

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan trigliserida pada tikus putih galur wistar (*Rattus norvegicus*) jantan model diabetes melitus tipe 2 yang diberikan ekstrak kulit buah tomat. Variabel dependen (terikat) dalam penelitian ini adalah kadar trigliserida dan variabel independen (bebas) adalah ekstrak kulit buah tomat.

6.1 Karakteristik Sampel

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi untuk meminimalkan bias pada hasil penelitian. Karakteristik hewan coba yang digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan berusia 6 - 8 minggu, gerakan yang aktif, bulu putih dan bersih, mata jernih mengindikasikan tikus sehat secara fisik. Berat badan tikus dipilih antara 150 – 200 gram. Jumlah tikus yang digunakan adalah 20 ekor dan dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dengan teknik *random sampling* agar semua tikus memiliki peluang yang sama untuk tiap perlakuan.

6.1.1 Berat Badan Tikus

Hasil penelitian menunjukkan ada peningkatan berat badan pada semua kelompok perlakuan tikus sampai pada minggu 7. Pada kelompok KP, KP2, dan KP3 terjadi penurunan berat badan pada minggu ke 8. Penurunan berat badan pada kelompok KP, KP2, dan KP3 tersebut disebabkan karena terjadinya proses lipolisis. Pada kelompok perlakuan KP2 dan KP3 dengan pemberian ekstrak kulit tomat juga terjadi penurunan berat badan. Pada kelompok KP, KP1, KP2, dan KP3 merupakan model Diabetes Melitus tipe 2, yang mana pada

DM tipe 2 terjadi resistensi insulin sehingga terjadi kondisi hiperglikemia. Keadaan hiperglikemia tersebut akan menyebabkan lipolisis akibat terjadinya peningkatan enzim HSL di jaringan adiposa dan penurunan aktivitas enzim LPL untuk memecah TG di aliran darah sehingga kadar TG dalam darah meningkat (Murray *et al*, 2003).

6.1.2 Glukosa Darah Puasa

Hasil penelitian pada kelompok perlakuan KP dan kelompok perlakuan yang diberi pakan tinggi lemak dan STZ dosis 30mg/kgBB secara *multiple dose* akan terjadi peningkatan kadar glukosa darah taraf DM. Pemberian HFD sebelum injeksi STZ bertujuan untuk membuat kondisi tikus menjadi obesitas, hiperinsulinemia, dan resistensi insulin (Srinivasan *et al*, 2005). Selain itu, pemberian HFD akan menyebabkan resistensi insulin namun tidak sampai pada tahap hiperglikemia yang terjadi pada DM (Zhang *et al*, 2008). Asupan lemak berlebih yang diberikan pada tikus akan menyebabkan peningkatan trigliserida yang menyebabkan peningkatan asam lemak dan aktivitas oksidasi. Kondisi tersebut menyebabkan kurangnya sensitivitas hormon insulin yang diperantarai oleh terjadinya penurunan *output* glukosa oleh hati serta berkurangnya distribusi glukosa ke otot rangka. Sebagai kompensasi dari terjadinya proses tersebut akan terjadi hiperinsulinemia yang merupakan ciri-ciri dari resistensi insulin (Belfiore *et al*, 1998; Iwanishi *et al*, 1993 dalam Srinivasan *et al*, 2005).

Streptozotocin (STZ) banyak digunakan untuk memicu terjadinya kondisi *insulin-dependent* dan *noninsulin-dependent* dengan cara menginduksi kerusakan sel β pankreas melalui proses alkilasi DNA. Meskipun pemberian dosis tinggi STZ menyebabkan kerusakan parah pada proses sekresi insulin yang terdapat pada DM Tipe 1, pemberian dosis rendah STZ telah diketahui dapat memicu terjadinya kerusakan yang ringan pada proses sekresi insulin

yang menyerupai dengan fase *late* DM tipe 2 pada manusia. Sehingga banyak peneliti yang melakukan percobaan dengan memberi pakan tinggi lemak yang dikombinasikan dengan pemberian dosis rendah STZ pada tikus dapat menyebabkan timbulnya gejala (akibat terjadinya resistansi insulin karena kerusakan sel β pankreas) DM tipe 2 seperti pada manusia. Oleh sebab itu, pemberian kombinasi suntikan STZ dosis rendah dan pakan tinggi lemak diharapkan mampu membuat tikus percobaan dalam kondisi yang menyerupai DM tipe 2 (Zhang et al, 2008).

Berdasarkan kondisi tikus pada minggu 8 yaitu setelah diinjeksi STZ dan pemberian pakan tinggi lemak terlihat beberapa gejala yang mewakili DM tipe 2. Terjadi penurunan berat badan seperti pada grafik 5.1, dan terjadi poliuri dan polidipsi. Poliuri diketahui karena setiap tikus butuh mengganti sekam sebanyak 2 kali sehari karena basah, sedangkan polidipsi karena dibutuhkan pengisian ulang botol minum sebanyak 2 kali sehari.

Tabel 5.3 menunjukkan rata – rata kadar glukosa darah tikus setelah diinjeksi STZ. Setelah diinjeksi STZ, rata – rata kadar glukosa darah menunjukkan tikus telah mengalami diabetes melitus karena kadar glukosa darah puasa ≥ 200 mg/dL. Keadaan DM tipe 2 pada penelitian ini terjadi setelah tikus diberi pakan tinggi lemak dan diinjeksi STZ. Tikus DM yang diberi pakan tinggi lemak dengan STZ dosis rendah (30 mg/kgBB) dianggap mewakili keadaan patofisiologi DM tipe 2, yaitu dengan cara menginduksi kerusakan sel β pankreas melalui proses alkilasi DNA dan disertai dengan peningkatan berat badan. Pada tahap akhir, sel β akan mengalami disfungsi sekresi insulin sehingga insulin plasma berkurang. Berkurangnya insulin plasma dapat dikondisikan pada tikus coba yang diinjeksi STZ dengan dosis rendah yang

menyebabkan kerusakan pada sel β pankreas dan disfungsi sekresi sel β pankreas (Zhang, 2008).

6.2 Kadar Triglicerida

Keadaan DM tipe 2 akan menyebabkan terjadinya peningkatan kadar trigliserida akibat terjadinya resistensi insulin yang mengakibatkan terjadinya kondisi hiperglikemia. Pada keadaan hiperglikemia pada DM akan terjadi lipolisis akibat terjadinya peningkatan aktivitas enzim *Lipoprotein Lipase* (LPL) yang berfungsi untuk menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol. Rendahnya aktivitas LPL ini akan dapat meningkatkan kadar trigliserida darah (Murray *et al*, 2003). Perbaikan fungsi sel β pankreas untuk meningkatkan sekresi insulin sangat dibutuhkan. Proses yang terjadi tersebut dapat memicu terjadinya peningkatan ROS dalam tubuh. Oleh sebab itu, antioksidan yang terkandung didalam buah tomat diharapkan mampu menurunkan jumlah radikal bebas, memperbaiki kerja sel β pankreas, dapat mengontrol profil lemak, dan menurunkan komplikasi DM (Jakus, 2000).

Pada penelitian ini kadar TG pada semua kelompok perlakuan masih dalam batas normal yaitu 26-145 mg/dL (Sudrajat, 2008). Sehingga dari hasil analisa statistik tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Pada penelitian ini rerata kadar TG pada kelompok perlakuan KP lebih rendah jika dibandingkan dengan rerata kadar TG pada kelompok perlakuan KN. Hal ini disebabkan karena rerata asupan pakan pada kelompok perlakuan KP lebih rendah jika dibandingkan dengan rerata asupan pakan pada kelompok perlakuan KN. Semua kelompok perlakuan seperti KP1, KP2, dan KP3 memiliki rerata kadar TG lebih tinggi jika dibandingkan kelompok perlakuan KP. Hal ini disebabkan karena

rerata asupan pakan pada kelompok KP merupakan rerata terendah jika dibandingkan dengan seluruh kelompok perlakuan (KP1, KP2, KP3).

Kelompok perlakuan KP1 yang diberikan ekstrak kulit tomat dengan dosis 50mg/kgBB didapatkan rerata kadar TG sebesar 88 mg/dL. Rerata kadar TG pada kelompok ini masih dalam batas normal, namun lebih tinggi jika dibandingkan dengan rerata kadar TG pada kelompok perlakuan KN. Yang disebabkan oleh karena rerata asupan pakan pada kelompok perlakuan KN lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan KP1.

Kelompok perlakuan KP2 yang diberikan ekstrak kulit tomat dengan dosis 100mg/kgBB didapatkan rerata kadar TG sebesar 82 mg/dL. Rerata kadar TG pada kelompok ini masih dalam batas normal namun lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan KP1, dan lebih tinggi jika dibandingkan dengan rerata kadar TG pada kelompok perlakuan KN. Yang disebabkan oleh karena rerata asupan pakan pada kelompok perlakuan KP2 lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan KN dan KP1.

Kelompok perlakuan KP3 yang diberikan ekstrak kulit tomat dengan dosis 150mg/kgBB didapatkan rerata kadar TG sebesar 107,25 mg/dL dan merupakan rerata kadar TG terbesar jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan karena rerata asupan pakan pada kelompok ini merupakan rerata asupan pakan tertinggi jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya.

Selain asupan pakan tikus, dalam keadaan DM tipe 2 akan terjadi peningkatan ROS dalam tubuh yang mengakibatkan terjadinya proses peroksidase lipid pada DM tipe 2 (Manjulata *et al*, 2013). Proses peroksidase

lipid ini juga dapat dipicu oleh pemberian kuersetin seperti yang terkandung dalam ekstrak kulit buah tomat (Boots *et al*, 2008).

Kuersetin merupakan antioksidan yang kuat karena kemampuannya dalam mengikat radikal bebas. Dalam proses metabolismenya, kuersetin akan mengalami oksidasi dan menghasilkan senyawa oksidan *semiquinon* yang merupakan salah satu bentuk radikal bebas dan bersifat sangat labil. Senyawa radikal *semiquinon* yang bersifat labil tersebut akan dimetabolisme kembali dan menghasilkan senyawa *quercetin-quinone* (QQ). QQ merupakan suatu bentuk *pro-oxidant* dari kuersetin yang mampu bereaksi dengan biomolekul seperti lipid, protein, dan DNA yang dapat menimbulkan kerusakan sel-sel dalam tubuh. Produk-produk yang dihasilkan oleh kuersetin yang berupa senyawa radikal *semiquinone* dan *quinone* selain dapat merusak sel-sel dalam tubuh, juga dapat menyebabkan reaksi toksisitas apabila berikatan dengan protein thiol didalam tubuh (Boots *et al*, 2008).

Proses peroksidase lipid yang menyebabkan terjadinya reaksi toksisitas tersebut akan menghasilkan radikal bebas yang akan terakumulasi dalam tubuh dan dapat memperparah terjadinya kerusakan dari sel β pankreas (Manjulata *et al*, 2013), sehingga sel β pankreas mengalami gangguan untuk memproduksi insulin yang efektif untuk mengubah glukosa menjadi glikogen sehingga menyebabkan hiperglikemia pada DM tipe 2. Keadaan hiperglikemia tersebut akan menyebabkan lipolisis yang merupakan bentuk kompensasi tubuh dalam keadaan hiperglikemia yang mengakibatkan terjadinya peningkatan aktivitas enzim HSL di jaringan adiposa dan penurunan aktivitas enzim LPL untuk memecah TG di aliran darah sehingga kadar TG akan meningkat dan menyebabkan terjadinya stres oksidatif sehingga jumlah ROS dalam tubuh juga akan meningkat (Murray *et al*, 2003).

Penelitian yang dilakukan oleh Priya dan Sunil, 2015 tidak didapatkannya dosis toksik pada buah tomat yang diberikan pada tikus percobaan. Peningkatan dosis ekstrak yang diberikan seharusnya akan meningkatkan respon yang sebanding dengan dosis yang ditingkatkan, namun dengan meningkatnya dosis, peningkatan respon pada akhirnya akan menurun, karena sudah tercapai dosis yang sudah tidak dapat meningkatkan respon lagi (Bourne dan Zastrow, 2001). Hal ini sering terjadi pada obat dengan bahan alam, karena komponen senyawa yang terdapat didalam ekstrak tidak tunggal, melainkan terdiri dari berbagai macam senyawa kimia, dimana komponen-komponen tersebut saling bekerja sama untuk menimbulkan efek. Namun, dengan peningkatan dosis, jumlah senyawa kimia yang dikandung juga akan meningkat, sehingga terjadi interaksi merugikan yang menyebabkan penurunan efek (Fidayani *et al*, 2012).

Kandungan senyawa dalam buah tomat di antaranya solanin (0,007 %), saponin dan bioflavonoid (termasuk likopen, α dan β -karoten) yang berfungsi sebagai antipiretik, antiinflamasi, anti alergi, anti trombosis, serta sebagai vasodilator. Selain itu, flavonoid juga merupakan antioksidan yang memberikan perlindungan terhadap agen oksidatif dan radikal bebas. Vitamin A, C dan E yang berfungsi sebagai antioksidan dan membantu mencegah terjadinya komplikasi akibat DM tipe 2 (Canene-Adam, 2005). Pada penderita DM disertai dengan obesitas terjadi peningkatan Retinol Binding Protein (RBP) yang menyebabkan terjadinya resistensi insulin. Sehingga diharapkan vitamin A mampu meningkatkan sensitivitas insulin pada penderita DM (Yang *et al*, 2005). Likopen merupakan salah satu kandungan kimia paling banyak dalam tomat, dalam 100 gram tomat rata-rata mengandung likopen sebanyak 3-5 mg (Giovannucci, 1999). Pemberian kombinasi antioksidan vitamin E dan C dosis 1g/kg dan 10 g/kg diet secara jangka panjang dapat menghambat tahap awal perkembangan retinopati diabetik (Barbagallo, 1999). Selain itu, kandungan

senyawa kuersetin yang terkandung dalam buah tomat dipercaya mampu meningkatkan aktivitas sekresi sel β pankreas (Mahmoud *et al*, 2013).

Penelitian ini menunjukkan bahwa kadar TG pada tikus DM tipe 2 yang diberikan perlakuan masih berada dalam kisaran normal yaitu antara 26-145 mg/dL (Sudrajat, 2008). Namun apabila dilihat secara rerata kadar TG pada kelompok perlakuan KP lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok perlakuan KN, yang kemungkinan disebabkan oleh karena rerata asupan pakan pada KP lebih rendah daripada rerata asupan pakan pada kelompok perlakuan KN. Apabila kadar TG pada kelompok KP dibandingkan dengan kelompok KP1, KP2, dan KP3 perbedaan kadar TG dipengaruhi karena waktu yang dibutuhkan untuk pemberian terapi ekstrak kulit tomat yang kurang lama dan rerata asupan pakan pada kelompok perlakuan KP merupakan rerata asupan pakan terendah jika dibandingkan dengan seluruh kelompok perlakuan, setidaknya dibutuhkan lebih dari 6 minggu seperti yang dilakukan oleh Gang *et al*, 2013 dengan pemberian suplementasi dalam bentuk bubuk yang terbuat dari kulit buah tomat dengan dosis 1g/kgBB kepada tikus percobaan.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan dalam penelitian ini antara lain:

1. Tidak adanya uji kadar TG sebelum perlakuan, tidak dapat diketahui kadar TG sebelum mendapat perlakuan sudah mengalami peningkatan atau belum.
2. Waktu penelitian kurang lama dan dibutuhkan lebih dari 6 minggu untuk diberikan ekstrak kulit tomat agar dapat menurunkan kadar TG secara signifikan.