg 270mg/kg. Day 46 rats dissected organs of abdominal aorta and taken for examination histopatologic. The thickness of the aorta examined with 400x magnification and field of view 8. Group given the Tobacco extract nicotinia 180mg/KgBB and 270mg/KgBB showed decreased significantly on the level of thickness of abdominal aorta compared to positive control group (LSD, $p < 0.05$). Relationship of extract dose of Tobacco with high thickness nicotinia abdominal aorta was significant but week correlation (linear regression test, $p = 0.002$, correlation:-0,432). The giving Tobacco extract nicotinia per oral cannot decrease the thickness of the abdominal aorta in an animal model of Diabetes mellitus type 2. The giving of oral Tobacco extract nicotinia per oral does not potential as preventive therapy of Diabetic Vascular Disease.

Keywords: *Diabetic Vascular Disease, thickness of aorta, Nicotine.*

*Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

**Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan masalah utama kesehatan di dunia. DM adalah penyakit metabolik dengan karakteristik kadar gula darah terlalu tinggi yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya¹. Lebih dari 90% penderita diabetes adalah pengidap diabetes melitus tipe 2 (*Type 2 Diabetes Mellitus*) yang ditandai dengan resistensi insulin yang berakibat penurunan sekresi insulin karena berkurangnya fungsi sel beta pankreas².

Di Indonesia, terdapat 5,6 juta penderita diabetes untuk usia diatas 20 tahun³, dan akan meningkat menjadi 8,2 juta pada tahun 2020⁴. Hal ini perlu menjadi perhatian serius, baik oleh pemerintah Indonesia (Dalam Hal ini Kementrian Kesehatan) maupun segenap tenaga kesehatan di Indonesia. Menurut International Diabetic Federation (IDF), total biaya untuk pengobatan penderita DM Indonesia sebesar \$974 juta/tahun³. Apabila tidak dilakukan pencegahan untuk mengatasi Diabetes Melitus beserta komplikasinya, biaya yang harus dikeluarkan oleh negara untuk pengobatan Diabetes Melitus akan terus meningkat.

Sekitar 65% penderita DM meninggal dunia akibat penyakit jantung koroner (PJK)⁵. Selain PJK, penderita Diabetes Melitus tipe 2 juga berisiko terkena komplikasi kronis gangguan pembuluh darah seperti retinopati, nefropati, ulkus kaki diabetik, dan juga stroke akibat penyempitan dan pengerasan pembuluh darah yang dikenal sebagai aterosklerosis. Proses inisiasi aterosklerosis dimulai dengan disfungsi endotel. Jejas endotel mengaktifkan proses inflamasi, migrasi, dan proliferasi sel. Kerusakan jaringan tersebut

kemudian digantikan dengan perbaikan sehingga menyebabkan pertumbuhan plak⁶. Plak aterosklerosis dapat terus tumbuh dan mempersempit pembuluh darah. Selain dapat menyebabkan penyempitan (stenosis) pembuluh darah, plak juga dapat ruptur dan menyebabkan trombus atau emboli⁷.

Metformin, adalah obat hipoglikemik yang umum untuk penderita Diabetes melitus tipe 2. Tetapi, 20% penderita mengalami gangguan saluran cerna sebagai efek metformin. Selama pemberian metformin jangka panjang, penyerapan vitamin B12 terganggu. Vitamin B12 dibutuhkan tubuh untuk membentuk DNA dan sel darah merah serta menjaga kesehatan saraf. Metformin tidak dianjurkan pada penderita dengan penyakit ginjal, alkoholisme, penyakit hati, atau kondisi yang mempermudah anoksia jaringan (misal: Disfungsi jantung paru kronik)^{8,9}.

Pada penelitian yang dilakukan Oleh Han serta penelitian Hosseini, dengan dosis dan penggunaan yang tepat, nikotin dapat menghambat inflamasi serta meningkatkan kadar insulin plasma sehingga berpotensi digunakan sebagai terapi aterosklerosis pada Diabetes Melitus tipe 2^{10, 11}. Nikotin dapat dengan mudah didapatkan dari tanaman tembakau Indonesia dan bahkan dijadikan komoditas ekspor karena kualitas daunnya yang baik. Pada tahun 2010, terdapat sekitar 33,915.5 ton limbah tanaman tembakau atau sekitar 94.22 ton limbah/hari¹². Dari data diatas, Indonesia memiliki sumber nikotin yang melimpah. Nikotin dalam tanaman tembakau memiliki potensi yang besar sebagai terapi aterosklerosis pada penderita Diabetes Melitus tipe 2 dengan menghambat inflamasi

yang berlebihan, menurunkan kadar gula dalam darah, serta menghambat ROS.

Sejauh ini belum ada dasar yang kuat dan bukti ilmiah yang diketahui mengenai potensi ekstrak *Tobacco nicotinia* dalam mencegah *Diabetic Vascular Disease* pada tikus Model Diabetes Melitus tipe 2. Oleh karena itu, peneliti ingin mengetahui potensi pemberian ekstrak *Tobacco nicotinia* dalam mencegah *Diabetic Vascular Disease* pada tikus model Diabetes Melitus tipe 2. Pada penelitian ini parameter yang digunakan adalah parameter morfologi pembuluh darah, yaitu morfologi ketebalan Aorta Abdominalis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain eksperimen murni di laboratorium secara *in vivo* dengan *randomized post test only controlled group design* menggunakan hewan coba berupa Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan berusia 6-7 minggu. Kelompok penelitian berjumlah 5 (lima) yang dibagi secara acak, yakni kelompok kontrol negatif (tikus sehat tanpa dimanipulasi), kelompok kontrol positif (tikus diinduksi diabetes melitus tipe 2, tanpa pemberian ekstrak *Tobacco nicotinia*), kelompok perlakuan 1, 2, dan 3 yaitu kelompok tikus yang diinduksi Diabetes melitus tipe 2 dan mendapat terapi ekstrak *Tobacco nicotinia* dosis 90, 180, dan 270 mg/kgBB.

Tikus diaklimatisasi selama 7 hari di dalam laboratorium dengan tujuan agar mencit dapat beradaptasi dalam kondisi penelitian. Selama penelitian berlangsung, makanan dan minuman diberikan satu kali sehari. Sekam diganti setiap 2 hari sekali dan kandang dicuci setiap 1 minggu sekali.

Induksi Diabetes melitus tipe 2 dilakukan dengan dengan diberikan diet

chow standart pada kelompok kontrol negatif, sedangkan pada kelompok kontrol positif dan kelompok-kelompok perlakuan diberikan pakan kaya lemak dengan komposisi pakan (80%), lemak babi (15%) dan kuning telur bebek (5%). Jumlah konsumsi makanan harian maksimum sebanyak 25 gr/tikus/hari. Pemberian diet tinggi lemak dilakukan selama 14 hari. Kemudian tikus dipuaskan selama 16 jam. Kemudian diinjeksi dengan STZ (Streptozotocin) *low dose* 30 mg/kgBB intraperitoneal. Setelah 3 hari pasca induksi STZ dilakukan pemeriksaan gula darah setelah dipuaskan selama 6 jam. Bila kadar gula darah mencapai >250 mg/dl menggunakan glukometer dikategorikan hiperglikemia.

Berikut ini adalah metode pembuatan ekstrak *Tobacco nicotinia*: Tembakau yang segar dipotong tipis-tipis dan digiling. 120 gr bahan baku dilarutkan dengan aquades dalam labu leher tiga. Setelah itu dinginkan dan maserasi dengan metanol selama satu hari. Saring bahan baku yang telah dimaserasi menggunakan kertas saring whatman. Ambil filtrat kemudian masukkan ke beaker glass. Filtrat diuapkan (dipanaskan) diatas magnetic stirer dengan kecepatan agitator sedang hingga tercapai $\frac{3}{4}$ volume mula-mula. Ekstrak metanol yang didapatkan dari penguapan filtrat dicampur dengan aquadest dan n-hexane didalam corong pemisah dengan perbandingan 2:1:2. Kocok ketiga campuran tersebut selama 10 menit hingga terbentuk dua lapisan tidak saling larut (*immiscible*) yaitu lapisan n-hexane dan lapisan campuran metanol air. Ekstrak metanol diasamkan dengan asam sitrat 0,2 N sampai pH yang ditentukan. Ekstrak metanol yang telah diasamkan ditambahkan tawas dengan volume yang sama dengan ekstrak metanol. Ekstrak

metanol yang telah ditambahkan akan membentuk garam alkaloid. Garam alkaloid yang terbentuk kemudian dibasakan dengan NaHCO_3 hingga pH yang ditentukan, sehingga didapatkan ekstrak alkaloid yang kemudian disaring dengan pompa vacuum untuk mendapatkan kristal nikotin.

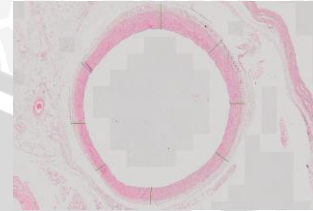
Pembedahan dilakukan dengan memberikan anestesi per inhalasi menggunakan kloroform terlebih dahulu. Kemudian diambil sampel aorta abdominalis dan diperiksa di laboratorium patologi anatomi. Dilakukan pewarnaan menggunakan hematoksin eosin. Hasil preparat di scan dan diukur menggunakan dibawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x objektif.

Pengukuran ketebalan aorta menggunakan metode sebagai berikut: Slide preparat organ Aorta abdominalis yang telah selesai dibuat dengan menggunakan metode paraffin dan di cat HE, diamati dan dilakukan *Scan* slide preparat dengan menggunakan *Dot Slide Microscope Olympus Digital Camera*. Pengukuran Ketebalan Aorta abdominalis dilakukan pada hasil *scan* penampang melintang slide preparat organ Aorta abdominalis dengan menggunakan *Dot Slide Olympus Digital Camera*.

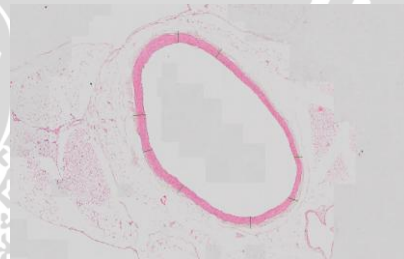
Pengukuran ketebalan Aorta abdominalis dilakukan dengan cara mengukur ketebalan penampang lintang aorta, dari tunika intima sampaitunika adventitia pada 8 zona (jam 12.00, 13.30, 15.00, 16.30, 18.00, 19.30, 21.00, dan 22.30) secara membujur¹³.

Menghitung rata-rata ketebalan dinding penampang lintang Aorta abdominalis, dari tunika adventitia pada ke-8 zona tersebut.

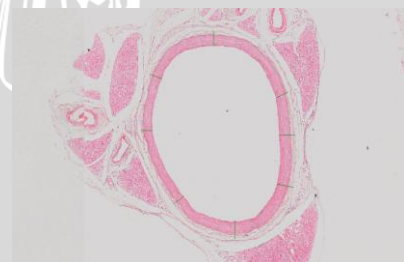
HASIL PENELITIAN



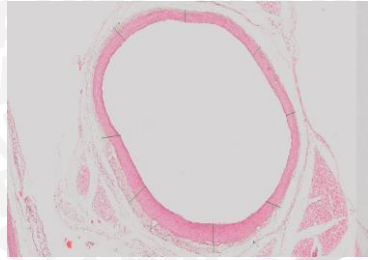
Gambar 1. Gambaran Histopatologi Organ Aorta abdominalis *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Negatif dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) menggunakan mikroskop cahaya. (Perbesaran 40x Mikroskop Cahaya).



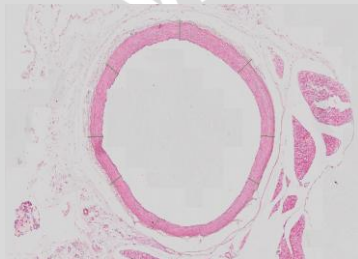
Gambar 2. Gambaran Histopatologi Organ Aorta abdominalis *Rattus norvegicus* Kelompok Kontrol Positif dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) menggunakan mikroskop cahaya. (Perbesaran 40x Mikroskop Cahaya).



Gambar 3. Gambaran Histopatologi Organ Aorta abdominalis *Rattus norvegicus* Kelompok Perlakuan I dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) menggunakan mikroskop cahaya. (Perbesaran 40x Mikroskop Cahaya).



Gambar 4. Gambaran Histopatologi Organ Aorta abdominalis Rattus norvegicus Kelompok Perlakuan II dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) menggunakan mikroskop cahaya. (Perbesaran 40x Mikroskop Cahaya).

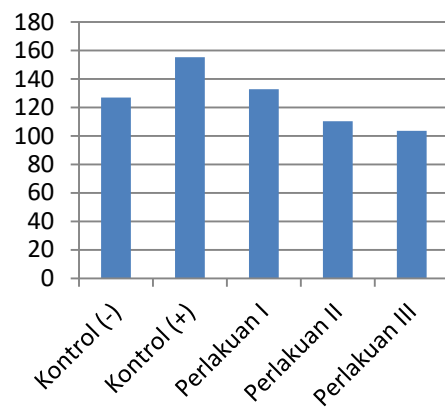


Gambar 5. Gambaran Histopatologi Organ Aorta abdominalis Rattus norvegicus Kelompok Perlakuan III dengan pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE) menggunakan mikroskop cahaya. (Perbesaran 40x Mikroskop Cahaya).

Berturut-turut Gambar 1 hingga Gambar 5 merupakan gambaran histopatologi Organ Aorta abdominalis *Rattus norvegicus* kelompok kontrol negatif, kontrol positif dan kelompok perlakuan I, II, dan III. Tampak sitoplasma dari sel-sel penyusun organ Aorta abdominalis tercatat merah dengan pengecatan Hematoxylin Eosin. Pada tunika intima, lapisan endotel tampak intak dan berjumlah selapis. Antara lapisan Endotel dan subendotel tidak tampak celah yang menandakan tidak adanya deposit lipid pada lapisan sub endotel. Pada tunika media terlihat serabut otot polos yang berjumlah lebih dari 5 lapis, terlihat beberapa sel yang terpulas pucat yang

dapat dicurigai sebagai deposit lipid. Pada sekitar vasa vasorum yang terdapat di lapisan adventisia tidak terlihat sel-sel radang yang berarti tidak terjadi inflamasi pada organ Aorta abdominalis tikus ini. Lumen dari Aorta abdominalis tikus ini relatif normal yang ditandai dengan relatif tidak terdapat perbedaan antara diameter vertikal dan horizontal dari lumen.

Rerata Ketebalan Aorta per Kelompok



Gambar 6. Rerata Ketebalan Aorta abdominalis Rattus norvegicus per kelompok perlakuan.

Dari hasil uji analisis menggunakan uji One-Way ANOVA didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.052 ($p > 0.05$). Hal ini berarti tidak terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok percobaan hewan coba. Dari hasil Uji *Post Hoc* LSD didapatkan perbedaan yang bermakna antara kelompok Perlakuan II dan III jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Dari Uji Regresi Linier untuk membuktikan apakah ada hubungan antara pemberian dosis Ekstrak *Tobacco nicotina* dengan tingkat ketebalan aorta abdominalis tikus wistar (*Rattus norvegicus*) didapatkan

hasil hubungan yang lemah yaitu 43.2% (R Square 0.432).

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan membuktikan potensi ekstrak *Tobacco nicotinia* sebagai metode pengobatan yang efektif pada *Diabetic Vascular Disease*. Secara khusus, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Tobacco nicotinia* terhadap level ketebalan Aorta abdominalis tikus wistar model Diabete melitus tipe 2.

Induksi Diabetes melitus tipe 2 dilakukan dengan pemberian diet tinggi lemak/*High Fatty Diet* selama 2 minggu, hal ini untuk memicu resistensi insulin. Setelah 2 minggu, tikus di injeksi Streptozotisin dosis rendah (35 mg/kg) intreperitonal dengan tujuan untuk merusak sebagian sel beta pankreas sehingga tikus mengalami defisiensi insulin¹⁴.

Ekstrak nikotin yang digunakan berasal dari daun *Tobacco nicotinia* yang diekstrak dengan metode ekstraksi etanol. Administrasi Ekstrak *Tobacco nicotinia* dilakukan secara oral.

Dari hasil analisa statistik uji beda Anova, didapatkan bahwa tidak terdapat perbedaan tingkat ketebalan Aorta abdominalis yang signifikan secara keseluruhan lima kelompok perlakuan ($p=0.052$). Dari *hasil uji Post Hoc* LSD, didapatkan perbedaan tingkat ketebalan Aorta abdominalis antara kelompok kontrol positif dengan kelompok P2 ($p= 0.016$) dan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok P3 ($p=0.007$), dimana pada tiap kelompok perlakuan (P2 dan P3) tingkat ketebalan Aorta abdominalis lebih rendah dibanding kontrol positif. Dari analisa deskriptif pada hasil *scan* preparat histopatologi organ Aorta abdominalis hewan coba, ditemukan belum adanya inflamasi

yang bermakna ditandai tidak ditemukannya sel-sel pro-inflammatory disekitar vasa vasorum pada tunika adventisia.

Hasil analisa uji Anova/Uji beda menunjukkan secara keseluruhan tidak terdapat beda ketebalan Aorta abdominalis yang signifikan ($p=0.052$) pada 5 kelompok hewan coba, serta hasil analisa deskriptif hasil *scan* preparat histopatologi pada Gambar 1 hingga Gambar 5, menunjukkan belum perdatap inflamasi yang bermakna pada organ Aorta abdominalis ditandai dengan tidak adanya sel-sel inflamasi disekitar vasa vasorum yang terdapat pada tunika adventisia serta belum terlihat adanya sel busa baik pada tunika intima maupun tunika media. Inflamasi dan aterosklerosis belum sepenuhnya terjadi bisa dikarenakan pemberian diet tinggi lemak/*High Fatty Diet* pada tikus kelompok kontrol positif dan kelompok-kelompok perlakuan diberikan dengan durasi yang kurang lama, yaitu hanya selama 2 minggu. Menurut hasil penelitian Murwani Sri, untuk membuat model tikus menjadi aterosklerosis, dibutuhkan pemberian diet tinggi lemak/*High Fatty Diet* selama sekurang-kurangnya 8 minggu¹⁵.

Di sisi lain, pada hasil analisa statistic Post Hoc LSD menunjukkan adanya perbedaan ketebalan Aorta abdominalis yang signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok perlakuan II (P2) dan Perlakuan III (P3), dimana tingkat ketebalan Aorta abdominalis pada kelompok P2 dan P3 lebih rendah dibandingkan kelompok kontrol positif. Hal ini bisa terjadi karena nikotin yang terdapat pada ekstrak *Tobacco nicotinia* mampu menurunkan kadar gula darah hewan coba dengan cara menstimulasi sel beta pankreas untuk mensekresi insulin lebih banyak sehingga glukosa dalam darah dapat dipakai oleh

jaringan tubuh seperti jaringan adiposa maupun jaringan otot. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Hosseini (2011) yang menghasilkan kesimpulan bahwa induksi insulin pada tikus wistar jantan mampu meningkatkan kadar insulin pada serum darah ¹¹. Pada penelitian ini rata-rata kadar gula darah kelompok yang di induksi ekstrak Tobacco nicotinia menurun. Turunnya kadar gula darah pada tikus menghindarkan tikus pada keadaan hiperglikemia yang kronis sehingga menurunkan resiko terjadinya komplikasi Diabetic Vascular Disease berupa aterosklerosis. Hal ini sejalan dengan penjelasan Doron dan Elliot (2002) bahwa mekanisme molekuler utama terjadinya aterosklerosis pada penyakit Diabetes mellitus tipe 2 adalah adanya keadaan hiperglikemia yang kronis ¹⁶.

Pada uji Regresi Linier menghasilkan adanya hubungan yang lemah antara dosis Ekstrak Tobacco nicotinia dengan tingkat ketebalan Aorta abdominalis ($p=0.02$, $r= -0.432$). Hubungan antara dosis Ekstrak Tobacco nicotinia menghasilkan nilai kurang dari nol, yang berarti semakin besar dosis Ekstrak Tobacco nicotinia semakin kecil tingkat ketebalan Aorta abdominalis. Lemahnya hubungan antara dosis Ekstrak Tobacco nicotinia dengan tingkat ketebalan Aorta abdominalis bisa dijelaskan karena efek nikotin yang terdapat pada Ekstrak Tobacco nicotinia tidak secara langsung mempengaruhi tingkat ketebalan Aorta abdominalis namun lebih kepada menghindarkan tikus kelompok perlakuan dari keadaan hiperglikemia kronis sehingga komplikasi kardiovaskular dapat dicegah yang digambarkan dengan tingkat ketebalan aorta yang cenderung menurun. Lemahnya hubungan antara dosis Ekstrak Tobacco nicotinia dengan tingkat ketebalan Aorta abdominalis juga bisa berarti bahwa ada

faktor lain yang mempengaruhi tingkat ketebalan Aorta abdominalis diluar perlakuan yang diberikan penelitian ini pada hewan coba. Pada penelitian ini belum dapat diketahui dosis yang optimal karena dalam penelitian ini, seluruh dosis yang diberikan masih terus menunjukkan korelasi berbanding terbalik, belum ada dosis yang memberikan hasil yang sama dengan dosis lainnya atau justru dosis yang meningkatkan ketebalan aorta. Sementara efek toksik juga belum diteliti dalam penelitian ini.

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data yang telah dilakukan menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan tingkat ketebalan Aorta abdominalis yang signifikan secara keseluruhan, namun terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok perlakuan II dan kelompok perlakuan III jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Pemberian ekstrak Tobacco nicotinia dapat menurunkan kadar gula darah hewan coba, sehingga mampu mencegah terjadinya inflamasi pada Aorta abdominalis yang merupakan proses awal aterosklerosis. akan tetapi dosis paling efektif belum bisa ditentukan karena perbedaan antara 3 kelompok perlakuan yang mendapat terapi belum bisa diamati dengan jelas walaupun tingkat ketebalan Aorta abdominalis tampak lebih berkurang sesuai dengan peningkatan dosis pada kelompok perlakuan 2 dan perlakuan 3.

Penelitian ini masih memiliki keterbatasan di antaranya belum diketahui secara pasti dosis pemberian ekstrak Tobacco nicotinia yang paling efektif karena perbedaan yang ada tidak begitu signifikan antar kelompok perlakuan. Serta dalam pengambilan sampel pembuluh darah, lebih diprioritaskan pada pembuluh darah yang mendapat stress lebih besar seperti pada percabangan/*bifurcation* ataupun pembuluh

darah perifer seperti pembuluh darah ekor, karena apabila terjadi inflamasi dan disfungsi endotel secara alami tempat-tempat ini lebih akan mengalami terlebih dahulu. Apabila memang dikemudian hari Ekstrak *Tobacco nicotinia* terbukti secara *in vivo* dapat mencegah *Diabetic Vascular Disease* pada tikus wistar jantan model diabetes mellitus tipe 2, Uji lanjutan tentang farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas, efek samping, dan efek Ekstrak *Tobacco nicotinia* pada hewan coba dan uji klinis pada manusia juga perlu dilakukan, agar nantinya ekstrak *Tobacco nicotinia* dapat digunakan dalam pengobatan pencegahan *Diabetic Vascular Disease*, sehingga dapat mengurangi angka morbiditas dan mortalitas akibat Diabetes mellitus tipe 2.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan analisa statistik yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa pemberian nikotin dari ekstrak *Tobacco nicotinia* pada tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan model Diabetes Mellitus tipe 2 tidak dapat menurunkan ketebalan Aorta Abdominalis.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang kadar atau dosis ekstrak *Tobacco nicotinia* yang optimal untuk membuktikan potensi ekstrak *Tobacco nicotinia* mencegah *Diabetic Vascular Disease*.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang efek samping dari pemberian ekstrak *Tobacco nicotinia*.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang kadar toksik dari ekstrak *Tobacco nicotinia*.
4. Perlu penelitian serupa untuk membuktikan efek anti-inflamasi ekstrak *Tobacco nicotinia* dengan induksi diet

tinggi lemak lebih lama untuk membuat model tikus Diabetes melitus tipe 2 dengan komplikasi *Diabetic Vascular Disease*.

5. Perlu penelitian serupa untuk membuktikan efek anti-inflamasi ekstrak *Tobacco nicotinia* dengan penggunaan pembuluh darah yang mendapatkan tingkat *stress* lebih tinggi seperti pada tempat-tempat percabangan/bifurcation.
6. Pengukuran ketebalan aorta abdominalis tikus menggunakan *Dot Slide Microscope Olympus Camera* seperti pada penelitian ini hendaknya dilakukan dengan menarik garis tegak lurus.

DAFTAR PUSTAKA

1. PERKENI, 2011. Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus tipe 2 di Indonesia. (diunduh 14 Januari 2013). Tersedia dari: <http://www.perkeni.org/download/Konsensus%20DM%202011.zip>.
2. Suyono S, 2006. Diabetes melitus di Indonesia. Dalam : Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam, Edisi 4, Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, Jakarta, 1874-8.
3. American Diabetic Association. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, *Diabetes Care*, 1 Jan 2004, vol. 27 hal. 5-10.
4. Tendra H., 2008. Segala Sesuatu Yang Harus Anda Ketahui Tentang Diabetes, PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, p.23-25.
5. American Heart Disease Association. Heart Disease and Stroke Statistics-2012 Update, AHA, 125 p2-220.
6. Kumar V., Cotran R. S., Robbins S. L. Buku ajar patologi. 7nded , Vol. 1,

- Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, 2007 : 189-1.
7. Mason R.. 2004. *What is Beta glucan A Concise Guide to the Benefits and Uses of the Most Powerful Natural Immune Enhancer Known to Science*. 561 Shunpike, USA.
 8. Katzung, Bertram G., 2002. *Farmakologi Dasar & Klinik*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, P.261-264.
 9. Kohane DS, Tobin JR, Kohane IS., 1999. Endocrine, mineral, and metabolic disease. In Rogers MC, Helfaer M. A., (Eds), *Pediatric intensive care*, Edisi ke-3, Philadelphia, p.694.
 10. Han Y., Lau Y. Nicotine, An antiinflammation molecule. *Inflammation & Cell Signaling*, 2014, 1: 155.
 11. Hosseini E. The effect of nicotine on the serum level of insulin in adult male Wistar rats. *Journal of Cell and Animal Biology*, 2011, 5(10) : 215 - 218
 12. Fan X, Zhang Q, Li S, Lv Y, Su H, et al. Attenuation of CCl4-Induced Hepatic Fibrosis in Mice by Vaccinating against TGF- β 1. *PLoS ONE*. 2013; 8(12): e82190.
 13. Espino, Rene. et al. *Tobacco Farming In The Asean Region*. Southeast Asia Tobacco Control Alliance, 2013.
 14. Tjarta A., M. Kanoko. 1997. Panduan pemeriksaan histopatologi. Makalah disajikan dalam Workshop multicenter study on etiology and clinicopathology of skin cancer. Jakarta.
 15. Kumar V., Abbas A. K., Aster J. C. 2013. *Robbins Basic Pathology, 9th Ed*. Canada: Elsevier.
 16. Murwani Sri, Mulyohadi Ali, Ketut Muliarta. Diet Aterogenik Pada Tikus Putih (Rattus norvegicus strain Wistar) Sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 2013, 22(1): 6-9.
 17. Doron Aronson and Elliot Rayfield, How hyperglycemia promotes atherosclerosis : moluculer mechanisms. *Cardiovascular Diabetology* 1:1, 2002: 1.
 18. Anshori M dan Sri Iswati. 2009 . *Buku Ajar Metodologi Penelitian Kuantitatif*, Airlangga University Press, Surabaya.
 19. Ayala A., Muñoz MF., Argüelles S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2 Nonenal. *Hindawi. Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 4 : 16-18.
 20. Bailey CJ. Biguanide in the treatment of type 2 diabetes. *Current Opinion in Endocrinology and Diabetes*, 1995, 23: 48-54.
 21. Benowitz NL. Pharmacology of Nicotine: Addiction and Therapeutics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1996, 36 (1): 597-613.
 22. Bennett P.H., 2000. Epidemiology of Type 2 Diabetes Millitus. In LeRoith (Eds), *Diabetes Millitus a Fundamental and Clinical Text*, Philadelphia, p.544-548.
 23. Bergman R. N. Toward physiological understanding of glucose tolerance: Minimal-model approach. *Diabetes*, 1989, 38: 1512–1527.

Pembimbing,

Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM., Sp.MK (K).
NIP. 194807061980021001

