



**PENGARUH DIET RUMPUT LAUT *Eucheuma* sp. TERHADAP JUMLAH
ERITROSIT TIKUS WISTAR DENGAN DIABETES ALOKSAN**

LAPORAN AKHIR PENELITIAN KARYA TULIS ILMIAH
Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun oleh :

ALMIRA ZADA
G2A005010

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2009**

HALAMAN PENGESAHAN

LAPORAN AKHIR KARYA TULIS ILMIAH

**PENGARUH DIET RUMPUT LAUT *Eucheuma* sp. TERHADAP
JUMLAH ERITROSIT TIKUS WISTAR DENGAN DIABETES ALOKSAN**

Telah diuji dan dipertahankan di hadapan Tim Penguji Karya Tulis Ilmiah
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro pada tanggal 19 Agustus 2009 dan
telah diperbaiki sesuai saran-saran yang diberikan.

Semarang, 24 Agustus 2009

Ketua Penguji

Penguji

dr. Banundari Rachmawati, Sp.PK(K)
NIP.131 803 124

dr. Kusmiyati DK, M.Kes
NIP.131 252 961

Pembimbing

Dr. P Setia Rahardja Komala
NIP.130 516 877

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Daftar Isi.....	iii
Daftar Tabel.....	vii
Abstrak.....	viii
Abstract.....	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1 Diabetes Mellitus.....	7
2.1.1 Definisi.....	7
2.1.2 Patofisiologi.....	7
2.1.3 Hiperglikemi, Abnormalitas Metabolisme dan Radikal Bebas.....	8
2.2 Diabetes Aloksan.....	11
2.3.1 Aloksan.....	11

2.3.2	Efek Aloksan.....	11
2.3	Rumput Laut.....	13
2.3.1	Persebaran dan Morfologi <i>Eucheuma</i> sp.....	13
2.3.2	Kandungan dan Manfaat.....	14
2.3.3	Pengaruh <i>Eucheuma</i> sp. Terhadap Kadar Gula Darah.....	16
2.3.4	Pengaruh <i>Eucheuma</i> sp. Terhadap Eritrosit.....	17
2.4	Sel Darah Merah (Eritrosit).....	20
2.4.1	Pengaturan Produksi	
	Eritrosit.....	20
2.4.2	Respon eritropoetin dan Hiperglikemia.....	21
2.4.3	Struktur dan Fungsi Eritrosit.....	22
2.4.3.1	Membran Eritrosit.....	22
2.4.3.2	Fungsi Eritrosit.....	23
2.4.4	Radikal Bebas dan Antioksidan Biologis Eritrosit.....	23
2.4.4.1	Radikal Bebas.....	23
2.4.4.2	Antioksidan Biologis.....	24
2.4.5	Parameter Profil Eritrosit.....	25
2.5	Kerangka Teori.....	26
2.6	Kerangka Konsep.....	27
2.7	Hipotesis.....	27
BAB III METODE PENELITIAN.....		28
3.1	Ruang Lingkup Penelitian.....	28
3.1.1	Ruang lingkup Keilmuan.....	28

3.1.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	28
3.2 Jenis Penelitian.....	28
3.3 Populasi dan Sampel.....	29
3.3.1 Populasi.....	29
3.3.2 Sample.....	29
3.3.2.1 Cara Pengambilan Sampel.....	29
3.3.2.2 Besar Sample.....	30
3.4 Variabel Penelitian.....	30
3.4.1 Variabel Bebas.....	30
3.4.2 Variable Tergantung.....	30
3.5 Alat dan Bahan.....	30
3.5.1 Alat.....	30
3.5.2 Bahan.....	30
3.6 Data yang Dikumpulkan.....	31
3.7 Cara Pengambilan Data.....	32
3.8 Alur Penelitian.....	34
3.9 Definisi Operasional.....	35
3.9.1 Penginduksian Diabetes pada Sampel.....	35
3.9.2 Ekstraksi Rumput Laut.....	35
3.9.3 Jumlah Eritrosit.....	36
3.10 Analisis Data.....	36

3.10.1	Cara Pengolahan Data.....	36
3.10.2	Cara Analisis Data.....	36
BAB IV HASIL PENELITIAN.....		37
BAB V PEMBAHASAN.....		39
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN.....		43
5.1	Kesimpulan.....	43
5.2	Saran.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....		44
LAMPIRAN.....		48
Lampiran 1. Data Dasar.....		48
Lampiran 2. Analisis Data.....		49
Lampiran 3. Kandungan Nutrisi <i>Eucheuma</i> sp. Kering per 7 gram.....		52

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Median, Nilai Maksimum dan Minimum Jumlah Eritrosit.....	37
Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit Tikus Wistar.....	49

PENGARUH DIET RUMPUT LAUT *Eucheuma* sp. TERHADAP JUMLAH ERITROSIT TIKUS WISTAR DENGAN DIABETES ALOKSAN

Almira Zada^{a)}, P. Setia Rahardja Komala^{b)}

ABSTRAK

Latar Belakang: Rumput laut (*Eucheuma* sp.) merupakan salah satu sumber daya bahari yang banyak digunakan sebagai bahan pangan, obat tradisional dan kosmetik. Kandungan karagenan pada *Eucheuma* sp. diketahui dapat menurunkan kadar glukosa darah pada tikus Wistar dengan diabetes aloksan. Kandungan antioksidannya dalam berbagai bentuk vitamin dan mineral dapat melawan radikal bebas sehingga dapat mengurangi kerusakan sel dan jaringan. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh diet rumput laut *Eucheuma* sp. terhadap jumlah eritrosit tikus Wistar dengan diabetes aloksan.

Metode: Penelitian eksperimental Post Test Only Control Group Design. Sampel terdiri dari 35 ekor tikus Wistar jantan umur 3 bulan. Tikus Wistar tersebut dibagi menjadi 5 kelompok yaitu 1 kelompok Kontrol Negatif (K-) yang diberi diet standar saja, 1 kelompok Kontrol Positif (K+) yang disuntik aloksan intra peritoneal sebanyak 125 mg/Kg BB dan diberi diet standar, dan 3 kelompok perlakuan yaitu kelompok pertama (P1) yang diberi diet *Eucheuma* sp. 4 mg/Kg BB, kelompok kedua (P2) yang diberi diet *Eucheuma* sp. 8 mg/Kg BB, kelompok ketiga (P3) yang diberi diet *Eucheuma* sp. 12 mg/Kg BB. Ketiga kelompok tersebut di induksi diabetes dengan cara disuntik aloksan intra peritoneal sebanyak 125 mg/Kg BB. Penelitian dilakukan selama 70 hari, 7 hari pertama dilakukan adaptasi diet standar dan pada hari ke 70 dilakukan terminasi. Data diperoleh dari pemeriksaan jumlah eritrosit dalam darah.

Hasil: Median jumlah eritrosit (dalam 10^6 /mikroliter) kelompok K-(7,42) lebih tinggi dari K+(7,41), P1(7,18), P2(7,18), dan P3(7,20). Uji Kruskal Wallis antar kelompok tidak terdapat perbedaan bermakna ($p=0,279$, $p>0,05$)

Kesimpulan: Diet rumput laut *Eucheuma* sp. tidak menaikkan jumlah eritrosit tikus Wistar dengan diabetes aloksan

Kata kunci: *Eucheuma* sp., jumlah eritrosit, diabetes aloksan

a) Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

b) Dosen biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

THE EFFECT OF *Euचेuma* sp. DIET ON ERYTHROCYTE COUNTS OF WISTAR RATS WITH ALLOXAN DIABETIC

Almira Zada^{a)}, P. Setia Rahardja Komala^{b)}

ABSTRACT

Background: *Euचेuma* sp. Seaweed is one of the marine resources that used by many people for diet, herbs, and cosmetic. *Euचेuma* sp. contain of carrageenan which can reduce the glucose level in the blood on Wistar rats with diabetic alloxan. *Euचेuma* sp. also contains many kinds of vitamin and mineral function as antioxidant against the free radicals. . Antioxidants capable to repair cell or tissue damage that could be evaluated from the concentration of erythrocyte as measurement parameter. The objective of this study is to investigate the effect of *Euचेuma* sp. extract diet to the erythrocyte counts of Wistar rats with alloxan diabetic .

Method: This study was experimental study with post test only control group design. The samples were 35 males 3 month Wistar rats, which randomly allocated in 4 groups. The first group was negative control group (K-) treated with standard diet, the second group was positive control group (K+) treated with alloxan diabetic by injecting dosage 125 mg/kg BW of alloxan and only standard diet with no *Euचेuma* sp. extract. P1 group was treated with dosage of 4gr/kg BW/day *Euचेuma* sp. diet. P2 group was treated with dosage of 8gr/kg BW/day *Euचेuma* sp. diet. P3 group was treated with dosage of 12gr/kg BW/day *Euचेuma* sp. diet. All of wistar rats, except negative control group, being diabetic induction with alloxan injection 125mg/kgBW All rats used in the experiment were adapted with standard diet for 7 days, and treatments were given for 63 days towards. At days-70 rats were terminated. Data was collected from erythrocyte counts in the blood.

Result: Median Erythrocyte count (in 10⁶/microlitre) of Negative control group is(7,42) which higher than Positive control group (7,41), P1(7,18), P2(7,18), and P3(7,20). Kruskal Wallis test between groups were not significantly different between groups ($p=0,279$, $p>0,05$).

Conclusion: *Euचेuma* sp. extract diet were not increase erythrocyte counts Wistar rat with alloxan diabetic.

Key Words: *Euचेuma* sp., erythrocyte counts, alloxan diabetic.

a) Student of Medical Faculty Diponegoro University, Semarang

b) Lecturer Biochemistry department of Medical Faculty Diponegoro University, Semarang

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 LATAR BELAKANG

Indonesia merupakan Negara kepulauan dengan wilayah perairan laut yang luas. Tidaklah mustahil jika Indonesia memiliki hasil kekayaan alam bahari yang sangat besar, salah satunya adalah rumput laut. Rumput laut banyak dibudidayakan di beberapa wilayah di Sulawesi Selatan, Sulawesi Tenggara, Pulau Seram, Bali, Lombok, Kepulauan Riau, dan Pulau Seribu. Rumput laut sejak dulu telah banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan dan seiring berkembangnya ilmu pengetahuan dan teknologi rumput laut telah banyak dimanfaatkan di bidang industri dan farmasi. Sekitar 555 jenis rumput laut tersebar di perairan Indonesia dengan luas lahan sekitar 1,2 juta hektar sehingga rumput laut mempunyai prospek yang cerah sebagai komoditas ekspor Indonesia ¹

Meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap kesehatan telah merubah pola makan masyarakat untuk cenderung memilih bahan pangan yang diyakini dapat membuat badan sehat. Rumput laut adalah salah satu bahan pangan yang diketahui kaya akan nutrisi esensial seperti enzim, asam nukleat, asam amino, mineral, serta berbagai macam vitamin sehingga banyak digunakan sebagai suplemen makanan dan kecantikan. Kandungan dietary fiber dan nutrisinya bermanfaat sebagai antioksidan, antimutagenic, anti koagulan, anti tumor, dan

mempengaruhi metabolisme lipid. Rumput laut juga sebagai sumber iodium alami yang terbaik.^{1,2}

Rumput laut kaya berbagai nutrisi, salah satu yang menjadi sorotan adalah berbagai jenis vitamin dan mineral yang berperan sebagai antioksidan alami. Namun masih sedikit informasi tentang aktivitas rumput laut sebagai antioksidan. Antioksidan mempunyai peran yang penting dalam mencegah perjalanan penyakit degeneratif yang diakibatkan oleh gangguan atau ketidakmampuan sistem antioksidan tubuh dalam melawan radikal bebas.^{3,4,5}

Pola penyakit di Indonesia mengalami pergeseran yang cukup meyakinkan sebagai dampak positif pembangunan yang dilaksanakan oleh pemerintahan. Perubahan pola penyakit itu diduga ada hubungannya dengan cara hidup dan pola makan yang berubah. Penyakit infeksi dan kekurangan gizi berangsur turun, namun penyakit menahun yang disebabkan oleh penyakit degeneratif, diantaranya diabetes mellitus meningkat dengan tajam.⁶

Menurut survey yang dilakukan WHO(2005), Indonesia menempati urutan ke-4 dengan jumlah penderita diabetes terbesar setelah India,Cina,Amerika Serikat. Dengan prevalensi 8,6% dari total penduduk, diperkirakan pada tahun 1995 terdapat 4,5 juta penderita Diabetes Mellitus dan pada tahun 2025 diperkirakan meningkat menjadi 12,4 juta penderita. Sedangkan dari data Departemen Kesehatan, jumlah pasien Diabetes rawat inap maupun rawat jalan di RS menempati urutan I dari seluruh penyakit endokrin.⁶

Dalam membicarakan diabetes mellitus pasti tidak lepas dengan istilah hiperglikemia. Hiperglikemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kadar

glukosa plasma dari nilai normalnya yaitu lebih dari 200 mg/dl pada pemeriksaan glukosa darah sewaktu atau lebih dari 126 mg/dl pada saat puasa. Hiperglikemia disebabkan karena kelainan sekresi insulin, atau gangguan kerja dari insulin. Keadaan hiperglikemi pada diabetes menyebabkan peningkatan pembentukan radikal bebas dan penurunan sejumlah anti oksidan dan akhirnya terjadi peristiwa yang disebut stress oksidatif. Hiperglikemi dapat menginduksi peningkatan radikal bebas melalui autooksidasi glukosa, pembentukan Advance Glycation End product (AGE), dan peningkatan aktivitas jalur polyol (sorbitol).^{7,8}

Eritrosit menggunakan glukosa sebagai sumber bahan bakar utama. Beberapa oksidan kuat akan dihasilkan selama proses metabolisme dalam eritrosit. Oksidan kuat ini adalah Reactive Oxygen Species (ROS) seperti superoksida (O_2^-), radikal hidroksil (OH^\cdot), peroxy (RO_2^-), hidrogenperoxy (HRO^\cdot), dan nonradikal seperti hydrogen peroksida (H_2O_2). Radikal bebas ini merupakan molekul reaktif dan dapat bereaksi dengan protein, asam nukleat, lipid serta molekul lain, mengubah strukturnya dan menimbulkan kerusakan sel.⁷⁻⁹ Menurut beberapa penelitian, pada penderita diabetes sering disertai dengan keadaan anemia. Penelitian (Antonio et al) menunjukkan bahwa pada pasien diabetes onset awal terjadi anemia normositik normokromik yang terlihat dari penurunan kadar hemoglobin dan hematokrit, di duga hal ini berhubungan dengan glucose toxicity pada precursor eritrosit di sumsum tulang dan pengaruh stress oksidatif pada eritrosit matur.¹⁰

Dalam sel normal selalu terdapat keseimbangan antara produksi radikal bebas dan antioksidan. Dalam tubuh kita terdapat antioksidan alami yang terdiri

dari antioksidan enzimatik seperti superoxide dismutase (SOD), katalase, glutathion peroksidase (GSH Px), dan glutathion reduktase (GR) serta antioksidan non enzimatik seperti vitamin A, E dan C, α lipoic acid, glutathion, trace element (Cu, Zn, Se), coenzim Q10, serta beberapa cofactor seperti asam folat, uric acid, vitamin B1, B2, B6, B12. Antioksidan yang dihasilkan oleh tubuh sendiri akan melawan efek toksisitas dari radikal bebas. Namun pada beberapa keadaan seperti hiperglikemia, hipoxia, iskemi, dan kerusakan sel produksi radikal bebas akan sangat meningkat dan antioksidan yang dihasilkan tubuh tidak mampu melawannya. Untuk itu tubuh perlu memperoleh tambahan antioksidan dari luar.⁹

Para ilmuwan berusaha memperoleh sumber alternatif antioksidan yang berasal dari bahan alami, diantaranya rumput laut. Rumput laut banyak dimanfaatkan dalam dunia kedokteran dan farmasi antara lain sebagai bahan obat batuk, antihiperkolesterol, antibiotik dan sumber Iodium. Terdapat pula kandungan vitamin A, vitamin E, vitamin C dan Selenium yang mempunyai efek antioksidan.^{8,10,11} Beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap rumput laut seperti *Eucheuma* sp. menunjukkan bahwa *Eucheuma* sp. menahan laju absorpsi glukosa dari saluran cerna menuju pembuluh darah sehingga mampu menahan laju peningkatan glukosa darah^{12,13}. Hingga sekarang peneliti belum menemukan sumber informasi penelitian tentang khasiat rumput laut (*Eucheuma* sp.) sebagai antioksidan yang secara langsung mempunyai fungsi mencegah penurunan jumlah eritrosit akibat radikal bebas karena keadaan hiperglikemi pada penderita diabetes. Berdasar hal inilah peneliti melakukan penelitian pengaruh diet ekstrak rumput

laut *Eucheuma* sp. terhadap jumlah eritrosit pada tikus wistar dengan diabetes aloksan.

Untuk membuat tikus wistar dengan diabetes dilakukan induksi aloksan. Aloksan (2,4,5,5 tetraoksipirimidin) adalah zat yang lazim digunakan untuk membuat tikus dan beberapa species hewan percobaan menjadi diabetes. Zat ini hanya selektif merusak sel β pankreas yang memproduksi hormon insulin sehingga terjadi insulin dependen diabetes mellitus (disebut diabetes aloksan) yang identik dengan diabetes mellitus tipe 1 pada manusia.^{20,21}

1.2 RUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dirumuskan masalah dari penelitian ini adalah bagaimana pengaruh diet ekstrak *Eucheuma* sp. dengan dosis tertentu terhadap jumlah eritrosit pada tikus wistar dengan diabetes aloksan?

1.3 TUJUAN PENELITIAN

1.3.1 TUJUAN UMUM

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Eucheuma* sp. peroral terhadap jumlah eritrosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

1.3.2 TUJUAN KHUSUS

1. Menghitung jumlah eritrosit pada tikus wistar yang diinduksi aloksan.
2. Membuktikan adanya perbedaan jumlah eritrosit antara tikus wistar dengan diabetes aloksan dan tikus wistar yang tidak diabetes aloksan.
3. Menghitung jumlah eritrosit pada tikus wistar dengan diabetes aloksan yang diberi diet rumput laut (*Eucheuma* sp.) peroral.
4. Membuktikan adanya perbedaan jumlah eritrosit antara tikus wistar yang diabetes dengan pemberian diet rumput laut (*Eucheuma* sp.), dengan tikus wistar yang diabetes tanpa pemberian diet rumput laut (*Eucheuma* sp.).
5. Menentukan dosis efektif diet rumput laut (*Eucheuma* sp.) yang efektif dapat memberikan efek terhadap jumlah eritrosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

1.4 MANFAAT PENELITIAN

1. Memberikan informasi mengenai pengaruh diet ekstrak rumput laut *Eucheuma* sp. Terhadap jumlah eritrosit pada tikus wistar dengan diabetes aloksan.
2. memberikan informasi yang dapat menjadi dasar untuk penelitian lebih lanjut tentang pengaruh diet ekstrak rumput laut *Eucheuma* sp. Pada tikus wistar dengan diabetes aloksan.
3. memberikan informasi pada instansi terkait sebagai dasar untuk membuat kebijakan mengenai pemanfaatan rumput laut *Eucheuma* sp. dalam bidang kesehatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. DIABETES MELLITUS

2.1.1 Definisi

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya yang berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi, atau beberapa kegagalan organ tubuh. Jika telah berkembang penuh secara klinis ditandai dengan hiperglikemia puasa dan post prandial, aterosklerotik dan penyakit vaskular mikroangiopati.^{9,11}

2.1.2 Patofisiologi

Diabetes Mellitus (DM) tipe I atau Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) biasanya terjadi pada usia muda maka disebut juga juvenile onset-diabetes. DM tipe 1 hanya 10% dari seluruh kasus diabetes. DM tipe 1 adalah penyakit autoimun yang ditentukan secara genetik dengan proses bertahap menuju kerusakan secara imunologik sel-sel yang memproduksi insulin. Manifestasi klinis diabetes mellitus (hiperglikemi dan ketosis) terjadi jika lebih dari 90% sel-sel beta rusak.

Faktor lingkungan juga berpengaruh, terutama infeksi virus misalnya coxsackievirus, mumps, measles, CMV, rubella, dan infeksi mononukleosis. Virus-virus ini tidak secara langsung menyebabkan kerusakan sel beta namun lewat pembentukan autoantibodi. Pertama, infeksi memicu kerusakan jaringan dan peradangan yang berakibat dilepaskannya antigen sel beta dan aktivasi limfosit

serta lekosit peradangan pada jaringan. Kedua, virus ini memproduksi protein yang mirip self antigen dan respon imun yang seharusnya bereaksi dengan protein virus justru bereaksi silang dengan self antigen ini.

Sedangkan DM tipe 2 mencakup lebih dari 90% dari semua kasus diabetes. Diabetes tipe 2 ditandai dengan kelainan sekresi insulin dan kerja insulin. Pada pasien dengan diabetes tipe 2 terdapat kelainan dalam pengikatan insulin dengan reseptor. Kelainan ini dapat disebabkan oleh berkurangnya jumlah tempat sel reseptor pada membran sel yang selnya responsif terhadap insulin atau akibat ketidaknormalan reseptor insulin. Pada awalnya tampak terdapat resistensi dari sel target terhadap kerja insulin sehingga terjadi gangguan transpor glukosa menembus membran sel. Hal ini menyebabkan sel beta terus untuk memproduksi insulin sehingga insulin dalam darah meningkat, namun tidak dapat mempertahankan euglikemia karena terjadi resistensi insulin tersebut. Pada akhirnya timbul kegagalan sel beta memproduksi insulin dengan menurunnya jumlah insulin yang beredar dan tak lagi memadai untuk mempertahankan euglikemia.¹¹⁻¹⁷

2.1.3 Hiperglikemi, Abnormalitas Metabolisme dan Radikal Bebas

Hiperglikemi kronik dapat menyebabkan gangguan pada sel. Hiperglikemi kronik merupakan inisiator terjadinya komplikasi mikrovaskular pada penderita diabetes mellitus. Efek hiperglikemik dapat merusak jaringan yang tergantung insulin (*insulin independent tissue*). Dalam keadaan normal sebagian besar glukosa mengalami metabolisme lewat jalur glikolisis dan *pentose shunt*. Apabila terjadi hiperglikemi, pembuangan glukosa lewat jalur tersebut di atas cenderung

meningkat sehingga glukosa juga diubah menjadi sorbitol lewat jalur *polyol*, *glucosamine-6-phosphate* lewat jalur *hexosamine* dan enzim *glucosaminefructoseamidotransferase* (GFAT), dan *diacylglycerol* (DAG) lewat sintesis *de novo* dari glukosa langsung. Sebagian glukosa yang berlebih mengalami reaksi non enzimatis, dengan protein atau bahan dalam sirkulasi maupun jaringan sehingga mempercepat secara fisiologis glikasi non enzimatis. Disamping itu glukosa mengalami *autooksidasi*, yang berakibat, bersama dengan radikal bebas yang terbentuk dari beberapa reaksi enzimatis maupun nonenzimatis, menjadi stress oksidatif. Reaksi-reaksi tersebut di atas saling terkait satu sama lain bahkan kadang saling memperkuat. Sering kali stress oksidatif dianggap sebagai *a single unifying mechanism* dan aktivasi PKC (*protein kinase C*) sebagai *final common pathway*.

Teori yang berkembang dan diharapkan dapat menjelaskan terjadinya komplikasi mikroangiopati karena hiperglikemi kronik ialah: (a) teori *polyol pathway*; (b) teori AGEPs; (c) teori *reactive oxygen intermediates* dan (d) teori protein kinase C (PKC).^{14,15}

Pertama, **Teori *the Polyol Pathway* (jalur Aldose Reductase-AR)**. Aldose reduktase (AR) hanya akan aktif apabila glukosa intrasel melebihi nilai hiperglikemi. Proses AR menggunakan NADPH untuk mereduksi glukosa menjadi sorbitol, yang kemudian dioksidasi menjadi fruktosa oleh sorbitol dehidrogenase (SDG), reaksi ini menggunakan NAD sebagai kofaktor. Menurunnya NADPH sel akibat fluks AR sangat mengganggu terbentuknya NO di sel endotel dan mengubah imbalanced redoks. Peningkatan fluks oleh SDG

menaikkan rasio NADH/NAD⁺ yang berpotensi dalam aktivitas enzim dan selanjutnya mengakibatkan komplikasi. Lintasan poliol (sorbitol) bertanggungjawab atas pembentukan fruktosa dari glukosa dan aktivitasnya akan meningkat bersamaan dengan kenaikan kadar glukosa di jaringan tubuh yang tidak peka terhadap insulin (lensa mata, saraf perifer dan glomerulus). Sorbitol tidak mudah berdifusi lewat membrane karena itu terakumulasi sehingga menyebabkan kerusakan osmotik.⁷

Kedua, **teori *advanced glycation end products* (AGEPs)**. Teori ini menerangkan bahwa komplikasi diabetik merupakan bentuk dari “proses menua yang dipercepat” dan terjadi karena modifikasi kovalen dan *crosslinking* protein oleh glukosa. AGEPs merupakan produk akibat glikasi nonenzimatik protein yang beragam dalam struktur kimianya. FFI, AFPG, N-(carboxymethyl) lysine, pyrrolin dan pentosidin adalah contoh dari AGEPs. Pembentukan AGEPs melalui jalur klasik yaitu lewat reaksi Maillard antara glukosa atau gula tereduksi lainnya dan residu N-terminal amino acid dan atau gugus amino protein yang dikenal dengan Schiff base yang menghasilkan Amadori product seperti fructose lysine. Reaksi kemudian diikuti dehidrasi, succesiv β -elimination dan kondensasi. Terbentuknya AGEPs dapat merusak sel karena mengganggu struktur protein intrasel dan ekstrasel seperti kolagen. Pada endotel mikrovaskular manusia, AGEPs menghambat produksi prostasiklin dan mengakibatkan agregasi trombosit, stabilisasi fibrin hingga memudahkan trombosis. Sumber AGEs eksogen timbul pada “*pro-oxidants state*” , misalnya pada hiperglikemi, usia lanjut, gagal ginjal.¹⁵

Ketiga, **teori reactive oxygen intermediates (ROS)**. Teori ini menyatakan bahwa stres oksidatif dapat naik karena proses enzimatik dan non enzimatik oleh hiperglikemi. Baik pada komplikasi diabetes maupun non diabetes atau peristiwa ‘makan’ menurunkan total *radical trapping antioxidant parameter* (TRAP) plasma, sehingga merusak pertahanan antioksidan natural di plasma. Ada tiga cara stres oksidatif meningkat yaitu, (a) glikasi yang labil; (b) otooksidasi glukosa; dan (c) aktivasi intrasel jalur poliol. Glikolisis dan siklus krebs menghasilkan energi yang ekuivalen untuk mendorong sintesis ATP mitokondria, sebaliknya hasil samping fosforilasi oksidatif mitokondria (termasuk radikal bebas dan anion superoksida) juga ditingkatkan oleh kadar glukosa yang tinggi. Autooksidasi glukosa pun menaikkan radikal bebas menjadi stress oksidatif yang akan menurunkan kadar NO, merusak protein sel, meningkatkan adhesi lekosit pada endotel sedang fungsinya sebagai *barrier* terhambat.¹⁵⁻¹⁸

Keempat, **teori protein kinase C**. *Diacylglycerol* (DAG) dan *protein kinase C* (PKC) adalah molekul sinyal yang banyak berperan dalam faal vaskular seperti permeabilitas, vasodilatasi, aktivasi endotel, dan sinyal pertumbuhan. Phospholipase-C mengaktifkan pembentukan PKC dengan cara merangsang Ca^{2+} dan kadar DAG. Keadaan patologik ini dapat ditemukan pada diabetes karena *glycolytic-pathway flux* meningkatkan *glyceraldehyde-3-phosphate* intasel, sintesis DAG dan akhirnya aktivasi PKC. Meningkatnya aksi PKC pada pembuluh retina, ginjal, dan saraf menyebabkan kerusakan vaskular yang ditandai dengan permeabilitas yang meningkat, disregulasi NO, terjadi adesi lekosit, dan gangguan aliran darah.¹⁵⁻¹⁸

2.2 DIABETES ALOKSAN

2.2.1 Aloksan

Aloksan (*2,4,5,6-tetraoxypyrimidine; 2,4,5,6-pyrimidinetetrone*) adalah suatu substrat yang secara struktural merupakan derivat perimidin sederhana. Aloksan telah digunakan secara luas untuk menginduksi diabetes pada hewan percobaan. Senyawa diabetogenik ini secara selektif bekerja pada sel β pankreas yang bertanggung jawab untuk memproduksi insulin.^{19,20}

2.2.2 Efek Aloksan

Aloksan merupakan senyawa *glucose toxic analogue*. Aloksan dalam darah berikatan dengan GLUT-2 (pengangkut glukosa) yang memfasilitasi masuknya aloksan ke dalam sitoplasma sel beta pankreas. Di dalam sel beta, aloksan menimbulkan depolarisasi berlebih pada mitokondria sebagai akibat pemasukan ion Ca^{2+} yang diikuti dengan penggunaan energi berlebih sehingga terjadi kekurangan energi dalam sel. Dua mekanisme ini mengakibatkan kerusakan baik dalam jumlah sel maupun massa sel pankreas sehingga terjadi penurunan pelepasan insulin yang mengakibatkan terjadinya hiperglikemi.^{19,20}

Beberapa teori lain menerangkan bahwa aloksan dapat membangkitkan *reactive oxygen species* (ROS) melalui siklus reaksi yang hasil reduksinya berupa *dialuric acid*. *Dialuric acid* ini akan mengalami siklus redoks dan membentuk radikal superoksida. Kemudian radikal ini akan mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida dan pada tahap akhir mengalami reaksi katalisasi besi membentuk radikal hidroksil. Radikal hidroksil inilah yang menyebabkan kerusakan pada sel

β pankreas sehingga terjadilah *insulin dependent diabetes mellitus* atau disebut juga *alloxan diabetes* pada hewan percobaan. Diabetes tipe ini memiliki karakteristik yang serupa dengan diabetes tipe I pada manusia. Oleh karena itu, pemberian aloksan merupakan suatu cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada hewan percobaan. Hewan yang mengalami kondisi diabetik aloksan tidak sama sekali kehilangan insulin. Tikus hiperglikemik dapat dihasilkan dengan menginjeksikan 120-150mg/kgBB.^{19,20}

2.3 RUMPUT LAUT (*Eucheuma* sp.)

2.3.1. Persebaran dan Morfologi *Eucheuma* sp.

Kurang lebih 70 persen wilayah Indonesia terdiri dari lautan yang kaya akan berbagai jenis sumber hayati. Salah satu diantaranya adalah rumput laut yang mempunyai nilai ekonomis penting bagi masyarakat Indonesia. Meningkatnya kesadaran masyarakat akan pola hidup dan makan yang sehat membuat rumput laut dipilih sebagai alternatif makan sehat karena kandungannya yang kaya akan serat, vitamin dan mineral.^{1,2}

Berdasarkan pigmennya, rumput laut dapat dibedakan menjadi kelas alga merah (*Rhodophyceae*), alga coklat (*Phaeophyceae*), alga hijau (*Chlorophyceae*) dan alga biru - hijau (*Cyanophyceae*). Beberapa jenis rumput laut Indonesia yang bernilai ekonomis dan sejak dulu sudah diperdagangkan yaitu: *Eucheuma* sp, *Hypnea* sp, *Glacilaria* sp dari kelas *Rhodophyceae* serta *Sargassum* sp dari kelas *Phaeophyceae*. *Euchema* sp sendiri digunakan sebagai pemanis, pengental, bahan dasar karaginan, campuran sayur dan bahan obat dalam

industri farmasi. Selain itu dapat juga digunakan sebagai bahan pupuk tanaman, campuran makanan ternak dan bahan baku kosmetik.

Eucheuma sp. adalah salah satu rumput laut penghasil karagenan (caragenophyte). Jenis ini banyak ditemukan di Filipina, Indonesia, Asia tropis, dan daerah Pasifik barat. *Eucheuma sp.* merupakan jenis rumput laut tropis yang hidup menempel pada batu karang dengan kedalaman air laut sekitar 1-2 meter. Air laut yang jernih dengan arus relatif tenang serta kadar garam antara 28-36% adalah tempat hidup yang sesuai untuk *Eucheuma sp.* Gambar *Eucheuma sp.* dapat dilihat pada lampiran gambar 2.²⁷

Eucheuma sp. merupakan rumput laut merah yang diklasifikasikan sebagai berikut :

Phyllum : Rhodophyta
Class : Rhodophyceae
Ordo : Gigartinales
Family : Solieriaceae
Genus : Eucheuma
Species : *Eucheuma sp*

Secara morfologis *Eucheuma sp.* tidak mempunyai akar, batang, dan daun yang berfungsi seperti pada tumbuhan darat tetapi *Eucheuma sp.* terdiri dari semacam batang yang disebut *thallus*. *Eucheuma sp.* mempunyai *thallus* silindris, permukaan yang licin, berwarna merah atau merah coklat yang disebabkan oleh pigmen fikoeiritin, memiliki benjolan dan duri, bercabang ke berbagai arah dengan

batang – batang utama keluar saling berdekatan ke daerah pangkal. Jumlah setiap percabangannya adalah dua (*dichotome*) atau tiga (*trichotome*). Siklus hidupnya terdiri dari tiga tahap yaitu tetrasporophyta (asexual), gametofit (sexual) dan carposporophyta. Gambar *Eucheuma* sp. dapat dilihat pada lampiran 2.^{16,21,22}

Eucheuma sp. banyak ditemukan dan dibudidayakan di sepanjang pesisir perairan Indonesia yang dangkal seperti Kepulauan Riau, Lampung, Kepulauan Seribu, Bali, Lombok, Flores, Sumba, Kepulauan Karimun Jawa, dan Jawa Tengah bagian selatan.²³

2.3.2. Kandungan dan Manfaat

Eucheuma sp. banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang di masyarakat, diantaranya sebagai pupuk organik karena mengandung bahan-bahan mineral seperti potasium dan hormon seperti auxin dan sitokinin yang dapat meningkatkan daya tumbuh tanaman untuk tumbuh, berbunga dan berbuah, bahan pengental (*thickener*), pembentuk gel, pengemulsi dan pengimbang (*stabilisator*) pada industri makanan, pasta gigi, farmasi, kosmetik, tekstil, cat, karet, dan kertas. Selain itu *Eucheuma* sp. dapat dimanfaatkan sebagai sayuran dan makanan tambahan berupa agar.^{1,2,12,13,23}

Dalam dunia kedokteran dan farmasi, *Eucheuma* sp. digunakan sebagai bahan obat asma, bronkhitis, TBC, cacingan, sakit perut, demam, rematik, anti hiperkolesterol, sumber iodium, seng, selenium. dan vitamin seperti vitamin B1, B2, B6, B12, β – karoten, C dan E, anti kanker karena kandungan antioksidannya yang tinggi, dan menurunkan kadar gula darah.^{1,2,12,13,23,24}

Kandungan nutrisi rumput laut tiap 100 gram porsi makanan adalah : ²⁵

- Air	: 12,9 gram
- Energi	: 26 kcal / 109 kl
- Protein	: 5,12 gram
- Lemak total	: 0,03 gram
- Asam lemak jenuh	: 0,006 gram
- Asam lemak tak jenuh (monounsaturated)	: 0,003 gram
- Asam lemak tak jenuh (polyunsaturated)	: 0,01 gram
- Karagenan	: 65,75 mg
- Kalsium	: 54 mg
- Besi	: 1,86 mg
- Seng	: 0,58 mg
- Tembaga	: 0,061 mg
- Mangan	: 0,373 mg
- Fosfor	: 5 mg
- Vitamin B kompleks	: 43 mg
- Vitamin E	: 0,87 mg
- Vitamin C	: 43 mg
- Vitamin A	: 82,59 ppm

Selain itu, *Eucheuma* sp. mempunyai kandungan karagenan yang merupakan serat larut air dalam konsentrasi yang cukup tinggi.^{12,13,23,26}

2.3.3. Pengaruh *Eucheuma* sp. Terhadap Kadar Gula Darah

Eucheuma sp. mempunyai kandungan karagenan sebagai senyawa serat larut air. Karagenan adalah senyawa polisakarida yang tersusun dari unit β - D - galaktosa dan α - L - galaktosa 3,6 anhidrogallaktosa yang dihubungkan oleh ikatan 1,4 glikosiklik dimana setiap unit galaktosa mengikat gugusan sulfat.^{12,13,26}

Karagenan dibedakan menjadi 3 golongan berdasarkan sifat jelly yang terbentuk yaitu : *kappa* karagenan (jelly bersifat kaku dan keras), *iota* karagenan (jelly lembut dan fleksibel atau lunak) dan *lambda* karagenan (tidak dapat membentuk jelly tetapi berbentuk cairan yang *viscous*). Kappa karagenan berasal dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma striatum* sedangkan *Iota* karagenan berasal dari *Eucheuma spinosum*.^{27,28}

Karagenan adalah salah satu jenis serat larut air yang sukar dicerna oleh enzim manusia sehingga berfungsi menurunkan kadar kolesterol darah dan memperlambat pengosongan lambung. Selain itu, serat tersebut dapat berperan terhadap pengikatan asam empedu yang diduga sebagai promotor terbentuknya proses kimiawi dalam karsinogenesis sehingga apabila proses pengikatan tersebut terjadi maka dapat menurunkan terjadinya kanker usus besar.^{12,13}

Karagenan merupakan serat makanan pengikat kation (*binding of cations*) yang akan mengubah pH intestinum dengan cara mempengaruhi sekresi asam

dan basa lewat pengaruh hormon dan enzim. Hal ini akan mempengaruhi proses pemecahan karbohidrat (disakarida) di dalam intestinum yang akhirnya juga akan mempengaruhi proses penyerapan monosakarida, sehingga dapat menahan laju peningkatan kadar glukosa darah post – prandial dan mengurangi penurunan balik gula darah yang akan merangsang selera makan. ^{12,13,28}

2.3.4. Pengaruh *Eucheuma* sp. Terhadap Jumlah Eritrosit

Penelitian yang akhir – akhir ini banyak dilakukan mengenai rumput laut adalah mengenai efeknya sebagai antioksidan. Kandungan nutrisi rumput laut yang lengkap baik polisakarida, beberapa vitamin dengan konsentrasi tinggi, hingga makro dan mikromineral menjadikan rumput laut memiliki potensi besar sebagai antioksidan. ^{19,35}

Vitamin A, E dan C telah banyak digunakan sebagai suplemen antioksidan bagi penderita diabetes dan diketahui dapat bermanfaat sebagai antioksidan. Molekul-molekul vitamin ini mempunyai struktur yang dapat menangkap radikal bebas dan menetralsirnya. Vitamin A terutama dalam bentuk provitamin A (beta carotene) merupakan antioksidan yang mempunyai peran dalam menangkap radikal bebas peroksi dalam jaringan pada tekanan parsial oksigen yang rendah. Karena bersifat efektif pada konsentrasi oksigen yang rendah, beta karoten melengkapi sifat antioksidan vitamin E yang efektif pada konsentrasi oksigen lebih tinggi. ^{7,8}

Vitamin E (alfa tokoferol) merupakan pertahanan baris pertama terhadap peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat didalam fosfolipid

membran selular dan subselular. Kerja antioksidan tokoferol berlangsung efektif pada konsentrasi oksigen tinggi, dengan demikian vitamin tersebut cenderung terkonsentrasi di dalam struktur lipid yang terpajan pada tekanan parsial O₂ paling tinggi misalnya membran eritrosit.^{7,8}

Vitamin C dapat bertindak sebagai antioksidan umum yang larut air, dengan cara mereduksi tokoferol teroksidasi didalam membran sehingga membantu fungsi tokoferol sebagai pertahanan baris pertama dalam proses peroksidasi lipid.^{7,8}

Rumput laut *Eucheuma* sp.juga mengandung selenium(Se) yang merupakan salah satu komponen integral dari glutathion peroksidase,membentuk pertahanan baris kedua terhadap peroksida sebelum senyawa tersebut dapat merusak membran dan komponen sel lain. Dengan demikian tokoferol dan selenium bekerja sinergis dalam melawan peroksida lipid.^{7,8}

Kandungan senyawa dalam *Eucheuma* sp. yang tidak kalah pentingnya adalah karaginan sebagai senyawa serat larut air. Karaginan adalah senyawa polisakarida yang tersusun dari unit β - D - galaktosa dan α - L - galaktosa 3,6 anhidrogalaktosa yang dihubungkan oleh ikatan 1,4 glikosiklik dimana setiap unit galaktosa mengikat gugusan sulfat.²⁸

Karagenan merupakan serat makanan pengikat kation (*binding of cations*) yang akan mengubah pH intestinum dengan cara mempengaruhi sekresi asam dan basa lewat pengaruh hormon dan enzim. Hal ini akan mempengaruhi proses pemecahan karbohidrat (disakarida) di dalam intestinum yang akhirnya juga akan mempengaruhi proses penyerapan monosakarida, sehingga dapat menahan

laju peningkatan kadar glukosa darah post – prandial. Selain itu, karagenan juga dapat membentuk gel atau larutan kental di dalam saluran cerna. Mekanisme – mekanisme tersebut mengakibatkan hambatan peningkatan kadar glukosa darah post – prandial.^{12,13,28}

Keadaan hiperglikemia pada diabetes mellitus mempunyai efek yang buruk terhadap jaringan, organ dan sistem organ tubuh. Misalnya gangguan sirkulasi (makroangiopati dan mikroangiopati), iskemia otak, agregasi dan adhesi platelet, timbulnya radikal bebas yang berlebih, kekurangan antioksidan, penyakit jantung, katarak, gangguan hepar dan ginjal.

Gangguan metabolisme karbohidrat, protein dan lipid pada diabetes mengakibatkan terbentuknya radikal bebas yang berlebih apalagi dalam keadaan hiperglikemi. Penelitian menunjukkan bahwa keadaan hiperglikemi pada penderita diabetes dapat terjadi penurunan kadar beberapa antioksidan (alfa tokoferol, carotene, vitamin C) serta kenaikan produksi radikal bebas.^{8,11,37-39}

Beberapa radikal bebas yang mempunyai sifat oksidan kuat dihasilkan selama proses metabolisme dalam eritrosit maupun sebagian besar sel tubuh lainnya. Oksidan kuat ini adalah superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal peroksil (ROO^-) dan radikal hidroksil (OH^-). Produksi radikal bebas ini akan meningkat pada keadaan hiperglikemia. Molekul radikal bebas ini sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan senyawa lipid, protein dan DNA untuk mengubah struktur kemudian merusaknya.^{41,42}

Radikal bebas yang berlebihan ini akan meningkatkan aktivitas lipid peroksidase (LPO) dan menurunkan status antioksidan eritrosit yang

menyebabkan kerusakan pada membran eritrosit sehingga eritrosit akan lebih mudah lisis dan akibatnya akan terjadi penurunan jumlah eritrosit. Oleh karena itu peningkatan radikal bebas secara tidak langsung dapat diketahui dari penurunan jumlah eritrosit.^{41,42}

Radikal bebas dapat dinetralkan dari tubuh karena adanya zat yang bersifat *scavenger* terhadap radikal bebas yang disebut antioksidan. Berdasarkan penelitian sebelumnya, telah diketahui bahwa pada penderita diabetes mellitus juga terjadi penurunan level antioksidan endogen. Oleh karena itu, pemberian ekstrak rumput laut *Eucheuma sp.* yang diketahui dapat berfungsi sebagai antioksidan diharapkan dapat mengurangi kerusakan eritrosit yang terjadi akibat produk radikal bebas yang timbul secara berlebihan pada kondisi hiperglikemia. Apabila kerusakan eritrosit dapat berkurang maka jumlah eritrosit di dalam sirkulasi darah tepi diharapkan kembali pada level yang normal.

2.4 SEL DARAH MERAH (ERITROSIT)

2.4.1 Pengaturan Produksi Eritrosit

Setiap keadaan yang menyebabkan penurunan transportasi jumlah oksigen ke jaringan (hipoksia) biasanya diikuti dengan peningkatan kecepatan produksi sel darah merah. Faktor utama yang dapat merangsang produksi sel darah merah adalah hormon eritropoetin. Produksi eritropoetin dipengaruhi distimulasi oleh tekanan oksigen dalam jaringan ginjal. Oleh karena itu, produksi eritropoetin meningkat pada keadaan anemia, kelainan metabolik atau struktural hemoglobin

yang tidak bisa melepaskan O₂ secara normal, jika O₂ atmosfer rendah (pada dataran sangat tinggi), dan gangguan pada

sirkulasi jantung, paru dan ginjal yang mempengaruhi pengiriman O₂ ke ginjal. Eritropoetin yaitu suatu glikoprotein yang terdiri dari 165 asam amino dengan berat molekul kira-kira 34.000. Pada orang normal, 90% dari seluruh eritropoetin diproduksi dalam ginjal terutama sel-sel interstitial tubulus ginjal, sisanya terutama dibentuk di hepar.^{30,31}

2.4.2 Respon Eritropoetin dan Hiperglikemia

Seperti yang telah dijelaskan pada bagian pengaturan produksi eritrosit bahwa respon eritropoetin dipengaruhi stimulasi tekanan oksigen pada jaringan ginjal dan akan meningkat pada keadaan anemia, kelainan metabolik atau struktural hemoglobin, dan pada keadaan tekanan atmosfer yang rendah (dataran tinggi). Beberapa penelitian (Pilona et al, Craig et al, dan Thomas et al) menunjukkan bahwa pada pasien diabetes dapat juga menderita anemia (normositik normokromik) ditandai dengan menurunnya kadar hemoglobin, jumlah eritrosit dan kadar eritropoetin pada diabetes yang sudah berkembang menjadi nefropati diabetes (disebut anemia renal). Maupun yang belum berkembang menjadi nefropati diabetes (*early onset anemia*) yang berhubungan dengan glukotoksisitas pada prekursor eritrosit di sumsum tulang dan toksisitas radikal bebas pada eritrosit matur. Namun prevalensi kejadian anemia pada

pasien diabetes yang telah berkembang menjadi nefropati diabetes jauh lebih besar. Hal ini berhubungan dengan komplikasi dari hiperglikemia.^{10,46,47}

Pada keadaan hiperglikemia akan berakibat pada penebalan membran basalis glomerulus sebagai hasil dari proses glikosilasi yang berakibat pada naiknya tekanan intrarenal selanjutnya dapat berkembang menjadi gagal ginjal kronik, penurunan produksi eritropoetin dan anemia. Toksisitas radikal bebas pada keadaan hiperglikemia juga berperan dalam kerusakan sel interstitial tubulus penghasil eritropoetin. Walaupun pada awalnya akan terjadi respon peningkatan produksi eritropoetin karena *anemi-sensing mechanism* namun jika hiperglikemia semakin berat dan lama maka akan terjadi disfungsi dari mekanisme kompensasi tersebut.^{46,47}

Banyak faktor diduga sebagai penyebab dari anemia pada pasien diabetes diantaranya neuropati autonom berat yang berakibat pada denervasi ginjal sehingga menyebabkan disfungsi *anemi-sensing mechanism* yang selanjutnya akan menurunkan respon pelepasan eritropoetin bahkan kehilangan produksi dari eritropoetin dan kerusakan sel interstitium ginjal penghasil eritropoetin pada nefropati diabetes.^{46,47}

2.4.3 Struktur dan Fungsi Eritrosit

2.4.3.1 Membran Eritrosit

Eritrosit memiliki struktur yang lebih sederhana dari kebanyakan sel tubuh manusia yang lain. Pada dasarnya eritrosit tersusun dari sebuah membran lipid berlapis ganda, protein membran integral dan rangka membran yang mengelilingi

larutan hemoglobin (protein ini membentuk sekitar 95% dari protein intra sel eritrosit). Didalam sel darah merah tidak terdapat organel intra sel seperti mitokondria, lisosom, aparatus golgi dan nukleus. Sekitar 50% membran adalah lemak, 40% protein dan 10% karbohidrat.

Karbohidrat hanya terdapat pada permukaan luar sedangkan protein dapat di perifer atau integral, menembus lipid lapis ganda. Membran eritrosit mempunyai rangka yang dibentuk protein struktural seperti spektrin alfa dan beta, ankrin, protein penukar anion, aktin dan protein 4.1 yang penting untuk mempertahankan bentuk bikonkaf. Bentuknya yang bikonkaf akan meningkatkan rasio permukaan eritrosit terhadap volumenya sehingga memperlancar pertukaran gas.^{31,32}

Kelompok utama lipid pada membran eritrosit adalah fosfolipid dan kolesterol. Fosfolipid yang utama diantaranya fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamin (PE), dan fosfatidilserin (PS) bersama spingomielin (SPh). Fosfolipid yang mengandung kolin, PC dan SPh mendominasi lipatan membran luar dan fosfolipid yang mengandung amino (PE dan PS) mendominasi lipatan membran sebelah dalam.^{7,31}

2.4.2.2 Fungsi Eritrosit

Fungsi utama eritrosit adalah membawa O₂ ke jaringan dan mengembalikan CO₂ dari jaringan ke paru. Untuk mencapai pertukaran gas ini eritrosit mengandung protein khusus yaitu hemoglobin. Tiap eritrosit mengandung sekitar 640 juta molekul hemoglobin. Tiap molekul hemoglobin (Hb) A pada

orang dewasa normal terdiri dari empat rantai polipeptida $\alpha_2\beta_2$, masing-masing dengan gugus heme sendiri. Darah orang dewasa normal juga mengandung HbF dan HbA₂ dalam jumlah kecil. Untuk dapat mengangkut O₂ hemoglobin harus tersedia dalam bentuk HbFe²⁺. HbFe²⁺ sangat rentan terhadap oksidasi oleh superoksida dan zat pengoksidasi lainnya. Oksidasi HbFe²⁺ akan membentuk methemoglobin (HbFe³⁺) yang tidak dapat mengangkut O₂.^{7,31}

2.4.4 Radikal Bebas dan Antioksidan Biologis pada Eritrosit

2.4.4.1 Radikal Bebas

Beberapa oksidan kuat dihasilkan selama proses metabolisme eritrosit. Oksidan kuat ini adalah superoksida (O₂⁻), hidrogen peroksida (H₂O₂), radikal peroksil (ROO⁻) dan radikal hidroksil (OH⁻). Molekul molekul inilah yang disebut Reactive Oxygen species (ROS) yang dapat merusak struktur molekul lipid, protein dan asam nukleat pada eritrosit.^{7-9,33}

Selama masa hidupnya eritrosit selalu terpajan kondisi stress oksidatif. Selain efek metabolisme xenobiotik atau patogen, dapat juga berasal dari saat eritrosit (7µm) harus melewati kapiler yang diameternya lebih kecil (5µm), keadaan hiperglikemi yang menyebabkan metabolisme jadi sangat meningkat juga diikuti radikal bebas yang meningkat, dan hiperosmotik ketika eritrosit harus melewati lebih dari satu kali perjam melalui medula ginjal.⁴⁰

Bahaya radikal bebas terhadap eritrosit diantaranya adalah dengan merusak struktur membran eritrosit sehingga plastisitas membran terganggu dan mudah pecah. Keadaan ini dapat menyebabkan turunnya jumlah eritrosit.

Penelitian (Maritim et al dan Sailaja et al) menunjukkan bahwa terjadi perluasan peroksidasi lipid membran (LPO) dan dibarengi dengan penurunan antioksidan glutathion (GSH), peningkatan aktivitas glutathion reduktase (GR), glutathion peroksidase (GPx) dan superoksida dismutase (SOD), penurunan glukosa-6-phosphatdehidrogenase, dan glutathion transferase (GST) serta aktivitas katalase yang meningkat. Akibatnya eritrosit lebih cepat menua dan tersingkir dari sirkulasi.^{38,41}

2.4.4.2 Antioksidan Biologis

Untuk melindungi dirinya dari ROS dan radikal bebas lain eritrosit memiliki sistem perlindungan antioksidan enzimatik (antioksidan primer/endogen) dan non enzimatik (antioksidan sekunder/eksogen) misalnya Vitamin E dan C serta trace elemen (Cu, Zn, Se).^{7,33,40}

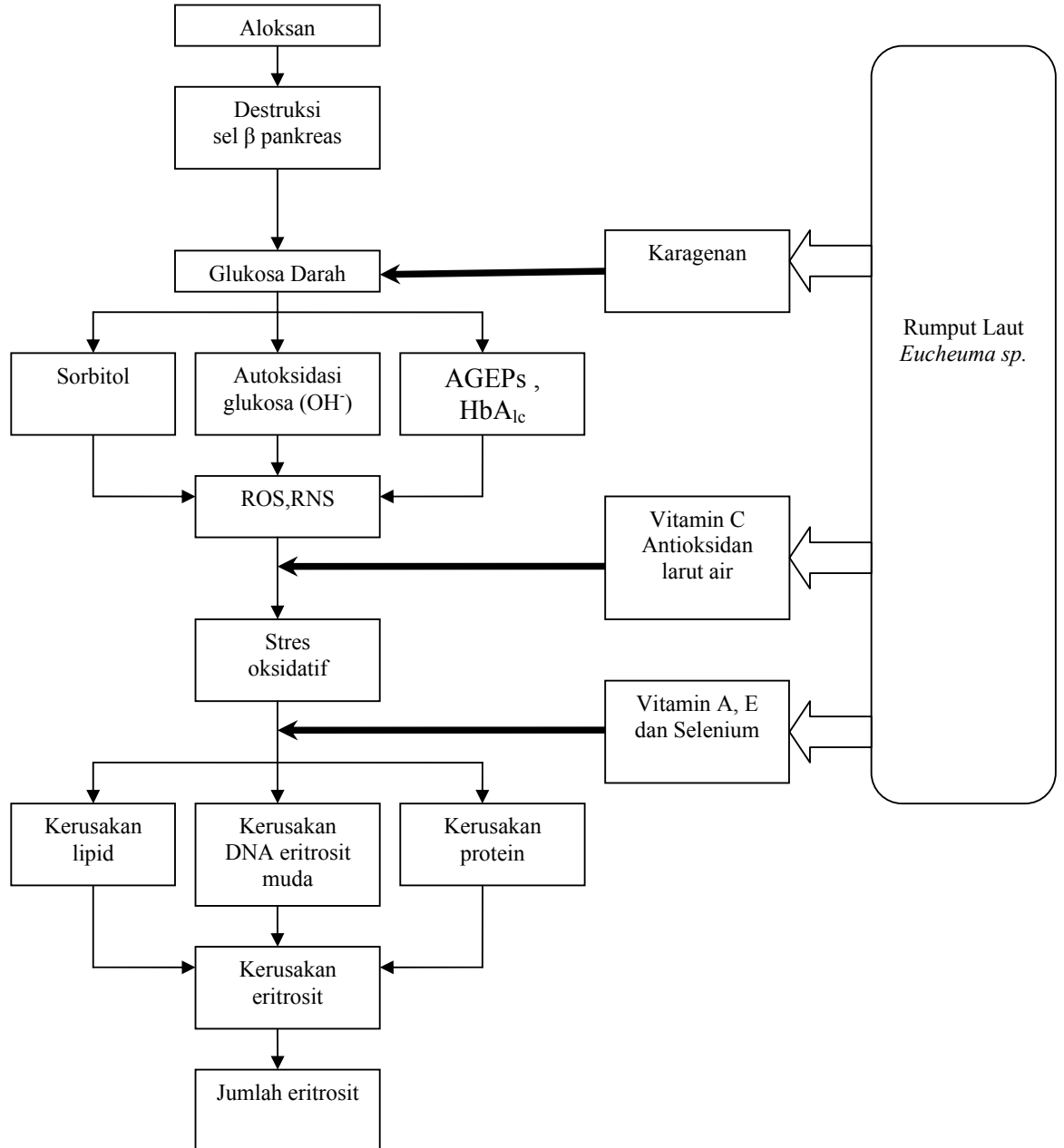
Superoksida dismutase (SOD) adalah salah satu antioksidan enzimatik yang bekerja dengan cara mendismutase superoksida (O_2^-). Superoksida terbentuk dari autooksidasi hemoglobin menjadi methemoglobin. SOD menguraikan 2 molekul O_2^- menjadi O_2 dan H_2O_2 . Hidrogenperoksida yang terbentuk tadi akan segera diuraikan oleh katalase menjadi H_2O dan O_2 . Antioksidan enzimatik lainnya adalah glutathion reduktase dan glutathion peroksidase. Glutathion adalah sebuah tripeptida (Glu-Cys-Gly) yang berada dalam konsentrasi tinggi hampir di semua sel. Glutathion aktif sebagai antioksidan dalam bentuk tereduksi (GSH), GSH dapat bereaksi dengan H_2O_2 dan berubah ke bentuk Glutathion teroksidasi (GSSG) sambil melepas H_2O dan O_2 yang tak berbahaya, proses ini memerlukan peran enzim glutathion peroksidase. Enzim Glutathion peroksidase

memiliki selenium sebagai komponen integral didalamnya. Untuk mengubahnya menjadi GSH kembali dibutuhkan enzim glutathion reduktase dan NADPH.^{33,40,41}

2.4.5 Parameter Profil Eritrosit

Pemeriksaan jumlah eritrosit merupakan salah satu rangkaian pemeriksaan darah khusus selain MCV(Mean Corpuscular Volume),MCH(Mean Corpuscular Hemoglobin), dan MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration). Penghitungan jumlah eritrosit akan lebih mudah, cepat dan tepat jika menggunakan *Electronic cell counters*.^{32,34} Nilai normal hitung jumlah eritrosit adalah 4,5-6,5 juta/mm³ pada pria dan 3,9-5,6 juta/mm³ pada wanita.³¹ Untuk mengevaluasi kelainan/gangguan pada eritrosit perlu dilakukan pemeriksaan kuantitatif eritrosit (jumlah eritrosit, kadar hemoglobin, MCV,MCH,MCHC) dan pemeriksaan apus darah tepi sebagai informasi dasar.

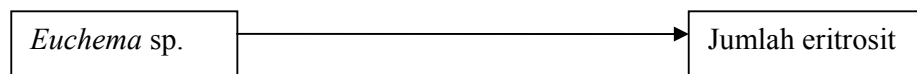
2.5 KERANGKA TEORI



2.6 KERANGKA KONSEP

Pengukuran glukosa darah tidak dilakukan pada percobaan ini karena pada penelitian sebelumnya telah terbukti bahwa aloksan dapat menyebabkan kerusakan pada sel beta pankreas sehingga menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah pada tikus wistar. Oleh karena itu untuk mengetahui terjadinya peningkatan radikal bebas, maka dilakukan pengukuran secara tidak langsung melalui penghitungan jumlah eritrosit.

Pada penelitian ini digunakan ekstrak rumput laut *Eucheuma* sp. Berdasarkan penelitian sebelumnya telah terbukti bahwa karagenan dapat menurunkan kadar glukosa darah. Penurunan glukosa darah dapat menghambat terbentuknya radikal bebas berlebih. Selain senyawa karagenan, ekstrak *Eucheuma* sp. juga mengandung beberapa antioksidan yang penting bagi eritrosit seperti vitamin E, C dan Selenium(Se) yang berfungsi menjaga keutuhan membran eritrosit. Apabila pada penelitian ini terbukti adanya pengaruh ekstrak *Eucheuma* sp. terhadap peningkatan jumlah eritrosit, belum dapat diketahui zat aktif mana diantara karagenan, vitamin C,E dan Se yang terkandung didalamnya yang paling berpengaruh terhadap peningkatan jumlah eritrosit karena tidak dilakukan penelitian untuk masing-masing senyawa tersebut.



2.7 HIPOTESIS

Pemberian ekstrak rumput laut *Eucheuma* sp. dapat meningkatkan jumlah eritrosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Ruang Lingkup Penelitian

3.1.1 Ruang Lingkup Keilmuan

Ruang lingkup penelitian ini meliputi bidang Biokimia, Farmasi dan Patologi Klinik, Penyakit Dalam.

3.1.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret-Mei, dan pengumpulan data selama 70 hari. Sampel *Eucheuma* sp. diperoleh dari perairan Karimunjawa dan pembuatan tepung rumput laut dilaksanakan di Laboratorium Sentra pengembangan dan Penelitian Obat tradisional UNDIP Tembalang. Selanjutnya penelitian dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro untuk pemeliharaan, pemberian perlakuan, dan Laboratorium Swasta Ideal Semarang yang bersertifikat untuk menghitung jumlah eritrosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

3.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design*. Sebagai objek pada penelitian ini adalah tikus wistar dengan diabetes aloksan.

3.3 Populasi dan sample

3.3.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus wistar dengan diabetes aloksan, diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Penelitian (UPHP) Universitas Negeri Semarang.

3.3.2 Sampel

3.3.2.1 Cara pengambilan sample

Sample penelitian diperoleh secara simple random sampling dengan kriteria sebagai berikut :

Kriteria inklusi :

1. Tikus wistar jantan
2. Umur 3 bulan
3. Berat badan 200-250 gram
4. Kondisi sehat (aktif dan tidak cacat)

Kriteria eksklusi :

1. Tikus tidak bergerak secara aktif
2. Tikus mati selama masa penelitian bobot tikus menurun (kurang dari 200 gram)

3. Tikus mengalami diare selama masa penelitian berlangsung.

3.3.2.2 Besar sampel

Besar sample yang akan digunakan sesuai dengan kriteria WHO untuk penelitian eksperimental sedikitnya menggunakan 5 ekor tikus untuk tiap kelompok perlakuan.⁴⁸

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel bebas

Pemberian diet ekstrak rumput laut *Eucheuma* sp.

Skala : rasio

3.4.2 Variabel tergantung

Jumlah eritrosit

Skala: rasio

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

1. Kandang untuk hewan coba
2. Sonde lambung
3. Alat untuk membunuh tikus di akhir perlakuan
4. Rotavapour sebagai alat ekstraksi *Eucheuma* sp.
5. Blender

6. Blood analyzer (Nihon Kohden Celltac α , MEK-6318 K)

3.5.2 Bahan

1. Tikus wistar jantan
2. Aloksan
3. Ekstrak rumput laut *Eucheuma* sp.
4. Etanol 70% sebagai bahan dalam ekstraksi rumput laut
5. Bahan makanan dan minuman tikus wistar
6. Bahan untuk pemeriksaan jumlah eritrosit

3.6 Data yang Dikumpulkan

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini berupa data primer, yaitu jumlah eritrosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

3.7 Cara Pengambilan Data

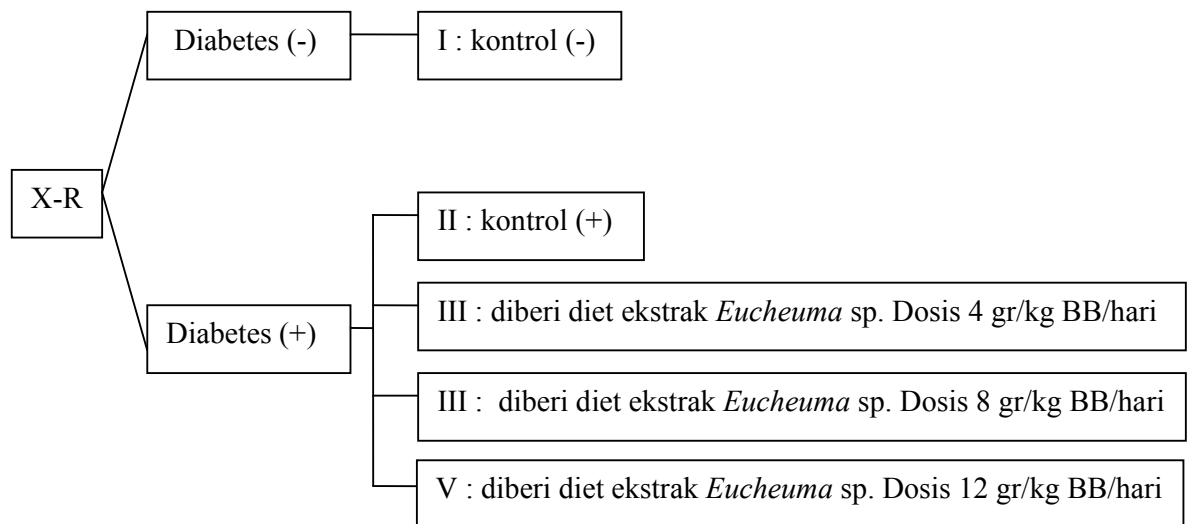
Penelitian menggunakan sampel sebanyak 35 ekor tikus wistar. Tikus tersebut dibagi dalam lima kelompok, sehingga didapatkan jumlah sampel untuk tiap-tiap kelompok sebanyak 7 ekor.

Tikus wistar sebanyak 35 ekor yang memenuhi kriteria inklusi, diaklimasi di dalam laboratorium. Masing-masing dikandangkan secara individual, serta diberi makanan dan minuman selama satu minggu secara *ad libitum*.

Tikus wistar tersebut kemudian dibagi dalam lima kelompok secara acak sehingga tiap-tiap kelompok terdiri dari 7 ekor tikus. Kemudian empat kelompok selain kontrol negatif diinduksi diabetes. Perlakuan berbeda diberikan pada tiap

kelompok selama 63 hari kecuali pada kelompok kontrol negatif dan kontrol positif.

Masing-masing kelompok akan diperlakukan sebagai berikut :



Keterangan :

X-R : masa adaptasi selama 1 minggu

Diabetes (-) : tikus tidak diinduksi diabetes

Diabetes (+) : tikus diinduksi diabetes

I : kelompok tikus tanpa induksi diabetes dan tidak mendapat perlakuan

II : kelompok tikus diinduksi diabetes tanpa perlakuan apapun

III : kelompok tikus diinduksi diabetes yang diberi ekstrak *Eucheuma* sp.
Dosis 4 gr/kgBB/hari

IV : kelompok tikus diinduksi diabetes yang diberi ekstrak *Eucheuma* sp.
Dosis 8 gr/kgBB/hari

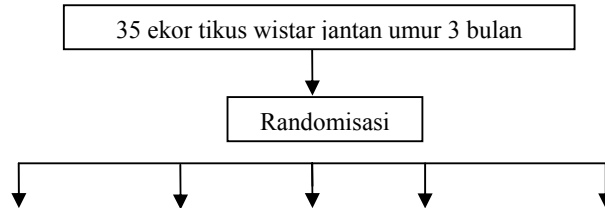
V : kelompok tikus diinduksi diabetes yang diberi ekstrak *Eucheuma* sp.
Dosis 12 gr/kgBB/hari

Pada hari ke 70 tikus wistar pada semua kelompok diterminasi kemudian diambil darahnya lewat vena abdominalis dan dihitung jumlah eritrositnya dengan menggunakan Blood Analyzer (Nihon Kohden Celltac α).

Blood analyzer menggunakan dasar perhitungan sel secara elektrik yang disebut volumetric impedance. pada metode ini, larutan elektrolit (diluent) telah dicampur dengan sel darah dihisap melalui aperture. Ketika sel darah melewati aperture, terjadi perubahan tegangan listrik yang dikuatkan kemudian sinyal tersebut diteruskan ke rangkaian elektronik. Pada rangkaian elektronik terdapat penghilang yang berfungsi untuk menghilangkan sinyal pengganggu (elektronik noise, debu, sisa-sisa partikel).










Jumlah sinyal untuk setiap sel disimpan pada memori dalam bentuk histogram. Sel eritrosit dan sel lain yang dihitung memiliki ukuran berbeda, sehingga CPU dapat membedakan perhitungan untuk tiap jenis sel. ⁴⁵

3.8 Alur Penelitian



Hari ke	Kelompok I (7 ekor)	Kelompok II (7 ekor)	Kelompok III (7 ekor)	Kelompok IV (7 ekor)	Kelompok V (7 ekor)
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7	Yellow	Blue	Blue	Blue	Blue
8	Cyan	Green	Pink	Magenta	Purple
69	Cyan	Green	Pink	Magenta	Purple
70	Red	Red	Red	Red	Red

Keterangan :

-  : Pemeliharaan (adaptasi) dan diet standar 1 minggu *ad libitum*
-  : Ditimbang, tidak diinduksi diabetes
-  : Ditimbang dan diinduksi diabetes
-  : Diet standar, tidak mendapatkan ekstrak
-  : Diet standar, tidak mendapatkan ekstrak
-  : Diet standar + diet ekstrak *Eucheuma sp.* 4 gr/kgBB/hari
-  : Diet standar + diet ekstrak *Eucheuma sp.* 8 gr/kgBB/hari
-  : Diet standar + diet ekstrak *Eucheuma sp.* 12 gr/kgBB/hari
- 

: Terminasi tikus wistar dan pemeriksaan jumlah eritrosit

3.9 Definisi Operasional

3.9.1 Penginduksian Diabetes Aloksan

Tikus dibuat diabetik eksperimental (hiperglikemik) dengan memberikan suntikan aloksan secara intraperitoneal. Aloksan adalah suatu derivat pirimidin sederhana yang bersifat merusak substansi esensial di dalam sel β pankreas dan menyebabkan berkurangnya granula-granula pembawa insulin di dalam sel β pankreas. Sehingga pemberian aloksan dalam dosis tertentu dapat menyebabkan destruksi selektif pada sel β pankreas. Pada penelitian terdahulu tikus wistar dapat dibuat diabetik dengan menginjeksikan 120-150 mg/kgBB, dalam percobaan ini tikus disuntikkan aloksan sebanyak 125 mg/kgBB.^{12,13}

3.9.2 Diet Rumput Laut

Sampel rumput laut *Eucheuma* sp. segar yang sudah dikoleksi dari laut sejumlah kurang lebih 2 kg dimasukkan ke dalam kantong plastik untuk selanjutnya dibersihkan dengan menggunakan air bersih sampai pasir dan kotoran yang menempel hilang dan diletakkan dalam wadah. Selanjutnya rumput laut dikeringkan di udara terbuka dengan sinar matahari tidak langsung selama setengah hari, kemudian rumput laut dibuat dalam bentuk serbuk dengan derajat kehalusan tertentu. Kemudian dibagi menjadi dosis- dosis yang telah ditentukan dan disimpan dalam wadah tertutup. Setiap akan diberikan kepada tikus, tepung rumput laut tersebut dicampurkan pada pakan pagi hari.²⁸

3.9.3 Jumlah Eritrosit

Jumlah eritrosit adalah banyaknya eritrosit rata-rata yang terdapat dalam satu mikroliter(μL) darah yang dihitung dengan perhitungan sel secara elektrik (*Electric cell counter*).⁴⁴

3.10 Analisis Data

3.10.1 Cara Pengolahan Data

Tahap-tahap pengolahan data adalah sebagai berikut :

1. Tahap editing, yakni dengan mengedit data yang tersedia.
2. Tahap cleaning data, untuk meneliti kembali kesalahan-kesalahan yang mungkin terjadi.
3. Tahap tabulasi data, yakni dengan menyajikan data dalam table yang telah disediakan.

3.10.2 Cara Analisis Data

Analisis data telah dilakukan dengan menggunakan SPSS 15 for windows. Langkah pertama yakni melakukan uji normalitas distribusi dengan uji Saphirowilk. Hasil uji normalitas didapatkan data tidak terdistribusi normal, maka uji yang digunakan adalah uji non parametric Kruskal Wallis. True confidence uji ini adalah 95%, sehingga jika $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan bermakna.

BAB IV

HASIL

Normalitas distribusi data penelitian diuji dengan uji normalitas *Shapiro Wilk*. Dari uji normalitas *Shapiro Wilk* didapatkan $p < 0.05$ pada kelompok P2 ($p = 0.034$) sehingga data dianggap tidak terdistribusi normal. Kemudian dilakukan transformasi data dan diuji kembali normalitas datanya, ternyata tetap didapatkan distribusi data yang tidak normal. Analisis deskriptif yang digunakan pada data yang tidak terdistribusi normal adalah median sebagai ukuran pemusatan dan nilai minimum serta nilai maksimum sebagai dispersi.

Tabel 1. Median, Nilai Maksimum dan Minimum Jumlah Eritrosit

Kelompok	N	Jumlah Eritrosit (10^6 /mikroliterdarah)		
		Median	Nilai min	Nilai max
Kontrol Negatif (K-)	5	7,42	7,22	7,75
Kontrol Positif (K+)	5	7,41	4,61	7,96
Eucheuma sp. 4gr/KgBB (P1)	5	7,18	6,47	7,69
Eucheuma sp. 8gr/KgBB (P2)	5	7,18	6,38	7,49
Eucheuma sp. 12gr/KgBB (P3)	5	7,20	6,65	7,35

Median jumlah eritrosit pada kelompok kontrol negatif (K-) 7,42 digunakan sebagai nilai normal jumlah eritrosit tikus wistar. Pada kelompok

kontrol positif (K+) median sebesar 7,41 sedangkan pada kelompok perlakuan pertama (diet *Eucheuma* sp. 4gr/KgBB/hari) median sebesar 7,18, kelompok perlakuan kedua (diet *Eucheuma* sp. 8gr/KgBB/hari) median sebesar 7,18, kelompok perlakuan ketiga (diet *Eucheuma* sp. 12gr/KgBB/hari) median sebesar 7,20.

Uji normalitas terhadap data dengan uji *Saphiro-Wilk* diperoleh hasil data berdistribusi tidak normal ($P < 0,05$). Maka dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis*. Uji statistik *Kruskal Wallis* menghasilkan p sebesar 0,279 yang berarti tidak didapatkan perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif, kontrol positif, perlakuan 1, perlakuan 2, dan perlakuan 3. $p(>0,05)$.

BAB V

PEMBAHASAN

Pada awal penelitian jumlah tikus yang memenuhi kriteria inklusi sebanyak 35 ekor, selama penelitian berlangsung beberapa tikus (8 ekor) terpaksa masuk dalam kriteria eksklusi karena mati sehingga yang memenuhi kriteria inklusi tinggal 27 ekor. Tujuh ekor pada kelompok Kontrol Negatif, lima ekor masing-masing pada kelompok Kontrol Positif, Perlakuan 1, Perlakuan 2 dan Perlakuan 3. Penyebab kematian kemungkinan karena sakit, stress, dan faktor lingkungan yang tidak mendukung. Untuk keseimbangan data maka dipilih secara acak 5 ekor tikus dari masing-masing kelompok untuk diambil data jumlah eritrositnya.

Data hasil penelitian pada tabel 1 terlihat bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna median jumlah eritrosit antara kelompok perlakuan (P1, P2, P3) dengan kontrol negatif (K-) dan kontrol positif (K+). Hal ini diduga pemberian diet rumput laut *Eucheuma* sp. hanya memberikan efek yang kecil dalam menurunkan dan menetralkan produk radikal bebas akibat kondisi hiperglikemi.

Bahaya radikal bebas terhadap eritrosit diantaranya adalah dengan merusak struktur membran eritrosit sehingga elastisitas membran terganggu dan mudah pecah. Keadaan ini dapat menyebabkan turunnya jumlah eritrosit. Penelitian (Maritim et al dan Sailaja et al) menunjukkan bahwa terjadi perluasan

peroksidasi lipid membran (LPO) serta penurunan antioksidan glutathion (GSH), peningkatan aktivitas glutathion reduktase (GR), glutathion peroksidase (GPx) dan superoksida dismutase (SOD), penurunan glukosa-6-phosphatdehidrogenase, dan glutathion transferase (GST) serta aktivitas katalase yang meningkat. Jika keadaan perluasan peroksidasi membran lipid ini berkelanjutan akibatnya eritrosit lebih cepat menua dan tersingkir dari sirkulasi.^{38,41}

Penelitian Nugroho B.A dan Endang P. menyebutkan bahwa sediaan uji ekstrak *Eucheuma* sp. menimbulkan efek menurunkan kadar glukosa darah pada tikus wistar yang hiperglikemik^{12,13}. Hal ini karena *Eucheuma* sp. mengandung senyawa karagenan yaitu salah satu jenis serat larut dalam air yang sukar dicerna oleh enzim pencernaan manusia. *Eucheuma* sp. mempunyai kandungan serat kasar sebanyak 65,75% pada setiap 100 gram *Eucheuma* sp. kering.²⁸ Karagenan merupakan serat makanan pengikat kation (*binding of cations*) yang akan mengubah pH intestinum dengan cara mempengaruhi sekresi asam dan basa lewat pengaruh hormon dan enzim. Hal ini akan mempengaruhi proses pemecahan karbohidrat (disakarida) di dalam intestinum yang akhirnya juga akan mempengaruhi proses penyerapan monosakarida, sehingga dapat menahan laju peningkatan kadar glukosa darah post – prandial dan mengurangi penurunan balik gula darah yang akan merangsang selera makan.^{12,13,28}

Setiap 7 gram *Eucheuma* sp. kering mengandung vitamin A sebanyak 39,9 IU, vitamin E sebanyak 0,4 mg dan vitamin C sebanyak 0,7 mg, Selenium sebanyak 0,5 mcg dan kandungan nutrisi selengkapnya dapat dilihat pada lampiran 3.⁴⁸ Molekul-molekul vitamin ini mempunyai struktur yang dapat

menangkap radikal bebas dan menetralsirnya. Prekursor vitamin A (beta karoten) bersifat lipofilik adalah yang paling efisien dalam menetralsir radikal bebas. Beta karoten bereaksi dengan radikal peroksil melalui reaksi adisi. Vitamin A ini aktif dalam jaringan pada tekanan parsial oksigen yang rendah. Karena bersifat efektif pada konsentrasi oksigen yang rendah, beta karoten melengkapi sifat antioksidan vitamin E yang efektif pada konsentrasi oksigen lebih tinggi.³⁷

Vitamin E (alfa tokoferol) merupakan pertahanan baris pertama terhadap peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat didalam fosfolipid membran selular dan subselular. Kerja antioksidan tokoferol berlangsung efektif pada konsentrasi oksigen tinggi, dengan demikian vitamin tersebut cenderung terkonsentrasi di dalam struktur lipid yang terpajan pada tekanan parsial O₂ paling tinggi misalnya membran eritrosit. Fungsi utama vitamin E (tokoferol) adalah pemutus rantai, penangkap radikal bebas di membran sel dan plasma lipoprotein dengan bereaksi terhadap radikal peroksi lipid hasilnya adalah tokoperoksil (produk tokoferol yang telah teroksidasi yang tidak reaktif).³⁷⁻³⁹

Vitamin C dapat bertindak sebagai antioksidan umum yang larut air, dengan cara mereduksi tokoferol teroksidasi didalam membran sehingga membantu fungsi tokoferol sebagai pertahanan baris pertama dalam proses peroksidasi lipid. Vitamin C mempunyai kemampuan menetralsir oksigen singlet, stabilisasi radikal hidroksil dan regenerasi vitamin E tereduksi kembali ke kondisi aktif sehingga dapat menghentikan proses peroksidasi lipid membran sel.³⁷⁻³⁹

Dari penjelasan diatas diharapkan dengan menurunnya kadar glukosa darah sebagai efek penurunan laju absorpsi glukosa di lumen intestinum oleh

karagenan dan adanya antioksidan (Vitamin A, E, dan C) yang terkandung dalam *Eucheuma* sp. dapat mengurangi produksi radikal bebas dan dapat mengurangi kerusakan eritrosit sehingga jumlah eritrosit akan meningkat. Namun dari hasil penelitian didapatkan tidak ada perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan, untuk itu perlu penelusuran pustaka lebih lanjut untuk mengetahui penyebabnya.

Hasil penelitian menunjukkan tidak terdapat perbedaan bermakna jumlah eritrosit pada kelompok perlakuan (P1,P2,P3) kemungkinan disebabkan oleh durasi pemberian diet rumput laut *Eucheuma* sp. yang relatif singkat (63 hari). Sebab lain mungkin dosis pemberian diet *Eucheuma* sp. yang kurang bervariasi dengan interval yang cukup sempit (4, 8 dan 12 gr/KgBB/hari). Penyebab lainnya adalah pemberian diet rumput laut *Eucheuma* sp. yang secara ad libitum pada tikus wistar sehingga mungkin dalam sehari diet rumput laut tidak bisa masuk sepenuhnya sesuai dosis yang ditentukan dalam perlakuan, hal ini sebetulnya bisa dihindari dengan memberikan diet secara sonde. Namun dijumpai kesulitan dalam memasukkan diet menggunakan sonde karena rumput laut tersebut akan mengembang jika dicampurkan dengan air. Maka dari itu bila akan dilakukan penelitian selanjutnya perlu dicari cara yang efektif agar dosis *Eucheuma* sp. dapat masuk sepenuhnya.

Hasil penelitian ini dapat berarti diet rumput laut *Eucheuma* sp. dengan dosis 4gr/KgBB/hari, 8gr/KgBB/hari, 12gr/KgBB/hari selama 63 hari tidak menaikkan jumlah eritrosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 KESIMPULAN

Diet rumput laut *Eucheuma* sp. dengan dosis bertingkat yaitu 4gr/KgBB/hari, 8gr/KgBB/hari, dan 12gr/KgBB/hari tidak terbukti dapat meningkatkan jumlah eritrosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

5.2 SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan memperhatikan durasi waktu, interval dosis, dan cara pemberian diet rumput laut *Eucheuma* sp. yang digunakan sehingga dapat mengetahui waktu dan dosis yang diperlukan untuk mendapatkan efek pada jumlah eritrosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Nindyaning R. Potensi rumput laut. Available from: <http://www.rumputlaut.org>. Accessed January 21,2009.
2. Dhargalkal VK, Pereira N. Seaweed: promising plant of the millenium. *Science and Culture* 2005 March: 71(3): 60-6.
3. Patra JK, Rath SK, Rathod VK, Tathoi H. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of seaweed (*Sargassum* sp.) extract: a study on inhibition of glutathion s-transferase activity. *Turk J Biol* 2008. 32:119-125.
4. Brambilla D, Mancuso C, Scuderi MR, Bosco P, Contarella G, Lempeureur L et al. The role of antioxidant suplement in immune system,neoplastic, and neurodegenerative disorder: a point of view for an assesment of the risk or benefit profile. *Nutrition Journal* 2008 September 30: 7 (29). Available from URL: <http://www.nutritionj.com/content/7/1/29>.
5. Kim MS, Kim YY, Choi WH, Lee SS. Effect of seaweed supplementation, lipid profile, and antioxidant enzyme activities in patient with type 2 diabetes mellitus. *Nutrition Research and Practice* 2008: 2(2): 62-7.
6. Suyono S. Diabetes mellitus di Indonesia. Dalam: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu penyakit Dalam. Edisi IV. Jilid III. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006: 1874-78
7. Rand ML, Murray RK. Sel darah merah dan putih. Dalam: Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia Harper. Edisi 25. Alih Bahasa: Hartono A. Jakarta: EGC, 2001: 727-42.
8. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol*. 2005 April 29: 4(5). Available from URL: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?iid=18041>
9. Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV. Jilid III. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006: 1857
10. Pilona PA, Litonjua P, Santa LA, Raskin P. Anemia associated with new onset diabetes: improvement with blood glucose control. *American A Djokomoeljanto R. Neuropati diabetik. Dalam: Naskah lengkap diabetes mellitus ditinjau dari berbagai aspek penyakit dalam. Editor: Darmono, Suhartono T, Pemayun TGD, Padmodarmono FS. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro. 2007:4-9.*
11. ssociation of Clinical Endocrinologist 2002 August: 8(4): 276-81. Available from URL: <http://aace.metapress.com>.
12. Nugroho BA, Purwaningsih E. Pengaruh diet ekstrak rumput laut (*Eucheuma* sp.) terhadap kadar glukosa darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) hiperglikemik. *Media Medika Indonesia* Vol.39 No.3, 2004:154-60.
13. Nugroho BA, Purwaningsih E. Perbedaan diet ekstrak rumput laut (*Eucheuma* sp.) dan Insulin dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus

- putih (*Rattus norvegicus*) hiperglikemik. Media Medika Indonesia Vol.41 No.1, 2006: 23-30
14. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2002; 82:47-95. Available from URL: <http://Physrev.physiology.org/cgi>
 15. Waspadji S. Komplikasi kronik diabetes: mekanisme terjadinya, diagnosis dan strategi pengelolaan. Dalam: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV. Jilid III. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006: 1884.
 16. Schteigart DE. Pankreas: metabolisme glukosa dan diabetes mellitus. Dalam: Price SA, Wilson LM. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi 6. Volume 1. Alih Bahasa: Pendit BU, Hartanto H, Wulansari P, Mahanani DA. Jakarta: EGC, 2005: 247-67.
 17. Molina EP. Endocrine pancreas. In: Lange endocrine physiology (book on CD-ROM). 2nd ed by Vishal. The Mc Graw-Hills Companies; 2007.
 18. Maitra A. The endocrine system. In: Kumar R, Abbas A, Fausto N. Robbins and Cotran's pathology basic of disease (book on CD-ROM). 7th ed. Saunders:2007
 19. Borg LAH, Eidfi SJ, Anderson A, Hellerstrom C. Effect invitro of alloxan on the glucose metabolism of mose pancreatic β cells. *Biochem j*; 1979: 182: 197-802
 20. Sakurai K, Katon M, Someno K, Fujimoto Y. Apoptosis and mitokondrial damage in INS-1 cells treated with alloxan. *Biol Pharm Bull* 2001; 24(8): 876-882.
 21. Devi KP, Suganthy N, Kesika P, Pandian SK. Bioprotective properties of seaweeds: in vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity against food borne bacteria in relation to polyphenolic content. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2008 July 10: 8(38). Available from URL: <http://www.biomedcentral.com/1472-6882/8/38>
 22. Doty MS. The production and use of *Eucheuma*. Available from URL: <http://www.fao.org/documents>. Accessed January 21,2009.
 23. Astawan M. Agar-agar pencegah hipertensi dan diabetes. Available fro URL: <http://www.rumputlaut.org>.
 24. Wiryatmadi B, Adriani M, Purwanti S. Pemanfaatan rumput laut (*E.cottoni*) dalam meningkatkan nilai kandungan serat dan yodium tepung terigu dalam pembuatan mi basah. *Jurnal Penelitian Media Eksakta* 2002 April 1; 3(1): 89-104.
 25. Apritna A. Nutrisi, nilai per 100 gram porsi makanan. Available from URL: <http://www.asiamaya.com/nutrients/rumputlautmentah.htm>. Accessed January 15,2009
 26. Gustaviani R. Diagnosis dan klasifikasi diabetes mellitus. Dalam: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu penyakit Dalam. Edisi IV. Jilid III. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006: 1874-78

27. Sentra informasi IPTEK. Rumput laut/ alga-*Eucheuma* sp. Available from URL: <http://www.iptek.net.id>. Accessed January 15, 2009
28. Istini S, Zatnika A, Suhaimi. Manfaat dan pengolahan rumput laut. Available from URL: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB882E/AB882E14.htm>.
29. Skudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin activity in B cells of the rats pancreas. *Physiol Res* 2001; 50(6): 537-46. Available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11829314>. Accessed January 25, 2009.
30. Sel-sel darah merah, anemia dan polisitemia. Dalam: Buku ajar fisiologi kedokteran(Text book of medical physiology). Edisi 9. Alih Bahasa: Setiawan I, Tengadi LMAKA, Santoso A. Jakarta: EGC.1997: 529-30
31. Eritropoesis dan aspek umum anemia. Dalam: Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH. Kapita selekta hematologi (Essential hematology). Alih bahasa: Setiawan L, DA Mahanani. Jakarta: EGC. 2005: 11-21.
32. Erythrocytes. In: Turgeon ML. Clinical hematology theory and procedures. 2nd ed. London; 1993: 57-72
33. Koolman J, Roehm KH. Color atlas of Biochemistry (book on CD-ROM). 2nd ed. Stuttgart(NY): Thieme; 2005: 284-85
34. Dacie SJ, Lewis SM. Practical haematology. 7th ed. Edinburg: ELBS Loughman Group; 1991 :42-48.
35. Takeshi S, Yumiko YS, Santoso J. Mineral components and antioxidants activities of tropical seaweed. *Journal of Ocean University of China* 2005 July: 4(3): 205-208. Available from URL: <http://www.springerlink.com>.
36. Maiese K, Morhan SD, Chong ZZ. Oxidative stress biology and cell injury during type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Curv Neovasc Res* 2007 february: 4(1):63-71. Available from URL: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender>.
37. Helwig Brian. Antioxidants and exercise. Available from URL: <http://www.exrx.net/nutrition/antioxidant/introduction>.
38. Chertow B. Advances in diabetes for the millenium: vitamins and antioxidant stress in diabetes and its complication. *Med Gen Med* 2004 October: 6(3). Available from URL: <http://www.pubmedcentral.nih.gov>.
39. Maritim AC, Sander RA, Watkin JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants a review. *J Biochem Molecular Toxicology* 2003; 17(1).
40. Chan L, Terashima T, Fujimiya M, Kojima H. Chronic diabetic complications: the body's adaptive response to hyperglycemia gone awry. *Trans An Climatol Assoc* 2006; 117:341-352. available from URL: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender>.
41. Minetti M, Agati L, Mallorni W. The microenvironment can shift erythrocyte from a friendly to a harmful behaviour: pathogenetic implication for vascular disease. *Cardiovasc Res* 2007; 75(1): 21-28. Available from URL: <http://cardiovascres.oxfordjournals.org>.
42. Sailaja YR, Baskar R, Saralakumari D. The antioxidant status during maturation of reticulocyte to erythrocyte in type 2 diabetics. *Free Radical Biology and medicine* 2003 July 15: 35(2): 133-39.

43. Bierhaus A, Hoffman MA, Ziegler R, Nawroth PP. AGEs and their interaction with AGE receptor in vascular disease and diabetes. *Cardiovasc res* 1998; 37(3): 586-600. Available from URL : <http://cardiovascres.oxfordjournals.org/cgi/content>
44. WHO. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. Manila: WHO Regional Office for The Western Pacific. 1993
45. Petunjuk operasional alat analisa hematologi Nihon Kohden Celltac α , MEK-6318 K. Nihon Kohden Corporation. Jakarta: PT Gandasari Ekasatya.
46. Thomas MC, Tsalamandris C, Mac-Isaac RJ, Jerums G. Anemia in diabetes: an emerging complication of microvascular disease. *Current Diabetes Reviews* 2005 January; 1(1): 107-126. Available from: <http://www.ingentaconnect.com/content>.
47. Craig KJ, Williams DJ, Riley SG, Smith H, Owens DR, Worthing D, et al. Anemia and diabetes in the absence of nephropathy. *Diabetes Care* 2005; 28: 1118-23. Available from URL <http://care.diabetesjournals.org/cgi/content/full>.
48. Nutrition facts dried Eucheuma seaweed. Available from URL: <http://www.nutritiondata.com>

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Dasar

Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Jumlah Eritrosit Tikus Wistar (dalam 10^6 /mikroliter darah)

Sampel	Kontrol Negatif (K-)	Kontrol Positif (K+)	Perlakuan 1 (P1)	Perlakuan 2 (P2)	Perlakuan 3 (P3)
Tikus 1	7,75	4,61	6,47	7,18	7,35
Tikus 2	7,38	7,16	7,69	7,23	7,34
Tikus 3	7,67	7,96	6,55	6,83	6,88
Tikus 4	7,22	7,50	7,18	7,49	7,20
Tikus 5	7,42	7,41	7,37	6,77	6,65

Keterangan:

K- (diet standar)

K+ (injeksi aloksan intra peritoneal + diet standar)

P1 (injeksi aloksan intra peritoneal + diet ekstrak *Eucheuma* sp. 4gr/KgBB/hari)

P2 (injeksi aloksan intra peritoneal + diet ekstrak *Eucheuma* sp. 8gr/KgBB/hari)

P3 (injeksi aloksan intra peritoneal + diet ekstrak *Eucheuma* sp. 12gr/KgBB/hari)

Lampiran 2. Analisis Data

Case Processing Summary

Perlakuan	Cases						
	Valid		Missing		Total		
	N	Percent	N	Percent	N	Percent	
Jumlah eritrosit dalam juta per mikroliter	Control negative	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	kontrol positif	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Diet Eucheuma sp.4 gr/kgBB	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Diet Eucheuma sp.8 gr/kgBB	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	Diet Eucheuma sp.12 gr/kgBB	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

perlakuan	Statistic	Std. Error
jumlah eritrosit dalam juta per mikroliter	Mean	7.4880
	95% Confidence Interval for Mean	.09744
	Lower Bound	7.2175
	Upper Bound	7.7585
	5% Trimmed Mean	7.4883
	Median	7.4200
	Variance	.047
	Std. Deviation	.21788
	Minimum	7.22
	Maximum	7.75
	Range	.53
	Interquartile Range	.41
	Skewness	.129
	Kurtosis	-1.829
kontrol positif	Mean	.913
	95% Confidence Interval for Mean	2.000
	Lower Bound	6.9280
	Upper Bound	.59378
	5% Trimmed Mean	5.2794
	Median	8.5766
	Variance	6.9994
		7.4100
		1.763

		Std. Deviation	1.32773	
		Minimum	4.61	
		Maximum	7.96	
		Range	3.35	
		Interquartile Range	1.85	
		Skewness	-1.966	.913
		Kurtosis	4.135	2.000
diet Eucheuma		Mean	7.0520	.23614
sp.4 gr/kgBB		95% Confidence Interval for Mean		
	Lower Bound		6.3964	
	Upper Bound		7.7076	
		5% Trimmed Mean	7.0489	
		Median	7.1800	
		Variance	.279	
		Std. Deviation	.52803	
		Minimum	6.47	
		Maximum	7.69	
		Range	1.22	
		Interquartile Range	1.02	
		Skewness	-.084	.913
		Kurtosis	-2.301	2.000
diet Eucheuma		Mean	7.0100	.19522
sp.8 gr/kgBB		95% Confidence Interval for Mean		
	Lower Bound		6.4680	
	Upper Bound		7.5520	
		5% Trimmed Mean	7.0183	
		Median	7.1800	
		Variance	.191	
		Std. Deviation	.43652	
		Minimum	6.38	
		Maximum	7.49	
		Range	1.11	
		Interquartile Range	.79	
		Skewness	-.690	.913
		Kurtosis	-.526	2.000
diet Eucheuma		Mean	7.0840	.13779
sp.12 gr/kgBB		95% Confidence Interval for Mean		
	Lower Bound		6.7014	
	Upper Bound		7.4666	
		5% Trimmed Mean	7.0933	
		Median	7.2000	
		Variance	.095	
		Std. Deviation	.30811	
		Minimum	6.65	

Maximum	7.35	
Range	.70	
Interquartile Range	.58	
Skewness	- .756	.913
Kurtosis	-1.523	2.000

Tests of Normality

Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk			
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.	
jumlah eritrosit dalam juta per mikroliter	kontrol negatif	.223	5	.200(*)	.939	5	.659
	kontrol positif	.369	5	.025	.756	5	.034
	diet Eucheuma sp.4 gr/kgBB	.229	5	.200(*)	.912	5	.482
	diet Eucheuma sp.8 gr/kgBB	.252	5	.200(*)	.945	5	.703
	diet Eucheuma sp.12 gr/kgBB	.247	5	.200(*)	.875	5	.285

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

TES KRUSKAL WALLIS

Ranks

perlakuan	N	Mean Rank
jumlah eritrosit dalam juta per mikroliter	5	18.80
kontrol negatif	5	14.60
kontrol positif	5	11.10
diet Eucheuma sp.4 gr/kgBB	5	10.10
diet Eucheuma sp.8 gr/kgBB	5	10.40
diet Eucheuma sp.12 gr/kgBB	5	10.40
Total	25	

Test Statistics(a,b)

	jumlah eritrosit dalam juta per mikroliter
Chi-Square	5.077
df	4
Asymp. Sig.	.279

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: perlakuan

Lampiran 3. Kandungan Nutrisi *Eucheuma* sp. Kering per 7 gram .

Kandungan	Jumlah
serat diet	0,3 gram
Vitamin A	39,9 IU
Vitamin C	0,7 mg
Vitamin E (Alpha Tocopherol)	0,4 mg
Vitamin K	1,8 mcg
Thiamin (Vitamin B1)	0,2 mg
Riboflavin (Vitamin B2)	0,3 mg
Niacin (Vitamin B3)	0,9 mg
Folate	6,6 mcg
Pantothenic Acid	0,2 mg
Calcium	8,4 mg
Iron (Fe)	2,0 mg
Magnesium	13,7 mg
Phosphorus	8,3 mg
Zinc	0,1 mg
Copper (Cu)	0,4 mg
Manganese	0,1mg
Selenium	0,5 mcg

