

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Penentuan Optimasi Florotanin dari Pembuatan Dekok *Sargassum* sp.

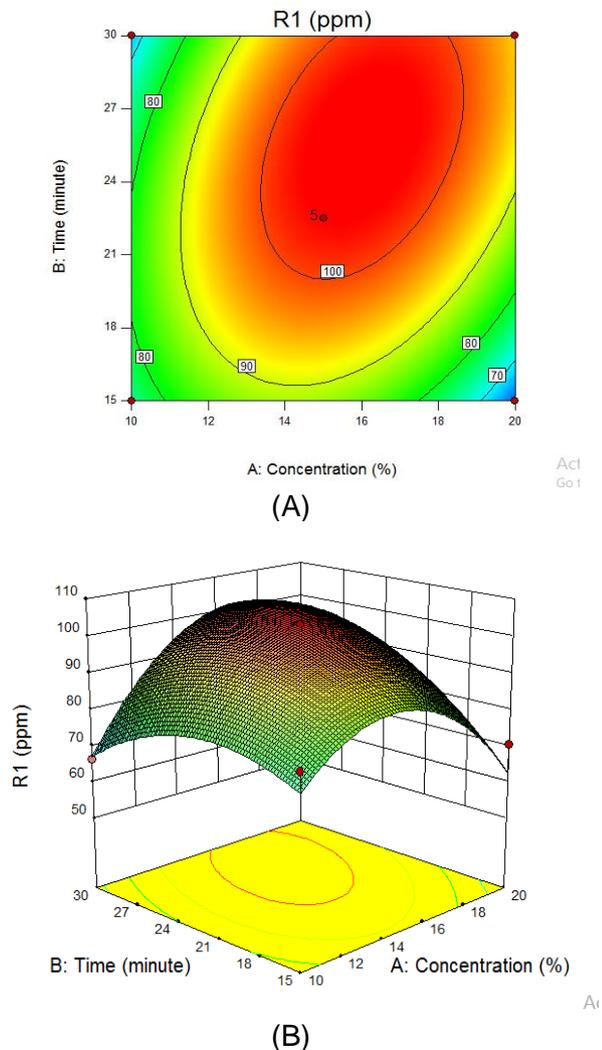
Optimasi florotanin dari pembuatan dekok *Sargassum* sp dapat ditentukan dengan metode RSM. Menurut Manohar *et al.* (2013), *desain expert* merupakan aplikasi RSM untuk merancang percobaan secara acak. Hasil titik-titik optimasi florotanin dari pembuatan dekok *Sargassum* sp yang ditentukan menggunakan metode RSM dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Titik Optimasi Florotanin

Run	Factor 1 <i>Sargassum</i> sp. : Aquadest (%)	Factor 2 Time (minutes)	Respon 1 Florotanin (mg/mL)
1	15	22,5	103
2	10	15	15,3922
3	15	22,5	103
4	7,92893	22,5	15,9121
5	10	30	66,3262
6	22,0711	22,5	15,6872
7	15	22,5	103
8	20	30	16,095
9	20	15	15,4333
10	15	22,5	103
11	15	11,8934	15,3922
12	15	22,5	103
13	15	33,1066	15,8972

*Sargassum* sp dan waktu proses pembuatan dapat mempengaruhi jumlah florotanin. Hal ini dapat ditunjukkan pada perhitungan ANOVA dari design expert 10.0.0 dimana model variabel *Sargassum* sp. : Aquades dan waktu proses dekoksi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap respon kandungan florotanin ( $P < 0,05$ ). Hal ini diperkuat dengan *Contour plot* dan grafik interaksi respon florotanin. Warna dari *Contour plot* menunjukkan tingkat nilai kandungan florotanin. Kandungan florotanin tertinggi berada pada warna oranye dan kandungan florotanin terendah berada pada warna biru. Grafik respon florotanin

yang diinginkan pada penelitian ini berada pada respon lama ekstraksi yang optimum, yaitu antara 15-30 menit dan respon pelarut yang optimum yaitu antara 10-20 mL. *Contour plot* dan grafik respon florotanin dapat ditunjukkan pada Gambar 14.



**Gambar 14.** (A) *Contour plot*, (B) Grafik respon florotanin

Dari hasil optimasi kandungan florotanin dekok *Sargassum* sp pada Tabel 3 menunjukkan bahwa konsentrasi 15% (30 g *Sargassum* sp dan 200 mL akuades) dan waktu 22,5 menit menghasilkan nilai respon florotanin tertinggi, yaitu sebesar 103 mg/mL. Bila konsentrasi ditingkatkan dan lama waktu proses dekoksi diturunkan, maka akan menyebabkan sel banyak yang tidak pecah dan

tidak mendistribusikan florotanin lebih banyak. Menurut Trissanthi dan Wihono (2016), waktu pemanasan yang terlalu cepat dapat mengakibatkan polifenol yang terdistribusi masih sedikit. Sedangkan bila konsentrasi diturunkan dan lama waktu proses dekoksi ditingkatkan, maka akan menyebabkan florotanin pada *Sargassum* sp. mengalami kerusakan. Menurut Supriyanto *et al.* (2007), waktu pemanasan yang terlalu lama dapat berakibat pada kerusakan polifenol karena polifenol tidak tahan terhadap panas.

Setelah mendapatkan nilai respon florotanin, maka dilakukan perhitungan dosis yang akan diberikan pada tikus coba. Perhitungan dosis dilakukan menggunakan titik optimal faktor. Penentuan titik optimal faktor dapat diketahui melalui perhitungan ANOVA konsentrasi *Sargassum* sp dan lama waktu menggunakan design expert 10.0.0 dengan tingkat signifikan 0,05. Pada perhitungan tersebut, diketahui kesesuaian model menggunakan uji *Lack of fit*. Hipotesis yang digunakan antara lain:

H0: tidak ada *Lack of Fit* pada model, nilai Prob > F > 0,05

H1: ada *Lack of Fit*, nilai Prob > F > 5%

Model dari uji tersebut yang baik yaitu model yang menerima H0 yang berarti bahwa model sesuai dengan respon. Hasil uji *Lact of Fit* yaitu nilai Prob > F. Selain itu, hasil persamaan model dari tiap respon yang didapatkan yaitu:

$$Y = 103 + 3,59A + 5,78B + 9,76AB - 18,65A^2 - 9,61B^2$$

Dimana:

- Y = untuk mengetahui respon kadar florotanin yang akan didapat jika nilai variabel yang diperlukan berbeda
- A = konsentrasi *Sargassum* sp
- B = lama waktu

Dari hasil perhitungan, dosis florotanin dekok *Sargassum* sp yang didapatkan sebesar 2259 mg/kgBB. Dosis tersebut akan digunakan dalam penelitian utama. Perhitungan nilai respon florotanin pada masing-masing titik kombinasi dapat dilihat pada Lampiran 9. Sedangkan model ANOVA yang

signifikan dan persamaan kuadratik yang didapatkan pada RSM dapat dilihat pada Lampiran 10.

## 4.2 Fitokimia

Fitokimia merupakan senyawa kimia pada tanaman obat yang bermanfaat dalam pencegahan maupun pengobatan penyakit (Winarti dan Nurdjanah, 2005). Uji fitokimia bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa bioaktif pada *Sargassum* sp yang diharapkan dapat berperan sebagai antihiperlipidemia atau antidiabetes. Uji fitokimia yang dilakukan pada *Sargassum* sp segar dan yang diekstrak dengan metode dekoksi menghasilkan kandungan metabolit sekunder. Menurut Firdaus *et al.* (2007), penilaian fitokimia pada simplisia dan ekstrak rumput laut cokelat (*S. echinocarpum*) meliputi (-) yang menandakan kandungan bioaktif tersebut negatif, (+) yang menandakan positif lemah, (++) menandakan positif, (+++) menandakan positif kuat dan (++++) menandakan positif kuat sekali. Hasil uji fitokimia *Sargassum* sp segar dan dekok *Sargassum* sp dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Uji Fitokimia *Sargassum* sp segar dan dekok *Sargassum* sp

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

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

Uji fitokimia polifenol pada Tabel 4 dari *Sargassum* sp dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1% didapatkan hasil bahwa *Sargassum* sp segar memiliki kandungan polifenol yang positif lemah (+) dan dekok *Sargassum* sp memiliki kandungan polifenol yang positif kuat sekali (++++) dengan ciri terbentuk warna hijau kebiruan. Hal ini berarti pada penggunaan suhu  $90^\circ\text{C}$  dapat mengeluarkan senyawa polifenol lebih banyak. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Lestari *et al.* (2016) yang menunjukkan bahwa ekstraksi dengan suhu tinggi tidak merusak kandungan polifenol dan diduga memiliki senyawa polifenol paling banyak pada dekok daun kersen. Berdasarkan penelitian Prameswari dan Simon (2014), pada uji fitokimia polifenol dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1% menghasilkan warna hijau kebiruan.

Uji fitokimia flavonoid pada Tabel 4 dari *Sargassum* sp dengan pereaksi  $\text{Mg}+\text{HCl}+\text{etanol}$  didapatkan hasil bahwa *Sargassum* sp segar memiliki kandungan flavonoid yang positif (++) dan dekok *Sargassum* sp memiliki kandungan flavonoid yang positif lemah (+) dengan ciri terbentuk warna merah. Hal ini berarti pada penggunaan suhu  $90^\circ\text{C}$  dapat menurunkan kandungan senyawa flavonoid. Menurut Lenny (2006), senyawa flavonoid bersifat tidak tahan panas dan mudah teroksidasi pada suhu yang tinggi. Selain itu Qiao *et al.* (2014) menyatakan bahwa flavonoid akan terdegradasi pada suhu di atas  $100^\circ\text{C}$ . Flavonoid peka terhadap panas karena kelompok hidroksil dan ketonnya serta ikatan ganda tak jenuh. Berdasarkan penelitian Prameswari dan Simon (2014), uji fitokimia flavonoid menghasilkan warna merah.

Uji fitokimia tanin pada Tabel 4 dari *Sargassum* sp dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  didapatkan hasil bahwa *Sargassum* sp segar memiliki kandungan tanin yang positif (++) dan dekok *Sargassum* sp memiliki kandungan tanin yang positif kuat (+++), dengan ciri terbentuk warna hijau kebiruan. Hal ini berarti pada penggunaan suhu  $90^\circ\text{C}$ , ekstrak dapat mengeluarkan senyawa tanin lebih

banyak. Tanin akan terurai menjadi glukosa dan asam galat, jika dipanaskan pada suhu 98,89°C - 101,67°C. Selain itu, tanin mudah larut dalam air dan kelarutannya akan bertambah besar apabila dilarutkan dalam air panas (Browning, 1996). Menurut Shonisani (2010), jumlah tanin akan meningkat seiring dengan peningkatan temperatur dan waktu pemanasan. Berdasarkan penelitian Prameswari dan Simon (2014), uji tanin dengan pereaksi FeCl<sub>3</sub> menghasilkan warna hijau kebiruan.

Uji fitokimia alkaloid pada Tabel 4 dari *Sargassum* sp dengan pereaksi Wagner didapatkan hasil bahwa *Sargassum* sp segar memiliki kandungan alkaloid yang sama dengan dekok *Sargassum* sp yaitu positif (++) dengan ciri terdapat endapan coklat. Hal ini berarti pada penggunaan suhu 90°C tidak mempengaruhi kandungan senyawa alkaloid. Berdasarkan penelitian Huri (2016), penyeduhan teh daun sirsak dengan suhu 100°C selama 5 menit menghasilkan senyawa alkaloid yang optimal. Penyeduhan suhu yang tinggi dan dengan waktu yang lama akan meningkatkan kadar alkaloid. Oktaviana (2012) menambahkan pemanasan pada suhu tinggi bisa menyebabkan senyawa-senyawa rusak, namun dalam aplikasinya dalam bidang pengobatan, pengambilan senyawa-senyawa aktif dilakukan dengan cara ekstrak untuk menghasilkan senyawa-senyawa yang lebih murni. Berdasarkan penelitian Prameswari dan Simon (2014), uji alkaloid dengan pereaksi wagner menghasilkan endapan coklat.

Uji fitokimia steroid pada Tabel 4 dari *Sargassum* sp dengan pereaksi Kloroform + anhidrida asetat + H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat didapatkan hasil bahwa *Sargassum* sp segar memiliki kandungan steroid yang positif kuat (+++) dan dekok *Sargassum* sp memiliki kandungan steroid yang positif lemah (+) dengan ciri terdapat perubahan warna dari merah menjadi warna biru atau hijau. Hal ini berarti pada penggunaan suhu 90°C dapat menurunkan kandungan senyawa

steroid. Menurut Harborne (1987), steroid bersifat non-polar, sehingga tidak dapat terdeteksi dalam metode dekokta. Selain itu, Harbourne *et al.* (2009) menyatakan bahwa senyawa steroid memiliki sifat yang tidak tahan panas sehingga kadar steroid akan menurun ketika pemanasan pada suhu tinggi. Berdasarkan penelitian Lailiyah *et al.* (2014), pada uji fitokimia steroid akan terbentuk cincin berwarna hijau kebiruan.

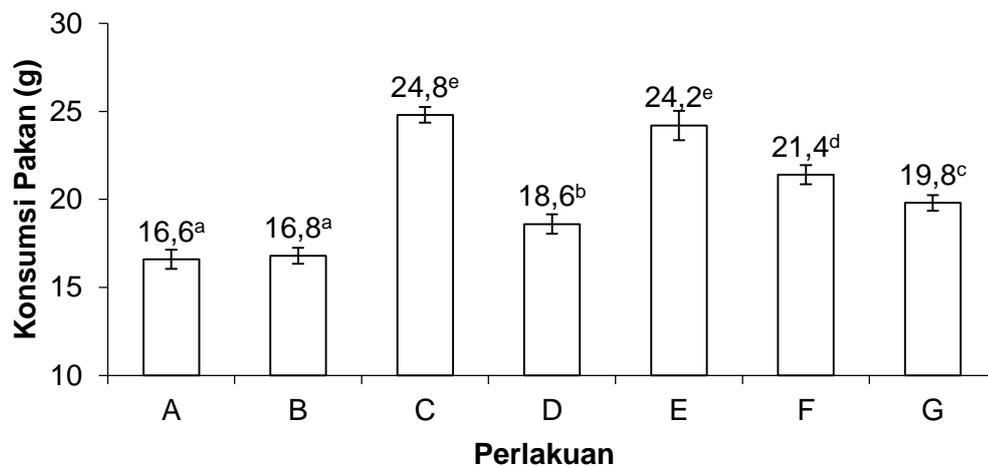
Uji fitokimia saponin pada Tabel 4 dari *Sargassum* sp dengan pereaksi HCl didapatkan hasil bahwa *Sargassum* sp segar memiliki kandungan saponin yang sama dengan dekok *Sargassum* sp yaitu positif lemah (+) dengan ciri terdapat busa yang stabil. Hal ini berarti pada penggunaan suhu 90°C tidak mempengaruhi kandungan senyawa saponin. Penelitian Chaturvedi *et al.* (2012) menunjukkan bahwa saponin mengalami penurunan jumlah senyawa setelah melalui proses *defatting* dan perebusan dalam wadah tertutup. Beberapa jenis saponin bersifat tidak tahan panas, tetapi beberapa peneliti melaporkan bahwa saponin merupakan komponen yang relatif tahan panas. Penurunan kadar saponin setelah perebusan berkisar antara 15,9 %-28,6 %. Berdasarkan penelitian Prameswari dan Simon (2014), uji fitokimia saponin menghasilkan busa yang stabil.

Dari hasil uji fitokimia tersebut dapat disimpulkan bahwa uji fitokimia yang dilakukan terdiri dari polifenol, flavonoid, tanin, alkaloid, steroid dan saponin. Kandungan polifenol pada *Sargassum* sp segar lebih rendah daripada dekok *Sargassum* sp. Kandungan flavonoid pada *Sargassum* sp segar lebih tinggi daripada dekok *Sargassum* sp. Kandungan tanin pada *Sargassum* sp segar lebih rendah daripada dekok *Sargassum* sp. Kandungan alkaloid pada *Sargassum* sp segar sama dengan dekok *Sargassum* sp. Kandungan steroid pada *Sargassum* sp segar lebih tinggi daripada dekok *Sargassum* sp. Sedangkan kandungan saponin pada *Sargassum* sp segar sama dengan dekok *Sargassum* sp.

### 4.3 Gejala Diabetes Mellitus

#### 4.3.1 Polifagia

Polifagia merupakan gejala umum dari penyakit diabetes mellitus yang ditandai dengan rasa cepat lapar dan lemas, hal ini disebabkan karena glukosa dalam tubuh semakin habis sedangkan kadar glukosa dalam darah cukup tinggi (Anonymous, 2011<sup>b</sup>). Tujuan dari analisis polifagia yaitu untuk mengetahui perubahan jumlah konsumsi pakan tikus yang berbeda pada tiap perlakuan. Data pengamatan dan analisis data pada perubahan konsumsi pakan tikus dapat dilihat pada Lampiran 11. Hasil analisis data menunjukkan bahwa konsumsi pakan tikus antar perlakuan di akhir penelitian berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Perubahan berat pakan tikus selama masa penelitian dapat dilihat pada Gambar 15.



Keterangan:

A = tikus normal (kontrol negatif) + akuades

B = tikus normal (kontrol negatif) + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1 x sehari

C = tikus DM (kontrol positif) + akuades

D = tikus DM (kontrol positif) + metformin 63 mg/kgBB

E = tikus DM (perlakuan) + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1 x sehari

F = tikus DM (perlakuan) + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2 x sehari

G = tikus DM (perlakuan) + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3 x sehari

**Gambar 15.** Grafik Perubahan Konsumsi Pakan Tikus

Gambar 15 menunjukkan konsumsi pakan tikus normal (A) lebih rendah dibandingkan tikus normal + dekok *Sargassum* sp 1x sehari (B). Hal ini berarti

dekok *Sargassum* sp mampu meningkatkan konsumsi pakan tikus namun masih pada kondisi normal. Dyahnugra dan Widjanarko (2015) menyatakan bahwa konsumsi pakan tikus pada umumnya yaitu sebesar 15-18 g/hari. Menurut Magdalena *et al.* (2014), polifenol dalam *Sargassum* sp dapat mensekresi insulin, sehingga metabolisme glukosa terjadi kembali. Ketika glukosa berkurang oleh sel-sel tersebut maka cadangan energi yang berupa lemak dan glikogen juga berkurang, sehingga asupan pakan cenderung meningkat (Tibrani, 2009).

Gambar 15 menunjukkan konsumsi pakan tikus normal (A) lebih rendah dibandingkan tikus DM (C). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, konsumsi pakan tikus lebih banyak daripada tikus normal. Menurut Bustam (2014), pada kondisi diabetes mellitus, tubuh terasa lemas dan merasa lapar dengan intensitas yang lebih tinggi. Hal ini disebabkan karena tidak adanya glukosa yang diserap menjadi energi dalam tubuh. Pada saat energi dalam tubuh berkurang, hormon glukagon akan merangsang perombakan cadangan makanan dalam tubuh berupa glikogen untuk dipecah menjadi glukosa yang nantinya akan diubah menjadi energi dalam bentuk ATP.

Gambar 15 menunjukkan konsumsi pakan tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + metformin (D). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, metformin mampu menurunkan konsumsi pakan tikus namun masih belum mencapai batas normal. Dyahnugra dan Widjanarko (2015) menyatakan bahwa konsumsi pakan tikus pada umumnya yaitu sebesar 15-18 g/hari. Berdasarkan penelitian Khan *et al.* (2012), metformin sebagai obat yang banyak digunakan pada penderita diabetes tipe 1 dan tipe 2 untuk mencegah kenaikan berat badan dengan cara mengurangi asupan makanan. Selain itu, metformin dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan cara menghambat penyerapan glukosa di usus (Lark, 2010).

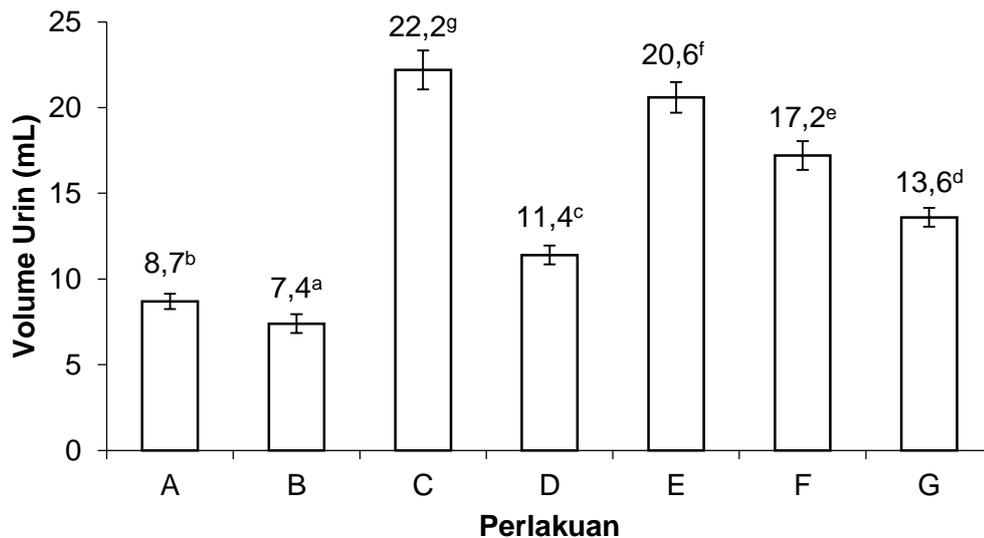
Gambar 15 menunjukkan konsumsi pakan tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, dekok *Sargassum* sp mampu menurunkan konsumsi pakan tikus seiring dengan peningkatan frekuensi pemberiannya. Semakin tinggi frekuensi pemberian maka konsumsi pakan semakin berkurang. Berdasarkan penelitian Carvaljo *et al.* (2016), polifenol pada *Sargassum* sp dapat menurunkan konsumsi makanan yang berlebihan pada tikus diabetes mellitus karena dapat mensekresi insulin sehingga metabolisme glukosa dapat terjadi kembali.

Gambar 15 menunjukkan konsumsi pakan tikus DM + metformin (D) lebih rendah dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti metformin mampu menurunkan konsumsi pakan lebih cepat daripada dekok *Sargassum* sp. Metformin merupakan obat hipoglikemik oral yang memiliki dosis sebesar 250-3000 mg/kgBB dan dapat bertahan di dalam tubuh selama 6-8 jam (Sarwono, 1996). Sedangkan dosis polifenol pada dekok *Sargassum* sp yang diberikan sebesar 2259 mg/kgBB dan polifenol hanya dapat bertahan di dalam tubuh selama 4 jam (Mannivannan *et al.*, 2015). Selain itu, pada pemberian polifenol sebanyak 3x masih belum menurunkan konsumsi pakan sampai batas normal. Dyahnugra dan Widjanarko (2015) menyatakan bahwa konsumsi pakan tikus pada umumnya yaitu sebesar 15-18 g/hari.

#### **4.3.2 Poliuria**

Poliuria merupakan gejala diabetes mellitus yang ditandai dengan keadaan dimana volume air kemih dalam 24 jam meningkat melebihi batas normal. Tujuan analisis poliuria yaitu untuk mengetahui perubahan volume urin

tikus yang berbeda pada tiap perlakuan. Data pengamatan dan analisis data pada perubahan volume urin tikus dapat dilihat pada Lampiran 12. Hasil analisis data menunjukkan bahwa volume urin tikus antar perlakuan selama masa penelitian berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Perubahan volume urin tikus selama masa penelitian dapat dilihat pada Gambar 16.



**Gambar 16.** Grafik Perubahan Volume Urin Tikus

Gambar 16 menunjukkan volume urin tikus normal (A) lebih tinggi dibandingkan tikus normal + dekok *Sargassum* sp 1x sehari (B). Hal ini berarti dekok *Sargassum* sp mampu menurunkan volume urin tikus namun masih pada batas normal. Hubrecht dan Kirkwood (2010) menyatakan bahwa produksi urin tikus normal pada umumnya yaitu  $\leq 15$  mL/hari. Menurut Ridwan *et al.*, (2012), polifenol pada *Sargassum* sp mampu meningkatkan toleransi glukosa oral dan menurunkan kadar glukosa darah. Dengan menurunnya kadar glukosa darah maka proses glukoneogenesis menurun dan intensitas urin mulai berkurang.

Gambar 16 menunjukkan volume urin tikus normal (A) lebih rendah dibandingkan tikus DM (C). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, volume urin tikus lebih banyak dibanding tikus normal. Menurut Hembing (2008), pada saat kondisi diabetes mellitus, akan mengakibatkan peningkatan metabolisme protein

dan asam amino yang digunakan sebagai substrat untuk proses glukoneogenesis dalam hati. Proses glukoneogenesis tersebut menyebabkan penipisan simpanan protein karena unsur nitrogen (sebagai pemecah protein), sehingga tidak dapat digunakan kembali untuk semua bagian tetapi diubah menjadi urea dalam hepar dan diekskresikan dalam urin.

Gambar 16 menunjukkan volume urin tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + metformin (D). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, metformin mampu menurunkan volume urin tikus sampai batas normal. Hubrecht dan Kirkwood (2010) menyatakan bahwa produksi urin tikus normal pada umumnya yaitu  $\leq 15$  mL/hari. Pada saat kadar glukosa darah melebihi batas ambang ginjal (*renal threshold*), glukosa yang berlebihan akan dikeluarkan oleh ginjal dan membutuhkan banyak air untuk mengeluarkannya. Intensitas urin yang berlebihan menyebabkan tubuh kekurangan cairan (Dalimartha dan Adrian, 2012). Metformin dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan cara mengurangi produksi glukosa oleh hati dan dapat memperbaiki sensitivitas otot terhadap insulin serta menghambat penyerapan glukosa di usus, sehingga dapat menghambat intensitas urin yang berlebihan (Lark, 2010).

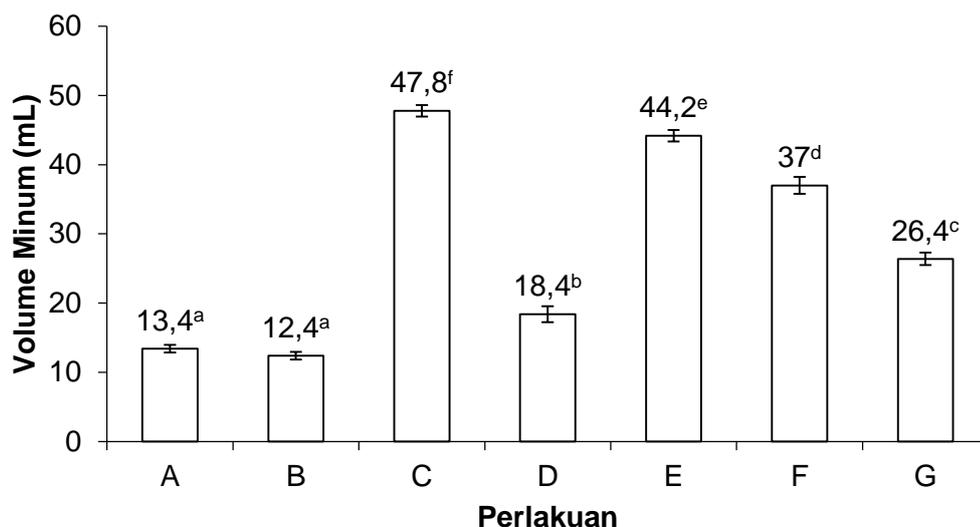
Gambar 16 menunjukkan volume urin tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, dekok *Sargassum* sp mampu menghambat produksi urin tikus yang berlebihan seiring dengan peningkatan frekuensi pemberiannya. Semakin tinggi frekuensi pemberian maka produksi urin semakin berkurang. Menurut Jiang *et al.* (2014), kandungan polifenol yang terdapat dalam ekstrak mampu meningkatkan sekresi insulin, sehingga asupan glukosa yang masuk dalam tubuh dapat diproses dan diubah menjadi energi. Hal tersebut mengakibatkan produksi urin yang

didalamnya terdapat glukosa akan menurun dan volume urin yang dikeluarkan menjadi lebih sedikit.

Gambar 16 menunjukkan volume urin tikus DM + metformin (D) lebih rendah dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti metformin mampu menurunkan volume urin lebih cepat daripada dekok *Sargassum* sp. Metformin memiliki dosis sebesar 250-3000 mg/kgBB dan dapat bertahan di dalam tubuh selama 6-8 jam (Sarwono, 1996). Sedangkan dosis polifenol pada dekok *Sargassum* sp yang diberikan sebesar 2259 mg/kgBB. Selain itu, polifenol hanya dapat bertahan di dalam tubuh selama 4 jam (Mannivannan *et al.*, 2015). Namun, pemberian polifenol dekok *Sargassum* sp 3x sehari mampu menurunkan volume urin sampai batas normal. Hubrecht dan Kirkwood (2010) menyatakan bahwa produksi urin tikus normal pada umumnya yaitu  $\leq 15$  mL/hari.

#### **4.3.3 Polidipsia**

Polidipsia merupakan gejala umum dari penyakit diabetes mellitus yang ditandai dengan rasa haus berlebihan yang timbul karena kadar glukosa terbawa oleh urin sehingga tubuh merespon untuk meningkatkan asupan cairan (Subekti, 2009). Tujuan analisis polidipsia yaitu untuk mengetahui perubahan volume minum tikus pada tiap perlakuan. Data pengamatan dan analisis data pada perubahan volume minum tikus dapat dilihat pada Lampiran 13. Hasil analisis data menunjukkan bahwa volume minum tikus antar perlakuan selama masa penelitian berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Perubahan volume minum tikus selama masa penelitian dapat dilihat pada Gambar 17.



**Gambar 17.** Grafik Perubahan Volume Minum Tikus

Gambar 17 menunjukkan volume minum tikus normal (A) lebih tinggi dibandingkan tikus normal + dekok *Sargassum* sp 1x sehari (B). Hal ini berarti dekok *Sargassum* sp dapat menurunkan volume minum tikus namun masih pada batas normal. Sinata dan Arifin (2016) menyatakan bahwa konsumsi air minum tikus normal pada umumnya yaitu 20-23 mL/hari. Berdasarkan penelitian Kandandapani *et al.* (2015), volume air minum pada tikus diabetes mellitus yang diberi polifenol akan mengalami penurunan secara berkala. Hal ini disebabkan karena polifenol mampu mensekresi insulin yang dapat melakukan metabolisme glukosa dalam tubuh, sehingga tubuh tidak memaksa agar glukosa dikeluarkan bersamaan dengan urin dan cairan dalam tubuh tidak banyak yang keluar.

Gambar 17 menunjukkan volume minum tikus normal (A) lebih rendah dibandingkan tikus DM (C). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, terjadi penurunan kadar glukosa darah yang menyebabkan dehidrasi berat pada sel tubuh sehingga mengakibatkan kehilangan cairan yang sangat besar dalam urin. Penelitian Dyahnugra dan Widjanarko (2015) juga menyatakan bahwa tikus kontrol positif menunjukkan asupan makanan yang lebih tinggi daripada tikus perlakuan lain. Hal tersebut terjadi akibat kondisi hiperglikemia yang

menyebabkan tubuh kekurangan cairan dan tubuh dipaksa mengalami rasa haus yang berlebihan.

Gambar 17 menunjukkan volume minum tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + metformin (D). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, metformin mampu menurunkan volume minum tikus dan mencapai batas normal. Sinata dan Arifin (2016) menyatakan bahwa konsumsi air minum tikus normal pada umumnya yaitu 20-23 mL/hari. Menurut Setiabudy (2007), metformin dapat menurunkan produksi glukosa di hepar dan meningkatkan sensitivitas jaringan otot adipose terhadap insulin. Dengan menurunnya kadar glukosa darah, maka akan mengembalikan cairan yang hilang dalam urin, sehingga dehidrasi pada sel tubuh akibat tekanan osmotik hilang.

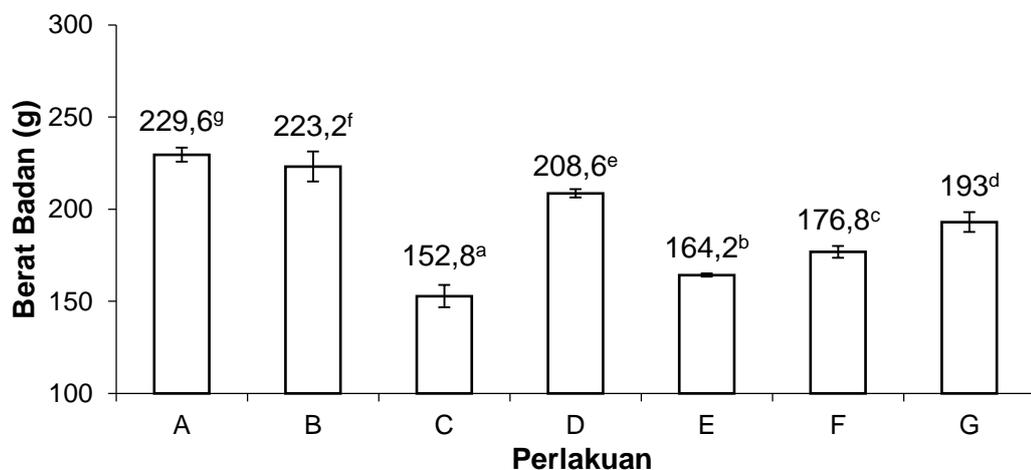
Gambar 17 menunjukkan volume minum tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, dekok *Sargassum* sp mampu menurunkan volume minum seiring dengan peningkatan frekuensi pemberiannya. Semakin tinggi frekuensi pemberian maka volume minum semakin berkurang. Menurut Syaputri (2013), penurunan volume minum disebabkan adanya polifenol dalam *Sargassum* sp yang dapat menahan kerusakan sel  $\beta$  pankreas dan mensekresi insulin sehingga glukosa yang masuk dalam tubuh dapat diproses yang mengakibatkan glukosa harus dibuang bersamaan dengan urin yang berkurang dan cairan yang harus dikeluarkan oleh tubuh juga berkurang.

Gambar 17 menunjukkan volume minum tikus DM + metformin (D) lebih rendah dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti metformin mampu

menurunkan volume minum tikus lebih banyak daripada dekok *Sargassum* sp. Metformin memiliki dosis sebesar 250-3000 mg/kgBB dan dapat bertahan di dalam tubuh selama 6-8 jam (Sarwono, 1996). Sedangkan dosis polifenol pada dekok *Sargassum* sp yang diberikan sebesar 2259 mg/kgBB. Selain itu, polifenol hanya dapat bertahan di dalam tubuh selama 4 jam (Mannivannan *et al.*, 2015). Sehingga pemberian polifenol dekok *Sargassum* sp 3x sehari belum mampu menurunkan volume minum sampai batas normal. Sinata dan Arifin (2016) menyatakan bahwa konsumsi air minum tikus normal pada umumnya yaitu 20-23 mL/hari.

#### 4.3.4 Berat badan

Penurunan berat badan merupakan gejala umum dari penyakit diabetes mellitus yang disebabkan karena tubuh terpaksa mengambil dan membakar lemak sebagai cadangan energi (Subekti, 2009). Tujuan analisis berat badan yaitu untuk mengetahui perubahan berat badan tikus pada tiap perlakuan. Data pengamatan dan analisis data pada perubahan berat badan tikus dapat dilihat pada Lampiran 14. Hasil analisis data menunjukkan bahwa berat badan tikus antar perlakuan selama masa penelitian berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Perubahan berat badan tikus selama masa penelitian dapat dilihat pada Gambar 18.



**Gambar 18.** Grafik Perubahan Berat Badan Tikus

Gambar 18 menunjukkan berat badan tikus normal (A) lebih tinggi dibandingkan tikus normal + dekok *Sargassum* sp 1x sehari (B). Hal ini berarti dekok *Sargassum* sp belum mampu meningkatkan berat badan namun masih dalam batas normal. Berat badan tikus normal pada umumnya yaitu  $\geq 200$  g (Brandt *et al.*, 2000). Diduga penurunan berat badan disebabkan karena pada kondisi normal, tikus dalam keadaan sehat dan ketika diberi perlakuan, metabolisme tikus tidak berjalan normal sehingga berat badan mengalami penurunan. Pada tikus normal terjadi asupan energi paling banyak sehingga menyebabkan kenaikan berat badan yang paling tinggi jika dibandingkan kelompok kontrol lainnya (Widiyana, 2014).

Gambar 18 menunjukkan berat badan tikus normal (A) lebih tinggi dibandingkan tikus DM (C). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2 dapat menyebabkan terganggunya metabolisme karbohidrat, lemak dan protein sehingga mengakibatkan berat badan mengalami penurunan selama masa perlakuan. Menurut Pratiwi (2012), pada kondisi diabetes, kadar glukosa dalam darah tinggi namun sel tidak dapat memanfaatkan glukosa dalam darah sehingga sumber tenaganya diambil dari otot atau hati melalui proses glukoneogenesis, sehingga keadaan tersebut menyebabkan berat badan menurun.

Gambar 18 menunjukkan berat badan tikus DM (C) lebih rendah dibandingkan tikus DM + metformin (D). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, metformin mampu meningkatkan berat badan tikus hingga mencapai batas normal. Berat badan tikus normal pada umumnya yaitu  $\geq 200$  g (Brandt *et al.*, 2000). Menurut Widiyana (2014), penurunan berat badan disebabkan karena metformin tidak merangsang ataupun menghambat glukosa menjadi lemak. Berdasarkan penelitian Khan *et al.* (2012), metformin merupakan obat yang banyak digunakan pada penderita diabetes tipe 1 dan tipe 2 yang dapat

mencegah kenaikan berat badan dengan cara mengurangi asupan makanan dimana mekanisme penurunan badannya masih belum diketahui.

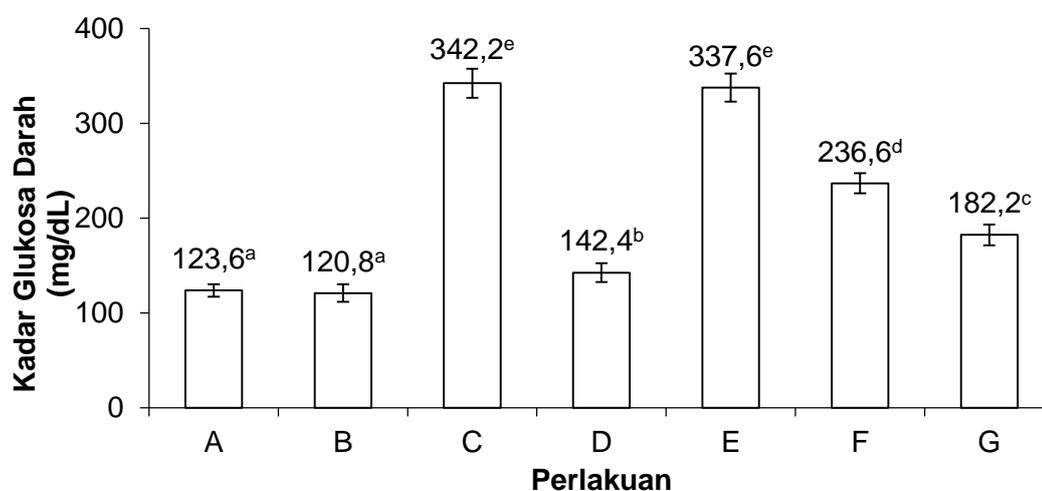
Gambar 18 menunjukkan berat badan tikus DM (C) lebih rendah dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, dekok *Sargassum* sp mampu meningkatkan berat badan seiring dengan peningkatan frekuensi pemberiannya. Semakin tinggi frekuensi pemberian maka berat badan semakin meningkat. Gejala pada penyakit DM dipengaruhi oleh sekresi insulin dan resistensi insulin dalam metabolisme glukosa. Jumlah sekresi insulin yang berkurang menyebabkan insulin tidak mampu mendistribusikan glukosa dalam darah sehingga kadar glukosa darah tinggi dan terbuang melalui urin. Resistensi insulin menyebabkan insulin dalam tubuh tidak mampu bekerja secara optimal sehingga pemanfaatan glukosa sebagai energi pada sel terhambat dan menyebabkan penurunan berat badan (Mc-Clung *et al.*, 2004). Polifenol pada *Sargassum* sp dapat menurunkan kadar glukosa darah karena terjadi perbaikan sel  $\beta$  pankreas sehingga pankreas mampu menghasilkan dan meningkatkan sekresi insulin. Peningkatan sekresi insulin tersebut mengakibatkan glukosa darah terdistribusi kembali ke dalam tubuh sehingga dapat diubah menjadi energi maupun disimpan dalam bentuk glikogen (Dewi *et al.*, 2013).

Gambar 18 menunjukkan berat badan tikus DM + metformin (D) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti metformin mampu meningkatkan berat badan lebih cepat dibanding dekok *Sargassum* sp. Namun berat badan pada tikus yang diberi metformin lebih rendah daripada tikus normal. Metformin memiliki dosis sebesar 250-3000 mg/kgBB dan dapat bertahan di

dalam tubuh selama 6-8 jam (Sarwono, 1996). Sedangkan dosis polifenol pada dekok *Sargassum* sp yang diberikan sebesar 2259 mg/kgBB. Selain itu, polifenol hanya dapat bertahan di dalam tubuh selama 4 jam (Mannivannan *et al.*, 2015). Sehingga, pemberian polifenol dekok *Sargassum* sp 3x sehari belum mampu meningkatkan berat badan sampai batas normal. Berat badan tikus normal pada umumnya yaitu  $\geq 200$  g (Brandt *et al.*, 2000).

#### 4.4 Kadar Glukosa Darah

Glukosa darah merupakan gula dalam darah yang terbentuk dari karbohidrat dalam makanan dan disimpan sebagai glikogen di hati dan otot rangka (Lee, 2007). Peningkatan kadar glukosa darah merupakan salah satu ciri-ciri dari penyakit diabetes mellitus. Tujuan analisis glukosa darah yaitu untuk mengetahui perubahan kadar gula darah tikus pada tiap perlakuan. Data pengamatan dan analisis data pada perubahan glukosa darah tikus dengan tujuh perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 15. Hasil analisis data menunjukkan bahwa kadar glukosa darah tikus antar perlakuan di akhir penelitian berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Perubahan kadar glukosa darah tikus pada akhir masa penelitian dapat dilihat pada Gambar 19.



**Gambar 19.** Grafik Kadar Glukosa Darah Tikus

Gambar 19 menunjukkan kadar glukosa darah tikus normal (A) lebih tinggi dibandingkan tikus normal + dekok *Sargassum* sp 1x sehari (B). Hal ini berarti pemberian dekok *Sargassum* sp mampu menurunkan kadar glukosa darah. Kadar glukosa darah sesaat pada tikus normal memiliki standar yaitu  $\leq 200$  mg/dL (Anonymous, 2011<sup>b</sup>), hal ini berarti dalam penelitian tersebut kadar glukosa darah pada tikus kontrol negatif sesuai dengan standar normal. Menurut Prameswari dan Simon (2014), senyawa bioaktif seperti tanin, alkaloid, flavonoid dan polifenol dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan mencegah terjadinya oksidasi pada sel  $\beta$  pankreas, sehingga kerusakan dapat diminimalisir.

Gambar 19 menunjukkan kadar glukosa darah tikus normal (A) lebih rendah dibandingkan tikus DM (C). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, kadar glukosa darah semakin tinggi. Menurut Nugroho (2016), DM tipe 2 terjadi karena resistensi insulin yang menyebabkan glukosa sulit masuk ke dalam jaringan perifer. Semakin tinggi kadar glukosa dalam darah, maka sel  $\beta$  pankreas mengalami adaptasi sehingga respon untuk mensekresi insulin menjadi kurang sensitif atau terjadi kelelahan sel  $\beta$  pankreas. Kelelahan sel  $\beta$  pankreas mengakibatkan defisiensi insulin.

Gambar 19 menunjukkan kadar glukosa darah tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + metformin (D). Kadar glukosa darah sesaat pada tikus normal memiliki standar yaitu  $\leq 200$  mg/dL (Anonymous, 2011<sup>b</sup>), hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, metformin mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus hingga mencapai standar normal. Menurut Rojas dan Gomes (2013), metformin memiliki peran yaitu dengan cara mengurangi produksi glukosa pada hati dan menambah penyerapan glukosa pada jaringan perifer pada otot. Metformin mengandung antioksidan dalam menurunkan kadar glukosa darah sehingga dapat dijadikan sebagai antidiabetes.

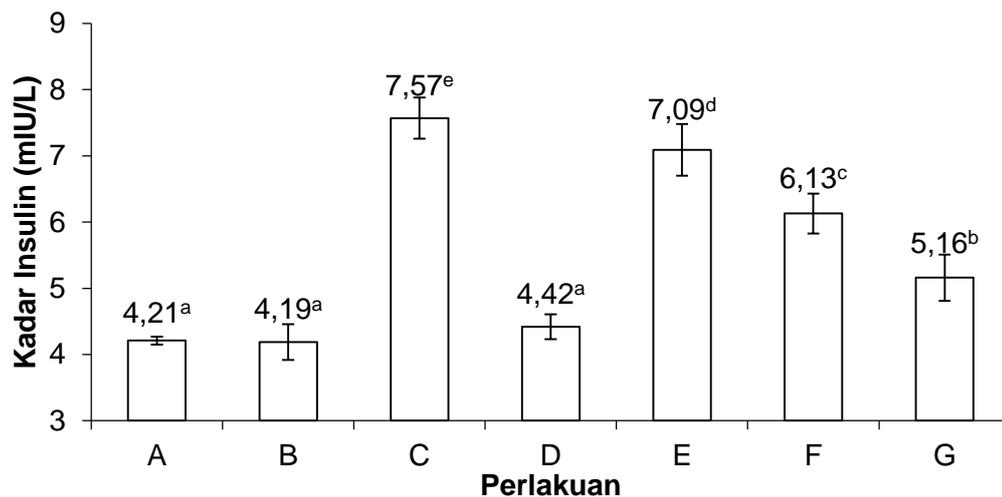
Gambar 19 menunjukkan kadar glukosa darah tikus DM + metformin (D) lebih rendah dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G)., hal ini berarti metformin mampu menurunkan glukosa darah lebih cepat daripada dekok *Sargassum* sp. Metformin memiliki dosis sebesar 250-3000 mg/kgBB dan dapat bertahan di dalam tubuh selama 6-8 jam (Sarwono, 1996). Sedangkan dosis polifenol pada dekok *Sargassum* sp yang diberikan sebesar 2259 mg/kgBB. Selain itu, polifenol hanya dapat bertahan di dalam tubuh selama 4 jam (Mannivannan *et al.*, 2015). Namun, pemberian polifenol dekok *Sargassum* sp 3x sehari mampu menurunkan kadar glukosa darah sampai batas normal. Kadar glukosa darah sesaat pada tikus normal memiliki standar yaitu  $\leq 200$  mg/dL (Anonymous, 2011<sup>b</sup>).

Gambar 19 menunjukkan kadar glukosa darah tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti pemberian dekok *Sargassum* sp mampu menurunkan glukosa darah pada DM tipe 2 seiring dengan peningkatan frekuensi pemberiannya. Semakin tinggi frekuensi yang diberikan maka semakin efektif menurunkan kadar glukosa darah, namun belum mendekati batas normal. Menurut Aulanni'am *et al.* (2012), semakin lama pemberian terapi ekstrak rumput laut coklat terhadap tikus maka semakin tinggi aktivitas penghambatan proses oksidasi. Penghambatan proses oksidasi disebabkan oleh adanya antioksidan polifenol (flavonoid) yang terkandung dalam ekstrak rumput laut coklat. Flavonoid mempunyai struktur yang ideal untuk antioksidan yaitu sebagai *scavenger* radikal dengan adanya senyawa fenol lebih dari satu yang tersusun oleh gugus aromatik dan gugus OH serta adanya ikatan rangkap terkonjugasi dimana struktur tersebut

dibutuhkan dalam penangkapan radikal bebas. Hal ini dapat menyebabkan glukosa darah menurun.

#### 4.5 Insulin

Insulin merupakan hormon yang mengatur keseimbangan kadar glukosa dalam darah. Tujuan analisis insulin yaitu untuk mengetahui perubahan kadar insulin darah tikus pada tiap perlakuan. Data pengamatan dan analisis data kadar insulin tikus dapat dilihat pada Lampiran 16. Hasil analisis data menunjukkan bahwa kadar insulin tikus antar perlakuan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Kadar insulin tikus pada akhir masa penelitian dapat dilihat pada Gambar 20.



**Gambar 20.** Grafik Kadar Insulin Tikus

Gambar 20 menunjukkan bahwa kadar insulin tikus normal (A) lebih tinggi dibandingkan tikus normal + dekok *Sargassum* sp 1x sehari (B). Hal ini berarti pemberian dekok *Sargassum* sp mampu menurunkan kadar insulin sampai batas normal. Kadar insulin pada tikus normal umumnya yaitu  $\leq 5,5$  mIU/L (Brandt *et al.*, 2000). *Sargassum* sp memiliki komponen bioaktif polifenol kelompok florotanin. Polifenol tersebut mampu menghambat ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan proses peroksidasi lipid karena polifenol dapat meningkatkan

aktivitas dan ekspresi antioksidan sehingga menghambat aktivitas radikal bebas dalam tubuh (Firdaus *et al.*, 2010). Aktivitas antioksidan diduga mampu melindungi sejumlah sel-sel  $\beta$  yang tetap normal, sehingga memungkinkan terjadinya sel-sel  $\beta$  yang masih ada melalui proses mitosis atau melalui pembentukan pulau baru dengan cara proliferasi dan diferensiasi endokrin dari sel-sel *ductal* dan *ductular*. Adanya perbaikan sel  $\beta$  pankreas penghasil insulin, maka terjadi peningkatan jumlah insulin di dalam tubuh yang mampu memfasilitasi masuknya glukosa darah ke dalam sel, sehingga terjadi penurunan kadar glukosa darah dalam tubuh (Suryani *et al.*, 2013).

Gambar 20 menunjukkan bahwa kadar insulin tikus normal (A) lebih rendah dibandingkan tikus DM (C). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, kadar insulin semakin meningkat. Menurut Nugroho (2006), secara patofisiologi DM tipe 2 disebabkan karena dua hal, yaitu penurunan respon jaringan perifer terhadap insulin yang disebut juga resistensi insulin dan penurunan kemampuan sel  $\beta$  pankreas untuk mensekresi insulin sebagai respon terhadap peningkatan kadar glukosa darah. Apabila kadar glukosa darah naik, maka sel  $\beta$  pankreas akan teraktivasi untuk mengompensasi dengan memproduksi insulin dan insulin akan diproduksi lebih banyak lagi pada penderita obesitas.

Gambar 20 menunjukkan kadar insulin tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + metformin (D). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, metformin mampu menurunkan kadar insulin tikus sampai mencapai batas normal. Kadar insulin pada tikus normal umumnya yaitu  $\leq 5,5$  mIU/L (Brandt *et al.*, 2000). Produksi insulin pada DM tipe 2 dipengaruhi oleh peningkatan kadar glukosa darah dengan teraktivasinya sel  $\beta$  pankreas (Nugroho, 2006). Metformin dapat menurunkan kadar glukosa darah. Mekanisme metformin dalam menurunkan glukosa darah meliputi stimulasi glikolisis langsung pada jaringan perifer dengan peningkatan pengeluaran glukosa dari darah, mengurangi

glukogenesis hati, memperlambat absorpsi glukosa dari darah (Katzung, 2007). Kadar glukosa darah yang menurun mengakibatkan produksi insulin menjadi berkurang.

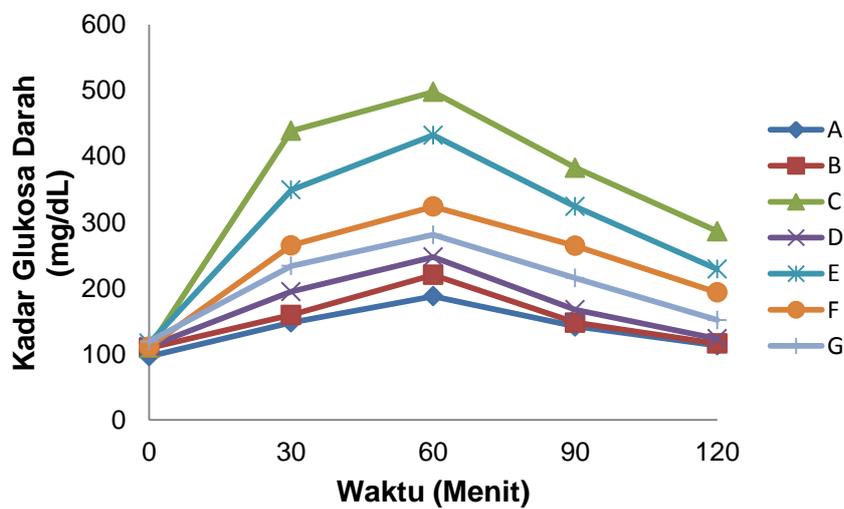
Gambar 20 menunjukkan bahwa kadar insulin tikus DM + metformin (D) lebih rendah dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti metformin mampu menurunkan kadar insulin dalam darah lebih cepat daripada dekok *Sargassum* sp. Metformin memiliki dosis sebesar 250-3000 mg/kgBB dan dapat bertahan di dalam tubuh selama 6-8 jam (Sarwono, 1996). Sedangkan dosis polifenol pada dekok *Sargassum* sp yang diberikan sebesar 2259 mg/kgBB. Selain itu, polifenol hanya dapat bertahan di dalam tubuh selama 4 jam (Mannivannan *et al.*, 2015). Namun, pemberian polifenol dekok *Sargassum* sp 3x sehari mampu menurunkan kadar insulin sampai batas normal. Kadar insulin pada tikus normal umumnya yaitu  $\leq 5,5$  mIU/L (Brandt *et al.*, 2000).

Gambar 20 menunjukkan bahwa kadar insulin tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti pemberian dekok *Sargassum* sp mampu meningkatkan kadar insulin seiring dengan frekuensi pemberiannya. Semakin tinggi frekuensi yang diberikan maka semakin tinggi pula kadar insulin dalam darah. Polifenol dalam *Sargassum* sp bersifat sebagai antioksidan karena memiliki sifat pereduksi yaitu agen pendonor atau penyumbang hidrogen. Polifenol memiliki struktur kimia yang ideal sebagai *scavenger* radikal. Potensi polifenol sebagai antioksidan dapat diamati dari kecenderungan senyawa untuk mengkelat logam terutama besi dan tembaga, sehingga dapat menghambat pembentukan radikal bebas yang dikatalisis oleh logam (Rice-Evans *et al.*, 1997).

Aktivitas antioksidan mampu menangkap radikal bebas dan menghambat kerusakan sel  $\beta$  pankreas, sehingga sel yang tersisa masih tetap berfungsi. Adanya perbaikan sel  $\beta$  pankreas penghasil insulin, maka terjadi peningkatan jumlah insulin di dalam tubuh yang mampu memfasilitasi masuknya glukosa darah ke dalam sel, sehingga terjadi penurunan kadar glukosa darah dalam tubuh (Suryani *et al.*, 2013).

#### 4.6 Uji Toleransi Glukosa Oral

Tes Toleransi Glukosa Oral atau *Oral Glucose Tolerance Test (OGTT)* merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui kemampuan tubuh dalam melakukan metabolisme karbohidrat (Price, 1996). OGTT juga digunakan untuk menguji sensitivitas terhadap insulin. Hasil uji toleransi glukosa oral dapat dilihat pada Gambar 21 dan data uji toleransi glukosa oral dapat dilihat pada Lampiran 17

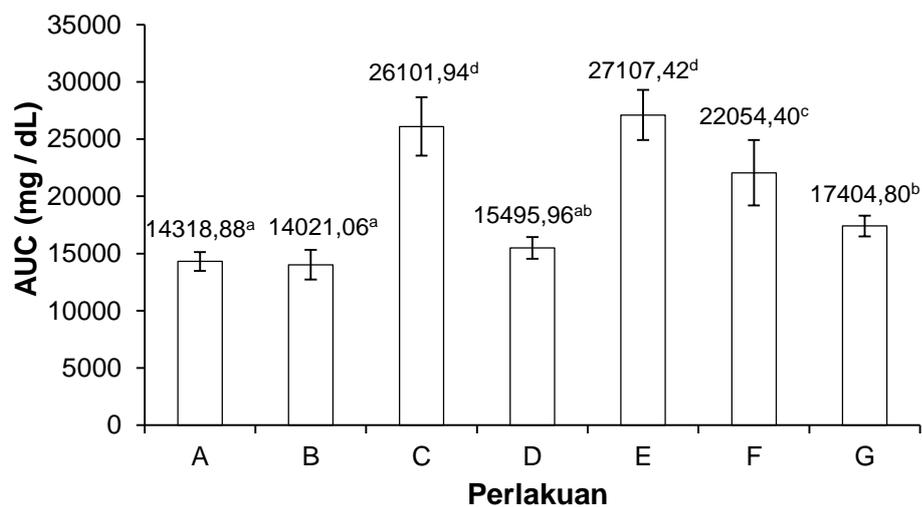


**Gambar 21.** Hasil Pengukuran Toleransi Glukosa Oral

Gambar 21 menunjukkan bahwa peningkatan kadar glukosa darah terjadi pada menit ke-30 dan mencapai puncaknya pada menit ke-60. Setelah menit ke-60 terjadi penurunan sampai menit ke-120. Kenaikan tersebut terjadi karena tikus

mengalami gangguan pada sensitivitas insulin sehingga glukosa yang masuk akan menumpuk dalam pembuluh darah yang mengakibatkan kadar glukosa darah menjadi tinggi. Menurut Kumar *et al.* (2014), kadar puncak glukosa darah terjadi pada menit ke-60 dan kadar glukosa darah akan menurun pada menit berikutnya.

Dari hasil pengamatan OGTT yang didapatkan, maka dilakukan perhitungan *Area Under Curve* (AUC). AUC merupakan jumlah obat yang masuk ke dalam aliran darah tikus pada waktu setelah dosis diberikan. AUC dapat dihitung dengan menggunakan rumus *trapezium*. Hasil AUC dapat dilihat pada Gambar 22 dan perhitungan AUC dapat dilihat pada Lampiran 17.



**Gambar 22.** Grafik AUC<sub>glucose</sub>

Gambar 22 menunjukkan bahwa luas AUC<sub>glu</sub> tikus normal (A) tidak berbeda dengan luas AUC<sub>glu</sub> tikus normal + dekok *Sargassum* sp 1x sehari (B). Namun Luas AUC<sub>glu</sub> A>B dengan perlakuan A dianggap 1 sehingga perlakuan B sebesar 0,9. Hal ini berarti pemberian dekok *Sargassum* sp mampu menurunkan toleransi glukosa oral. *Sargassum* sp memiliki komponen bioaktif polifenol kelompok florotanin. Polifenol tersebut mampu menghambat ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan proses peroksidasi lipid karena polifenol dapat

meningkatkan aktivitas dan ekspresi antioksidan sehingga menghambat aktivitas radikal bebas dalam tubuh (Firdaus *et al.*, 2010). Aktivitas antioksidan diduga mampu melindungi sejumlah sel-sel  $\beta$  yang tetap normal, sehingga memungkinkan terjadinya sel-sel  $\beta$  yang masih ada melalui proses mitosis atau melalui pembentukan pulau baru dengan cara proliferasi dan diferensiasi endokrin dari sel-sel *ductal* dan *ductular*. Adanya perbaikan sel  $\beta$  pankreas penghasil insulin, maka terjadi peningkatan jumlah insulin di dalam tubuh yang mampu memfasilitasi masuknya glukosa darah ke dalam sel, sehingga terjadi penurunan kadar glukosa darah dalam tubuh (Suryani *et al.*, 2013).

Gambar 22 menunjukkan luas  $AUC_{glu}$  tikus DM (C) lebih besar 2,3 dibandingkan dengan tikus normal (A). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, tikus memiliki toleransi glukosa buruk. Kriteria toleransi glukosa oral pada umumnya yaitu dengan kadar glukosa darah  $\geq 200$  mg/dL (Anonymous, 2011<sup>b</sup>). Menurut (Park *et al.*, 2006), DM tipe 2 disebabkan oleh resistensi insulin daripada defisiensi insulin. Resistensi insulin ditandai dengan berkurangnya kemampuan insulin dalam menghambat pengeluaran glukosa dari hepar dan kemampuannya untuk membantu pengambilan glukosa pada jaringan otot dan lemak.

Gambar 22 menunjukkan luas  $AUC_{glu}$  tikus DM (C) lebih besar dibandingkan tikus DM + metformin (D). Luas  $AUC_{glu}$  tikus C sebesar 2,3, sedangkan  $AUC_{glu}$  tikus D sebesar 1,1. Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, metformin mampu meningkatkan sensitivitas insulin dan toleransi glukosa darah. Produksi insulin pada DM tipe 2 dipengaruhi oleh peningkatan kadar glukosa darah dengan teraktivasinya sel  $\beta$  pankreas (Nugroho, 2006). Metformin dapat menurunkan kadar glukosa darah. Mekanisme metformin dalam menurunkan glukosa darah meliputi stimulasi glikolisis langsung pada jaringan perifer dengan peningkatan pengeluaran glukosa dari darah, mengurangi glukogenesis hati,

memperlambat absorpsi glukosa dari darah (Katzung, 2007). Kadar glukosa darah yang menurun mengakibatkan produksi insulin menjadi berkurang.

Gambar 22 menunjukkan luas  $AUC_{glu}$  pada tikus DM + metformin (D) lebih rendah dibandingkan dengan luas  $AUC_{glu}$  pada tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Luas  $AUC_{glu}$  pada tikus D adalah sebesar 1,1. Sedangkan pada tikus E sebesar 2, tikus F sebesar 1,58 dan tikus G sebesar 1,3. Hal ini berarti metformin mampu meningkatkan sensitivitas insulin dan toleransi glukosa darah lebih tinggi daripada dekok *Sargassum* sp. Metformin memiliki dosis sebesar 250-3000 mg/kgBB dan dapat bertahan di dalam tubuh selama 6-8 jam (Sarwono, 1996). Sedangkan dosis polifenol pada dekok *Sargassum* sp yang diberikan sebesar 2259 mg/kgBB. Selain itu, polifenol hanya dapat bertahan di dalam tubuh selama 4 jam (Mannivannan *et al.*, 2015). Namun, pemberian polifenol dekok *Sargassum* sp 3x sehari mampu meningkatkan toleransi glukosa darah.

Gambar 22 menunjukkan bahwa menunjukkan luas  $AUC_{glu}$  tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G) lebih rendah dibandingkan dengan tikus DM (C). Luas  $AUC_{glu}$  tikus E sebesar 2, tikus F sebesar 1,8 dan tikus G sebesar 1,3 sedangkan  $AUC_{glu}$  tikus C adalah sebesar 2. Hal ini menunjukkan bahwa dekok *Sargassum* sp. mampu meningkatkan sensitivitas insulin dan toleransi glukosa darah. Polifenol dalam *Sargassum* sp bersifat sebagai antioksidan karena memiliki sifat pereduksi yaitu agen pendonor atau penyumbang hidrogen. Polifenol memiliki struktur kimia yang ideal sebagai *scavenger* radikal. Potensi polifenol sebagai antioksidan dapat diamati dari kecenderungan senyawa untuk mengkelat logam terutama besi dan tembaga, sehingga dapat menghambat pembentukan radikal bebas

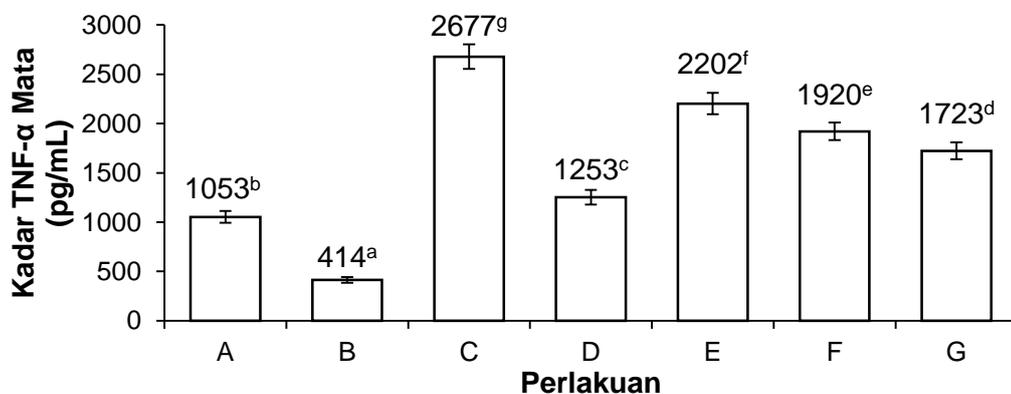
yang dikatalisis oleh logam (Rice-Evans *et al.*, 1997). Aktivitas antioksidan mampu menangkap radikal bebas dan menghambat kerusakan sel  $\beta$  pankreas, sehingga sel yang tersisa masih tetap berfungsi. Adanya perbaikan sel  $\beta$  pankreas penghasil insulin, maka terjadi peningkatan jumlah insulin di dalam tubuh yang mampu memfasilitasi masuknya glukosa darah ke dalam sel, sehingga terjadi penurunan kadar glukosa darah dalam tubuh (Suryani *et al.*, 2013).

#### 4.7 Kadar TNF- $\alpha$

##### 4.7.1 Mata

Gangguan diabetes mellitus pada mata disebut dengan retinopati diabetik. Gejala awal dari penyakit ini yaitu berkurangnya ketajaman penglihatan atau gangguan lain pada mata yang dapat beresiko pada kebutaan (Sitompul, 2011). Tujuan dari analisis TNF- $\alpha$  pada mata yaitu untuk mengetahui kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata tikus pada tiap perlakuan.

Data pengamatan dan analisis data kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata tikus dapat dilihat pada Lampiran 18. Hasil analisis data menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata tikus antar perlakuan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata tikus pada akhir masa penelitian dapat dilihat pada Gambar 23.



**Gambar 23.** Grafik Kadar TNF- $\alpha$  pada Organ Mata Tikus

Gambar 23 menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata tikus normal (A) lebih tinggi dibandingkan tikus normal + dekok *Sargassum* sp 1x sehari (B). Hal ini berarti pemberian dekok *Sargassum* sp dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan masih dalam batas normal. Kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata memiliki standar normal yaitu 404-1499 pg/mL. Pada kondisi normal, sitokin proinflamasi tetap muncul ketika diproduksi oleh tubuh. Sitokin ini berperan sebagai komponen imunitas dan dapat mempertahankan kondisi homeostatis, sehingga kondisi ini dapat meningkat jumlahnya ketika ada respon inflamasi (Baratawijaya, 2004). Florotanin dalam *Sargassum* sp dapat menurunkan inflamasi. Tubuh akan memiliki elektrolit yang tidak berpasangan, sehingga makrofag akan memproduksi sitokin. Sedangkan tanin berperan dalam menggantikan elektrolit tersebut agar dapat berpasangan dan jumlah sitokin dapat stabil dalam tubuh, sehingga terjadi proses kesembuhan dari inflamasi yang ditandai dengan penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  (Az-Zahra, 2010).

Gambar 23 menunjukkan bahwa kadar pada organ mata tikus normal (A) lebih rendah dibandingkan tikus DM (C). Hal ini berarti pada kondisi diabetes mellitus tipe 2 terjadi peningkatan ekspresi TNF- $\alpha$ . Penelitian lain juga menyatakan bahwa kadar TNF- $\alpha$  dan sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-6 dan IL-18 meningkat pada pasien diabetes mellitus tipe 2 (Esposito *et al.*, 2002). Pada keadaan diabetes mellitus, defisiensi insulin dalam jaringan akan menyebabkan hiperglikemia. Hiperglikemia kronis berperan dalam disfungsi berbagai organ, terutama mata, ginjal sistem saraf, jantung dan pembuluh darah (Francés *et al.*, 2013).

Gambar 23 menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + metformin (D). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, metformin mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata tikus sampai batas normal. Kadar TNF- $\alpha$  pada umumnya yaitu 404-1499 pg/mL

(Ahmed *et al.*, 2013). Mekanisme metformin dalam menurunkan glukosa darah meliputi stimulasi glikolisis langsung pada jaringan perifer dengan peningkatan pengeluaran glukosa dari darah, mengurangi glukogenesis hati, memperlambat absorpsi glukosa dari darah, pengurangan kadar glukagon dalam plasma dan meningkatkan insulin pada reseptor insulin (Katzung, 2007). Nilai glukosa darah yang tinggi tersebut mengakibatkan komplikasi penyakit diabetes mellitus yaitu retinopati (Anonymous, 2011<sup>b</sup>).

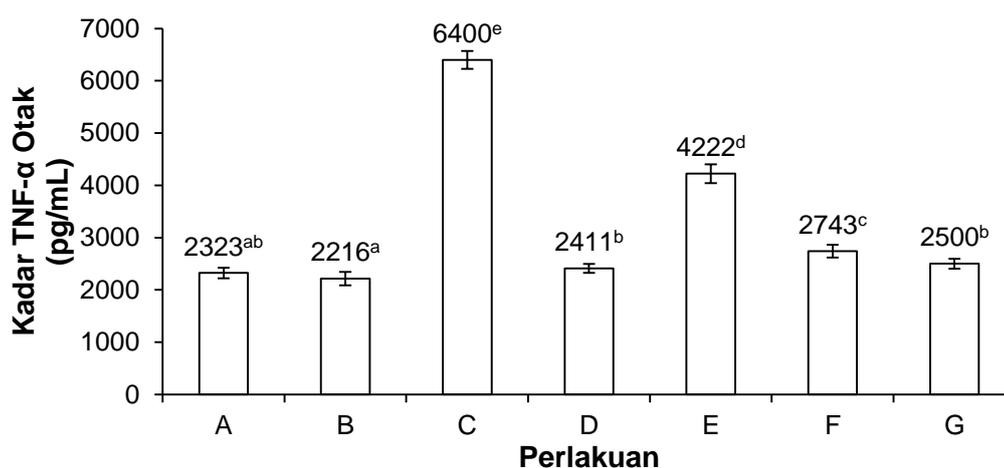
Gambar 23 menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata tikus DM + metformin (D) lebih rendah dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti metformin dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  lebih cepat daripada dekok *Sargassum* sp. Metformin memiliki dosis sebesar 250-3000 mg/kgBB dan dapat bertahan di dalam tubuh selama 6-8 jam (Sarwono, 1996). Sedangkan dosis polifenol pada dekok *Sargassum* sp yang diberikan sebesar 2259 mg/kgBB. Selain itu, polifenol hanya dapat bertahan di dalam tubuh selama 4 jam (Mannivannan *et al.*, 2015). Sehingga, pemberian polifenol dekok *Sargassum* sp 3x sehari belum mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada mata sampai batas normal. Kadar TNF- $\alpha$  pada umumnya yaitu 404-1499 pg/mL (Ahmed *et al.*, 2013).

Gambar 23 menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti dekok *Sargassum* sp mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  dalam mata tikus seiring dengan peningkatan frekuensi pemberian dekok *Sargassum* sp. *Sargassum* sp juga diketahui memiliki efek antiinflamasi. Diduga efek antiinflamasi tersebut berasal dari kandungan

flavonoid. Menurut Aulanni'am *et al.* (2012), aktivitas antioksidan flavonoid dalam *Sargassum duplicatum* Bory berfungsi sebagai *scavenger* radikal bebas sehingga mampu menurunkan senyawa radikal bebas. Penelitian lain menyatakan bahwa swertisin dan flavonoid lainnya yang terkandung dalam daun *Echinodorus grandiflorus* juga telah terbukti menurunkan kadar TNF- $\alpha$  secara *in vitro* (Garcia *et al.*, 2016). Dalam penelitian Quintao *et al.* (2011), senyawa flavonoid seperti 2"-O-Rhamnosylswertisin yang terkandung dalam daun kemiri memiliki efek antinosisepsi dengan menghambat migrasi neutrofil dan pengeluaran sitokin IL-1 $\beta$ .

#### 4.7.2 Otak

Gangguan diabetes mellitus pada otak dapat disebut dengan neuropati diabetik. Neuropati diabetik merupakan komplikasi pada DM yang mengacu pada sekelompok penyakit yang menyerang semua tipe saraf (Subekti, 2009). Data pengamatan dan analisis data kadar TNF- $\alpha$  pada organ otak tikus dapat dilihat pada Lampiran 18. Hasil analisis data menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  pada organ otak tikus antar perlakuan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Kadar TNF- $\alpha$  pada organ otak tikus pada akhir masa penelitian dapat dilihat pada Gambar 24.



**Gambar 24.** Grafik Kadar TNF- $\alpha$  pada Organ Otak Tikus

Gambar 24 menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  pada organ otak tikus normal (A) lebih tinggi dibandingkan tikus normal + dekok *Sargassum* sp 1x

sehari (B). Hal ini berarti pemberian dekok *Sargassum* sp dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  pada organ otak dan masih dalam batas normal. Standar normal kadar TNF- $\alpha$  pada umumnya yaitu 404-1499 pg/mL (Ahmed *et al.*, 2013). Senyawa polifenol, tanin dan alkaloid pada *Sargassum* sp memiliki peran dalam antiinflamasi dengan cara memblok enzim siklookginase untuk menurunkan produksi prostaglandin pada reaksi inflamasi yang mengakibatkan produksi mediator inflamasi berkurang, sehingga produksi sel radang menurun dan pengatur suhu tubuh pada hipotalamus kembali normal dengan vasodilatasi (Sihning, 2010).

Gambar 24 menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  pada organ otak tikus normal (A) lebih rendah dibandingkan tikus DM (C). Hal ini berarti pada kondisi diabetes mellitus tipe 2, organ otak mengalami peningkatan ekspresi TNF- $\alpha$ . Produksi TNF- $\alpha$  menjadi lebih cepat pada keadaan hiperglikemia kronis, terutama pada jaringan saraf dan pembuluh darah, sehingga dapat menyebabkan permeabilitas mikrovaskular, hiperkoagulasi dan kerusakan saraf meningkat serta dapat mempercepat proses aterosklerosis yang berkaitan dengan resistensi insulin (Sato *et al.*, 2003).

Gambar 24 menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  pada organ otak tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + metformin (D). Hal ini berarti pada kondisi DM tipe 2, metformin mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  pada organ otak tikus namun belum mencapai batas normal. Kadar TNF- $\alpha$  pada umumnya yaitu 404-1499 pg/mL (Ahmed *et al.*, 2013). Mekanisme metformin dalam menurunkan glukosa darah meliputi stimulasi glikolisis langsung pada jaringan perifer dengan peningkatan pengeluaran glukosa dari darah, mengurangi glukogenesis hati, memperlambat absorpsi glukosa dari darah, pengurangan kadar glukagon dalam plasma dan meningkatkan insulin pada reseptor insulin (Katzung, 2007). Nilai glukosa darah yang tinggi mengakibatkan komplikasi pada pembuluh darah kecil

yang mengacu pada sekelompok penyakit yang menyerang semua tipe saraf (Subekti, 2009).

Gambar 24 menunjukkan bahwa kadar TNF- $\alpha$  pada organ otak tikus DM + metformin (D) lebih rendah dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti metformin dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  lebih cepat daripada dekok *Sargassum* sp. Metformin memiliki dosis sebesar 250-3000 mg/kgBB dan dapat bertahan di dalam tubuh selama 6-8 jam (Sarwono, 1996). Sedangkan dosis polifenol pada dekok *Sargassum* sp yang diberikan sebesar 2259 mg/kgBB. Selain itu, polifenol hanya dapat bertahan di dalam tubuh selama 4 jam (Mannivannan *et al.*, 2015). Pemberian polifenol dekok *Sargassum* sp 3x sehari belum mampu menurunkan kadar TNF- $\alpha$  sampai batas normal. Kadar TNF- $\alpha$  pada umumnya yaitu 404-1499 pg/mL (Ahmed *et al.*, 2013).

Gambar 24 menunjukkan kadar TNF- $\alpha$  pada organ otak tikus DM (C) lebih tinggi dibandingkan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 1x sehari (E), tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 2x sehari (F) dan tikus DM + dekok *Sargassum* sp frekuensi 3x sehari (G). Hal ini berarti dekok *Sargassum* sp mampu menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dalam otak tikus model diabetes mellitus tipe 2 seiring dengan peningkatan frekuensi pemberiannya. *Sargassum* sp diketahui memiliki efek antiinflamasi. Diduga efek antiinflamasi tersebut berasal dari kandungan flavonoid. Selain flavonoid, senyawa polifenol, tanin dan alkaloid juga memiliki peran antiinflamasi dengan cara memblok enzim siklookginase untuk menurunkan produksi prostaglandin pada reaksi inflamasi yang mengakibatkan produksi mediator inflamasi berkurang, sehingga produksi sel radang menurun dan pengatur suhu tubuh pada hipotalamus kembali normal dengan vasodilatasi (Sihning, 2010).

#### 4.8 Hasil Penelitian Berdasarkan Standar

Dari uraian pembahasan di atas dapat disimpulkan dalam tabel hasil penelitian sebagai berikut:

**Tabel 5. Hasil Penelitian**

Parameter	Hasil	Standar
Gejala Diabetes:		
• Polifagia	19,8 g/hari	15-18 g/hari
• Poliuria	13,6 mL/hari	≤ 15 mL/hari
• Polidipsia	26,4 mL/hari	20-23 mL/hari
• Berat Badan	193 g	≥ 200 g
Kadar Glukosa Darah Sesaat	182,2 mg/dL	≤ 200 mg/dL
Kadar Insulin	5,16 mIU/L	≤ 5,5 mIU/L
Kadar TNF- $\alpha$ :		
• Mata	1723 pg/mL	404-1499 pg/mL
• Otak	2500 pg/mL	404-1499 pg/mL

Tabel 5 menunjukkan standar dari hasil penelitian yang terdiri dari gejala diabetes (polifagia, poliuria, polidipsia dan berat badan), kadar glukosa darah, kadar insulin dan kadar TNF- $\alpha$  pada mata dan otak tikus. Standar konsumsi pakan pada tikus normal sebesar 15-18 g/hari (Dyahnugra dan Widjanarko, 2015), sedangkan pada tikus DM yang diberi dekok *Sargassum* sp. dengan frekuensi 3 kali sehari (G) didapatkan hasil konsumsi pakan sebesar 19,8 g/hari yang menunjukkan bahwa tikus G belum mencapai normal. Volume urin pada tikus normal memiliki standar yaitu  $\leq 15$  mL/hari (Hubrecht dan Kirkwood, 2010), sedangkan pada tikus DM yang diberi dekok *Sargassum* sp. dengan frekuensi 3 kali sehari (G) didapatkan hasil volume urin sebesar 13,6 mL/hari yang menunjukkan bahwa tikus G sudah mencapai batas normal. Standar volume minum pada tikus normal yaitu 20-23 mL/hari (Sinata dan Arifin, 2016), sedangkan pada tikus DM yang diberi dekok *Sargassum* sp. dengan frekuensi 3 kali sehari (G) didapatkan hasil volume minum sebesar 26,4 mL/hari yang menunjukkan bahwa tikus G belum mencapai normal. Berat badan tikus normal memiliki standar yaitu  $\geq 200$  g (Brandt *et al.*, 2000), sedangkan pada tikus DM

yang diberi dekok *Sargassum* sp. dengan frekuensi 3 kali sehari (G) dihasilkan berat badan sebesar 193 g yang menunjukkan bahwa tikus G belum mencapai berat badan normal. Kadar glukosa darah sesaat pada tikus normal memiliki standar yaitu  $\leq 200$  mg/dL (Anonymous, 2011<sup>b</sup>), sedangkan pada tikus DM yang diberi dekok *Sargassum* sp. dengan frekuensi 3 kali sehari (G) dihasilkan kadar glukosa darah sesaat sebesar 182,2 mg/dL yang menunjukkan bahwa tikus G mencapai batas normal. Standar kadar insulin pada tikus normal yaitu  $\leq 5,5$  mIU/L (Brandt *et al.*, 2000), sedangkan pada tikus DM yang diberi dekok *Sargassum* sp. dengan frekuensi 3 kali sehari (G) dihasilkan kadar insulin sebesar 5,05 mIU/L yang menunjukkan bahwa tikus G mencapai batas normal. Kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata memiliki standar normal yaitu 404-1499 pg/mL (Ahmed *et al.*, 2013), sedangkan pada tikus DM yang diberi dekok *Sargassum* sp. dengan frekuensi 3 kali sehari (G) dihasilkan kadar TNF- $\alpha$  sebesar 1723 mIU/L yang menunjukkan bahwa tikus G belum mencapai batas normal. Kadar TNF- $\alpha$  pada organ otak juga memiliki standar normal yaitu 404-1499 pg/mL (Ahmed *et al.*, 2013), sedangkan pada tikus DM yang diberi dekok *Sargassum* sp. dengan frekuensi 3 kali sehari (G) dihasilkan kadar TNF- $\alpha$  sebesar 2500 mIU/L yang menunjukkan bahwa tikus G belum mencapai batas normal.

Berdasarkan uraian hasil penelitian, dapat ditarik kesimpulan bahwa seluruh parameter yang diteliti tidak semua yang dapat memenuhi standar normal. Parameter yang memenuhi standar normal dari pemberian dekok *Sargassum* sp dengan frekuensi 3 kali sehari yaitu poliuria, kadar glukosa darah sesaat, dan kadar insulin. Sedangkan parameter yang tidak memenuhi standar normal dari pemberian dekok *Sargassum* sp dengan frekuensi 3 kali sehari yaitu polifagia, polidipsia, berat badan dan kadar TNF- $\alpha$  pada organ mata dan otak.