

EFEK SARI BIJI KEDELAI (*Glycine max*), RIMPANG JAHE (*Zingiber officinale*) DAN KOMBINASINYA TERHADAP KADAR SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) SERUM DAN DENSITAS ENDOTEL AORTA TIKUS MODEL DIABETES

Syaquq Kholilurrahman, Helmin Elyani, Yudi Purnomo

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

E mail : syaquqkholilurrahmandr@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: Hyperglycemic on diabetes melitus contribute to increase vasculopathy diabetic complication. Soya seed and ginger rhizome have been known as antidiabetic effect, but its combination has not been evaluated. This research aimed to know about potential of soya seed (*Glycine max*), ginger rhizome (*Zingiber officinale*) extract and its combination on serum SOD level and aortic endothelial density in diabetic rat model.

Method: This study used *Sprague dawley* male rats 3 months old, which were divided into 2 control groups (normal control and treatment control groups) and 4 treatment groups (soya, ginger, combination *delja I* and *delja II* groups) (n=5 rats). The rats were induced on a high-fat-fructose diet (HFFD) and streptozotocin (STZ). Subsequently, soyaseed 5 g/kgBW, ginger rhizome extract 500 mg/kgBW, combination of *delja I* and *delja II* were given orally for 30 days. Serum SOD levels were measured by using microplate reader $\lambda = 450 \text{ nm}$ and aortic endothelial density using microscop and ImageJ. Data analyzed by using SPSS by significance $p < 0.05$.

Result : Soya seed extract, ginger rhizome and *delja II* combination significantly increase serum SOD levels approximately 2 times, 2 times and 3 times, and increase aortic endothelial density approximately 60%, 80% and 100% respectively, compared by treatment control group ($p < 0.05$). The induction of DTLF and STZ in the treatment control group increase serum SOD levels and aortic endothelial density 70% and 60% compared by normal control group.

Conclusion: According to the result above, soya seed extract, ginger rhizome and *delja II* combination can inhibit reduction of serum SOD levels and aortic endothelial density in diabetic rat model.

Keywords: Soya, ginger, combination, SOD, aortic endothelial density, diabetes

PENDAHULUAN

Vaskulopati diabetik masih menjadi permasalahan kesehatan di Indonesia. Vaskulopati diabetik adalah abnormalitas dari endotel dan otot polos vaskuler akibat tingginya kadar glukosa darah¹. Vaskulopati diabetik menjadi faktor penentu dalam perkembangan komplikasi Diabetes Melitus (DM), baik itu komplikasi makrovaskuler maupun mikrovaskuler². Selain itu, vaskulopati diabetik merupakan penyebab utama kecacatan dan kematian pada pasien DM³. Pada tahun 2015, angka kematian akibat komplikasi DM yang diawali oleh vaskulopati di Indonesia sebesar 6% dari perkiraan 10.000.000 jiwa yang terdiagnosis DM. Hal ini menjadikan komplikasi DM sebagai penyebab kematian tertinggi ketiga di Indonesia⁴. Oleh sebab itu perlu mengetahui patofisiologi terjadinya vaskulopati diabetik.

Kondisi stress oksidatif berperan terhadap patofisiologi terjadinya vaskulopati diabetik. Pada pasien DM terjadi kondisi hiperglikemi yang dapat meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dalam tubuh⁵. Peningkatan produksi ROS yang tidak sebanding dengan jumlah antioksidan akan memicu kondisi stress dan kerusakan oksidatif pada endotel aorta. *Superoxide Dismutase* (SOD)

merupakan antioksidan lini pertama yang bekerja menghambat kerusakan oksidatif komponen biologi sel akibat radikal anion superoksida⁶. Sebagai antioksidan endogen, kadar SOD mengalami penurunan akibat peningkatan jumlah ROS yang harus dinetralkan⁷. Penurunan SOD ekstrasel dapat mengakibatkan peningkatan radikal anion superoksida ekstrasel yang berperan dalam terjadinya *endothelial detachment* aorta yang ditandai dengan penurunan densitas endotel aorta⁸.

Sari biji kedelai (*Glycine max*) dan sari rimpang jahe (*Zingiber officinale*) merupakan herbal yang berpotensi sebagai anti diabetes^{9,10}. Selain dikenal sebagai sumber makanan yang kaya protein, sari biji kedelai dipercaya mempunyai manfaat untuk mengendalikan kadar glukosa darah pada pasien DM⁹. Kandungan isoflavon pada sari biji kedelai berperan meningkatkan kontrol glukosa darah¹⁰, meningkatkan kadar SOD¹¹, dan memperbaiki kerusakan endotel¹². Sari rimpang jahe mengandung senyawa gingerol dan shogaol yang mampu menurunkan kadar glukosa darah^{13,14}, memproteksi kerusakan endotel¹⁵, dan mempertahankan kadar SOD¹⁶.

Terapi herbal oleh herbalis sebagian besar diberikan dalam bentuk ramuan atau kombinasi

untuk meningkatkan efektivitas dan menurunkan efek samping¹⁷. Sementara itu, sebagian besar riset herbal menggunakan bentuk tunggal dan masih sedikit dalam bentuk kombinasinya. Oleh sebab itu, perlu dilakukan riset tentang efek sari biji kedelai (*Glycine max*), rimpang jahe (*Zingiber officinale*), dan kombinasinya terhadap kadar *Superoxide Dismutase* (SOD) serum dan densitas endotel aorta pada tikus model DM. Pemberian herbal tersebut diharapkan dapat menghambat komplikasi vaskulopati diabetik.

M E T O D E

Penelitian ini menggunakan metode *True Experimental Study* secara *in vivo* dengan desain *control group post test only*. Penelitian telah mendapat persetujuan etik dari komite etik penelitian Universitas Brawijaya dengan nomor 823-KEP-UB tahun 2017. Penelitian dilakukan laboratorium Biosains Universitas Brawijaya (UB) dan laboratorium terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang (UNISMA).

Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus *Sprague Dawley* jantan berusia 3 bulan dengan berat antara 180-200 gram. Tikus ditempatkan di kandang individual dengan kondisi tidak lembab, ventilasi yang cukup dan penyinaran yang cukup (14 jam terang dan 10 jam gelap). Pada penelitian ini, tikus dibedakan menjadi 6 kelompok yang terdiri dari 2 kelompok kontrol yakni kelompok kontrol normal (KN) dan kelompok kontrol perlakuan (KP), dan 4 kelompok perlakuan yakni kelompok kedelai, jahe, kombinasi kedelai jahe (delja I dan delja II).

Pembuatan Tikus Model Diabetes

Setelah dilakukan adaptasi tikus selama 1 minggu, kelompok perlakuan dan kelompok kontrol perlakuan diinduksi diet tinggi lemak-fruktosa (DTLF) dalam pakan dan air minum. DTLF terdiri dari susu pap 60%, kuning telur 5%, lemak sapi (crosvet) 25% dan lemak kambing 10% yang diberikan dalam pakan sebanyak 25 g/ekor/hari¹⁸. Fruktosa 20% diberikan dalam air minum sebanyak 50 ml/ekor/hari¹⁹. Setelah 9 minggu diberikan DTLF, tikus diinjeksi dengan streptozotocin (STZ) dengan dosis 25 mg/kgBB *intraperitoneal* (i.p) *multiple dose*²⁰. Kadar gula darah puasa (KGDP) diukur setelah 3 hari pasca injeksi dan dinyatakan DM apabila kadar KGDP $\geq$ 126 mg/dL.

Pembuatan Ekstrak Biji Kedelai, Rimpang Jahe dan kombinasinya

Biji kedelai (*Glycine max*) berasal dari varietas Argo Mulyo dengan nomor sertifikat 074/241/102.7.2017. Serbuk rimpang jahe

(*Zingiber officinale*) diperoleh dari Balai Material Medika, Batu, Jawa Timur dengan nomor sertifikat 074/211/102.7/2017. Pada penelitian ini, dosis sari biji kedelai yang diberikan adalah 5000 mg/kgBB²¹. Sari biji kedelai dibuat menggunakan prinsip maserasi digesti dengan cara mencampur biji kedelai 80 gram yang sudah bersih dengan 80 ml air, campuran ini diblender selama 10 menit kemudian diperas dan disaring. Hasil dari sari biji kedelai kemudian ditambahkan air hingga 100 ml dan dipanaskan dengan suhu 50°C. Dosis sari rimpang jahe yang diberikan adalah 500 mg/kgBB²². Sari rimpang jahe dibuat menggunakan prinsip infudasi dengan cara 1500 mg serbuk jahe dimasukkan pada 15 ml air yang telah dipanaskan pada suhu 90°C kemudian ditunggu 15 menit sambil sesekali diaduk dan dibiarkan hingga dingin. Rimpang jahe yang telah dingin kemudian diperas dan disaring. Bentuk kombinasi kedelai dan jahe dibuat menjadi 2 kombinasi pemberian yaitu 2500:250 mg/kgBB dan 5000:500 mg/kgBB kemudian dipanaskan pada suhu 50°C.

Preparasi Sampel Serum

Hewan coba dikorbankan dengan teknik dislokasi leher, untuk diambil darah dari aorta abdominalis dan intra kardiak sebanyak 3 ml. Sampel dimasukkan ke dalam tabung efendrof tanpa EDTA kemudian didiamkan selama 30 menit dengan suhu ruangan. Sampel kemudian disentrifugasi dengan selama 10-15 menit dengan kecepatan 3000 rpm untuk mendapatkan serum di bagian supernatan.

Pengukuran kadar SOD Serum

Pengukuran SOD serum menggunakan SOD ELISA *rat kit* (elabsceince). Larutan standar atau sampel sebanyak 50 µL dimasukkan kedalam *well* kemudian ditambahkan *Biotinylated Detection Ab* sebanyak 50 µL, campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit kemudian diaspirasi. Larutan *wash buffer* ditambahkan sebanyak 350 µL dan dicuci 3 kali. Setelah itu, *HRP Conjugate Working Solution* 100 µL ditambahkan dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit, diaspirasi dan dicuci 5 kali. Selanjutnya, *substrat reagent* ditambahkan sebanyak 90 µL dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit. Setelah diaspirasi, *stop solution* ditambahkan sebanyak 50 µL. Nilai absorbansi sampel diukur menggunakan *microplate reader* pada $\lambda = 450$ nm dengan satuan ng/dL dan hasil didapatkan melalui regresi non-linear.

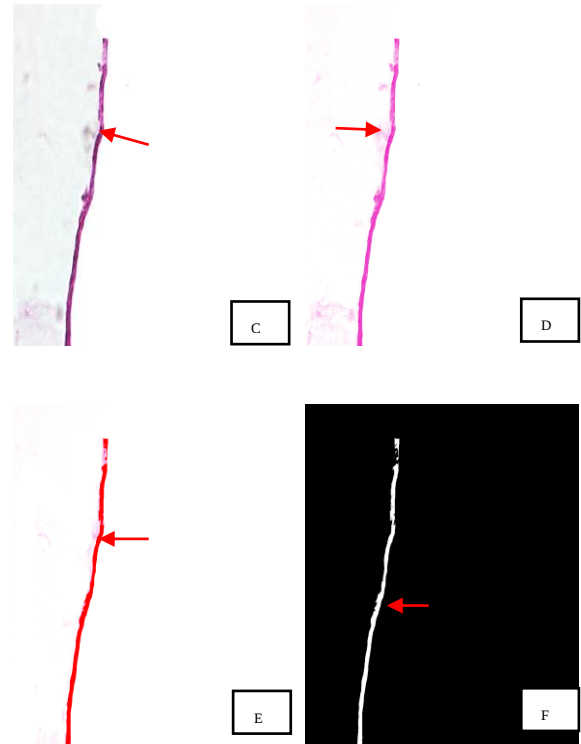
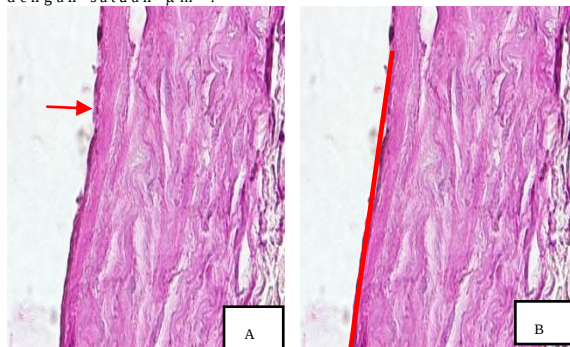
Preparasi Sampel Jaringan Histopatologi Aorta

Sampel aorta diambil mulai arcus aorta hingga aorta abdominalis, sampel dibilas dengan larutan *Sodium Chloride* (NaCl) dan *Phosphate Buffer Saline* (PBS), sampel kemudian disimpan kedalam tabung organ.

Pembuatan preparat histopatologi aorta dilakukan dengan cara merendam aorta kedalam larutan formalin. Setelah 2 hari, aorta yang telah dipotong kemudian di proses dengan teknik *dehydration* dengan menggunakan alkohol. Setelah itu dilakukan teknik *clearing* dengan menggunakan xylol dilanjutkan teknik *infiltration* menggunakan parafin. Blok parafin diiris menggunakan mikrotom dan diwarnai dengan diberi pewarna *Hematoxylin Eosin* (HE).

Pengamatan dan Pengukuran Densitas endotel aorta

Pengamatan preparat histopatologi endotel aorta (HE) menggunakan mikroskop trinokuler dengan pembesaran 1000 kali pada 4 lapang pandang. Pengukuran densitas endotel aorta menggunakan aplikasi ImageJ. Gambar jaringan endotel aorta dipotong dengan panjang 10 μm dan lebar 0,2 μm . Setelah itu dilakukan *colour deconvolution* dan *threshold*. Selanjutnya dilakukan *analyze particle* untuk menghitung total area seperti pada gambar 1. Pada pengukuran didapatkan kepadatan endotel aorta dalam luas area dengan satuan μm^2 .



Gambar 1. Pengukuran densitas endotel aorta menggunakan program imageJ.

Keterangan : Tahapan pengukuran densitas endotel aorta (tanda panah menunjukan endotel aorta) (A) gambar preparat histopatologi endotel aorta (B) diukur dengan panjang 10 μm dan lebar 0,2 μm , (C) dipotong sesuai pengukuran endotel (D) *colour deconvolution*, (E) *threshold 140*, (F) *Analyze particle*

Analisa Statistik

Data yang telah diperoleh terlebih dulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Data Kadar SOD serum dinyatakan tidak terdistribusi normal, selanjutnya dilakukan analisa statistik *Kruskal-Wallis test* dilanjutkan dengan *Mann-Whitney test*. Data Densitas Endotel Aorta dinyatakan terdistribusi normal, selanjutnya dilakukan uji statistik menggunakan metode *One way ANOVA*, dilanjutkan dengan *LSD test* untuk mengetahui perbandingan antar perlakuan. Hasil dinyatakan bermakna apabila $p < 0,05$. Analisa data dilakukan dengan menggunakan software statistik SPSS versi 24.

HASIL DAN ANALISA DATA

Karakteristik Sampel

Pada penelitian ini didapatkan hasil karakteristik hewan coba yang tercantum dalam tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik sampel

n = 5	KN	KP	Kedelai 5000 mg/kgBB	Jahe 500 mg/kgBB	Delja I 2500:250 mg/kgBB	Delja II 5000:500 mg/kgBB
BB awal (g)	285.4 $\pm$ 18,6	246.5 $\pm$ 26,5	217.2 $\pm$ 19,9	224.3 $\pm$ 19,0	254.6 $\pm$ 20,7	233 $\pm$ 19,3
BB pre-treat (g)	352.7 $\pm$ 29,7	300.5 $\pm$ 31,0	244.8 $\pm$ 17,7	225 $\pm$ 36,0	300.5 $\pm$ 19,6	297.3 $\pm$ 30,5
BB post treat (g)	336,6 $\pm$ 29,7 ^a	335,3 $\pm$ 38,7 ^a	253,2 $\pm$ 33,1 ^b	282,5 $\pm$ 45,3 ^c	312 $\pm$ 24,5 ^d	317,5 $\pm$ 31,8 ^d
Δ BB (g)	51,2 $\pm$ 24,15	88,8 $\pm$ 32,6	36 $\pm$ 26,5	58,2 $\pm$ 32,15	57,4 $\pm$ 22,6	84,5 $\pm$ 25,55

A sup an Pak an (%)	74.7±8.0	68.3±13	89±8	87±11	72±27	78,5±27
K G D P awal (mg/dL)	92.6±5.9	83.0±0.8	85.0±8.5	80.5±5.1	87.75± 4.5	82.3±5.7
K G D P pre-treat (mg/dL)	105.4±7.5	201.3±35	182.6±43.1	168.5±35.8	205.8±56.5	163.5±11.5
K G D P post-treat (mg/dL)	105.4±7.5 ^a	139.0±14.9 ^b	109.0±13.2 ^c	132.3±17.9 ^b	129.5±9.4 ^b	124.0±12.5 ^d

Keterangan:

Data dalam mean ± SD. Uji statistik menggunakan *One Way Anova* dan *Post Hoc LSD test*, BB: Berat Badan, Δ BB: selisih BB akhir dan awal, K G D P : Kadar Glukosa Darah Puasa, KN: Kontrol Negatif, KP: Kontrol Positif, Delja: pemberian kombinasi sari biji kedelai dan rimpang jahe. Notasi yang berbeda menunjukkan signifikansi ($p < 0.05$).

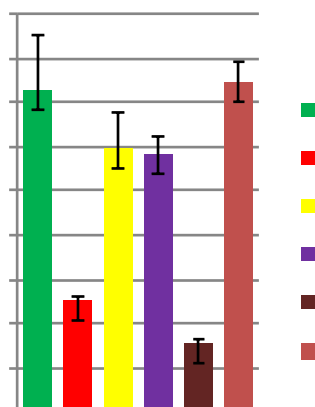
Berdasarkan tabel 1, terdapat penurunan berat badan *post-treat* pada kelompok kedelai, jahe, kombinasi delja I dan II dibandingkan KP ($p < 0.05$). Pada KN tidak didapatkan perbedaan berat badan dibandingkan dengan kelompok KP ($p > 0.05$).

A sup an pakan pada semua kelompok perlakuan cenderung meningkat dibanding dengan KP, tetapi pada kelompok kombinasi delja lebih rendah dibandingkan herbal tunggalnya. KP mengalami penurunan asupan pakan dibandingkan dengan KN.

K G D P pada kelompok kedelai dan kombinasi delja II mengalami penurunan ($p < 0.05$), sedangkan kelompok jahe dan kombinasi delja I tidak berbeda jika dibandingkan dengan KP ($p > 0.05$). K G D P pada KP mengalami peningkatan dibandingkan dengan KN ($p < 0.05$).

Kadar SOD Serum Tikus Model Diabetes yang diberikan Sari Biji Kedelai (*Glycine max*), Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) atau Kombinasinya

Efek pemberian sari biji kedelai (*Glycine max*), rimpang jahe (*Zingiber officinale*), dan kombinasinya terhadap kadar SOD serum tikus model DM dapat dilihat pada **gambar 2**.



*Data dalam mean ± SD. a,b,c,... = notasi berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0.05$, *Mann-Whitney test*)

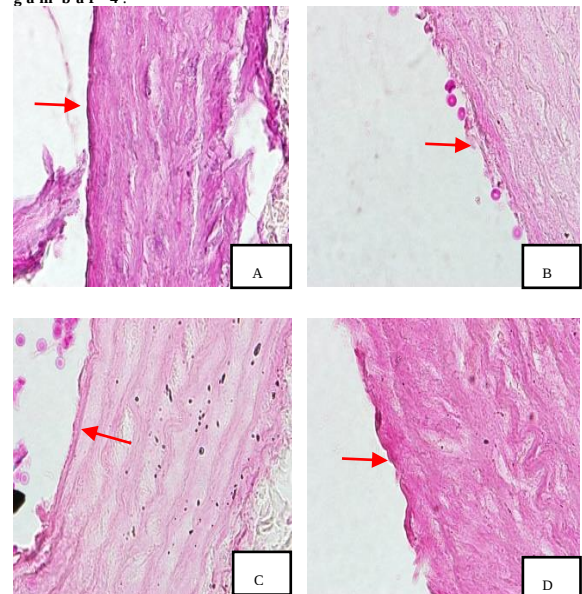
Gambar 2. Histogram kadar SOD serum tikus model diabetes yang diberikan sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya

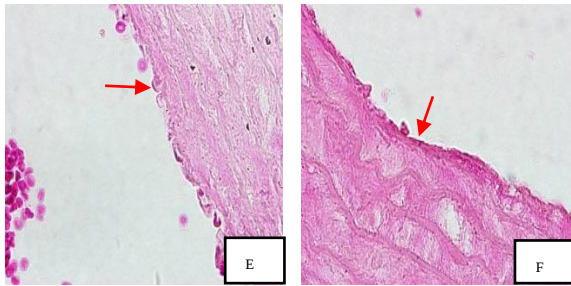
Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasi delja II menghambat penurunan kadar SOD serum berturut-turut sekitar 2 kali, 2 kali, dan 3 kali dibandingkan dengan KP ($p < 0.05$). Potensi

sari biji kedelai tidak berbeda dengan rimpang jahe dalam menghambat penurunan kadar SOD serum tetapi lebih rendah sekitar 30% dibandingkan delja II ($p < 0.05$). Potensi delja II menghambat penurunan kadar SOD serum hingga tidak berbeda dibandingkan KN ($p > 0.05$). Pemberian kombinasi delja I justru menurunkan kadar SOD serum sekitar 40% dibandingkan dengan KP ($p < 0.05$). Induksi DTLF dan STZ pada KP menurunkan kadar SOD serum tikus secara signifikan sekitar 70% dibandingkan dengan KN ($p < 0.05$).

Densitas Endotel Aorta Tikus Model Diabetes yang diberikan Sari Biji Kedelai (*Glycine max*), Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) atau Kombinasinya

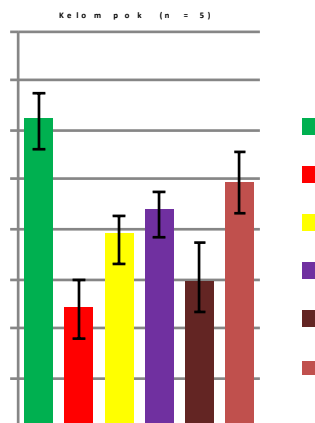
Efek pemberian sari biji kedelai (*Glycine max*), rimpang jahe (*Zingiber officinale*), dan kombinasinya terhadap densitas endotel aorta tikus model DM dapat dilihat pada **gambar 3** dan **gambar 4**.





Gambar 3. Densitas endotel aorta.

Keterangan : Gambaran histopatologi densitas endotel aorta (panah merah) setelah dilakukan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* dengan perbesaran 1000x pada kelompok (A) kelompok KN, (B) KP, (C) kedelai, (D) jahe, (E) kombinasi delja I, (F) kombinasi delja II.



* Data dalam mean ± SD, a,b,c,... = notasi berbeda menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$, *LSD test*)

Gambar 4. Histogram densitas endotel aorta tikus model diabetes yang diberikan sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasinya.

Pemberian sari biji kedelai, sari jahe dan kombinasi delja II menghambat penurunan densitas endotel aorta berturut-turut sekitar 60%, 80% dan 100% dibandingkan dengan KP ($p < 0,05$). Potensi delja II menghambat penurunan densitas endotel aorta lebih kuat sekitar 10-20% dibandingkan kelompok perlakuan lainnya ($p < 0,05$). Sedangkan pemberian kombinasi delja I tidak berbeda dalam menghambat penurunan densitas endotel dibandingkan dengan KP ($p < 0,05$). Induksi DTLF dan STZ pada KP menurunkan densitas endotel aorta tikus secara signifikan sekitar 60% dibandingkan dengan KN ($p < 0,05$).

Korelasi Kadar SOD Serum dengan Densitas Endotel Aorta

Hasil uji korelasi *Spearman* antara kadar SOD serum dengan densitas endotel aorta dapat dilihat pada Tabel 2

Tabel 2. Uji Korelasi Kadar SOD Serum dengan Densitas Endotel Aorta

Correlations				
			SOD	Densitas
Spearman's rho	SOD	Correlation Coefficient	1,000	,829 [*]
		Sig. (2-tailed)	.	,042
		N	6	6
Densitas		Correlation Coefficient	,829 [*]	1,000
		Sig. (2-tailed)	,042	.
		N	6	6

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Hubungan antara SOD serum dengan densitas endotel aorta signifikan ($p < 0,05$) dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,829 memiliki hubungan kuat.

PEMBAHASAN

Efek Sari Biji Kedelai (*Glycine max*), Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) atau Kombinasinya terhadap Kadar SOD Serum Tikus Model Diabetes

Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasi delja II menghambat penurunan kadar SOD serum tikus model diabetes. Efek tersebut berhubungan dengan kandungan zat aktif yang berperan sebagai antioksidan dan anti diabetik. Adapun mekanisme kerja dari herbal tersebut dijelaskan sebagai berikut.

Pemberian sari biji kedelai dapat menghambat penurunan kadar SOD serum. Potensi tersebut diduga akibat zat aktif dalam biji kedelai yaitu isoflavon seperti genistein, daidzain, genistin dan daidzin yang berperan sebagai *scavenger* anion superoksida dan oxygen singlet serta pengkelat logam. Senyawa isoflavon yang termasuk golongan flavonoid bekerja mendonorkan atom hidrogen kepada anion superoksida, reaksi ini menghasilkan senyawa baru yang lebih stabil. Senyawa isoflavon yang berperan sebagai *scavenger* anion superoksida paling kuat adalah daidzain. Senyawa isoflavon juga bekerja sebagai pengkelat logam, senyawa ini akan mengikat logam dan menstabilkan ikatannya, sehingga menghambat katalisis oksidasi radikal bebas^{23,24,25}. Mekanisme tersebut dapat menurunkan jumlah anion superoksida yang harus dinetralkan oleh SOD serum^{26,27}.

Biji kedelai mengandung senyawa isoflavon yang tergolong fitoaleksin yaitu glyceollin I, II dan III. Senyawa ini menghambat penurunan kadar SOD serum melalui mekanisme peningkatan bioavailabilitas *Glucagon like peptide-1* (GLP-1) di saluran pencernaan. Peningkatan bioavailabilitas GLP 1 meningkatkan pelepasan insulin dan menurunkan pelepasan glukagon. Peningkatan insulin memperbaiki kondisi hiperglikemia dan menekan produksi radikal bebas sehingga menghambat penurunan kadar SOD serum²⁸.

Pemberian sari rimpang jahe menghambat penurunan kadar SOD serum. Potensi tersebut diduga akibat zat aktif pada rimpang jahe yaitu gingerol dan shogaol yang bekerja melalui

mekanisme donor atom hidrogen dan *scavenger* anion superoksida serta oksigen singlet. Senyawa ini berperan dalam pengambilan anion superoksida sehingga terjadi penurunan jumlah anion superoksida yang harus dinetralkan oleh SOD serum^{29,30}.

Senyawa gingerol dan shogaol juga berperan dalam memproteksi sel islet langerhans dan meningkatkan *insulin signalling receptor*. Selain itu, senyawa shogaol berperan meningkatkan *glucose uptake*. Peningkatan *insulin signalling receptor* dan *glucose uptake* memperbaiki kondisi resistensi insulin sehingga dapat meningkatkan kadar glukosa intrasel dan menurunkan glukosa serum. Mekanisme ini memperbaiki kondisi hiperglikemia dan menurunkan produksi radikal bebas²⁸. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Purnomo (2018) bahwa sari rimpang jahe memiliki potensi mengendalikan peningkatan kadar glukosa darah pasca induksi DM³¹, sehingga menghambat penurunan kadar SOD serum.

Pemberian kombinasi delja II menghambat penurunan kadar SOD serum lebih kuat dibandingkan bentuk tunggalnya. Hal ini diduga karena dosis dan komposisi zat aktif dari masing-masing herbal berinteraksi secara sinergis sehingga meningkatkan aktifitas biologisnya²⁷. Efek antioksidan dan anti diabetik dikendalikan oleh masing-masing zat aktif dalam kedua sari herbal tersebut dengan mekanisme seperti yang telah dijelaskan sebelumnya^{12,33,34}. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Santoso et al, 2018 (*unpublished*) bahwa pemberian kombinasi sari biji kedelai dan rimpang jahe dengan dosis 5000:500mg/KgBB menurunkan kadar MDA serum sehingga mampu menghambat penurunan kadar antioksidan endogen yaitu SOD. Pemberian kombinasi delja I justru menurunkan kadar SOD serum. Penurunan SOD serum diduga karena dosis herbal yang kurang sehingga tidak mampu mempertahankan SOD serum. Pada penelitian ini, kombinasi delja I diberikan pada dosis setengah lebih rendah dibandingkan delja II dan bentuk tunggalnya^{21,22}.

Pada kelompok kontrol perlakuan didapatkan penurunan kadar SOD serum. Hal ini disebabkan oleh induksi STZ dan DTLF. Induksi DTLF menimbulkan hiperglikemia melalui mekanisme resistensi insulin. Asupan lemak dan fruktosa dalam jumlah tinggi meningkatkan pembentukan asetil KoA sehingga terjadi penurunan *glucose uptake* yang menjadi dasar kondisi hiperglikemia^{35,36}. Selain itu, peningkatan kadar *Free fatty Acid* (FFA) dapat menurunkan *Phosphatidylinositol-3-kinase* (PI3-kinase). Kondisi ini menimbulkan gangguan *reseptor signalling* insulin sehingga terjadi resistensi insulin^{37,38}. Resistensi insulin memicu kondisi hiperglikemia. Kondisi ini memicu sel β pankreas untuk terus memproduksi insulin sehingga menyebabkan kondisi hiperinsulinemia.

Konsentrasi insulin yang tinggi tidak diimbangi dengan *glucose uptake* menimbulkan fatigue sel β pankreas sehingga terjadi penurunan sekresi insulin³⁹.

Induksi STZ dapat menimbulkan hiperglikemia melalui mekanisme penurunan sekresi insulin yang disebabkan kerusakan sel β pankreas. STZ menginduksi peningkatan *Poly ADP-Ribose Synthetase* (PARS) serta dapat menurunkan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide* (NAD) sel β pankreas sehingga menurunkan sekresi insulin. Peningkatan resistensi insulin dan penurunan sekresi insulin menjadi dasar kondisi hiperglikemia³⁶. Kondisi hiperglikemia meningkatkan ROS melalui jalur *polyol pathway*, *protein kinase C*, *hexosamine pathway* dan AGE'S⁴⁰. Peningkatan ROS memicu penurunan kadar SOD serum karena peningkatan jumlah anion superoksida yang harus dinetralkan⁷.

SOD adalah suatu antioksidan endogen yang bekerja menghambat kerusakan oksidatif akibat radikal anion superoksida. SOD termasuk golongan metalloenzim yang mengandung atom Mangan (Mn), Besi (Fe), Seng (Zn) dan Tembaga (Cu). Pembentukan SOD terjadi di sitosol dan matriks mitokondria. SOD memiliki 3 bentuk yaitu SOD 1 di sitoplasma, SOD 2 di mitokondria dan SOD 3 di ekstrasel. SOD bekerja dengan mengubah anion superoksida menjadi hidrogen peroksida, hidrogen peroksida dapat berubah menjadi radikal hidroksil dengan bantuan Fe (reaksi fenton). Kadar SOD mengalami penurunan akibat peningkatan jumlah anion superoksida yang harus dipungut serta kerusakan pada tempat produksi SOD akibat stress oksidatif^{7,6,41}.

Efek Sari Biji Kedelai (*Glycine max*), Rimpang Jahe (*Zingiber officinale*) atau Kombinasinya terhadap Densitas Endotel Aorta Tikus Model Diabetes

Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasi delja II menghambat penurunan densitas endotel aorta pada tikus model diabetes. Efek tersebut berhubungan dengan kandungan zat aktif yang berperan sebagai antioksidan dan antidiabetik. Adapun mekanisme kerja dari herbal tersebut dijelaskan sebagai berikut.

Pemberian sari biji kedelai menghambat penurunan densitas endotel aorta melalui potensinya sebagai antidiabetik. Efek ini diduga akibat zat aktif pada biji kedelai yaitu genistein. Senyawa ini berperan dalam aktivasi protein kinase A (PKA). PKA berperan memodulasi *cyclic adenosine mono phosphate* (cAMP) sehingga memicu fosforilasi dan penutupan kanal potasium. Mekanisme ini memicu peningkatan sekresi insulin dan *glucose uptake* sehingga memperbaiki kondisi hiperglikemia. Penurunan kadar glukosa darah menurunkan potensi terjadinya kerusakan oksidatif endotel aorta serta menghambat penurunan fungsi

endotel untuk memproduksi *Nitric Oxide* (NO) sehingga terjadi penurunan *shear stress*. Penurunan kadar glukosa darah juga menghambat kerusakan oksidatif protein adhesi endotel (*integrin* dan *cadherin*). Kondisi ini menghambat *endothelial detachment* ditandai dengan dipertahankannya densitas endotel aorta^{23,42}.

Kandungan zat aktif isoflavon dapat menghambat penurunan densitas sel endotel aorta melalui mekanisme donor ion hidrogen dan *scavenger* radikal bebas. Senyawa bioaktif isoflavon mengandung gugus fenolik yang berperan mendonorkan ion hidrogen sehingga terbentuk radikal fenoksil yang kurang reaktif dan lebih stabil^{12,33}. Isoflavon yang termasuk golongan flavonoid efektif sebagai *scavenger* radikal anion superoksida, radikal hidroksil dan radikal peroksil. Flavonoid dilaporkan dapat bereaksi dengan radikal bebas tersebut sehingga membentuk senyawa yang stabil dan radikal fenolik yang kurang reaktif⁴¹. Penurunan radikal bebas tersebut menghambat kerusakan protein adhesi yaitu *integrin* dan *cadherin*, sehingga menghambat *endothelial detachment*⁴³.

Pemberian sari rimpang jahe menghambat penurunan densitas sel endotel aorta. Efek ini diduga akibat zat aktif flavonoid seperti gingerol dan shogaol. Senyawa ini berperan melalui mekanisme *scavenger* radikal bebas dan donor elektron sehingga menghambat terjadinya stress oksidatif. Potensi antioksidan pada rimpang jahe menghambat kerusakan oksidatif pada protein adhesi endotel aorta dan menurunkan produksi *endothelial Nitricoxide Synthase* (eNOS) sehingga menghambat *shear stress* dengan mekanisme seperti yang dijelaskan sebelumnya. Kondisi ini mencegah kerusakan struktur endotel^{30,31}.

Selain itu, kandungan gingerol pada sari rimpang jahe menghambat penurunan densitas endotel aorta dengan potensinya sebagai anti-diabetik. Senyawa ini memodulasi metabolisme glukosa sehingga menurunkan kadar glukosa serta viskositas darah. Penurunan viskositas komponen penyusun darah menurunkan gaya gesek darah dengan endotel (*shear stress*). Kondisi ini mencegah kerusakan sel endotel sehingga densitas endotel aorta dapat dipertahankan⁴⁴.

Pemberian kombinasi delja II menghambat penurunan densitas endotel aorta lebih kuat dibandingkan bentuk tunggalnya. Hal ini diduga karena dosis dan interaksi sinergistik dari masing-masing zat aktif kedua herbal dengan mekanisme seperti yang telah dijelaskan sebelumnya³². Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Ahsan et al, 2018 (*unpublished*) bahwa pemberian kombinasi sari biji kedelai dan rimpang jahe dengan dosis utuh menurunkan kadar TNF- α serum. Kondisi ini mampu menghambat terjadinya inflamasi endotel aorta yang menjadi salah satu penyebab *endothelial detachment* yang ditandai dengan keutuhan sel

endotel aorta⁴⁵. Pemberian kombinasi delja I justru menurunkan densitas sel endotel aorta. Penurunan densitas sel endotel aorta diduga karena dosis herbal yang kurang sehingga tidak mampu mempertahankan struktur sel endotel akibat stress oksidatif. Pada penelitian ini, kombinasi delja I diberikan pada dosis setengah lebih rendah dibandingkan delja II dan bentuk tunggalnya^{21,22}.

Pada kelompok kontrol perlakuan didapatkan penurunan densitas endotel aorta. Hal ini disebabkan oleh induksi STZ dan DTLF. Efek ini terjadi melalui mekanisme pembentukan ROS akibat hiperglikemia. Mekanisme ini diawali resistensi insulin dan penurunan sekresi insulin seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Peningkatan ROS akibat hiperglikemia memicu stress oksidatif dan memicu penurunan produksi NO sehingga terjadi vasokonstriksi. Kondisi ini memicu terjadinya *shear stress* terhadap dinding aorta. Stress oksidatif juga dapat merusak molekul adhesi dari endotel seperti *integrin* dan *cadherin*. Dua mekanisme diatas dapat memicu terjadinya *endothelial detachment* yang ditandai dengan penurunan densitas sel endotel aorta⁴⁵.

Endotel adalah sel pipih selapis yang melapisi permukaan pembuluh darah. Sel ini terletak di tunika intima dan berinteraksi langsung dengan darah. Endotel memiliki fungsi sintesis (antikoagulan, agen antitrombogenik dan agen protrombogenik) fungsi barier (difusi, transpor aktif, endositosis dan pinositosis), dan fungsi regulasi vaskuler (vasodilatasi dan vasokonstriksi). Kerusakan struktur endotel menimbulkan gangguan fungsi yang menjadi dasar patomekanisme komplikasi vaskulopati diabetik⁴⁶.

KESIMPULAN

1. Pemberian sari biji kedelai, rimpang jahe dan kombinasi delja II dapat menghambat penurunan kadar SOD serum dan densitas endotel aorta.
2. Pemberian delja II dapat menghambat penurunan kadar SOD serum dan densitas endotel aorta lebih kuat dibandingkan bentuk tunggalnya.
3. Pemberian delja I menurunkan kadar SOD serum.

SARAN

1. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan metode *in silico* untuk mengetahui mekanisme kerja zat aktif yang terkandung di dalam herbal tersebut.
2. Melakukan penelitian lebih lanjut dengan *Nitric oxide* sebagai marker untuk mengetahui hubungannya dengan densitas endotel aorta.
3. Melakukan penelitian uji keamanan herbal tersebut

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada IOM dan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang yang telah mendanai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Carrillo-Sepulveda MA, Matsumoto T, Nunes KP, Webb RC. Therapeutic implications of peptide interactions with G-protein-coupled receptors in diabetic vasculopathy. *Acta Physiol*. 2014;211:20–35.
- [2] Fowler MJ. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. *Diabetes Found*. 2008;26(2):77–82.
- [3] Paneni F, Beckman JA, Creager MA, Cosentino F. Clinical update Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part I. *Eur Heart J*. 2013;2436–46.
- [4] WHO. Diabetes Fakta dan Angka. World Health Organization; 2015.
- [5] Mulyati S. Peranan Advanced Glycation End-products pada Diabetes. 2016;43(6):422–6.
- [6] Rahmawati G, Rachmawati FN, Winarsi H. Aktivitas Superoksida Dismutase Tikus Diabetes yang Diberi Sari Batang Kapulaga dan Glibenklamid. *Scripta Biol*. 2014;1(September):197–201.
- [7] Fukai T, Ushio-fukai M. Superoxide Dismutases: Role in Redox Signaling, Vascular Function, and Diseases. *Mary Ann Liebert, Inc*. 2011;15(6).
- [8] Qin Z, Itoh S, Jeney V, Ushio-Fukai M, Fukai T. Essential role for the Menkes ATPase in activation of extracellular superoxide dismutase: Implication for vascular oxidative stress. *The FASEB J*. 2006;(March).
- [9] Cahyono AD. Manfaat susu kedelai sebagai terapi penurunan kadar glukosa darah pada klien diabetes mellitus. 2011;(4):28–37.
- [10] Baequny A, Hartono M, Harnany AS. Efek Pemberian Susu Kedelai Terhadap Kadar Gula Darah Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2. *J Inf Kesehat Indones*. 2014;2:89–96.
- [11] Juliana, Luran. Pengaruh Pemberian Susu Kedelai (Glycine max) terhadap Peningkatan Enzim Superoxide Dismutase (SOD) pada Tikus yang diberi Diet Tinggi Lemak. *Sarjana. Thesis. Universitas Brawijaya*. 2015.
- [12] Atun S. Potensi Senyawa Isoflavon dan Derivatnya dari Kedelai (Glycine Max. L)

serta Manfaatnya untuk Kesehatan. *Pros Semin Nas Penelitian, Pendidikan, dan Penerapan MIPA*. 2009;33–41.

- [13] Wicaksono AP. Pengaruh Pemberian Sari Jahe Merah (Zingiber Officinale) terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa dan Postprandial pada Tikus Diabetes The Influence of Administration Red Ginger Extracts (Zingiber Officinale) towards Fasting and Postprandial Glucose Level. *Majority*. 2015;4:97–102.
- [14] Yanto AR, Mahmudati N, Susetyorini RE. Seduhan Jahe (Zingiber Officinale Roscoe.) Dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Model Diabetes Tipe-2 (Niddm) Sebagai Sumber Belajar Biologi. *J Pendidik Biol Indones*. 2016;2:258–64.
- [15] Ikhznizadeh, Behrouz, Alireza, Shirpoor, Nemati, Samira, Rasmi Yusef. Protective of Zingiber Officinale extract against diabetes-induced heart abnormality rats. *Diabetes & Metabolism Journal* 40 (1), 46–53. 2016
- [16] Hanif, Harliansyah Abdul, Murad, Noor Azian, Ngah, Wan Zurinah, Yusuf Yasmin. Effect of Zingiber Officinale on Superoxide Dismutase, Glutathionine Peroxidase, Catalase, Glutathionine and MDA. *Malaysian Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 2005
- [17] Katno, Pramono S. Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. 2010;
- [18] Handayani W, Lyrawati D, Andarini S, Rudjanto A. Pengaruh Kombinasi Susu Kedelai dan Jahe terhadap Peningkatan Sensitivitas Insulin pada Tikus Model Resistensi Insulin (Studi In Silico dan In vivo). *Disertasi Progr Dr Ilmu Kedokteran Fak Kedokt Brawijaya*. 2018;
- [19] Wilson R, Islam M. Fructose fed STZ Injection Rat: An Alternative Model for Type 2 Diabetes. *Pharmacol Rep*. 2012;129–39.
- [20] Eleazu C., Eleazu K., Chukwuma S, Essien U. Review of Mechanism of Cell Death Resulting from STZ Challenge in Experimental Animal, its Practical Use and Potential Risk to Human. *J Diabetes Metab*. 2013;
- [21] Bolla K. Soybean Consumption and Health Benefits. *Int J Sci Technol Res*. 2015;4.
- [22] Al-Amin Z, Thomson M, Al-Qattan K., Peltonen-Shalaby R, Ali M. Anti Diabetic and Hypolipidemic Properties of Ginger in STZ induced Diabetic Rats. 2006.
- [23] Sartini, Djide MN, Permana AD. Sarisi Isoflavon Kedelai dan Penentuan

- Kadarnya Secara Ultra Fast Liquid Chromatography (UFLC) Soybean Isoflavones Extraction and Analysis Their Concentration by Ultra Fast Liquid Chromatography. *J Sainsmat*. 2014;III(2):130–4.
- [24] Boue SM, Isakova IA, Burow ME, Cao H, Bhatnagar D, Sarver JG, et al. Glyceollins, Soy Isoflavone Phytoalexins, Improve Oral Glucose Disposal by Stimulating Glucose Uptake. *J Agric Food Chem*. 2012;(60):6376–82.
- [25] Han R, Zhang J, Skibsted LH. Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids. *Molecules*. 2012;17:2140–60.
- [26] Lazo-vélez MA, Guardado-félix D, Avilés-gonzález J, Romo-lópez I, Serna-saldívar SO. *LWT - Food Science and Technology* Effect of germination with sodium selenite on the isoflavones and cellular antioxidant activity of soybean (*Glycine max*). *LWT - Food Sci Technol* [Internet]. Elsevier; 2018;93(February):64–70. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.060>
- [27] Fu Z, Gilbert ER, Pfeiffer L, Zhang Y, Fu Y, Liu D. Genistein ameliorates hyperglycemia in a mouse model of nongenetic type 2 diabetes. *Physiol Nutr Metab*. 2015;37(3):480–8.
- [28] Chang CLT, Lin Y, Bartolome AP, Chen Y, Chiu S, Yang W. *Herbal Therapies for Type 2 Diabetes Mellitus: Chemistry, Biology, and Potential Application of Selected Plants and Compounds*. Hindawi Publ. 2013;
- [29] Hamad A, Anggraeni W, Hartanti D. Potensi Infusa Jahe (*Zingiber officinale* R) sebagai Bahan Pengawet Alami pada Tahu dan Daging Ayam Segar. *J Apl Teknol Pangan*. 2017;6(4):177–83.
- [30] Zhao Y, Feng Q, Ping R, Xin C. Two new compounds from *Zingiber officinale*. 2007;18:1247–9.
- [31] Purnomo Y. Potensi Toleransi Oral Glukosa Sari Biji Kedelai (*Glycine Max*), Rimpang Jahe (*Zingiber Officinale*) Dan Kombinasinya Pada Tikus Model Diabetes. *J Kesehat Islam*. 2018;7(1):45–50.
- [32] Syahrir NHA, Afendi FM, Susetyo B. Efek Sinergis Bahan Aktif Tanaman Obat Berbasiskan Jejaring Dengan Protein Target. *J Jamu Indones*. 2016;1:35–46.
- [33] Cadenas E. *Biochemistry of Oxygen Toxicity*. *AnnRevBioch*. 1997;(28):79–110.
- [34] Nishiyama Y, Fukamizo T, Yoneda K, Arai T. Complete Amino Acid Sequence of a Copper/Zinc-Superoxide Dismutase from Ginger Rhizome. 2017;36:98–107.
- [35] Prabawati RK. *Mekanisme Seluler dan Molekular Resistensi Insulin*. 2012;
- [36] Delarue J, Magnan C. Free fatty acids and insulin resistance Free fatty acids and insulin resistance. 2007;142–8.
- [37] Fu Z, Zhang W, Zhen W, Lum H, Nadler J. through Activation of Multiple Signaling Pathways and Prevents Insulin-Deficient Diabetes in Mice. *Endocrinology*. 2010;151(7):3026–37.
- [38] Natulchair R. Aktivitas Proteksi Sari Etanol Kacang Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr) terhadap Disfungsi Sel Endotel Mencit Putih Jantan. 2016;
- [39] Banjarnahor E, Wangko S. Sel Beta Pankreas: Sintesis dan Sekresi Insulin. *J Biomedik*. 2012;3:156–62.
- [40] Stancáková A. Pathophysiology and Genetics of Impaired Insulin Secretion and Insulin Resistance. Kosma V-M, Turunen H, editors. Kuopio: University of Eastern Finland; 2010.
- [41] Rimbach G, Pascual-teresa S De, National S, Matsugo S, Minihane AM. Antioxidant and free radical scavenging activity of isoflavone metabolites Antioxidant and free radical scavenging activity of isoflavone metabolites. 2003;2017(October).
- [42] Oguri S, Motegi K, Endo Y. Augmented lipopolysaccharide-induction of the histamine-forming enzyme in streptozotocin-induced diabetic mice. *Biochim Biophys Acta*. 2003;1637:83–90.
- [43] Kumar V, Abbas AK, Aster JC. *Robbins Basic Pathology*. 9th ed. Canada: Elsevier; 2013.
- [44] Li Y, Tran VH, Duke CC, Roufogalis BD. Preventive and Protective Properties of *Zingiber officinale* (Ginger) in Diabetes Mellitus, Diabetic Complications, and Associated Lipid and Other Metabolic Disorders: A Brief Review. 2012;
- [45] Wu H, Chen H, Hu PC. Circulating Endothelial Cells and Endothelial Progenitors as Surrogate Biomarkers in Vascular Dysfunction. *Clin Lab*. 2014;(May).
- [46] Ross MH, Pawlina W. *Histology A Text and Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology*. sixth Edit. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2011.