

## BAB VI

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak PsP *Ganoderma lucidum* terhadap penurunan nilai resistensi insulin pada tikus wistar *Rattus norvegicus* model diabetes melitus tipe 2. Berikut akan dipaparkan pembahasan terhadap nilai resistensi insulin pada masing-masing kelompok kontrol.

#### **6.1 Nilai Resistensi Insulin pada Kelompok Tikus dengan Kontrol Diet Normal**

Kelompok kontrol negatif merupakan kelompok kontrol yang diberikan pakan diet normal. Pada kelompok kontrol negatif rata-rata jumlah intake pakan normalnya pada bulan pertama adalah sekitar 26 gram setiap harinya. Sedangkan pada bulan kedua, rata-rata jumlah intake pakan sekitar 26 gram pula setiap harinya, jumlah ini tidak berbeda jauh apabila dibandingkan dengan bulan sebelumnya. Dan pada bulan ketiga rata-rata jumlah intake pakan sekitar 26 gram setiap harinya. Pada kelompok kontrol negatif ini intake pemberian pakan normal rata-rata memiliki jumlah yang sama antara bulan pertama, kedua, dan ketiga. Pemberian intake pakan akan berpengaruh pada berat badan tikus pada kelompok kontrol ini, yang mengalami peningkatan yang cukup signifikan dari minggu ke minggu. Selama dilakukan proses aklimasi rata-rata berat badan pada kelompok kontrol negatif adalah 108 gram. Proses aklimasi berlangsung selama satu minggu pertama, setelah proses aklimasi dan tikus telah teradaptasi dengan baik maka minggu selanjutnya pemberian pakan disesuaikan untuk masing-masing kelompok kontrol.

Pada minggu kedua penelitian ini setelah tikus teraklimasi, mulai dilakukan perlakuan pada pemberian pakan masing-masing kelompok kontrol. Pada kelompok kontrol negatif dilanjutkan dengan pemberian diet normal. Pada minggu ke 4 dilakukan penimbangan ulang, dan berat badan tikus mengalami peningkatan yang signifikan yaitu menjadi 156 gram. Selanjutnya penimbangan berat badan juga dilakukan pada minggu ke 8 yang beratnya menjadi 225 gram, dan pada minggu ke 12 berat badan mencapai berat badan tertinggi yaitu 273 gram. Pada kelompok kontrol diet normal (kontrol negatif) nilai resistensi insulin pada masing-masing tikus menunjukkan rata-rata nilai di atas 1. Hal ini menandakan bahwa pada kelompok kontrol negatif tidak terdapat resistensi insulin. Rerata nilai RI pada kelompok kontrol ini adalah 1,298616569, dengan nilai minimumnya 0.789878 dan nilai maksimumnya 1.885191. Rata-rata nilai glukosa plasma pada kelompok kontrol negatif berkisar antara 100-120 mg/dl, yang menunjukkan bahwa kadar glukosanya masih dalam batas normal. Kadar insulin plasma juga relatif rendah stabil pada masing-masing tikus karena berhubungan dengan kadar glukosa plasma yang ada masih dalam batas normal. Pada kelompok kontrol negatif yang diberikan diet normal serta tanpa injeksi STZ, fungsi sel beta pankreas masih dalam keadaan yang cukup baik, sehingga dapat mengkompensasi jumlah intake makanan yang masuk sehingga mekanisme homeostasis pun bisa tercapai (Srinivasan *et al.*, 2005).

## **6.2 Nilai Resistensi Insulin pada Kelompok Tikus yang Diinduksi Diabetes**

### **Melitus tipe 2**

Pada kelompok kontrol positif (kelompok tikus yang diinduksi diabetes melitus tipe 2) nilai resistensi insulin pada masing-masing tikus menunjukkan rata-rata nilai dibawah 1. Hal ini menandakan bahwa pada kelompok kontrol

positif sudah terjadi resistensi insulin. Rerata nilai RI pada kelompok kontrol ini adalah -1,174950982, dengan nilai minimumnya -1,597051517 dan nilai maksimumnya -0,111541. Rata-rata nilai glukosa plasma pada kelompok kontrol positif berkisar antara 250-400 mg/dl, yang menunjukkan bahwa kadar glukosa plasma meningkat sangat signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini disebabkan oleh karena perlakuan dari kelompok kontrol positif yang diberikan HFD dan induksi STZ sehingga kadar glukosa plasma meningkat. Kadar glukosa darah yang meningkat, merupakan komponen utama yang memberi rangsangan terhadap sel beta dalam memproduksi insulin (Manaf, 2009). Jika kadar glukosa dalam tubuh meningkat, maka akan terjadi pula peningkatan kadar insulinnya untuk keseimbangan didalam tubuh. Mekanisme ini umumnya terjadi bila keadaan kadar glukosa plasma yang meningkat.

Peningkatan kadar glukosa darah pada kelompok kontrol positif saat diberikan perlakuan pakan HFD diikuti dengan pemberian injeksi STZ disebabkan oleh karena kerusakan sel beta pankreas secara langsung, dan pada akhirnya akan terjadi kekurangan insulin (*insulin deficiency*) yang dapat mengarah pada terjadinya resistensi insulin (Shafirir, 2003). Dengan pemberian perlakuan pakan HFD, tikus perlakuan akan mengalami obesitas; hiperinsulinemia; dan resistensi insulin ataupun hiperglikemia maupun diabetes, sehingga kontrol homeostasis glukosa darah dalam tubuh akan mengalami ketidakseimbangan (Srinivasan *et al.*, 2004). Pada beberapa penelitian sebelumnya dalam pembuatan hewan coba model diabetes melitus tipe 2 adalah dengan menginjeksikan STZ pada tikus yang secara genetik telah membawa sifat resistensi insulin (tikus model hipertensi spontan) atau dengan kombinasi antara pemberian pakan HFD dan injeksi STZ pada tikus normal (Zhang *et al.*,

2003). Berdasarkan penelitian Srinivasan *et al.* pada tahun 2005, pemberian HFD selama 2 minggu pada hewan coba menyebabkan peningkatan yang signifikan pada berat badan, kadar glukosa darah, kadar insulin, total kolesterol, serta kadar trigliserida jika dibandingkan dengan kelompok kontrol yang diberikan diet normal (Srinivasan *et al.*, 2005). HFD dapat menginduksi terjadinya resistensi insulin melalui berbagai mekanisme yang berbeda tetapi utamanya adalah melalui Randle atau siklus asam lemak glukosa (*glucose-fatty acid cycle*) (Randle *et al.*, 1963). Mekanisme terjadinya resistensi insulin ini diperantarai melalui peningkatan dari kadar trigliserida yang tinggi akibat intake lemak yang berlebih dari pakan HFD yang mengakibatkan meningkatnya asam lemak serta proses oksidasi. Penggunaan asam lemak yang meningkat digunakan untuk oksidasi yang menyebabkan penurunan produksi insulin akibat pengeluaran glukosa melalui siklus hepatic serta penurunan penyerapan glukosa atau pemanfaatan di otot rangka (Srinivasan *et al.*, 2005).

Pada kelompok kontrol positif ini, berat badan tikus selalu mengalami peningkatan yang signifikan. Dari awal proses aklimasi berat badan awal tikus sekitar 100-120 gram, dan setelah pemberian HFD selama 12 minggu berat badan tikus mengalami peningkatan hingga mencapai rata-rata berat badan sekitar 290 gram. Peningkatan berat badan pada kelompok kontrol ini mungkin disebabkan oleh karena pemberian HFD yang kaya energi dalam bentuk lemak jenuh (lemak babi) dan lemak tersebut dideposisikan di berbagai area tubuh (Srinivasan *et al.*, 2004). Hal tersebut juga disebabkan oleh karena pemakaian energi yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif yang diberikan diet normal. Selain pemberian HFD pada kelompok kontrol positif ini juga diberikan injeksi STZ dosis rendah. Hal ini akan mengakibatkan penurunan

dari fungsi sel beta pankreas yang mengarah pada efek hiperglikemia (Srinivasan *et al.*, 2005). Efek pemberian STZ pada homeostasis insulin dan glukosa yaitu menginduksi abnormalitas dari sel beta pankreas. Pemberian STZ akan menyebabkan penghambatan terhadap biosintesis insulin yang akan mengakibatkan metabolisme glukosa terganggu. Selain itu, STZ juga menghambat proses transpor glukosa ke jaringan yang pada akhirnya akan menyebabkan suatu kondisi hiperglikemia (Lenzen, 2008).

### **6.3 Nilai Resistensi Insulin pada Kelompok Tikus dengan Kontrol Terapi Peptida Polisakarida *Ganoderma lucidum***

Kelompok kontrol terapi PsP diberikan dalam 3 dosis yang berbeda yaitu 50mg/kgBB, 150mg/kgBB, dan 300mg/kgBB. Pada kelompok kontrol PsP 50mg/kgBB nilai resistensi insulin tidak mengalami perbedaan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, karena nilai RI pada kelompok ini hanya mengalami perbaikan yang sedikit. Pada kelompok kontrol ini kadar glukosa plasma juga tidak mengalami penurunan yang berarti dibanding kelompok kontrol positif. Rerata nilai RI pada kelompok kontrol ini adalah -0,992206185, dengan nilai minimumnya -1,665572469 dan nilai maksimumnya 0.037079. Rata-rata kadar glukosa plasma pada kelompok ini adalah 200-400 mg/dl yang tidak berbeda jauh bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Sedangkan pada kadar insulin plasma terjadi peningkatan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif.

Pada kelompok kontrol PsP 150mg/kgBB nilai resistensi insulin mengalami penurunan jika dibandingkan dengan kelompok PsP 50mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa dengan peningkatan dosis PsP maka akan terjadi perbaikan pada nilai resistensi insulin. Pada kelompok kontrol ini kadar glukosa

plasma tidak berbeda signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini menandakan bahwa terdapat penurunan kadar glukosa darah dengan peningkatan dosis PsP. Rerata nilai RI pada kelompok kontrol ini adalah 0,404468446, dengan nilai minimumnya 0.025318 dan nilai maksimumnya 0.783619. Rata-rata kadar glukosa plasma pada kelompok ini adalah 150-350 mg/dl, yang mengalami penurunan kadar glukosa plasma jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok terapi PsP 50mg/kgBB walaupun penurunan kadar glukosa plasma ini tidak terlalu signifikan. Sedangkan pada kadar insulin plasma terjadi penurunan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kelompok terapi 50mg/kgBB. Pada tahap ini mekanisme kompensasi dari pengeluaran insulin oleh sel beta pankreas sudah mulai tidak adekuat lagi, sehingga tubuh mengalami defisiensi insulin, seiring dengan terjadinya peningkatan kadar glukosa plasma (Manaf, 2009).

Pada kelompok kontrol PsP 300mg/kgBB nilai resistensi insulin mengalami perbaikan yang signifikan jika dibandingkan dengan kelompok PsP 50mg/kgBB dan kelompok PsP 150mg/kgBB. Hal ini juga menunjukkan bahwa dengan peningkatan dosis PsP maka akan menyebabkan penurunan pada nilai resistensi insulin. Pada kelompok kontrol ini kadar glukosa plasma mengalami penurunan namun tidak begitu signifikan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol PsP 50mg/kgBB dan PsP 150mg/kgBB. Rerata nilai RI pada kelompok kontrol ini adalah 0,544055665, dengan nilai minimumnya 0.353822 dan nilai maksimumnya 0.849099. Rata-rata kadar glukosa plasma pada kelompok ini adalah 120-300 mg/dl, yang mengalami penurunan kadar glukosa plasma jika dibandingkan dengan kelompok kontrol positif, kelompok terapi PsP 50mg/kgBB, dan kelompok terapi PsP 150mg/kgBB, walaupun penurunan kadar glukosa

plasma ini tidak terlalu signifikan. Sedangkan pada kadar insulin plasma terjadi peningkatan yang tidak terlalu berbeda jika dibandingkan dengan kelompok kontrol terapi PsP 150mg/kgBB, namun kadar insulinnya tidak mengalami peningkatan yang sangat berarti seperti pada kelompok kontrol positif dan kontrol terapi PsP 50mg/kgBB. Pada penelitian Teng *et al.* (2012) membuktikan bahwa pemberian dosis tinggi (120 mg/kgBB) maupun durasi terapi yang lama (30 hari) dari PsP *Ganoderma lucidum* mempunyai potensi efek terapi yang sebanding dengan pemberian terapi DM yang telah ada yaitu metformin dan rosiglitazone sebagai kontrol positifnya (Teng *et al.*, 2012).

Pada kelompok kontrol terapi PsP, berat badan tikus tidak mengalami perbedaan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Rata-rata berat badan tikus pada kelompok kontrol terapi PsP adalah 100 gram-250 gram. Pemberian injeksi STZ pada kelompok kontrol positif dan kelompok kontrol terapi PsP pada umumnya tidak menyebabkan kegemukan (obesitas) akibat hilangnya protein jaringan (Teng *et al.*, 2012). Pada beberapa penelitian sebelumnya, tikus yang diinjeksi STZ mengalami penurunan berat badan oleh karena kehilangan atau degradasi dari struktur protein dimana berat badan sangat dipengaruhi oleh struktural protein tersebut (Kalaiarasi *et al.*, 2009). Pada penelitian yang lain menunjukkan bahwa penurunan dari sintesis protein yang terjadi pada semua jaringan disebabkan oleh karena penurunan produksi ATP serta defisiensi insulin yang absolut maupun relatif (Ramesh *et al.*, 2006). Pemberian terapi PsP *Ganoderma lucidum* pada kelompok tikus DM, tikus akan mengalami peningkatan berat badan, yang mungkin sebagai akibat dari terapi PsP yang dapat mengurangi hiperglikemia (Li *et al.*, 2011).

Pada kelompok kontrol ini kadar insulin plasma mengalami penurunan seiring dengan penambahan dosis terapi PsP. Awalnya kadar insulin plasma mengalami peningkatan jika dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, namun pada akhirnya kadar insulin mengalami penurunan. Hal ini berhubungan dengan penurunan progresif dari respon insulin pada kondisi hiperglikemia kronis yang bergantung dengan usia tikus. Variasi dari kadar insulin dan kadar glukosa darah diakibatkan oleh adanya resistensi insulin pada fase awal yang menyebabkan hiperplasia dari sel islet  $\beta$  pankreas yang ditandai oleh adanya hiperinsulinemia. Namun ketika tikus mencapai usia 12-24 minggu masa perlakuan, sel islet  $\beta$  pankreas akan mengalami nekrosis sehingga hiperinsulinemia berkurang dan menunjukkan gejala defisiensi insulin (Pan *et al.*, 2013).

Pada pemberian terapi PsP nilai glukosa darah mengalami penurunan seiring dengan peningkatan dosis PsP. Pada penelitian Lo *et al.* (2006) menunjukkan bahwa terdapat penurunan dari kadar glukosa darah setelah pemberian secara oral PsP dengan kandungan beta glukana pada hewan percobaan (Lo *et al.*, 2006). Penelitian yang lain menunjukkan bahwa dengan pemberian dari *Tremella mesenterica* dan *T. Aurantia* yang mengandung polisakarida secara oral dapat menurunkan kadar glukosa darah (Chen *et al.*, 2008).

#### **6.4 Perbedaan Nilai Resistensi Insulin pada masing-masing Kelompok**

##### **Kontrol Tikus**

Berdasarkan uji Oneway ANOVA disimpulkan bahwa pada Selang Kepercayaan 95% pemberian PsP memberikan perbedaan yang signifikan terhadap nilai resistensi insulin pada setiap kelompok perlakuan ( $pV = 0.003$ ).



Berdasarkan hasil pemeriksaan nilai resistensi insulin pada penelitian ini didapatkan hasil rerata nilai resistensi insulin terendah yang teramati pada hasil percobaan berada pada kelompok kontrol terapi PsP 50mg/kgBB yaitu - 1,665572469. Sedangkan nilai resistensi insulin tertinggi didapatkan pada kelompok kontrol negatif yaitu 1,885191. Peningkatan dosis PsP 150 dan 300 mg memberikan dampak linier dalam menurunkan nilai resistensi insulin. Sedangkan pada hasil uji Tukey HSD didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada lebih dari dua kelompok kontrol yaitu kelompok kontrol negatif, kontrol positif, kelompok kontrol terapi PsP 150mg/kgBB dan kelompok kontrol terapi PsP 300mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa tikus dengan kontrol positif dan kelompok kontrol PsP telah mengalami Diabetes Melitus dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif, sebab terdapat perbedaan yang signifikan pada kelompok kontrol positif dan negatif.

Gambaran nilai resistensi insulin pada penelitian ini berhubungan dengan hasil dari penelitian-penelitian sebelumnya. Pada penelitian sebelumnya ekstrak PsP *Ganoderma lucidum* diberikan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak terhadap mencit model diabetes mellitus yang diinduksi streptozotocin juga menunjukkan efek antihiperqlikemia dan antikolesterolemia (Li *et al.*, 2011). Efek hipoglikemia dari PsP *Ganoderma lucidum* pada tikus berkaitan dengan *influx*  $Ca^{2+}$  dari sel  $\beta$  pankreas sehingga dapat mensekresikan insulin. Selain itu, pada penelitian terhadap sel  $\beta$  pankreas yang diisolasi dan kemudian diberikan terapi PsP memberikan efek penghambatan pada aktivasi dari NF-kB dan menekan pembentukan radikal bebas (Zhang, 2004).

Pada penelitian Zhang (2004) melaporkan bahwa pemberian *Ganoderma lucidum* dapat menurunkan secara signifikan kadar glukosa darah puasa pada

tikus model diabetes melitus tipe 2, dimana dosis *Ganoderma lucidum* yang diberikan yaitu 0,03 dan 0,3 g/kg BB dapat menurunkan peningkatan kadar glukosa darah puasa. Namun, pemberian dari *Ganoderma lucidum* tidak memberikan efek pada peningkatan kadar insulin, karena tidak memberikan perbedaan yang signifikan pada kadar insulin di setiap kelompok perlakuan. Pada penelitian ini, efek hipoglikemik diamati pada minggu pertama setelah pemberian ekstrak *Ganoderma lucidum* (Zhang, 2004). Pada penelitian ini, pemberian dan peningkatan dosis PsP memberikan penurunan kadar glukosa plasma yang cukup signifikan. Rata-rata glukosa darah pada kelompok kontrol terapi PsP mengalami perbedaan yang signifikan bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Sedangkan untuk nilai insulin plasma tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada masing-masing kelompok kontrol, hal ini berhubungan dengan penelitian sebelumnya.

Pada penelitian Seto *et al.* (2009), setelah diberikan terapi *Ganoderma lucidum* selama 4 minggu, kadar glukosa darah puasa diukur, dan menunjukkan bahwa kadar glukosa darah puasa nilainya hampir sama bila dibandingkan dengan kelompok kontrol yang tidak diberikan terapi. Hal tersebut menunjukkan bahwa *Ganoderma lucidum* dapat memberikan perubahan pada kondisi hiperglikemia (Seto *et al.*, 2009). Pemberian dari PsP *Ganoderma lucidum* dapat meningkatkan *uptake* glukosa melalui aktivasi jalur PI-3K, sehingga dapat menurunkan kondisi hiperglikemia (Jung *et al.*, 2006).

Menurut penelitian Meng (2011), pemberian terapi PsP dengan dosis sedang ataupun tinggi setelah 16 minggu secara signifikan memberikan efek penurunan dari glukosa darah dan HbA1c serta peningkatan kadar insulin pada hewan coba. Namun tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok

kontrol positif dan kelompok dengan pemberian terapi PsP dosis rendah. Pemberian PsP menunjukkan efek hipoglikemia dan meningkatkan kadar insulin melalui perbaikan dari fungsi sel  $\beta$  pankreas atau peningkatan dari pengambilan glukosa oleh otot. Pada penelitian tersebut, kadar insulin meningkat seiring dengan penurunan dari glukosa darah setelah pemberian terapi PsP (Meng *et al.*, 2011). Salah satu mekanisme PsP sebagai anti hiperglikemia adalah melalui kemampuan untuk memproteksi sel pankreas dari kerusakan akibat radikal bebas, sehingga sekresi insulin meningkat dan menyebabkan penurunan dari kadar glukosa darah (Jia *et al.*, 2009). Dari beberapa studi literatur yang telah dilaporkan, efek dari *Ganoderma lucidum* sebagai agen antidiabetes, belum ada studi yang menyebutkan tentang efek terapi dan mekanisme yang jelas terhadap pemberian *Ganoderma lucidum* pada model hewan coba diabetes melitus tipe 2 (Seto, 2009).

Pada penelitian ini, pemberian PsP *Ganoderma lucidum* dapat menurunkan secara signifikan nilai resistensi insulin, menurunkan kadar glukosa, serta peningkatan dari kadar insulin plasma. Dosis yang efektif dalam menurunkan nilai resistensi insulin adalah dosis terapi PsP 150 mg/kgBB. Pada dosis ini, nilai resistensi insulin tidak mengalami perbedaan yang signifikan apabila dibandingkan dengan kontrol negatif ( $p=0.579$ ) serta kontrol terapi PsP 300 mg/kgBB ( $p=0.999$ ). Selain itu, nilai glukosa darah serta insulin plasma pada kontrol terapi PsP 150 mg/kgBB juga tidak mengalami perbedaan yang signifikan bila dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol terapi PsP 300 mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa dengan pemberian terapi PsP dosis 150 mg/kgBB sudah dapat menurunkan nilai resistensi insulin sehingga nilai mendekati kontrol negatif.