

BAB V

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak umbi bit sebagai terapi alternatif dan kombinasi dengan glibenklamid dalam berbagai dosis sebagai antioksidan dengan melihat kadar SOD tikus *wistar* yang diinduksi aloksan. Kadar SOD yang didapat dari uji serologis ELISA kemudian diuji menggunakan uji Saphiro Wilk dengan tujuan untuk mengetahui normalitas data.

Setelah diketahui normalitas dan homogenitas data, uji selanjutnya yang dilakukan yaitu uji One Way ANOVA dengan taraf signifikansi 5%. Nilai signifikansi yang didapat yaitu 0,001 ($p < 0,05$). Dari data tersebut dapat disimpulkan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima yang berarti terdapat pengaruh pemberian ekstrak umbi bit (*Beta vulgaris*) terhadap kadar SOD tikus *wistar* yang telah diinduksi aloksan. Uji lanjut yang digunakan setelah uji di atas adalah uji Post Hoc LSD. Uji ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan pengaruh antar perlakuan terhadap kadar SOD tikus *wistar* yang diinduksi oleh aloksan. Hasil yang didapat dari uji Post Hoc LSD ini adalah terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antar perlakuan. Hasil analisis statistik terdapat perbedaan yang bermakna pada kadar SOD pada kelompok perlakuan. Analisis statistik kadar SOD pada kelompok *baseline* terhadap kelompok kontrol negatif, positif, kelompok IV dan kelompok VI ditemukan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) sedangkan untuk kelompok V tidak ditemukan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$).

Kadar SOD pada pemberian ekstrak umbi bit 100 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB dapat meningkatkan SOD, seperti pada kontrol positif. Sedangkan kadar SOD pada pemberian dosis 200 mg/kgBB dapat meningkat dan mendekati kadar SOD pada tikus normal. Oleh karena itu pemberian ekstrak dosis 200 mg/kgBB merupakan yang optimal dibanding kadar 100 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB. Namun berdasarkan hasil statistik

kelompok VI menunjukkan perbedaan signifikan terhadap kontrol positif, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak umbi bit dengan dosis 300 mg/kgBB kurang efektif dibandingkan dengan pemberian glibenklamid. Kadar SOD pada perlakuan kontrol negatif dan dosis 300 mg/kgBB tergolong rendah dari perlakuan lainnya. Kontrol negatif merupakan kelompok pembanding dimana tikus *wistar* dikondisikan diabetes melitus melalui diinduksi aloksan tanpa diberi ekstrak atau obat sintesis selama 14 hari.

Rendahnya kadar SOD pada kelompok kontrol negatif mengindikasikan tingginya stres oksidatif dalam tubuh yang berhasil ditingkatkan melalui induksi aloksan selama 14 hari. Hal ini sejalan dengan penelitian oleh Intan Fitri Aprilia (2018), dimana pada penelitiannya tikus model diabetes melitus menunjukkan penurunan kadar SOD (*Superoxide Dismutase*) yang disebabkan oleh tingginya stres oksidatif dalam tubuh. Pada penyakit diabetes, hiperglikemia dalam waktu lama dapat menstimulasi produksi ROS dari berbagai sumber. Hasilnya, penyakit diabetes dapat mengarah ke peningkatan pembentukan ROS dan melemahkan enzim antioksidan dalam tubuh. SOD dapat mengkatalisis konversi O_2^- menjadi H_2O_2 . Dalam keadaan hiperglikemia, sel endotel akan mengalami peningkatan kadar O_2^- . Produksi O_2^- berlebihan dapat menghambat *glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*, yang merupakan enzim penting bagi siklus glikolitik. Hal inilah yang menyebabkan penumpukan akumulasi dari glukosa.^{43,59}

Kadar SOD yang rendah dalam tubuh membuktikan bahwa telah terjadi stres oksidatif yang disebabkan oleh ketidakseimbangan antara kadar antioksidan endogen yaitu SOD, dimana kadarnya terlalu rendah sedangkan kadar radikal bebas terlalu tinggi. Menurut penelitian IA (2016) peningkatan stres oksidatif sebanding dengan penurunan mekanisme antioksidan yang ditandai dengan penurunan kadar *Nitric Oxide* (NO). Pada keadaan hiperglikemia akan terjadi peningkatan kadar ROS yang

membuat antioksidan endogen tidak mampu melawan sehingga terjadi stres oksidatif.⁴⁴

Stres oksidatif menyebabkan mekanisme pembentukan dan penangkapan radikal bebas terganggu sehingga aktivitas antioksidan enzimatik SOD menurun. Stres oksidatif adalah kondisi ketika terjadi ketidakseimbangan antara agen pro oksidan dan antioksidan, dimana hal ini menyebabkan kerusakan baik tingkat molekuler maupun seluler. Tingginya kadar ROS diakibatkan oleh peningkatan ekspresi mrRNA dari subunit NADPH oksidase, sebuah kompleks enzim penghasil ROS yang menghambat ekspresi dan regulasi SOD.^{45,46}

Superoxide dismutase berperan sebagai lini terdepan tubuh untuk menetralkan radikal bebas. *Superoxide dismutase* mengkatalisis konversi radikal bebas anion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) dan oksigen molekuler O_2 . Selanjutnya, H_2O_2 direduksi menjadi air oleh enzim katalase (CAT), glutathione peroksidase (GPx), dan/atau enzim peroksiredoksin (Prx) yang bergantung pada thioredoxin (Trx). *Superoxide dismutase* berfungsi sebagai antioksidan primer dengan mengubah radikal bebas menjadi molekul yang tidak bersifat reaktif sebelum sempat bereaksi dengan molekul lain. Melalui mekanisme tersebut SOD dapat mencegah terbentuknya radikal bebas baru dan mencegah terjadinya kerusakan baik tingkat sel ataupun organ. *Superoxide dismutase* berada di cairan intraseluler serta berpartisipasi dalam proses degradasi radikal bebas intraseluler.^{29,32}

Pada penelitian ini perlakuan kelompok IV menunjukkan peningkatan kadar SOD dibanding dengan kelompok kontrol negatif. Selain itu dengan rerata 1,70 kelompok IV menunjukkan bahwa perlakuan kelompok ini belum memberikan efek yang signifikan dalam meningkatkan kadar SOD. Hal ini dapat diartikan bahwa ekstrak umbi bit 100 mg/kgBB mampu meningkatkan kadar SOD namun bukan merupakan dosis yang optimal. Hal ini sesuai dengan penelitian Gamal et al, bahwa umbi bit merah (*Beta vulgaris L*) pada dosis 250 dan 500 mg/KgBB/hari

yang berfungsi sebagai antioksidan mampu menangkal radikal bebas pada tikus dengan gangguan ginjal nefrotoksik yang di induksi gentamisin. Penelitian Chen L et al, menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan pada umbi bit cukup tinggi dengan adanya senyawa bioaktif betalain.^{47,48}

Umbi bit diketahui mengandung betalain yang mampu mengeliminasi stres oksidatif dan stres nitratif dengan cara mengikat elektron, mencegah kerusakan DNA dan mengurangi kadar LDL. Penelitian lain juga mengatakan bahwa umbi bit mampu menstimulasi aktivitas enzim antioksidan, meningkatkan SOD, dan peroksidase sehingga stres oksidatif tidak terjadi. Kandungan senyawa bioaktif betalain yang terkandung dalam umbi bit dijelaskan oleh penelitian Kanner J. et al, dimana aktivitas antioksidan tinggi betanin berasal dari kapasitas dalam mendonor elektron yang sangat baik dan kemampuannya dalam menetralkan radikal bebas yang sangat reaktif yang menargetkan membran sel. Elektron yang didonorkan oleh betanin dapat mencegah terjadinya peroksidasi lipid yang merupakan salah satu pencetus terjadinya stres oksidatif. Menurut Kanner J, Peningkatan produksi antioksidan endogen oleh betalain telah terbukti dalam penelitian *in vivo* melalui penghambatan peroksidasi lipid dengan berinteraksi dengan radikal peroksil dan alkoksil.⁴⁹

Menurut penelitian Clifford T, et al umbi bit memiliki potensi yang baik untuk meningkatkan kesehatan dan pencegahan penyakit. Hal ini dikarenakan umbi bit kaya akan komponen bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan. Komponen bioaktif ini berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi dan perbaikan fungsi endotel pembuluh darah. Selain itu, salah satu kandungan umbi bit yaitu betalain berfungsi melindungi sel dari stres oksidatif. Betanin yang merupakan betalain paling melimpah dalam umbi bit dengan kandungan 300-600 mg/kg sangat efektif dalam menghambat peroksidasi lemak sehingga menghambat pembentukan radikal bebas. Menurut penelitian Zielińska-Przyjemska M, et al melaporkan bahwa senyawa bioaktif yang terkandung dalam umbi bit

mampu menghambat metabolisme oksidatif, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, SOD dan peroksidase pada organ hepar, limpa dan ginjal tikus yang terkena radiasi.^{10,50}

Menurut penelitian Esatbeyoglu et al, ditemukan bahwa betanin dalam umbi bit memiliki sifat sebagai pengikat radikal bebas dan penginduksi mekanisme pertahanan antioksidan dalam sel yang dikultur. Betanin dapat mengikat DPPH, *hydroxyl-radicals*, superoksida, dan *galvinoxyl* dalam konsentrasi tertentu dan dapat mencegah kerusakan DNA yang diinduksi oleh hidrogen peroksida. Hal ini didukung juga oleh penelitian Frank T et al, dilaporkan bahwa kandungan betanin (betalain dan betaxanthin) yang terkandung dalam umbi bit memiliki bioavailabilitas yang baik di dalam tubuh dan tidak dipengaruhi oleh kondisi gastrointestinal, betalain akan tetap stabil tanpa kehilangan sifat antioksidan yang signifikan, dimana umbi bit akan tetap mempertahankan khasiatnya untuk pengobatan penyakit.^{51,52}

Menurut penelitian Sakihama Y et al, senyawa betanin (0,05–1,0 mM) dengan konsentrasi tertentu dapat menghambat pembelahan untai DNA yang diinduksi oleh peroksinitrit, pengikatan nitrogen dioksida dan merupakan pengikat radikal peroksil lipid.⁵³

Perlakuan dengan kadar SOD tertinggi seperti yang terlihat pada Tabel 4.1 terdapat pada perlakuan kelompok V dengan rerata 2,22. Perlakuan kelompok V ini tidak memiliki perbedaan nyata dengan perlakuan kelompok kontrol positif dengan nilai rerata 1,91. Tingginya kadar SOD pada perlakuan ini dapat diartikan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak umbi bit 200 mg/kgBB tetap tinggi, walaupun hewan coba telah diinduksi aloksan selama 14 hari. Hasil analisis statistik pada kadar SOD juga menunjukkan bahwa pemberian glibenklamid pada kontrol positif terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kelompok *baseline*. Hal ini dapat menunjukkan bahwa pemberian glibenklamid pada kontrol positif tidak memperbaiki kadar SOD. Selain itu, kontrol negatif dengan kontrol positif menunjukkan tidak ada perbedaan. Hal ini menunjukkan bahwa

pemberian glibenklamid pada kontrol positif tidak mempengaruhi kadar SOD pada hewan uji dan bisa dianggap tidak efektif dalam perbaikan kadar SOD.

Glibenklamid atau biasa disebut *glyburide*, merupakan sulfonylurea golongan kedua yang diakui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) sebagai tatalaksana diabetes melitus tipe 2. Mekanisme kerja glibenklamid secara umum adalah dengan merangsang sekresi insulin oleh sel β pankreas. Secara spesifik, sulfonylurea berikatan dengan reseptor SUR1 didalam membran sel β pankreas, tepatnya di kanal kalium. Agen ini berperan dengan cara menutup kanal kalium, kalium intraseluler berkurang dan membran sel β akan terdepolarisasi. Depolarisasi membran yang terjadi akan membuat kanal kalsium terbuka, lalu kalsium akan masuk dan terjadi peningkatan kalsium intraseluler yang menyebabkan stimulasi sekresi insulin di sel β pankreas. Sulfonylurea juga dapat berikatan dengan reseptor SUR2 yang terletak di sel jaringan jantung dan di endothelium. Setelah sekresi insulin awal, sulfonylurea juga dapat menurunkan klirens insulin di hepar, yang selanjutnya akan berkontribusi terhadap peningkatan kadar insulin dalam plasma. Selain meningkatkan sekresi insulin, sulfonylurea juga menurunkan kadar glukosa serum dengan menurunkan metabolisme insulin di hepar, menurunkan sekresi glukagon, dan meningkatkan kepekaan terhadap insulin di jaringan perifer, yang memungkinkan penggunaannya terhadap pasien dengan disfungsi ginjal dan hati.^{54,55,56,57}

Jadi obat golongan sulfonylurea tepat untuk pengobatan diabetes melitus tipe 2 serta memberikan perbaikan peningkatan kadar SOD pada kelompok kontrol positif dibandingkan dengan kelompok negatif. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Singh et al, menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian glibenklamid terhadap kadar SOD yaitu ditemukan adanya perbaikan kadar SOD pada kelompok hewan model diabetes yang diinduksi streptozotocin. Jadi glibenklamid dapat meningkatkan kadar SOD tikus model diabetes melitus.⁵⁸