

Bab VI Hasil dan Pembahasan

Pengujian antidiabetes water kefir dilakukan untuk membuktikan secara ilmiah apakah water kefir ini memiliki aktivitas sebagai antidiabetes atau tidak, sehingga dalam penggunaannya di masyarakat dapat digunakan sebagai pengobatan antidiabetes yang mempunyai landasan ilmiah yang jelas.

Pada penelitian antidiabetes ini digunakan mencit jantan galur swiss-webster dengan berat 20-30 gram, berusia 2-3 bulan. Digunakan mencit jantan tujuannya adalah karena mencit jantan tidak mengalami siklus hormonal seperti pada mencit betina yang dapat mengganggu metabolisme tubuh. Pengelompokan hewan dilakukan secara acak, sehingga bisa diasumsikan bahwa setiap kelompok memiliki kondisi yang sama pada saat awal percobaan. Mencit dikelompokkan menjadi 6 kelompok perlakuan untuk pengujian metode Uji aktivitas antidiabetes dengan menggunakan induksi aloksan. Sebelum dilakukan penelitian hewan uji di adaptasikan terlebih dahulu dengan lingkungannya selama 2 minggu yang bertujuan untuk mengkondisikan atau menyesuaikan hewan uji dengan lingkungan baik kandang, makanan dan minuman yang diberikan pada hewan uji.

Dilakukan pengujian aktivitas antidiabetes terhadap bahan uji menggunakan metode defisiensi insulin. Metode yang digunakan yaitu defisiensi insulin dimana pankreas tidak bisa berfungsi dengan baik memproduksi insulin karena sebagian sel β pankreasnya rusak. Pemodelan hewan defisiensi insulin yaitu dengan menginduksi

menggunakan aloksan monohidrat dosis 55mg/kgBB yang diberikan secara intra vena.

Mencit dikelompokkan menjadi enam yang masing masing kelompok terdiri dari lima ekor mencit. Yaitu kelompok satu sebagai kelompok negatif tidak diberikan perlakuan, baik aloksan maupun obat. Kelompok dua sebagai kontrol positif, diberikan aloksan monohidrat dosis 55mg/kgBB. Kelompok tiga sebagai pembanding, diberikan obat glibenklamid dosis 0,65 mg/kgBB. Kelompok empat sebagai kelompok uji dosis 2,6ml/KgBB, diberikan dosis water kefir dosis 55mg/kgBB. Kelompok lima sebagai kelompok uji dosis 5,2mg/KgBB, diberikan dosis water kefir dosis 5,2ml/kgBB. Kelompok enam sebagai kelompok uji dosis 7,8ml/kgBB, diberikan dosis water kefir dosis 7,8ml/kgBB.

Pemberian terapi diberikan selama 14 hari secara peroral. Dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa kembali pada hari ke 3,7,11 dan 14. Pengambilan darah dilakukan dengan menusuk aliran darah vena ekor mencit menggunakan lanset dan volume darah mencit yang diambil kurang lebih 1-2 tetes. Cuplikan darah yang diperoleh ditetaskan pada strip test glukosa yang kemudian langsung diukur dengan menggunakan glukometer *Easy Touch*.

Tabel V1.1**Rata-rata kadar glukosa darah sebelum dan setelah induksi**

kelompok uji	Sebelum induksi	Setelah induksi
kelompok (-)	85	87
kelompok (+)	82,8	267*
Pembanding	88,6	375,6*
water kefir dosis 2,6 ml/kg	87,5	334,7*
water kefir dosis 5,2 ml/kg	80,2	290,2*
water kefir dosis 7,8 ml/kg	82,6	381,8*

*Berbeda signifikan dibandingkan dengan kelompok sebelum induksi

Berdasarkan tabel VI.1 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan antara rata-rata kadar glukosa darah sebelum induksi dan setelah induksi yang signifikan secara statistik. Pada tabel VI.1 kelompok negatif tidak mengalami perubahan kadar glukosa darah yang signifikan. Karena pada kelompok negatif hanya diberikan Na CMC 0,5% dimana Na CMC tidak menimbulkan efek kenaikan kadar glukosa darah. Namun pada kelompok yang sudah di induksi menggunakan aloksan mengalami kenaikan kadar glukosa darah. Hal ini menyatakan bahwa proses induksi berhasil membuat model hewan menjadi diabetes, terlihat dari data setelah induksi bahwa kelompok positif, pembanding, dan kelompok uji mengalami kenaikan kadar glukosa darah yang signifikan dibandingkan dengan kelompok negatif.

Penyuntikan aloksan yang bersifat diabetogenik menimbulkan kerusakan sel beta pankreas maupun sel alfa yang pada akhirnya menyebabkan keadaan produksi atau sekresi dari insulin terganggu dimana insulin tersebut sebagai regulator keseimbangan gula darah sehingga mengakibatkan penurunan sekresi insulin sehingga terjadi peningkatan kadar glukosa darah.

Aloksan didalam tubuh mengalami metabolisme oksidasi reduksi sehingga menghasilkan radikal bebas dan radikal aloksan, radikal tersebut yang menyebabkan rusaknya pankreas (indrawati,dkk.,2015). Alasan pemilihan aloksan sebagai penginduksi karena kemampuannya yang membuat pemodelan hewan uji hampir sama seperti kondisi pasien diabetes melitus. Perkembangan diabetes diukur pada hari ke tiga setelah induksi, dicek kadar glukosa darah puasa pada mencit sebagai HO menggunakan alat glukometer *Easy Touch*. Parameter keberhasilan penginduksian ialah kenaikan kadar glukosa darah puasa yang melebihi 200mg/dL. Pada saat terjadi kondisi hiperglikemia, maka pengujian aktivitas dari water kefir dapat dilakukan dengan prinsip bahwa water kefir tersebut bisa menurunkan kadar glukosa darah pada mencit diabetes atau tidak, dan pada dosis berapa water kefir bisa menurunkan kadar glukosa lebih efektif di bandingkan dengan pembanding, kontrol positif dan kontrol negatif. Parameter yang digunakan adalah penurunan kadar glukosa darah pada hari ke 3,7, 11,dan 14.

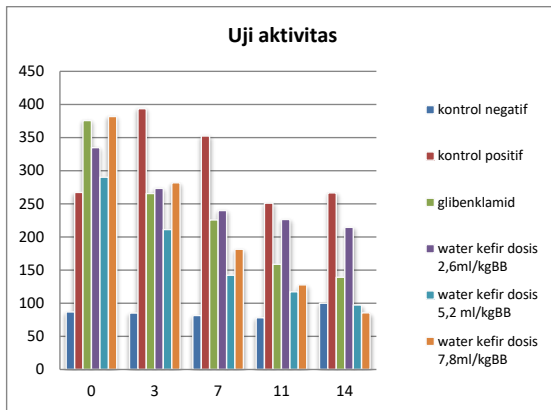
Tabel VI.2

Tabel Penurunan kadar glukosa darah

Kelompok	Kadar Glukosa darah pada hari ke-					
	Pra induksi	0	3	7	11	14
Kontrol (-)	85±6	87±6*#	85±9*#	1±4*#	78±2*	100±13*
Kontrol (+)	82±1	267±81	393±89#	352±122#	251±131	266±134#
Glibenklamid	88±7	375±35*	265±116*	225±98*	158±91	139±80*
WK 1	87±2	334±44	273±82*	239±90*	226±79	214±78
WK 2	80±5	290±69#	211±29*	142±22*	117±13*	97±15*
WK 3	82±5	381±16*	281±22*	181±23*	127±10*	85±27*

#berbeda bermakna dibandingkan kontrol pembanding

*berbeda bermakna dibandingkan kontrol positif



Gambar VI.2: Perubahan relatif rata-rata kadar glukosa darah untuk setiap kelompok perlakuan dengan metode induksi aloksan.

Keterangan :

Kelompok Negatif : kelompok yang diberi Na CMC

Kelompok Positif : kelompok yang diinduksi aloksan

Kelompok Pembanding : kelompok yang diberi glibenklamid

Kelompok uji dosis 1 : kelompok yang diberi Water Kefir dosis 2,6ml/kgBB

Kelompok uji dosis 2 : kelompok yang diberi Water Kefir dosis 5,2ml/kgBB

Kelompok uji dosis 3 : kelompok yang diberi Water Kefir dosis 7,8ml/kgBB

Untuk mengetahui pengaruh water kefir terhadap penurunan kadar glukosa darah maka data yang akan dibandingkan adalah penurunan kadar glukosa darah selama terapi. Pada tabel VI.2 merupakan hasil uji statistik setelah diinduksi menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan dari kelompok positif dibandingkan terhadap kelompok negatif, yang ditunjukkan dengan nilai ($p < 0,05$). Pada saat awal induksi sudah terdapat perbedaan. Pada hari ke 3 – 14 tidak ada perbedaan bermakna.

Pengukuran kadar glukosa darah mencit pada hari ke-3 semua kelompok perlakuan menunjukkan Penurunan kadar glukosa darah dibandingkan dengan kelompok positif, yang diberikan perlakuan ini termasuk kelompok water kefir dosis 2,6, 5,2 dan 7,8 ml/kgBB dan kelompok pembanding. Hal tersebut menunjukkan bahwa water kefir dan glibenklamid memiliki potensi untuk menurunkan kadar glukosa darah. Di hari ke 3 aktivitas glibenklamid dengan water kefir tidak terdapat perbedaan. Penurunan kadar glukosa darah pada kelompok pembanding dengan terapi glibenklamid dapat disebabkan oleh adanya mekanisme kerja dari glibenklamid yang dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan cara meningkatkan sekresi insulin oleh sel β pankreas (perkins,2015).

Pengukuran kadar glukosa darah mencit pada hari ke-7 semua kelompok perlakuan menunjukkan penurunan kadar glukosa darah termasuk kelompok pembanding dan kelompok uji. Terutama pada kelompok uji water kefir dosis 5,2 ml/kgBB mengalami penurunan yang signifikan dibandingkan dengan kelompok uji dosis 2,6ml/kg/BB, 7,8ml/kgBB dan kelompok pembanding. Hal tersebut

menunjukkan bahwa pada hari ke-7 water kefir dosis 5,2ml/kgBB memiliki aktivitas penurunan kadar glukosa darah lebih kuat dibandingkan dengan kelompok uji lain.

Pada hari ke-11 terapi, kelompok uji dan kelompok pembanding mengalami penurunan kadar glukosa darah. Penurunan kadar glukosa darah lebih besar ditunjukan pada kelompok dosis 5,2ml/kgBB. Namun dibandingkan dengan kelompok positif dapat menunjukkan perbedaan antara kelompok negatif, kelompok uji dosis 5,2 dan kelompok uji dosis 7,8 ml/kgBB.

Sedangkan pada hari ke-14 terapi kelompok pembanding dengan kelompok uji dosis 2,6, 5,2 dan 7,8 ml/kgBB menunjukan tidak ada perbedaan atau sebanding antara pembanding dengan kelompok uji karena terdapat nilai yang signifikan ($>0,05$). Berdasarkan analisis data statistik dan persentase penurunan kadar glukosa darah pada hari ke 14 terapi, dosis 2,6 ml/kgBB menunjukan perbedaan yang tidak signifikan jika di bandingkan dengan dosis 5,2 dan 7,8 ml/kgBB. Sehingga dosis yang dipilih yaitu sediaan water kefir dengan dosis 5,2ml/kgBB dengan persentase penurunan kadar glukosa darah sebesar -66%. Glibenklamid mengalami persentase penurunan sebesar -62%, sedangkan water kefir dosis 7,8 ml/kgBB dengan persentase penurunan sebesar -77%. Dimana water kefir dosis 7,8 ml/kgBB memiliki efektifitas penurunan kadar glukosa yang lebih besar dari pembanding. Sedangkan water kefir dosis 2,6 ml/kgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah sebesar -35% artinya water kefir dengan dosis tersebut dapat menurunkan kadar glukosa darah lebih kecil dari pada pembanding.

Penentuan dosis didukung oleh data persen penurunan kadar glukosa darah pada hari ke 14 yang dilampirkan pada Tabel VI.3

Tabel VI.3

Persen penurunan kadar glukosa darah pada hari ke 14

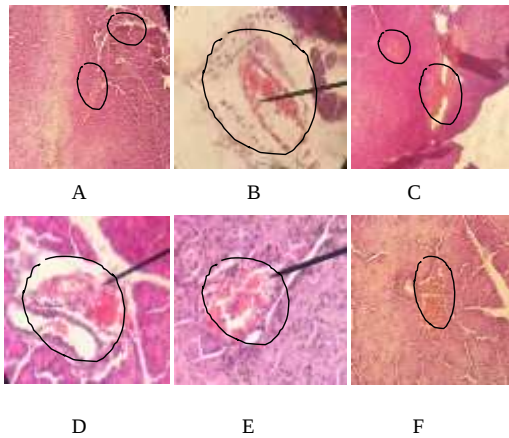
Kelompok	Persen (%) penurunan
	Kadar Glukosa Darah Hari ke-14
Kontrol negatif	14
Kontrol positif	-0,14
Glibenklamid 0,65mg/kgBB	-62
Uji 1. 2,6ml/kg	-35
Uji 2. 5,2ml/kg	-66
Uji 3. 7,8 ml/kgg	-77

Hewan yang telah di uji selama 14 hari, pada hari ke 15 hewan dikorbankan masing masing kelompok 2 ekor untuk dibedah dan diambil organ pankreasnya, kemudian pankreas dimasukan kedalam larutan buffer formalin untuk diisolasi dan dilakukan pewarnaan HE.

Pewarnaan Hematoxylen-Eosin (HE) terdiri dari dua komponen warna, yaitu hematoksilin dan eosin. Hematoksilin merupakan zat warna yang bersifat basa sehingga dapat mewarnai inti sel yang bersifat asam sedangkan eosin adalah zat warna yang bersifat asam sehingga dapat mewarnai sitoplasma yang bersifat basa.

Parameter yang diamati untuk melihat keberhasilan dari terapi dapat dilihat dari luas rata-rata pulau langerhans pada pembesaran dan luas yang sama. Pulau langerhans merupakan kumpulan kelenjar endokrin yang tersebar di seluruh organ pankreas, berbentuk seperti

pulau dan banyak dilalui oleh kapiler-kapiler darah. Pada pewarnaan HE akan terlihat pulau langerhans lebih pucat dibandingkan dengan sel-sel kelenjar disekelilingnya sehingga pulau langerhans mudah untuk dibedakan. Penderita DM akan mengalami perubahan morfologi pada pulau langerhans, baik dalam jumlah maupun ukurannya.



Gambar VI.3 : Histologi pankreas menggunakan pewarnaan HE

Keterangan : A (kontrol negatif), B (kontrol positif), C (glibenklamid), D (water kefir dosis 2,6ml/kgBB), E (water kefir dosis 5,2 ml/kgBB), F (water kefir dosis 7,8 ml/kgBB).

Berdasarkan hasil penelitian pada gambar VI.3 di atas diketahui bahwa kelompok (kontrol negatif) tanpa diberi perlakuan dengan pembesaran 40x menunjukkan kondisi sel pankreas yang normal, susunan sel teratur menyebar di pulau langerhans dan bentuk sel yang seragam. Pada kelompok (kontrol positif) yang telah diinduksi aloksan terjadi perubahan sel, dengan susunan sel tidak teratur menyebar di pulau Langerhans dengan adanya perubahan warna menjadi merah muda serta perubahan sel menjadi tidak rapat. Pada kelompok glibenklamid, pankreas mengalami perubahan kembali warna menjadi merah terang serta sel yang kembali mengerut atau susunan sel menjadi teratur, artinya sel kembali normal.

Pada kelompok water kefir dosis 2,6ml/kgBB dapat dilihat bahwa kondisi sel pankreas yang belum kembali normal, karena susunan sel tidak teratur atau menyebar di pulau Langerhans. sedangkan pada kelompok water kefir dosis 5,2 dan 7,8 ml/kgBB kondisi pankreas sudah mengalami perubahan menjadi normal kembali, dapat dilihat dari sel sel yang tidak menyebar ke pulau langerhans.

Pada penelitian sebelumnya kefir memiliki aktivitas antioksidan. (Edward,dkk.,2015). Pada penelitian antidiabetes, Diabetes melitus sendiri adalah penyakit dengan komponen stress oksidatif, yaitu suatu keadaan yang ditandai dengan adanya ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan dalam tubuh. Stres oksidatif dalam diabetes melitus terjadi melalui tiga mekanisme yaitu glikasi non enzimatik pada protein, jalur poliol sorbitol (aldosa reduktase) dan otoksidasi glukosa. Hiperglikemia menyebabkan otoksidasi glukosa, glikasi protein dan aktivasi jalur metabolisme poliol yang

selanjutnya mempercepat pembentukan senyawa oksigen reaktif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif tersebut dapat meningkatkan modifikasi lipid, DNA dan protein pada berbagai jaringan. Modifikasi molekuler pada berbagai jaringan tersebut mengakibatkan ketidakseimbangan antara antioksidan protektif (pertahanan antioksidan) dan peningkatan produksi radikal bebas. Hal itu merupakan awal kerusakan oksidatif yang dikenal sebagai stres oksidatif (Ueno,dkk.,2002). Untuk meredam kerusakan oksidatif tersebut diperlukan antioksidan. Peningkatan suplai antioksidan yang cukup akan membantu pencegahan komplikasi klinis diabetes mellitus. Penelitian pada hewan percobaan membuktikan bahwa antioksidan dapat menghambat tahap awal retinopati, nefropati dan neuropati pada diabetes. Antioksidan sendiri dapat menghambat stres oksidatif pada penderita DM tipe 2.

Antioksidan merupakan senyawa pemberi electron yang menghambat reaksi oksidasi dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif sehingga mencegah kerusakan sel. Pada keadaan diabetes, stres oksidatif menghambat pengambilan glukosa di sel otot dan sel lemak serta menurunkan sekresi insulin oleh sel beta pankreas. Stres oksidatif secara langsung mempengaruhi dinding vaskular sehingga berperan penting pada patofisiologi terjadinya diabetes tipe 2.(sartika,2006).

Pada penelitian mengenai peran antiinflamasi adiponektin menurunkan sintesis lemak dan produksi glukosa di dalam hati yang berdampak terjadinya penurunan konsentrasi asam lemak dan glukosa darah. Penurunan adiponektin dihubungkan dengan

resistensi insulin dan hiperinsulin, ini terjadi pada penderita diabetes mellitus tipe II, peningkatan adiponektin dalam darah akan menurunkan resiko penyakit tersebut. (indra,2006).