

UJI KLINIS IN VIVO PENGARUH KONSUMSI DALUMAN (*Cycllea barbata*) TERHADAP PENURUNAN KADAR GULA DARAH PADA TIKUS WISTAR JANTAN DENGAN DIABETES MELLITUS TIPE 2

Putu Gina Astiyandani, Gd. Angga Permana A. W., Putu Diah Vedayanti, Cok. Istri Devi Larayanthi, Made Prani Windasari dan I.A. Ika Wahyuniari

Fakultas Kedokteran, Universitas Udayana.

ABSTRAK

Angka insiden diabetes mellitus tipe 2 berada pada angka tertinggi di negara ekonomi berkembang, khususnya di Indonesia. Mediator mayor terjadinya resistensi insulin diinduksi oleh stres oksidatif. Stres oksidatif mengakibatkan hambatan fosforilasi kaskade protein untuk pengambilan glukosa dan mengurangi sensitivitas terhadap insulin sehingga terjadilah resistensi terhadap insulin. Penggunaan insulin sebagai terapi utama sering memberatkan pasien utamanya kelas menengah ke bawah, karena harga sediaan yang tergolong mahal. Daluman yang memiliki tiga kandungan antioksidan alami antara lain: asam askorbat (vitamin C), flavonoid, dan karoten yang merupakan antioksidan alami potensial yang mampu membantu sistem antioksidan alami tubuh mengatasi stres oksidatif yang mendasari patogenesis diabetes mellitus tipe 2. Penelitian ini menggunakan model uji klinis paralel terandomisasi yang dilakukan secara *in vivo* pada 24 ekor tikus Wistar yang telah memenuhi kriteria inklusi yang sebelumnya telah diinduksi Alloxan sehingga menderita Diabetes mellitus tipe 2 yang kemudian dikelompokkan menjadi 4 jenis perlakuan, di mana masing-masing kelompok tersebut terdiri dari 6 ekor tikus Wistar jantan. Berdasarkan data kasar yang diperoleh dari penelitian menunjukkan bahwa pemberian intervensi Daluman dengan ketiga dosis yang berbeda memberikan efek yang signifikan terhadap penurunan gula darah, yakni dengan rata-rata di atas 10%. Berdasarkan hasil uji ANNOVA dengan SPSS 16 menunjukkan terdapatnya perbedaan yang bermakna antara rata-rata kadar gula darah pada minggu pertama (PPGD1) kelompok kontrol dengan kelompok kedua, dan ketiga. Di samping itu, perbandingan rata-rata kadar gula darah pada minggu kedua (PPGD2) kelompok kontrol dengan kelompok pertama, kedua, dan ketiga menunjukkan perbedaan yang bermakna.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Diabetes mellitus telah dikategorikan sebagai penyakit global oleh World Health Organization (WHO) dengan jumlah penderita di dunia mencapai 199 juta jiwa pada tahun 2009. Menurut statistik dari studi Global Burden of Disease WHO tahun 2004, Indonesia menempati peringkat pertama di Asia Tenggara, dengan prevalensi penderita sebanyak 8,426,000 jiwa di tahun 2000 dan diproyeksi meningkat 2,5 kali lipat sebanyak 21,257,000 penderita pada tahun 2030 (WHO, 2009). Kematian akibat diabetes umumnya disebabkan oleh kerusakan organ terminal spesi-

fik seperti jantung, ginjal dan otak (Evans, 2002; Oprescu, 2007).

Terdapat dua tipe utama diabetes mellitus yaitu diabetes mellitus tipe 1 dan diabetes mellitus tipe 2 (Baynes, 2003). Diabetes mellitus tipe 2 atau yang sering disebut dengan non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM), merupakan jenis diabetes mellitus yang jumlahnya meningkat secara signifikan di dunia. Angka insiden diabetes mellitus tipe 2 berada pada angka tertinggi di negara ekonomi berkembang. Di Indonesia, khususnya, dari seluruh populasi penderita diabetes mellitus, kurang lebih 90% pasien mengalami diabetes mellitus tipe 2 yaitu tidak tergantung insulin (Baynes, 2003). Mediator mayor terjadinya

resistensi insulin diinduksi oleh stres oksidatif. Stres oksidatif adalah keadaan tidak seimbang antara radikal bebas dan sistem antioksidan. Stres oksidatif mengakibatkan hambatan fosforilasi kaskade protein untuk pengambilan glukosa dan mengurangi sensitivitas terhadap insulin sehingga terjadilah resistensi terhadap insulin (Evans, 2002; Oprescu, 2007). Sejauh ini manajemen pada pasien diabetes masih menggunakan insulin sebagai terapi utama pengontrol gula darah. Penggunaan insulin sebagai terapi utama sering memberatkan pasien utamanya kelas menengah ke bawah, karena harga sediaan yang tergolong mahal. Namun perkembangan ilmu pengetahuan mengarahkan pada penemuan berbagai intervensi baru terhadap diabetes mellitus, salah satunya adalah pemanfaatan antioksidan dalam manajemen diabetes mellitus tipe 2 (Baynes, 2003). Antioksidan merupakan molekul yang mampu memperlambat atau mencegah oksidasi suatu molekul (Robins, 2003).

Indonesia memiliki potensi untuk menemukan suatu terapi baru sebagai alternatif terapi insulin, dengan efektifitas yang sama dan biaya yang terjangkau. Salah satu potensi tersebut adalah *Cyclea barbata*, atau yang lebih dikenal dengan sebutan Daluman. Daluman adalah tumbuhan yang sering diolah oleh masyarakat Indonesia, khususnya Bali. Daluman memiliki tiga kandungan antioksidan alami antara lain: asam askorbat (vitamin C), flavonoid, dan karoten (Arifin, 2007). Ketiga senyawa tersebut adalah antioksidan alami potensial yang mampu membantu sistem antioksidan alami tubuh mengatasi stres oksidatif yang mendasari patogenesis diabetes mellitus tipe 2 (Robins, 2003).

Oleh sebab itu, pengusul merancang suatu penelitian dengan judul, "Uji Klinis In Vivo Pengaruh Konsumsi Daluman (*Cyclea barbata*) terhadap Penurunan Kadar Gula Darah pada Tikus Wistar Jantan dengan Diabetes Mellitus Tipe 2". Melalui penelitian ini, diharapkan pengaruh konsumsi Daluman dalam menurunkan kadar gula darah pada tikus Wistar jantan dengan diabetes mellitus tipe 2 dapat diketahui secara jelas, sehingga tidak menutup kemungkinan akan ditemukannya suatu terapi alternatif yang efektif dan terjangkau dalam penatalaksanaan diabetes mellitus tipe 2.

Tujuan

1. Untuk mengetahui pengaruh konsumsi Daluman (*Cyclea barbata*) terhadap penurunan kadar gula darah pada tikus Wistar Jantan dengan diabetes mellitus tipe 2.
2. Untuk mengetahui dosis konsumsi Daluman (*Cyclea barbata*) yang dapat memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar gula darah pada tikus Wistar Jantan dengan Diabetes mellitus tipe 2.

METODE PENELITIAN

1. Besar dan Cara Penentuan Sampel

Sampel penelitian ini dikelompokkan menjadi 4 jenis perlakuan, yaitu:

D0= tanpa pemberian Daluman (kontrol)

D1= pemberian Daluman dengan dosis 100 mg dalam takaran 0.1 cc

D2= pemberian Daluman dengan dosis 200 mg dalam takaran 0.2 cc

D3= pemberian Daluman dengan dosis 300 mg dalam takaran 0.3 cc

Sampel penelitian ini ditentukan dengan menggunakan rumus Freederer, dengan penjabaran sebagai berikut:

$$(n - 1)(k - 1) \geq 15$$

n = jumlah sampel

k = kelompok sampel

Menilik penelitian ini mempergunakan 4 kelompok sampel yang terdiri dari : kelompok D0, kelompok D1, kelompok D2, dan kelompok D3, maka jumlah sampel yang dipergunakan diperoleh dari perhitungan sebagai berikut:

$$(n - 1)(k - 1) \geq 15$$

$$k = 4$$

$$(n - 1)(4 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) \times 3 \geq 15$$

$$(n - 1) \geq 5$$

$$n \geq 6$$

Berdasarkan perhitungan tersebut diperoleh bahwa masing-masing kelompok sampel mempergunakan 6 ekor tikus Wistar Jantan. Jadi, jumlah sampel secara keseluruhan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah 24 ekor Tikus Wistar Jantan. Mempertimbangkan terjadinya eksklusi

yang dilakukan setelah tikus Wistar Jantan di-induksi, maka jumlah tikus Wistar jantan yang dipergunakan adalah 40 ekor, sehingga jumlah sampel yang dibutuhkan dapat dipenuhi.

2. Variabel Penelitian

Variabel Bebas : Konsumsi Daluman
 Variabel Terikat : Kadar gula darah
 Variabel Perancu : Jenis kelamin, berat badan, dan pakan

Definisi Operasional:

1. Konsumsi Daluman : diberikan secara oral dalam bentuk ekstrak dengan pengelompokan dosis/takaran yang ditentukan dalam rancangan penelitian. Daluman diberikan dengan cara sonde.
2. Pengambilan darah : dilakukan dengan menggunakan pipet kapiler hematokrit yang ditusukkan di daerah plexus infraorbitalis.
3. Kadar gula darah : diukur dengan mempergunakan alat GlucoDR dengan dilengkapi stik GlucoDR.
4. Jenis Kelamin : untuk mengontrol variabel perancu jenis kelamin, dalam penelitian ini dipergunakan Tikus Wistar jantan, memilih lebih tingginya angka diabetes mellitus pada laki-laki dan tidak ada kemungkinan hamil.
5. Berat badan : untuk mengontrol variabel perancu berat badan, dalam penelitian ini dipergunakan Tikus Wistar jantan dengan kisaran berat badan 150-220 gram.
6. Pakan : untuk mengontrol variabel perancu berat badan, dalam penelitian ini Tikus Wistar jantan diberikan pengaturan pakan yang disamakan yaitu 10 gram pakan tikus/hari dan minum sebanyak 20 ml yang ditempatkan dalam wadah yang telah disediakan.

Kriteria Inklusi:

Tikus Wistar jantan dengan kadar gula darah ≥ 270 mg/dl setelah induksi dengan Alloxan selama 7 hari.

Kriteria eksklusi:

Tikus Wistar jantan yang mati setelah induksi Alloxan, atau diperkirakan tidak dapat bertahan dalam tahap penelitian lebih lanjut.

4. Rancangan Penelitian

Penelitian diawali dengan persiapan alat dan bahan penelitian yang dilakukan selama 5 hari, termasuk pemeliharaan awal tikus sebelum induksi Alloxan dilakukan. Tikus Wistar dipelihara berkelompok dalam 6 kandang berukuran 40 cm x 30 cm x 15 cm di mana masing-masing kandang terdiri dari 4-6 ekor tikus dan diberikan pakan sebanyak 15 gram/tikus/hari dan minum yang diletakan dalam wadah khusus yang telah disediakan untuk masing-masing kandang. Dalam setiap kontak dengan tikus, para peneliti mempergunakan *handschoen* (sarung tangan steril) sebagai tindakan aseptik. Tahap pertama penelitian dilakukan dengan menginduksi 34 ekor tikus Wistar jantan dengan Alloxan. Dosis diberikan sebanyak 120 mg/kg BB secara *intraperitoneal* mempergunakan *syringe* selama 7 hari diikuti dengan pemberian pakan 15 gram/tikus dan minum larutan glukosa 10% sebanyak 100 ml untuk masing-masing kandang dalam 3 hari terakhir pada masa induksi (hari ke-5 hingga ke-7). Hari ke-8 hingga ke-21, makanan diberikan dengan takaran seperti hari sebelumnya, sedangkan larutan glukosa 10% diganti dengan air suling. Hari pertama sebelum dilakukan induksi alloxan dilakukan pengukuran kadar gula darah awal sebagai tolak ukur peningkatan gula darah setelah induksi. Setelah dilakukan induksi alloxan, pada hari ke-7 dilakukan pengukuran kadar gula darah. Tikus Wistar jantan dengan kadar gula darah ≥ 270 mg/dl dimasukkan ke dalam kelompok sampel. Dalam penelitian ini dipergunakan 24 ekor tikus Wistar jantan yang telah diinduksi Alloxan sehingga menjadi diabetes mellitus tipe 2. Sampel penelitian ini selanjutnya dikelompokkan menjadi 4 jenis perlakuan, di mana masing-masing kelompok tersebut terdiri dari 6 ekor tikus Wistar jantan. yaitu:

D0= tanpa pemberian Daluman (kontrol)

D1= pemberian Daluman dengan dosis 100 mg dalam takaran 0.1 cc

D2= pemberian Daluman dengan dosis 200 mg dalam takaran 0.2 cc

D3= pemberian Daluman dengan dosis 300 mg dalam takaran 0.3 cc

Tahap kedua penelitian dilakukan dengan mempersiapkan Daluman. Daluman yang diberikan dalam intervensi dipersiapkan dalam bentuk ekstrak dengan proses ekstraksi sebagai berikut:

- Daun daluman dipotong dan dikering anginkan selama 9 hari
- Daun daluman yang sudah kering tersebut diblender hingga halus
- Rendam dalam etanol dengan perbandingan 1:10 (berat : volume, misal: 100 gram kering yang sudah diblender : 1000 ml etanol)
- Rendam atau meserasi selama 2 hari untuk mengikat zat aktif tanaman
- Kemudian disaring mempergunakan kertas whattman 1
- Pisahkan ekstrak dengan pelarut dengan menggunakan vaccum rotary evaporator.

Tahap ketiga penelitian dilakukan dengan menggunakan 24 ekor tikus Wistar jantan yang telah diinduksi Alloxan sehingga menderita diabetes. Tikus-tikus yang memenuhi kriteria-kriteria inklusi dipilih secara acak sebagai sampel dan dikelompokkan menjadi 4 kelompok seperti yang telah disebutkan. Keempat kelompok tersebut diberikan pakan dengan jumlah yang sama, yaitu sebanyak 15 gram/tikus/hari. Tikus dipuasakan selama 8 jam setelah diberi pakan, kemudian diberikan intervensi dengan dosis tertentu sesuai kelompok. Pengukuran kadar gula darah untuk mengetahui perubahan yang terjadi dilakukan pada hari ke-15 dan hari ke-21.

5. Teknik Pengumpulan Data

Pengumpulan data dilakukan dengan mengukur kadar gula darah pada hari pertama sebagai tolak ukur awal, pada hari ke-7 untuk memastikan keberhasilan induksi alloxan dan inklusi sample, serta pada hari ke-15 dan hari ke-21 untuk mengetahui efek dari intervensi terhadap gula darah.

6. Analisis Data

Analisis data dilaksanakan dengan uji ANNOVA mempergunakan software statistik SPSS 16.

7. Cara Penyimpulan Hasil Penelitian

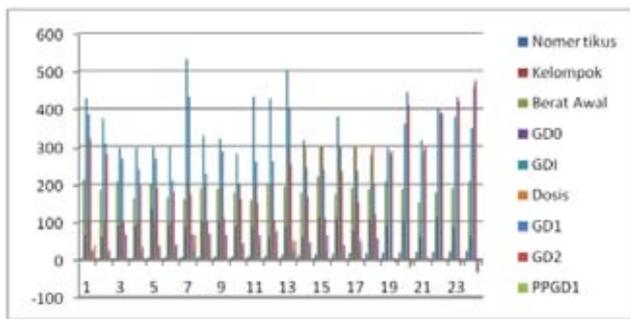
Penelitian ini dikatakan berhasil apabila terdapat penurunan kadar gula darah tikus $\geq 10\%$

dari kadar gula darah awal. Keseluruhan data yang diperoleh dianggap signifikan, jika p value $\leq 0,05$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengaruh Konsumsi Daluman (*Cyclea bar bata*) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah pada Tikus Wistar Jantan dengan Diabetes Mellitus Tipe 2.

Berdasarkan data kasar yang diperoleh dari penelitian (Gbr. 1) menunjukkan bahwa pemberian intervensi Daluman dengan ketiga dosis yang berbeda memberikan efek yang signifikan terhadap penurunan gula darah, yakni dengan rata-rata di atas 10%. Pada kelompok intervensi Daluman pertama (D1) yakni dengan pemberian dosis 100 mg pada takaran 0.1 cc menunjukkan terjadinya penurunan kadar gula darah dengan rata-rata 15.92% pada pemberian intervensi selama satu minggu pertama (PPGD1) dan rata-rata 37.98% pada pemberian intervensi selama satu minggu kedua (PPGD2). Pada kelompok intervensi Daluman kedua (D2) yakni dengan pemberian dosis 200 mg pada takaran 0.2 cc menunjukkan terjadinya penurunan kadar gula darah dengan rata-rata 27.66% pada pemberian intervensi selama satu minggu pertama (PPGD1) dan rata-rata 64.28% pada pemberian intervensi selama satu minggu kedua (PPGD2). Pada kelompok intervensi Daluman pertama (D3) yakni dengan pemberian dosis 300 mg pada takaran 0.3 cc menunjukkan terjadinya penurunan kadar gula darah dengan rata-rata 22.27% pada pemberian intervensi selama satu minggu pertama (PPGD1) dan rata-rata 50.73% pada pemberian intervensi selama satu minggu kedua (PPGD2). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian intervensi Daluman dengan dosis 200 mg memberikan penurunan yang paling tinggi terhadap kadar gula darah, jika dibandingkan dengan intervensi pada dosis 100 mg dan 300 mg. Pada kelompok kontrol (D0) yakni tanpa pemberian intervensi Daluman menunjukkan terjadinya peningkatan kadar gula darah dengan rata-rata 8.64% selama satu minggu pertama (PPGD1) dan rata-rata 8.26% selama satu minggu kedua (PPGD1).



Gambar 1. Grafik Data Kasar Penelitian

2. Dosis Konsumsi Daluman (*Cyclea Barbata*) yang dapat Memberikan Pengaruh Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah pada Tikus Wistar Jantan dengan Diabetes Mellitus Tipe 2.

Berdasarkan hasil uji ANNOVA dengan SPSS 16 menunjukkan terdapatnya perbedaan yang bermakna antara rata-rata kadar gula darah pada minggu pertama (PPGD1) kelompok kontrol dengan rata-rata kadar gula darah pada minggu pertama (PPGD1) kelompok kedua, dan ketiga. Akan tetapi, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara rata-rata kadar gula darah pada minggu pertama (PPGD1) kelompok pertama dengan rata-rata kadar gula darah pada minggu pertama (PPGD1) kelompok kontrol, kedua, dan ketiga. Perbandingan rata-rata kadar gula darah pada minggu kedua (PPGD2) kelompok kontrol dengan kelompok pertama, kedua, dan ketiga menunjukkan perbedaan yang bermakna. Akan tetapi, perbandingan rata-rata kadar gula darah minggu kedua (PPGD2) kelompok ketiga dengan kelompok pertama dan kedua tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Dari keseluruhan hasil tersebut menunjukkan bahwa pemberian intervensi Daluman pada dosis apapun dapat mengakibatkan penurunan kadar gula darah, tetapi intervensi sebaiknya diberikan pada dosis 200 mg sehingga terdapat penurunan yang signifikan dan bermakna jika dibandingkan dengan tanpa pemberian intervensi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Pemberian intervensi Daluman memberikan pengaruh yang signifikan dan bermakna terhadap penurunan kadar gula darah pada tikus Wistar Jantan dengan diabetes mellitus tipe 2.
2. Pemberian intervensi Daluman dengan dosis 200 mg dalam takaran 0.2 cc (D2) memberikan rata-rata penurunan kadar gula darah yang tertinggi, yakni penurunan kadar gula darah dengan rata-rata 27.66% pada pemberian intervensi selama satu minggu pertama (PPGD1) dan rata-rata 64.28% pada pemberian intervensi selama satu minggu kedua (PPGD2). Setelah melalui uji ANNOVA dengan SPSS 16 ditunjukkan bahwa pemberian intervensi Daluman dengan dosis ini memiliki beda yang signifikan dan bermakna jika dibandingkan dengan kelompok kontrol (D0), maupun kelompok intervensi pertama (D1) dan ketiga (D3).

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait pengaruh konsumsi Daluman terhadap kadar gula darah pada penderita diabetes mellitus tipe 2, sehingga dapat diperoleh medikasi alternatif penurun kadar gula darah yang efektif dan terjangkau bagi para penderita diabetes mellitus tipe 2 dengan dasar keilmiah yang dapat dipertanggungjawabkan.
2. Perlu dilakukan penyuluhan kepada masyarakat terkait manfaat Daluman, sehingga budidaya Daluman dapat ditingkatkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifin, Helmi, dkk. 2007. Pengaruh Pemberian Vitamin C terhadap Fetus pada Mencit Diabetes. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*; 12(01): 32-40.
- Baynes, JW. 2003. Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective on an old paradigm. *Diabetes*; 48:1-9.
- Evans, Joseph, dkk. 2002. Oxidative Stress and Stress-Activated Signaling Pathways: A Unifying Hypothesis of Type 2 Diabetes.

Endocrine Reviews 2002; 23(5):599–622.

Oprescu, Andrei, dkk. 2007. Free Fatty Acid–Induced Reduction in Glucose-Stimulated Insulin Secretion : Evidence for a Role of Oxidative Stress In Vitro and In Vivo. Diabetes Journal 2007; 56: 2927–2937.

Robbins S, Cotran R, Kumar V. 2003. Robbins Basic Pathology 7th ed. New York

WHO Country and Regional Data: World. 2009. http://www.who.int/diabetes/facts/world_figures/en/index.html. [10 September 2009]

Lampiran



Gambar 2. Induksi alloxan



Gambar 3. Pemberian intervensi