

PENGARUH PEMBERIAN SUSPENSIBUBUK KEDELAI (*Glycine max L.Merr*) TERHADAP JUMLAH SEL BETA PANKREAS TIKUS PUTIH (*Rattus Norvegicus*) GALUR WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN

Fatma Nashriati, Muhammad Fadhrol Romdhoni, Andi Muh. Maulana
Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Korespondensi: fatmanashriati4@gmail.com

ABSTRAK

Diabetes mellitus merupakan penyakit metabolik yang dapat mengakibatkan perubahan metabolik pada penderitanya. Kondisi ini dapat mengakibatkan disfungsi dan apoptosis sel beta pankreas. Kurangnya asupan antioksidan yang dibutuhkan sel beta merangsang pengeluaran *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang dapat mendorong terjadinya apoptosis dan disfungsi sel beta. Kedelai memiliki kandungan utama yaitu isoflavon. Isoflavon pada kedelai memiliki fungsi sebagai antioksidan untuk melemahkan stress oksidatif, menurunkan kadar ROS dan menghambat apoptosis sel. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh suspensi bubuk kedelai terhadap jumlah sel beta pankreas pada tikus yang diinduksi streptozotosin. 30 tikus putih jantan galur wistar dengan berat 150-300 g usia 6-12 minggu yang diinduksi streptozotosin (STZ) digunakan dalam penelitian ini. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok 1 tikus yang diinduksi STZ. Kelompok 2 tikus normal. Kelompok 3-5 diinduksi STZ dan diberi suspensi bubuk kedelai dosis masing-masing 200 mg/kgBB, 400 mg/kgBB, 800 mg/kgBB selama 30 hari. Diakhir penelitian jaringan pankreas diambil untuk pembuatan preparat dengan pewarnaan immunohistokimia. Jumlah sel beta pankreas dihitung menggunakan aplikasi Image-J pada 10 pulau langerhans. Pemberian suspensi bubuk kedelai berpengaruh terhadap jumlah sel beta pankreas pada tikus yang diinduksi STZ ($p < 0,05$). Dosis 800 mg/kgBB memiliki pengaruh yang bermakna ($p < 0,05$) sedangkan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB memiliki pengaruh yang sama terhadap jumlah sel beta pancreas ($p > 0,05$). Terdapat pengaruh suspensi bubuk kedelai terhadap jumlah sel beta pankreas pada tikus yang diinduksi streptozotosin dan dosis 800 mg/kgBB menjadi dosis optimum pada penelitian ini.

Kata Kunci: diabetes mellitus, sel beta pankreas, suspensi bubuk kedelai.

PENDAHULUAN

Pola hidup konsumtif tiap individu pada era global meningkat. Konsumsi makanan tinggi lemak, rendah serat dan kurang olahraga menjadi kebiasaan, hal ini dapat menjadi faktor risiko terjadinya obesitas dan penyakit diabetes mellitus.¹ Prevalensi diabetes mellitus berdasarkan data International Diabetes Federation tahun 2015, penderita diabetes mellitus pada tahun 2015 yaitu 415 juta orang dan diperkirakan pada tahun 2030 penderita diabetes mellitus akan meningkat menjadi 642 juta orang. Pada tahun 2013 kasus diabetes mellitus di Indonesia yang terdiagnosis dokter sebesar 2,1%² sedangkan di Jawa Tengah sebesar 18,33% dengan total penderita diabetes mellitus tipe 2 di Kabupaten Banyumas sebesar 348 orang.^{2,3,4} Diabetes mellitus merupakan penyakit metabolic yang dapat mengakibatkan perubahan metabolik pada penderitanya. Kondisi ini dapat mengakibatkan disfungsi dan apoptosis sel beta pankreas. Disfungsi sel beta pancreas terjadi melalui dua mekanisme, pertama munculnya proses stress oksidatif. Proses itu menonaktifkan faktor transkripsi islet, sehingga mengakibatkan sel beta pankreas tidak merespon glukosa dan tidak dapat menyimpan insulin. Kedua kurangnya asupan antioksidan yang dibutuhkan sel beta pankreas, sehingga merangsang pengeluaran *reactive oxygen species* (ROS) yang dapat mendorong terjadinya apoptosis dan disfungsi sel beta. Proses itu terjadi bila sel beta pankreas kekurangan antioksidan.⁵ Antioksidan mempunyai peran dalam terjadinya disfungsi dan apoptosis sel beta pankreas. Salah satu tanaman yang mengandung antioksidan yaitu kedelai. Antioksidan yang terkandung pada kedelai yaitu golongan

isoflavon yang berfungsi untuk melemahkan proses stress oksidatif, menurunkan kadar ROS serta menghambat apoptosis sel.⁶ Oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan kajian mengenai pengaruh pemberian suspensi bubuk kedelai terhadap jumlah sel beta pankreas pada tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur wistar jantan yang diinduksi streptozotosin.

METODE

Subyek Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan posttest only with control group design. Subyek penelitian yang digunakan pada penelitian ini yaitu 30 tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur wistar jantan usia 6-12 minggu dan berat badan 150-300 g. Protokol penelitian ditinjau dan disetujui oleh Komite Etika Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

Pembuatan Suspensi Bubuk Kedelai

Kedelai yang telah di determinasi pada Laboratorium Lingkungan Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman sebanyak 500 g. Mengeringkan kedelai dengan oven pada suhu 60 selama 30 menit. Kedelai yang telah kering kemudian diblender hingga menjadi bubuk Membagi dosis kedelai 200 mg/kg, 400 mg/kg, 800 mg/kg. Kemudian menambahkan 2 ml pada masing-masing kelompok. Suspensi bubuk kedelai yang digunakan pada penelitian ini telah diuji menggunakan uji flavonoid.

Induksi Diabetes

30 tikus putih (*Rattus Norvegicus*) galur wistar jantan diadaptasikan di Laboratorium Farmakologi Universitas

Jenderal Soedirman dengan dikandangan secara individu dan diberi pakan standar selama 1 minggu secara ad libitum. Kemudian tikus dibagi menjadi 5 kelompok. Kelompok K (-) bukan tikus model diabetes. Kelompok K (+) tikus model diabetes tanpa treatment. Kelompok 1-3 merupakan tikus model diabetes dengan treatment suspensi bubuk kedelai dengan dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg/KgBB. Setelah 1 minggu diadaptasikan kemudian tikus diinjeksi secara intra peritoneal streptozotisin pada 4 kelompok dengan dosis 60 mg/kgBB. Setelah diinjeksi streptozotisin 3 hari kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah melewati sinus orbitalis jika glukosa darah >200mg/dl maka tikus dapat dikatakan model tikus diabetes. Setelah tikus dikatakan diabetes kemudian diberi perlakuan dengan pemberian suspensi bubuk kedelai dengan dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg/KgBB secara sonde pada kelompok tikus perlakuan selama 30 hari. Setelah 30 hari perlakuan kemudian hewan coba diterminasi dan diambil organ pankreas untuk dibuat preparat dengan pewarnaan immunohistokimia.

Jumlah Sel Beta Pankreas

Penghitungan sel- sel beta pankreas dilakukan oleh peneliti, partner peneliti, serta ahli histologi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Purwokerto dengan perbesaran 400x. Pengamatan terhadap pewarnaan immunohistokimia dengan menghitung rata-rata jumlah sel beta pankreas, yang dihitung dari 10 pulau Langerhans menggunakan aplikasi Image-J.

Analisa Statistik

Uji normalitas data menggunakan Shapiro

-Wilk. Apabila data yang uji terdistribusi normal jika nilai $p > 0,05$. Uji varian (*Levene's Test*) untuk mengetahui apakah 2 atau lebih kelompok memiliki varian yang sama. Uji varian menghasilkan nilai $p > 0,05$ maka data memiliki varian sama. Jika data terdistribusi normal dan memiliki varian sama maka dilakukan uji hipotesis menggunakan Uji *One-Way Anova*. Jika data tidak normal maka akan di transformasi terlebih dahulu dan apabila data yang diperoleh masih belum terdistribusi normal maka akan dilakukan uji non parametrik

HASIL

Hasil penelitian menyatakan bahwa pada kelompok kontrol positif terdapat 5 tikus dengan rata-rata jumlah sel beta pankreas 286,7 sel (7,93 %), kelompok kontrol negatif terdapat 6 tikus dengan rata-rata jumlah sel beta pankreas 1273,2 sel (35,22 %), kelompok perlakuan masing-masing terdapat 5 tikus dengan rata-rata jumlah sel beta pankreas dosis 200mg/KgBB 493,2 sel (13,64 %), dosis 400 mg/KgBB 671,1 sel (18,56 %) dan dosis 800 mg/KgBB 891,3 sel (24,65%) (tabel 1).

Tabel 1. Uji normalitas data

Kelompok	Rata-rata (sel)	Presentase (%)
K (+)	286,7	7,93 %
K (-)	1273,2	35,22 %
K1	493,2	13,64 %
K2	671,1	18,56 %
K3	891,3	24,65%

Tabel 2. Uji normalitas data

Shapiro-Wilk	0,160
--------------	-------

Data yang diperoleh kemudian dilakukan uji normalitas menggunakan Shapiro-Wilk dan uji homogenitas menggunakan Levene's test. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan

bahwa data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), untuk mengetahui pengaruh suspensi bubuk kedelai terhadap sel beta pankreas maka dilakukan uji *One-way Anova*. Hasil uji *One-way Anova* menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) (tabel 2).

DISKUSI

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pada pemberian suspensi bubuk kedelai terhadap jumlah sel beta pankreas pada tikus yang diinduksi streptozotosin antara kelompok perlakuan dosis 200 mg, 400 mg, 800 mg/KgBB dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Hal tersebut sesuai dengan penelitian Gonzalves (2012) bahwa pemberian suspensi bubuk kedelai selama 30 hari dapat berpengaruh terhadap jumlah sel beta pankreas pada tikus yang diinduksi streptozotosin.

Hewan coba setelah diinduksi STZ diberikan suspensi bubuk kedelai dengan dosis 200 mg/KgBB, 400 mg/KgBB, 800 mg/KgBB selama 30 hari. Suspensi bubuk kedelai yang digunakan telah dilakukan uji untuk mengidentifikasi kandungan flavonoid. Hasil uji flavonoid menunjukkan warna merah. Sesuai dengan teori bahwa uji flavonoid positif jika menghasilkan warna merah. Flavonoid merupakan kandungan utama kedelai yang berfungsi untuk melemahkan stress oksidatif, menurunkan kadar ROS dan menghambat apoptosis sel.^{6,7,8}

Pada penelitian ini tikus diinduksi STZ untuk membuat tikus model diabetes. STZ merupakan zat diabetogenik dengan struktur N-nitrosurea D-glikosamin yang bersifat toksik terhadap sel beta pankreas. Pengaruh dari pemberian STZ dapat dilihat setelah 72 jam pemberian tergantung pada

dosis yang diberikan. Pemberian STZ dosis 40-60 mg/kgBB secara intraperitoneal atau intravena dapat memunculkan tikus model diabetes. Sedangkan pada penelitian ini dosis yang digunakan yaitu 60 mg/kgBB secara intraperitoneal karena merupakan metode yang cepat dan mudah dilakukan. Sensitivitas STZ dipengaruhi oleh jenis kelamin hewan coba, pada tikus jantan STZ lebih rentan terhadap diabetes dibanding dengan tikus betina. Hal ini disebabkan karena estradiol memiliki kemampuan untuk melindungi sel beta pankreas dari apoptosis sel yang diakibatkan oleh stress oksidatif. Mekanisme diabetogenik STZ muncul karena adanya produksi nitrit oxide dan ROS yang menyebabkan apoptosis dan disfungsi sel beta pankreas. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa kelompok kontrol positif yang diinjeksi STZ tanpa diberi suspensi bubuk kedelai selama 30 hari menunjukkan rata-rata jumlah sel beta pankreas lebih rendah dibanding dengan kelompok lainnya, hal ini sesuai dengan teori bahwa induksi STZ dapat menyebabkan apoptosis sel beta pankreas.^{9,10,11,12}

Jumlah sel beta pankreas pada penelitian ini dihitung pada 10 pulau langerhans menggunakan aplikasi Image-J. Rata-rata jumlah sel beta pankreas pada dosis 200 mg/KgBB sebanyak 493,2 sel (13,64 %), dosis 400 mg/kgBB sebanyak 671,1 sel (18,56 %), dan dosis 800 mg/KgBB sebanyak 891,3 sel (24,65%) (Gambar 1). Hal ini menunjukkan bahwa setiap kenaikan dosis suspensi bubuk kedelai semakin memberikan pengaruh yang besar terhadap jumlah sel beta pankreas pada tikus yang diinduksi STZ.

KESIMPULAN

Terdapat pengaruh suspensi bubuk kedelai (*Glycine max* L. Merr) terhadap peningkatan jumlah sel beta pankreas pada tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan yang diinduksi streptozotisin sekaligus suspensi bubuk kedelai dosis 800 mg/KgBB menjadi dosis optimum pada penelitian ini.

UCAPAN TERIMAKASIH

Saya ucapkan terimakasih kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Purwokerto yang telah mendukung pembuatan artikel ini, Instalasi Patologi Anatomi RSUP Dr. Sardjito, Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Jendral Soedirman, dan Laboratorium Lingkungan Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman.

DAFTAR PUSTAKA

1. Chang-Chen, K.J., Mullur, R. & Bernal-Mizrachi, E. (2008). β -cell Failure as a Complication of Diabetes. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*
2. International Diabetes Federation. (2015). *IDF Diabetes Atlas Sixth edition*.
3. Kesehatan, B.P. dan P. (2013). *Riset Kesehatan Dasar*. [Online] 1–384. Available from: doi:1 Desember 2013.
4. Banyumas, D. K. (2015). *Profil Kesehatan Provinsi Kabupaten Banyumas . Profil Kesehatan Provinsi Kabupaten Banyumas*.
5. Halban, P.A., Polonsky, K.S., Bowden, D.W., Hawkins, M.A., et al. (2014). β -Cell Failure in Type 2 Diabetes: Postulated Mechanisms and Prospects for Prevention and Treatment. *Diabetes Care*.
6. Rani Vibha, yadav S.U.C. (2014). *Free Radicals in Human Health and Disease*. New Delhi : Springer
7. Domingos Gonsalves, S. L. (2012). Expression of receptor advanced glycation end products (RAGE) dan histological picture of pancreatic β - cells of streptozotocin-induced diabetic rats after yellow soybean powder suspension (Glycinemax) administration. *J Med Sci*.
8. Rao, U.S.M., Abdurrazak, M. & Mohd, K.S. (2016). Penyaringan fitokimia, jumlah asai kandungan flavonoid dan fenolik pelbagai ekstrak pelarut tepal *Musa paradisiaca*. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*.
9. Eleazu, C.O., Eleazu, K.C., Chukwuma, S. & Essien, U.N. (2013) Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*.
10. Šoltésová, D. & Herichová, I. (2011). On the mechanisms of diabetogenic effects of alloxan and streptozotocin. *Diabetologie Metabolismus Endokrinologie Vyziva*. 14 (3), 130–13
11. Goud, B.J., Dwarakanath, V. & Chikka swamy, B.K. (2015) Streptozotocin - A Diabetogenic Agent in Animal Models. *Human Journals*. 3 (1), 253–269.
12. Raza, H. & John, A. (2012) Streptozotocin-induced cytotoxicity, oxidative stress and mitochondrial dysfunction in human hepatoma HepG2 cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 5751–5767.