

**PENGARUH FREKUENSI PEMBERIAN JUS *Sargassum* sp. TERHADAP
PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH DAN EKSPRESI IL-6 PADA
AORTA DAN GINJAL TIKUS DIABETES MELITUS TIPE 2**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Oleh:
SLAMET
NIM. 135080301111166



**TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

**PENGARUH FREKUENSI PEMBERIAN JUS *Sargassum* sp.
TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH DAN EKSPRESI
IL-6 PADA AORTA DAN GINJAL TIKUS DIABETES MELITUS TIPE 2**

**SKRIPSI
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERIKANAN**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Meraih Gelar Sarjana Perikanan
Di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan
Universitas Brawijaya

Oleh:
SLAMET
NIM. 135080301111166



**TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**MALANG
2019**

SKRIPSI

**PENGARUH FREKUENSI PEMBERIAN JUS *Sargassum* sp.
TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH DAN EKSPRESI
IL-6 PADA AORTA DAN GINJAL TIKUS DIABETES MELITUS TIPE 2**

Oleh:
SLAMET
NIM. 135080301111166

Menyetujui,
Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP
NIP. 19680919 200501 1 001
Tanggal:

Dr. Ir. Anies Chamidah, MP
NIP. 19640912 199002 2 001
Tanggal:

Mengetahui,
Ketua Jurusan
Manajemen Sumberdaya Perairan

Rahmi Nurdiani, S.Pi., M.AppSc, PhD
NIP. 19761116 200112 2 001
Tanggal:

PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi dengan judul "Pengaruh Frekuensi Pemberian Jus *Sargassum sp.* Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Ekspresi IL-6 Aorta dan Ginjal Tikus Diabetes Melitus Tipe 2" yang saya tulis ini benar merupakan hasil karya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, November 2019
Mahasiswa

Slamet
NIM. 135080301111166

RINGKASAN

Slamet. NIM 135080301111166. Skripsi. Pengaruh Frekuensi Pemberian Jus *Sargassum* sp. Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Ekspresi IL-6 Aorta dan Ginjal Tikus Diabetes Melitus Tipe 2. Di bawah bimbingan **Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP.** Dan **Dr. Ir. Anies Chamidah, MP.**

Sargassum sp. merupakan salah satu jenis rumput laut yang tergolong dalam divisi *Phaeophyceae* atau ganggang cokelat. *Sargassum* sp. memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan nutrasetikal, karena mengandung senyawa aktif dengan berbagai bioaktivitas. Senyawa bioaktif yang terdapat pada *Sargassum* sp. salah satunya adalah polifenol yang bermanfaat bagi tubuh manusia.

Polifenol di dunia kesehatan banyak digunakan untuk mencegah dan mengobati penyakit diabetes melitus tipe 2. Diabetes melitus tipe 2 adalah penyakit gangguan metabolisme yang ditandai oleh kenaikan kadar glukosa darah atau hiperglikemia. Gejala yang ditimbulkan oleh diabetes melitus adalah penurunan berat badan, polifagia (sering merasa lapar), poliuria (sering buang air kecil), dan polidipsia (sering merasa haus).

Hiperglikemia yang tidak terkontrol pada diabetes melitus tipe 2 dapat menimbulkan stres oksidatif untuk membentuk radikal bebas dan menghasilkan *Advanced Glycation End-products* (AGE) yang berlebih. AGE pada penyakit diabetes melitus dapat mengubah struktur sel, proses ini diperankan oleh AGE intraseluler dan interaksinya dengan ELISA IL-6. Pengikatan AGE ke ELISA IL-6, mengaktifkan sejumlah jalur yang terlibat dalam komplikasi penyakit akibat diabetes melitus, misalnya pada aorta dan ginjal yang dapat menyebabkan aterosklerosis dan retinopati diabetik.

Peranan polifenol pada perkembangan penyakit diabetes melitus dapat mempengaruhi aksi insulin dengan mengubah sifat fisik membran seluler seperti meningkatkan afinitas pengikatan reseptor insulin, meningkatkan serapan glukosa oleh sel melalui transporter glukosa dan menghambat pembentukan AGE. Di sisi lain polifenol memiliki kemampuan berinteraksi dengan reseptor yang rendah, karena mudah larut dalam air. Afinitas polifenol terhadap reseptor tergantung pada pemberian frekuensi polifenol itu sendiri, semakin meningkat pemberian frekuensi maka semakin tinggi kemampuan afinitasnya. Oleh karena itu dibutuhkan peningkatan frekuensi pemberian polifenol dalam jus *Sargassum* sp. agar memberikan manfaat terapi pada tikus diabetes melitus tipe 2.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh frekuensi pemberian jus *Sargassum* sp. yang berbeda terhadap penurunan kadar glukosa darah dan ekspresi IL-6 orta dan ginjal tikus diabetes melitus tipe 2.

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Fisiologi, Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang, Laboratorium Keamanan Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Laboratorium FAAL dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Februari hingga Juli 2017.

Rancangan percobaan yang digunakan untuk penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) terdiri dari 7 perlakuan dengan 5 kali ulangan. Parameter uji yang dilakukan pada penelitian ini meliputi titik optimal florotanin dan fitokimia jus *Sargassum* sp., berat badan, konsumsi makanan, volume urin, konsumsi air minum, kadar glukosa darah, kadar insulin, tes toleransi glukosa oral (TTGO), ekspresi ELISA IL-6 aorta, dan ekspresi ELISA IL-6 ginjal.

Uji fitokimia jus *Sargassum* sp. diperoleh kandungan senyawa polifenol, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid dengan hasil positif, sedangkan kandungan senyawa saponin diperoleh hasil positif lemah. Pada perlakuan dengan frekuensi pemberian jus *Sargassum* sp. yang berbeda terhadap tikus diabetes melitus tipe 2 memberikan pengaruh yang sangat berbeda nyata. Frekuensi pemberian jus *Sargassum* sp. 3 kali sehari pada tikus diabetes melitus tipe 2 merupakan frekuensi terbaik dalam penurunan glukosa darah dan penurunan ekspresi ELISA IL-6 aorta dan ginjal.



UCAPAN TERIMAKASIH

Segala puji dan ucapan syukur dipanjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan

Skripsi dengan judul “Pengaruh Frekuensi Pemberian Jus *Sargassum* sp.

Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Ekspresi IL-6 Aorta dan Ginjal

Tikus Diabetes Melitus Tipe 2”.

Atas terselesaikan Skripsi ini penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Allah SWT atas segala Ridho-Nya dan kemudahan yang diberikan.
2. Orang tua terkasih, tersayang, dan tercinta Ibu Tarmuni dan Ayah Raswad yang telah memberikan doa, kasih sayang, dukungan dalam hal moral, masukan dan materi selama penulis menempuh pendidikan hingga terselesainya skripsi.
3. Dr. Ir. Muhamad Firdaus, MP. selaku dosen pembimbing pertama dan Dr. Ir. Anies Chamidah, MP. selaku dosen pembimbing kedua yang telah banyak memberikan pengarahan serta bimbingan sejak penyusunan usulan sampai dengan selesainya penyusunan skripsi.
4. Teman-teman tim bimbingan dan penelitian : Ayub, Ari, Yefta, Dodik, Yulis, Mas Tezar, Samuel, Rivai, Laely, Devi, Gita, Aqila, Windy, Tika, Nunik, Wulan, Titis, Egin, Lailin, Adi, Slamet, Irfan, Restu, Ajeng, dan Indri yang telah bersama-sama berjuang, saling mendukung, dan saling membantu selama penelitian hingga terselesainya laporan skripsi.
5. Bapak Mike, ibu raras dan Opung moses yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan kepada saya selama menjalani pendidikan perguruan tinggi.

6. Keluarga besar Mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan angkatan tahun 2013 yang telah memberikan dukungan, doa, semangat perjuangan selama masa studi.

Malang, November 2019

Mahasiswa

Slamet
NIM. 135080301111166



KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyajikan Laporan Skripsi yang berjudul Pengaruh Frekuensi Pemberian Jus *Sargassum sp.* Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah dan Ekspresi IL-6 Aorta dan Ginjal Tikus Diabetes Melitus Tipe 2. Di dalam tulisan ini, disajikan pokok-pokok bahasan yang meliputi pendahuluan, tinjauan pustaka, metode penelitian, hasil dan pembahasan, dan penutup.

Sangat disadari bahwa dengan kekurangan dan keterbatasan yang dimiliki penulis, walaupun telah dikerahkan segala kemampuan untuk lebih teliti, tetapi masih dirasakan banyak kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan saran yang membangun agar Laporan Skripsi ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi pembaca.

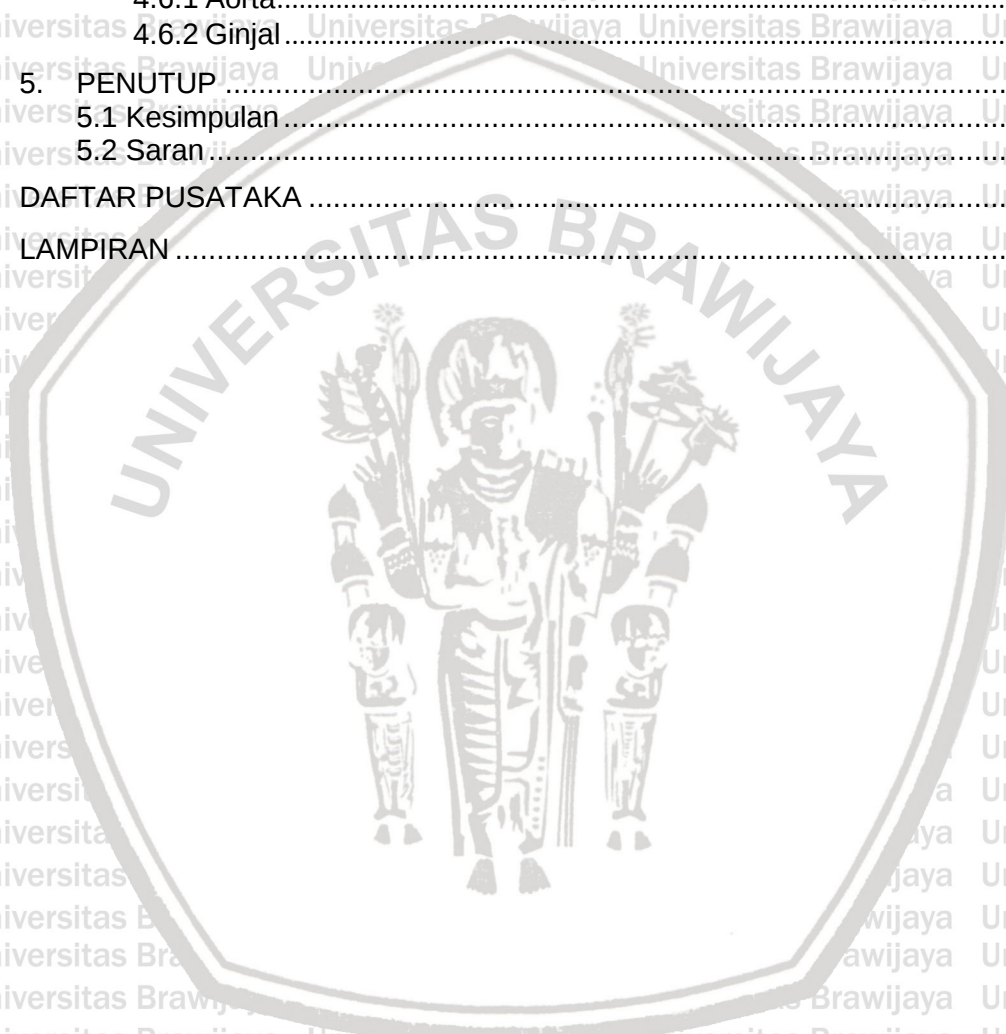
Malang, November 2019
Mahasiswa

Slamet
NIM. 135080301111166

DAFTAR ISI

Isi	Halaman
UCAPAN TERIMAKASIH.....	iv
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Hipotesis.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan.....	5
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Diabetes Melitus	6
2.1.1Klasifikasi	7
2.2 Interleukin-6 (IL-6)	8
2.3 <i>Sargassum</i> sp.....	10
2.3.1Senyawa Bioaktif.....	12
2.4 Nutrasetikal	17
2.5 Teknologi <i>Slow Juicer</i>	18
2.5.1Senyawa Bioaktif Hasil <i>Slow Juicer</i>	19
2.6 Frekuensi Pemberian Jus.....	19
3. MATERI DAN METODE PENELITIAN.....	22
3.1 Materi Penelitian	22
3.1.1 Alat	22
3.1.2 Bahan.....	22
3.2 Metode Penelitian	23
3.3 Rancangan Penelitian	23
3.4 Penelitian Pendahuluan	24
3.4.1 Pembuatan Jus <i>Sargassum</i> sp.....	24
3.4.2 Pembuatan Larutan Standar Floriglucosinol	25
3.4.3 Penentuan Total Senyawa Floriglucosinol pada Jus <i>Sargassum</i> sp....	25
3.4.4 Uji Fitokimia.....	26
3.5 Penelitian Utama.....	28
3.5.1 Pemodelan dan Perlakuan Hewan Coba.....	28
3.5.2 Analisis Glukosa Darah.....	30
3.5.3 Analisis Insulin Darah.....	31
3.5.4 Gejala Diabetes Melitus	32
3.5.5 Tes Toleransi Glukosa Oral (OGTT).....	33
3.5.6 Analisis Ekspresi IL-6.....	34
3.6 Analisis Data	35
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	36

4.1 Uji Fitokimia <i>Sargassum</i> sp.....	36
4.2 Gejala Diabetes Melitus	41
4.2.1 Berat Badan.....	41
4.2.2 Polifagia.....	45
4.2.3 Poliuria.....	48
4.2.4 Polidipsia.....	51
4.3 Kadar Glukosa Darah.....	55
4.4 Kadar Insulin.....	58
4.5 Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO)	61
4.6 Uji ELISA IL-6	64
4.6.1 Aorta.....	65
4.6.2 Ginjal.....	67
5. PENUTUP	69
5.1 Kesimpulan.....	69
5.2 Saran.....	69
DAFTAR PUSATAKA	70
LAMPIRAN	76

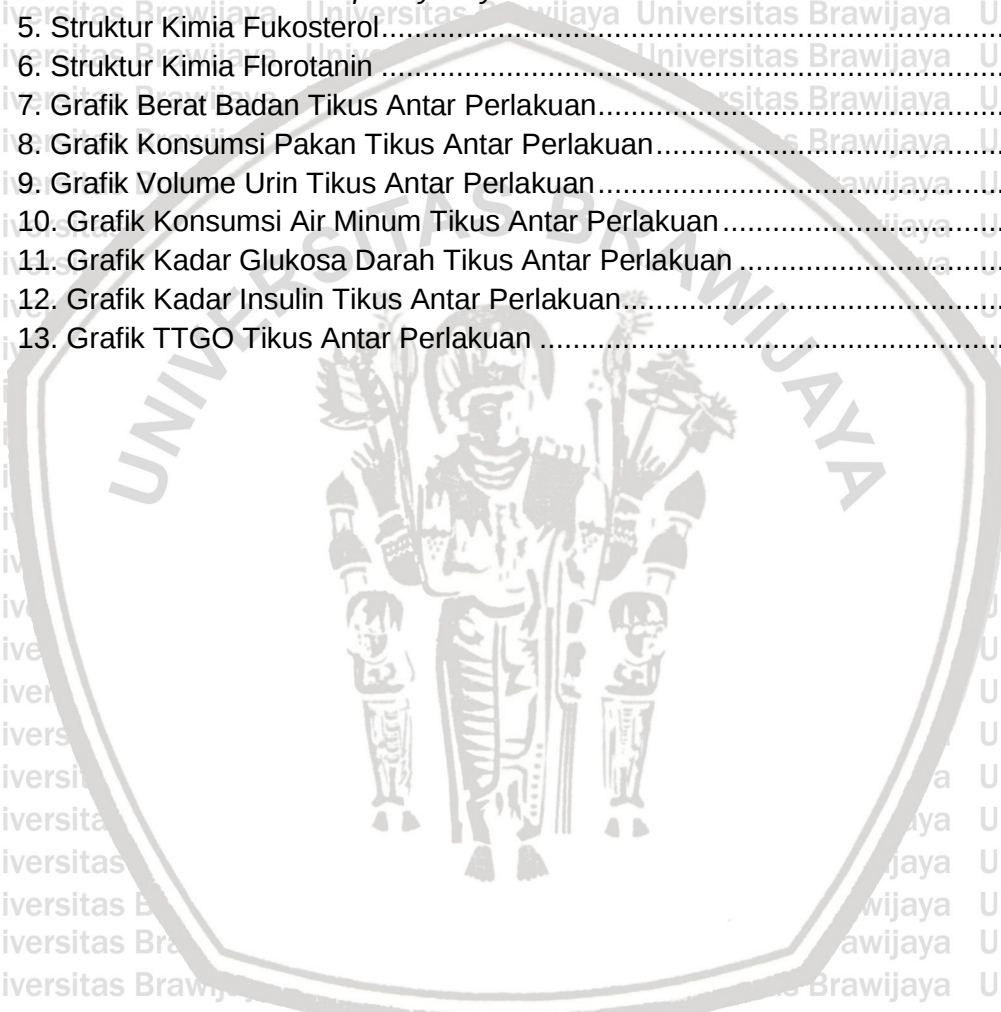


DAFTAR GAMBAR

Gambar

Halaman

1. <i>Sargassum</i> sp.....	11
2. Struktur Kimia Quersetin.....	14
3. Struktur Kimia Florigustinol.....	15
4. Struktur Kimia Alkaloid <i>phenylethylamine</i>	15
5. Struktur Kimia Fukosterol.....	16
6. Struktur Kimia Florotanin	17
7. Grafik Berat Badan Tikus Antar Perlakuan.....	42
8. Grafik Konsumsi Pakan Tikus Antar Perlakuan.....	45
9. Grafik Volume Urin Tikus Antar Perlakuan.....	49
10. Grafik Konsumsi Air Minum Tikus Antar Perlakuan.....	52
11. Grafik Kadar Glukosa Darah Tikus Antar Perlakuan	55
12. Grafik Kadar Insulin Tikus Antar Perlakuan.....	59
13. Grafik TTGO Tikus Antar Perlakuan	62



DAFTAR TABEL

Tabel

Halaman

1. Kriteria Diagnosis Diabetes Melitus.....	7
2. Klasifikasi Diabetes Melitus.....	7
3. Desain Rancangan Penelitian RAL.....	24
4. Hasil Uji Fitokimia <i>Sargassum</i> sp. Segar dan Jus.....	36



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

Halaman

1. Skema Penelitian.....	Error! Bookmark not defined.
2. Penelitian Pendahuluan Polifenol Pada <i>Sargassum Sp</i>	Error! Bookmark not defined.
3. Penelitian Pendahuluan Titik Kombinasi.....	Error! Bookmark not defined.
4. Pembuatan jus <i>Sargassum sp</i>	Error! Bookmark not defined.
5. Perhitungan Dosis Jus <i>Sargassum Sp</i> . Untuk Tikus Uji.....	Error! Bookmark not defined.
6. Cara Pembuatan Buffer Sitrat.....	Error! Bookmark not defined.
7. Cara Pembuatan STZ dan Metformin.....	Error! Bookmark not defined.
8. Cara Pembuatan Buffer Phospat	Error! Bookmark not defined.
9. Skema Kerja Preparasi Organ dan Uji Ekspresi IL-6	Error! Bookmark not defined.
10. Analisa Berat Badan	Error! Bookmark not defined.
11. Analisis Polifagia.....	Error! Bookmark not defined.
12. Analisis Poliuria.....	Error! Bookmark not defined.
13. Analisis Polidipsia.....	Error! Bookmark not defined.
14. Analisis Glukosa Darah Tikus Uji.....	Error! Bookmark not defined.
15. Data OGTT pada Tikus Uji.....	Error! Bookmark not defined.
16. Analisis Standar Insulin	Error! Bookmark not defined.
17. Analisis Ekspresi IL-6 Aorta.....	Error! Bookmark not defined.
18. Analisis Ekspresi IL-6 Ginjal	Error! Bookmark not defined.
19. Pembuatan Ekstrak Jus <i>Sargassum sp</i>	Error! Bookmark not defined.
20. Pemodelan dan Treatment Pada Tikus Uji.....	Error! Bookmark not defined.
21. Uji Ekspresi IL-6.....	115
22. Hasil Rendemen	118
23. Hasil Uji Fitokimia <i>Sargassum Sp</i> . segar dan jus.....	117

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) tipe 2 merupakan penyakit hiperglikemik akibat peningkatan kadar glukosa darah yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya (Julia et al., 2015). Pada penderita DM tipe ini terjadi hiperinsulinemia tetapi insulin tidak bisa membawa glukosa masuk ke dalam jaringan karena terjadi resistensi insulin yang merupakan turunya kemampuan insulin untuk merangsang pengambilan glukosa oleh jaringan perifer dan untuk menghambat produksi glukosa oleh hati. Oleh karena terjadinya resistensi insulin (reseptor insulin sudah tidak aktif karena dianggap kadarnya masih tinggi dalam darah) akan mengakibatkan defisiensi relatif insulin. Hal tersebut dapat mengakibatkan berkurangnya sekresi insulin pada adanya glukosa bersama bahan sekresi insulin lain sehingga sel beta pankreas akan mengalami desensitisasi terhadap adanya glukosa (Ndraha, 2014). Oleh karena itu DM 2 juga biasa disebut *insulin non-dependent diabetes mellitus* (Wild et al., 2004). Hiperglikemia dapat menyebabkan *stress* oksidatif dan mengakibatkan pembentukan radikal bebas yang berlebih diikuti dengan peningkatan kadar interleukin 6 (IL-6) sebagai salah satu bentuk dari radikal bebas (Zatalia dan Sanusi, 2013).

Nakamura et al. (2012) melaporkan bahwa kadar IL-6 dalam darah berkorelasi positif dengan kadar glukosa dalam darah. Oleh karena itu, kadar IL-6 dalam darah juga berkaitan erat dengan hiperglikemia. Hiperglikemia merupakan kondisi dimana kadar gula darah (glukosa) yang tinggi (Nugroho, 2006). Hiperglikemia kronis dapat menimbulkan kerusakan, gangguan fungsi pada beberapa organ tubuh, khususnya mata, saraf, ginjal, dan komplikasi

lain akibat gangguan mikro dan makrovaskular (Wulandari, 2010). Hiperglikemia terjadi akibat adanya gangguan pada insulin yang menyebabkan sel beta pankreas tidak mampu mencukupi kebutuhan untuk menstimulasi glukosa dalam sel darah atau disebut dengan resistensi insulin (Rees dan Alcolado, 2005).

Interleukin – 6 merupakan sitokin dengan fungsi yang bermacam-macam.

IL-6 adalah regulator kekebalan tubuh dan respon inflamasi (Satoru *et al.*, 2009).

IL-6 adalah sitokin yang disekresi dari jaringan tubuh ke dalam plasma darah, terutama pada fase infeksi akut (Besung *et al.*, 2016). Peningkatan kadar IL-6

dalam darah penderita DM berkaitan dengan proses inflamasi yang ditandai dengan peningkatan produksi sitokin proinflamasi melalui aktivitas *Toll-Like*

Receptors (TLRs) 2 dan 4 oleh hiperglikemia kronik yang menyebabkan destruksi sel beta pankreas dan disfungsi endokrin pankreas pada DM tipe 1 dan 2

(Ingaramo *et al.*, 2013). Selain itu sitokin mempunyai peran penting dalam penyakit ginjal. Penelitian menunjukkan bahwa peningkatan IL 6 dalam tubuh

penderita DM berpengaruh pada peningkatan permeabilitas membran basalis, sehingga menyebabkan proteinuria (Pudjiastuti, 2014). Interleukin – 6 merupakan

sitokin dengan fungsi yang bermacam-macam. IL-6 adalah regulator kekebalan tubuh dan respon inflamasi (Satoru *et al.*, 2009). Peningkatan kadar IL-6 dalam plasma darah dapat menyebabkan pelebaran pembuluh aorta (Akerman *et al.*, 2018).

Indonesia memiliki potensi yang besar terhadap sumber daya laut, salah satunya yaitu rumput laut. Jenis alga cokelat atau *Sargassum sp* merupakan

makroalga yang paling banyak tumbuh di Indonesia (Lestari, 2016). *Sargassum* sp. merupakan salah satu jenis rumput laut yang tergolong dalam divisi

Phaeophyceae atau ganggang cokelat (Alvarez *et al.*, 2007). *Sargassum sp.* memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan nutrasetikal, karena

Sargassum sp. mengandung senyawa aktif dengan berbagai bioaktivitas

(Kelman *et al.*, 2012). Hal ini mengacu bahwa nutraseutikal adalah sejenis makanan yang memiliki manfaat untuk kesehatan secara medis, termasuk pencegahan dan pengobatan penyakit. Istilah ini pekenalkan di akhir tahun 1980 oleh Stephen Defelice, M.D., pendiri dan ketua *Foundation For Innovation in Medicine* (Syamsudin, 2013). Adapun kandungan senyawa bioaktif yang terdapat di dalam *Sargassum* sp. antara lain polifenol, tanin, flavonoid, alkaloid, saponin dan steroid yang bermanfaat bagi kehidupan manusia (Firdaus *et al.*, 2012).

Terkait bagaimana cara mendapatkan senyawa polifenol dari tumbuh-tumbuhan, salah satunya adalah dengan cara ekstraksi *slow juicer* yang dilakukan untuk mengambil sari dalam bentuk cairan yang sudah terpisah dari ampasnya (Cempaka *et al.*, 2014). Teknologi *slow juicer* dirancang menggunakan *Low Speed Technology System*, yang artinya metode ini sedikit menghasilkan panas akibat gesekan antara bahan dan penggiling yang dirancang untuk memeras bahan agar mendapatkan ekstrak atau filtrat (HUROM, 2010).

Flavonoid polifenol merupakan senyawa seperti flavon, biasanya memiliki aktivitas anti oksidan dan kadang anti-inflamasi. Flavonoid berfungsi untuk menangkap radikal bebas dengan membentuk suatu radikal stabil yang bisa bereaksi dengan radikal flavonoid lain sehingga menghasilkan dua non-radikal.

Flavonoid bisa bertindak sebagai anti oksidan yang kuat dan *chelator* logam.

Flavonoid juga telah lama diketahui mengandung khasiat anti inflamasi, anti alergi, hepatoreaktif, anti trombosis, anti virus, dan anti karsinogenik (Syamsudin, 2013). Polifenol pada *Sargassum* sp. mampu menurunkan resistensi insulin dan meningkatkan sensitivitas insulin tikus diabetes melitus tipe 2 (Park *et al.*, 2015).

Aktivitas biologi senyawa bioaktif tergantung pada afinitas bioaktif tersebut terhadap reseptornya (Nograpy, 2005). Mengutip penelitian (Firdaus, 2011), pemberian ekstrak metanol *Sargassum* sp. dosis 450 mg/kgBB dapat

menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus hingga mencapai 196 mg/kgBB. Kim dan Park (2012) ketika meneliti kemampuan afinitas polifenol sebagai senyawa kompleks dengan dosis polifenol yang mampu diserap oleh reseptor dalam tubuh tikus adalah 5 mg/BB. Kim et al. (2016), meneliti bahwa polifenol terserap sekitar 5-10% dan diekskresikan sebanyak 90-95% melalui feses. (Motshakeri et al., 2013), menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2 yang diberikan terapi polifenol dari ekstrak *Sargassum* sp. dosis 300 mg/Kg BB selama 22 hari memperlihatkan penurunan, namun belum mendekati batas normal. Afinitas polifenol terhadap reseptor tergantung pada frekuensi pemberian polifenol, semakin tinggi frekuensi polifenol yang diberikan maka semakin tinggi kemampuan afinitasnya (De Freitas dan Mateus, 2001). Oleh karena itu, frekuensi pemberian jus *Sargassum* sp. perlu ditingkatkan untuk memberikan pengaruh terhadap tikus coba.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana pengaruh perbedaan pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. terhadap penurunan kadar glukosa darah dan ekspresi IL-6 pada ginjal dan aorta tikus penyandang DM tipe 2.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui pengaruh frekuensi pemberian jus *Sargassum* sp. yang berbeda terhadap penurunan kadar glukosa darah dan ekspresi IL-6 pada aorta dan ginjal tikus diabetes mellitus tipe 2.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- = Frekuensi pemberian jus *Sargassum* sp. yang berbeda tidak berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah dan ekspresi IL-6 pada aorta dan ginjal tikus diabetes mellitus tipe 2
- = Frekuensi pemberian jus *Sargassum* sp. yang berbeda berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa darah dan ekspresi IL-6 pada aorta dan ginjal tikus diabetes mellitus tipe 2

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yang dapat diuraikan sesuai paparan diatas adalah sebagai berikut:

1. Memberikan nilai tambah fungsional dari ekstrak *Sargassum* sp.
2. Mengetahui pengaruh ekstrak *Sargassum* sp. yang dapat digunakan sebagai pengobatan DM dan gangguan makrovaskular maupun mikrovaskular akibat DM.
3. mengetahui cara ekstraksi *Sargassum* sp. menggunakan *juicer* dengan waktu yang singkat.

1.6 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hewan Coba, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Malang; Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu kelautan, Universitas Brawijaya Malang; dan Laboratorium Faal, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang pada bulan Februari – September 2017.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah penyakit yang ditandai dengan terjadinya hiperglikemia dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang dihubungkan dengan kekurangan secara absolut atau relatif dari kerja dan atau sekresi insulin. Tahun 2013, jumlah penderita diabetes melitus mencapai lebih dari 382 juta orang di seluruh dunia, dan diperkirakan akan meningkat hingga 500 juta orang penderita pada tahun 2030 (Barde *et al.*, 2015).

Diabetes Melitus (DM) biasa disebut dengan *the silent killer* karena penyakit ini dapat mengenai semua organ tubuh dan menimbulkan berbagai macam keluhan. Penyakit yang akan ditimbulkan antara lain gangguan penglihatan mata, katarak, penyakit jantung, sakit ginjal, impotensi seksual, luka sulit sembuh dan gangguan pembuluh darah. Tidak jarang, penderita DM yang sudah parah menjalani amputasi anggota tubuh karena terjadi pembusukan (Trisnawati and Setyorogo, 2013).

DM adalah gangguan metabolit yang melibatkan hormon endokrin pankreas, diantaranya insulin dan glukagon. DM terwujud dengan adanya gangguan metabolisme lipid, karbohidrat, dan protein (Ullah *et al.*, 2015). Tingginya prevalensi diabetes melitus disebabkan oleh interaksi antara faktor-faktor kerentanan genetik dan paparan terhadap lingkungan. Faktor lingkungan yang dapat meningkatkan risiko diabetes melitus adalah perpindahan atau urbanisasi yang kemudian menyebabkan perubahan gaya hidup. Di antaranya adalah kebiasaan makan yang tidak seimbang akan menyebabkan obesitas. Kondisi obesitas tersebut akan memicu timbulnya diabetes melitus (Darmono *et al.*, 2007).

Diabetes melitus adalah suatu sindrom klinik yang ditandai oleh poliuria, polidipsi, dan polifagi yang disertai dengan peningkatan kadar glukosa darah atau hiperglikemik (glukosa puasa ≥ 126 mg/dL atau postprandial ≥ 200 mg/dL atau glukosa sewaktu ≤ 200 mg/dL) (Ratna et al., 2009). Diagnosis penyandang diabetes melitus secara umum dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kriteria Diagnosis Diabetes Melitus

No.	Kriteria Diagnosis
1.	Gula darah puasa ≥ 126 mg/dL Puasa: tidak mengonsumsi sumber kalori paling tidak selama 8 jam
2.	Gula darah 2 jam ≥ 200 mg/dL pada uji toleransi gula secara oral Tes toleransi glukosa oral (TTGO) yaitu pengujian 75 g glukosa anhidrat yang dilarutkan dalam air
3.	Gula darah ≥ 200 mg/dL Gejala diabetes: poliuria, polidipsi, kehilangan berat badan

Sumber : (American Diabetes Association, 2011).

2.1.1 Klasifikasi

Diabetes melitus secara umum dapat dibedakan menjadi 2 macam, yaitu diabetes melitus tipe 1 dan diabetes melitus tipe 2, namun lebih jelasnya klasifikasi diabetes melitus dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Klasifikasi Diabetes Melitus

Klasifikasi	Keterangan
Diabetes melitus tipe 1	Destruksi sel, umumnya mengarah kepada defisiensi insulin absolut - <i>Immune mediated</i> - Idiopathik
Diabetes melitus tipe 2	dari predomnan resistensi insulin dengan defisiensi insulin relative hingga predomnan efek sekresi dengan resistensi insulin
Diabetes melitus tipe lain	- Defek genetik dari fungsi sel β - Defek genetik kerja insulin - Penyakit eksokrine pankreas - Imbas obat atau zat kimia - Infeksi - Endokrinopati - Sindron genetik lainnya yang kadang berhubungan dengan diabetes melitus
Diabetes melitus Gestasional	-

Sumber : (American Diabetes Association, 2011).

Diabetes melitus tipe 1 biasanya terjadi pada anak-anak atau masa dewasa muda, prevalensinya kurang lebih 5%-10% penderita dari kasus. Individu yang kekurangan insulin hampir atau secara total dikatakan juga sebagai diabetes "*juvenile onset*" atau "*insulin dependent*" atau "*ketosis prone*" karena tanpa insulin terjadi kematian dalam beberapa hari yang disebabkan oleh ketoasidosis (Sudoyo *et al.*, 2009).

Diabetes melitus tipe 2 merupakan 90% dari kasus diabetes melitus yang dikenal sebagai *non-insulin dependent* diabetes melitus. Bentuk diabetes melitus ini bervariasi mulai yang dominan resistensi insulin, defisiensi insulin relatif sampai defek sekresi insulin (Lieske *et al.*, 2006). Selain diabetes tipe 1 dan 2 ada juga diabetes tipe lain yaitu diabetes melitus gestasional. Diabetes melitus gestasional merupakan hiperglikemia yang diderita selama masa kehamilan (Law, 2017).

2.2 Interleukin-6 (IL-6)

Interleukin-6 adalah sitokin yg dihasilkan oleh beberapa tipe sel tubuh manusia, termasuk *activated mononuclear phagocytes*, sel endotel, dan sel fibroblast (Abbas *et al.*, 2015). IL-6 merupakan sitokin yang diproduksi oleh makrofag, disebut dengan sitokin proinflamasi, dan mempunyai efek lokal, yakni menginduksi molekul adhesin (ICAM) pada endotel dan menarik neutrofil ke tempat cidera (Song *et al.*, 2013). Gen IL-6 terdapat pada gen no 7. Bertumpang tindih dengan aktivitas TNF- α , IL-1, dan IL-6 mempunyai efek yang sangat luas terhadap berbagai macam sel target pada manusia (*pleiotrophy*). Aktivitas IL-6 dikatakan bertumpang tindih dengan aktivitas TNF- α dan IL-1 (*reduancy*), tetapi IL-6 mempunyai sifat-sifat tambahan lain seperti menstimulasi hepatosit untuk menghasilkan protein fase akut, *growth factor*, dan fungsi hematopoiesis (Kresno, 2001).

Mashayekhi *et al.* (2005), menyatakan bahwa IL-6 memediasi teroksidasinya LDL menjadi ox-LDL. Ox-LDL, radikal bebas dan kombinasinya diidentifikasi sebagai pemicu cedera dan peradangan dengan peningkatan kelengketan dan aktivasi leukosit (terutama monosit) dan platelet yang disertai dengan produksi sitokin (Cesari *et al.*, 2003). Efek sistemik IL-6 diantaranya adalah merangsang sumsum tulang untuk mengerahkan neutrofil (jumlah meningkat), terhadap hati adalah untuk memproduksi APP (*Acute Phase Protein*), CRP (*C-Reactive Protein*), MBP (*Myelin Basic Protein*) dan SAP (*Serum Amyloid Protein*), pengaruh terhadap metabolisme protein dan energi pada lemak dan otot, mengaktifkan fase awal respons imun spesifik (Karnen *et al.*, 2009). Omoigui (2007), menyebutkan bahwa IL-6 dapat dihambat secara tidak langsung melalui pengaturan sintesa kolesterol endogen, dan isoflavon dapat menekan terbentuknya IL-6.

Interleukin – 6 merupakan sitokin dengan fungsi yang bermacam-macam. IL-6 adalah regulator kekebalan tubuh dan respon inflamasi (Satoru *et al.*, 2009). IL-6 adalah sitokin yang disekresi dari jaringan tubuh ke dalam plasma darah, terutama pada fase infeksi akut (Besung *et al.*, 2016). Peningkatan kadar IL-6 dalam plasma darah dapat menyebabkan pelebaran pembuluh aorta (Akerman *et al.*, 2018). Selain pada aorta, kerusakan oksidatif sel otak karena tingginya kerusakan lipid pada otak yang diakibatkan oleh meningkatnya IL-6 dalam tubuh penyandang DM dapat menyebabkan terjadinya gangguan pada membran sel dalam otak dan berakibat terjadinya kegagalan neurogenerasi pada otak (Tehranipour dan Erfani, 2011). Neurogenerasi adalah proses yang dilakukan oleh otak untuk menghasilkan neuron dari sel induk untuk memperbaiki neurokoneksi dalam otak. Oleh karena itu diperlukan adanya pemanfaatan senyawa bioaktif dari *Sargassum* sp. untuk menurunkan radikal bebas dalam tubuh sehingga peningkatan kadar IL-6 dapat dihambat.

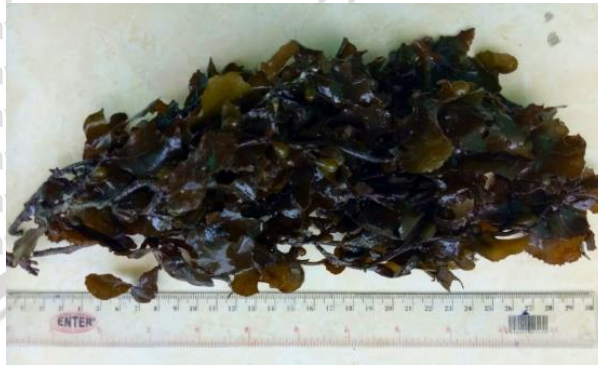
2.3 *Sargassum* sp.

Rumput laut *Sargassum* sp. tergolong dalam divisi *Phaeophyta* (ganggang cokelat) (Guiry, 2007). *Sargassum* sp. adalah tanaman yang memiliki ciri-ciri berwarna cokelat, berukuran relatif besar, tumbuh dan berkembang pada substrat dasar yang kuat. Bagian atas yang berbentuk menyerupai semak simetris bilateral atau radial dan dilengkapi dengan bagian sisi pertumbuhan (Yende et al., 2014). Pigmen pada rumput laut cokelat yang memberikan warna cokelat menghasilkan algin atau alginat, laminaran, selulosa, fukoidan, dan manitol yang komposisinya tergantung pada jenis (spesies), masa perkembangan dan kondisi tempat tumbuhnya (Maharani dan Widyayanti, 2010).

Perairan hangat tropis, dan subtropis merupakan habitat alga cokelat (*Sargassum* sp.) yang berasal dari perairan Jepang, China, dan Alaska (Thomas, 2002). Jenis alga cokelat (*Sargassum* sp.) yang penyebarannya di Indonesia dapat di temukan pada perairan yang tenang dan menempel batu karang (Basma et al., 2013). Alga cokelat (*Sargassum* sp.) memiliki karakteristik biologi hidup dan tumbuh di daerah pesisir pantai dengan substrat batu karang. Daerah intertidal, subtidal sampai daerah ombak besar dan arus yang deras merupakan daerah pertumbuhan *Sargassum* sp. Daerah tropis dengan suhu 27-30 °C salinitas 32-33 ppt dan ke dalaman 0,5-10 m merupakan tempat tumbuh alga cokelat (Hidayat, 2011).

Sargassum sp. merupakan bagian dari kelompok rumput laut cokelat (*Phaeophyceae*) dan genus terbesar dari famili *Sargassaceae*. Menurut Anggadiredja et al. (2008), klasifikasi rumput laut *Sargassum* sp. adalah sebagai berikut :

Filum : Phaeophyta
Kelas : Phaeophyceae
Ordo : Fucales
Famili : Sargassaceae
Genus : *Sargassum*
Spesies : *Sargassum* sp.



Gambar 1. *Sargassum* sp.

Sargassum sp. termasuk alga cokelat dengan bentuk khusus, sehingga mudah untuk dibedakan antar bagiannya. Pangkal keras atau bagian batang umumnya berbentuk silinder dan bercabang, tetapi lebih sederhana dengan segmen yang lebih pendek. Tiap cabang terdapat gelembung udara berbentuk bulat yang disebut *bladder* (Asfar, 2015). *Sargassum* sp. memiliki bentuk talus gepeng, banyak percabangan yang menyerupai pepohonan di darat, bangun daun melebar, lonjong seperti pedang, memiliki gelembung udara yang umumnya soliter, batang utama bulat agak kasar, dan *holdfast* (bagian yang digunakan untuk melekat) berbentuk cakram. Pinggir daun bergerigi jarang, berombak, dan ujung melengkung atau meruncing (Anggadiredja et al., 2008).

Ciri umum dari rumput laut spesies *Sargassum* sp. adalah berwarna cokelat karena dominasi pigmen fikosantin yang menutupi pigmen klorofil sehingga ganggang ini terlihat berwarna cokelat. Percabangan *thallus* pada *Sargassum crassifolium* membentuk formasi dua-dua tidak beraturan yang berlawanan pada sisi sepanjang *thallus* utama yang disebut *pinnate alternate*.

Thallus yang menyerupai daun (*blade*) tumbuh melebar dan bergerigi dengan

permukaan yang licin. Daun pada ganggang ini berbentuk oval dengan ukuran panjang sekitar 40 mm dan lebar 10 mm. *Sargassum* sp. mempunyai *thallus* berbentuk pipih dengan percabangan rimbun dan berselang-seling menyerupai tanaman darat. Pada bagian pinggir daun yang bergerigi mempunyai gelembung yang disebut vesikel. Gelembung udara ini berfungsi mempertahankan daun agar tetap di permukaan air. Ukuran diameter gelembung udara sekitar 15 mm dengan bentuk pipih dan bersayap (Hidayat, 2011).

Rumput laut *Sargassum* sp. pada umumnya belum banyak dikenal dan dimanfaatkan. Beberapa penelitian melaporkan ternyata kandungan nutrisi atau gizi rumput laut *Sargassum* sp. cukup tinggi, seperti protein dan beberapa mineral esensial (Handayani, 2004). Kandungan di dalam *Sargassum* sp. antara lain alginat dan iodin yang digunakan dalam industri makanan, farmasi, kosmetik, dan tekstil. *Sargassum* sp. juga mampu menghambat kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas pada produk seperti minyak ikan (Winberget et al., 2009). Koivikko (2008), meneliti pada alga cokelat *Sargassum* sp. ditemukan florotanin yaitu senyawa fenolik yang berperan sebagai sumber antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mengurangi dampak terjadinya oksidasi.

2.3.1 Senyawa Bioaktif

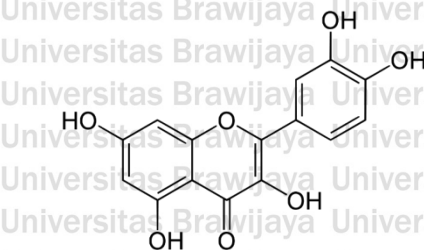
Ada dua kandungan metabolit di dalam rumput laut yaitu metabolit primer dan metabolit sekunder. Kandungan metabolit primer dalam rumput laut diantaranya yaitu vitamin, mineral, serat, alginat, dan agar, sedangkan antibakteri, antivirus, dan antijamur merupakan bioaktivitas dari metabolit sekunder (Zainudin dan Malina, 2009). Senyawa aktif dalam *Sargassum crassifolium* dan *Sargassum polycystum* adalah flavonoid, alkaloid, saponin, fenol, dan triterpenoid yang memiliki kegunaan sebagai antibakteri, antivirus, dan

antijamur (Kusumaningrum *et al.*, 2007). Pada dasarnya rumput laut cokelat memiliki komponen bioaktif berupa karotenoid, serat, protein, asam lemak esensial dan mineral (Patra *et al.*, 2008)

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan golongan fenol dengan struktur difenilpropan ($C_6-C_3-C_6$), yang mana terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 atom karbon, termasuk lingkaran heterosiklik (Suryanto *et al.*, 2011). Adapun flavonoid adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang paling banyak dihasilkan oleh tumbuhan (Sapna *et al.*, 2011). Flavonoid merupakan bahan aktif yang banyak dijumpai pada daun, benih, kulit dan bunga tanaman. Flavonoid melindungi tumbuhan dari radiasi UV, patogen dan hewan herbivor (Chang, 2009).

Flavonoid dapat memberikan sebuah efek antibakteri, efek antioksidan dan efek antiinflamasi. Flavonoid juga mampu meningkatkan sintesis kolagen terhadap reseptor IGF-1 di fibroblas (Kumalasari, 2011). Sedangkan ekstraksi flavonoid pada *Sargassum sp.* dapat dilakukan dengan menggunakan metanol dan aseton (Kanimozhi *et al.*, 2015). Jenis flavonoid diantaranya antosianidin, flavonol, flavon, flavanon, dan isoflavon. Senyawa jenis flavonol terdiri atas quersetin, kaempferol, myricetin, sedangkan jenis flavone terdiri atas apigenin dan luteloin. Peran flavonoid diantaranya memproduksi pigmen berwarna kuning, merah, atau biru pada bunga. Flavonoid larut dalam pelarut polar, karena mempunyai gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar yang digunakan untuk mengekstrak flavonoid dari jaringan tumbuhan dapat menggunakan etanol, metanol, etil asetat, atau campuran dari pelarut tersebut (de Rijke, 2005).

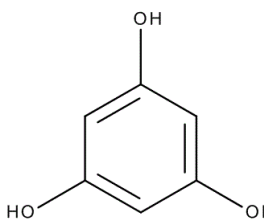


Gambar 2. Struktur Kimia Quersetin

b. Polifenol

Polifenol adalah senyawa yang mempunyai ciri khas yaitu terdapat gugus fenol dalam molekulnya (Suoth *et al.*, 2013). Senyawa polifenol merupakan salah satu senyawa yang dapat memberikan atom hidroksilnya kepada radikal bebas. Dapat dideteksi melalui ciri-ciri senyawa polifenol yang memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil (OH). Senyawa polifenol cenderung bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (Selawa *et al.*, 2013). Kandungan senyawa polifenol berfungsi untuk melindungi sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas, penghambat enzim hidrolisis dan oksidatif dan bekerja sebagai antibakteri (Pourmouran, 2006). Secara umum, senyawa fenolik terdiri atas cincin aromatik yang mengikat satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa ini memiliki berbagai macam struktur dan fungsi yang berbeda (Suryanto *et al.*, 2011).

Polifenol terbentuk oleh polimerisasi unit monomer, membentuk sebuah kelompok heterogen yang sangat bervariasi dalam bentuk dan derajat polimerisasi (Wang *et al.*, 2009). Kemampuan polifenol dalam tubuh yaitu sebagai antioksidan yang melawan radikal bebas. Manfaat senyawa polifenol adalah sebagai agen antioksidan, perlindungan dari radiasi, antibiotik, antiinflamasi, antialergi, antibakteri dan antidiabetes (Holdt and Kraan, 2011).

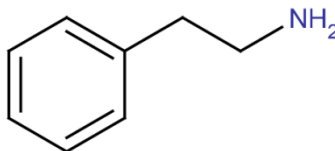


Gambar 3. Struktur Kimia Floroglusinol

c. Alkaloid

Alkaloid hasil dari ekstrak jenis *Sargassum* sp. bersifat racun bagi manusia dan menunjukkan aktivitas fisiologi yang sangat luas (Riyanto *et al.*, 2013). Alkaloid merupakan metabolit sekunder terbesar, biasanya banyak ditemukan pada tumbuh-tumbuhan tingkat tinggi dan mempunyai susunan basa nitrogen, yaitu satu atau dua atom nitrogen (Bhat *et al.*, 2009). Alkaloid mempunyai efek dalam bidang kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung dan lain-lain (Simbala, 2009).

Turunan senyawa alkaloid yang terdapat pada *Sargassum* sp. yaitu alkaloid *phenylethylamine* (Percot *et al.*, 2009). Menurut (Güven *et al.*, 2010), *phenylethylamine* adalah amina aromatik di mana sebuah sisi rantai *ethylamine* melekat pada cincin benzena. *Phenylethylamine* merupakan prekursor dari banyak senyawa alami dan sintesis.

Gambar 4. Struktur Kimia Alkaloid *Phenylethylamine*

d. Saponin

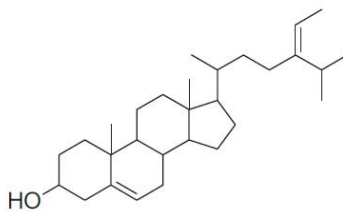
Saponin adalah senyawa glikosida metabolit sekunder yang keberadaannya banyak di alam. Saponin terdiri dari gugus gula yang berikatan

dengan aglikon atau saponin. Adanya senyawa saponin dapat diketahui keberadaannya, dengan karakteristik berupa busa ketika direaksikan menggunakan air dengan cara dikocok. Busa yang terdapat pada saponin timbul karena adanya kombinasi struktur penyusunnya antara rantai saponin nonpolar dan rantai samping polar yang larut dalam air (Jaya, 2010).

e. Steroid

Steroid adalah salah satu *sub class* dari golongan lipid yang diketahui sebagai isoprenoids dan terpenoid (Anonymous, 2009). Steroid terdapat pada tumbuhan dan hewan, merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder (Adlhani, 2014). Steroid pada tumbuhan berupa alkohol dengan gugus hidroksil pada C₃ dan memiliki satu atau dua atom tambahan. Sterol tidak larut dalam air namun larut dalam hampir semua jenis pelarut organik. Sterol yang umum terdapat pada tanaman ialah stigmasterol dan β -sitosterol (Risnafiani *et al.*, 2015).

Fukosterol adalah jenis fitosterol yang terdapat pada bagian akar *Sargassum fusiforme*. Fukosterol dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan, antidiabetes, antiobesitas dan antiinflamasi (Zhen *et al.*, 2015). Telah diketahui bahwa eckol, dieckol dan phlorofucofuroeckol memiliki kemampuan untuk menghambat protein fosfatase 1B (PTP-1B) (Moon *et al.*, 2014).



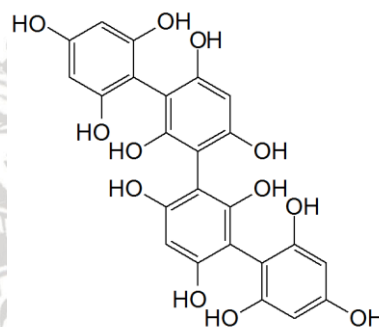
Gambar 5. Struktur Kimia Fukosterol

f. Tanin

Tanin terdiri dari komponen zat-zat kompleks yang dapat dijumpai pada tumbuh-tumbuhan, terdapat pada bagian kulit kayu, batang, daun, dan buah-

buah (Fitriyani, 2009). Tanin merupakan senyawa metabolit aktif sekunder, terdiri dari senyawa fenolik yang sulit dipisahkan dan sukar mengkristal. Tanin diketahui mempunyai peranan biologis yaitu pengendap protein, sebagai astringen, antidiare, antibakteri, dan antioksidan (Desmiaty, 2009).

Florotanin pada *Sargassum* sp. terdapat pada organel sel yang disebut dengan *physodes*. *Physodes* terletak pada sitoplasma dan berbentuk lingkaran atau elips. Florotanin akan disekresikan ke membran sel dan membentuk ikatan kompleks dengan asam alginat (Dang *et al.*, 2015). Studi tentang florotanin ini secara luas dilaporkan memberikan manfaat yang potensial dalam bidang kesehatan sebagai antidiabetes (Lee and Jeon, 2013).



Gambar 6. Struktur Kimia Florotanin

2.4 Nutraseutikal

Nutraseutikal adalah beberapa bahan yang dapat dipertimbangkan sebagai makanan atau bagian dari makanan dan memiliki manfaat bagi kesehatan dan pengobatan (Firdaus *et al.*, 2015). Pangan fungsional memiliki fungsi fisiologis seperti mengatur daya tahan tubuh, menangkal radikal bebas, mencegah penuaan, dan mencegah penyakit yang berkaitan dengan makanan (Mawardi *et al.*, 2016). Konsep pangan nutraseutikal dan fungsional dapat di definisikan sebagai pangan atau komponen makanan yang berfungsi untuk meningkatkan kondisi ketahanan tubuh dan mengurangi resiko terjangkitnya berbagai macam penyakit (Siahaan and Pangestuti, 2017). Rumput laut mengandung senyawa

aktif dengan berbagai bioaktivitas sehingga memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan nutraseutikal (Kelman *et al.*, 2012). Rumpat laut, berpotensi menjadi produk nutraseutikal (Nair *et al.*, 2007).

Nutraseutikal berfokus pada produk yang mampu meningkatkan nilai kesehatan dan menurunkan resiko serangan penyakit (Sahidi, 2012). (Nursid *et al.*, 2014), meneliti tentang fukosantin dari alga cokelat berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan nutraseutikal terutama sebagai antioksidan dan agen kemopreventif karena kemampuannya dalam meredam radikal bebas. Fukosianin digunakan dalam bidang kesehatan. Salah satu pemanfaatannya adalah sebagai prekursor hemoglobin, meningkatkan kekebalan tubuh, antikanker, antioksidan, antiradang, antiinflamasi, antiobesitas, neuroprotektif (Asfar, 2015). Namun sebelum dimanfaatkan sebagai nutraseutikal, *Sargassum* sp. perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui kandungan toksisitas sebelum di induksikan pada hewan coba (Lestari, 2016).

Sargassum sp. merupakan salah satu rumput laut yang kaya akan polifenol dengan sifat antioksidan yang sangat kuat (Ganesan *et al.*, 2008). Komponen antioksidan *Sargassum* sp. merupakan senyawa yang larut dalam air dan lemak, sehingga dapat mencegah kerusakan oksidatif pada minyak makanan (Siriwardhana *et al.*, 2004). Selain antioksidan, *Sargassum* sp. juga memiliki senyawa aktif florotanin yang menunjukkan aktivitas antibiotik, antidiabetes, dan proteksi radiasi (Cho *et al.*, 2007). florotanin merupakan kandidat yang potensial untuk dikembangkan dalam aplikasi industri seperti nutraseutikal, kosmetik dan pangan fungsional (Norra *et al.*, 2015).

2.5 Teknologi *Slow Juicer*

Teknologi *juicer* memberikan cara baru dan juga memudahkan manusia atau masyarakat untuk mengkonsumsi buah ataupun sayuran tanpa perlu

menambah pekerjaan. Cara kerja *juicer* adalah dengan memisahkan ekstrak dan ampas buah atau sayuran (Lee and Jeon, 2013). Teknologi ini dirancang menggunakan *Low Speed Technology System*, yang artinya metode ini tidak akan menghasilkan panas akibat gesekan antara bahan dan penggiling yang dirancang untuk memeras agar mendapatkan ekstrak atau filtrat. Teknologi ini dipatenkan agar nutrisi dan rasa dalam buah atau sayuran yang diekstrak tetap maksimal (HUROM, 2010). Penggunaan *juicer* untuk mengkonsumsi berbagai bahan-bahan makanan segar menjadi cara yang tepat untuk memenuhi asupan gizi dalam bentuk minuman, serta diduga dapat meningkatkan kandungan senyawa bioaktif dari bahan-bahan makanan segar tersebut (Cempaka *et al.*, 2014).

2.5.1 Senyawa Bioaktif Hasil *Slow Juicer*

Ekstraksi senyawa menggunakan metode jus akan memberikan hasil kandungan total fenol dalam bahan tidak mengalami penurunan karena tidak ada peningkatan suhu dalam metode ini, sehingga kandungan fenol tidak mengalami kerusakan selama proses, bahkan oleh Karlund *et al.*, (2012), penggunaan metode ini dapat meningkatkan kandungan fenol dan polifenol karena pisau dalam alat *slow juicer* mengarah secara vertikal sehingga bahan yang dimasukkan akan terpotong secara maksimal hingga kandungan senyawa lebih banyak yang terlarut dalam bentuk cairan yang dihasilkan dan sangat sedikit dalam ampas bahkan hampir tidak ada. Ekstraksi dengan metode jus terbukti dapat menghasilkan senyawa fenol 70% lebih banyak dibandingkan ekstraksi dengan metode *drying* (pemanasan) (Skrovankova *et al.*, 2015a, 2015b).

2.6 Frekuensi Pemberian Jus

Berdasarkan pada sifat fungsionalnya bahwa polifenol mampu bertindak sebagai antihiperglikemik (Gutpa dan Abu, 2011). Hal ini dimungkinkan karena

kemampuan polifenol untuk mengikat enzim (Prochazkova *et al.*, 2011). Afinitas polifenol terhadap reseptor tergantung pada pemberian frekuensi polifenol itu sendiri, semakin tinggi pemberian frekuensi maka semakin tinggi kemampuan afinitasnya (De Freitas and Mateus, 2001).

Penyerapan polifenol mampu menurunkan penyerapan karbohidrat dalam usus sehingga menjadi efek antihiperglikemik pada penyandang diabetes (Bahadoran *et al.*, 2013). Senyawa polifenol diketahui dapat membentuk interaksi kompleks dengan reseptor. Pemberian polifenol dapat meningkatkan afinitas pengikatan reseptor insulin dan meningkatkan penyerapan glukosa oleh sel melalui transporter glukosa (Sharifuddin *et al.*, 2015). Oleh karenanya, pemberian *Sargassum* sp. dilakukan berulang dengan tujuan memaksimalkan kinerja polifenol.

Sindrom kronik yang ditandai dengan peningkatan glukosa dalam darah dan juga sekresi glukosa dalam urin akibat kekurangan jumlah insulin, efek kerja ataupun karena keduanya, adalah merupakan hiperglikemia (Roglic dan Unwin, 2010). Adapun komponen polifenol yang merupakan salah satu senyawa yang terdapat dalam rumput laut cokelat dapat menghambat peningkatan kadar glukosa darah bagi penderita diabetes melitus (Mohamed *et al.*, 2012). Polifenol sebagai inhibitor alami dapat mempengaruhi metabolisme karbohidrat (pati dan sukrosa) dalam sistem pencernaan menjadi monosakarida. Polifenol akan menghidrolisis karbohidrat dari enzim α -amilase melalui ikatan hidroksilasi dan substitusi pada cincin β sehingga menghambat peningkatan kadar glukosa dalam sel darah (Mayur *et al.*, 2010).

Senyawa antihiperglikemik lainnya adalah flavonoid, yang diketahui mampu berperan menangkap (scavenger) radikal bebas atau juga berfungsi sebagai antioksidan alami (Lugasi *et al.*, 2003). Mekanisme flavonoid sebagai antihiperglikemik memiliki kesamaan dengan obat hipoglikemik oral golongan

sulfonilurea yaitu dengan meningkatkan sekresi insulin pada organ pankreas (Oktaria, 2013). Selain itu, flavonoid juga mampu memperbaiki morfologi sel pankreas sebagai agen antidiabetes (Sandhar *et al.*, 2011).



3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Alat

Beberapa peralatan yang digunakan pada penelitian ini, ialah kandang dan tutupnya yang terbuat dari kawat, botol air minum, rak tempat kandang, gelas ukur, *beaker glass* 100 mL, 500 mL, dan 1000 mL, erlenmeyer 250 mL, kain blancu, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet volume, pipet tetes, bola hisap, spatula, timbangan digital, timbangan analitik, *slow juicer*, inkubator, *centrifuges*, kuvet, *cool box*, *freezer*, spektrofotometer UV-Vis Spectroquant phare 300 M, *glucometer*, *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 ± 10 nm, pipet presisi dan tip pipet sekali pakai, *tube*, serta kertas saring.

3.1.2 Bahan

Beberapa bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah rumput laut cokelat (*Sargassum* sp.) dari kepulauan Talango, Sumenep, Madura, tikus wistar jantan (*Rattus novergicus*) umur 2-3 bulan, reagen *Follin-Ciocalteu* 50%, akuades, etanol 85%, floroglusinol, Na_2CO_3 5%, FeCl_3 1%, HCl, H_2SO_4 , Mg, KI, kloroform, obat hipoglikemik oral (*metformin*), *streptozotocin* (STZ), lemak babi, sekam, obat luka iodin, pakan *broiler* 1, asam sitrat, Na-sitrat, buffer sitrat pH 4,5, *phospat buffer sitrat* (PBS) pH 7,4, *tetramethylbenzidine* (TMB), *stop solution* (HCl 2N), NaFis 0,9%, *xylo*, glukosa kit merk Glucodr AGM-2100, *Rat Insulin* ELISA Kit dari *Bioassay Technology Laboratory* No. E0707Ra, *Rat Nuclear Factor-RAGE ELISA* kit dari *Bioassay Technology Laboratory* No. E0928Ra dan air.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan pada penelitian ini ialah metode eksperimen dan metode deskriptif. Metode eksperimen menurut (Jaedun, 2011), ialah penelitian yang dilakukan terhadap variabel yang data-datanya belum ada, sehingga dilakukan proses manipulasi melalui pemberian perlakuan tertentu terhadap subjek penelitian yang kemudian diukur dampaknya serta diamati. Penelitian eksperimen juga merupakan penelitian yang dilakukan secara sengaja, dilakukan dengan cara memberikan perlakuan tertentu terhadap subyek penelitian guna membangkitkan keadaan yang diteliti dan mengamati akibat atau efeknya.

Perlakuan yang digunakan pada penelitian ini ialah pemberian ekstrak *Sargassum* sp. dengan metode jus kepada tikus (*Rattus novergicus*) penyandang diabetes melitus. Adapun penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui konsentrasi pelarut yang digunakan dalam metode ekstraksi jus untuk memperoleh kandungan optimum florotanin dari ekstrak yang dihasilkan. Penelitian utama dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh jus *Sargassum* sp. terhadap kadar glukosa darah dan ekspresi IL-6 pada aorta dan ginjal tikus penyandang diabetes melitus.

3.3 Rancangan Penelitian

Variabel ialah gejala suatu fakta ataupun data yang sifatnya berubah-ubah dan tidak tetap. Variabel dibagi menjadi dua yaitu variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas (*independent variable*) merupakan variabel yang dilihat pengaruhnya terhadap variabel terikat (*dependent variable*), sedangkan variabel terikat adalah dampak dari variabel bebas. Variabel bebas pada penelitian ini adalah 7 perlakuan pada tikus dan lama waktu pengamatan. Sedangkan variabel terikat pada penelitian ini adalah pengaruh jus *Sargassum* sp. menurunkan kadar

glukosa darah dan menurunkan ekspresi IL-6 pada tikus penyandang diabetes melitus.

Rancangan penelitian dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) karena hanya memiliki satu faktor yaitu frekuensi jus *Sargassum* sp. yang meliputi tiga frekuensi berbeda yaitu; frekuensi 1 kali sehari, frekuensi 2 kali sehari, dan frekuensi 3 kali sehari, dengan tiga kelompok ulangan (n=5) untuk tiap perlakuan. Desain rancangan percobaan penelitian dapat dilihat pada

Tabel 3.

Tabel 3. Desain Rancangan Penelitian RAL

Perlakuan	Ulangan					Total (Σ)	Rerata ($\bar{X}$)
	1	2	3	4	5		
A	A1	A2	A3	A4	A5	ΣA	$\bar{x}A$
B	B1	B2	B3	B4	B5	ΣB	$\bar{x}B$
C	C1	C2	C3	C4	C5	ΣC	$\bar{x}C$
D	D1	D2	D3	D4	D5	ΣD	$\bar{x}D$
E	E1	E2	E3	E4	E5	ΣE	$\bar{x}E$
F	F1	F2	F3	F4	F5	ΣF	$\bar{x}F$
G	G1	G2	G3	G4	G5	ΣG	$\bar{x}G$
Total						T_i	Y_{ij}

Keterangan :

- A = tikus normal + akuades
- B = tikus normal + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari
- C = tikus diabetes melitus + akuades
- D = tikus diabetes melitus + metformin 63 mg/kg BB
- E = tikus diabetes melitus + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari
- F = tikus diabetes melitus + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari
- G = tikus diabetes melitus + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari

3.4 Penelitian Pendahuluan

3.4.1 Pembuatan Jus *Sargassum* sp.

Sargassum sp. yang digunakan pada penelitian ini diambil dari perairan kepulauan Talango, Madura. *Sargassum* sp. dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel dengan menggunakan air tawar yang mengalir untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel. Bagian *Sargassum* sp. yang digunakan ialah bagian daun. *Sargassum* sp. yang telah dicuci kemudian dikeringkan, pengeringan yang dilakukan tidak boleh terkena matahari secara langsung.

Pada penelitian ini pembuatan jus *Sargassum* sp. dilakukan dengan metode jus (*juicing*), yaitu *Sargassum* sp. dicuci dengan air tawar yang mengalir kemudian ditimbang sebanyak 100 g, kemudian dilakukan penghalusan dengan *slow juicer*, setelah itu disaring menggunakan kain blacu untuk kemudian dilakukan pengenceran dengan akuades perbandingan 1:4 sehingga diperoleh filtrat dan residu.

3.4.2 Pembuatan Larutan Standar Floroglusinol

Larutan stok floroglusinol dengan konsentrasi 100 ppm (mg/L) dibuat dengan melarutkan 0,01 g floroglusinol dalam 100 mL etanol 85%. Larutan standar dibuat dari larutan stok dengan mengambil 2 mL, 4 mL, 6 mL, 8 mL, dan 10 mL larutan stok kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda lalu ditambahkan etanol 85% sampai setiap larutan berjumlah 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Masing-masing konsentrasi diambil sebanyak 2,5 mL dan dilarutkan dalam 2,5 mL H₂O. Kemudian diambil masing-masing larutan sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL reagen *Follin-Ciocalteu* 50% dan 2 mL Na₂CO₃ 5%, lalu ditunggu selama 3 menit. Kemudian diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu ruang selama 45 menit dan dilakukan pengukuran absorbansi sampel dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 770 nm. Dari hasil pengukuran tersebut dapat dibuat persamaan regresi kurva hubungan antara konsentrasi floroglusinol (ppm) dengan absorbansi.

3.4.3 Penentuan Total Senyawa Florotanin pada Jus *Sargassum* sp.

Penentuan total senyawa florotanin dilakukan berdasarkan metode *Follin-Ciocalteu*. *Sargassum* sp. ditimbang sebanyak 20 g lalu diekstraksi dengan metode jus menggunakan pelarut akuades dengan perbandingan 1:4 (b/v).

Diambil 2,5 mL ekstrak dan dilarutkan dalam 2,5 mL H₂O pada tabung reaksi.

Diambil 1 mL larutan, kemudian ditambahkan 1 mL *reagen Follin-Ciocalteu* 50% dan 2 mL Na₂CO₃ 5% pada tabung reaksi, lalu ditunggu selama 3 menit.

Kemudian diinkubasi dalam ruang gelap dengan suhu ruang selama 45 menit lalu disentrifugasi selama 5 menit pada kecepatan 700 rpm hingga diperoleh

supernatan. Kemudian diukur absorbansi dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS pada panjang gelombang 770 nm dengan larutan standar floroglusinol dan dimasukkan hasilnya ke dalam kurva hubungan antara konsentrasi floroglusinol (ppm) dengan absorbansi.

3.4.4 Uji Fitokimia

Uji fitokimia pada penelitian ini dilakukan terhadap kandungan polifenol, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, dan steroid jus *Sargassum* sp. menggunakan metode yang didasarkan pada Harborne (1987).

a. Polifenol

Uji kandungan polifenol dilakukan dengan memasukkan 0,1 mL ekstrak *Sargassum* sp. ke dalam tabung reaksi, lalu ditambah akuades 5 mL. Kemudian dididihkan selama 5 menit menggunakan *hot plate* dan ditambah FeCl₃ sebanyak 5 tetes. Perubahan warna larutan menjadi biru sampai hitam menunjukkan adanya kandungan polifenol pada ekstrak.

b. Flavonoid

Flavonoid yang berupa glikosida termasuk senyawa polar sehingga dapat diekstrak dengan etanol, metanol, ataupun air. Jika ekstrak sampel terdapat senyawa flavonoid, maka setelah penambahan logam Mg dan HCl akan terbentuk garam flavilium berwarna merah atau jingga (Septianingsih, 2010). Uji kandungan flavonoid dilakukan dengan cara mengambil 0,1 mL ekstrak *Sargassum* sp., dicampur dengan etanol 5 mL lalu dikocok, dipanaskan dan

dikocok kembali. Kemudian ditambahkan Mg 0,2 g dan HCl 3 tetes.

Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya kandungan flavonoid.

c. Tanin

Tanin apabila direaksikan dengan FeCl_3 akan membentuk warna hijau.

Hal ini terjadi karena, terbentuknya senyawa kompleks antara logam Fe dan tanin. Senyawa kompleks dapat terbentuk karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara ion atau atom logam dengan atom non logam (Effendy, 2007).

Uji kandungan tanin dilakukan dengan memasukkan 0,5 mL ekstrak *Sargassum* sp. ke dalam tabung reaksi, lalu ditambah akuades 5 mL. Kemudian dididihkan selama 5 menit menggunakan *hot plate* dan ditambah FeCl_3 sebanyak 5 tetes.

Perubahan warna larutan menjadi biru tua dan hijau kehitaman menunjukkan adanya kandungan tanin pada ekstrak.

d. Alkaloid

Prinsip uji alkaloid adalah pengendapan alkaloid dengan logam-logam berat. Pereaksi yang digunakan adalah pereaksi Dragendorf, dikarenakan pereaksi ini mengandung bismut yang merupakan logam berat (Sirait, 2007). Uji kandungan alkaloid dilakukan dengan memasukkan 0,5 g ekstrak *Sargassum* sp. ke dalam tabung reaksi, lalu ditambah kloroform 5 mL dan amonia 3 tetes.

Kemudian dipisah fraksi kloroform dan ditambah H_2SO_4 2 M sebanyak 10 tetes, lalu dipisah menjadi bagian A, B dan C. Bagian A diberi pereaksi Mayer, terbentuknya endapan putih menunjukkan adanya kandungan alkaloid. Bagian B diberi pereaksi Dragendorf, perubahan warna menjadi merah menunjukkan adanya kandungan alkaloid. Kemudian bagian C diberi pereaksi Wagner, perubahan warna menjadi cokelat menunjukkan adanya kandungan alkaloid.

e. Steroid

Senyawa steroid/triterpeneoid dapat mengalami dehidrasi dengan penambahan asam kuat dan membentuk garam yang memberikan sejumlah reaksi warna (Robinson, 1995). Ekstrak ditambahkan 3 tetes pereaksi Liebermen – Burchard (asam asetat glasial + H_2SO_4 pekat). Uji positif triterpenoid memberikan warna merah atau ungu dan uji positif steroid memberikan warna hijau atau biru.

f. Saponin

Pada uji saponin positif bila ditambahkan dengan akuades panas kemudian akan terbentuk buih atau busa selama 15 menit. Hal ini dapat terjadi karena adanya glikosida yang memiliki kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya. Uji kandungan saponin dilakukan dengan uji busa dalam air panas dengan melarutkan ekstrak *Sargassum* sp. ke dalam 10 mL air panas lalu dikocok kuat-kuat. Adanya kandungan saponin dilihat dari busa yang tidak hilang setelah 5 menit dan setelah penambahan HCl 2N 1 tetes.

3.5 Penelitian Utama

3.5.1 Pemodelan dan Perlakuan Hewan Coba

Pemodelan tikus coba diawali dengan menempatkan tikus wistar jantan usia 2-3 bulan sebanyak 35 ekor dengan berat antara 200-250 g ke dalam *individual cages*. Selanjutnya dilakukan adaptasi selama 7 hari untuk mengkondisikan semua tikus sebelum diberikan perlakuan. Selama masa adaptasi, tikus coba setiap harinya diberi pakan dan minum tanpa batas (*ad libitum*). Kemudian tikus diberi pakan dengan campuran minyak babi yang

bertujuan untuk meningkatkan kadar kolesterol tikus. Tikus coba dibagi ke dalam 7 perlakuan, pada tiap perlakuan terdapat 5 ekor tikus coba.

Preparasi diabetogenik streptozotocin (STZ) dilakukan dengan melarutkan 75 mg STZ ke dalam larutan *buffer sitrat* pH 4,5. Penggunaan *buffer sitrat* pH 4,5 bertujuan untuk mempertahankan pH asam. *Buffer sitrat* pH 4,5 dibuat dari campuran 26,5 mL larutan asam sitrat 0,1 M dan 23,5 mL larutan Na-sitrat 0,1 M yang ditambah akuades hingga volume larutan 100 mL. Sebelum diinduksi dengan STZ, tikus coba terlebih dahulu dipuasakan selama minimal 8 jam supaya terjadi metabolisme basal dan STZ dapat bereaksi secara optimal di dalam tubuh. Dosis STZ yang disuntikkan pada tikus coba yaitu 20 mg/kg BB.

Penginduksian STZ dilakukan secara intraperitoneal pada daerah di bawah rongga perut. Hasil dari penginduksian diabetogenik dapat diketahui pada hari ke-7 setelah penyuntikan dilakukan pengukuran kadar glukosa darah. Tikus yang dinyatakan positif diabetes harus memiliki kadar glukosa darah sesaat ≥ 200 mg/dL (Kustarini *et al.*, 2012), sedangkan tikus coba yang memiliki kadar glukosa darah ≤ 200 mg/dL tidak digunakan. Setelah dilakukan pemodelan, tikus coba kemudian diberi perlakuan masing-masing.

Perlakuan pada berbagai tikus coba yaitu sebagai berikut; pada perlakuan A, tikus normal diberi akuades. Pada perlakuan B, tikus normal diberi jus *Sargassum* sp. dengan frekuensi pemberian satu kali sehari untuk mengetahui pengaruh dari ekstrak *Sargassum* sp. dalam jumlah minimum terhadap kontrol negatif. Pada perlakuan C, tikus diabetes melitus yang diberi akuades. Pada perlakuan D, tikus diabetes melitus yang diberi metformin dengan dosis 63 mg/kg BB. Pada perlakuan E, tikus diabetes melitus yang diberi jus *Sargassum* sp. sebanyak satu kali sehari. Pada perlakuan F, tikus diabetes melitus yang diberi jus *Sargassum* sp. sebanyak dua kali sehari. Pada perlakuan

G, tikus diabetes melitus yang diberi jus *Sargassum* sp. sebanyak tiga kali sehari.

Perlakuan dilakukan selama 20 hari.

Pada hari ke-20 setelah perlakuan, dilakukan pengamatan pada tikus coba, yang meliputi; pengamatan kadar glukosa darah, insulin dan IL-6. Tikus dipuasakan selama 8 jam supaya terjadi metabolisme basal di dalam tubuh tikus.

Setelah pemuasaan, dilakukan *Oral Glucose Tolerant Test* (OGTT). Tikus coba diukur kadar glukosa darah pada menit ke-0 setelah pemuasaan, lalu disonde dengan larutan glukosa 10%, dilanjutkan dengan pengukuran kadar glukosa darah tikus pada menit ke-30, 60, 90 dan 120. Tikus coba kemudian dietanasi dengan cara dislokasi pada tulang leher, lalu dibedah dari bagian abdomen sampai toraks. Kemudian diambil serum darah dan organ dari tikus. Organ yang diambil dicuci dengan NaFis 0,9% untuk menghilangkan darah yang tersisa, dilanjutkan dengan penimbangan organ. Kemudian dilakukan uji ekspresi IL-6 menggunakan metode *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

3.5.2 Analisis Glukosa Darah

Pengukuran glukosa darah pada tikus coba dilakukan dengan pengambilan darah yang didapat dari bagian ekor tikus, dengan cara ekor tikus dibersihkan lalu dipijat dan diurut perlahan-lahan, kemudian bagian ujung ditusuk dengan jarum (lancet). Darah yang keluar kemudian ditempelkan pada strip glukometer. Kadar glukosa darah akan terukur dan nampak pada layar glukometer setelah 5 detik, dinyatakan dalam mg/dl. Kadar glukosa darah ditentukan dengan metode *glucose oxidase biosensor*. Dengan menggunakan alat “*One Touch Ultra*” (alat monitoring glukosa darah) (Unitly, 2012). Pengukuran glukosa darah dilakukan pada 5 hari sekali, yaitu pada hari ke-0, 5, 10, 15, dan 20.

3.5.3 Analisis Insulin Darah

Pengukuran kadar insulin pada tikus coba ditentukan dengan metode ELISA, menggunakan *Rat Insulin ELISA Kit* dari *Bioassay Technology Laboratory* No. E0707Ra, Shanghai China dan alat *microplate reader*. Prinsip uji ELISA adalah interaksi antigen dan antibodi suatu sampel dengan melibatkan peran enzim sebagai indikator dalam reaksi. Rat INS ditambahkan ke lubang yang telah dilapisi dengan *INS monoclonal antibody*, setelah penambahan *INS monoclonal antibody* dan akan diikat Rat INS, kemudian dilakukan inkubasi. Lalu, antibodi Rat INS yang tidak terikat setelah inkubasi akan dilakukan pencucian hingga bersih. Kemudian penambahan Streptavidin-HRP dan mengikat *biotin-conjugated anti-Rat INS antibody* dan diinkubasi, untuk Streptavidin-HRP yang tidak terikat dapat dilakukan pencucian. Selanjutnya, ditambahkan larutan *buffer* yang mengandung H_2O_2 dan *tetramethylbenzidine* (TMB) sehingga akan terjadi perubahan warna dan reaksi akan berakhir dengan penambahan *stop solution* asam dan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 450 nm.

Sampel yang akan digunakan adalah jaringan pada tikus coba. Dilakukan pembilasan jaringan dengan menggunakan PBS (*Phosphate Buffered Saline*) pH 7,4 yang bertujuan untuk menghilangkan darah yang mungkin masih tersisa. Selanjutnya dilakukan penimbangan sebelum dihomogenkan. Kemudian jaringan dicacah dengan cara digerus di dalam PBS pH 7,4 hal ini bertujuan agar tidak terjadi lisis. Penghomogenan dapat dilakukan dengan mortar-alu di atas wadah yang berisi es. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 2000-3000 rpm selama 20 menit sehingga didapatkan supernatan. Untuk dapat menjaga kesegaran sampel maka dilakukan penyimpanan pada suhu 2-9°C untuk sampel yang akan digunakan dalam waktu 5 hari. Sementara itu untuk sampel yang akan digunakan pada waktu 1 bulan akan disimpan pada suhu -20°C.

Kemudian persiapan untuk seluruh reagen yang akan digunakan, larutan standar dan sampel. Semua reagen yang akan digunakan diletakkan pada suhu ruang terlebih dahulu sebelum digunakan. Kemudian menentukan jumlah *stripe* yang akan digunakan untuk pengujian dan masukkan *stripe* pada *frame* yang akan digunakan. Kemudian mengambil larutan standar sebanyak 50 μL dan sampel sebanyak 40 μL ke dalam lubang *microplate*, lalu tambahkan 10 μL antibodi INS dalam sampel. Selanjutnya menambahkan 50 μL streptavidin-HRP dalam sampel dan standar lalu tutup *microplate* dan dilakukan pengocokan secara perlahan supaya homogen. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 50 menit. Setelah 50 menit buka tutupnya dan mencuci *microplate* sebanyak 5 kali menggunakan *buffer*, perendaman dan pencucian lubang *microplate* dengan *buffer* selama 30 menit sampai dengan 1 menit, untuk setiap kali mencuci keringkan dengan tissu atau bahan penyerap. Lalu pada lubang *microplate* dilakukan penambahan substrat *Solution A* sebanyak 50 μL dan substrat *Solution B* sebanyak 50 μL . Selanjutnya penutupan *microplate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit dalam kondisi gelap. Selanjutnya dilakukan penambahan *Stop Solution* dan akan terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning. Kemudian dilakukan penentuan nilai OD (*Optical Density*) menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm dalam waktu 30 menit setelah penambahan *Stop Solution*.

3.5.4 Gejala Diabetes Melitus

Pengukuran berat badan pada tikus coba dilakukan dengan menggunakan timbangan digital. Tikus coba ditimbang, kemudian angka yang muncul pada timbangan digital dicatat sebagai berat badan tikus. Pengukuran berat badan dilakukan 24 jam sekali setiap hari untuk mengetahui perubahan berat badan setiap harinya yang terjadi pada tikus coba.

Polifagia adalah gejala nafsu makan bertambah, sehingga pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah berat pakan yang dikonsumsi. Jumlah berat pakan yang dikonsumsi oleh tikus dihitung dengan menimbang jumlah berat awal pakan dan mengurangnya dari berat pakan yang tersisa dalam kandang setelah 24 jam pemberian (Okon *et al.*, 2012). Pengukuran jumlah berat pakan yang dikonsumsi oleh tikus dilakukan setiap hari.

Poliuria dapat diketahui melalui jumlah urin yang dikeluarkan tikus. Pengukuran volume urin dilakukan dengan cara menghitung selisih antara sekam basah dengan sekam kering. Sehingga didapatkan volume urin yang dikeluarkan oleh tikus. Pengukuran ini dilakukan 24 jam sekali setiap hari. Polidipsia adalah gejala banyak minum, sehingga pengamatan dilakukan dengan pengukuran volume air minum yang diberikan pada tikus. Volume air minum yang dikonsumsi oleh tikus diukur dengan menghitung selisih volume air minum awal dengan volume air minum yang tersisa di dalam botol setelah 24 jam pemberian (Okon *et al.*, 2012). Pengukuran volume air minum yang dikonsumsi oleh tikus dilakukan setiap hari.

3.5.5 Tes Toleransi Glukosa Oral (OGTT)

Pengukuran tes toleransi glukosa darah (TTGO) dilakukan untuk melihat kemampuan tubuh dalam menggunakan glukosa yang merupakan sumber energi bagi tubuh (Islam *et al.*, 2009). Glukosa yang diberikan pada saat TTGO dapat meningkatkan kadar gula darah. Puncak kadar glukosa darah terjadi dalam 30 atau 60 menit dan akan kembali normal 2-3 jam. Pengukuran tes toleransi glukosa oral (TTGO) dilakukan pada hari ke-20 dan sebelum dilakukan pengukuran terlebih dahulu hewan uji dipuasakan selama ± 8 jam (Ridwan and Astrian, 2012). Hewan uji dipuasakan terlebih dahulu untuk menghindari variasi kadar glukosa darah karena perbedaan masuknya makanan pada setiap hewan

uji (Lidia, 2013). Tikus diberi larutan glukosa 10% secara oral 30 menit setelah diberi perlakuan. Pemberian larutan glukosa dilakukan menggunakan alat sonde. Kadar glukosa darah diukur setelah pemberian glukosa dengan menggunakan alat glukometer, darah diambil dari vena ekor pada masing-masing kelompok setelah 0, 30, 60, 90, dan 120 menit (Kumar *et al.*, 2014). Pengamatan dilakukan setiap 30 menit untuk mengetahui kemampuan tubuh mentoleransi pemberian larutan glukosa sehingga dapat diketahui ada tidaknya pengaruh frekuensi pemberian jus *Sargassum* sp. terhadap kemampuan tubuh mentoleransi glukosa.

3.5.6 Analisis Ekspresi IL-6

Sebelum dilakukan uji kadar IL-6, terlebih dahulu dilakukan preparasi sampel aorta dan ginjal. Aorta dan ginjal yang telah dipersiapkan dibersihkan dengan NaFis 0,9% dalam keadaan dingin. Kemudian ditimbang sebanyak 0,5 g dan ditambahkan 1 mL larutan PBS dingin lalu dihaluskan menggunakan mortar alu. Setelah itu aorta dan ginjal dalam bentuk homogenat dimasukkan ke dalam tabung *centrifuge* dan ditambahkan PBS dingin 4 mL. Lalu dilakukan *centrifuge* dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Kemudian hasil sentrifuse yang berupa supernatan digunakan untuk uji ELISA IL-6 dan residunya tidak digunakan.

Aorta dan ginjal yang telah dipreparasi, kemudian diuji akan kadar IL-6 menggunakan ELISA kit spesifik (*Specific sandwich enzyme-linked immunosorbent assays*) dan *Biossaying Technology Laboratory* No. E0707Ra, Shanghai China yang terdiri dari mikrotiter yang telah dilakukan *coating* dengan monoklonal antibodi anti IL-6, *conjugate*, IL-6 standar, *diluent* RD1A, *calibrator* *diluent* RD5A, *buffer* pencuci, *color reagent* A, *color reagent* B, *stop solution* dan pita perekat.

3.6 Analisis Data

Metode analisis yang digunakan adalah sidik ragam yang mengikuti model sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

Di mana:

Y_{ij} = Perlakuan ke-i ulangan ke-j

μ = Rataan umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ϵ_{ij} = Galat percobaan perlakuan ke-i ulangan ke-j

Apabila hasil analisis keragaman (sidik ragam) menunjukkan adanya pengaruh yang nyata/sangat nyata, maka dilanjutkan dengan analisis Duncan menggunakan *software* SPSS. Taraf kepercayaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah $\alpha=0,05$.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Uji Fitokimia *Sargassum* sp.

Analisis fitokimia merupakan analisis kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan secara keseluruhan atau bagian-bagiannya. Pengujian fitokimia merupakan uji kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya senyawa bioaktif pada *Sargassum* sp. untuk digunakan sebagai terapi antidiabetes. Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji polifenol, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin dan steroid. Berikut ini merupakan hasil pengujian fitokimia yang dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Fitokimia *Sargassum* sp. Segar dan Jus

Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Segar	Jus
Polifenol	FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna hijau kebiruan	+	++
Flavonoid	Mg+HCl+etanol	Terbentuk warna merah	++	++
Tannin	FeCl ₃ 1%	Terbentuk warna hijau kebiruan	+	++
Alkaloid	Wagner	Terbentuk endapan cokelat	++	++
Steroid	Kloroform + anhidria asetat + H ₂ SO ₄ pekat	Perubahan warna merah menjadi biru/hijau	+++	++
Saponin	HCl	Terbentuk busa stabil (> 7 menit)	+	+

Keterangan :
 (-) = negatif
 (+) = positif lemah
 (++) = positif
 (+++) = positif kuat

Hasil uji fitokimia yang tersaji dalam Tabel 4 menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *Sargassum* sp. segar maupun jus *Sargassum* sp. Senyawa metabolit sekunder yang terdeteksi antara lain polifenol, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid, dan saponin. Hasil uji fitokimia *Sargassum* sp. mengandung berbagai golongan senyawa bioaktif antara lain

polifenol, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid dan saponin (Firdaus *et al.*, 2012; Santi *et al.*, 2014).

Pada hasil uji fitokimia senyawa polifenol *Sargassum* sp. menunjukkan hasil positif dengan ciri terbentuknya warna hijau kebiruan. Kandungan polifenol pada sampel *Sargassum* sp. segar menunjukkan positif lemah (+), sedangkan pada sampel jus *Sargassum* sp. menunjukkan positif (++). Hal ini dimungkinkan karena proses penggilingan menggunakan *slow juicer* dapat mengoptimalkan pengeluaran polifenol yang terdapat di dinding sel *Sargassum* sp. (Kumar *et al.*, 2015). Renhoran (2012), menunjukkan bahwa *Sargassum polycystum* positif mengandung senyawa fenol pada uji fitokimia dengan pereaksi FeCl_3 1% mendapatkan hasil warna hijau kebiruan.

Polifenol dapat berperan sebagai *scavenger* radikal bebas dan antihiperlipidemik (Lee and Jeon, 2013). Park *et al.* (2015) menemukan bahwa polifenol pada *Sargassum* sp. mampu menurunkan resistensi insulin dan meningkatkan sensitivitas insulin tikus diabetes melitus tipe 2. Motshakeri *et al.* (2013) melaporkan bahwa ekstrak *Sargassum* sp. pada dosis 300 mg/Kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2 selama 22 hari, namun belum mendekati batas normal.

Pada hasil uji fitokimia senyawa flavonoid *Sargassum* sp. menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya warna merah. Kandungan flavonoid pada sampel *Sargassum* sp. segar dan jus memiliki kandungan yang sama yaitu positif (++), hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi *slow juicer* tidak memberikan pengaruh terhadap kandungan senyawa flavonoid pada *Sargassum* sp. Robinson (1995), warna merah yang dihasilkan pada uji fitokimia flavonoid menandakan adanya flavonoid karena adanya reduksi oleh HCl dan magnesium.

Flavonoid yang terkandung di dalam tumbuhan diduga juga dapat memperbaiki daya kerja reseptor insulin, sehingga memberikan efek yang

menguntungkan pada keadaan diabetes melitus tipe 2 (Eryuda dan Tri, 2016).

Sejumlah studi telah dilakukan untuk menunjukkan efek hipoglikemia dari flavonoid dengan menggunakan model eksperimen yang berbeda, hasilnya tanaman yang mengandung flavonoid telah terbukti memberi efek menguntungkan dalam melawan penyakit diabetes melitus, baik melalui kemampuan mengurangi penyerapan glukosa maupun dengan cara meningkatkan toleransi glukosa (Brahmachari, 2011).

Pada hasil uji fitokimia senyawa tanin *Sargassum* sp. menunjukkan hasil positif dengan ciri terbentuknya warna hijau kebiruan. Kandungan tanin pada sampel *Sargassum* sp. segar menunjukkan positif lemah (+), sedangkan pada sampel jus *Sargassum* sp. menunjukkan positif (++). Hal ini dimungkinkan karena proses penggilingan menggunakan *slow juicer* dapat mengoptimalkan pengeluaran senyawa yang terdapat di dinding sel *Sargassum* sp. (Kumar et al., 2015). Putri (2014), menunjukkan bahwa *Sargassum* sp. positif mengandung senyawa tanin pada hasil uji fitokimia dengan pereaksi FeCl_3 1% mendapatkan hasil warna hijau kebiruan.

Tanin merupakan senyawa antioksidan biologis yang tersusun dari senyawa fenolik yang sukar dipisahkan dan sukar mengkristal (Desmiaty et al., 2008). Senyawa tanin berfungsi sebagai penghambat α -glukosidase yang bermanfaat untuk menunda absorpsi glukosa setelah makan sehingga menghambat kondisi hiperglikemia postprandial (Eryuda dan Tri, 2016). Selain itu, tanin juga berfungsi sebagai *astringent* atau pengkhelat yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan sebagai akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi (Prameswari and Widjanarko, 2014).

Pada hasil uji fitokimia senyawa alkaloid *Sargassum* sp. menunjukkan hasil positif dengan terbentuk hasil endapan cokelat. Kandungan alkaloid pada

sampel *Sargassum* sp. segar dan jus memiliki kandungan yang sama yaitu positif (++) , hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi *slow juicer* tidak memberikan pengaruh terhadap kandungan senyawa alkaloid pada *Sargassum* sp. (Prameswari and Widjanarko, 2014), menunjukkan bahwa kandungan senyawa alkaloid positif jika terbentuk endapan cokelat setelah diberi pereaksi Wagner.

Alkaloid yang terdapat pada *Sargassum* sp. memiliki beberapa manfaat. Alkaloid yang terkandung dalam beberapa spesies tanaman fungsinya dapat meniru aksi insulin dengan meningkatkan penyerapan glukosa pada adiposit dan miosit, serta menurunkan hiperglikemia dan memperbaiki toleransi glukosa pada tikus diabetes melitus (Paoli *et al.*, 2014). Alkaloid bekerja dengan menstimulasi hipotalamus untuk meningkatkan sekresi *Growth Hormone Releasing Hormone* (GHRH), sehingga sekresi *Growth Hormone* (GH) pada hipofise meningkat. Kadar GH yang tinggi akan menstimulasi hati untuk mensekresikan *Insulin-like Growth Factor-1* (IGF-1). IGF-1 mempunyai efek dalam menginduksi hipoglikemia dan menurunkan glukoneogenesis sehingga kadar glukosa darah dan kebutuhan insulin menurun (Prameswari and Widjanarko, 2014).

Pada hasil uji fitokimia senyawa steroid *Sargassum* sp. menunjukkan dengan pereaksi kloroform + anhidrida asetat + H_2SO_4 pekat didapatkan hasil positif dengan ciri berubahnya warna merah menjadi biru atau hijau. Kandungan steroid pada sampel *Sargassum* sp. segar menunjukkan positif kuat (+++), sedangkan pada sampel jus *Sargassum* sp. menunjukkan positif (++) . Penurunan kandungan steroid diakibatkan karena steroid merupakan senyawa yang sangat rentan terhadap panas (Lolaen *et al.*, 2013). Teknologi *slow juicer* dirancang menggunakan *Low Speed Technology System*, yang artinya metode ini sedikit menghasilkan panas akibat gesekan antara bahan dengan penggiling yang dirancang untuk memeras agar mendapatkan filtrat (HUROM, 2010). Setyowati *et al.*, (2014), menunjukkan bahwa hasil uji fitokimia senyawa steroid positif jika

terbentuk cincin cokelat pada batas larutan, kemudian saat ditambahkan dengan H_2SO_4 pekat akan berubah warna menjadi hijau.

Steroid yang terdapat pada *Sargassum* sp. memiliki beberapa manfaat.

Steroid dalam turunannya disebut fukosterol dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan dan antidiabetes (Zhen *et al.*, 2015). Steroid yang diberikan pada tikus diabetes melitus yang diinduksi oleh epinefrin dapat menghambat peningkatan kadar glukosa darah dan aktivitas glikogenesis (Abdul *et al.*, 2016).

Pada hasil uji fitokimia senyawa saponin *Sargassum* sp. menunjukkan hasil positif dengan terbentuk busa stabil (> 7 menit). Kandungan saponin pada sampel *Sargassum* sp. segar dan jus memiliki kandungan yang sama yaitu positif lemah (+), hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi *slow juicer* tidak memberikan pengaruh terhadap kandungan senyawa saponin pada *Sargassum* sp. Setyowati *et al.* (2014), meneliti bahwa identifikasi adanya saponin dibuktikan dengan terbentuknya busa yang dapat bertahan < 10 menit dengan pereaksi HCl. Timbulnya busa dikarenakan adanya kandungan glikosida pada yang memiliki kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisa menjadi glukosa dan senyawa lainnya.

Saponin dapat memberikan efek hipoglikemik secara signifikan pada tikus diabetes melitus yang diinduksi streptozotocin (Meliani *et al.*, 2011). Saponin dapat mengurangi kenaikan glukosa darah dengan menghambat enzim yang memecah disakarida menjadi monosakarida. Selain itu, saponin dapat mengurangi glukoneogenesis hati, meningkatkan sintesis glikogen hepatik, dan meningkatkan oksidasi glukosa perifer pada eritrosit dan adiposit (Barky *et al.*, 2017).

Dari hasil uji fitokimia kandungan senyawa polifenol dan tanin pada sampel jus *Sargassum* sp. lebih tinggi dibanding dengan sampel segar. Senyawa flavonoid, alkaloid, dan saponin terdeteksi memiliki kandungan yang sama pada

sampel segar maupun jus *Sargassum* sp. Sedangkan kandungan senyawa steroid lebih rendah pada sampel jus *Sargassum* sp. dibanding sampel segar.

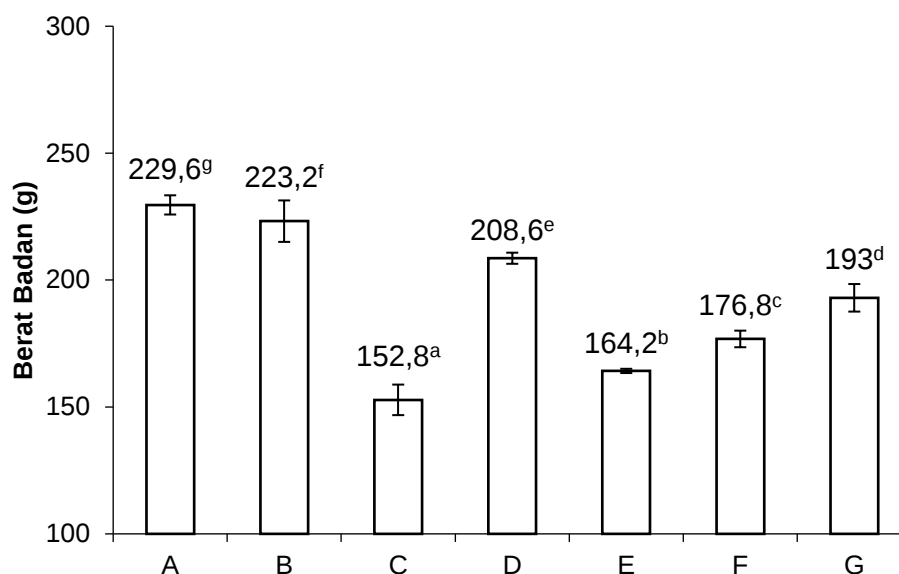
4.2 Gejala Diabetes Melitus

4.2.1 Berat Badan

Penurunan berat badan pada penderita diabetes melitus tipe 2 disebabkan dari kondisi hiperglikemia. Sel yang tidak mendapat energi dari glukosa darah dapat mempengaruhi tubuh untuk merombak protein dan lemak dalam otot untuk dijadikan energi, sehingga masa otot akan berkurang. Oleh karena itu, pada penderita diabetes melitus tipe 2 akan mengalami penurunan berat badan.

Perlakuan pengukuran berat badan untuk mengetahui perbedaan berat badan tikus antar perlakuan.

Data hasil pengamatan dan analisis data berat badan tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 10. Pada hasil analisis data menunjukkan bahwa berat badan tikus disetiap perlakuan selama pengamatan menghasilkan perbedaan sangat nyata ($P < 0,05$), kecuali pada tikus kontrol A dengan kontrol B menunjukkan hasil yang sama. Hasil analisis data berat badan tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Berat Badan Tikus Antar Perlakuan

Keterangan :

- A. Tikus normal + akuades
- B. Tikus normal + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (3398 mg/kg BB)
- C. Tikus diabetes melitus (DM) tipe 2
- D. Tikus diabetes melitus (DM) tipe 2 + metformin 6,3 mg
- E. Tikus diabetes melitus (DM) tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (3398 mg/kg BB)
- F. Tikus diabetes melitus (DM) tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (1 kali pemberian 3398 mg/kg BB)
- G. Tikus diabetes melitus (DM) tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (1 kali pemberian 3398 mg/kg BB)

Gambar 7 menunjukkan bahwa berat badan tikus normal (A) dan tikus normal + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (B) tidak berubah. Hal ini menunjukkan pemberian jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari tidak menghasilkan pengaruh terhadap berat badan tikus normal. Berat badan tikus normal menurut Brandt *et al.* (2000) adalah ≥ 200 g untuk umur 2-3 bulan. Tubuh tikus normal mempertahankan berat badan dengan asupan energi dan pengeluaran kalori tubuh melalui proses homeostatis energi yang seimbang. Otak menerima pengiriman sinyal hormonal, saraf, dan metabolik dari pengaruh keberadaan energi dalam tubuh, yang dapat memelihara berat badan dalam jangka panjang (Okon *et al.*, 2012).

Gambar 7 menunjukkan bahwa berat badan tikus DM tipe 2 (C) lebih rendah daripada tikus normal (A). Hal ini menunjukkan pada tikus DM tipe 2 (C) mengalami penurunan berat badan. (Motshakeri *et al.*, 2013), tikus diabetes

melitus tipe 2 mengalami penurunan berat badan yang signifikan dibanding tikus normal. Selain itu menurut Okon *et al.*, (2012), penurunan berat badan pada penyandang diabetes melitus disebabkan karena sel tidak mampu memanfaatkan glukosa untuk dijadikan energi. Keadaan tersebut akan meningkatkan aktivitas glukoneogenesis, dimana pada jaringan adiposa akan memecah lemak dan protein otot untuk memproduksi energi melalui jalur glukoneogenik, sehingga massa otot menjadi berkurang.

Gambar 7 menunjukkan bahwa berat badan pada tikus DM tipe 2 (C) lebih rendah daripada tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Hal ini menunjukkan pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang berbeda dapat memperbaiki berat badan tikus diabetes melitus tipe 2. Menurut (Motshakeri *et al.*, 2013), pemberian polifenol dalam ekstrak *Sargassum* sp. dapat memperbaiki berat badan pada tikus diabetes melitus tipe 2. Polifenol dapat meningkatkan sensitivitas insulin mengikat reseptor insulin dengan mengaktifkan *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK) pada otot mentranslokasi *glucose transporter-4* (GLUT4) pada membran sel untuk memfasilitasi difusi glukosa darah ke sel (Kim *et al.*, 2016). Polifenol juga meningkatkan aktivitas glukokinase hepatic, yang meningkatkan penggunaan glukosa untuk meningkatkan penyimpanan energi dalam bentuk glikogen, seiring bertambahnya penyimpanan glikogen maka berat badan akan bertambah (Anhe *et al.*, 2013).

Gambar 7 menunjukkan bahwa berat badan tikus DM tipe 2 (C) lebih rendah daripada tikus DM tipe 2 + metformin (D). Hal ini menunjukkan pemberian metformin sebagai obat hipoglikemik oral dapat meningkatkan berat badan tikus DM tipe 2. Menurut (Motshakeri *et al.*, 2013), pemberian metformin mampu meningkatkan berat badan tikus penderita diabetes melitus tipe 2. Pemberian

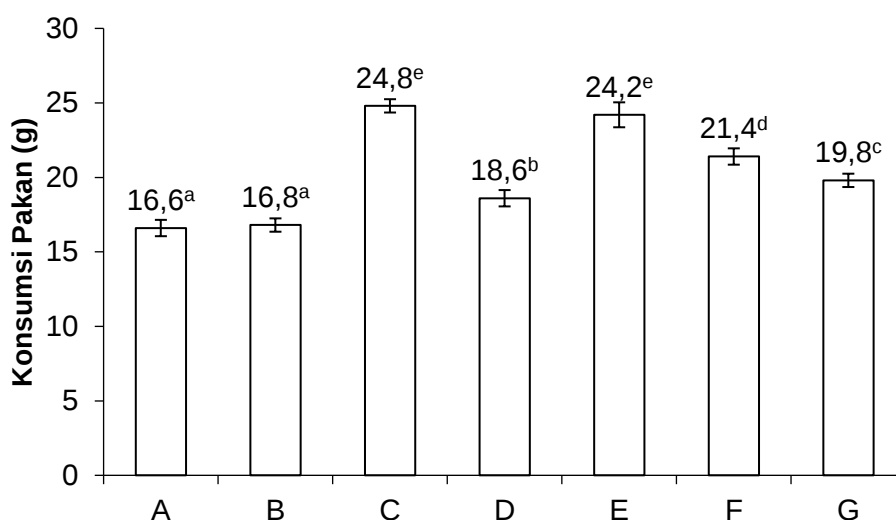
metformin pada penyandang diabetes melitus mampu meningkatkan sensitivitas insulin di jaringan perifer dengan mengaktifkan ekspresi reseptor insulin untuk meningkatkan kerja GLUT-4 yang merupakan distributor glukosa masuk ke dalam sel untuk dapat diubah menjadi energi maupun cadangan energi (Lee *et al.*, 2012). Penyerapan glukosa oleh sel akan menambah cadangan energi menjadi glikogen melalui proses glikogenesis, kemudian disimpan di sel hati dan otot, akan menjadi lemak melalui proses lipogenesis, kemudian disimpan di sel jaringan adiposa. Bertambahnya cadangan energi dan lemak akan meningkatkan berat badan tikus (Sherwood, 2004).

Gambar 7 menunjukkan bahwa berat badan tikus DM + metformin (D) lebih tinggi daripada tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian metformin sebagai obat hipoglikemik oral lebih baik dibandingkan pemberian jus *Sargassum* sp. dalam meningkatkan berat badan tikus penderita diabetes melitus tipe 2. Metformin mencapai plasma maksimal kurang lebih 2 jam setelah konsumsi. Sekitar 90% dosis metformin yang diberikan pada tubuh diekskresikan dalam urin dalam waktu 12 jam, hal ini menunjukkan bahwa metformin memiliki kemampuan afinitas yang tinggi terhadap reseptor (Blough *et al.*, 2015). Pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang berbeda dapat meningkatkan berat badan tikus diabetes melitus tipe 2. Polifenol memiliki kemampuan berinteraksi dengan reseptor yang rendah, karena mudah larut dalam air. Afinitas polifenol terhadap reseptor tergantung pada pemberian frekuensi polifenol itu sendiri, semakin tinggi pemberian frekuensi maka semakin tinggi kemampuan afinitasnya (De Freitas and Mateus, 2001). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang meningkat dapat meningkatkan berat badan tikus diabetes melitus tipe 2 lebih tinggi.

4.2.2 Polifagia

Konsumsi makanan yang berlebihan atau biasa disebut dengan polifagia adalah dampak yang terjadi pada penderita diabetes melitus tipe 2, hal ini disebabkan karena glukosa darah tidak dapat dimanfaatkan oleh sel untuk menghasilkan energi. Pengukuran jumlah konsumsi makanan dilakukan untuk mengetahui perbedaan jumlah makanan yang dikonsumsi tikus antar perlakuan.

Data pengamatan dan analisis data polifagia tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 11. Hasil analisis data menunjukkan bahwa konsumsi makanan tikus antar perlakuan selama pengamatan berbeda sangat nyata ($P < 0,05$), kecuali pada tikus kontrol A dan tikus kontrol B menunjukkan hasil analisis yang sama. Hasil analisis data konsumsi makanan tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Konsumsi Pakan Tikus Antar Perlakuan

Gambar 8 menunjukkan konsumsi makanan tikus normal (A) tidak berbeda dengan tikus normal + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (B).

Raghu *et al.* (2017), konsumsi pakan tikus normal dalam sehari berkisar 16 g.

Hal ini menunjukkan bahwa pemberian polifenol jus *Sargassum* sp. frekuensi 1

kali sehari tidak memberikan pengaruh terhadap konsumsi makanan tikus normal.

Gambar 8 menunjukkan konsumsi makanan tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi daripada tikus normal (A). Hal ini menunjukkan bahwa tikus DM tipe 2 (C) cenderung banyak mengonsumsi makanan. (de Oliveira Carvalho *et al.*, 2016), menunjukkan bahwa tikus penderita diabetes melitus tipe 2 mengonsumsi makanan harian yang lebih banyak daripada tikus normal. Pada penderita diabetes melitus, glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel untuk dijadikan energi, menyebabkan sel mengalami kelaparan yang akan mengaktifkan pusat lapar untuk mengirim sinyal ke otak bahwa tubuh membutuhkan makanan (Okon *et al.*, 2012). Oleh karena itu kurangnya asupan energi yang dibutuhkan sel akan mengakibatkan tikus DM tipe 2 (C) sering merasakan lapar, yang disebabkan dari konsumsi makanan yang berlebihan.

Gambar 8 menunjukkan bahwa konsumsi makanan pada tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi dibandingkan dengan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Hal ini menunjukkan pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang berbeda dapat menurunkan konsumsi makanan tikus DM tipe 2. (de Oliveira Carvalho *et al.*, 2016), menunjukkan bahwa pemberian polifenol mampu menurunkan tingkat konsumsi makanan tikus diabetes melitus. Menurunnya konsumsi makanan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G) merupakan efek dari polifenol yang terkandung dalam jus *Sargassum* sp. yang dapat meningkatkan sensitivitas insulin untuk mengikat reseptor insulin dengan mengaktifkan AMPK pada otot, lalu mentranslokasi GLUT-4 yang berada di membran sel dan memfasilitasi difusi

glukosa darah ke sel, oleh karenanya setelah sel mendapatkan asupan energi maka keinginan tubuh untuk mengkonsumsi makanan menjadi menurun (Kim *et al.*, 2016).

Gambar 8 menunjukkan bahwa konsumsi makanan tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi daripada tikus DM tipe 2 + metformin (D). Hal ini menunjukkan pemberian metformin sebagai obat hipoglikemik oral mampu menurunkan tingkat konsumsi makanan tikus penderita diabetes melitus tipe 2. Menurut (de Oliveira Carvalho *et al.*, 2016), pemberian obat hipoglikemik oral mampu menurunkan konsumsi pakan tikus diabetes melitus. Pemberian metformin pada penyandang diabetes melitus mampu meningkatkan sensitivitas insulin mengikat reseptor sel dengan mengaktifkan AMPK pada otot untuk mentranslokasi GLUT4 yang berada di membran sel sehingga glukosa darah masuk ke dalam sel (Lee *et al.*, 2012). Metformin membantu mempertahankan rasa kenyang setelah makan dengan memperlambat proses pencernaan di lambung, oleh karena itu rasa ingin mengkonsumsi makanan akan menurun atau berkurang (Manaf, 2014).

Gambar 8 menunjukkan bahwa konsumsi makanan pada tikus DM tipe 2 + metformin (D) lebih rendah daripada tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Hal ini menunjukkan pemberian metformin sebagai obat hipoglikemik oral lebih baik daripada jus *Sargassum* sp. dalam menurunkan tingkat konsumsi makanan tikus diabetes melitus tipe 2. Metformin mencapai plasma maksimal kira-kira 2 jam setelah konsumsi. Sekitar 90% dosis metformin yang diberikan pada tubuh diekskresikan dalam urin dalam waktu 12 jam, hal ini menunjukkan bahwa metformin memiliki nilai afinitas tinggi terhadap reseptor (Blough *et al.*, 2015).

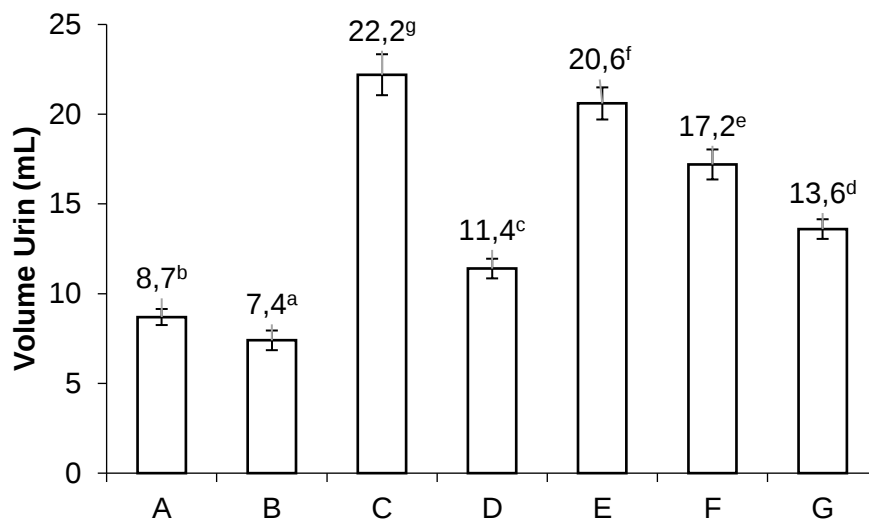
Pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang berbeda dapat menurunkan konsumsi makanan pada tikus diabetes melitus tipe 2. Polifenol memiliki

kemampuan berinteraksi dengan reseptor yang rendah, karena mudah larut dalam air. Afinitas polifenol terhadap reseptor tergantung pada pemberian frekuensi polifenol itu sendiri, semakin tinggi pemberian frekuensi maka semakin tinggi kemampuan afinitasnya (De Freitas and Mateus, 2001). Hal ini menunjukkan bahwa selama perlakuan pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang meningkat dapat menurunkan konsumsi makanan pada tikus diabetes melitus tipe 2.

4.2.3 Poliuria

Sering buang air kecil yang berlebihan atau biasa disebut dengan poliuria merupakan akibat yang terjadi pada penderita diabetes melitus tipe 2, yang disebabkan karena tingginya kadar glukosa darah yang mengakibatkan porsi kerja ginjal meningkat untuk mengurangi glukosa darah dengan menghasilkan urin, sehingga pada penderita diabetes melitus tipe 2 akan sering mengalami buang air kecil. Pengukuran volume urin ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan produksi volume urin tikus antar perlakuan.

Data pengamatan dan analisis poliuria tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 12. Hasil analisis data menunjukkan bahwa perubahan yang terjadi pada volume urin tikus antar perlakuan selama pengamatan berbeda sangat nyata ($P < 0,05$), kecuali pada tikus kontrol A dan tikus kontrol B menunjukkan hasil analisis yang sama. Hasil analisis data volume urin tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Volume Urin Tikus Antar Perlakuan

Gambar 9 menunjukkan volume urin tikus normal (A) dan tikus normal + jus *Sargassum* sp. (B) tidak berbeda nyata. Menurut (de Oliveira Carvalho et al., 2016), volume urin tikus normal berkisar 12 mL. Hal ini menunjukkan pemberian jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari tidak memberikan pengaruh apapun terhadap volume urin tikus normal. Pada tubuh tikus normal tidak terjadi penumpukan glukosa dalam aliran darah karena glukosa dapat tersalurkan secara normal menuju sel-sel dalam seluruh tubuh, sehingga ginjal mampu mensekresi glukosa yang tidak tersalurkan dengan jumlah yang relatif rendah dalam bentuk urin (Yaturu, 2011).

Gambar 9 menunjukkan volume urin tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi daripada tikus normal (A). Hal ini menunjukkan bahwa tikus DM tipe 2 (C) mengalami poliuria. Menurut (de Oliveira Carvalho et al., 2016), menunjukkan bahwa tikus penderita diabetes melitus memproduksi volume urin yang lebih tinggi daripada tikus normal. Selain itu menurut Erwin et al. (2013), poliuria pada penderita diabetes melitus saling berkaitan dengan kadar glukosa darah yang tinggi. Apabila glukosa tidak terserap ke dalam sel maka kadar glukosa darah

semakin tinggi, untuk mengurangi kadar glukosa darah, maka ginjal menghasilkan urin dalam jumlah yang berlebihan yang mengakibatkan penyandang diabetes melitus akan sering buang air kecil.

Gambar 9 menunjukkan volume urin pada tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi daripada tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Hal ini menunjukkan pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang berbeda dapat menurunkan volume urin tikus penderita diabetes melitus tipe 2. Menurut (de Oliveira Carvalho *et al.*, 2016), pemberian polifenol mampu menurunkan volume urin tikus penderita diabetes melitus tipe 2. Polifenol itu sendiri dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan mengikat reseptor sel dengan mengaktifkan AMPK pada otot mentranslokasi GLUT4 pada membran sel untuk memfasilitasi difusi glukosa darah ke sel (Kim *et al.*, 2016).

Gambar 9 menunjukkan volume urin tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi daripada tikus DM + metformin (D). Hal ini menunjukkan pemberian metformin sebagai obat hipoglikemik oral mampu menurunkan volume urin tikus penderita diabetes melitus tipe 2. Menurut (de Oliveira Carvalho *et al.*, 2016), pemberian obat hipoglikemik mampu menurunkan volume urin pada tikus diabetes melitus. Pemberian metformin pada penyandang diabetes melitus mampu meningkatkan sensitivitas insulin mengikat reseptor sel dengan mengaktifkan AMPK pada otot untuk meningkatkan kerja GLUT4 mentranslokasi membran sel sehingga glukosa darah masuk ke sel (Lee *et al.*, 2012). Glukosa darah yang masuk ke dalam sel akan berubah menjadi energi, yang dapat mengurangi kinerja ginjal dalam memproduksi urin akibatnya dapat menurunkan glukosa darah dan volume urin yang dikeluarkan menjadi lebih sedikit (Jiang *et al.*, 2014).

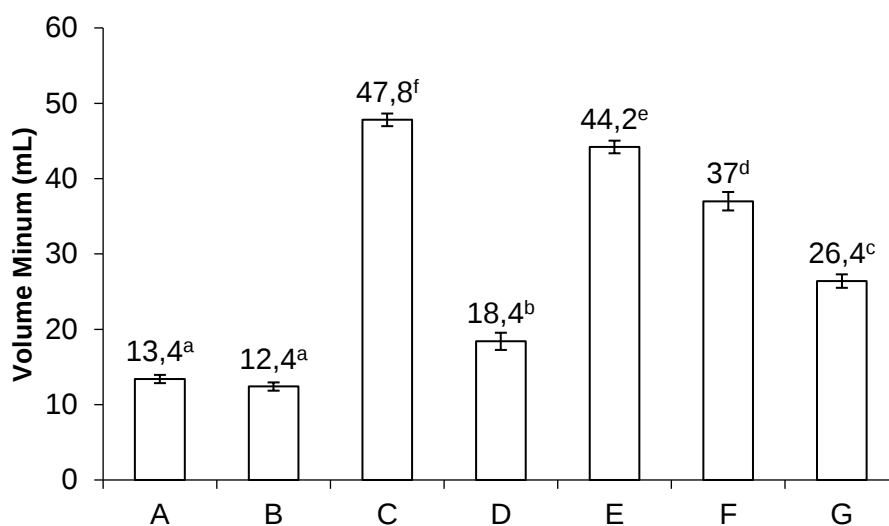
Gambar 9 menunjukkan volume urin pada tikus DM + metformin (D) lebih rendah daripada tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Hal ini menunjukkan pemberian metformin sebagai obat hipoglikemik oral lebih baik daripada jus *Sargassum* sp. dalam menurunkan volume urin tikus penderita diabetes melitus tipe 2. Metformin mencapai plasma maksimal kurang lebih 2 jam setelah konsumsi. Sekitar 90% dosis metformin yang diberikan pada tubuh diekskresikan dalam urin dalam waktu 12 jam, hal ini menunjukkan bahwa metformin sendiri memiliki nilai afinitas yang tinggi terhadap reseptor (Blough *et al.*, 2015). Pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang berbeda dapat menurunkan produksi volume urin tikus penderita diabetes melitus tipe 2. Polifenol memiliki kemampuan beradaptasi dengan reseptor yang rendah, karena mudah larut dalam air. Afinitas polifenol terhadap reseptor tergantung pada pemberian frekuensi polifenol itu sendiri, semakin tinggi pemberian frekuensi maka semakin tinggi kemampuan afinitasnya (De Freitas and Mateus, 2001). Hal ini menunjukkan bahwa seiring dengan pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang meningkat dapat menurunkan produksi volume urin tikus penderita diabetes melitus tipe 2 lebih rendah.

4.2.4 Polidipsia

Konsumsi air minum yang berlebihan atau biasa disebut dengan polidipsia adalah akibat yang terjadi pada penderita diabetes melitus tipe 2, hal ini disebabkan karena tubuh yang mengalami dehidrasi akibat banyaknya air yang terbuang melalui urin untuk mengurangi kadar glukosa darah. Sehingga pada penderita diabetes melitus tipe 2 akan minum yang banyak. Pengukuran volume

minum ini dilakukan untuk mengetahui perbedaan konsumsi volume air minum tikus antar perlakuan.

Data pengamatan dan analisis data polidipsia tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 13. Hasil analisis data menunjukkan bahwa tingkat konsumsi air minum tikus antar perlakuan pada akhir pengamatan menunjukkan hasil yang berbeda sangat nyata ($P < 0,05$), kecuali pada tikus kontrol A dan tikus kontrol B menunjukkan hasil analisis yang sama. Hasil analisis data konsumsi air minum tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Konsumsi Air Minum Tikus Antar Perlakuan

Gambar 10 menunjukkan tingkat konsumsi air minum pada tikus normal (A) dan tikus normal + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (B) tidak terdapat perbedaan. Menurut (Sinata and Arifin, 2016), volume minum pada tikus normal adalah kurang dari 20 mL. Hal ini menunjukkan pemberian jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari tidak memberikan pengaruh apapun terhadap konsumsi air minum di tikus normal. Pada tubuh tikus normal tidak terjadi penumpukan glukosa dalam aliran darah sehingga ginjal dapat menarik glukosa yang tidak terdistribusi menuju sel untuk disekresikan dalam bentuk urin.

sehingga tikus tidak mengalami dehidrasi dan volume minum tikus tetap normal (Yaturu, 2011).

Gambar 10 menunjukkan tingkat konsumsi air minum tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi daripada tikus normal (A). Hal ini menunjukkan bahwa tikus DM tipe 2 (C) mengalami polidipsia. Menurut (de Oliveira Carvalho et al., 2016), menunjukkan bahwa tikus diabetes melitus yang tidak ditangani akan mengkonsumsi air minum lebih banyak dibandingkan dengan tikus normal.

Terjadinya polidipsia karena kurangnya sensitivitas insulin dalam membantu sel menerima glukosa darah, akibatnya glukosa darah meningkat. Glukosa yang tidak terserap oleh sel akan menjadi zat terlarut osmotik, kemudian apabila kadar glukosa melebihi kapasitas ginjal, maka ginjal akan mensekresi glukosa dalam bentuk urin yang menyebabkan ginjal membuahkan lebih banyak air dari tubuh. Tubuh akan merasakan dehidrasi, maka pusat haus merangsang tubuh untuk minum lebih banyak lagi (Okon et al., 2012; Kavishankar and Lakshmidivi, 2014).

Gambar 10 menunjukkan tingkat konsumsi air minum pada tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi daripada tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Hal ini menunjukkan pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang berbeda dapat menurunkan konsumsi air minum tikus penderita diabetes melitus tipe 2. Menurut (de Oliveira Carvalho et al., 2016), pemberian polifenol mampu menurunkan tingkat konsumsi air minum pada tikus diabetes melitus. Polifenol dapat meningkatkan sensitivitas insulin mengikat reseptor sel dengan mengaktifkan AMPK pada otot mentranslokasi GLUT4 pada membran sel untuk memfasilitasi difusi glukosa darah ke sel (Kim et al., 2016).

Gambar 10 menunjukkan tingkat konsumsi air minum tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi daripada tikus DM + metformin (D). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian metformin sebagai obat hipoglikemik oral mampu menurunkan konsumsi air minum tikus penderita diabetes melitus tipe 2. Menurut (de Oliveira Carvalho *et al.*, 2016), pemberian obat hipoglikemik mampu menurunkan polidipsia pada tikus diabetes melitus. Pemberian metformin pada penyandang diabetes melitus mampu meningkatkan sensitivitas insulin mengikat reseptor sel dengan mengaktifkan AMPK pada otot untuk mentranslokasi GLUT4 yang berada di membran sel sehingga glukosa darah masuk ke sel (Lee *et al.*, 2012). Penurunan tingkat konsumsi air minum pada tikus diabetes melitus tipe 2 yang diberi metformin merupakan akibat dari penurunan kadar glukosa dalam darah, sehingga homeostatis glukosa dalam tubuh tidak menimbulkan glukosuria diuresis osmotik yang dapat mengakibatkan tubuh merasakan dehidrasi.

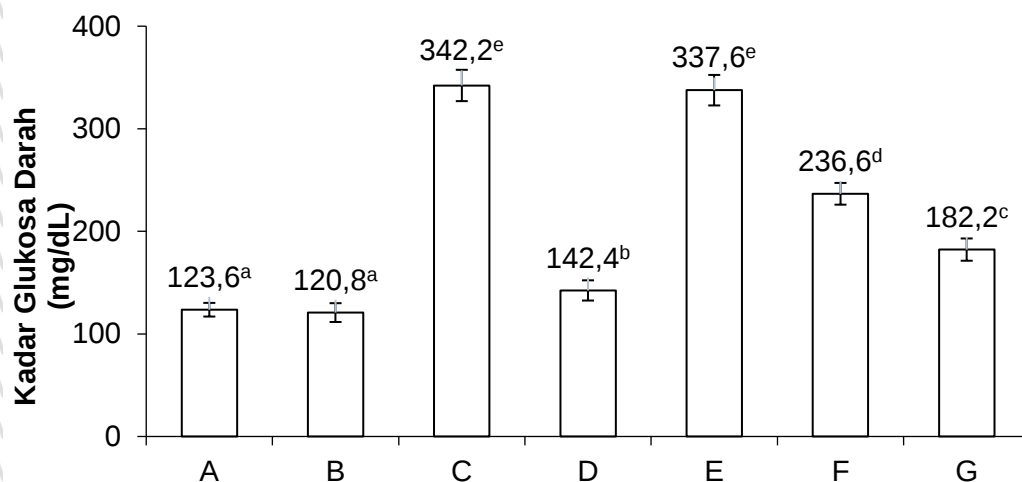
Gambar 10 menunjukkan tingkat konsumsi air minum pada tikus DM + metformin (D) lebih rendah daripada tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian metformin sebagai obat hipoglikemik oral lebih baik dibandingkan dengan jus *Sargassum* sp. dalam menurunkan tingkat konsumsi air minum tikus diabetes melitus tipe 2. Metformin mencapai plasma maksimal kurang lebih 2 jam setelah konsumsi. Sekitar 90% dosis metformin yang diberikan pada tubuh diekskresikan dalam urin dalam waktu 12 jam, hal ini metformin memiliki nilai afinitas tinggi terhadap reseptor (Blough *et al.*, 2015). Pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang berbeda dapat menurunkan konsumsi air minum badan tikus diabetes melitus tipe 2. Polifenol memiliki kemampuan berinteraksi dengan reseptor yang rendah, karena mudah larut dalam air. Afinitas polifenol terhadap reseptor tergantung pada pemberian

frekuensi polifenol itu sendiri, semakin tinggi pemberian frekuensi maka semakin tinggi kemampuan afinitasnya (De Freitas and Mateus, 2001). Hal ini menunjukkan bahwa seiring dengan pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang meningkat dapat menurunkan konsumsi air minum tikus diabetes melitus tipe 2 lebih rendah.

4.3 Kadar Glukosa Darah

Glukosa darah merupakan tingkat kadar glukosa yang berada di aliran darah. Konsentrasi glukosa darah atau tingkat glukosa serum diatur di dalam tubuh. Glukosa yang dialirkan melalui darah adalah sumber utama energi untuk sel-sel tubuh. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan untuk mengetahui perbedaan kadar glukosa darah tikus antar perlakuan.

Data pengamatan dan analisis data kadar glukosa darah tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 14. Hasil analisis data menunjukkan bahwa glukosa darah tikus antar perlakuan pada akhir pengamatan berbeda sangat nyata ($P < 0,05$), kecuali pada tikus kontrol A dengan tikus kontrol B menunjukkan hasil analisis yang sama. Hasil analisis data kadar glukosa darah tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Kadar Glukosa Darah Tikus Antar Perlakuan

Gambar 11 menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus normal (A) dan tikus normal + jus *Sargassum* sp. (B) normal. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. 1 kali sehari dapat mengontrol kadar glukosa darah tikus tetap berada dalam rentang normal. Kadar glukosa darah menurut (American Diabetes Association, 2011) pada individu normal kurang dari 200 mg/dL. (Hanhineva et al., 2010), karbohidrat yang dicerna di saluran gastrointestinal menjadi monosakarida kemudian diserap ke aliran darah, membuat konsentrasi glukosa dalam darah meningkat. Konsentrasi glukosa yang meningkat mendorong sel β -pankreas mensekresi insulin sesuai konsentrasi dalam darah untuk dapat diserap oleh sel. Metabolisme glukosa di dalam sel sebagai bahan bakar untuk dijadikan energi oleh tubuh untuk homeostatis glukosa.

Gambar 11 menunjukkan kadar glukosa darah tikus normal (A) lebih rendah dibanding tikus DM tipe 2 (C). Hal ini menunjukkan bahwa tikus DM tipe 2 (C) mengalami hiperglikemia. (Motshakeri et al., 2013), menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2 lebih tinggi dibanding tikus normal. Hal ini dimungkinkan karena tikus diabetes melitus tipe 2 mengalami hiperglikemia akibat resistensi insulin. Resistensi insulin dapat menghambat penyerapan glukosa darah oleh sel untuk dijadikan energi, akibatnya glukosa darah akan meningkat sehingga terjadi hiperglikemia (Surya et al., 2014).

Gambar 11 menunjukkan kadar glukosa darah tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi dibanding tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang berbeda dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2. (Motshakeri et al., 2013), menunjukkan bahwa polifenol dari ekstrak *Sargassum* sp. dapat menurunkan

kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2. Menurunnya kadar glukosa darah tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G) merupakan efek polifenol yang dapat meningkatkan sensitivitas insulin mengikat *insulin receptor substrate-1* (IRS-1) untuk mengaktifkan AMPK pada otot mentranslokasi GLUT4 pada membran sel untuk memfasilitasi difusi glukosa darah ke sel (Kim *et al.*, 2016). (Sharifuddin *et al.*, 2015), polifenol juga dapat menghambat aktivitas enzim α -amilase yang berperan dalam memecah pati menjadi karbohidrat dan enzim α -glukosidase yang mengkonversi karbohidrat menjadi glukosa untuk disalurkan ke dalam sel melalui sirkulasi darah setelah mengkonsumsi makanan untuk menurunkan kadar glukosa darah.

Gambar 11 menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi dibanding tikus DM tipe 2 + metformin (D). Hal ini menunjukkan bahwa metformin sebagai obat hipoglikemik oral mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2. (Motshakeri *et al.*, 2013), menunjukkan bahwa pemberian metformin pada tikus diabetes melitus tipe 2 memiliki kadar glukosa darah lebih rendah dibanding tikus kontrol positif. Pemberian metformin pada penyandang diabetes melitus mampu meningkatkan sensitivitas insulin mengikat *insulin receptor substrate-1* (IRS-1) untuk mengaktifkan AMPK mentranslokasi GLUT 4 pada membran sel yang merupakan protein distributor glukosa masuk ke dalam sel (Lee *et al.*, 2012).

Gambar 11 menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus DM tipe 2 (D) lebih rendah dibanding tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian metformin sebagai obat hipoglikemik oral lebih

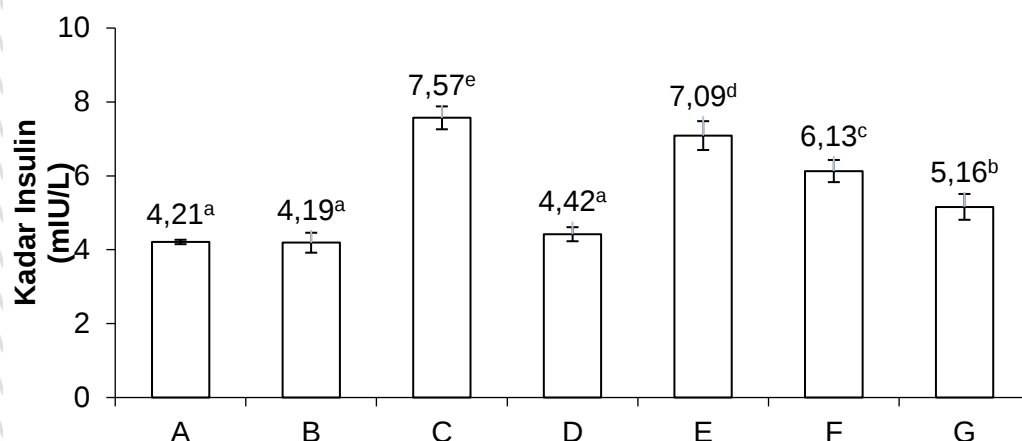
baik dibanding jus *Sargassum* sp. dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2. Metformin mencapai plasma maksimal kira-kira 2 jam setelah konsumsi. Sekitar 90% dosis metformin yang diberikan pada tubuh diekskresikan dalam urin dalam waktu 12 jam, hal ini menunjukkan bahwa metformin memiliki nilai afinitas tinggi terhadap reseptor (Blough *et al.*, 2015).

Pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang berbeda dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2. Polifenol memiliki kemampuan berinteraksi dengan reseptor yang rendah, karena mudah larut dalam air. Afinitas polifenol terhadap reseptor tergantung pada pemberian frekuensi polifenol itu sendiri, semakin tinggi pemberian frekuensi maka semakin tinggi kemampuan afinitasnya (De Freitas and Mateus, 2001). Hal ini menunjukkan bahwa seiring dengan pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang meningkat dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2 lebih rendah.

4.4 Kadar Insulin

Hasil analisis data kadar insulin tikus antar perlakuan menunjukkan bahwa antar perlakuan pada akhir pengamatan berbeda sangat nyata ($P < 0,05$), kecuali pada tikus kontrol A dengan tikus kontrol B menunjukkan hasil analisis yang sama. Insulin adalah hormon peptida yang diproduksi oleh sel beta pankreas yang berperan untuk mengikat glukosa darah agar dapat dimanfaatkan oleh sel untuk dijadikan energi.

Pengukuran kadar insulin dilakukan untuk mengetahui sensitivitas reseptor insulin dalam mengetahui keberadaan hormon insulin. Data pengamatan dan analisis data kadar insulin tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 16. Hasil analisis data kadar insulin tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Kadar Insulin Tikus Antar Perlakuan

Pada Gambar 12 dapat dilihat bahwa kadar insulin tertinggi terdapat pada DM tipe 2 (C). Hal ini menunjukkan bahwa tikus DM tipe 2 (C) mengalami diabetes melitus tipe 2 akibat resistensi insulin. Hal ini didukung oleh penelitian (Park *et al.*, 2015), yang menunjukkan bahwa kadar insulin tikus diabetes melitus tipe 2 lebih tinggi dibanding tikus kontrol negatif. Di usus terjadi pemecahan karbohidrat menjadi glukosa dan diserap ke dalam darah, peningkatan kadar glukosa darah akan merangsang sel β -pankreas mensekresi insulin. Insulin dapat mengikat reseptor sel untuk memudahkan masuknya glukosa ke dalam sel menjadi energi. Sekresi insulin yang mengalami peningkatan dalam penyerapan glukosa ke dalam sel, dapat menurunkan kadar glukosa darah, sebaliknya apabila kadar glukosa darah sudah menurun maka sekresi insulin juga akan menurun (Surya *et al.*, 2014).

Setelah mengkonsumsi makanan, kadar insulin yang cukup dilepaskan ke aliran darah oleh sel β -pankreas, hal itu akan meningkatkan kadar insulin darah. Pelepasan insulin pasca-prandial, serta peningkatan kadar glukosa darah menghambat sekresi glukagon hati dan ginjal ke dalam sirkulasi darah, yang mempengaruhi pengambilan glukosa ke berbagai jaringan (Sharifuddin *et al.*, 2015). Resistensi insulin mengakibatkan penurunan kemampuan *insulin receptor*

substrate-1 (IRS-1) pada reseptor insulin, yang menyebabkan penurunan aktivasi AMPK yang mengganggu membran sel mentranslokasi GLUT 4. GLUT 4 merupakan protein sebagai distributor glukosa darah yang distimulasi oleh insulin untuk disalurkan ke dalam sel, sehingga glukosa darah tidak dapat disalurkan ke dalam dan terjadi akumulasi dalam darah (Handayani *et al.*, 2009).

Kadar insulin tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi dibanding tikus DM tipe 2 + metformin (D) (Gambar 12). Hal ini menunjukkan bahwa metformin sebagai obat hipoglikemik oral mampu meningkatkan sensitivitas insulin terhadap reseptor insulin. Insulin yang terdapat dalam darah dapat digunakan untuk membantu glukosa masuk ke dalam sel tikus diabetes melitus tipe 2. Menurut (Pournaghi *et al.*, 2012), terapi metformin pada tikus diabetes melitus tipe 2 dapat meningkatkan kembali sensitivitas insulin. Peningkatan sensitivitas insulin oleh metformin pada diabetes melitus tipe 2 dengan meningkatkan kerja insulin pada IRS-1 (Viollet *et al.*, 2012). Pengikatan insulin pada IRS-1 akan mengaktifkan AMPK untuk mentranslokasi GLUT-4 yang berada di membran sel untuk memfasilitasi difusi glukosa darah ke sel (Grisouard *et al.*, 2010).

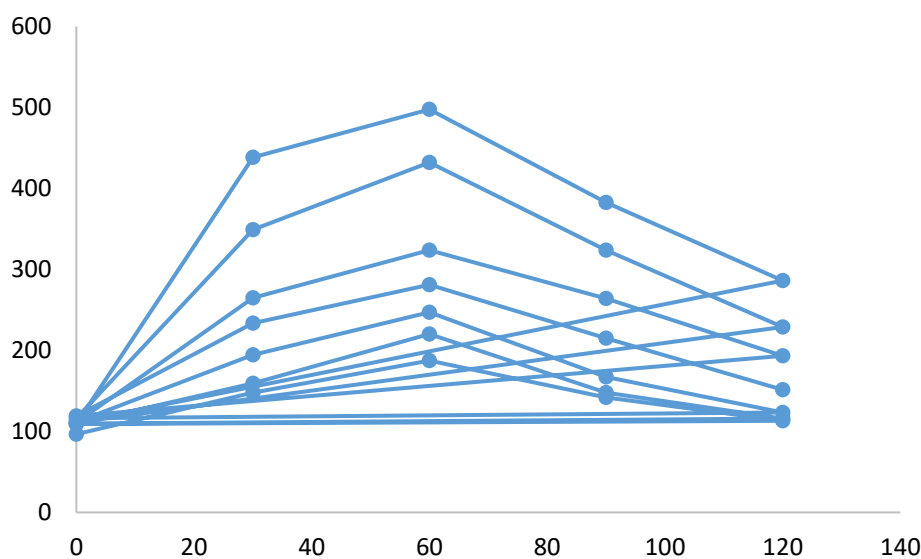
Gambar 12 menunjukkan bahwa kadar insulin tikus DM tipe 2 + metformin (D) lebih rendah dibanding tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Pemberian metformin sebagai obat hipoglikemik oral menunjukkan hasil yang lebih baik dibanding jus *Sargassum* sp. dalam menurunkan resistensi insulin tikus diabetes melitus tipe 2. Waktu yang dibutuhkan metformin untuk mencapai plasma maksimal kira-kira 2 jam setelah konsumsi. Sekitar 90% dosis metformin yang diberikan pada tubuh diekskresikan dalam urin dalam waktu 12 jam, hal ini menunjukkan bahwa metformin memiliki nilai afinitas tinggi terhadap reseptor (Blough *et al.*, 2015). Pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang berbeda

dapat menurunkan resistensi insulin tikus diabetes melitus tipe 2. Polifenol memiliki kemampuan berinteraksi dengan reseptor yang rendah, karena mudah larut dalam air. Afinitas polifenol terhadap reseptor tergantung pada pemberian frekuensi polifenol itu sendiri, semakin tinggi pemberian frekuensi maka semakin tinggi kemampuan afinitasnya (De Freitas dan Mateus, 2001). Hal ini menunjukkan bahwa seiring dengan pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. yang meningkat dapat menurunkan resistensi insulin tikus diabetes melitus tipe 2 lebih rendah.

4.5 Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO)

Pengukuran tes toleransi glukosa darah (TTGO) dilakukan untuk mengetahui kemampuan tubuh dalam menggunakan glukosa yang dialirkan melalui darah yang dijadikan sumber utama energi untuk sel-sel tubuh. Tes toleransi glukosa oral juga berfungsi untuk mendiagnosis prediabetes dan diabetes. Pengukuran kadar toleransi glukosa darah pada tikus ini bertujuan untuk membandingkan tikus normal dan tikus diabetes melitus.

Data pengamatan dan analisis data TTGO kadar glukosa darah tikus antar perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 15. Hasil analisis data menunjukkan bahwa TTGO kadar glukosa darah tikus antar perlakuan selama pengamatan berbeda sangat nyata ($P < 0,05$). Perubahan TTGO kadar glukosa darah tikus antar perlakuan pada akhir penelitian dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. TTGO Tikus Antar Perlakuan

Gambar 13 menunjukkan hasil TTGO pada tikus normal (A) dan tikus normal + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (B) mengalami peningkatan kadar glukosa darah di titik tertinggi pada menit ke-60, namun selanjutnya mengalami penurunan pada menit ke-90 hingga menit ke-120. Menurut (Souza *et al.*, 2009) hasil pengamatan toleransi glukosa darah pada tikus normal setelah dibebani glukosa secara oral akan berada pada rentang normal yaitu ≤ 200 mg/dL pada menit ke-120. Peningkatan kadar glukosa darah yang terjadi pada tikus normal (A) dan tikus normal + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (B) tidak memperlihatkan bahwa tikus tersebut mengalami hiperglikemia. Penurunan kadar glukosa darah yang terjadi hingga menit ke-120 juga memperlihatkan bahwa masih berada dalam rentang normal. Karbohidrat yang dicerna di saluran gastrointestinal menjadi monosakarida kemudian diserap ke aliran darah, membuat konsentrasi glukosa dalam darah meningkat. Konsentrasi glukosa yang meningkat mendorong sel β -pankreas mensekresi insulin untuk menstimulasi darah sehingga dapat diserap oleh sel (Hanhineva *et al.*, 2010).

Gambar 13 menunjukkan hasil TTGO pada tikus DM tipe 2 (C) mengalami peningkatan kadar glukosa darah yang lebih tinggi dibanding tikus normal (A).

Peningkatan kadar glukosa darah tikus normal (A) dan tikus DM tipe 2 (C) terjadi pada menit ke-60 yang menjadi titik tertinggi kadar glukosa darah, selanjutnya mengalami penurunan hingga menit ke-120. Pada tikus DM tipe 2 (C) kadar glukosa darah pada menit ke-120 masih mengalami hiperglikemia, berbeda dengan tikus kontrol A yang menunjukkan kadar glukosa darah normal. (Wu *et al.*, 2013), menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus diabetes melitus mengalami peningkatan tertinggi pada menit ke-60, kemudian mengalami penurunan kadar glukosa darah hingga menit ke-120 namun masih mengalami hiperglikemia. (Souza *et al.*, 2009) hasil pengamatan toleransi glukosa darah pada tikus normal setelah dibebani glukosa secara oral akan berada pada rentang normal yaitu ≤ 200 mg/dL pada menit ke-120. Resistensi insulin mempunyai hubungan dalam diabetes melitus, dimana jika terjadi resistensi insulin dapat mempengaruhi penyerapan glukosa darah oleh sel untuk dijadikan energi, akibatnya glukosa darah akan meningkat sehingga terjadi hiperglikemia (Surya *et al.*, 2014).

Gambar 13 menunjukkan bahwa hasil TTGO dengan kadar glukosa darah pada tikus DM tipe 2 (C) lebih tinggi dibanding tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G) hingga menit ke-120. Pemberian polifenol jus *Sargassum* sp. dengan frekuensi yang meningkat pada tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G) memperlihatkan penurunan kadar glukosa darah pada rentang normal hingga menit ke-120. (Souza *et al.*, 2009) hasil pengamatan toleransi glukosa darah pada tikus normal setelah dibebani glukosa secara oral akan berada pada tingkat normal yaitu ≤ 200 mg/dL pada menit ke-120. Polifenol menurunkan kadar glukosa darah dengan menunda pemecahan karbohidrat menjadi glukosa, dengan menghambat aktivitas enzim α -amilase dan α -

glukosidase, menekan pelepasan glukosa dari hati, dan membantu penyerapan glukosa pada jaringan perifer (Hanhineva *et al.*, 2010). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. 3 kali sehari pada tikus diabetes melitus tipe 2 yang diamati toleransi glukosa mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga rentang normal pada menit ke-120. Menurut penelitian (Yang *et al.*, 2017), pemberian polifenol yang berulang sebanyak lebih dari 1 kali dalam sehari dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes melitus tipe 2.

Gambar 13 menunjukkan bahwa hasil TTGO kadar glukosa darah pada tikus DM tipe 2 + metformin (D) lebih rendah dibanding tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 1 kali sehari (E), tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 2 kali sehari (F), dan tikus DM tipe 2 + jus *Sargassum* sp. frekuensi 3 kali sehari (G). Pemberian metformin pada tikus DM tipe 2 + metformin (D) mampu menurunkan kadar glukosa darah hingga rentang normal pada menit ke-120. (Souza *et al.*, 2009) hasil pengamatan toleransi glukosa darah pada tikus normal setelah dibebani glukosa secara oral akan berada pada tingkat normal yaitu ≤ 200 mg/dL pada menit ke-120. Metformin dapat meningkatkan sensitivitas insulin untuk penyerapan glukosa di sel otot dan hati, termasuk penurunan produksi glukosa hati, meningkatkan penyerapan glukosa di jaringan perifer, dan memperbaiki ekspresi reseptor insulin (Lee *et al.*, 2012). Semakin cepat dan semakin menurun kadar glukosa darah, dapat membuktikan peningkatan sensitivitas insulin terhadap reseptor insulin (American Diabetes Association, 2017).

4.6 Uji ELISA IL-6

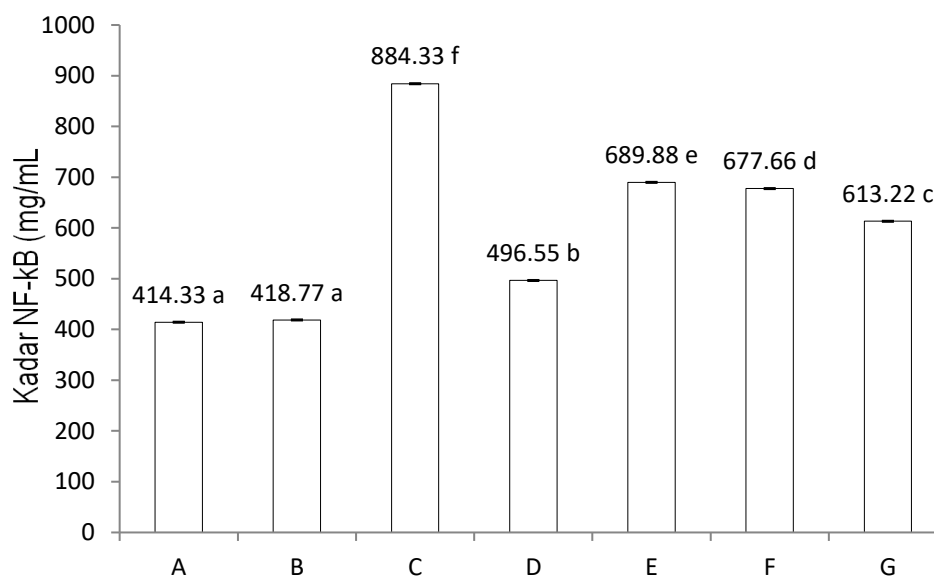
Interleukin – 6 merupakan sitokin dengan fungsi yang bermacam-macam. IL-6 adalah regulator kekebalan tubuh dan respon inflamasi (Satoru *et al.*, 2009). IL-6 adalah sitokin yang disekresi dari jaringan tubuh ke dalam plasma darah,

terutama pada fase infeksi akut (Besung *et al.*, 2016). Peningkatan kadar IL-6 dalam plasma darah dapat menyebabkan pelebaran pembuluh aorta (Akerman *et al.*, 2018). Selain pada aorta, kerusakan oksidatif sel otak karena tingginya kerusakan lipid pada otak yang diakibatkan oleh meningkatnya IL-6 dalam tubuh penyandang DM dapat menyebabkan terjadinya gangguan pada membran sel dalam otak dan berakibat terjadinya kegagalan neurogenerasi pada otak (Tehranipour dan Erfani, 2011). Neurogenerasi adalah proses yang dilakukan oleh otak untuk menghasilkan neuron dari sel induk untuk memperbaiki neurokoneksi dalam otak. Oleh karena itu diperlukan adanya pemanfaatan senyawa bioaktif dari *Sargassum* sp. untuk menurunkan radikal bebas dalam tubuh sehingga peningkatan kadar IL-6 dapat dihambat.

4.6.1 Aorta

Pengukuran kadar IL-6 pada aorta tikus ini bertujuan untuk membandingkan tikus normal dan penyandang diabetes mellitus. Terjadinya diabetes mellitus akan mengakibatkan penyakit kronis pada sel aorta yang disebut arterosklerosis. Munculnya penyakit tersebut dapat meningkatkan aktivitas IL-6 sehingga menyebabkan terjadinya inflamasi pada organ tersebut. Berdasarkan gejala inflamasi tersebut dapat diketahui perbedaan ekspresi IL-6 pada aorta masing-masing perlakuan.

Data pengamatan dan analisis uji ELISA IL-6 pada aorta yang telah diberikan ekstrak jus *Sargassum* sp. dapat dilihat pada Lampiran 17. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus uji antar perlakuan berbeda nyata ($p < 0,05$). Perubahan ekspresi IL-6 pada aorta tikus normal dan tikus penyandang diabetes melitus yang telah diberi jus *Sargassum* sp. dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar 14. Hasil Uji ELISA IL-6 pada Aorta

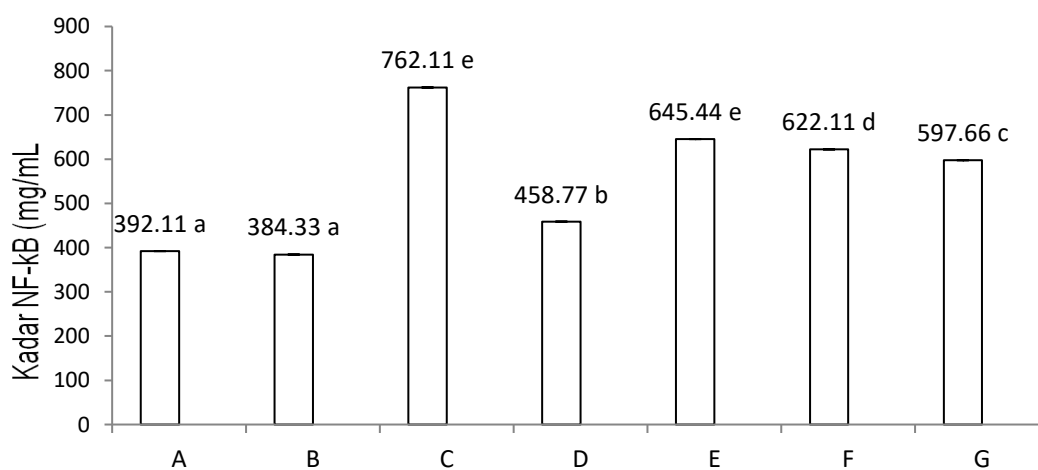
Data uji IL-6 yang terdapat pada aorta menunjukkan bahwa ekspresi IL-6 pada organ tikus normal (A) dan tikus normal dengan penambahan jus *Sargassum* sp. 1 kali sehari (B) tetap normal. Pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. 1 kali hari menunjukkan bahwa IL-6 pada aorta tidak memberikan pengaruh. Menurut Krovat (2005) pemberian polifenol sebagai zat antidiabetes dengan frekuensi rendah (1 kali per hari) tidak cukup untuk menurunkan ekspresi IL-6 pada organ tikus diabetes melitus karena polifenol memiliki afinitas yang rendah.

Ekspresi IL-6 pada aorta diabetes melitus tipe 2 (C) lebih tinggi dibandingkan dengan tikus normal (A). Hal ini menunjukkan bahwa tikus C mengalami diabetes melitus tipe 2 yang dapat menyebabkan stroke melalui kemampuannya dalam menebalkan pembuluh darah aorta. Menurut Dinata et al. (2013) penebalan yang terjadi akan mengakibatkan diameter pembuluh darah mengecil sehingga menyebabkan gangguan aliran darah ke otak yang berujung pada kematian sel-sel otak.

Ekspresi IL-6 pada tikus C lebih tinggi dibandingkan dengan tikus D. Hal ini menunjukkan bahwa metformin yang merupakan obat hipoglikemik oral mampu mempengaruhi ekspresi IL-6 pada aorta tikus diabetes melitus tipe 2 akibat terjadinya inflamasi pada aorta tersebut. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Elbe et al. (2014) menemukan bahwa STZ dapat mengganggu oksidasi glukosa

4.6.2 Ginjal

Terjadinya diabetes mellitus dapat menyebabkan penyakit kronis pada ginjal yang disebut nefropati. Munculnya nefropati dapat meningkatkan aktivitas IL-6. Data pengamatan dan analisis uji data ELISA IL-6 pada ginjal yang telah diberi ekstrak jus *Sargassum* sp. dapat dilihat pada Lampiran 18. Hasil analisis data menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus coba antar perlakuan pada akhir masa penelitian berbeda nyata ($p < 0,05$). Perubahan ekspresi IL-6 pada ginjal tikus normal dan tikus diabetes melitus yang diberi jus *Sargassum* sp. pada akhir masa penelitian dapat dilihat pada Gambar 15 :



Gambar 15. Hasil Uji ELISA IL-6 pada Ginjal

Data uji ELISA yang terdapat pada ginjal (Gambar 15) menunjukkan bahwa ekspresi IL-6 pada ginjal tikus normal (A) dan tikus normal dengan penambahan

jus *Sargassum* sp. 1 kali sehari (B) tetap normal. Pemberian frekuensi jus *Sargassum* sp. 1 kali sehari menunjukkan bahwa IL-6 pada aorta tidak memberikan pengaruh. Menurut Krovat (2005) Pemberian polifenol sebagai zat antidiabetes dengan frekuensi rendah (1 kali per hari) tidak cukup untuk menurunkan eksresi IL-6 pada organ tikus diabetes mellitus karena polifenol memiliki afinitas yang rendah.

Jika dilihat pada Gambar 15 ekspresi IL-6 pada aorta diabetes mellitus tipe 2 (C) lebih tinggi dibanding tikus normal (A). Hal ini menunjukkan bahwa tikus diabetes mellitus tipe 2 (C) terjadi inflamasi pada ginjal. Inflamasi dapat meningkat pada ginjal tikus diabetes mellitus yang diberikan oleh streptozotocin. Hal ini juga didukung oleh penelitian Dewi dan Tamyanti (2015), bahwa kondisi hiperglikemia, dapat membentuk AGEs yang merupakan salah satu jalur yang terlibat didalamnya, AGE akan merangsang pengaktifan IL-6 karena ada pengaruh stress oksidatif serta zat radikal bebas.

Metformin dapat menghambat aktivasi NF- κ B dengan mencegah terjadinya fosforilasi gen κ B oleh κ B kinase yang dapat mendorong degradasi κ Ba. κ B tersebut merupakan pengendali aktivasi NF- κ B yang kemudian akan ditranslokasikan ke nukleus, dimana akan mengaktifkan protein inflamasi seperti IL-1 β , IL-6 dan TNF- α . (Kim *et al.*, 2010). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekspresi IL-6 pada tikus diabetes mellitus tipe 2 (C) lebih tinggi dari tikus diabetes mellitus + metformin (D) (Gambar 15.). Hal ini menunjukkan pengobatan hiperglikemia dengan metformin mampu mengurangi kadar IL-6.

Pada Gambar 15. Tikus diabetes mellitus + jus *Sargassum* sp. Perlakuan E, F, dan G mempunyai hasil yang lebih rendah di bandingkan dengan tikus diabetes mellitus C. Gambar diatas juga menunjukkan bahwa semakin banyak dosis yang diberikan maka semakin rendah juga inflamasi yang terjadi pada ginjal.

5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

Pemberian jus *Sargassum* sp. terhadap penyandang diabetes militus tipe 2 mampu menurunkan kadar glukosa darah dan pada ekspresi ELISA IL-6 terhadap aorta dan ginjal pada tikus diabetes militus tipe 2 menghasilkan belum mencapai titik normal.

5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya disarankan adanya penngunaan frekuensi dalam pemeberian jus dan penambahan dosis yang optimal untuk meingkatkan efektifitas jus *Sargassum* sp dalam mengobati penyakit *diabetes militus*.

DAFTAR PUSATAKA

Abbas, A., Lichtman, A.H., Pillai, S., 2015. Functions and Disorders of the Immune System, 5th ed, Basic Immunology. Elsevier, California.

Abdul, Q.A., Choi, R.J., Jung, H.A., Choi, J.S., 2016. Health benefit of fucosterol from marine algae: a review: Health benefit of fucosterol. J. Sci. Food Agric. 96, 1856–1866. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7489>

Adlhani, E., 2014. Penapisan Kandungan Fitokimia Pada Buah Labu Kuning (*Cucurbita moschata*). J. Teknol. Ind. 3, 6.

Akerman, A.W., Stroud, R.E., Barrs, R.W., Grespin, R.T., McDonald, L.T., LaRue, R.A.C., Mukherjee, R., Ikonomidis, J.S., Jones, J.A., Ruddy, J.M., 2018. Elevated Wall Tension Initiates Interleukin-6 Expression and Abdominal Aortic Dilation. Ann. Vasc. Surg. 46, 193–204. <https://doi.org/10.1016/j.avsg.2017.10.001>

American Diabetes Association, 2017. *Standards of Medical Care in Diabetes—2017* Abridged for Primary Care Providers. Clin. Diabetes 35, 5–26. <https://doi.org/10.2337/cd16-0067>

American Diabetes Association, 2011. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 34, S62–S69. <https://doi.org/10.2337/dc11-S062>

Asfar, N.W., 2015. Uji Toksisitas Akut Alga Coklat (*Sargassum* Sp) Terhadap Mencit (*Mus musculus*). Universitas Hasanuddin, Makassar.

Bahadoran, Z., Mirmiran, P., Azizi, F., 2013. Dietary polyphenols as potential nutraceuticals in management of diabetes: a review. J. Diabetes Metab. Disord. 12, 43. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-12-43>

Barky, A.E., Hussein, S.A., Alm-Eldeen, A.-E., Hafez, Y.A., Mohamed, T.M., 2017. Saponins and their potential role in diabetes mellitus. Diabetes Manag 7, 148–158.

Blough, B., Moreland, A., Mora, A., 2015. Metformin-Induced Lactic Acidosis with Emphasis on the Anion Gap. Bayl. Univ. Med. Cent. Proc. 28, 31–33. <https://doi.org/10.1080/08998280.2015.11929178>

Cempaka, A.R., Santoso, S., Tanuwijaya, L.K., 2014. Pengaruh Metode Pengolahan (Juicing Dan Blending) Terhadap Kandungan Quercetin Berbagai Varietas Apel Lokal Dan Impor (*Malus domestica*). Indones. J. Hum. Nutr. 1, 9.

de Oliveira Carvalho, H., Farias e Souza, B.S., dos Santos, I.V.F., Resque, R.L., Keita, H., Fernandes, C.P., Carvalho, J.C.T., 2016. Hypoglycemic effect of formulation containing hydroethanolic extract of *Calophyllum brasiliense* in diabetic rats induced by streptozotocin. Rev. Bras. Farmacogn. 26, 634–639. <https://doi.org/10.1016/j.bjpp.2016.04.004>

de Rijke, E., 2005. Trace-level determination of flavonoids and their conjugates - Application to plants of the Leguminosae family. VRIJE UNIVERSITEIT, Amsterdam.

Firdaus, M., 2011. Extract of *Sargassum echinocarpum* Alleviates Oxidative Stress In Streptozotocin In-Induced Diabetic Rats. J. Fish. Sci. 8, 8–12.

Firdaus, M., Astawan, M., Muchtadi, D., Wresdiyati, T., Waspadji, S., Karyono, S.S., 2012. Toksisitas Akut Ekstrak Metanol Rumput Laut Cokelat *Sargassum echinocarpum* 15, 148–155.

Firdaus, M., Nurdiani, R., Prihanto, A.A., 2015. Antihyperglycemic of *Sargassum* sp. Extract, in: Kim, S.-K., Chojnacka, K. (Eds.), Marine Algae Extracts. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany, pp. 381–394. <https://doi.org/10.1002/9783527679577.ch24>

Grisouard, J., Timper, K., Radimerski, T.M., Frey, D.M., Peterli, R., Kola, B., Korbonits, M., Herrmann, P., Krähenbühl, S., Zulewski, H., Keller, U., Müller, B., Christ-Crain, M., 2010. Mechanisms of metformin action on glucose transport and metabolism in human adipocytes. Biochem. Pharmacol. 80, 1736–1745. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2010.08.021>

Güven, K.C., Percot, A., Sezik, E., 2010. Alkaloids in Marine Algae. Mar. Drugs 8, 269–284. <https://doi.org/10.3390/md8020269>

Handayani, W., Rudijanto, A., Indra, M.R., 2009. Soybean Milk Reduces Insulin Resistant in Rattus norvegicus of Type 2 Model Diabetes Mellitus. J. Kedokt. Brawijaya XXV, 7.

Hanhineva, K., Törrönen, R., Bondia-Pons, I., Pekkinen, J., Kolehmainen, M., Mykkänen, H., Poutanen, K., 2010. Impact of Dietary Polyphenols on Carbohydrate Metabolism. Int. J. Mol. Sci. 11, 1365–1402. <https://doi.org/10.3390/ijms11041365>

Hurom, 2010. Buku Panduan Slow Juicer.

Jaedun, A., 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen.

Jiang, S., Xu, J., Qian, D., Shang, E., Liu, P., Su, S., Leng, X., Guo, J., Duan, J., Du, L., Zhao, M., 2014. Comparative metabolites in plasma and urine of normal and type 2 diabetic rats after oral administration of the traditional Chinese scutellaria-coptis herb couple by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. B 965, 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.05.028>

Kelman, D., Posner, E.K., McDermid, K.J., Tabandera, N.K., Wright, P.R., Wright, A.D., 2012. Antioxidant Activity of Hawaiian Marine Algae. Mar. Drugs 10, 403–416. <https://doi.org/10.3390/md10020403>

Kim, Y., Keogh, J., Clifton, P., 2016. Polyphenols and Glycemic Control. Nutrients 8, 17. <https://doi.org/10.3390/nu8010017>

Kustarini, I., Dewi, S.S., Ika, P.M., 2012. Efek Ekstrak Etanol *Morinda citrifolia* L (Mengkudu) Terhadap Kadar Gula Darah, Jumlah Neutrofil, dan Fibronektin Glomerulus Tikus Diabetes Mellitus. *Media Med. Indones.* 46, 178–183.

Lee, J.O., Lee, S.K., Kim, J.H., Kim, N., You, G.Y., Moon, J.W., Kim, S.J., Park, S.H., Kim, H.S., 2012. Metformin Regulates Glucose Transporter 4 (GLUT4) Translocation through AMP-activated Protein Kinase (AMPK)-mediated Cbl/CAP Signaling in 3T3-L1 Preadipocyte Cells. *J. Biol. Chem.* 287, 44121–44129. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.361386>

Lee, S.-H., Jeon, Y.-J., 2013. Anti-diabetic effects of brown algae derived phlorotannins, marine polyphenols through diverse mechanisms. *Fitoterapia* 86, 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2013.02.013>

Lestari, I.D., 2016. Efektivitas Rumput Laut *Sargassum* sp. sebagai Sumber Alternatif Penghasil Biogas. Universitas Airlangga, Surabaya.

Lieske, J.C., de la Vega, L.S.P., Gettman, M.T., Slezak, J.M., Bergstrahl, E.J., Melton, L.J., Leibson, C.L., 2006. Diabetes Mellitus and the Risk of Urinary Tract Stones: A Population-Based Case-Control Study. *Am. J. Kidney Dis.* 48, 897–904. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2006.09.002>

Manaf, A., 2014. Glucose Tolerance in Type 2 Diabetes Mellitus. *Medicus* 27, 3–8.

Mawardi, Y.S.A., Pramono, Y.B., Setiani, B.E., 2016. Kadar Air, Tanin, Warna Dan Aroma Off-Flavour Minuman Fungsional Daun Sirsak (*Annona muricata*) Dengan Berbagai Konsentrasi Jahe (*Zingiber officinale*). *J. Apl. Teknol. Pangan* 5, 94–98. <https://doi.org/10.17728/Jatp.179>

Motshakeri, M., Ebrahimi, M., Goh, Y.M., Matanjun, P., Mohamed, S., 2013. *Sargassum polycystum* reduces hyperglycaemia, dyslipidaemia and oxidative stress via increasing insulin sensitivity in a rat model of type 2 diabetes: *Sargassum* anti-diabetic and anti-dyslipidaemic effects. *J. Sci. Food Agric.* 93, 1772–1778. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5971>

Nakamura, M., Oda, S., Sadahiro, T., Watanabe, E., Abe, R., Nakada, T., Morita, Y., Hirasawa, H., 2012. Correlation between high blood interleukin-6 level, hyperglycemia and glucose control in septic patients. *Crit. Care* 16, R58. <https://doi.org/10.1186/cc11301>

Ndraha, S., 2014. Diabetes Mellitus Tipe 2 Dan Tatalaksana Terkini. *Dep. Penyakit Dalam Fak. Kedokt. Univ. Krida Wacana Jkt.* 27, 8.

Nursid, M., Wikanta, T., Susilowati, R., 2014. Aktivitas Antioksidan, Sitotoksitas dan Kandungan Fukosantin Ekstrak Rumput Laut Coklat dari Pantai Binuangun, Banten. *J. Pascapanen Dan Bioteknol. Kelaut. Dan Perikan.* 8, 73. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v8i1.55>

Paoli, P., Caselli, A., Camici, G., Cirri, P., 2014. Effect of Natural Compounds on Insulin Signaling. *Curr. Med. Chem.* 22, 80–111. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140815123249>

- Park, M.H., Nam, Y.H., Han, J.-S., 2015. *Sargassum coreanum* extract alleviates hyperglycemia and improves insulin resistance in db/db diabetic mice. *Nutr. Res. Pract.* 9, 472. <https://doi.org/10.4162/nrp.2015.9.5.472>
- Pournaghi, P., Sadrkhanlou, R.-A., Hasanzadeh, S., Foroughi, A., 2012. An investigation on body weights, blood glucose levels and pituitary-gonadal axis hormones in diabetic and metformin-treated diabetic female rats. *Vet. Research Forum* 3, 79–84.
- Prameswari, O.M., Widjanarko, S.B., 2014. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Dan Histopatologi Tikus Diabetes Mellitus 12.
- Ratna, P., Scherrer, S., Fleischli, C., Becskei, A., 2009. Synergy of Repression and Silencing Gradients Along the Chromosome. *J. Mol. Biol.* 387, 826–839. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2009.02.025>
- Renhoran, M., 2012. Aktivitas Antioksidan Dan Antimikroba Ekstrak *Sargassum polycystum*. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ridwan, A., Astrian, R.T., 2012. Pengukuran Efek Antidiabetes Polifenol (Polyphenon 60) Berdasarkan Kadar Glukosa Darah dan Histologi Pankreas Mencit (Mus musculus L.) S.W. Jantan yang Dikondisikan Diabetes Mellitus. *J. Mat. Sains* 17, 78–82.
- Santi, I.W., Radjasa, O.K., Widowati, I., 2014. Potensi Rumput Laut *Sargassum Duplicatum* Sebagai Sumber Senyawa Antifouling. *J. Mar. Res.* 3, 12.
- Sharifuddin, Y., Chin, Y.-X., Lim, P.-E., Phang, S.-M., 2015. Potential Bioactive Compounds from Seaweed for Diabetes Management. *Mar. Drugs* 13, 5447–5491. <https://doi.org/10.3390/md13085447>
- Siahaan, E.A., Pangestuti, R., 2017. Pangan fungsional dan nutrasetikal dari laut: Prospek dan tantangannya Marine functional food and nutraceutical: Prospects and challenges 6, 9.
- Sinata, N., Arifin, H., 2016. Antidiabetes dari Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Diabetes. *J. Sains Farm. Klin.* 3, 72. <https://doi.org/10.29208/jsfk.2016.3.1.102>
- Skrovankova, S., Mlcek, J., Sochor, J., Baron, M., Kynicky, J., Jurikova, T., 2015a. Determination of Ascorbic Acid by Electrochemical Techniques and other Methods. *Int J Electrochem Sci* 10, 11.
- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., Sochor, J., 2015b. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 24673–24706. <https://doi.org/10.3390/ijms161024673>
- Song, K.H., Jung, H.-K., Min, B.-H., Youn, Y.H., Choi, K.D., Keum, B.R., Huh, K.C., 2013. Development and Validation of the Korean Rome III

- Questionnaire for Diagnosis of Functional Gastrointestinal Disorders. *J. Neurogastroenterol. Motil.* 19, 509–515. <https://doi.org/10.5056/jnm.2013.19.4.509>
- Souza, V.H., Barbosa, A.P.O., Cardoso, G.C., Marreto, R.N., Barreto-Filho, J.A.S., Antonioli, A.R., Santos, M.R.V., 2009. Avaliação do Potencial Antidiabético de Cinco Plantas Medicinais em Ratos. *Lat. Am. J. Pharm.* 28, 609–612.
- Suoth, E., Kaempe, H., Tampi, A., 2013. Evaluasi Kandungan Total Polifenol Dan Isolasi Senyawa. *Univ. Kristen Indones. Tomohon* 6, 86–91.
- Surya, S., Salam, A.D., Tomy, D.V., Carla, B., Kumar, R.A., Sunil, C., 2014. Diabetes mellitus and medicinal plants-a review. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 4, 337–347. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(14\)60585-5](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60585-5)
- Suryanto, E., Momuat, L.I., Taroreh, M., Wehantouw, F., 2011. The Potency of Antioxidant Polyphenol from Goroho Banana (*Musa sapientis* Sp.) 31, 9.
- Syamsudin, 2013. *Nutrasetikal*, 1st ed. Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Trisnawati, S.K., Setyorogo, S., 2013. Faktor Risiko Kejadian Diabetes Melitus Tipe II Di Puskesmas Kecamatan Cengkareng Jakarta Barat Tahun 2012. *J. Ilm. Kesehat.* 5, 6.
- Viollet, B., Guigas, B., Garcia, N.S., Leclerc, J., Foretz, M., Andreelli, F., 2012. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. *Clin. Sci.* 122, 253–270. <https://doi.org/10.1042/CS20110386>
- Wang, T., Jónsdóttir, R., Ólafsdóttir, G., 2009. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. *Food Chem.* 116, 240–248. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.041>
- Wu, F., Jin, Z., Jin, J., 2013. Hypoglycemic effects of glabridin, a polyphenolic flavonoid from licorice, in an animal model of diabetes mellitus. *Mol. Med. Rep.* 7, 1278–1282. <https://doi.org/10.3892/mmr.2013.1330>
- Yang, Y., Kim, T.-H., Yoon, K.-H., Chung, W.S., Ahn, Y., Jeong, M.-H., Seung, K.-B., Lee, S.-H., Chang, K., 2017. The stress hyperglycemia ratio, an index of relative hyperglycemia, as a predictor of clinical outcomes after percutaneous coronary intervention. *Int. J. Cardiol.* 241, 57–63. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2017.02.065>
- Yaturu, S., 2011. Obesity and type 2 diabetes. *J. Diabetes Mellit.* 01, 79–95. <https://doi.org/10.4236/jdm.2011.14012>
- Yende, S., Chaugule, B., Harle, U., 2014. Therapeutic potential and health benefits of *Sargassum* species. *Pharmacogn. Rev.* 8, 1. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.125514>

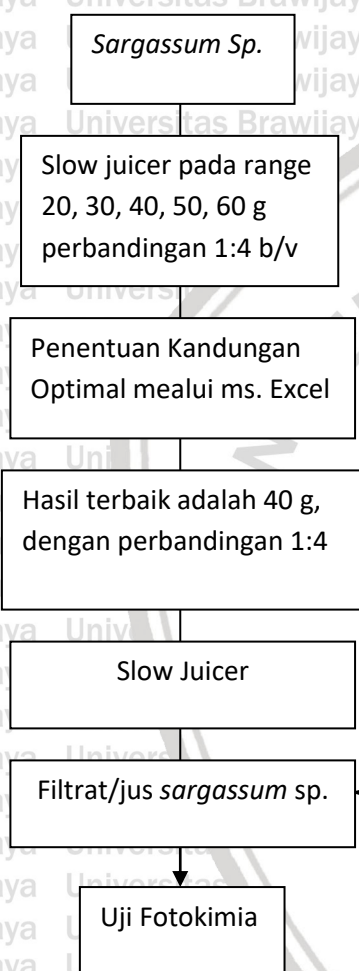
Zhen, X.-H., Quan, Y.-C., Jiang, H.-Y., Wen, Z.-S., Qu, Y.-L., Guan, L.-P., 2015. Fucosterol, a sterol extracted from *Sargassum fusiforme*, shows antidepressant and anticonvulsant effects. Eur. J. Pharmacol. 768, 131–138. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.10.041>



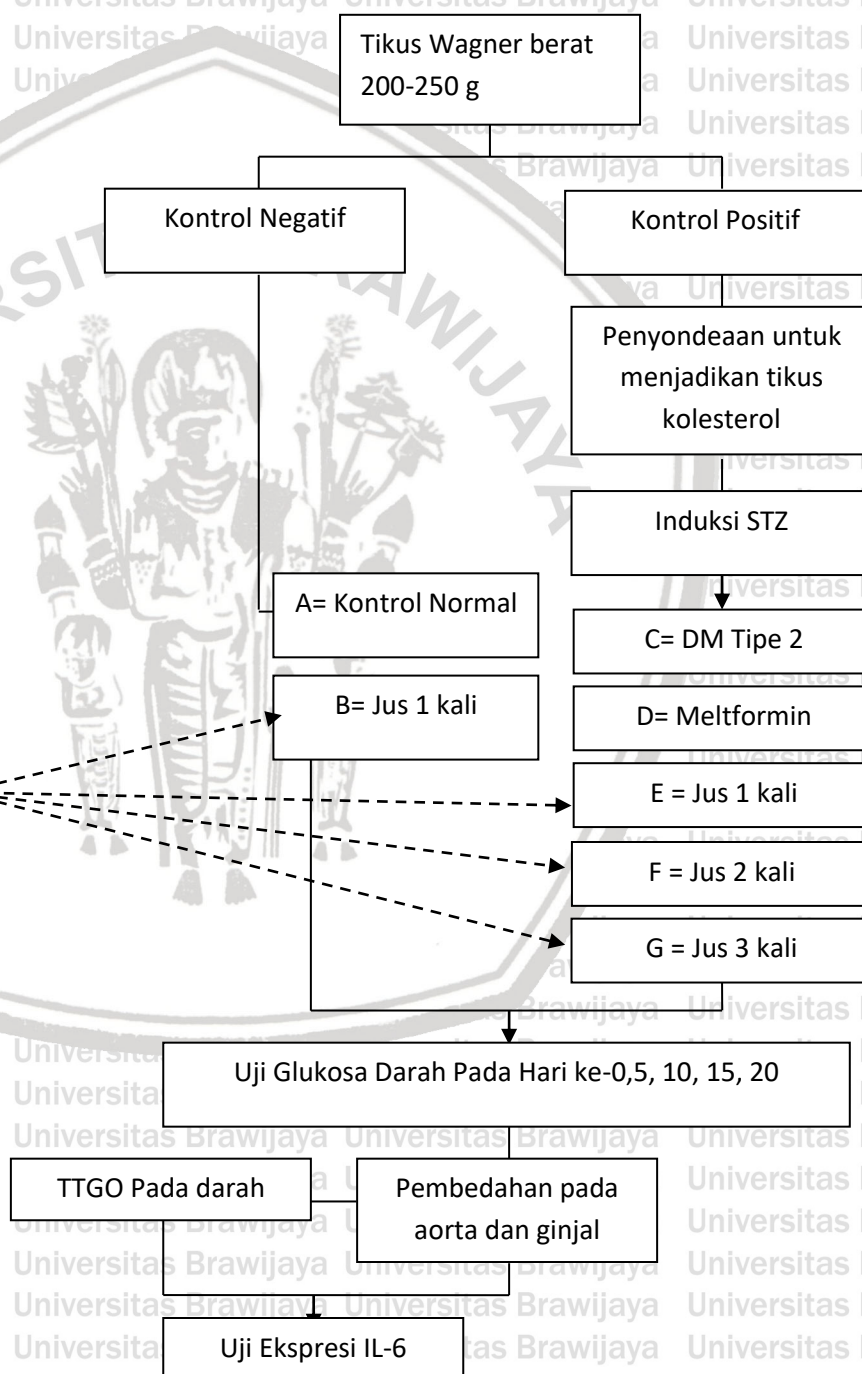
LAMPIRAN

Lampiran 1. Skema Penelitian

Penelitian Pendahuluan



Penelitian Utama



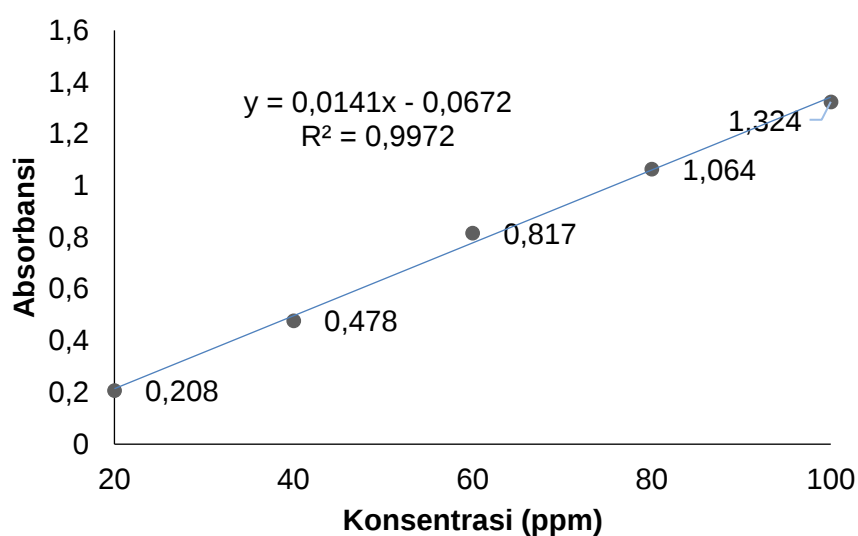
Lampiran 2. Penelitian Pendahuluan Polifenol pada *Sargassum Sp.*

Data pengamatan absorbansi floroglusinol

Konsentrasi (ppm)	20	40	60	80	100
Absorbansi	0,208	0,478	0,817	1,064	1,324

Persamaan hubungan linear antara konsentrasi floroglusinol dan absorbansi

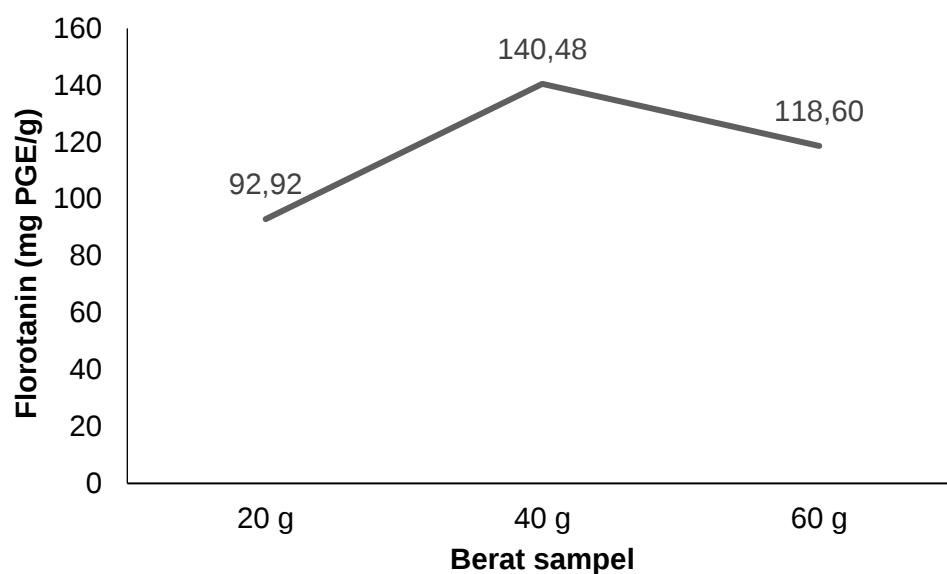
Kurva Standar Floroglusinol

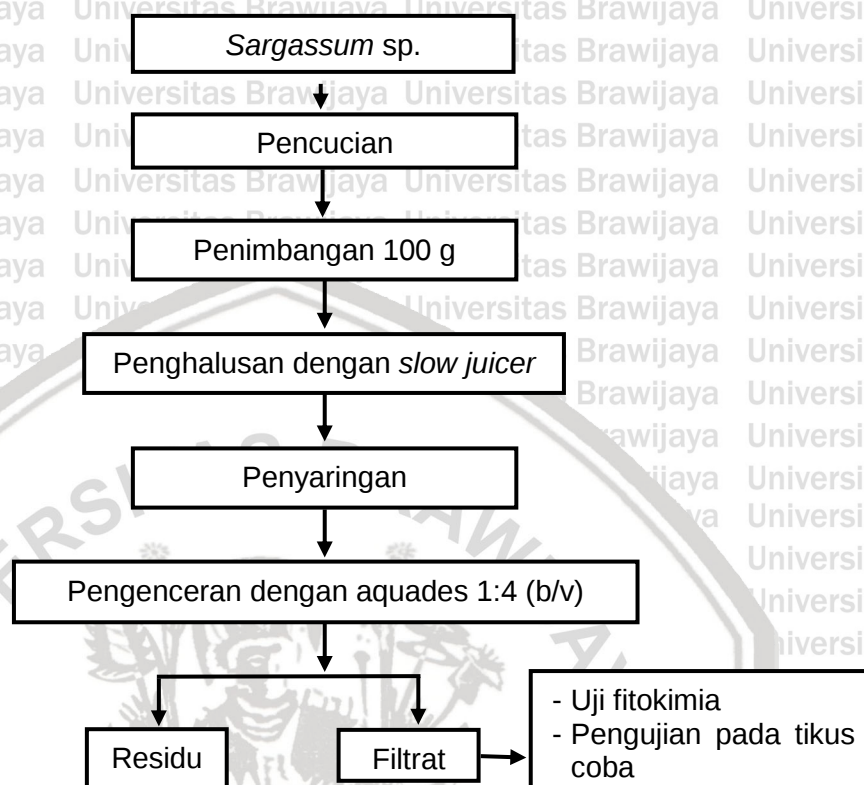


Lampiran 3. Penelitian Pendahuluan Titik Kombinasi

Titik Kombinasi Penentuan Total Senyawa Florotanin pada Jus *Sargassum* sp sebagai berikut:

Berat Sampel (g)	Ulangan		Rerata	Kadar Florotanin (mg PGE/g)
	A	B		
20	0.785	1.701	1.243	92.92
40	1.939	1.888	1.914	140.48
60	1.627	1.583	1.605	118.60



Lampiran 4. Pembuatan Jus *Sargassum Sp.*

Lampiran 5. Perhitungan Dosis *Jus Sargassum* Sp. Untuk Tikus Uji

Perhitungan Pemberian Florotanin *Sargassum* sp

Persamaan : $Y = bx - a$

$$Y = 0,0141X - 0,0672$$

Sehingga:

$$Y = 0,0141X - 0,0672$$

$$1,91 = 0,0141X - 0,0672$$

$$X = 140 \text{ ppm (mg/mL)}$$

Pemberian jus pada tikus uji diasumsikan sebanyak 5 mL sehingga

$$5 \text{ mL} \times 140 \text{ mg/mL} = 700 \text{ mg}$$

Dengan demikian telah diketahui dalam jus *Sargassum* sp sebanyak 5 mL terdapat

700 mg florotanin.

2. Cara menghitung dosis (mg/kg BB)

Diketahui rata-rata BB tikus sebesar 206 g dikonversi menjadi kg yaitu

0,206 sehingga diperoleh perhitungan dosis yaitu :

$$\frac{700 \text{ mg}}{0,206 \text{ kg}} = \frac{x}{1 \text{ kg}}$$

$$X = 3398 \text{ mg/kg BB}$$

Pengukuran berat badan dilakukan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g dikonversi menjadi kg yaitu 0,250 kg membutuhkan polifenol dengan dosis rendah

seberat :

$$\frac{3398 \text{ mg}}{1 \text{ kg}} \times 0,250 \text{ kg}$$

$$X = 849 \text{ mg}$$

Untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan jumlah mL polifenol sebanyak :

$$\begin{aligned} \frac{700\text{mg}}{5\text{mL}} &= \frac{849\text{mg}}{x} \\ x &= \frac{5\text{mL} \cdot 849\text{mg}}{700\text{mg}} \end{aligned}$$

$$X = 6,1 \text{ mL}$$

Sebanyak 6,1 mL disondekan ke tikus dengan berat badan 250 g.



Lampiran 6. Cara Pembuatan Buffer Sitrat

Buffer sitrat dibuat dengan campuran larutan A yaitu larutan asam sitrat dan larutan B yaitu Na-sitrat, adapun ketentuan larutan yang digunakan :

Larutan A : 0,1 M larutan asam sitrat (21,01 g dalam 1000 mL)

Larutan B : 0,1 M larutan Na-sitrat (29,41 $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dalam 1000 mL)

X mL larutan A + Y mL larutan B, kemudian diencerkan hingga 100 mL

Untuk mendapatkan pH 4,5, maka campuran yang dibuat yaitu 26,75 larutan A dan 23,25 larutan B kemudian ditambahkan akuades hingga volume 100 mL, sehingga didapatkan pH 4,5.



Lampiran 7. Cara Perhitungan STZ dan Metformin

1. Induksi *Streptozotocin* (STZ)

$$\frac{20\text{mg}}{1\text{kgBB}} = \frac{20\text{mg}}{1000\text{g}} = \frac{2\text{mg}}{100\text{g}}$$

Pengukuran berat badan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g

membutuhkan STZ seberat :

$$\frac{2\text{mg}}{100\text{g}} = \frac{x}{250\text{g}}$$

$$x = \frac{250\text{g} \cdot 2\text{mg}}{100\text{g}}$$

$$= 5\text{ mg per tikus dengan BB } 250\text{ g}$$

STZ yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan *buffer* sitrat. STZ

dibuat dengan berat 75 mg dan *buffer* sitrat sebanyak 3 mL untuk satu ekor tikus

dengan berat badan 250 g jumlah mL STZ yang telah dicampur *buffer* sitrat

dibutuhkan sebesar :

$$\frac{75\text{mg}}{3\text{mL}} = \frac{5\text{mg}}{x}$$

$$x = \frac{3\text{mL} \cdot 5\text{mg}}{75\text{g}}$$

$$= 0,2\text{ mL}$$

Sebanyak 0,2 mL campuran STZ dan *buffer* sitrat diinduksi ke tikus dengan

berat badan 250 g.

2. Pemberian Obat Hiperglikemik Oral (Metformin)

$$\frac{63\text{mg}}{1\text{kgBB}} = \frac{63\text{mg}}{1000\text{g}} = \frac{6,3\text{mg}}{100\text{g}}$$

Pengukuran berat badan dilakukan, misalnya untuk tikus dengan BB 250 g membutuhkan metformin sebesar :

$$\frac{6,3mg}{100g} = \frac{x}{250g}$$

$$x = \frac{250g \cdot 6,3mg}{100}$$

$$= 15,75 \text{ mg per tikus dengan BB 250g}$$

Metformin yang telah ditimbang kemudian dicampurkan dengan akuades.

Metformin yang dibuat dengan berat 500 mg dan akuades sebanyak 50 mL, maka untuk satu ekor tikus dengan berat 250 g, dibutuhkan jumlah mL metformin yang telah dicampur akuades sebanyak :

$$\frac{500mg}{50mL} = \frac{15,75mg}{x}$$

$$x = \frac{50mL \cdot 15,75mg}{500mg}$$

$$= 1,575 \text{ mL}$$

Sebanyak 1,575 mL campuran metformin dan akuades disondekan ke tikus dengan berat 250 g.

Lampiran 8. Cara Pembuatan Buffer Phospat

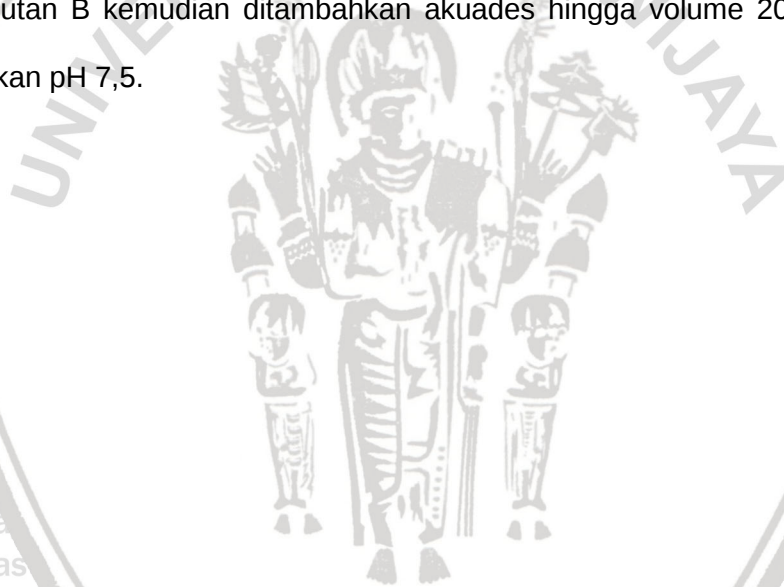
Buffer phospat dibuat dengan campuran larutan A yaitu larutan Na-phospat monobasis dan larutan B yaitu Na-phospat dibasis, adapun ketentuan larutan yang digunakan :

Larutan A : 0,2 M larutan Na-phospat monobasis (27,8 g dalam 1000 mL)

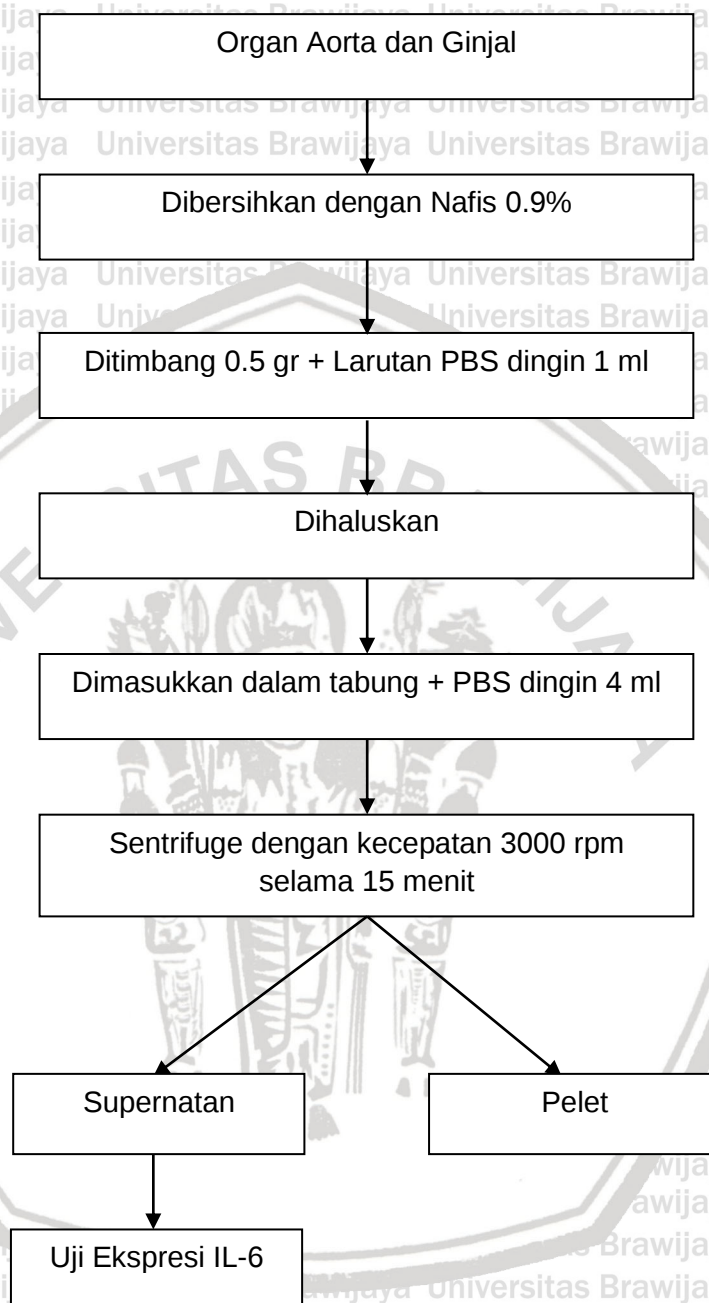
Larutan B : 0,2 M larutan Na-phospat dibasis (52,65 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ atau 71,7 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ dalam 1000 mL).

X mL larutan A + Y mL larutan B, kemudian diencerkan hingga 200 mL

Untuk mendapatkan pH 7,4 maka campuran yang dibuat yaitu 19,0 larutan A dan 81,0 larutan B kemudian ditambahkan akuades hingga volume 200 mL, sehingga didapatkan pH 7,5.



Lampiran 9. Skema Kerja Preparasi Organ dan Uji Ekspresi IL-6



Lampiran 10. Analisa Berat Badan Tikus Uji

	N					Total	Mean	SD
	1	2	3	4	5			
A	226	228	235	227	231,5	1147,5	229,50	3,7081
B	236	221	237	228,5	229	1151,5	230,30	6,49615
C	160	153	145	156,5	149	763,5	152,70	5,93296
D	205	210	210	207,5	210	1042,5	208,50	2,23607
E	173	170	167	171,5	168,5	850	170,00	2,37171
F	179	178	181	178,5	179,5	896	179,20	1,15109
G	190	193	185	191,5	189	948,5	189,70	3,03315

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower	Upper		
					Bound	Bound		
A	5	229,5000	3,70810	1,65831	224,8958	234,1042	226,00	235,00
B	5	230,3000	6,49615	2,90517	222,2340	238,3660	221,00	237,00
C	5	152,7000	5,93296	2,65330	145,3333	160,0667	145,00	160,00
D	5	208,5000	2,23607	1,00000	205,7236	211,2764	205,00	210,00
E	5	170,0000	2,37171	1,06066	167,0551	172,9449	167,00	173,00
F	5	179,2000	1,15109	,51478	177,7707	180,6293	178,00	181,00
G	5	189,7000	3,03315	1,35647	185,9338	193,4662	185,00	193,00
Total	35	194,2714	28,17157	4,76186	184,5942	203,9487	145,00	237,00

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,773	6	28	,030

ANOVA

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26534,471	6	4422,412	275,662	,000
Within Groups	449,200	28	16,043		
Total	26983,671	34			

DUNCAN

		Subset for alpha = 0.05					
	N	1	2	3	4	5	6
C	5	152,7000					
E	5		170,0000				
F	5			179,2000			
G	5				189,7000		
D	5					208,5000	
A	5						229,5000
B	5						230,3000
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	,754

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.



Lampiran 11. Analisa Polifagia

	N					Total	Mean	SD
	1	2	3	4	5			
A	16	17	16	17	17	83	16,6	0,54772
B	17	16	15	17	16	81	16,2	0,83666
C	25	24	25	25	25	124	24,8	0,44721
D	18	19	18	19	19	93	18,6	0,54772
E	24	24	25	24	25	122	24,4	0,54772
F	23	22	22	23	22	112	22,4	0,54772
G	20	20	21	20	21	102	20,4	0,54772

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower	Upper		
					Bound	Bound		
A	5	16,6000	,54772	,24495	15,9199	17,2801	16,00	17,00
B	5	16,2000	,83666	,37417	15,1611	17,2389	15,00	17,00
C	5	24,8000	,44721	,20000	24,2447	25,3553	24,00	25,00
D	5	18,6000	,54772	,24495	17,9199	19,2801	18,00	19,00
E	5	24,4000	,54772	,24495	23,7199	25,0801	24,00	25,00
F	5	22,4000	,54772	,24495	21,7199	23,0801	22,00	23,00
G	5	20,4000	,54772	,24495	19,7199	21,0801	20,00	21,00
Total	35	20,4857	3,35517	,56713	19,3332	21,6383	15,00	25,00

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,933	6	28	,487

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	373,143	6	62,190	181,389	,000
Within Groups	9,600	28	,343		
Total	382,743	34			

DUNCAN

		Subset for alpha = 0.05				
	N	1	2	3	4	5
B	5	16,2000				
A	5	16,6000				
D	5		18,6000			
G	5			20,4000		
F	5				22,4000	
E	5					24,4000
C	5					24,8000
Sig.		,289	1,000	1,000	1,000	,289

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.



Lampiran 12. Analisa Poliuria

	N					Total	Mean	SD
	1	2	3	4	5			
A	9	9	8	9	9	44	8,8	0,44721
B	8	9	8	9	9	43	8,6	0,54772
C	22	21	24	22	23	112	22,4	1,14018
D	12	11	11	12	11	57	11,4	0,54772
E	22	20	21	21	21	105	21	0,70711
F	17	20	19	19	20	95	19	1,22474
G	16	20	17	18	19	90	18	1,58114

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower	Upper		
					Bound	Bound		
A	5	8,8000	,44721	,20000	8,2447	9,3553	8,00	9,00
B	5	8,6000	,54772	,24495	7,9199	9,2801	8,00	9,00
C	5	22,4000	1,14018	,50990	20,9843	23,8157	21,00	24,00
D	5	11,4000	,54772	,24495	10,7199	12,0801	11,00	12,00
E	5	21,0000	,70711	,31623	20,1220	21,8780	20,00	22,00
F	5	19,0000	1,22474	,54772	17,4793	20,5207	17,00	20,00
G	5	18,0000	1,58114	,70711	16,0368	19,9632	16,00	20,00
Total	35	15,6000	5,56882	,94130	13,6870	17,5130	8,00	24,00

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,664	6	28	,167

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1028,000	6	171,333	181,717	,000
Within Groups	26,400	28	,943		
Total	1054,400	34			

DUNCAN

		Subset for alpha = 0.05				
	N	1	2	3	4	5
B	5	8,6000				
A	5	8,8000				
D	5		11,4000			
G	5			18,0000		
F	5			19,0000		
E	5				21,0000	
C	5					22,4000
Sig.		,747	1,000	,115	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.



Lampiran 13. Analisa Polidipsia

	N					Total	Mean	SD
	1	2	3	4	5			
A	13	13	14	13	13,5	66,5	13,30	0,447214
B	10	14	12	12	13	61	12,20	1,48324
C	47	49	47	48	48	239	47,80	0,83666
D	17	18	20	17,5	19	91,5	18,30	1,204159
E	45	46	43	45,5	44,5	224	44,80	1,151086
F	37	38	40	37,5	39	191,5	38,30	1,204159
G	30	30	33	30	31,5	154,5	30,90	1,341641

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	5	13,3000	,44721	,20000	12,7447	13,8553	13,00	14,00
B	5	12,2000	1,48324	,66332	10,3583	14,0417	10,00	14,00
C	5	47,8000	,83666	,37417	46,7611	48,8389	47,00	49,00
D	5	18,3000	1,20416	,53852	16,8048	19,7952	17,00	20,00
E	5	44,8000	1,15109	,51478	43,3707	46,2293	43,00	46,00
F	5	38,3000	1,20416	,53852	36,8048	39,7952	37,00	40,00
G	5	30,9000	1,34164	,60000	29,2341	32,5659	30,00	33,00
Total	35	29,3714	14,05208	2,37523	24,5444	34,1985	10,00	49,00

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,943	6	28	,481

ANOVA

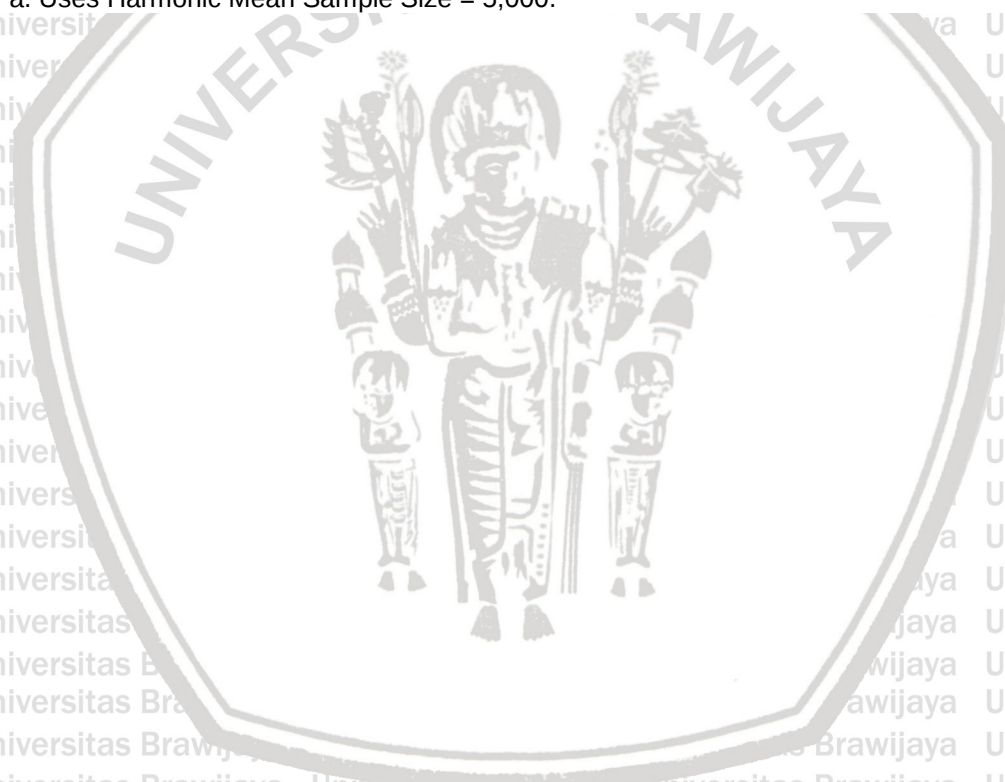
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6677,171	6	1112,862	853,702	,000
Within Groups	36,500	28	1,304		
Total	6713,671	34			

DUNCAN

		Subset for alpha = 0.05					
	N	1	2	3	4	5	6
B	5	12,2000					
A	5	13,3000					
D	5		18,3000				
G	5			30,9000			
F	5				38,3000		
E	5					44,8000	
C	5						47,8000
Sig.		,139	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.



Lampiran 14. Analisa Glukosa Darah Tikus Uji

	N					Total	Mean	SD
	1	2	3	4	5			
A	128	118	123	123	121	613	122,5	3,71
B	122	115	120	119	118	593	118,6	2,63
C	349	337	341	343	339	1709	341,8	4,60
D	139	146	140	143	143	711	142,1	2,75
E	297	291	278	294	285	1445	288,9	7,65
F	204	210	196	207	203	1020	204,0	5,24
G	179	170	171	175	171	865	173,0	3,79

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	5	122,6000	3,64692	1,63095	118,0718	127,1282	118,00	128,00
B	5	118,8000	2,58844	1,15758	115,5860	122,0140	115,00	122,00
C	5	341,8000	4,60435	2,05913	336,0829	347,5171	337,00	349,00
D	5	142,2000	2,77489	1,24097	138,7545	145,6455	139,00	146,00
E	5	289,0000	7,58288	3,39116	279,5846	298,4154	278,00	297,00
F	5	204,0000	5,24404	2,34521	197,4887	210,5113	196,00	210,00
G	5	173,2000	3,76829	1,68523	168,5211	177,8789	170,00	179,00
Total	35	198,8000	81,16425	13,71926	170,9191	226,6809	115,00	349,00

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,543	6	28	,201

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	223387,200	6	37231,200	1759,746	,000
Within Groups	592,400	28	21,157		
Total	223979,600	34			



DUNCAN

		Subset for alpha = 0.05					
	N	1	2	3	4	5	6
B	5	118,8000					
A	5	122,6000					
D	5		142,2000				
G	5			173,2000			
F	5				204,0000		
E	5					289,0000	
C	5						341,8000
Sig.		,202	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.



Lampiran 15. Data TTGO pada Tikus Uji

	Waktu	Ulangan					Total
		1	2	3	4	5	
A	0	88	98	103	76	81	446
	30	140	155	146	152	140	733
	60	175	200	183	192	203	953
	90	135	155	131	142	138	701
	120	103	115	120	110	124	572
B	0	119	100	111	120	104	554
	30	160	169	145	156	158	788
	60	212	234	210	222	217	1095
	90	140	152	150	160	148	750
	120	123	115	110	119	102	569
C	0	116	105	109	123	110	563
	30	442	449	421	432	451	2195
	60	521	496	476	489	531	2513
	90	365	386	395	405	388	1939
	120	276	295	284	312	297	1464
D	0	117	105	114	121	98	555
	30	189	190	206	193	179	957
	60	240	257	241	253	249	1240
	90	159	177	162	173	181	852
	120	121	115	136	120	118	610
E	0	103	122	122	108	112	567
	30	365	331	357	334	346	1733
	60	454	438	402	416	433	2143
	90	304	323	344	329	334	1634
	120	214	243	224	232	226	1139
F	0	120	102	114	117	123	576
	30	279	253	267	263	277	1339
	60	313	318	342	320	338	1631
	90	251	234	317	221	221	1244
	120	208	187	187	192	190	964
G	0	118	125	112	114	121	590
	30	243	237	220	235	231	1166
	60	270	269	308	276	271	1394
	90	196	235	208	198	209	1046
	120	157	145	155	154	157	768

Descriptives

						95% Confidence Interval for Mean			
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Min.	Max.
Menit 0	A	5	89,2	11,3	5,05	75,17	103,23	76	103
	B	5	110,8	8,87	3,97	99,78	121,82	100	120
	C	5	112,6	7,02	3,14	103,88	121,32	105	123
	D	5	111	9,35	4,18	99,39	122,61	98	121
	E	5	113,4	8,47	3,79	102,88	123,92	103	122
	F	5	115,2	8,11	3,62	105,14	125,26	102	123
	G	5	118	5,24	2,35	111,49	124,51	112	125
	Total	35	110,03	11,82	2	105,97	114,09	76	125
Menit 30	A	5	146,6	6,84	3,06	138,11	155,09	140	155
	B	5	157,6	8,62	3,85	146,9	168,3	145	169
	C	5	439	12,51	5,59	423,47	454,53	421	451
	D	5	191,4	9,71	4,34	179,34	203,46	179	206
	E	5	346,6	14,57	6,52	328,51	364,69	331	365
	F	5	267,8	10,64	4,76	254,59	281,01	253	279
	G	5	233,2	8,56	3,83	222,58	243,82	220	243
	Total	35	254,6	100,57	17	220,05	289,15	140	451
Menit 60	A	5	190,6	11,67	5,22	176,1	205,1	175	203
	B	5	219	9,59	4,29	207,09	230,91	210	234
	C	5	502,6	22,81	10,2	474,28	530,92	476	531
	D	5	248	7,42	3,32	238,79	257,21	240	257
	E	5	428,6	20,12	9	403,62	453,58	402	454
	F	5	326,2	12,93	5,78	310,14	342,26	313	342
	G	5	278,8	16,54	7,4	258,26	299,34	269	308
	Total	35	313,4	108,48	18,34	276,14	350,66	175	531
Menit 90	A	5	140,2	9,2	4,12	128,77	151,63	131	155
	B	5	150	7,21	3,22	141,05	158,95	140	160
	C	5	387,8	14,75	6,6	369,48	406,12	365	405
	D	5	170,4	9,53	4,26	158,57	182,23	159	181
	E	5	326,8	14,89	6,66	308,31	345,29	304	344
	F	5	248,8	40,06	17,92	199,05	298,55	221	317

Menit 120	G	5	209,2	15,55	6,95	189,9	228,5	196	235
	Total	35	233,31	89,94	15,2	202,42	264,21	131	405
	A	5	114,4	8,26	3,7	104,14	124,66	103	124
	B	5	113,8	8,17	3,65	103,66	123,94	102	123
	C	5	292,8	13,7	6,13	275,79	309,81	276	312
	D	5	122	8,15	3,65	111,87	132,13	115	136
	E	5	227,8	10,69	4,78	214,53	241,07	214	243
	F	5	192,8	8,76	3,92	181,93	203,67	187	208
	G	5	153,6	4,98	2,23	147,42	159,78	145	157
	Total	35	173,89	64,33	10,87	151,79	195,98	102	312

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Menit_0	,816	6	28	,57
Menit_30	,876	6	28	,53
Menit_60	1,980	6	28	,10
Menit_90	2,196	6	28	,07
Menit_120	,760	6	28	,61

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Menit 0	Between Groups	2718,17	6	453,03	6,24	,00
	Within Groups	2032,8	28	72,6		
	Total	4750,97	34			
Menit 30	Between Groups	340834,	6	56805,67	516,01	,00
	Within Groups	3082,4	28	110,07		
	Total	343916,4	34			
Menit 60	Between Groups	393485,2	6	65580,87	278,34	,00
	Within Groups	6597,2	28	235,61		
	Total	400082,4	34			
Menit 90	Between Groups	264982,34	6	44163,72	122,98	,00
	Within Groups	10055,2	28	359,11		
	Total	275037,54	34			
Menit 120	Between Groups	138287,94	6	23047,99	266,72	,00
	Within Groups	2419,6	28	86,41		
	Total	140707,54	34			

Menit 0**DUNCAN**

OGTT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
A	5	89,2	
B	5		110,8
D	5		111
C	5		112,6
E	5		113,4
F	5		115,2
G	5		118
Sig.		1,00	,25

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,00.

Menit 30**DUNCAN**

OGTT	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
A	5	146,6					
B	5	157,6					
D	5		191,4				
G	5			233,2			
F	5				267,8		
E	5					346,6	
C	5						439
Sig.		,11	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,00.

Menit 60**DUNCAN**

OGTT	N	Subset for alpha = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
A	5	190,6						
B	5		219					
D	5			248				
G	5				278,8			
F	5					326,2		
E	5						428,6	
C	5							502,6
Sig.		1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,00.

Menit 90**DUNCAN**

OGTT	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
A	5	140,2					
B	5	150	150				
D	5		170,4				
G	5			209,2			
F	5				248,8		
E	5					326,8	
C	5						387,8
Sig.		,42	,10	1,00	1,00	1,00	1,00

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,00.

Menit 120

DUNCAN

OGTT	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
B	5	113,8				
A	5	114,4				
D	5	122				
G	5		153,6			
F	5			192,8		
E	5				227,8	
C	5					292,8
Sig.		,20	1,00	1,00	1,00	1,00

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,00.



Lampiran 16. Analisa Standar Insulin

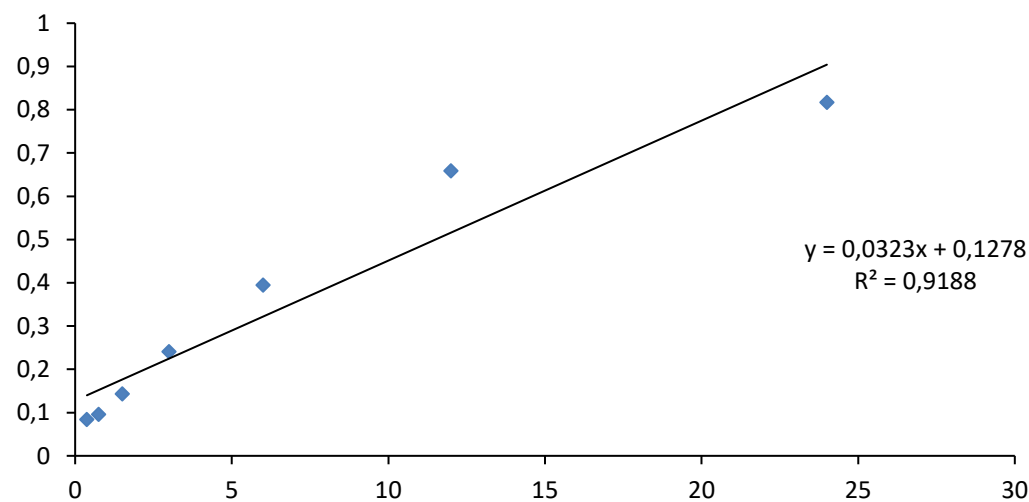
Absorbansi Kurva Data Standart Insulin

Kadar (mIU/L)	Abs
24	0,817
12	0,659
6	0,395
3	0,241
1,5	0,143
0,75	0,096
0,375	0,084

Sampel	Ulangan	Absorbansi	Kadar
A	1	0,262	4,15
	2	0,263	4,2
	3	0,262	4,15
	4	0,263	4,18
	5	0,263	4,18
B	1	0,262	4,17
	2	0,262	4,15
	3	0,260	4,1
	4	0,262	4,16
	5	0,261	4,13
C	1	0,377	7,71
	2	0,374	7,63
	3	0,365	7,34
	4	0,376	7,67
	5	0,370	7,49
D	1	0,273	4,51
	2	0,268	4,35
	3	0,264	4,22
	4	0,271	4,43
	5	0,266	4,29
E	1	0,349	6,84
	2	0,358	7,13
	3	0,358	7,13
	4	0,354	6,99
	5	0,358	7,13

F	1	0,327	6,16
	2	0,332	6,33
	3	0,316	5,83
	4	0,330	6,25
	5	0,324	6,08

G	1	0,293	5,12
	2	0,290	5,03
	3	0,290	5,02
	4	0,292	5,08
	5	0,290	5,03



	N					Total	Mean	SD
	1	2	3	4	5			
A	4,15	4,2	4,15	4,18	4,18	20,85	4,17	0,02
B	4,17	4,15	4,10	4,16	4,13	20,71	4,14	0,03
C	7,71	7,63	7,34	7,67	7,49	37,84	7,57	0,15
D	4,51	4,35	4,22	4,43	4,29	21,80	4,36	0,11
E	6,84	7,13	7,12	6,99	7,13	35,20	7,04	0,13
F	6,16	6,33	5,83	6,25	6,08	30,65	6,13	0,19
G	5,12	5,03	5,02	5,08	5,03	25,27	5,05	0,04

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	5	4,1720	,02168	,00970	4,1451	4,1989	4,15	4,20
B	5	4,1420	,02775	,01241	4,1075	4,1765	4,10	4,17
C	5	7,5680	,15205	,06800	7,3792	7,7568	7,34	7,71
D	5	4,3600	,11402	,05099	4,2184	4,5016	4,22	4,51
E	5	7,0420	,12755	,05704	6,8836	7,2004	6,84	7,13
F	5	6,1300	,19222	,08597	5,8913	6,3687	5,83	6,33
G	5	5,0560	,04278	,01913	5,0029	5,1091	5,02	5,12
Total	35	5,4957	1,34107	,22668	5,0350	5,9564	4,10	7,71

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3,653	6	28	,008

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	60,778	6	10,130	767,319	,000
Within Groups	,370	28	,013		
Total	61,148	34			

DUNCAN

	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
B	5	4,1420					
A	5	4,1720					
D	5		4,3600				
G	5			5,0560			
F	5				6,1300		
E	5					7,0420	
C	5						7,5680
Sig.		,683	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 17. Ekspresi IL-6 Aorta

Data pengamatan absorbansi IL-6 Aorta

	Ulangan					Total	Mean	SD
	1	2	3	4	5			
A	747	724,78	724,78	735,89	724,78	3657,23	731,45	9,94
B	722,75	725,77	693,67	724,26	709,72	3576,17	715,23	13,64
C	1064,78	1147	1075,89	1105,89	1111,44	5505,00	1101,00	32,37
D	823,67	781,44	785,89	802,55	783,66	3977,21	795,44	17,84
E	1019,22	988,11	1012,56	1003,66	1000,33	5023,88	1004,78	11,92
F	950,33	952,56	980,33	951,44	966,44	4801,10	960,22	13,01
G	900,33	841,44	853,67	870,88	847,55	4313,87	862,77	23,70

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min.	Max.
					Lower Bound	Upper Bound		
A	5	731,4460	9,93709	4,44400	719,1075	743,7845	724,78	747,00
B	5	715,2340	13,64163	6,10072	698,2957	732,1723	693,67	725,77
C	5	1101,0000	32,37015	14,47637	1060,8072	1141,1928	1064,78	1147,00
D	5	795,4420	17,84276	7,97952	773,2873	817,5967	781,44	823,67
E	5	1004,7760	11,91625	5,32911	989,9800	1019,5720	988,11	1019,22
F	5	960,2200	13,00650	5,81669	944,0703	976,3697	950,33	980,33
G	5	862,7740	23,69574	10,59706	833,3518	892,1962	841,44	900,33
Total	35	881,5560	138,00587	23,32725	834,1493	928,9627	693,67	1147,00

Test of Homogeneity of Variances

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,932	6	28	,110

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	637456,334	6	106242,722	294,688	,000
Within Groups	10094,739	28	360,526		
Total	647551,072	34			

DUNCAN

		Subset for alpha = 0.05					
	N	1	2	3	4	5	6
B	5	715,2340					
A	5	731,4460					
D	5		795,4420				
G	5			862,7740			
F	5				960,2200		
E	5					1004,7760	
C	5						1101,0000
Sig.		,188	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.



Lampiran 18. Ekspresi IL-6 Ginjal

Data pengamatan absorbansi IL-6 Ginjal

	Ulangan					Total	Mean	SD
	1	2	3	4	5			
A	205	198	194	202	196	995	198,90	4,39
B	197	195	186	196	191	965	192,90	4,59
C	620	608	600	614	604	3046	609,20	7,95
D	214	208	207	211	208	1048	209,50	2,96
E	615	602	598	609	600	3024	604,70	6,98
F	543	530	521	537	526	2656	531,20	8,74
G	292	269	275	281	272	1389	277,70	9,05

Descriptives

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min.	Max.
					Lower	Upper		
					Bound	Bound		
A	5	199,0000	4,47214	2,00000	193,4471	204,5529	194,00	205,00
B	5	193,0000	4,52769	2,02485	187,3781	198,6219	186,00	197,00
C	5	609,2000	7,94984	3,55528	599,3290	619,0710	600,00	620,00
D	5	209,6000	2,88097	1,28841	206,0228	213,1772	207,00	214,00
E	5	604,8000	7,04982	3,15278	596,0465	613,5535	598,00	615,00
F	5	531,4000	8,73499	3,90640	520,5541	542,2459	521,00	543,00
G	5	277,8000	9,09395	4,06694	266,5084	289,0916	269,00	292,00
Total	35	374,9714	185,21855	31,30765	311,3466	438,5962	186,00	620,00

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1165118,171	6	194186,362	4238,555	,000
Within Groups	1282,800	28	45,814		
Total	1166400,971	34			

DUNCAN

		N	Subset for alpha =0.05				
			1	2	3	4	5
B	5	193,0000					
A	5	199,0000					
D	5		209,6000				
G	5			277,8000			
F	5				531,4000		
E	5						
C	5						604,8000
Sig.			,188	1,000	1,000	1,000	609,2000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5,000.



Lampiran 19. Pembuatan Ekstrak Jus



Sargassum sp



Pencucian



Penimbangan



Jus Sargassum



Pengenceran dengan akuades 1:4



Penghalusan menggunakan slow jucer



Pengelompokan tikus



Pemeliharaan tikus selama 30 hari penelitian



Pengukuran Kadar glukosa darah pada hari ke 5, 10, 15, dan 20



Penyondean tikus uji dengan lemak babi, aquades, jus Sargassum so dan metformin



Pembedahan serta pengambilan organ dan darah



Organ Aorta



Organ Ginjal



Serum darah

Lampiran 20. Permodelan dan Treatment Pada Tikus Uji

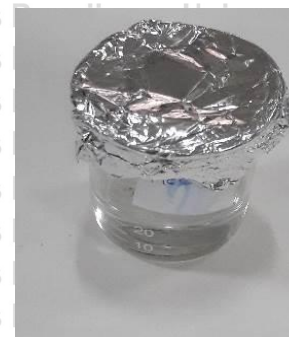


Streptozotocin

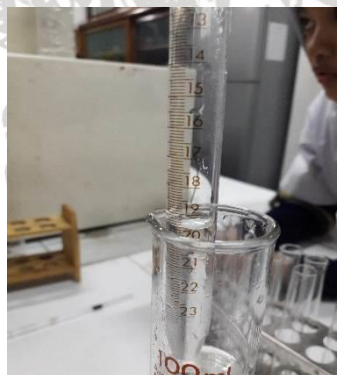
Streptozotocin



**Penimbangan
Streptozotocin 20
mg/kgBB**



**Buffer Sitrat
pH 4,5**



**Streptozotocin dilarutkan
dalam buffer sitrat pH 4,5**



**Persiapan penginduksian
streptozotocin seara intraperitoneal**

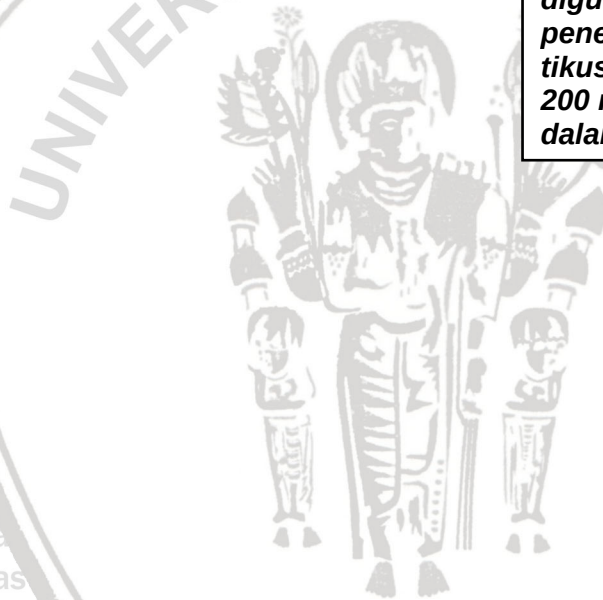


**Tikus yang telah
hiperkolesterol dan
mempunyai berat ≥ 200 g**

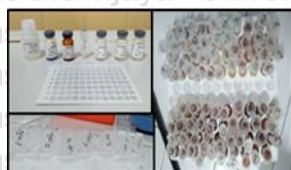


Tikus dii induksi streptozotocin secara intraperitoneal

Pengukuran kadar glukosa darah pada hari ke 10 setelah penginduksian. Tikus dengan kadar glukosa > 200 mg/dL akan digunakan dalam penelitian. Sedangkan tikus dengan kadar gula < 200 mg/dL tidak digunakan dalam penelitian.



Lampiran 21. Uji Ekspresi IL-6



Persiapan seluruh reagen, larutan standar, dan sampel



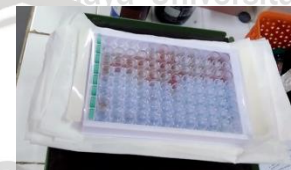
Penambahan 50µL larutan standar ke dalam lubang standar



Penambahan 40 µL sampel



Penginkubasian pada suhu 37°C selama 60 menit



Penutupan *microplate* dengan sealer



Penambahan 10 µL antibodi RAGE dan 50 µL streptavidin-HRP



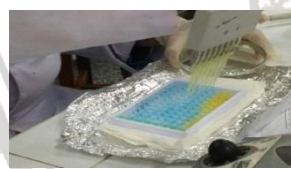
Pelepasan sealer dan pencucian *plate* sebanyak 5 kali dengan *wash buffer*



Pengeringan *plate* dengan tisu



Penambahan substrat *Solution A* dan *B* sebanyak 50 µL



Penambahan *Stop Solution* hingga terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning



Penginkubasian pada suhu 37°C selama 10 menit



Penutupan *microplate* dengan sealer



Penentuan nilai OD dengan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm

Lampiran 22. Hasil Rendemen Jus *Sargassum Sp.*

$$\% \text{ Rendemen Jus Sargassum Sp.} = \frac{\text{Berat Akhir}}{\text{Berat Awal}} \times 100 \%$$

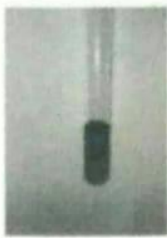
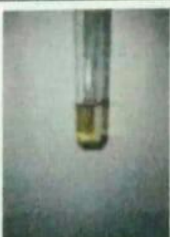
Berat *Sargassum Sp.* = 40 Gram

Berat Jus *Sargassum Sp.* = 15 mL

$$\begin{aligned} \% \text{Rendemen} &= \frac{15 \text{ mL}}{40 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 37,5 \% \end{aligned}$$



Lampiran 23. Hasil Uji Fitokimia Sargassum Sp. dan Jus

Senyawa	Segar	Jus
Tanin		
Alkaloid		
Saponin		
Steroid		
Flavonoid		
Polifenol		



Scanned with
CamScanner