

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik Subjek Penelitian

Subjek dalam penelitian ini adalah buah anggur hijau lokal Bali yang didapatkan dari daerah Buleleng, Bali. Buah anggur yang dipilih adalah buah yang sudah matang berwarna hijau. Dalam proses pembuatan ekstrak, digunakan sebanyak 1 kg buah anggur hijau lokal. Selanjutnya, buah anggur hijau dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 24 jam dan dihaluskan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk simplisia sebanyak 232,2 gram. Tahap selanjutnya, ekstrak dibuat dengan merendam 200 gr serbuk simplisia dalam 1500 ml etanol 96% selama 24 jam untuk mengekstrak bahan aktif dari buah anggur hijau dengan cara 2 kali maserasi. Setelah proses pemekatan dengan evaporator diperoleh ekstrak pekat sebanyak 20,8 gram. Ekstrak hasil dari proses evaporasi merupakan sampel yang akan digunakan sebagai perlakuan pada hewan coba.

2. Hasil Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah Hewan Coba Tikus

a. Aklimatisasi Hewan Coba Tikus

Hewan coba yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jenis kelamin jantan, galur Wistar, usia 8-12 minggu dengan berat badan berkisar antara 100-150 gram. Proses aklimatisasi pada hewan coba tikus dilakukan di dalam kandang yang beralaskan sekam dan ditutup kawat dengan suhu berkisar 20-24°C, hewan uji diberi makan pelet dan minum air serta penggantian jerami setiap 2 hari sekali dengan pengaturan cahaya gelap terang 12

jam sehari. Setelah aklimatisasi dilanjutkan dengan injeksi STZ dengan dosis 60 mg/kgBB/hari kemudian masa inkubasi selama 5 hari. Perlakuan dilakukan selama 7 hari, kelompok kontrol positif dengan tikus DM yang diberikan OHO dengan dosis 0,80 mg/kg BB/Hari, kelompok kontrol negatif dengan tikus DM yang diberikan perlakuan pakan standar, kelompok tidak DM sebagai kontrol terhadap semua perlakuan, dan kelompok ekstrak buah anggur hijau dengan dosis 200 mg/kg BB/Hari.

b. Kadar glukosa darah sebelum dan sesudah diberikan perlakuan

Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan sebelum injeksi STZ dan setelah perlakuan pada hari ke-7, sampel diambil pada bagian *sinus orbitalis*. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer metode enzimatis sehingga didapatkan rerata kadar glukosa darah sebelum diberikan perlakuan dengan kelompok ekstrak buah anggur hijau dari 655,8 mg/dL, kelompok kontrol positif dengan rerata 674,8 mg/dL dan kelompok kontrol negatif dengan rerata 585,5 mg/dL. Perlakuan yang diberikan pada hewan coba dilakukan selama 7 hari.

Rerata kadar glukosa darah hewan coba tikus setelah diberikan perlakuan pada kelompok ekstrak buah anggur hijau adalah 225,1 mg/dL, kelompok kontrol positif dengan rerata 294,4 mg/dL dan kelompok kontrol negatif dengan rerata 169,8 mg/dL.

Kadar Glukosa darah pada kelompok kontrol tidak DM mengalami peningkatan dari 60,6 mg/dL menjadi 107,3 dL. Data hasil pengukuran kadar glukosa darah hewan coba sebelum dan sesudah perlakuan disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4**Rerata Kadar Glukosa Darah Hewan Coba Sebelum dan Sesudah Perlakuan**

Perlakuan	Nilai Rerata Kadar Glukosa Darah (mg/dl)		
	Sebelum induksi STZ	Sesudah induksi STZ	Setelah Perlakuan
Kontrol Positif (OHO)	59,3	655,8	294,4
Ekstrak Anggur Hijau	61,3	674,8	225,1
Kontrol Negatif (Pakan Standar)	55,7	585,5	169,8
N (Tidak DM)	60,6	67,3	107,3

3. Efektifitas Dilihat Dari Penurunan Kadar Glukosa Darah Hewan Coba Tikus

Efektivitas penurunan kadar glukosa darah hewan coba tikus ditentukan dengan perbandingan antara rata-rata penurunan kadar glukosa darah setiap kelompok perlakuan dengan rata-rata penurunan kadar glukosa darah kelompok kontrol positif dikali 100%. Efektivitas tertinggi ditemukan pada kelompok tikus yang diberi perlakuan ekstrak anggur hijau dengan dosis 200 mg/KgBB yaitu sebesar 101%. Hasil perhitungan efektivitas penurunan kadar glukosa darah disajikan pada tabel 5.

Tabel 5**Efektivitas Penurunan Kadar Glukosa Darah Hewan Coba**

Perlakuan	Efektivitas Hari ke-7
OHO (Kontrol Positif)	100%
Ekstrak Anggur Hijau	101%
Pakan Standart (Kontrol Negatif)	91%
Tidak DM	nd.

Keterangan : nd. = Non-Diferensial

4. Hasil Analisis Data

a. Hasil analisis uji statistik

1) Uji Normalitas

Uji normalitas data menggunakan uji *Shapiro-Wilk* pada semua kelompok perlakuan diperoleh hasil dengan nilai signifikansi sebesar 0,502 dapat disimpulkan bahwa data tersebut berdistribusi normal. Menurut Singgih Santoso, 2014 dalam uji *Shapiro Wilk* data dikatakan berdistribusi normal (simetris) jika nilai Sig. >0,05. Hasil uji normalitas data disajikan pada tabel 6.

Tabel 6**Uji Normalitas Data**

	Sig.	Hasil
Kadar Glukosa Darah	0,502	Normal

1). Uji *Independent Sample T-Test*

Berdasarkan uji *Independent sample t-test* pada pemeriksaan glukosa darah hewan coba tikus nilai Sig. (2-tailed) sebesar $0,533 > 0,05$ sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok ekstrak buah anggur hijau dengan kelompok kontrol positif pada kadar glukosa darah hewan coba tikus.

B. Pembahasan

1. Ekstrak buah anggur hijau

Ekstrak buah anggur hijau dibuat dengan merendam serbuk simplisia menggunakan perbandingan 1:1 buah anggur hijau dalam etanol 96% sebanyak 1500 ml. Proses maserasi ulang dilakukan sebanyak dua kali untuk meningkatkan efektivitas proses ekstraksi (Habibah et al. 2023). Sampel dibuat menjadi serbuk halus agar memperluas permukaan sehingga interaksi antara senyawa yang akan diambil dengan pelarut dapat terekstrak sempurna dan lebih efektif. Jika ukuran bahan yang digunakan semakin kecil, maka semakin luas bidang kontak antara pelarut dengan bahan. Keadaan ini menyebabkan kecepatan yang lebih besar mencapai keseimbangan sistem. Proses ekstraksi berjalan dengan lancar dan tidak membutuhkan waktu yang lama apabila ukuran bahan yang sesuai. Simplisia atau jaringan bahan dapat mempengaruhi efektivitas ekstraksi (Ningsih dkk., 2019).

Senyawa aktif dalam buah anggur hijau dipisahkan melalui proses ekstraksi dengan metode maserasi (Ananta dkk., 2021). Metode maserasi sangat berguna dalam isolasi senyawa bahan alam karena adanya perbedaan tekanan antara bagian dalam dan luar sel menyebabkan pemecahan dinding sel pada saat

perendaman sehingga pelarut organik akan melarutkan senyawa yang ada dalam sitoplasma (Ananta, Putra dan Arnata, 2021).

Pelarut yang digunakan selama proses ekstraksi yaitu etanol. Dalam proses maserasi pemilihan pelarut berdasarkan pada prinsip “*like dissolve like*”, yang berarti senyawa polar hanya larut dengan pelarut polar, begitu pula sebaliknya pada senyawa *nonpolar* dan semipolar (Kemit, Widarta dan Nocianitri, 2010). Karena kemampuannya dalam menembus dinding sel, pelarut etanol mampu mempercepat difusi sel dan menarik senyawa bioaktif (flavonoid, antosianin, tanin, asam fenolat, dan resveratrol) dalam jumlah banyak (Prayitno dan Rahim, 2020). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Baehaki et al., 2021 menunjukkan komponen senyawa bioaktif fenolik dan flavonoid tertinggi yaitu dengan ekstraksi menggunakan etanol sebagai pelarut.

2. Hasil Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah Hewan Coba Tikus

a. Aklimatisasi Hewan Coba Tikus

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus Wistar berumur 8-12 minggu dengan berat 130-200 gram. Tikus berumur 2,5 bulan mempunyai umur yang sama dengan manusia dewasa muda dan belum mengalami proses penuaan intrinsik. Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus strain Wistar karena tikus tersebut lebih menguntungkan untuk dijadikan hewan uji dibandingkan mencit. Tikus wistar merupakan hewan percobaan yang baik digunakan dalam penelitian genetika (Arwati et al. 2022).

Aklimatisasi merupakan pemeliharaan hewan coba dengan tujuan untuk bisa beradaptasi terhadap lingkungan barunya (Hasanah, 2017). Masa aklimatisasi yang dilakukan oleh peneliti beragam dari 3-14 hari. Lamanya aklimatisasi juga

dapat mencegah stres di lingkungan yang baru pada hewan (Purwantono et al., 2016). Hewan perlu melakukan penyesuaian dengan lingkungan barunya sehingga diharapkan hewan coba tersebut tidak lagi mengalami stres akibat perpindahan dari kandang sebelumnya saat akan dilakukan perlakuan atau prosedur lainnya.

Keadaan hiperglikemia pada tikus yang dijadikan subjek penelitian diperoleh dari pemberian STZ dengan dosis 60 mg/kgBB secara intraperitoneal. Dibandingkan dengan agen induksi yang lain, STZ dianggap lebih efektif sebagai agen diabetogenik karena lebih efisien dan konsisten. Selain itu, STZ tetap stabil dalam larutan sebelum dan setelah induksi pada hewan coba (Lee et al., 2010). Model hewan coba yang diinduksi dengan STZ menyerupai dengan beberapa komplikasi akut dan kronis yang sering terjadi pada penderita DM. Model ini menunjukkan adanya kesamaan dalam beberapa kelainan struktural, biokimia dan fungsional pada penyakit DM sehingga lebih baik digunakan sebagai model untuk melihat mekanisme penyakit DM (Eleazu et al., 2013).

Setelah hewan uji di kelompok kontrol positif, kontrol negatif dan kelompok perlakuan ekstrak buah anggur hijau mengalami hiperglikemia kemudian diberikan perlakuan yang sesuai dengan kelompok masing-masing. Pada kontrol negatif setelah diinduksi STZ diberikan perlakuan pakan standar dengan minum aquadest yang bersifat netral, kontrol positif diberikan suspensi obat glibenklamid dengan dosis 210 mg/kg BB manusia yang sudah di konversi ke tikus menjadi 18,9 mg/kg BB/hari dan kelompok perlakuan uji ekstrak buah anggur hijau yaitu diberikan dosis 200 mg/kgBB tikus, pemilihan dosis tersebut didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Ferawati, 2019 tentang dosis efektif dari buah anggur hijau terhadap penurunan glukosa.

b. Kadar glukosa darah sebelum dan sesudah diberikan perlakuan

Berdasarkan Tabel 4, kadar glukosa darah sebelum dilakukan injeksi STZ pada setiap kelompok berada pada rentang nilai normal yaitu 50-135 mg/dL. Setelah dilakukan induksi STZ mengalami peningkatan yang disebabkan karena struktural derivat piramidin sederhana pada STZ dapat merusak sel β pankreas sehingga menurunkan produksi insulin. Kadar glukosa darah pada hewan coba dikatakan hiperglikemia ketika kadar glukosa darah ≥ 200 mg/dL (Nofianti, 2020). Pada penelitian ini terbukti bahwa semua kelompok hewan coba tikus DM memiliki kadar glukosa darah rerata kadar 495,8 mg/dL.

Setelah diberikan perlakuan selama 7 hari diketahui bahwa kadar glukosa darah pada kelompok ekstrak buah anggur hijau dengan dosis 200 mg/kg BB/Hari mengalami penurunan dari 674,8 mg/dL menjadi 225,1 mg/dL, hal ini terjadi karena senyawa utama dalam buah anggur hijau yaitu flavonoid yang meliputi flavonol, proantosianidin dan antosianin (McRae & Kennedy, 2011) memiliki khasiat farmakologis dan dapat bersifat sebagai antioksidan. Antioksidan inilah yang dapat digunakan sebagai antidiabetes. Senyawa bioaktif yang berasal dari buah anggur hijau dapat digunakan sebagai alternatif dalam mengelola kadar glukosa darah dalam tubuh yang tidak diatur dengan baik dan stres oksidatif yang berkaitan dengan DM Tipe 2 (Naz et al., 2023).

Kadar glukosa darah pada kelompok kontrol positif setelah diberikan perlakuan mengalami peningkatan dari 655,8 mg/dL menjadi 294,38 mg/dL. Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan obat Glibenklamid sebagai salah satu obat antidiabetes oral yang telah terbukti efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah, obat ini termasuk dalam golongan sulfonilurea generasi kedua yang banyak

digunakan oleh pasien DM (Widyastuti dkk., 2022). Glibenklamid tidak dapat larut dalam air sehingga disuspensi dengan Na CMC 0,5%. Sistem pencernaan tikus tidak memiliki enzim selulase, maka penggunaan Na CMC tidak akan mempengaruhi kadar glukosa darah pada hewan coba tikus (Indrawati et al., 2015).

Pada kelompok kontrol negatif yang diberikan pakan standar dan minum aquadest menunjukkan penurunan kadar glukosa darah, penurunan yang terjadi ini sebelumnya dapat dipastikan bahwa tikus mengalami kondisi fisiologis yang baik atau faktor lainnya.

Kelompok tikus tidak DM adalah kelompok kontrol yang diberi perlakuan normal selama masa percobaan. Pada penelitian ini kelompok tidak DM dijadikan sebagai patokan nilai normal untuk semua perlakuan. Pada kelompok kontrol tidak DM dilanjutkan dengan pemberian pakan pelet dan minum aquadest. Kadar glukosa darah pada kelompok kontrol tidak DM mengalami peningkatan dari 67,3 mg/dL menjadi 107,3 mg/dL, hal tersebut bisa terjadi karena tikus mengalami stres. Kondisi stres pada tikus menyebabkan gangguan pada pengendalian kadar glukosa darah oleh aktivitas hormon sehingga akan memicu terjadinya produksi hormon kortisol dan epinefrin yang menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah (Saputra dkk., 2018).

3. Efektivitas Penurunan Kadar Glukosa Hewan Coba

Hasil perhitungan yang dilihat dari penurunan kadar glukosa darah pada hewan coba kelompok kontrol positif menunjukkan persentase efektivitas sebesar 100%, hasil tersebut sejalan dengan penelitian Mahathma tahun 2020 kontrol positif dengan menggunakan glibenklamid dapat menurunkan kadar glukosa darah

pada hewan coba. Sedangkan pada kelompok ekstrak buah anggur hijau memiliki persentase efektivitas sebesar 101%.

Berdasarkan penelitian Liers, 1993 ditemukan suatu senyawa bioflavonoid pada buah anggur yang tidak berwarna dan mengandung 95% *proanthocyanidins*, zat tersebut adalah *Oligomer Proanthocyanidin Complex* (OPC) (Emilda, 2018). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa OPC mengandung antioksidan tinggi yang mempunyai potensi 50x lebih besar dibandingkan vitamin C dan 20x lebih besar dari vitamin E (Uzun et al., 2013). Selain itu, ekstrak buah anggur juga dilaporkan dapat memperbaiki hiperglikemia dan peradangan (Pandey & Rizvi, 2014).

4. Hasil Analisis Data

a. Hasil analisis uji statistik

Analisis data pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas ekstrak buah anggur hijau terhadap penurunan kadar glukosa darah hewan coba model DM tipe 2. Pada kelompok perlakuan didapatkan hasil uji normalitas nilai signifikansi (p) adalah 0,595 ($p > 0,05$), sehingga berdasarkan uji *Shapiro-Wilk* data tersebut berdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *Independent T-Test*. Hasil analisis data dilakukan dengan uji *Independent T-Test* pada kadar glukosa darah setelah perlakuan diketahui tidak terdapat perbedaan kadar glukosa yang signifikan dengan nilai signifikansi (p) adalah 0,533 ($p > 0,05$) pada kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak buah anggur hijau setelah perlakuan.

Selama penelitian pada hari ke-7 terdapat 4 ekor tikus mengalami *drop out* (DO) yaitu 2 ekor pada kelompok kontrol positif, 1 ekor pada kelompok kontrol

negatif dan 1 ekor pada kelompok ekstrak anggur hijau. Kematian pada hewan coba kemungkinan terjadi karena tikus mengalami stress selama proses perlakuan.

Selama beberapa tahun terakhir, semakin banyak penelitian yang dilakukan mengenai kandungan dalam buah anggur karena potensinya dalam penurunan kadar glukosa darah. Selain buahnya, kulit, daging buah, dan bijinya juga mengandung flavonoid, resveratrol, dan asam fenolik dalam kadar yang bervariasi yang bergantung pada spesies anggur dan asal geografisnya (Dewi et al. 2023). Olahraga atau latihan jasmani merupakan salah satu pilar penatalaksanaan DM tipe II di samping edukasi, terapi gizi medis dan intervensi farmakologis (Sarihati, Karimah, and Habibah 2019).

Adapun keterbatasan penelitian selama penelitian ini berlangsung adalah:

- a). Pengambilan darah pada hewan coba tikus memerlukan keahlian khusus sehingga dalam proses pengambilan dilakukan oleh dokter hewan.
- b). Waktu pengambilan sampel yang tidak bisa dilakukan pada rentang waktu yang sama sehingga harus tetap menjaga stabilitas sampel.
- c). Terdapat tikus yang mengalami *drop out*/kematian sebanyak 4 ekor sehingga berdampak pada pengurangan jumlah sampel yang mempengaruhi hasil penelitian.