

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1. Pengaruh pemberian ekstrak etanol daun salam terhadap kadar GDS

Diabetes melitus (DM) merupakan gangguan metabolik kronik, progresif dengan hiperglikemia sebagai tanda utama karena kekurangan insulin secara absolut (DM tipe 1) atau secara relatif (DM tipe 2).² Insiden DM semakin meningkat di seluruh dunia yang akan menjadi penyebab morbiditas dan mortalitas pada masa akan datang.

Radikal bebas terbentuk secara tidak proporsional pada DM yang disebabkan oleh oksidasi glukosa, glikasi non-enzimatik protein dan degradasi glikasi protein. Radikal bebas dan menurunnya stimulasi mekanisme pertahanan antioksidan dapat menyebabkan kerusakan organel sel, peningkatan peroksidasi lipid dan terjadinya resistensi insulin, hal ini meningkatkan terjadinya komplikasi DM.⁵¹

Studi terbaru menunjukkan hiperglikemi menyebabkan glikasi antioksidan yang dapat merubah struktur dan fungsi antioksidan sehingga menyebabkan ketidakmampuan untuk melakukan detoksifikasi radikal bebas dalam tubuh yang menyebabkan terjadinya peningkatan stres oksidatif. Peningkatan stres oksidatif merupakan peran utama dalam perkembangan resistensi insulin, gangguan fungsi sel serta komplikasi lain dari DM. Hasil studi melaporkan terapi antioksidan dapat menurunkan stres oksidatif serta mampu meningkatkan kontrol glikemik pada pasien DM.⁵²

Ekstrak etanol daun salam memiliki properti antioksidan yang tinggi, hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa zat yang terkandung dalam daun salam berupa alkaloid, saponin, fenolik, triterpenoid, steroid dan flavonoid yang dapat dijadikan sebagai zat anti oksidatif, yang dapat berfungsi menurunkan gula darah. Hal ini sesuai dengan hasil studi lain yang melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun salam pada penderita DM mampu menurunkan kadar gula darah serum secara signifikan sebesar 21-26%.¹⁹

Hasil uji antioksidan dengan metode difenilpikril hidrasil (DPPH) pada ekstrak etanol daun salam yaitu $IC_{50} = 89.627$, konsentrasi senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun salam menyebabkan lebih dari 50% DPPH mengalami penurunan karakter radikal bebas lebih besar dari vitamin C yaitu $IC_{50} = 7.587$.

Flavonoid digambarkan sebagai properti yang paling berguna, dimana hampir semua kelompok flavonoid mempunyai kemampuan sebagai antioksidan. Flavonoid mempunyai efek yang paling kuat melindungi tubuh terhadap ROS serta mampu mencegah cedera akibat radikal bebas melalui berbagai cara salah satunya melalui cara langsung dengan *scavenging* radikal bebas. Flavonoid mengoksidasi radikal bebas sehingga lebih stabil serta mengurangi reaktivasi radikal. Flavonoid menstabilkan ROS melalui reaktivitas ikatan radikal bebas, karena reaktivitas yang tinggi dari kelompok *hydroxyl* flavonoid membuat *inactive* radikal bebas.¹⁴ Potensial aktivitas antioksidan flavonoid dilakukan dengan beberapa mekanisme yaitu pembilasan atau pendinginan radikal bebas,

chelating metal ion, menghambat sistem enzim yang bertanggung jawab untuk generasi radikal bebas.⁵¹

Hasil penelitian menunjukkan dosis Perlakuan 1 : EEDS 150 mg/ 200 grBB, perlakuan 2 : EEDS 300 mg/ 200 gr BB dan dosis perlakuan 3 : EEDS 450 mg/ 200 gr BB dapat menurunkan gula darah yang ditunjukkan adanya perbedaan rata-rata GDS Pre dengan Post EEDS, hal ini menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara GDS Pre EEDS dengan GDS Post EEDS (*p value* : 0,006). Hal ini menunjukkan bahwa EEDS pada dosis tersebut dapat meregulasi gula darah. Studi lain menyatakan ekstrak daun salam dengan dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 300 mg/kg BB dalam 21 hari. Pada dosis 100 mg/kg BB dapat meregulasi gula darah⁴²

6.2. Pengaruh pemberian ekstrak etanol salam terhadap ekspresi laminin mesangial glomerulus ginjal

Sel mesangial merupakan sel khusus yang dapat mensintesis dan mensekresikan berbagai faktor protein yang mengatur struktur dan fungsi glomerulus. Perubahan fungsi sel mesangial merupakan penyebab utama perkembangan penyakit ginjal glomerulus dan gagal ginjal kronis. Hasil penelitian menunjukkan glukosa tinggi merangsang ekspresi ROS, Ang II dan TGF- β 1. Ang II secara langsung menyebabkan ketidakaturan hemodinamik pada ginjal serta dapat menstimulasi ekspresi TGF- β 1, ROS dan ECM, selain itu TGF- β 1 juga dapat secara langsung menyebabkan akumulasi ECM dimediasi oleh sinyal seperti MAPK, Smads, PKC, PKA, Ca²⁺, dan sebagainya.

Laminin adalah glikoprotein non-kolagen yang merupakan komponen utama mesangium dan GBM serta terdapat pada semua ECM. Laminin berperan pada perkembangan dan perbaikan mikrovaskular serta merupakan supramolekul perakit ECM.^{25,26} Kelainan deposisi laminin terjadi pada berbagai penyakit termasuk pada DM dimana pada parenkim ginjal DM tipe I terjadi peningkatan laminin dalam mesangium ginjal diabetes.⁹ Kadar glukosa dan glukosamin meningkatkan sintesis laminin sehingga terjadi perubahan karakteristik glomerulus ginjal diabetes salah satunya adalah ekspansi mesangial sebagai akibat peningkatan matriks mesangial dan ukuran sel mesangial sehingga menyebabkan berkurangnya permukaan filtrasi yang menyebabkan berkurangnya laju filtrasi glomerulus. Penelitian lain menjelaskan ekspresi laminin mesangial meningkat pada 48 jam pada sel mesangial yang terpapar glukosa tinggi.^{7,8,27,28}

Keseimbangan antara oksidan dan antioksidan (keseimbangan redoks) merupakan hal yang penting untuk mempertahankan sistem biologi yang sehat. Stres oksidatif meningkat pada DM karena peningkatan produksi ROS dan kekurangan pertahanan mekanisme antioksidan. Sumber produksi ROS pada DM berasal dari non-mitokondria dan mitokondria. ROS terbentuk secara tidak proporsional pada diabetes, terbentuk oleh *glucose oxidation, non-enzymatic glycation of proteins, and the subsequent oxidative degradation of glycated*. Tingginya ROS dan menurunnya mekanisme pertahanan antioksidan menyebabkan kerusakan organel sel dan enzim, peningkatan peroksida lipid dan berkembangnya resistensi insulin, selain itu ROS mempercepat empat mekanisme molekuler penting yang terlibat dalam kerusakan jaringan oksidatif yang

disebabkan oleh hiperglikemia. Keempat jalur tersebut adalah meningkatnya AGEs, meningkatkan jalur *hexosamine*, aktivasi protein kinase C dan peningkatan jalur poliols.¹² Selain itu glukosa yang tinggi pada DM serta faktor TGF- β 1, Ang II dan ROS mengaktifkan berbagai jenis sinyal sel yang merupakan *arrest cells* pada fase G1 sehingga merangsang terjadinya hipertropi sel yang mengeluarkan ECM lebih banyak. Hasil penelitian menunjukkan glukosa tinggi merangsang ekspresi ROS, Ang II dan TGF- β 1. Ang II secara langsung menyebabkan ketidakteraturan hemodinamik pada ginjal serta dapat menstimulasi ekspresi TGF- β 1, ROS dan ECM, selain itu TGF- β 1 juga dapat secara langsung menyebabkan akumulasi ECM dimediasi oleh sinyal seperti MAPK, Smads, PKC, PKA, Ca²⁺, dan sebagainya.

Penelitian oleh Fitriani D tentang pengaruh pemberian *Morinda citrifolia L* terhadap ekspresi laminin mesangial menunjukkan salah satu kandungan dalam *Morinda citrifolia L* adalah flavonoid, flavonoid mempunyai kemampuan sebagai antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan ekspresi laminin setelah pemberian *Morinda citrifolia L* menurun pada kelompok perlakuan.²⁰

Uji fitokimia ekstrak daun salam menunjukkan bahwa zat yang terkandung dalam daun salam berupa alkaloid, saponin, fenolik, triterpenoid, steroid dan flavonoid yang dapat dijadikan sebagai zat anti oksidatif yang berfungsi menurunkan gula darah. Flavonoid digambarkan sebagai properti yang paling berguna, dimana hampir semua kelompok flavonoid mempunyai kemampuan sebagai antioksidan. Flavonoid mempunyai efek yang paling kuat melindungi tubuh terhadap ROS serta mampu mencegah cedera akibat radikal bebas melalui

berbagai cara salah satunya melalui cara langsung dengan *scavenging* radikal bebas. Flavonoid mengoksidasi radikal bebas sehingga lebih stabil serta mengurangi reaktivasi radikal. Flavonoid menstabilkan ROS melalui reaktivitas ikatan radikal bebas, karena reaktivitas yang tinggi dari kelompok *hydroxyl* flavonoid membuat *inactive* radikal bebas.¹⁴

Penelitian ini menggunakan tiga dosis perlakuan, yaitu Perlakuan 1 : EEDS 150 mg/ 200 gr berat badan, perlakuan 2 : EEDS 300 mg/ 200 gr berat badan dan dosis perlakuan 3 : EEDS 450 mg/ 200 gr berat badan. Hasil penelitian Hasil rerata allred score ekspresi laminin mesangial glomerulus pada kelompok dosis 450 mg/200grBB lebih rendah dibandingkan kelompok perlakuan 150 mg/200grBB dan 300 mg/200grBB dengan nilai $(3,5 \pm 0,5)$. Hasil analisa uji *Kruskall-Wallis* pada kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan terdapat perbedaan secara bermakna ($p=0,02$; $p<0,05$). Hal ini memungkinkan karena penelitian yang lain menyatakan flavonoid dapat berfungsi menurunkan hiperglikemi dan menurunkan *non-enzymatic glycation of protein* yang merupakan salah satu sumber utama stres oksidatif pada DM.

Keseimbangan antara produksi oksidan dan antioksidan merupakan hal penting dalam menjaga kesehatan sistem biologi. Tindakan interaktif antioksidan endogen dan eksogen digunakan untuk memperkuat keseimbangan oksidan dan antioksidan. Terapi antioksidan berperan penting dalam memperkuat sistem antioksidan dalam tubuh untuk menghilangkan kelebihan metabolisme oksigen.

6.3. Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan pada penelitian ini adalah tidak adanya kelompok kontrol non-diabetes, lisisnya sampel darah karena waktu pengambilan sampel yang lama, pemeriksaan gula darah hanya dilakukan pada pemeriksaan gula darah sewaktu tidak dilakukan pemeriksaan gula darah puasa, sampel yang mati saat perlakuan tidak dilakukan autopsi sehingga tidak diketahui penyebab kematian.