

Efek Ekstrak Daun *Tithonia diversifolia* terhadap Penurunan Konsentrasi Adiponektin pada Tikus Diabetik yang Diinduksi oleh *Streptozotocin*

Effect of Tithonia diversifolia Extract in Lowering Adiponectin Concentration on Streptozotocin-induced Diabetic Rat

Rondius Solfaine^{1*}, Lailatul Muniroh², Wida Wahidah Mubarakah³

¹Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya, Jl. Dukuh Kupang XXV No. 54, Dukuhpakis, Surabaya, 60225

²Departemen Gizi Masyarakat, Fakultas Kesehatan Masyarakat, Universitas Airlangga, Kampus C, Mulyorejo, Kec. Mulyorejo, Surabaya, 60111

³Politeknik Pembangunan Pertanian Yogyakarta, Jl. Magelang-Kopeng km 7,

Purwosono, Tegalrejo, Magelang, Jawa Tengah

*Email: solvaine@yahoo.co.id

Naskah diterima: 20 Juni 2019, direvisi: 23 Juli 2019, disetujui: 30 November 2019

Abstract

Diabetes Melitus is a metabolic diseases characterized by hyperglycemia due to lack of insulin secretion or insulin activity resistance. Chronic hyperglycemia in diabetes is associated with long-term damage, dysfunction, and failure of various organs, especially the kidneys, nerves, heart, and blood vessels. The purpose of this study was to analyze the activity of adiponectin, superoxide dismutase, malondialdehyde, and glucose level in Streptozotocin (STZ)-induced diabetic wistar rats. The wistar rats were divided into 4 groups: control rats (D0), STZ-induced diabetic rats + Na-CMC (D1), STZ-induced diabetic rats + thitonia extract dose 100 mg / kg (D2), and STZ-induced diabetic rats + catechin dose 10 mg/kg (D3) for 7 days. Diabetes was induced by injection of streptozotocin (STZ) at the dosage of 60 mg/kg intraperitoneally (IP) for 7 days. On the 8th day after the treatment, all groups of rats were sacrificed and blood samples were taken for superoxide dismutase, malondialdehyde, and adiponectine protein analysis using ELISA technique, while glucose level was measured using calorimetry technique. Statistical analysis was done to examine the differences between treatment and control by using One Way Anova test with a 95% confidence level ($\alpha=0.05$). The results showed that there were significant differences in glucose levels ($p = 0.020$) and adiponectin ($p = 0.001$) between the control and treatment groups, but there were no differences in level of MDA ($p = 0.103$) and SOD ($p = 0.207$) between groups. Based on the results of the study, it was concluded that the administration of *Tithonia diversifolia* leaf extract could reduce blood sugar and adiponectin concentrations significantly ($p \leq 0.05$) in streptozotocin-induced diabetic rats.

Key words: malondialdehyde; streptozotocin; superoxide dismutase; *Tithonia diversifolia*

Abstrak

Diabetes Melitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai kondisi hiperglikemia karena kurangnya sekresi insulin atau resistensi aktivitas insulin. Hiperglikemia yang kronis pada diabetes berkaitan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi, dan kegagalan berbagai organ, terutama ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis aktivitas adiponektin, superoxide dismutase, malondialdehid, dan kadar glukosa pada diabetes melitus yang diinduksi streptozotocin pada tikus wistar. Penelitian ini menggunakan tikus Wistar jantan yang dibagi menjadi 4 kelompok, kelompok tikus kontrol dengan plasebo (D0), kelompok tikus diabetes yang diinduksi STZ + Na-CMC (D1), kelompok tikus diabetes yang diinduksi STZ + ekstrak Thitonia dosis 100 mg/kg bb (D2), dan kelompok tikus diabetes yang diinduksi STZ + obat pembanding catechin dosis 10 mg / kg bb (D3) selama 7 hari. Pembuatan model diabetes dengan induksi streptozotocin (STZ) dosis 60 mg / kg bb secara intraperitoneal (IP) selama 7 hari. Pada hari ke-8 setelah perlakuan, semua kelompok tikus dikorbankan untuk pengambilan sampel darah dan selanjutnya diukur kadar superoksida dismutase, malondialdehid dan adiponektin dengan ELISA serta pengukuran kadar glukosa dengan teknik kalorimetri. Analisis statistik data untuk menguji perbedaan antara kelompok kontrol dan perlakuan dengan

uji *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Hasil penelitian menunjukkan ada perbedaan kadar glukosa ($p = 0,020$) dan adiponektin ($p = 0,001$) antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan, tetapi tidak ada perbedaan dalam kadar MDA ($p = 0,103$) dan kadar SOD ($p = 0,207$) antara kelompok. Pemberian ekstrak daun *Tithonia diversifolia* menurunkan kadar gula darah dan adiponektin secara signifikan ($p \leq 0,05$) pada tikus putih yang diinduksi streptozotocin.

Kata kunci: malondialdehid; streptozotocin, superoxide dismutase; *Tithonia diversifolia*

Pendahuluan

Diabetes Melitus merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah. Diabetes Melitus diklasifikasikan menjadi Diabetes Melitus tipe I terjadi karena berkurangnya insulin dalam sirkulasi darah akibat hilangnya sel beta penghasil insulin pada pulau-pulau langerhans pankreas, sedangkan Diabetes Melitus tipe 2 terjadi karena insulin yang ada tidak bekerja dengan baik karena reseptor insulin pada sel berkurang atau berubah struktur sehingga hanya sedikit glukosa yang berhasil masuk sel. Secara patologis, diabetes menunjukkan nekrosis dan vakuolisasi pada sel β Langerhans pankreas. Infiltrasi limfosit masuk ke dalam sel pankreas mengindikasikan terjadi proses autoimun pada sel β Langerhans pankreas (Olokoba *et al.*, 2012).

Protein adiponektin, dan resistin dihasilkan oleh jaringan adiposa. Protein ini mengatur nafsu makan dan keseimbangan energi tubuh. Adiponektin bisa menekan perkembangan aterosklerosis dan fibrosis serta mempunyai peran sebagai hormon antiinflamasi. Protein adiponektin dan resistin memiliki peran penting dalam homeostasis energi, glukosa dan lemak. Selain itu mengatur fisiologis reproduksi, kardiovaskular, dan sistem kekebalan (Benomar, *et al.*, 2016., Lekva *et al.*, 2017). Leptin dan adiponektin memiliki efek berlawanan pada peradangan subklinis dan resistensi insulin. Adiponektin memiliki sifat anti inflamasi serta menurunkan ekspresi dan pelepasan sejumlah imun mediator proinflamasi. Adiponektin merupakan mediator penting dari peningkatan risiko Diabetes Melitus dan penyakit kardiovaskular yang terkait dengan diet tinggi lemak (Lopez, *et al.*, 2014).

Malondialdehid (MDA) adalah substrat hasil akhir yang stabil dari peroksidasi lemak yang diproduksi dari interaksi dengan radikal bebas di membran fosfolipid pada penderita Diabetes Melitus tipe 2. Malondialdehid ditemukan di membran sel darah merah. Lipid/lemak adalah target awal yang akan dirusak oleh radikal bebas. SOD memiliki peran dalam melindungi kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh *reactive oxygen species* (ROS).

Peningkatan kadar SOD terbukti menurunkan stress oksidatif dan apoptosis neuron pada tikus, sehingga mencegah diabetes (Matough *et al.*, 2012).

Streptozotocin (STZ) adalah produk nitrosourea alami dari *Streptomyces achromogenes*. Biasanya, injeksi intraperitoneal dosis tunggal (60 mg/kg berat badan) mengandung toksisitas langsung pada sel β yang menghasilkan nekrosis dalam 48-72 jam dan menyebabkan hiperglikemia (Akbarzadeh *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2015). Kerja sitotoksik STZ ini diperantarai oleh *reactive oxygen species* (ROS). Streptozotocin dan produk reduksinya memasuki siklus redoks, dan membentuk produk samping radikal superoksida. Radikal ini mengalami dismutasi menjadi H_2O_2 , radikal hidroksil yang sangat reaktif terbentuk melalui reaksi Fenton. Kerja ROS simultan dengan meningkatnya kadar kalsium sitosol yang menyebabkan cepat rusaknya sel β pankreas (Winarsi *et al.*, 2013).

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi obat adalah tanaman kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) (Hanum and van der Masen, 2002). *Tithonia Diversifolia* secara tradisional digunakan sebagai obat sakit perut, kembung, diare, dan anti radang atau antiinflamasi (Dalimartha, 2000). Daun *Tithonia Diversifolia* mengandung zat aktif (fitokimia) berupa alkaloid, saponin, saponin glikosida, tannin, balsam, dan *volatile oil* (Elufioye *et al.*, 2009., John-Dewole and Oni, 2013). *Tithonia diversifolia* merupakan tanaman yang digunakan masyarakat China untuk antidiabetes (Zhao *et al.*, 2012).

Materi dan Metode

Penelitian ini merupakan ekperimental murni dengan menggunakan tikus putih Wistar sebagai hewan coba. Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Laboratorium Patologi Klinik Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga, dan Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar berumur 2-3 bulan dengan kondisi

fisik tidak ada cacat tubuh dan memenuhi berat badan yang normal (150-200 gram). Kandang tikus putih yang digunakan dalam penelitian ini berupa kotak plastik berukuran 40 cm x 30 cm yang bagian atasnya ditutup dengan kawat anyaman.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain : alkohol, aquades, buffer formalin, xylen, aquades, sediaan streptozotocin (STZ), Kit ELISA (adiponektin, SOD, MDA). Peralatan yang dipakai antara lain: gelas obyek, gelas penutup, ELISA Reader, container glass, tissue processing, mikrotome, sentrifuge, pipet mikro eppendorf, spektrofotometer.

Ekstrak diperoleh dari daun tanaman kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) segar yang diekstraksi dengan teknik maserasi etanol 96% dan dianalisis secara kualitatif-kuantitatif.

Perlakuan

Hewan coba yang digunakan adalah 32 ekor tikus putih jantan galur Wistar berumur 2-3 bulan dan berat badan normal (150-200 gram). Tikus diadaptasi selama 1 minggu dan diberi makan berupa pakan pelet khusus dan minum *ad libitum*. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok yang terdiri atas 8 ekor tiap kelompok, yaitu : Kelompok kontrol, diberi aquades (D0) ; Kelompok diabetes yang diinduksi STZ + Na-CMC (D1); Kelompok diabetes yang diinduksi STZ + ekstrak daun kembang bulan 100 mg/kg (D2); dan Kelompok diabetes yang diinduksi STZ + obat perbandingan catechin dosis 10 mg/kg (D3). Kelompok tikus D1, D2 dan D3 diinduksi dengan STZ dosis 60 mg/kg BB secara intraperitoneal. Perlakuan dilaksanakan selama 7 hari. Pada hari ke-8 setelah perlakuan, seluruh tikus dikorbankan untuk diambil sampel darah.

Analisis Kadar Glukosa

Sampel serum darah dikoleksi sesudah perlakuan. Kadar glukosa diukur dengan teknik kalorimetri (*Glucose kit DiaSys Diagnostic Systems GmbH, Germany*).

Pengukuran Konsentrasi Adiponektin

Pengukuran konsentrasi adiponektin, radikal bebas MDA, dan aktivitas enzimatis SOD dengan menggunakan sampel serum darah. Serum disentrifus dengan kecepatan 1000 g selama 15 menit kemudian dimasukkan ke tube steril dan disimpan dalam freezer -20°C. Kit ELISA yang digunakan adalah kit ELISA *Parameter Total Adiponectin Assay*. Pengukuran

konsentrasi sitokin secara tidak langsung dengan pasangan reaksi enzimatik yang dapat dibaca nilai *Optical Density* (OD). Prinsip kerja pengukuran dengan cara serum diinkubasikan berturut-turut dengan reagen antibodi spesifik yang diikat dengan *Avidin-Horseradish Peroxidase* (HRP) dan diinkubasikan dengan substrat, kemudian tanpa membuang reaktan hasil inkubasi tersebut dibaca nilai *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 450 nm dengan Photometer 5010 (RIELE GmbH & Co, Germany).

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan rancangan *Randomized Posttest Control Group Design*. Analisis data untuk menguji kadar glukosa, adiponektin, MDA, dan SOD antara kelompok perlakuan dan kontrol, jika data berdistribusi normal dan varians homogen dilakukan menggunakan *One Way Anova* dan dilanjutkan dengan *post hoc test* dan *Duncan test*. Jika varians heterogen maka digunakan uji Kruskal Wallis, untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda maka digunakan uji *Mann-Whitney*.

Hasil dan Pembahasan

Glukosa Darah Tikus

Diabetes ditandai dengan peningkatan kadar glukosa dalam darah dan seringkali muncul tanpa gejala. Pada diabetes tipe 2 (DM tipe 2), faktor genetik dan lingkungan memiliki pengaruh yang cukup besar pada terjadinya DM tipe 2, antara lain obesitas, diet tinggi lemak dan rendah serat, serta kurang gerak badan. Induksi STZ dosis 60 mg/kg bb selama 7 hari pada kelompok tikus putih dapat menyebabkan terjadinya diabetes. Hasil pemeriksaan kadar glukosa serum darah dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata kadar glukosa (mg/dl) pada kelompok kontrol dan perlakuan

Kelompok	n	Mean±SD	p
D0 (Kontrol)	8	150,375 ± 15,070 ^a	0,020
D1 (Induksi STZ+ Na-CMC)	8	226,625 ± 74,630 ^b	
D2 (Induksi STZ + ekstrak daun kembang bulan)	8	203,750 ± 62,490 ^b	
D3 (Induksi STZ + catechin)	8	234,125 ± 122,804 ^b	

^{a,b} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p \leq 0.05$).

Berdasarkan uji *homogeneity of variances* didapatkan sig. 0,012 sehingga uji Kruskal Wallis, dan didapatkan nilai $p=0,020$ yang artinya terdapat perbedaan rata-rata kadar glukosa pada kelompok kontrol dan perlakuan. Hasil uji *Mann-Whitney*, dan diperoleh hasil sebagai berikut ada perbedaan kadar glukosa antara kelompok D0 dengan kelompok D1 dan D2 ($p\leq 0.05$) dan tidak ada beda nyata antara kelompok perlakuan D1, D2 dan D3 ($p\geq 0.05$).

Pada penderita Diabetes Melitus tipe 2, kadar glukosa dalam darah meningkat karena ketidakseimbangan produksi dan asupan glukosa yang menstimulasi insulin untuk memasukkan gula ke dalam sel, khususnya sel otot skeletal. Resistensi insulin terjadi, dimana jumlah insulin banyak namun tidak dapat melakukan fungsinya, sehingga glukosa dalam darah tidak dapat masuk ke sel. Sel islet akan terus memproduksi insulin sehingga hiperinsulinemia juga terjadi bersamaan dengan hiperglikemia (Akbarzadeh *et al.*, 2007).

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun kembang bulan mempunyai efek menurunkan kadar gula darah (glukosa) pada kelompok tikus perlakuan. Hasil perlakuan secara per oral ekstrak daun kembang bulan dosis 100 mg/kg mampu menurunkan kadar glukosa dari 226,62 mg/dl (kelompok D1) menjadi 203,75 mg/dl (D2). Ekstrak daun kembang bulan (*Tithonia diversifolia*) terbukti menurunkan kadar glukosa pada tikus putih pada penelitian ini mengindikasikan ekstrak *Tithonia diversifolia* menurunkan kadar glukosa dan mencegah diabetes yang diinduksi STZ. Aktivitas hipoglikemik ekstrak daun kembang bulan terjadi setelah proses metabolisme berjalan selama induksi STZ dan perlakuan ekstrak selama 7 hari. Kadar gula darah pada kelompok perlakuan ekstrak

daun kembang bulan (D3) lebih rendah dibandingkan kelompok induksi diabetes (D1) maupun kelompok yang diberikan obat pembanding catechin (D3).

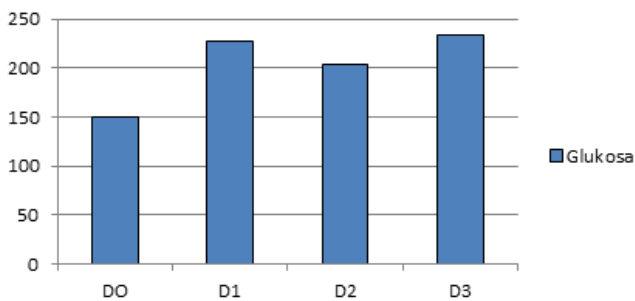
Kadar Adiponektin Tikus

Adiponektin adalah hormon turunan dari adiposit atau jaringan lemak. Adiponektin terdapat dalam plasma, memiliki fungsi anti-aterogenik, antidiabetik, dan anti-inflamasi (Jaramillo *et al*, 2014). Fungsi anti-diabetik adiponektin didapatkan melalui berbagai mekanisme diantaranya: meningkatkan oksidasi asam lemak, menurunkan stres retikulum endoplasma, menolong sinyal insulin, meningkatkan jumlah mitokondria dan fungsinya, meningkatkan sekresi insulin, menurunkan produksi glukosa hati, meningkatkan *uptake* glukosa di hati dan otot, serta meningkatkan metabolisme glukosa (Chakraborti, 2015). Rerata kadar adiponektin pada kelompok kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Berdasarkan uji normalitas (sig. 0,297) dilanjutkan dengan uji anova ($p=0,001$) menunjukkan perbedaan rata-rata kadar adiponektin antara ke empat kelompok. Berdasarkan uji beda antar kelompok diketahui ada perbedaan yang nyata pada kelompok D0 dengan D1, D2, D3 ($p\leq 0.05$) dan ada beda kelompok D3 dengan D1 dan D2 ($p\leq 0.05$).

Adiponektin mengikat permukaan reseptor sel, mengaktivasi beberapa sinyal intrasel melalui beberapa molekul seperti AMPK dan PPARs yang berperan penting dalam metabolisme lemak dan karbohidrat (Shehzad *et al*, 2012). Bersama dengan adipokin lainnya, adiponektin mengontrol secara spesifik sintesis dan penyimpanan lemak, glukoneogenesis dan utilisasi glukosa pada jaringan perifer. Efek anti-inflamasi yang dimiliki adiponektin dilakukan dengan mengaktifkan reseptor AdipoR1, AdipoR2,

Glukosa

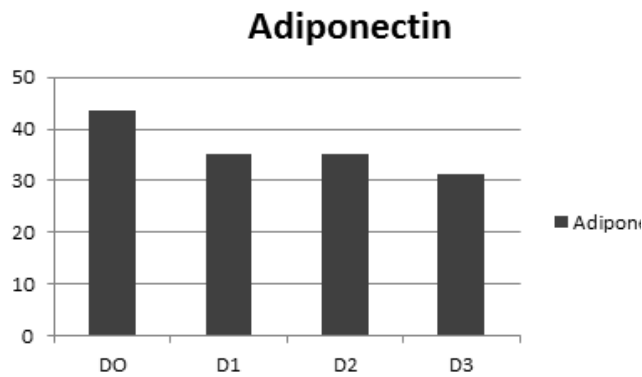


Gambar 1. Grafik kadar glukosa antara kelompok kontrol dan perlakuan

Tabel 2. Rata-rata kadar Adiponektin (mg/dl) pada kelompok kontrol dan perlakuan

Kelompok	n	Mean±SD	p
D0 (Kontrol)	8	39,138 ± 1,791 ^a	0,001
D1 (Induksi STZ+Na-CMC)	8	35,109 ± 3,478 ^b	
D2 (Induksi STZ + ekstrak daun kembang bulan)	8	35,157 ± 3,294 ^b	
D3 (Induksi STZ + catechin)	8	31,376 ± 4,494 ^c	

^{a,b,c} Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata ($p\leq 0.05$).



Gambar. 2 Grafik kadar adiponektin antara kelompok kontrol dan perlakuan

dan T-cadherin (Robinson *et al*, 2011). AdipoR1 dan AdipoR2 yang aktif memiliki peran dalam meningkatkan oksidasi asam lemak, mengurangi glukoneogenesis di hati, meningkatkan *uptake* glukosa di sel, serta menghambat inflamasi dan stress oksidatif. T-cadherin yang teraktivasi adalah melindungi sel dari stress oksidatif yang dapat menyebabkan apoptosis atau kematian sel. Selain itu, adiponektin juga meningkatkan sekresi *nitric oxide* pada sel endotel, sehingga adiponektin memiliki peran dalam pencegahan berbagai gangguan atau penyakit degeneratif seperti sindrom metabolik, Diabetes Melitus, obesitas, dan penyakit kardiovaskuler (Benomar *et al*. 2016)

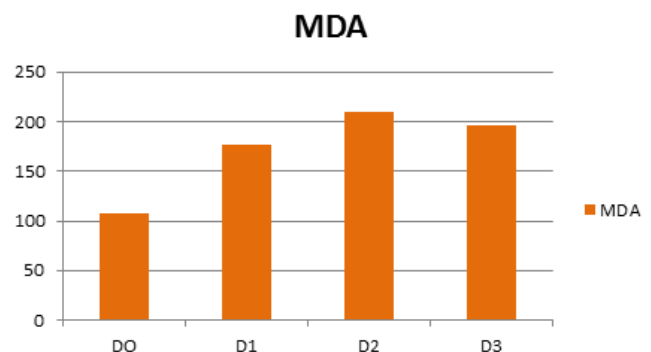
Pada penderita obesitas, kadar adiponektin cenderung rendah (Arita *et al*, 2012). Penelitian Maahs *et al* (2009), pada remaja penderita diabetes, memperoleh hasil bahwa kadar adiponektin lebih tinggi pada penderita Diabetes Melitus tipe 1 daripada tipe 2. Penelitian lain menyebutkan rendahnya kadar adiponektin telah terbukti berhubungan signifikan dengan kejadian Diabetes Melitus tipe 2. Chakraborti (2015) dan Majewska *et al* (2016) menyebutkan bahwa adiponektin meningkatkan sensitivitas insulin dengan mengurangi kadar asam lemak dalam plasma pada penderita obesitas dan Diabetes Melitus tipe 2, dimana ditemukan bahwa konsentrasi adiponektin dalam serumnya rendah.

Kadar Malondialdehide (MDA) Tikus

Malondialdehid (MDA) adalah substrat hasil akhir yang stabil dari peroksidasi lemak yang diproduksi dari interaksi dengan radikal bebas di membran fosfolipid pada penderita Diabetes Melitus tipe 2. Malondialdehid ditemukan di membran sel darah merah. Seperti yang sudah diketahui sebelumnya, bahwa lipid/lemak adalah target awal yang akan dirusak oleh radikal bebas. Oleh

Tabel 3. Rata-rata kadar MDA (mg/dl) pada kelompok kontrol dan perlakuan

Kelompok	n	Mean±SD	p
D0 (Kontrol)	8	108,171 ± 26,669	0,103
D1 (Induksi STZ+Na-CMC)	8	176,404 ± 60,078	
D2 (Induksi STZ + ekstrak daun kembang bulan)	8	209,237 ± 129,145	
D3 (Induksi STZ + catechin)	8	196,647 ± 87,953	



Gambar 3. Grafik kadar MDA antara kelompok kontrol dan perlakuan

karena itu, MDA juga dapat dijadikan parameter untuk mengetahui radikal bebas yang mencoba merusak jaringan tubuh.

Berdasarkan uji homogenitas (sig. 0,160) dan uji anova (p=0,103) menunjukkan tidak terdapat perbedaan rata-rata kadar MDA antara kelompok kontrol dan perlakuan (p≥0.05).

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa serum MDA ditemukan lebih tinggi pada tikus yang mengalami diabetes meskipun secara statistik tidak beda nyata. Hal ini sejalan dengan penelitian Kaefer *et al* (2012) bahwa serum MDA ditemukan lebih tinggi pada penderita diabetes melitus yang menggunakan insulin daripada penderita diabetes tanpa terapi insulin. Hal ini juga menandakan bahwa semakin parah tingkat diabetes melitus seseorang, maka semakin banyak radikal bebas yang menyerang sel, sehingga semakin tinggi kandungan serum MDA pada darahnya. Sebaliknya, peningkatan jumlah serum MDA juga berperan dalam perkembangan penyakit diabetes melitus yang berujung pada komplikasi-komplikasi mikrovaskular lainnya (Tiwari, *et al.*, 2013), seperti nefropati, retinopati, dan neuropati.

Serum MDA pada kelompok Diabetes Melitus tipe 2 lebih tinggi daripada kelompok kontrol. Pada

penderita Diabetes Melitus dengan komplikasi infark miokardial, didapati serum MDA lebih tinggi daripada penderita Diabetes Melitus tanpa komplikasi (Mahreen *et al.*, 2010) a stable end product of lipid per oxidation produced by interaction of free radicals with membrane phospholipids, was estimated. MATERIALS AND METHODS 30 type 2 diabetes mellitus cases with myocardial infarction and equal members of Type 2 diabetics without complications are enrolled. Thirty healthy subjects served as controls. Quantitative estimation of serum MDA levels were carried out in all the three groups, along with fasting blood glucose and total serum cholesterol. RESULTS It was found that serum MDA levels were significantly higher in both diabetic groups compare to the controls ($P < 0.01$). Hal ini terjadi karena pada penderita DM tipe 2 dengan komplikasi infark miokardial, terdapat lebih banyak radikal bebas yang menyerang sel jantung ataupun sel pankreas. Sedangkan, pada penderita DM tipe 2 tanpa komplikasi, radikal bebas hanya menyerang sel pankreas.

Peningkatan stress oksidatif terjadi pada seluruh kelompok perlakuan dengan induksi STZ. Pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak daun kembang bulan mempunyai kadar MDA paling tinggi dan tidak ada perbedaan yang nyata dengan level MDA pada kelompok kontrol dan kelompok obat pembanding catechin. Level MDA yang tinggi mengindikasikan adanya radikal bebas yang terjadi oleh proses penyakit metabolik pada penyakit diabetes dengan cara peroksidasi asam lemak. Peningkatan MDA juga berarti peningkatan peroksidasi lipid yang dapat menjadi indikasi penurunan jumlah antioksidan dalam tubuh, baik antioksidan enzimatis maupun antioksidan non-enzimatis (Saddala *et al.*, 2013). Lipid yang teroksidasi dapat memproduksi MDA sebagai produk dekomposisi. Mekanisme pembentukan MDA tersebut melibatkan pembentukan prostaglandin, seperti endoperoksida, dari PUFA (Pandey *and* Risvi, 2011). Peningkatan MDA pada serum, plasma, dan berbagai jaringan terjadi pada penderita diabetes melitus (Bandeira *et al.*, 2012). MDA memiliki korelasi yang signifikan dan positif dengan HbA1C (Tiwari *et al.*, 2013).

Kadar Superoxide dismutase (SOD) Tikus

Superoxide dismutase (SOD) adalah antioksidan enzim yang berperan menjadi katalis dalam dismutase anion superoksida yang radikal menjadi hidrogen peroksida dan molekul oksigen. SOD memiliki peran

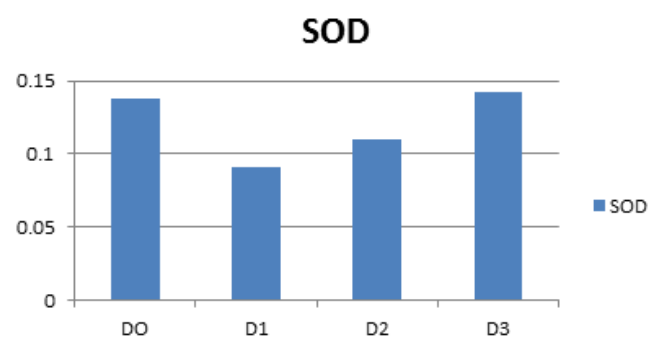
dalam melindungi kerusakan sel dan jaringan yang disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS). SOD adalah antioksidan yang berperan melawan superoksida, baik di ginjal yang berisiko terhadap terjadinya diabetes nefropati ataupun di jaringan mata yang berisiko terhadap terjadinya diabetes retinopati. Rerata kadar SOD pada kelompok kontrol dan perlakuan dapat dilihat pada Tabel 4.

Berdasarkan uji *homogeneity of variances* didapatkan sig. 0,511 yang artinya varians data homogen, sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *Anova* dan didapatkan nilai $p = 0,207$ yang artinya tidak terdapat perbedaan rata-rata kadar SOD antara keempat kelompok.

Dalam jumlah yang berlebih, SOD dan antioksidan lainnya, akan melawan stres oksidatif, menurunkan kadar ROS, dan meningkatkan jumlah antioksidan enzim, sehingga mencegah terjadinya diabetes melitus. Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan kadar glukosa diikuti peningkatan aktivitas superoxide dismutase (SOD) pada kelompok perlakuan. Pada kelompok tikus diabetes yang diinduksi STZ dan diberi ekstrak daun kembang bulan (D3) terjadi peningkatan kadar SOD jika dibandingkan kelompok tikus diabetes yang diinduksi STZ (D1), tetapi kadar SOD paling tinggi pada kelompok tikus diabetes yang diinduksi STZ dan diberi pembanding flavonoid (D3).

Tabel 4. Rata-rata kadar SOD (mg/dl) pada kelompok kontrol dan perlakuan

Kelompok	N	Mean±SD	p
D0 (Kontrol)	8	0,138 ± 0,059	0,207
D1 (Induksi STZ+Na-CMC)	8	0,091 ± 0,039	
D2 (Induksi STZ + ekstrak daun kembang bulan)	8	0,109 ± 0,044	
D3 (Induksi STZ + catechin)	8	0,142 ± 0,065	



Gambar 4. Grafik kadar SOD antara kelompok kontrol dan perlakuan

Hal tersebut mengindikasikan pemberian ekstrak daun kembang bulan dapat menstimulasi aktivitas anti radikal bebas untuk menghambat stress oksidatif yang dihasilkan induksi diabetes dengan STZ. Peningkatan kadar SOD terbukti menurunkan stress oksidatif dan apoptosis neuron pada tikus, sehingga mencegah diabetes. Penelitian pada tikus yang telah diinduksi diabetes didapati bahwa terdapat penurunan aktivitas SOD dan enzim antioksidan lainnya di jaringan hati (Luchessi *et al*, 2013). Penurunan aktivitas SOD dan enzim antioksidan lainnya terkait dengan peningkatan radikal bebas pada organ lain, khususnya pankreas, sehingga SOD dan enzim lainnya fokus untuk melindungi sel-sel pankreas dari kerusakan. Alasan lain terjadinya penurunan aktivitas ini adalah SOD dan enzim antioksidan lain lebih memproteksi jaringan-jaringan lain yang menjadi dampak dari perkembangan penyakit diabetes melitus, seperti: jaringan ginjal dan retina; sehingga terjadi penurunan aktivitas SOD pada hati

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, kesimpulan yang dapat diambil induksi streptozotocin menyebabkan peningkatan kadar glukosa pada kelompok perlakuan. Pemberian ekstrak daun *Tithonia diversifolia* dapat menurunkan konsentrasi glukosa dan konsentrasi protein adiponektin secara signifikan ($p \leq 0.05$) pada kelompok perlakuan, namun tidak terdapat perbedaan nyata terhadap konsentrasi MDA dan SOD pada kontrol dan kelompok perlakuan.

Ucapan Terima Kasih.

Terima kasih disampaikan kepada Direktorat Riset Dan Pengabdian Masyarakat Kementerian Riset, Teknologi, Dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan dana dalam Hibah Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi Nomor: 122/Sp2h/PTNBH/DRPM/2018.

Daftar Pustaka

- Akbarzadeh, A., Norouzian, D., Mehrabi, MR., Jamshidi, S., Farhangi, A., Verdi, AA., Mofidian, SMA., and Rad, BL. (2007). Induction of Diabetes by Streptozotocin in Rats. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 22:2;60-64.
- Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, and Matsuzawa Y. (2012). Paradoxical Decrease of an Adipose-specific Protein, Adiponektin, in Obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 425:560-4 .
- Bandeira, Sde.M., Guedes, Gda.S., Fonseca, L.J., Pires, A.S., Gelain, D.P and Moreira, J.C., Rabelo, L.A., Vasconcelos, S.M., and Goulart, M.O. (2012). Characterization of Blood Oxidative Stress in Type 2 Diabetes Melitus Patients: Increase in Lipid Peroxidation and SOD Activity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, vol. 2012:819310. doi: 10.1155/2012/819310.
- Benomar, Y., Amine, H., Crepin, D., Al Rifai, S., Riffault, L., Gertler, A., and Taouis M. (2016). Central Resistin/TLR4 Impairs Adiponektin Signaling, Contributing to Insulin and FGF21 Resistance. *Diabetes* 2016. 65:913-926.
- Chakraborti, C.K. (2015). Role of Adiponektin and Some Other Factors Linking type 2 Diabetes Melitus and Obesity. *World J Diabetes*. 6(15): 1296-1308.
- Dalimartha, S. (2000). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Trubus Agriwidya.
- Elufioye, TO., Alatise, OI., Fakoya, FA., Agbedahunsi, JM., and Houghton, PJ. (2009). Toxicity Studies of *Tithonia Diversifolia* A. Gray (*Asteraceae*) in Rats. *J Ethnopharmacol*, 122:2; pp.410-415.
- Hanum, I.F. and van der Masen, L.I. G. (2002). Auxiliary Plants. *J. Nat.Prod*, 2002 pp.297-298.
- Jaramillo, P.L., Arbeláez, D., G., López, J.L., López, C.L., Ortega, J.M., Rodríguez, A.G., and Cubillos, S.T. (2014). The role of Leptin/Adiponektin Ratio in Metabolic Syndrome and Diabetes. *Horm Mol Biol Clin Invest* 18(1): 37-45. DOI 10.1515/hmbci-2013-0053.
- John-Dewole, O.O. and Oni, S.O., (2013). Phytochemical and Antimicrobial Studies of Extracts from the Leaves of *Tithonia diversifolia* for Pharmaceutical Importance. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS)* e-ISSN: 2278-3008, p-ISSN:2319-7676. Volume 6, Issue 4 (May. – Jun. 2013), pp.21-25.

- Kaefer, M., De Carvalho, J. A. M., Piva, S. J., da Silva, D. B., Becker, A. M., Sangoi, M. B., and Moresco, R. N. (2012). Plasma Malondialdehyde Levels and Risk Factors for The Development of Chronic Complications in Type 2 Diabetic Patients on Insulin Therapy. *Clinical Laboratory*, 58(9–10), 973–978. Tersedia di <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23163113>.
- Kumar, R., Arora, V., Ram, V., Bhandari, A., and Vyas, P. (2015). Hypoglycemic and Hypolipidemic Effect of Allopolyherbal Formulations in Streptozotocin Induced Diabetes Melitus in Rats. *International Journal of Diabetes Melitus* 3:45-50.
- Lekva, T., Michelsen, AE., Aukrust, P., Henriksen, T., Bollerslev, J., and Ueland, T. (2017). Leptin and Adiponektin as Predictors of Cardiovascular Risk After Gestational Diabetes Melitus. *Cardiovascular Diabetology* 2017, 16:5.
- Lopez, JP., Gomez, AD., Lopez, LJ., Lopez, LC., Martinez, OJ., Gomez, RA., and Triana, CS. (2014). The role of Leptin/Adiponektin Ratio in Metabolic Syndrome and Diabetes. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2014 Apr;18(1):37-45. doi: 10.1515/hmbci-2013-0053.
- Lucchesi, N. T., Freitas, L. L., Cassettari, S. F., Marques, and Spadela C. T. (2013). Diabetes Melitus Triggers Oxidative Stress in The Liver of Alloxan-Treated Rats: a Mechanism For Diabetic Chronic Liver Disease. *Acta Cirurgica Brasileira*, vol. 28, no. 7, pp.502–508.
- Maahs, D. M., Hamman, R. F., D’Agostino, R., Dolan, L. M., Imperatore, G., Lawrence, J. M., and Dabelea, D. 2009. The Association Between Adiponektin/Leptin Ratio and Diabetes Type: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *The Journal of Pediatrics*, 155(1), 133–5, 135.e1. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2008.12.048>.
- Majewska, KA., Majewski, D., Skowronska, B., Stankiewicz, W., and Fichna, P. (2016). Serum Leptin and Adiponektin Levels in Children with Type 1 Diabetes Melitus – Relation to Body Fat Mass and Disease Course. *Advances in medical sciences*, Vol.61, Issue 1, March 2016, pp.117-122.
- Matough, FA., Budin, S., Hamid, ZA., Alwahaibi, N., Mohamed, J. (2012). The Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Diabetic Complications. *SQU Med J* 12:1; 5-18.
- Olokoba, A.B., Obateru, O.A., and Olokoba, L.B. (2012). Type 2 Diabetes Melitus: A Review of Current Trends. *Oman Med J.* 27(4): 269-273.
- Pandey, K.B., and Rizvi, S.I. (2011). Biomarkers of Oxidative Stress in Red Blood Cells. *Biomedical Papers*,155(2), pp. 131–136.
- Robinson K, Prins J, and Venkatesh B. (2011). Clinical review: Adiponektin Biology and Its Role in Inflammation and Critical Illness. *Crit Care* 15:221.
- Saddala, R.R., Thopireddy, L., Ganapathi, N and Kesireddy, S.R. (2013). Regulation of Cardiac Oxidative Stress and Lipid Peroxidation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Treated with Aqueous Extract of *Pimpinella tirupatiensis* Tuberous Root. *Experimental and Toxicologic Pathology*, vol. 65, no. 1-2, pp.15–19.
- Shehzad A, Iqbal W, Shehzad O, and Lee YS. (2012). Adiponektin: regulation of its production and its role in human diseases. *Hormones (Athens)* 11(1):8-20.
- Tiwari, B. K., Pandey, K. B., Abidi, A. B., and Rizvi, S. I. (2013). Study Of Oxidative Stress Status In Type 2 Diabetic Patients. *Journal of Biomarkers*, 2013:2(1), 1–8. Tersedia di <https://doi.org/10.1155/2013/378790>.
- Winarsi, H., Sasongko, N. D., Purwanto, A. and Nuraeni, I. (2013). Ekstrak Daun Kapulaga Menurunkan Indeks Atherogenik dan Kadar Gula Darah Tikus Diabetes Induksi Alloxan. *AGRITECH*, 33(3) pp.273-280.
- Zhao, G., Li, X., Chen, W., Xi, Z., and Sun, L. (2012). Three New Sesquiterpenes from *Tithonia diversifolia* and Their Antihyperglycemic Activity. *Fitoterapia*, 83 pp.1590–1597.