Manalagi Apple Vinegar (*Malus sylvestris* Mill) as Anti Diabetic to Alloxan Induced Wistar White Male Rat

Valentina Verrell Purnomo[1)], A. Sareh Arjono Tjandra[1)], Risma[1)]
[1)]Fakultas Kedokteran Universitas Hang Tuah Surabaya

Email : valentinaverrell@yahoo.co.id

ABSTRACT

Apple vinegar is estimated to be able to cure diabetes. Vinegar is able to control the increase of glicemic index. Apple has antioxidant substance such as quercetin and chlorogenic acid. Manalagi apple could be found easily in Indonesia.

This research aims to reveal the effect of Manalagi apple vinegar (*Malus sylvestris* Mill) towards blood glucose level of alloxan induced Wistar white male rats (*Rattus norvegicus*).

This research is experimental laboratory using *Experimental* methods. The samples are 30 white rats divided into three groups for 31 days, 1) group which only given standard diet; 2) group that induced by 120mg/dL alloxan; 3) group that induced by 120mg/dL alloxan and Manalagi apple vinegar 0.27ml/100gram weight for 14 days. The measurement of blood serum glucose level is done on day twenty four using homogenous colorimetric enzymatic test method for all groups.

Blood glucose average in group with only given standard diet as negative control group (182.33 mg/dL), group which induced by 120mg/dL alloxan as positive control group (205.2 mg/dL), group which induced by 120mg/dL alloxan and Manalagi apple vinegar as treatment group (212.25 mg/dL). The result of *One-Way Anova* significance is 0.229.

The conclusion of this research is that Manalagi apple vinegar treatment doesn't able to decrease the blood glucose level of white Wistar male rats significantly.

Keywords : *Malus sylvestris* Mill, Blood glucose, Alloxan.

ABSTRAK

Cuka apel diperkirakan dapat berfungsi dalam pengobatan diabetes. Cuka mampu mengontrol kenaikan indeks glikemik. Apel memiliki zat antioksidan seperti quercetin dan asam klorogenat. Apel manalagi merupakan jenis apel yang dapat dijumpai dengan mudah di Indonesia.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek cuka apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang diinduksi alloxan.

Penelitian eksperimental ini menggunakan metode *Experimental*. Sampel yang digunakan adalah tikus putih 30 ekor yang dibagi menjadi 3 kelompok selama 31 hari, yaitu 1) kelompok tikus yang hanya diberi diet standar; 2) kelompok tikus

yang diinduksi alloxan; 3) kelompok tikus yang diinduksi alloxan dengan dosis 120mg/kgBB tikus serta diberi cuka apel manalagi 0,27ml/100 gram BB tikus selama 14 hari. Pengukuran kadar glukosa darah serum tikus dilakukan pada hari ke-24 dengan metode tes kolorimetrik enzimatik homogen pada semua kelompok tikus.

Rerata kadar glukosa darah kelompok tikus dengan diet standar atau kelompok kontrol negatif (182,33 mg/dL), kelompok tikus yang diinduksi alloxan atau kelompok kontrol positif (205,2 mg/dL), kelompok tikus yang diinduksi alloxan serta diberi cuka apel manalagi atau kelompok perlakuan (212,25 mg/dL). Hasil uji *One-Way Anova* menunjukkan nilai signifikansi 0,229.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah pemberian cuka apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) tidak dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan secara signifikan.

Kata kunci : *Malus sylvestris* Mill, Glukosa darah, Alloxan

PENDAHULUAN

Apel dihasilkan dari pohon apel, buah apel biasanya berwarna merah kulitnya jika telah matang, bisa juga hijau atau kuning. Kulit buahnya agak lembek, daging buahnya keras dan memiliki beberapa biji di dalamnya.

Cuka adalah cairan yang masam rasanya yang diproduksi oleh bahan yang mengandung pati dan gula melalui proses fermentasi alkoholik dan *acetous*. Cuka mampu menghambat aksi enzim disakaridase yang menyebabkan penyerapan glukosa hasil pencernaan akan lebih lambat dan kenaikan indeks glikemik dapat terkontrol (Ogawa *et al.*, 2000).

Cuka apel adalah larutan asam yang dihasilkan dengan memfermentasikan apel. Cuka apel mengandung vitamin dan mineral (Banna and Kawar, 1982). Cuka apel mengandung cukup banyak kalium. Kalium diperlukan untuk perbaikan jaringan ikat dan penggantian jaringan yang telah rusak dalam tubuh. Cuka apel mengandung asam asetat dan senyawa antioksidan alami yang dibuktikan dengan kemampuannya dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diberi diet tinggi gula (Zubaidah and Rosdiana, 2016).

Banyak yang telah menggunakan berbagai tanaman sebagai obat alternatif dari diabetes dikarenakan timbulnya kekhawatiran akan efek samping dari obat-obatan diabetes. Salah satu contoh pengobatan alternatif dengan menggunakan apel dalam bentuk cuka apel. Pemilihan cuka apel untuk membantu mengatasi diabetes ini dikarenakan apel bukanlah buah yang susah dijumpai dan juga mudah didapat, terutama untuk jenis apel manalagi dan juga cuka selain akan

kemampuannya, cuka juga dapat digunakan dalam waktu yang cukup lama meskipun sudah melampaui batas kadaluarsanya.

Diabetes Mellitus (DM) merupakan masalah di bidang kesehatan yang besar karena mencakup populasi yang besar. Berdasarkan estimasi terakhir IDF (*International Diabetec Federation)*, terdapat 382 juta orang yang hidup dengan diabetes di dunia pada tahun 2013. Pada tahun 2035 jumlah tersebut diperkirakan akan meningkat menjadi 592 juta orang. (Kemenkes RI, 2014). Diabetes Mellitus merupakan penyakit gangguan meta bolik menahun akibat pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau tubuh tidak dapat menggunakan insulin yang diproduksi secara efektif (Kemenkes RI, 2014).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti ingin meneliti bagaimana pengaruh pemberian cuka apel dengan jenis apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap kadar glukosa darah pada tikus jantan (*Rattus norvegicus*) galur Wistar yang menjadi diabetes karena diinduksi aloksan.

METODE PENELITIAN

Alat

Kandang tikus, timbangan hewan, timbangan analitik, spuit 3cc untuk mengambil darah, spuit 3cc dan sonde oral untuk penggunaan cuka apel pada tikus, wadah plastik, beaker glass 50cc dan batang pengaduk,, spektrofotometer, sonde intragastrik, scalpel, handschoen, masker, Alloxan monohidrat, ketamine HCl, kapas, kertas label.

Bahan

1. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan jalur wistar sehat usia 2,5 – 3 bulan, berat 150 – 200 gram. Jumlah tikus tiap kelompok 10 ekor.
2. Diet standar (pelet), cuka apel manalagi, aquadest.

Pembuatan Cuka Apel

Pilih apel yang matang dan berkualitas baik, cuci dan potong tipis – tipis. Rebus sampai mendidih, setelah mendidih kecilkan api dan masukan gula pasir, diamkan selama 30-45 menit hingga tercium aroma apel. Angkat dan saring, masukan sari rebusan apel ke botol kaca. Tutup botol kaca dengan rapat. Biarkan

dingin dalam botol kaca, lalu tambahkan yeast dan tutup kembali. Tunggu 1-2 minggu hingga terbentuk alkohol, buka tutup botol dan gantikan dengan kain kasa. Fermentasikan selama kurang lebih 2 minggu.

Perhitungan Dosis Cuka Apel

Dosis perhari cuka apel untuk manusia adalah 15-30ml/hari. Dengan menggunakan metode konversi dari Laurence and Bacharach, dengan estimasi berat manusia adalah 70kg untuk tikus seberat 200gram diperoleh faktor konversi 0,018.

Sehingga dosis untuk 200gram tikus = faktor konversi x dosis manusia
= 0,018 x 30ml
= 0,54ml/200 gram BB tikus
= 0,27ml/100 gram BB tikus

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *post test only control group*. Penelitian ini merupakan penelitian *experimental* yang dilakukan dalam laboratorium sehingga segala perlakuan terhadap sampel dapat lebih terkendal. Sampel dibagi dalam 3 kelompok, antara lain :

K(-) : Kelompok yang hanya diberi diet standar

K(+) : Kelompok yang diinduksi alloxan dan diberi diet standar

K(P) : Kelompok yang diinduksi alloxan dan diberi cuka apel 0,27ml /100gram BB tikus

Tahap Perlakuan

Setelah proses adaptasi selesai dilakukan, semua tikus putih jantan galur wistar dibagi menjadi tiga kelompok secara random, yaitu kelompok K(-), kelompok K(+), kelompok K(P). Selanjutnya dilakukan pengukuran dan pencatatan berat badan tikus pada setiap kelompok. Kemudian untuk tiap kelompok tikus akan diberi perlakuan berbeda sebagai berikut:

a. Kelompok kontrol negatif, semua tikus pada kelompok ini hanya akan diberi diet standar selama 17 hari
b. Kelompok kontrol positif, semua tikus pada kelompok ini yang telah diinduksi alloxan akan diberi diet standar selama 14 hari tanpa diberikan cuka apel.
c. Kelompok perlakuan, semua tikus pada kelompok ini yang telah diinduksi alloxan akan diberikan diet standar selama 14 hari disertai dengan pemberian

cuka apel dengan dosis 0,27ml/100gramBB tikus dengan cara disonde oral 1 kali dalam 1 hari selama 14 hari.

d. Semua kelompok akan diberikan aquades setiap hari selama masa penelitian.
e. Pada hari ke-24, pengambilan darah tikus dilakukan untuk selanjutnya diperiksa kadar glukosa setelah penelitian.

Cara Pemeriksaan Kadar Gula Darah

Metode enzimatik menggunakan heksokinase. Heksokinase mengkatalisis fosforilasi dari glukosa dengan ATP untuk membentuk glukosa-6-fosfat dan ADP. Reaksi selanjutnya, enzim kedua, glukosa-6-fosfat dehydrogenase (G6PDH) digunakan untuk mengkatalisis oksidasi dari glukosa-6-fosfat dengan $NADP^+$ untuk membentuk NADPH.

$$\text{D-glukosa} + \text{ATP} \xrightarrow{\text{heksokinase}} \text{D-glukosa-6-fosfat} + \text{ADP}$$

$$\text{D-glukosa-6-fosfat} + \text{NADP}^+ \xrightarrow{\text{G6PDH}} \text{D-6-fosfoglukonat} + \text{NADPH} + \text{H}^+$$

Konsentrasi NADPH yang terbentuk berbanding lurus dengan konsentrasi glukosa. Hal ini ditentukan dengan mengukur peningkatan absorbansi pada 340nm.

Analisis Data

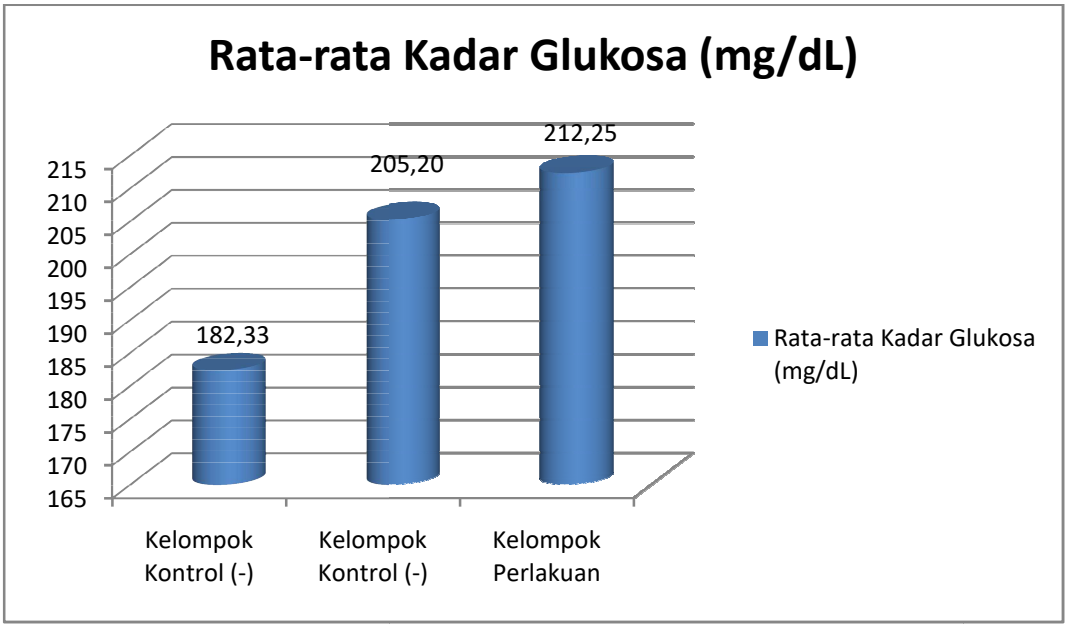
Data diolah dengan menggunakan *software* SPSS versi 23.0. Data kadar glukosa merupakan data numerik sehingga pilihan uji statistik yang digunakan adalah uji parametrik. Kemudian data dianalisis secara statistik dengan uji parametrik *One Way ANOVA* dengan nilai α = 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil pemeriksaan sampel darah tikus

	Kadar glukosa (mg/dL)		
No	Kelompok kontrol (-)	Kelompok kontrol (+)	Kelompok perlakuan
1	148	175	226
2	203	178	226
3	159	189	281
4	167	212	194
5	116	213	211

6	202	205	129
7	207	198	241
8	180	255	190
9	259	232	-
10	-	195	-



Gambar 1. Diagram batang rerata kadar glukosa darah ketiga kelompok

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Hang Tuah Surabaya. Sampel yang digunakan adalah *Rattus norvegicus* galur Wistar jantan dewasa berusia 2,5 – 3 bulan, dengan berat 150 – 200 gram dan dengan kondisi fisik yang sehat, sejumlah 30 ekor. Tikus tersebut terbagi dalam 3 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif (diberi diet standar), kelompok kontrol positif (diinduksi alloxan), dan kelompok perlakuan (diinduksi alloxan serta diberi cuka apel) yang masing-masing berjumlah 10 ekor tiap kelompoknya. Selama jalannya penelitian, terdapat 3 ekor tikus yang mati, sehingga jumlah sampel menjadi 27 ekor tikus, dengan pembagian kelompok kontrol negatif sebanyak 9 ekor tikus, kelompok kontrol positif 10 ekor tikus, dan kelompok perlakuan 8 ekor tikus.

Bahan dasar apel dalam cuka apel yang digunakan pada penelitian ini telah dideterminasi oleh Laboratorium Botani Jurusan Biologi Fakultas MIPA ITS Surabaya. Pemilihan apel sebagai objek penelitian ini karena apel tidak susah dijumpai dan

juga mudah didapat dengan harga yang terjangkau, terutama untuk jenis apel manalagi. Sedangkan untuk pemilihan bentuk olahan cuka berdasarkan kemampuan cuka untuk menghambat enzim disakaridase yang menyebabkan penyerapan glukosa hasil pencernaan akan lebih lambat dan kenaikan indeks glikemik dapat terkontrol (Ogawa *et al., 2000)*. Untuk memperkuat alasan penggunaan cuka apel ini adalah berdasarkan penelitian yang menyebutkan bahwa cuka apel memiliki kemampuan untuk menurunkan kadar glukosa darah karena memiliki senyawa antioksidan alami (Zubaidah and Rosdiana, 2016).

Awal penelitian ini dilakukan dengan adaptasi terlebih dahulu menggunakan diet standar (pelet) selama 7 hari. Kemudian pada hari ke-8 kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan diberi alloxan dengan cara diinduksikan dan diberi makan diet standar selama 3 hari, untuk kelompok kontrol negatif hanya diberi diet standar. Pada hari ke-10 kelompok perlakuan diberi cuka apel dengan cara disonde oral 1 kali dalam 1 hari sebanyak 0,27ml/100gramBB tikus selama 14 hari, dan setiap kelompok tetap diberi diet standar.

Pada hari ke-24 setelah pemberian perlakuan untuk setiap kelompok selesai, maka dilakukan pemeriksaan darah tikus. Pada hari ke-24 tikus sudah tidak diberi pakan, sehingga tikus dalam keadaan puasa dan siap untuk diambil darahnya. Darah diambil dari jantung (*intracardial*) pada semua tikus sampel. Masing-masing tikus diambil darah sebanyak 1,5 mL untuk pemeriksaan kadar glukosa darah. Setelah hasil penelitian diperoleh, dilakukan pengujian statistika dengan *One-Way Anova* karena kelompok yang dibandingkan lebih dari dua dan berdistribusi normal.

Analisis data dimulai dengan analisis deskriptif untuk mengetahui perbandingan rerata untuk setiap kelompok, dengan hasil rerata kelompok kontrol negatif 182,33 mg/dL, kelompok kontrol positif 205,20 mg/dL, dan kelompok perlakuan 212,25 mg/dL. Perbandingan rerata ini menunjukan bahwa rerata glukosa darah kelompok kontrol negatif lebih rendah daripada kelompok kontrol positif, dan rerata glukosa darah kelompok kontrol positif lebih rendah daripada kelompok perlakuan. Untuk menguji signifikansi perbandingan tersebut, maka digunakan uji parametrik *One-Way Anova*.

Sebelum melakukan uji parametrik, terlebih dahulu dipastikan apakah data yang diperoleh sudah berdistribusi normal atau belum dengan menggunakan uji normalitas *Saphiro-Wilk*. Dari hasil uji normalitas diperoleh nilai signifikansi kelompok

kontrol negatif 0,926, kelompok kontrol positif 0,580, dan kelompok perlakuan 0,795 sehingga dari ketiga kelompok menunjukan bahwa p>0,05 dan dapat disimpulkan data berdistribusi normal. Kemudian dilakukan uji variansi homogenitas (*Levene Statistic*) dan diperoleh nilai signifikansi p = 0,373 menunjukan bahwa p>0,05 yang berarti bahwa variansi data homogen.

Pada uji *One-Way Anova* diperoleh nilai signifikansi p = 0,229 yang berarti bahwa p>0,05 atau tidak terdapat perbedaan hasil yang bermakna pada kelompok.

Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian cuka apel tidak dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus. Hal ini dapat disebabkan karena berbagai macam faktor. Contohnya waktu pemberian yang kurang lama atau dosis yang digunakan terlalu sedikit, atau konsentrasi cuka apel kurang tepat. Sedangkan faktor dari segi hewan coba misal karena faktor genetik yang mempengaruhi kadar glukosa darah dan gangguan absorbsi tikus. Dari segi manusia, seperti cara pemberian yang kurang tepat, cara pengambilan darah tikus yang salah, dan adanya kesalahan dalam melakukan prosedur pengukuran kadar glukosa darah.

KESIMPULAN

Tidak ada pengaruh pemberian cuka apel manalagi (*Malus sylvestris* Mill) terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang diinduksi alloxan.

REFERENSI

Banna, A. A. and Kawar, N. S. (1982) ‘Behavior of parathion in apple juice processed into cider and vinegar’, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 17(5), pp. 505–514. doi: 10.1080/03601238209372337.

Kemenkes RI (2014) ‘Situasi dan Analisis Diabetes’, *Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI*, p. 2. doi: 24427659.

Ogawa, N. *et al.* (2000) ‘Acetic acid supresses the increase in disaccharidase activity that occurs during culture of caco-2 cells’, *Journal of Nutrition*, 130, pp. 507–513.

Zubaidah, E. and Rosdiana, I. (2016) ‘Efektivitas Cuka Salak dan Cuka Apel terhadap Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Pankreas Tikus Diabetes’, *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), pp. 170–179.