

Efek *Spirulina platensis* terhadap Analisis Kadar, Gambaran Histopatologi, Ekspresi Insulin dan Glut-4 pada Tikus Wistar yang Diinduksi *Streptozotosin*

(Effect of *Spirulina platensis* on Level Analysis, Histopathology, Insulin and Glut-4 Expression in Wistar Rats Induced by *Streptozotosin*)

KINTOKO^{1*}, RIFQI FERRY BALFAS^{1,3}, NURA USTRINA¹, SITARINA WIDYARINI², LINTANG CAHYA SAPUTRI¹, ANANDHITA NURWIJAYANTI¹, FAJAR SLAMET RIANA¹, NENI TRI ANGGRAINII

¹ Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta, DIY, Indonesia

² Bagian Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Jawa Tengah, Indonesia

³ Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhadi Setiabudi, Brebes, Jawa Tengah, Indonesia

Diterima 16 Juli 2018, Disetujui 26 September 2018

Abstrak: Berdasarkan riset kesehatan dasar di Yogyakarta insiden diabetes mellitus berdasarkan diagnosis dokter adalah 2,6% dan akan meningkat dengan usia, tetapi akan menurun dari usia > 65 tahun. Dalam beberapa pengobatannya dengan obat sintesis dan bahan-bahan alami seperti *Spirulina platensis*. *Spirulina platensis* adalah salah satu Mikroalga yang berisi spektrum alami karoten dan *xanthophyll* pigmen campuran, dan dengan phycocyanin memiliki aktivitas antioksidan, dan *Spirulina platensis* dapat menunjukkan penurunan gula darah. Jenis penelitian adalah eksperimental. *Spirulina platensis* dibuat dengan beberapa dosis 36 mg, 72 mg, dan 144 mg. Tikus dibagi dalam 6 kelompok, tikus diukur kadar gula hari ke 0-28. Setelah itu dianalisa kadar efek *Spirulina platensis*. Hasilnya dianalisis menggunakan metode SPSS ANOVA dan Post Hoc tes dengan tingkat keyakinan 95%. Hasil analisis kadar menunjukkan bahwa *Spirulina plantesis* yang induksi *streptozotocin* dengan berbagai dosis terdapat peningkatan dan juga pada kelompok dosis STZ + SP 36 dalam analisis dapat meningkatkan kadar analisis. Sementara pada histopatologi hasil dan insulin ekspresi di pankreas dan histologi dan ekspresi glukosa transporter 4 dan histopatologi pada ginjal dan hati menunjukkan baik berubah berbagai kelompok dosis pengobatan terutama di STZ + SP 36 kelompok dosis. Jadi STZ + SP 36 kelompok dosis menampilkan perubahan kedua dalam studi ini.

Kata Kunci: Anti diabetes, histopatologi, *spirulina plantesis*, *streptozotocin*.

Abstract: Basic health research based in Yogyakarta of the incident based on the physician's diagnosis of diabetes mellitus is 2.6% and will increase with age, but will decrease from the age of > 65 years. In some treatment with synthetic drugs and natural ingredients such as *Spirulina platensis*. *Spirulina platensis* is one of the Mikroalgae that contains a spectrum of natural carotene and xanthophyll pigments mixed with phycocyanin, and has antioxidant activity, and *Spirulina platensis* may indicate a decrease in blood sugar. This type of research is experimental. *Spirulina platensis* made with some dose of 36 mg, 72, and 144 mg mg. Of mice were divided into 6 groups, measuring sugar levels in rats a day to 0-28. After it analyzed the levels of the effect of *Spirulina platensis*. The results were analyzed using SPSS methods of ANOVA and Post Hoc test with a 95% confidence level. The results of the analysis indicate that the levels of spirulina plantesis that streptozotocin induced with different dose there was an increase in the dose group and also on STZ + SP 36 in analysis can increase levels of analysis. While at Histopathology results and insulin in the pancreas and Histology expression and expression of glucose transporter 4 and Histopathology in the liver and kidneys showed good change treatment doses of various groups especially in STZ + SP 36 dose groups. So STZ + SP 36 dose groups showing the second amendment in this study.

Key words: Anti diabetic, histopathology, *Spirulina plantesis*, *streptozotocin*.

*Penulis korespondensi, HP 082220709977
e-mail: kkintoko77@gmail.com

PENDAHULUAN

DIABETES MELLITUS (DM) merupakan salah satu penyakit yang terus mengalami peningkatan di dunia. Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) memperkirakan bahwa pada tahun 2014 sekitar 422 juta orang menderita diabetes, sedangkan pada tahun 1980 berjumlah 108 juta. Dari hasil ini, prevalensi global hampir dua kali lipat sejak tahun 1980, yaitu dari 4,7% naik menjadi 8,5%.

Diabetes merupakan suatu penyakit tidak mampu mengendalikan jumlah glukosa dalam aliran darah sehingga menyebabkan penyakit hiperglikemia, hiperglikemia ialah suatu keadaan glukosa dalam aliran darah yang tingginya sudah membahayakan⁽¹⁾.

Diabetes Mellitus merupakan faktor terjadinya penyakit kardiovaskular, seperti arteri koroner⁽²⁾, penyakit jantung koroner. Beberapa hal penyebabnya adalah hiperlipidemia⁸. Hiperlipidemia merupakan keadaan dimana tingginya kadar lipid dalam darah (kolesterol total, trigliserida, dan low density lipoprotein (LDL) melebihi batas normalnya, dimana kadar kolesterol total normal < 200 mg/dL sedangkan trigliserida normal <150 mg/dL. Pada tahun 2013, jumlah persentase penduduk Indonesia dengan faktor risiko kolesterol total sebesar 35,9% dan trigliserida 11,9%⁽³⁾.

Peningkatan kadar malondialdehid (MDA) menjadi indikator dari produksi radikal bebas berlebih dan dapat menurunkan enzim antioksidan intrasel⁽⁴⁾. Pada kondisi stres oksidatif, produksi reactive oxygen species (ROS) yang tinggi akan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan untuk menetralkan ROS sehingga jumlahnya dalam tubuh menjadi berkurang. Stres oksidatif dapat memicu peroksidasi lipid sehingga menimbulkan kerusakan sel serta dapat mengakibatkan adanya kerusakan pada fungsi hati dengan meningkatnya beberapa penanda biokimia seperti Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT), Serum Glutamic Piruvic Transaminase (SGPT), bilirubin alkaline fosfatase serta peningkatan jaringan peroksidasi lipid⁽⁴⁾.

Diabetes mellitus tipe 2 yaitu tubuh tetap menghasilkan insulin dalam jumlah yang normal, namun insulin yang dihasilkan tidak bekerja dengan baik atau terjadi resistensi insulin karena reseptor insulin pada membran sel berkurang sehingga tidak tanggap terhadap insulin⁽⁵⁾.

Pada keadaan normal atau gula darah puasa (GDP) tidak mengalami diabetes maka semakin tinggi ekspresi Glucose Transporter 4 (GLUT 4). Penginduksian streptozotocin dapat mengakibatkan resistensi insulin sehingga kadar glukosa dalam darah tinggi, streptozotocin dapat pula menyebabkan Glucose Transporter 4 (GLUT 4) yang memfasilitasi glukosa masuk ke dalam sel menurun, sehingga mengakibatkan

penurunan pemasukkan glukosa ke dalam otot dan jaringan adiposa.

Salah satu sumber daya hayati biota laut Indonesia yang mampu memutuskan reaksi rantai radikal sehingga dapat menghambat ROS dan stres oksidatif pada penderita DM yaitu *Spirulina platensis*, mikroalga hijau biru yang kaya akan kandungan protein, vitamin, mineral, pigmen fikosianin dan karotenoid yang berfungsi sebagai antioksidan eksogen. *Spirulina platensis* memiliki berbagai kandungan kimia seperti klorofil-a, xanthophyll, fikosianin dan karotenoid⁽⁶⁾. Fikosianin dan fikosianobilin dari *Spirulina platensis* menghambat nefropati diabetes terhadap stres oksidatif⁽⁷⁾. *Spirulina platensis* mengandung spektrum alami campuran karoten dan pigmen xantofil (pigmen yang menyebabkan warna kuning pada tumbuhan), yang dengan fikosianin memiliki aktivitas antioksidan, serta *Spirulina platensis* menunjukkan penurunan gula darah⁽⁸⁾.

Spirulina platensis merupakan salah satu mikroalga yang memiliki kandungan lemak dan protein yang cukup tinggi⁽¹⁰⁾. Senyawa aktif yang berfungsi sebagai hepatoprotektor adalah antioksidan. Kandungan kimia yang terkandung dalam *Spirulina platensis* juga dapat mengikat radikal bebas sehingga dapat berfungsi sebagai hepatoprotektor.

Berdasarkan uraian diatas, peneliti ingin aktivitas *Spirulina platensis* sebagai antidiabetes terhadap ureum, kreatinin, Trigliserida (TG), Cholesterol Total (TC), Malondialdehida (MDA), Serum Glutamic Piruvic Transaminase (SGPT), Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminase (SGOT), gambaran histopatologi hati dan ginjal serta mengetahui ekspresi insulin dan GLUT4 pada tikus Wistar putih yang diinduksi *Streptozotocin*.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Untuk hewan percobaan ialah tikus jantan galur wistar usia 2-3 bulan dengan bobot 150-200 gram sejumlah 54 tikus Wistar putih yang didapatkan dari LPPT Universitas Gajah Mada. Penelitian ini terdapat kemudian hewan uji dilakukan pembagian menjadi 6 kelompok perlakuan. bubuk mikroalga *Spirulina platensis* diambil dari kolam pembudidayaan di PT. Neoalgae Industri Makmur, Sukoharjo. Makanan tikus dalam bentuk pelet dan pemberian aquadest. Bahan kimia yang digunakan ialah streptozotocin (*Nacalai tesque*[®]), ketamin injeksi (*Generik*[®]), Larutan PBS, reagen glucose GOD FS (*Diasys*[®]), Larutan Formalin 10%, cat Hematoxylin & Eosin (HE), GLUT-4 Polyclonal Antibody 1 µg/µL (Bioss) (*Host: Rabbit; Souce: KLH conjugated synthetic peptide derived from human GLUT-4*), antibody primer mouse anti-insulin (1:300; Abcam, USA), PGA, CMC-NA, gliserin. Alat yang digunakan untuk perlakuan terhadap hewan uji adalah kandang tikus, timbangan analitik, peralatan

pakan dan minum tikus, sonde tikus oral, spuit injeksi 3cc dan spuit injeksi 5cc, *glucometer* (clever check[®]), masker dan sarung tangan, pipa kapiler darah dengan antikoagulan, *effendorf* volume 1,5 mL alat-alat gelas, *vortex* (heidolph[®]), *mikropipet* (socorex[®]), *waterbath* (memerth[®]), *sentrifuge* (sorvall[®]), *spektrofotometer* (shimadzu[®]), *blue tips* dan *yellow tip*.

METODE. Perlakuan hewan uji yang telah mendapat persetujuan dari Komite Etik Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta nomor : 405/EP-FKIK-UMY/VII/2017. Penelitian ini dilakukan pada bulan Juni-Agustus 2017.

Tikus perlakuan dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan, yaitu kelompok normal, SP, STZ, STZ+SP 36, STZ+SP 72 dan STZ+SP 144. Pada kelompok normal tikus diberi 180 mg/kgBB, kelompok STZ tikus diinduksi STZ dosis 45 mg/kgBB dan tidak diberi SP. Pada kelompok perlakuan STZ+SP 36, 72 dan 144 tikus diinduksi STZ 45 mg/kgBB dan diberi SP dosis 180, 360 dan 720 mg/kgBB. Tikus dipuasakan selama 12 jam diamati kadar gula darah kemudian diberikan STZ 45 mg/kg BB secara intra peritoneal, perlakuan dilakukan selama 28 hari.

Pembuatan Streptozotisin (STZ). Larutan stok yang dibuat yaitu ditimbang STZ sebanyak 450 mg dilarutkan dalam 50 ml buffer sitrat 0,02 M sehingga 1 mL larutan mengandung 9 mg STZ. Dosis STZ yang digunakan mengacu pada penelitian yang telah ada yaitu, menggunakan dosis 45 mg/kgBB. Apabila bobot tikus rata-rata adalah 200 gram, maka dibutuhkan 9 mg STZ untuk setiap ekor tikus. Jika 1 ml larutan mengandung 10 mg STZ, maka induksi i.p memerlukan 0,9 mL larutan STZ20.

Pembuatan Suspensi. Bahan suspensi *Spirulina plantesis* yang digunakan dalam penelitian ini PGA dan CMC-Na digerus sampai homogen, kemudian dilarutkan dengan air sampai terbentuk *mucilage* (pada mortir I). Serbuk *spirulina plantesis* yang akan dibuat suspensi dihaluskan, selanjutnya ditambahkan *gliserin* dan digerus hingga homogen (pada mortir II). Campuran bahan (pada mortir II) dituang sedikit demi sedikit ke dalam campuran bahan (pada mortir I) diaduk hingga homogen. Setelah itu, dimasukkan ke dalam gelas ukur beserta dengan air bilasan dari mortir. Terakhir ditambahkan *Aqua destillata* hingga 100 mL.

Tabel 1. Formulasi suspensi kombinasi suspending agent PGA dan CMC-Na.

Bahan	CMC-NA	Spirulina	Fungsi
Spirulina	-	4 gram	Zat Aktif
PGA	1,25 gram	1,25 gram	Suspending agent
CMC-Na	1 gram	1 gram	Suspending agent
Gliserin	10 mL	10 ml	Wetting agent
Aqua Destillata	ad 100 ml	ad 100 ml	Cairan pembawa

Pengamatan parameter DM yaitu pemeriksaan kadar gula darah puasa diukur dari sebelum perlakuan hari ke 0, dan 28, sedangkan pengamatan kadar ureum, kreatinin, TG, TC, MDA, SGPT, SGOT dilakukan pada hari ke-28 di LPT UGM. Tikus dipuasakan selama 12 jam sebelum pengambilan darah. Darah diambil dari mata tikus dan ditampung menggunakan *ependorf*. *Disentrifuge* dengan kecepatan 4000 rpm selama 4 menit, diambil serum (bagian atas) untuk ditetapkan kadar.

Pengamatan Gambaran Histopatologi Organ Ginjal, Pankreas, Hati, Otot dan Adiposa. Tikus dianestesi terlebih dahulu menggunakan kethamine HCl yang diberikan secara intramuscular, anestesi terjadi selama 20-40 menit setelah penyuntikan. Kemudian tikus dibedah pada bagian abdomen untuk diambil ginjal, pankreas, hati, otot dan adiposa dan diisolasi, dibersihkan dengan larutan PBS dan direndam di dalam larutan fiksatif Bouin selama 24 jam. Dilanjutkan dengan proses dehidrasi, infiltrasi dan diakhiri dengan penanaman di dalam parafin. Setelah itu, disayat dengan ketebalan 7 μ m menggunakan mikrotom. Pita sayatan yang terbentuk disimpan di atas baki preparat, selanjutnya diambil beberapa sayatan untuk ditempel di atas kaca preparat dengan menggunakan *poly-L-lysine* 10%, sayatan diwarnai dengan Hematoksin-Eosin. Kemudian diamati dibawah mikroskop pada perbesaran 400 kali. Diamati perubahan sel-sel hati (degenerasi dan nekrosis) dan pada pankreas jika ditemukan pulau Langerhans dengan jelas, maka sayatan pada daerah tersebut baru bisa dianalisis secara imunohistokimia⁽³⁾

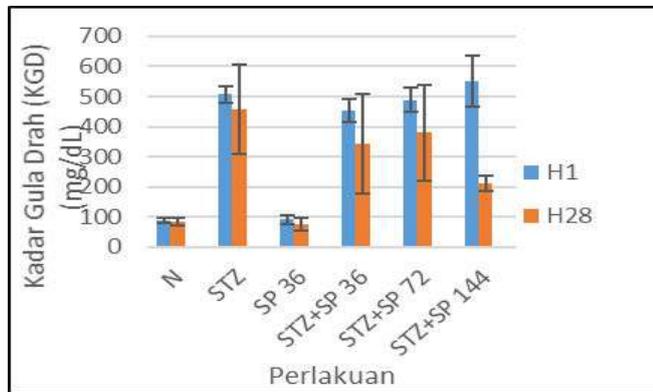
Pengamatan Imunohistokimia.

Imunohistokimia insulin menggunakan antibodi primer *mouse anti-insulin*, dan Imunohistokimia GLUT4 menggunakan *Anti-Glucose Transporter GLUT4 antibody*. Pengamatan ekspresi insulin dan GLUT4 diukur dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 40x dan dengan menggunakan software ImageJ dengan plug-in IHC-Profler.

Data Analisis. Dari data absorbansi dianalisis secara statistik dengan taraf kepercayaan 95%. Data kadar dilakukan uji normalitas dengan menggunakan uji Kolmogrov-Smirnov dan uji homogenitas dengan uji Levene. Jika data yang diperoleh terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) maka dilakukan uji One Way ANOVA, kemudian dilanjutkan dengan uji LSD untuk membandingkan antar kelompok atau data homogen. Apabila data tersebut tidak memenuhi salah satu persyaratan analisis parametrik maka dapat dilakukan uji statistik non parametric dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis*, kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* dengan taraf kepercayaan 95% untuk melihat perbedaan antar kelompok perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Gula Darah. Hasil kadar gula darah pada penelitian ini dengan variasi dosis dibuat untuk mengetahui efektivitas dosis *Spirulina platensis* pada tikus diabetes yang diinduksi *Streptozotocin*, hasil pengamatan parameter diabetes di dapat hasil sebagai berikut:



Gambar 1. Grafik Rata-rata KGD

Keterangan : Kelompok Normal (N), Kelompok STZ, Kelompok SP 36 , STZ+SP 36, STZ+SP 72 STZ+SP 144.

Berdasarkan hasil Gambar 1. bahwa nilai kadar gula darah untuk berbagai kelompok dan waktu hari ke-0 dan ke-28 mayoritas mengalami penurunan, pada kelompok dosis STZ+SP 72 mengalami

penurunan paling besar dibandingkan ke dua dosis yang lain. Hasil ini sesuai jurnal yang didapat bahwa *Spirulina platensis* mengandung spektrum alami campuran karoten dan pigmen xantofil, dan fikosianin memiliki aktivitas antioksidan, serta menunjukkan penurunan gula darah⁽⁸⁾.

Kemudian hasil analisis statistika menggunakan SPSS yang bertujuan untuk dapat mengetahui perbedaan yang lebih signifikan antara kelompok normal setelah pemberian *Spirulina platensis* dengan kelompok *streptozotocin* serta kelompok dengan dosis selama 28 hari. Analisis distribusi normal yaitu dengan menggunakan uji *Shapiro-Wilk* yang bertujuan untuk menguji sebaran data yang ada terdistribusi normal atau tidak, hasil data kadar gula darah tidak terdistribusi normal ($p > 0,05$). Kemudian dilanjutkan uji *Kruskal-Wallis* ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan perlakuan antar kelompok, yang hasilnya dapat dilihat pada tabel test statistic. Hasil uji menunjukkan nilai signifikan yaitu untuk kadar gula darah H-0 dan untuk H-28 hasil $< 0,05$, sehingga memiliki perbedaan yang bermakna pada kadar glukosa darah H-0 dan H-28, kemudian pada kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan bermakna maka dilakukan analisis *Post Hoc. Post Hoc* untuk uji *Kruskal-Wallis* adalah dengan uji *Mann-Whitney*⁽¹¹⁾.

Berdasarkan pada penelitian terjadi peningkatan yang signifikan pada kadar glukosa darah setelah

Tabel 2. Rata-rata kadar analisis ureum, kreatinin, TG, TC, MDA, SGPT, SGOT (n=3).

Kelompok	Ureum (mg/dl ±SD)	Kreatinin (mg/dl±SD)	TG (mg/dl±SD)	TC (mg/dl±SD)	MDA (mmol/L±SD)	SGPT (U/L±SD)	SGOT (U/L±SD)
Normal	49,53 ± 5,14*	0,32±0,05*	81.47±6.30*	50.63±7.51*	2,29±0,52*	46.47 ± 4.90*	106.17 ± 11.66*
STZ	68,97± 1,29	0,47±0,11	136.57±32.99	75.90±23.57	5,05±1,27	222.4±64.43	393.97±55.05
SP 36	38,37± 1,92*	0,42±0,04	67.30±13.09*	57.27±8.95	2,02±0,22*	42.73±9.50*	105.47±6.44*
STZ+SP 36	90,67± 3,31	0,31±0,02*	79.43±30.08*	39.57±10.02*	3,24±0,70*	62.76±37.52*	133.23±59.92*
STZ+SP 72	61,67± 8,33	0,31±0,02*	108.93±32.99	48.37±3.28*	2,63±0,14*	160.37±33.34	280.20±96.77
STZ+SP 144	55,83± 2,04	0,23±0,03*	68.53±17.80*	59.73±12.33	3,82±0,45*	94.43±48.93	235.47±30.91

*Nilai $p < 0,05$ yang berarti berbeda signifikan dibanding kelompok STZ

diinduksi *streptozotocin*. *Streptozotocin* dapat menaikkan kadar glukosa darah dengan mekanisme dengan merusak sel β pankreas. Peningkatan kadar glukosa darah disebabkan senyawa radikal bebas yang merusak sel-sel pada pankreas sehingga tidak dapat berfungsi. Diabetes militus adalah sekumpulan gejala yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah sebagai akibat defisiensi insulin baik relative maupun absolut⁽¹²⁾.

Penurunan yang terdapat pada kadar glukosa darah pada penelitian ini menggunakan *Spirulina platensis*, *Spirulina platensis* mampu menurunkan kadar glukosa darah, karena mengandung spektrum alami dari campuran karoten, xantofil, dan fikosianin yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan⁽⁹⁾, penelitian di atas menunjukkan penurunan kadar glukosa darah sebelum dan setelah pemberian *Spirulina platensis* mengalami penurunan terutama pada kelompok STZ+SP 144 mengalami penurunan paling besar dibanding perlakuan yang lain. Kandungan antioksidan dalam *Spirulina platensis* dapat menurunkan kadar glukosa darah dengan mekanisme menghambat reaksi oksidasi dan dapat menetralkan atau menangkap radikal bebas⁽¹³⁾.

Analisis Kadar. Hasil pada penelitian ini dengan variasi dosis dibuat untuk mengetahui efektivitas dosis *Spirulina platensis* pada tikus diabetes yang diinduksi Streptozotocin, hasil pengamatan parameter diabetes di dapat hasil seperti pada Tabel 2. Nilai SGOT tikus normal adalah 20 – 100 IU/L. Namun pada penelitian ini ketiga kelompok perlakuan tikus Wistar diabetes masih memiliki nilai aktivitas SGOT diatas normal. Enzim SGOT tidak hanya terdapat pada hati melainkan juga dihasilkan dalam otot dan jantung. Sehingga berkemungkinan tingginya aktivitas SGOT karena juga diproduksi enzim SGOT di organ selain hati yang menyebabkan nilai SGOT meningkat melebihi normal.

Nilai SGPT tikus normal adalah 5–224 IU/l. Enzim SGPT lebih spesifik dalam menentukan kerusakan pada hati karena paling banyak berada pada organ hati dibandingkan organ tubuh lainnya 28. Terjadinya penurunan aktivitas enzim SGPT merupakan salah satu indikasi kesembuhan sel-sel hati yang mengalami kerusakan atau terjadinya perlindungan hati dari kerusakan yang diakibatkan oleh *streptozotocin* setelah pemberian *Spirulina platensis*.

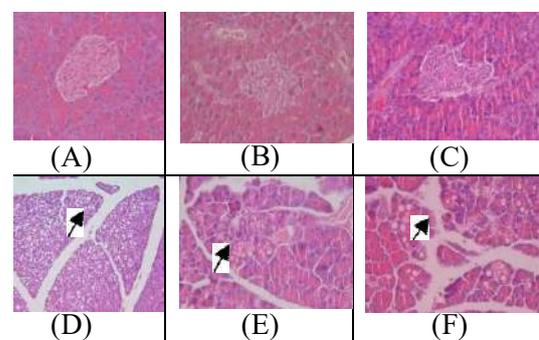
Kadar ureum dan kreatinin pada kelompok perlakuan STZ+SP 144 dapat menurunkan kadar kreatinin secara signifikan ($p < 0,05$) di bandingkan kelompok perlakuan STZ+SP 36 dan streptozotocin + spirulina 0,36. Kadar ureum pada kelompok

perlakuan STZ+SP 144 dapat menurunkan kadar ureum secara signifikan dibandingkan dua kelompok yang lain.

Pemberian *streptozotocin* dapat meningkatkan kadar kolesterol total dan trigliserida serum yang signifikan ($p < 0,05$). Pemberian suspensi *Spirulina platensis* dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida serum pada semua varian dosis. Penurunan kadar kolesterol dan trigliserida serum yang signifikan terdapat pada kelompok STZ + SP 36 ($p < 0,050$).

Hasil data analisis kadar pada Tabel 2. kelompok dosis STZ + SP 36 dapat memperbaiki kadar analisis. Pada Diabetes Melitus Terjadinya hiperglikemia menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas ataupun *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang tidak stabil dan sangat reaktif⁽⁷⁾. Serta peningkatan produksi ROS yang melebihi kapasitas pertahanan enzim antioksidan sel menyebabkan terjadinya stres oksidatif⁽¹⁴⁾, sehingga pada *Spirulina plantesis* terdapat Fikosianin dan fikosianobilin menghambat nefropati diabetes terhadap stress oksidatif²⁴. Kelompok STZ menunjukkan ketidaknormalan pada tiap analisis, sehingga bahwa induksi streptozotocin dengan dosis 45 mg/kgBB mampu merusak ginjal sehingga terjadi penurunan fungsi ginjal yang ditandai dengan penurunan kadar ureum dan peningkatan kadar kreatinin dalam serum. Pada serum MDA disebabkan terjadi peningkatan ROS dalam sirkulasi.

Penurunan kadar disebabkan karena adanya peran aktif *Spirulina platensis* sebagai antioksidan dalam mencegah terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel. Diketahui *Spirulina platensis* mengandung beberapa senyawa aktif, yaitu fikosianin, beta karoten serta vitamin yang berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Kandungan fikosianin dan beta karoten pada *Spirulina platensis* berperan sebagai antioksidan yang kuat dalam menghambat lipid peroksidasi⁽¹⁵⁾.



Gambar 2. Histopatologi pankreas dengan pewarnaan hematoksilin eosin (perbesaran 400x)

Keterangan : (A) = kelompok Normal, (B) = kelompok STZ, (C) = kelompok SP 36, (D) = kelompok STZ+SP 36, (E) = kelompok STZ+SP 72, (F) = kelompok STZ+SP 144.

Histopatologi pada Pankreas. Tujuan dari pengamatan histopatologi pankreas adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *Spirulina platensis* terhadap pemulihan fungsi ginjal dan hati akibat induksi *Streptozotocin* (STZ).

Hasil histopatologi pankreas normal menunjukkan bahwa tidak adanya terjadi perubahan patologi pankreas dapat dilihat pada Gambar 2. (A). Sedangkan pada Gambar 2. (B) terjadinya nekrosis pada tikus kelompok STZ. Terjadinya nekrosis pada pulau langerhans ditandai dengan adanya ruang-ruang kosong yang ada dibagian tengah pulau langerhans. Ruang-ruang kosong tersebut disebabkan karena adanya nekrosis sel beta. Penurunan jumlah sel beta pankreas menunjukkan adanya gangguan metabolisme insulin pada pankreas yang menyebabkan menurunnya sel beta dalam pulau *Langerhans*⁽¹⁶⁾.

Hal ini membuktikan bahwa pemberian STZ dapat mengganggu sekresi insulin. Pemberian STZ menyebabkan adanya radikal bebas yang mampu meningkatkan oksigen reaktif yang mempunyai peran penting terhadap kerusakan sel β pankreas⁽¹⁷⁾. Kerusakan sel β pankreas yang diakibatkan oleh gangguan sekresi hormon insulin menyebabkan penurunan produksi insulin yang akan mengakibatkan gangguan metabolisme lemak yang mengakibatkan terjadinya peningkatan trigliserida (TG) serta kolesterol. Sehingga pada perlakuan *Spirulina platensis* mampu memberikan perbaikan pada jaringan yang telah diinduksi streptozotocin. Hasil penelitian Surbakti (2013) mengatakan bahwa *Spirulina platensis* mengandung senyawa antioksidan. Antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas.

Kemudian dilanjutkan dengan pengamatan terhadap sayatan jaringan pankreas diwarnai dengan imunohistokimia, setelah itu dilakukan penghitungan ekspresi sel-sel β pankreas yang imunoreaktif terhadap insulin. Hasil analisis *Mann-whitney* menunjukkan bahwa ekspresi sel β pankreas antara kelompok STZ dengan kelompok normal, spirulina, sedang dan tinggi memiliki perbedaan yang bermakna ($p \leq 0,05$). Uji statistik ANOVA menunjukkan data ekspresi insulin terdistribusi normal dengan nilai $p > 0,05$ namun tidak homogen dengan nilai $p > 0,05$, maka dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* dan *Mann-Whitney*.

Hasil statistik menunjukkan bahwa kelompok STZ dengan kelompok normal memiliki perbedaan yang signifikan $p < 0,05$. Hal ini membuktikan bahwa *Streptozotocin* memberikan efek diabetes terhadap tikus. *Streptozotocin* bekerja dengan cara mempengaruhi terhadap sensitifitas reseptor terhadap insulin atau mempengaruhi terhadap

sekresi insulin sehingga menyebabkan ketidak optimalan insulin dalam pengangkutan kadar glukosa darah.

Tabel 3. Rata-rata % ekspresi insulin.

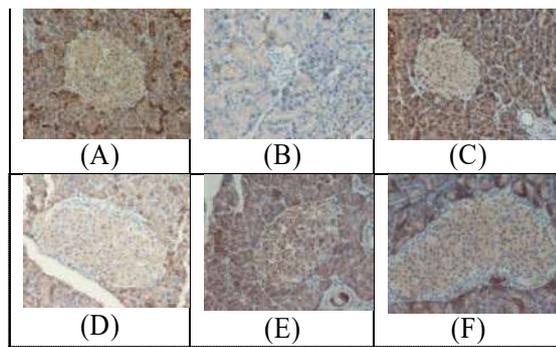
Kelompok	% Ekspresi Insulin Mean \pm SD (RIBU)
Normal	187,45 \pm 1,39*
STZ	0,35 \pm 0,38
SP 36	14,80 \pm 1,53*
STZ+SP 36	1,03 \pm 0,89
STZ+SP 72	22,55 \pm 1,16*
STZ+SP 144	13,68 \pm 7,60*

*Nilai $p < 0,05$ yang berarti berbeda signifikan dibanding kelompok STZ.

Hasil statistik menunjukkan bahwa kelompok STZ dengan kelompok normal memiliki perbedaan yang signifikan $p < 0,05$. Hal ini membuktikan bahwa *Streptozotocin* memberikan efek diabetes terhadap tikus. *Streptozotocin* bekerja dengan cara mempengaruhi terhadap sensitifitas reseptor terhadap insulin atau mempengaruhi terhadap sekresi insulin sehingga menyebabkan ketidak optimalan insulin dalam pengangkutan kadar glukosa darah.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok STZ dengan kelompok spirulina memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa spirulina tidak mempengaruhi ekspresi insulin pada tikus normal. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok STZ dengan kelompok rendah tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian spirulina dosis low pada tikus diabetes belum mempengaruhi ekspresi insulin di pankreas.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa kelompok STZ dengan kelompok dosis STZ+SP 72 dan STZ+SP 144 memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa spirulina mempengaruhi ekspresi insulin. Spirulina memberikan hasil penurunan kadar glukosa darah. Penurunan kadar glukosa darah terjadi dengan adanya perbaikan sel β pankreas⁽⁸⁾, sehingga meningkatkan jumlah sel β pankreas. *Spirulina platensis* mengandung antioksidan dan antiinflamasi yang kuat yaitu bahan aktif fikosianin dan β karoten6. Fikosianin memiliki kemampuan untuk mengikat radikal bebas termasuk radikal alkoxyl, hidroksil dan peroksil. Sehingga mengurangi produksi nitrit, menekan *inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) dan menghambat lipid peroksida⁽²⁾.



Gambar 3. Mikrofotografi Ekspresi Insulin dengan pewarnaan imunohistokimia (perbesaran 400x),

Keterangan : (A) = kelompok Normal, (B) = kelompok STZ, (C) = kelompok SP 36, (D) = kelompok STZ+SP 36, (E) = kelompok STZ+SP 72, (F) = kelompok STZ+SP 144.

Berdasarkan pengamatan preparat pada Gambar 3. menggunakan pewarnaan imunohistokimia yang menunjukkan bahwa kelompok STZ (Gambar 3 (B)) terdeteksi sel β pankreas sedikit. Kim *et al.* (2007) mengatakan bahwa sel lain yang berwarna biru didapatkan dari *Counterstain* menggunakan pewarnaan hematosilin yang mewarnai sel-sel pankreas selain dari sel β pankreas yang berwarna coklat yang terwarnai dengan imunohistokimia. Hal ini juga menunjukkan bahwa sel β pada pankreas mengalami kerusakan akibat induksi STZ. Berkurangnya sintesis insulin ditandai dengan penurunan ekspresi insulin dari sel β Langerhans pankreas yang imunoreaktif terhadap antibodi insulin (pewarnaan imunohistokimia) hanya bereaksi dengan sel-sel yang menghasilkan insulin.

Histopatologi pada Otot dan Adiposa. Hasil pada histopatologi dapat dilihat pada Table 4. Tujuan dari pengamatan histopatologi otot dan adiposa adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *Spirulina platensis* terhadap pemulihan fungsi otot dan adiposa akibat induksi *Streptozotocin* (STZ).

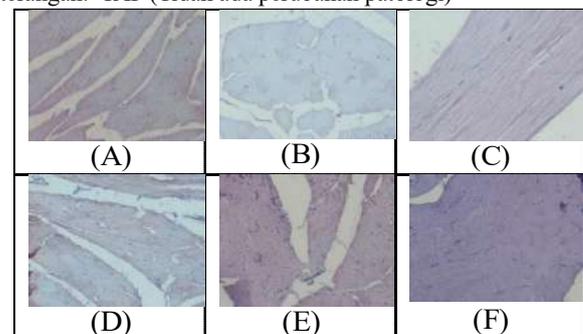
Kemudian dilanjutkan dengan pengamatan Imunohistokimia setelah dilakukan penghitungan ekspresi sel-sel otot yang imunoreaktif terhadap *glucose transporter 4* pada jaringan otot, maka kita dapat melihat perbedaannya, berikut analisis ekspresi GLUT 4 pada jaringan otot pada tikus setelah diberikan *Spirulina plantensis*.

Menunjukkan tidak adanya perubahan patologi pada gambaran histopatologi pada pewarnaan hematosilin eosin. Pada penelitian Khotib (2010) hasil histopatologi pada minggu ke-4 tidak adanya nekrosis pada jaringan otot dan adiposa. Gambaran normal ekspresi GLUT 4 pada Gambar 4 (A),

Tabel 4. Hasil Pengamatan Histopatologi HE pada Otot dan Adiposa.

Kode	Preparat Histopatologi		Skorin g	Rasio Nekrosis
	Otot	Adiposa		
Kelompok Normal	TAP	TAP	0	0/4 = 0%
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	
Kelompok STZ	TAP	TAP	0	0/4 = 0%
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	
Kelompok SP 36	TAP	TAP	0	0/4 = 0%
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	
Kelompok STZ + SP 36	TAP	TAP	0	0/4 = 0%
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	
Kelompok STZ + SP 72	TAP	TAP	0	0/4 = 0%
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	
Kelompok STZ + SP 144	TAP	TAP	0	0/4 = 0%
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	
	TAP	TAP	0	

Keterangan: TAP (Tidak ada perubahan patologi)



Gambar 4. Mikrofotografi Ekspresi GLUT 4 Otot dengan pewarnaan imunohistokimia (perbesaran 400x),

Keterangan : (A) = kelompok N, (B) = kelompok STZ, (C) = kelompok SP 36, (D) = kelompok STZ+SP 36, (E) = kelompok STZ+SP 72, (F) = kelompok STZ+SP 144.

sedangkan pada kelompok STZ gambar 4 (B) tidak terdapat ekspresi GLUT 4 dikarenakan terdapat banyak glukosa. *Streptozotocin* memiliki mekanisme dapat menyebabkan kerusakan DNA dan kromosom akibat dari radikal bebas selama metabolisme *streptozotocin*⁽²⁾.

Tabel 5. Rata-rata % ekspresi GLUT 4 pada jaringan otot.

Kelompok	% Ekspresi Insulin Mean \pm SD (RIBU)
Normal	51,15 \pm 8,54*
STZ	0,37 \pm 0,14
SP 36	13,13 \pm 19,53 *
STZ+SP 36 mg/kgBB	18,72 \pm 29,54 *
STZ+SP 72 mg/kgBB	36,69 \pm 46,30 *
STZ+SP 144 mg/kgBB	13,68 \pm 7,60 *

*Nilai $p < 0.05$ yang berarti berbeda signifikan dibanding kelompok STZ.

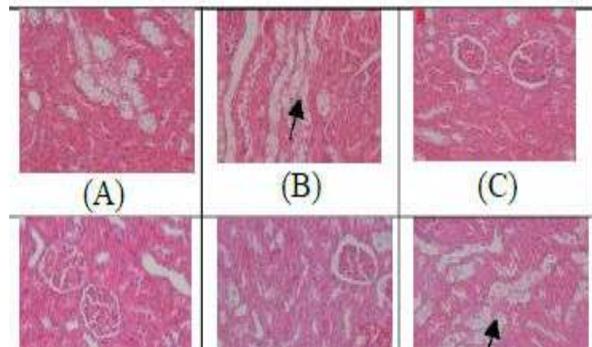
Hasil Uji statistik menunjukkan data jumlah ekspresi GLUT 4 tidak terdistribusi normal ($p > 0,05$) dan juga data tidak homogen ($p < 0,05$) sehingga dilanjutkan dengan uji *Kruskal Wallis* dan *Mann-Withney*. Hasil uji *Kruskal Wallis* antara semua kelompok memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) kemudian dilakukan uji *Mann Withney* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara kelompok 1 dan lainnya. Perbandingan kelompok normal, kelompok SP 36 dengan kelompok STZ perbedaan yang signifikan dengan kontrol negatif ($p < 0,05$), data menunjukkan bahwa ekspresi GLUT 4 pada kelompok normal dan kelompok SP 36 adalah yang paling besar. Hasil uji statistik kelompok STZ dengan kelompok SP menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Hasil ekspresi GLUT-4 yang semakin banyak dapat dikatakan bahwa penggunaan glukosa oleh jaringan semakin baik, sehingga jumlah glukosa dalam darah menjadi berkurang karena diangkut ke jaringan. Di dalam jaringan glukosa akan diubah menjadi ATP (energi) yang bermanfaat bagi tubuh.

Kadar glukosa darah turun akibat dari insulin dengan meningkatkan glukosa ke dalam jaringan adiposa dan otot dengan membawa pengangkutan glukosa, ikatan insulin dan reseptornya membutuhkan GLUT-4 masuk ke dalam sel otot dan jaringan adiposa serta uptake glukosa sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah. Kondisi hiperglikemia pada penderita diabetes melitus menyebabkan terjadi *reactive oxygen species* (ROS) dan *Reactive Nitrogen Species* (RNS) meningkat sehingga oksidasi NADPH pada jaringan endotel. *Reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) merupakan molekul yang sangat reaktif yang dapat mengoksidasi dan merusak DNA, protein, dan lipid yang menyebabkan stres oksidatif. Sebab terjadinya stres oksidatif akibat dari ketidakseimbangan antara jumlah molekul yang sangat reaktif (ROS dan RNS) dengan antioksidan yang ada.

Histopatologi Ginjal dan Hati. Tujuan dari

pengamatan histopatologi ginjal dan hati adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian *Spirulina platensis* terhadap pemulihan fungsi ginjal dan hati akibat induksi *Streptozotocin* (STZ).

Secara makroskopis jaringan yang mengalami nekrosis terlihat lebih pucat dan transparan bila dibandingkan dengan jaringan normal disekitarnya. Secara mikroskopik nukleus akan mengalami piknosis yaitu nukleus terlihat lebih bundar, ukuran lebih kecil dan tercat lebih gelap⁽¹⁸⁾.



Gambar 5. Histopatologi Ginjal dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) (perbesaran 400x),

Keterangan: Hasil histopatologi ginjal yang mengalami nekrosis dengan pewarnaan hematoksin eosin (perbesaran 400x), Keterangan : (A) = kelompok Normal, (B) = kelompok STZ, (C) = kelompok SP 36, (D) = kelompok STZ + SP 36, (E) = kelompok STZ + SP 72, (F) = kelompok STZ + SP 144; Hasil \rightarrow menunjukkan nekrosis pada ginjal.

Hasil gambaran pengamatan histopatologi ginjal kelompok STZ nilainya menunjukkan bahwa pemberian streptozotocin menimbulkan kerusakan nekrosis pada. Sehingga menunjukkan bahwa perlakuan pada hewan uji mengalami diabetes dengan adanya nekrosis yang terjadi di kelompok STZ.

Hasil histopatologi hati pada kelompok spirulina mayoritasnya tidak mengalami perubahan patologi pada hati dapat dilihat pada Gambar 6. Hati yang normal jika diamati secara mikroskopik akan terlihat seperti Gambar 6 (A). Berdasarkan hasil analisis histopatologi hati pada kelompok normal tidak adanya nekrosis dan terlihat inti sel padat serta tidak terdapat sel-sel yang mengalami degenerasi, sehingga mengidentifikasi bahwa tidak terjadi kerusakan pada hati tikus normal. Hasil histopatologi hati pada kelompok STZ mengalami kerusakan pada sel hati dapat dilihat pada Gambar 6 (B), ditandai dengan terjadinya multifokal radang dan degenerasi hidropik pada hati.

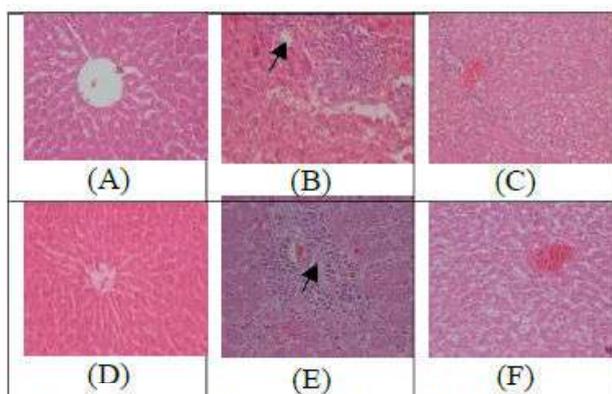
Multifokal radang ditandai dengan adanya infiltrasi limfosit di dalam parenkim hepar, sedangkan degenerasi hidropik ditandai dengan adanya vakuola terbatas tidak jelas di dalam sitoplasma hepatosit dan sel tampak hipertrofi.

Hal ini menunjukkan bahwa penginduksian *streptozotocin* pada tikus merusak organ hati. Hasil histopatologi hati kelompok STZ+SP 72 menunjukkan bahwa pada hati tikus terdapat infiltrasi sejumlah sedikit sel radang limfosit dan sel plasma terlihat pada multifokal area parenkim dapat di lihat pada Gambar 6 (E). Hasil tersebut menunjukkan bahwa hati tikus kelompok medium hanya menimbulkan sedikit peradangan ringan. Hasil histopatologi kelompok high menunjukkan bahwa pada hati tikus tidak terjadi perubahan patologi hati tikus dapat dilihat pada Gambar 6 (F).

Terjadinya nekrosis pada organ ginjal dan hati dapat ditekan kerusakannya oleh pemberian *Spirulina plantesis* yang ditunjukkan dari perbedaan nekrosis, walaupun dari kedua dosis lainnya juga mengalami nekrosis sel tetapi tidak sebanyak pada kelompok STZ+SP dan juga tidak sebanyak pada kelompok STZ yang mengalami keseluruhan nekrosis. *Spirulina platensis* mengandung antioksidan dan antiinflamasi yang kuat yaitu bahan aktif fikosianin dan β karoten⁽⁶⁾.

SIMPULAN

Hasil dari analisis *Spirulina plantesis* mampu mengurangi kadar gula darah, mengurangi kerusakan sel pada pankreas, hati, ginjal serta mampu meningkatkan insulin dan GLUT-4. *Spirulina plantesis* juga mampu menurunkan kadar kolesterol, TG, ureum, kreatinin, MDA dan mengurangi aktivitas SGPT, SGOT.



Gambar 6. Histopatologi hati dengan pewarnaan hematoksin Eosin (HE) (perbesaran 400x),

Keterangan : Keterangan : (A) = kelompok Normal, (B) = kelompok STZ, (C) = kelompok SP 36, (D) = kelompok STZ+SP 36, (E) = kelompok STZ+SP 72, (F) = kelompok STZ+SP 144.

DAFTAR PUSTAKA

1. Setiabudi, 2008. Referensi Kesehatan Diabetes Mellitus. Diakses : 21 Desember 2017. <http://creasoft.wordpress.com/2008/04/15/diabetesmellitus/>.
2. Deng R, Chow TJ. Review: hypolipidemic, antioxidant, and antiinflammatory activities of microalgae spirulina. *Cardiovascular Therapeutics*. 2010. (28): e33-e45.
3. Hanum, N.N. Hubungan kadar glukosa darah sewaktu dengan profil lipid pada pasien diabetes mellitus Tipe II di Rumah Sakit Umum Daerah kota Cilegon periode januari-april 2013. Skripsi. FK dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta. 2013.
4. Widyaningsih, W. Salamah, N. Efek ekstrak etanol ganggang hijau (*ulva lactuca* i) terhadap berat badan dan kadar trigliserida tikus jantan yang diberi diet lemak tinggi. *Pharmaciana*. 2015. 5(2).
5. Stumvoll, M., Goldstein, B.J., Haeften, T.W. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy, *Lancet* 365. 2005. 46-1333.
6. Abed SA, El-Shazely MO, Ahmed KA, Abdel mawla EM, Obrahim AK. Therapeutic effect of *Spirulina plantesis* on streptozotocin-induced. Diabetic rats, Egypt. *J. Comp. Path & Clinic Path*. 2015.28(1):18-31.
7. Soviana, E., R., Banundari, S.W. Nyoman. Pengaruh suplementasi β -caroten terhadap kadar glukosa darah dan kadar malondialdehida pada tikus sprague dawley yang diinduksi streptozotocin. *Jurnal Gizi Indonesia*.2014.2(2):41-6.
8. Ridwan A, Astrian RT, Barlian A. Pengukuran efek antidiabetes polifenol (*polyphenon 60*) berdasarkan kadar glukosa darah dan histologi pankreas mencit (*Mus musculus* L) SW. jantan yang dikondisikan diabetes melitus. *Jurnal Matematika &Sains*. 2012.17(2):78-82.
9. Farouk K. El-Bazl, Hanan F. Aly , El-Sayed, and Amal A. Mohamed. Role of spirulina platensis in the control of glycemia in DM2 rats. 2013.
10. Amanatin, D, Riesya. Pengaruh Kombinasi Konsentrasi Media Ekstrak Tauge (MET) dengan Pupuk Urea terhadap Kadar Protein Spirulina sp. *Sains dan Seni Pomits*. 2013. 2(2) : 2337-3520
11. Laymena, E. H., Pendidikan, P., Kedokteran, S., Kedokteran, F., & Diponegoro, U. Pengaruh formalin peroral dosis bertingkat histopatologis otak tikus wistar. Universitas Diponegoro. Semarang. 2012
12. Suiradka, I.P. Penyakit Penyakit degeneratif: mengenal, mencegah dan mengurangi faktor risiko 9 penyakit degeneratif. Nuha Medika Yogyakarta. 2012. 25-53
13. Murray, K.R., 1995, Biokimia Harper, Eduisi 22, Penerjemah: A. Hartono, Buku Kedokteran EGC: Jakarta.
14. Palmiera, C. M., D. L., Santos, R., Seica, A. J., Moreno, M. S., Santos. Enhanced mitochondrial testicular antioxidant capacity in goto-kakizaki diabetic rats: role of coenzyme q, *Am J Physiol Cell Physiol* 281. 2001. 1023-8.

15. Sakti, M., Darmono, S.S., Nyoman S.W. Pengaruh suplementasi spirulina terhadap beberapa parameter sindrom metabolik (studi di puskesmas lebdosari kota semarang), *Jurnal Gizi Indonesia*. 2015. 3(2): 94-100.
16. M.P. Okky dan B.W. Simon. Uji efek ekstrak air daun pandan wangi terhadap penurunan kadar glukosa darah dan histopatologi tikus diabetes mellitus. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2014. 2(2) p.16-27.
- 17 Nugroho, A. E. *Animals models of diabetes melitus: pathology and mechanism of some diabetogenics*, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Bagian Farmakologi dan Farmasi Klinik, Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada, Yogyakarta. 2006.
18. Sudiono, J., Kurniadhi, Hendrawan, A., Djimantoro, B. *Penuntun praktikum patologi anatomi*, Buku Kedokteran EGC, Jakarta. 2001.