

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit (*Mus musculus*) yang berguna untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap kadar glukosa darah yang diinduksi streptozotocin dan untuk mengetahui dosis optimal pemberian ekstrak sambiloto (*Andrographis paniculata*) yang mampu menurunkan glukosa darah mencit (*Mus musculus*) secara cepat. Penelitian dilakukan dengan 3 kelompok, 1 kelompok sebagai kontrol dan 2 kelompok diberi perlakuan. Kelompok kontrol dan perlakuan akan diberi pretest, lalu kelompok perlakuan akan diberi ekstrak, setelah itu kelompok kontrol dan perlakuan akan diberi post test. Mencit (*Mus musculus*), yang digunakan berjenis kelamin jantan dewasa karena jika sample betina, dikhawatirkan hormone estrogen dan progesterone dapat mempengaruhi kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*). Rata-rata usia sekitar 6-8 minggu dengan berat badan sekitar 20-30 gram, dengan rata-rata kadar glukosa darah sebelum digunakan penelitian atau sebelum diberikan induksi streptozotocin adalah 125mg/dl.

Rata-rata kadar glukosa pada setiap kelompok sebelum dilakukan injeksi STZ, rata-rata kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) pada kelompok kontrol sebesar 121,33 mg/dl, kelompok perlakuan 1 sebesar 139,89 mg/dl, dan kelompok perlakuan 2 sebesar 129,78 mg/dl. Dalam hal ini dilakukan uji *pre test* sebelum STZ bertujuan untuk membuktikan bahwa semua sample dalam keadaan tidak hiperglikemi. Karena kadar mencit mengalami diabetes melitus adalah bila kadar glukosa darahnya melebihi 62-175 mg/dl (Tyas *et al.*, 2009). Berarti mencit masuk dalam kriteria inklusi penelitian, yaitu mencit dalam keadaan sehat dan tidak sedang mengalami diabetes mellitus.

Setelah diberi injeksi STZ selama 5 hari, rata-rata kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) pada kelompok kontrol sebesar 199,00 mg/dl, kelompok perlakuan 1 sebesar 247,33 mg/dl, dan kelompok perlakuan 2 sebesar 221,00 mg/dl. Semua kelompok perlakuan telah mencapai kadar glukosa darah diabetes mellitus melebihi 62-175 mg/dl (Tyas *et al.*, 2009). Injeksi STZ pada semua kelompok bertujuan

untuk membuat mencit (*Mus musculus*) mengalami hiperglikemi atau diabetes mellitus dikarenakan dalam penelitian ini ingin membuktikan ekstrak sambiloto yang dapat menurunkan kadar glukosa darah, sehingga sample harus dibuat diabetes terlebih dahulu. *Post test* setelah pemberian STZ bertujuan untuk mengetahui bahwa memang mencit yang digunakan untuk penelitian sudah mengalami hiperglikemi. Jika mencit sudah mengalami hiperglikemi, maka selanjutnya akan diberikan perlakuan atau pemberian ekstrak untuk pembuktian bahwa ekstrak sambiloto dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit.

Hasil setelah diberi perlakuan pada masing-masing kelompok, pemberian placebo pada kelompok kontrol, pemberian Ekstrak Sambiloto (Dosis 76,05 mg/g/kg BB) pada kelompok perlakuan 1, dan pemberian Ekstrak Sambiloto (Dosis 228,125 mg/kg BB) pada kelompok perlakuan 2, rata-rata kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) pada kelompok kontrol sebesar 308,44 mg/dl, kelompok perlakuan 1 sebesar 264,11 mg/dl, dan kelompok perlakuan 2 sebesar 266,89 mg/dl. Hal ini menunjukkan bahwa masing-masing kelompok perlakuan kadar glukosa darahnya masih dalam ambang hiperglikemi. Ketiga kelompok perlakuan tidak menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah. Dan semua kadar glukosa masih terlihat sangat tinggi. Hal ini dapat terlihat perbedaannya pada penyajian hasil grafik statistika sebelum dan sesudah pemberian ekstrak sambiloto. Pada kelompok kontrol masih sangat tinggi dibandingkan grafik perbedaan dari kedua dosis.

Sebelum dilakukan analisis mengenai gula darah mencit (*Mus musculus*), terlebih dahulu dilakukan uji normalitas pada masing-masing kelompok perlakuan. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji Shapiro Wilk dengan kriteria apabila nilai signifikansi lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ) maka data berdistribusi normal. Berdasarkan hasil uji normalitas dapat diketahui bahwa data pada masing-masing kelompok perlakuan sebelum dan sesudah diberikan ekstrak sambiloto di penelitian ini memiliki nilai signifikansi lebih dari 0,05 ( $p > 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa keseluruhan data kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) yang digunakan dalam penelitian ini telah berdistribusi normal. Setelah data kadar gula darah sebelum dan sesudah diberikan ekstrak sambiloto berdistribusi normal, dilakukan uji homogenitas dilakukan dengan uji levene dengan hasil nilai signifikansi sebesar

0,404 ( $p>0,05$ ). Sehingga kelompok sebelum dan sesudah diberikan ekstrak sambiloto memiliki varians kadar gula darah yang sama.

Kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) sebelum dan sesudah diberi perlakuan ekstrak sambiloto kemudian dibandingkan pada setiap perlakuan. Perbandingan dilakukan dengan menggunakan uji ANOVA karena data berdistribusi normal dan homogen. Hasil uji ANOVA data pre-test kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,552 ( $p>0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) sebelum diberi perlakuan sambiloto dan hal ini diketahui bahwa ketiga kelompok sudah memiliki rentang nilai gula darah yang sama dan masuk dalam nilai hiperglikemi. Uji Post hoc dilakukan dengan uji LSD dengan hasil nilai signifikansi yang diperoleh pada keseluruhan kelompok lebih dari 0,05 ( $p>0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada kelompok perlakuan yang memiliki kadar glukosa paling berbeda signifikan. Hasil uji ANOVA data post-test kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) pada kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1 dan kelompok perlakuan 2 menunjukkan nilai signifikansi sebesar 0,699 ( $p>0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) yang diberi ekstrak sambiloto dosis 76,05 mg g/kg BB maupun dosis 228,125 mg g/kg BB dengan kadar gula darah mencit (*Mus musculus*) yang diberi placebo. Selanjutnya Uji Post hoc dilakukan dengan uji LSD dengan hasil uji lanjutan menunjukkan bahwa nilai signifikansi yang diperoleh pada keseluruhan kelompok lebih dari 0,05 ( $p>0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada kelompok perlakuan yang memiliki kadar glukosa paling berbeda signifikan.

Perbedaan kadar gula darah darah mencit (*Mus musculus*) sebelum dan sesudah diberi ekstrak sambiloto diketahui bahwa pada masing-masing kelompok perlakuan, tidak menunjukkan adanya penurunan kadar gula darah setelah diberi ekstrak sambiloto (dosis 76,05 mg g/kg BB) pada kelompok perlakuan 1 dan ekstrak sambiloto (dosis 228,125 mg/kg BB) pada kelompok perlakuan 2. Peningkatan gula darah tertinggi terjadi pada kelompok kontrol yaitu sebesar 109,44 mg/dl, peningkatan kadar gula darah pada kelompok 1 sebesar 16,78 mg/dl, sedangkan peningkatan pada kelompok 2 sebesar 45,89 mg/dl, namun pada

kelompok perlakuan 1 dan 2 cenderung lebih menurun kadar glukosa darahnya dibandingkan dengan kelompok kontrol terutama pada kelompok ( dosis 76,05 mg g/kg BB ) lebih baik menurunkan dibandingkan dengan (dosis 76,05 mg g/kg BB ).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara signifikan ekstrak sambiloto tidak dapat menurunkan kadar glukosa darah mencit dengan optimal, namun dibandingkan dengan placebo dosis 1 yaitu sebesar 76,05 mg g/kg BB lebih baik menurunkan kadar glukosa dari kelompok placebo dan kelompok perlakuan 2 yaitu dosis 228,125 mg g/kg BB. Hal ini bisa dikarenakan dalam penelitian ini masih menggunakan ekstrak yang senyawa-senyawanya masih tercampur tidak mengetahui kadar masing-masing senyawa khusus seperti andrographolide dan flavonoid (quercetin) saja yang dimana senyawa andrographolide mampu menstimulasi absorpsi glukosa dalam otot oleh tikus yang diinduksi streptozotocin dengan mekanisme senyawa andrographolide ini akan meningkatkan protein otot atau transpoter glukosa GLUT-4 dan antioksidan pada flavonoid juga mampu menekan apoptosis sel beta tanpa mengubah proliferasi dari sel beta pancreas. Selain itu, antioksidan juga berperan untuk menekan radikal bebas sehingga rendah untuk terjadinya resistensi insulin (Nugroho *et al.*, 2013). Varian jumlah dosis dalam penelitian ini juga dirasa kurang optimal mampu menurunkan kadar glukosa darah mencit.

Terdapat beberapa Faktor yang dapat mempengaruhi ketidakefektifan penurunan glukosa darah pada mencit, salah satunya adalah jumlah pasti kandungan senyawa fitofarmaka pada ekstrak yang memiliki efek antidiabetik yaitu andrographolide dan flavonoid yang belum diketahui secara pasti. Untuk mendapatkan senyawa fitokimia secara khusus, maka haruslah dilakukan uji fitokimia terlebih dahulu agar mendapatkan senyawa metabolit yang diharapkan memiliki efek antidiabetes lebih tinggi, sehingga senyawa andrographolide dan flavonoid dapat bekerja lebih optimal (Pitriya *et al.*, 2017). Padahal senyawa Flavonoid ini bila jumlahnya optimal, senyawa ini akan melakukan pemecahan pada senyawa karbohidrat untuk dijadikan monosakarida yang dalam bentuk ini, dapat selanjutnya diserap usus adalah enzim a *glukosidase* dan enzim a *amilase*. Enzim *glukosidase* ini berperan untuk dapat digunakan mengetahui kemampuan suatu tumbuhan sebagai obat yang memiliki efek antidiabetik melalui mekanisme

penghambatan secara *in vitro*. Flavonoid mampu meningkatkan sensitivitas insulin. Antioksidan pada flavonoid juga mampu menekan apoptosis sel beta tanpa mengubah proliferasi dari sel beta pancreas. Selain itu, antioksidan juga berperan untuk menekan radikal bebas sehingga rendah untuk terjadinya resistensi insulin. Bagian dari flavonoid adalah quercetin yang jika quercetin tertelan bersama glukosa, maka kadar glukosa yang awalnya tinggi akan secara signifikan menurun, quercetin yang mampu menghambat GLUT-2 dalam mukosa usus, jika GLUT-2 dalam mukosa usus dihambat, maka absorbs glukosa dan fruktosa akan menurun, sehingga kadar glukosa dalam darah pun akhirnya menurun. Hal ini membuktikan bahwa glukosa dapat menghambat GLUT-2 untuk penyerapan glukosa. Kinerja lain dari flavonoid adalah flavonoid mampu menghambat enzim fofodiesterase sehingga akan meningkatkan cAMP pada sel beta pankreas. Jika cAMP meningkat, hal ini akan menstimulasi keluarnya protein kinase A (PKA) yang akan merangsang sekresi hormone insulin semakin meningkat (Puspati *et al.*, 2013).

Dalam penelitian ini, ekstrak yang diberikan pada mencit (*Mus musculus*) adalah ekstrak tunggal dan tidak ada tambahan obat anti diabetik sebagai pendukung turunnya glukosa darah. Sehingga hal tersebut kemungkinan bisa membuat penurunan glukosa darah itu melambat. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Pradini *et al.*, (2017) Uji Efek Antidiabetik Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Stevia (*Stevia Rebaudiana Bert.*) dan Daun Sambiloto (*Andrographis folium*) pada Tikus Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Aloksan menghasilkan secara signifikan kombinasi dari kedua ekstrak daun tersebut lebih efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah dibandingkan dengan pemberian salah satu ekstrak atau tunggal. Hal tersebut dikarenakan efek dari kandungan kedua ekstrak tersebut bekerja bersama secara sinergis dan kandungan senyawa fitokimia pada kedua ekstrak tersebut lebih optimal. Dalam penelitian lain oleh Suharmiati *et al.* (2012) tentang Pemanfaatan dan Keamanan Kombinasi Metformin dengan Ekstrak Campuran *Andrographis Paniculata* dan *Syzygium Polyanthum* Untuk Pengobatan Diabetes Mellitus (Preliminary Study) menghasilkan bahwa kombinasi obat antidiabetes metformin dengan pemberian campuran dua ekstrak yaitu *Andrographis Paniculata* dan *Syzygium Polyanthum* sebesar 700 mg telah menurunkan glukosa darah secara signifikan.

Dosis pemberian pada penelitian terbagi menjadi dua varian yang terbagi menjadi dua kelompok. Dosis perlakuan pertama sebesar 76,05 mg g/kg BB dan dosis perlakuan kedua sebesar 228,125 mg g/kg BB. Kedua dosis tersebut diberikan dalam durasi 5 hari. Dosis obat sangatlah menentukan keberhasilan kerja obat di dalam tubuh. Dosis ini diduga kurang optimal dikarenakan tidak mampu menurunkan kadar glukosa secara signifikan. Pada penelitian sebelumnya oleh Laksmiawati *et al.*, (2008) melakukan sebuah penelitian tentang pembagian varian dosis pemberian ekstrak Sambiloto, peneliti membagi menjadi dosis rendah (70 mg/ kg BB), dosis sedang (140 mg/kg BB), dan dosis tinggi (280 mg/ kg BB). Dan hasilnya menunjukkan bahwa ketiga varian dosis yang diujikan tersebut belum bisa secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah mencit yang diinduksi aloksan. Dosis 76,05 mg g/kg BB jika dibandingkan dengan penelitian tersebut termasuk dalam rentang dosis rendah. Dan untuk dosis 228,125 mg g/kg BB termasuk dalam rentang dosis tinggi. Namun dalam penelitian ini, dosis 76,05 mg g/kg BB telah menurunkan lebih baik glukosa darah mencit dibandingkan kontrol yang glukosa darahnya sangat melambung tinggi dan begitupun untuk dosis 228,125 mg g/kg BB walaupun secara statistika belum bisa menurunkan secara signifikan keduanya. Walaupun begitu, bukan berarti untuk penelitian selanjutnya dosis ditambah sebanyak mungkin, karena dosis obat yang terlalu banyak juga akan menimbulkan efek samping atau sampai terjadi toksisitas dalam tubuh mencit, yang nantinya kerja obat tidak akan menjadi optimal, namun malah menjadi toksik. Dalam penelitian ini dosis yang digunakan masuk dalam rentang dosis aman karena pada penelitian sebelumnya oleh Katrin *et al.* (2014) telah dilakukan uji keamanan sambiloto dan toksisitas akut terhadap mencit. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa pada dosis 625-5000 mg/kg BB masih dalam batas aman dan tidak menimbulkan gejala toksisitas ataupun terjadi kematian pada mencit.

Durasi pemberian ekstrak sambiloto terhadap penurunan glukosa darah pada mencit sangatlah berpengaruh dikarenakan durasi akan memperpanjang lama kandungan obat di dalam tubuh mencit sehingga reaksi untuk bekerja akan lebih maksimal, namun durasi yang terlalu lama juga belum tentu dapat memberikan efek yang baik bagi tubuh, karena ditakutkan akan berakibat toksik bagi tubuh. Pada penelitian Hidayah, 2008 tentang Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Sambiloto

terhadap Kadar Glukosa Darah dan Gambaran Histologi Pankreas Tikus ini dilakukan pengamatan dengan kelompok lama pemberian 7 hari, 14 hari, 21 hari, dan 28 hari dengan semua ukuran dosis sama yakni 2,1 g/kg. Dan durasi yang paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah mencit adalah yang 28 hari. Durasi dalam penelitian ini juga kurang karena hanya diberikan ekstrak selama 5 hari. Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Roesnaeni (2010) mengenai efek ekstrak etanol daun sambiloto (*Andrographis folium*) (EEDS) terhadap Kadar Gula Darah Mencit Jantan galur *Swiss Webster* yang diinduksi aloksan. Penelitian dilakukan dengan menggunakan 6 kelompok yang diberi EEDS dosis 1 (29,25mg/kgBB), dosis 2 (58,5 mg/kgBB), dosis 3 (117 mg/kgBB), kontrol (suspensi CMC 1%), pembanding (Glibenklamid 0,65 mg/kgBB) dan Jamu D (195 mg/kgBB) selama 7 hari. Hasil dari penelitian tersebut menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang signifikan penurunan KGD EEDS pada masing-masing dosis.

Faktor lain yang bisa diduga menjadi penyebab tidak optimalnya penurunan glukosa darah pada mencit adalah keefektifan penyerapan ekstrak tanaman oleh tubuh mencit. Pada penelitian oleh Sumarlin *et al.* (2018) dilakukannya uji secara *in vitro* ekstrak daun namnam (*Cynometra cauliflora*) untuk menilai potensi penyerapan glukosa oleh ekstrak tanaman dengan menggunakan organ otot diafragma tikus, karena terdapat reseptor insulin pada jaringan ini. Apabila terjadi penurunan penyerapan glukosa dalam tubuh, hal tersebut bisa disebabkan karena dua hal, adanya suatu zat yang menghambat penyerapan glukosa atau menurunnya metabolisme glukosa di dalam diafragma. Sebelumnya belum pernah dilakukan uji keefektifan penyerapan ekstrak sambiloto. Diduga ekstrak sambiloto kurang efektif menyerap di dalam tubuh mencit sehingga ekstrak sambiloto kurang membantu dalam penyerapan glukosa yang membuat glukosa darah dalam tubuh tetap tinggi.

Kelebihan dari penelitian ini adalah penelitian ini menggunakan 2 varian dosis yang berbeda yang dosis sebelumnya belum pernah diujikan di mencit (*Mus musculus*) tetapi diujikan pada tikus pada penelitian *Antidiabetic and Antihyperlipidemic Effect of Andrographis Paniculata (burm. F.) Nees and Andrographolide in high-fructose-fat-fed rats* oleh (Agus *et al.*, 2012) sehingga kita akan tahu bahwa dosis tersebut mampu menurunkan secara optimal atau tidak pada mencit dengan menggunakan konversi dosis dan dalam penelitian ini menggunakan

induksi streptozotocin yang lebih unggul dalam membuat hewan coba mengalami diabetes dibanding dengan menggunakan induksi aloksan. Penggunaan streptozotocin sebagai agen diabetagonik eksperimental dikarenakan streptozotocin keunggulannya yaitu efek samping yang lebih minimal dibandingkan agen diabetagonik aloksan. Aloksan adalah senyawa hidrofilik yang kurang stabil dan dapat menyebabkan toksis selektif pada hati dan ginjal. Aloksan juga mampu menyebabkan kerusakan selektif pada sel beta pankreas dalam dosis tertentu. Waktu paruh yang lama dan tidak mudah teroksidasi dimiliki oleh streptozotocin (Tegar *et al.*, 2018). Selain senyawa flavonoid, adanya senyawa andrographolide dengan jumlah optimal sangatlah berpengaruh, karena pada penelitian Nugroho *et al.* (2013) menyatakan bahwa senyawa andrographolide mampu menstimulasi absorpsi glukosa dalam otot oleh tikus yang diinduksi streptozotocin dengan mekanisme senyawa andrographolide ini akan meningkatkan protein otot atau transpoter glukosa GLUT-4. Andrographolide juga mampu menekan kadar glukosa darah dan menurunkan kadar lipid pada tikus yang diinduksi dengan fruktosa tinggi lemak.

Untuk kedepannya penelitian diharapkan juga tetap dilakukan pemberian terapi standart diabetik atau obat anti diabetes dikarenakan ekstrak sambiloto ini hanyalah sebagai terapi adjuvant atau terapi pendamping untuk diabetes melitus supaya kadar glukosa darah dapat turun lebih optimal. Untuk pemberian dosis sambiloto supaya dapat dipertimbangkan lagi besarnya, namun tetap tidak melebihi besarnya dosis toksis. Untuk lebih optimal lagi, diharapkan dilakukan uji keefektifan penyerapan ekstrak sambiloto, karena suatu zat yang berperan sebagai agen penurun glukosa darah, biasanya akan mempengaruhi jalu-jalur metabolisme glukosa, seperti halnya penyerapan nutrisi, disekresikannya insulin ke dalam tubuh dan organ yang menyerap glukosa. Dan dengan terbatasnya referensi di Indonesia yang menggunakan induksi streptozotocin sebagai diabetagon dan sumber penelitian penggunaan dosis sambiloto tanpa bantuan obat anti diabetes, maka diharapkan untuk penelitian selanjutnya supaya mencari referensi lebih luas lagi terkait hal tersebut.