

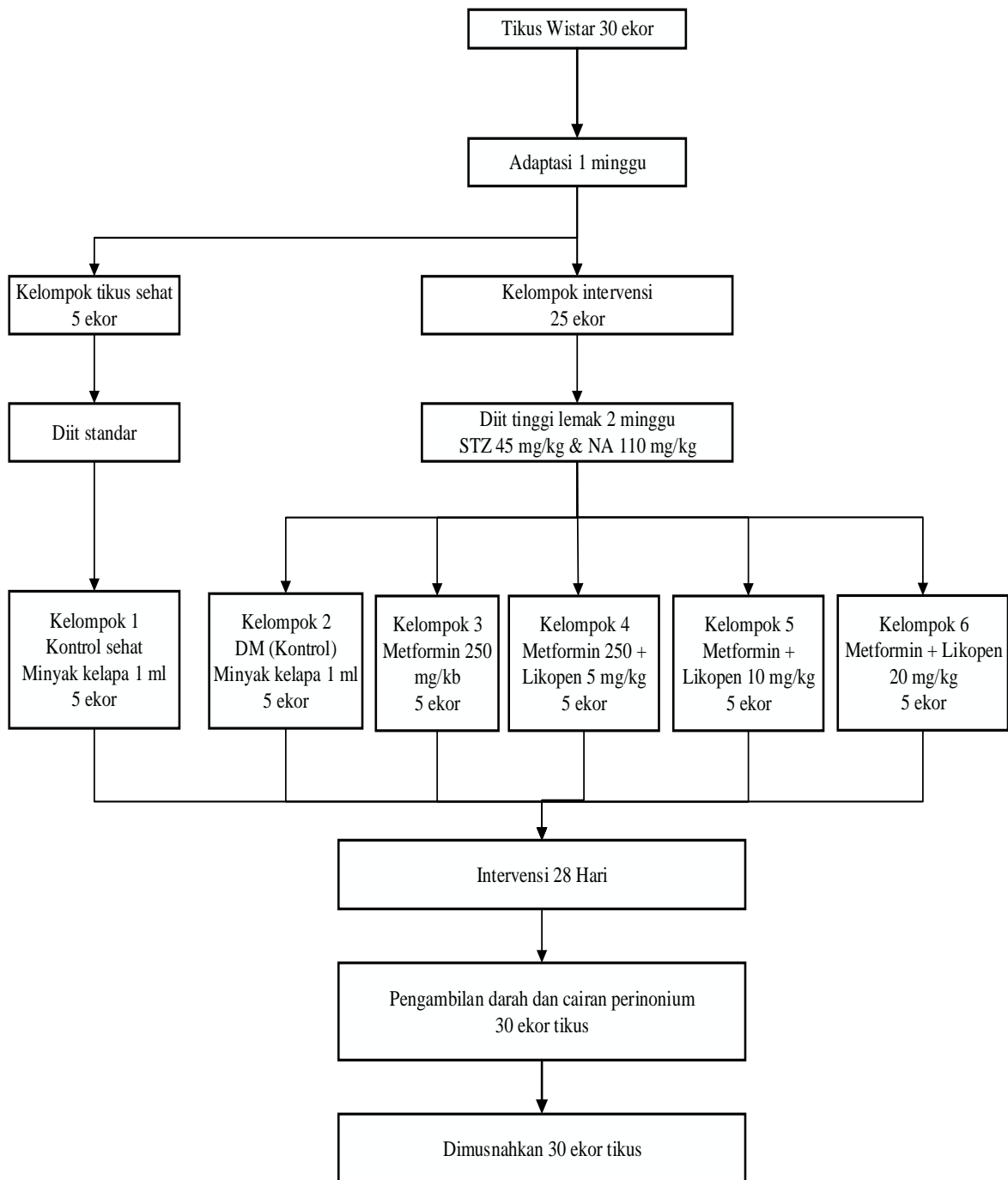
BAB V

HASIL PENELITIAN

Tahapan penulisan dalam hasil penelitian adalah menyajikan data-data hasil penelitian yang diolah dan dianalisis untuk menjawab hipotesis yang telah dibuat sebagai berikut:

A. Gambaran umum

Proses penelitian dilaksanakan bulan Juli-September 2022. Selama adaptasi semua tikus mengalami peningkatan berat badan. Selama proses penelitian, semua tikus hidup, tidak ada yang sakit, dan tidak ada yang *drop out*. Proses penelitian yang terangkum dalam diagram consort pada **Gambar 14**. Proses pemeliharaan, intervensi dan pemeriksaan laboratorium serum tikus dilaksanakan di laboratorium pangan dan gizi PAU UGM, pembuatan kultur dan pemeriksaan makrofag peritoneum dilaksanakan di laboratorium parasitologi FK UGM dan pembacaan hasil di laboratorium terpadu UNDIP.



Gambar 14. Diagram consort penelitian in vivo pada tikus (*Rattus novergicus*) galur

Wistar

B. Sajian analisis data deskriptif

1. Karakteristik subyek penelitian

Berat badan (BB) tikus pada awal pemilihan sampel semua kelompok homogen ($p>0,05$) yang terangkum dalam **Tabel 3**. Berat badan tikus bertambah selama seminggu proses adaptasi karena tikus masih dalam proses pertumbuhan. Perbedaan dalam pertambahan berat badan selama proses penelitian disebabkan oleh adanya induksi diabetes atau akibat pemberian intervensi dengan terapi metformin dosis tunggal atau kombinasi dengan likopen. Perbedaan pertambahan berat badan mulai terlihat setelah proses induksi DM tipe 2 selesai. Rerata pertambahan berat badan tikus yang bukan DM lebih tinggi apabila dibandingkan dengan tikus DM. Berat badan tikus pada akhir penelitian didapat bahwa kelompok tikus DM yang tidak mendapatkan terapi metformin atau likopen justru mengalami penurunan berat badan sebesar 24 gram.

Gula darah puasa sebelum perlakuan pada semua kelompok tikus DMT2 homogen ($p>0,05$). Kadar GDP pada akhir perlakuan mengalami penurunan pada kelompok intervensi, baik dengan metformin tunggal maupun kombinasi metformin dengan likopen. Penurunan GDP pada kelompok DMT2 yang mendapat terapi metformin tunggal lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok DMT2 yang mendapat terapi kombinasi metformin dan likopen dosis 10 mg/kg, namun lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok DMT2 yang mendapat kombinasi metformin dan likopen dosis 20 dan 40 mg/kg, dengan penurunan kadar GDP masing-masing -156,47, -136,83, -173, dan -180,82 mg/dL.

Tabel 3. Karakteristik sampel penelitian

Karakteristik	Kelompok						nilai <i>p</i>
	N	DM	DMet	DML-10	DML-20	DML-40	
Berat badan (gr)							
Awal ^a	171,6 ± 6,9	165,6 ± 3,5	164,4 ± 3,8	165,8 ± 2,6	166,8 ± 4,1	166,8 ± 3,4	0,6 ^{†*}
Adaptasi ^a	176,8 ± 6,4	171,6 ± 3,4	169,8 ± 3,7	171,2 ± 3,3	172 ± 4,3	172 ± 3,4	0,63 ^{†*}
Sebelum ^a	193,2 ± 5,9	186,2 ± 3,6	184,6 ± 3,2	186,2 ± 2,9	187,8 ± 3,7	186,6 ± 3,1	0,68 ^{†*}
Sesudah ^a	221,2 ± 6,8	161,4 ± 3,2	205,4 ± 4,2	203,6 ± 5,0	210,8 ± 3,7	211,8 ± 3,8	0,52 ^{†*}
Δ ^b	28 ± 1,41	-25 ± 2,28	21 ± 1,30	18 ± 2,4	23 ± 0	25 ± 0,84	<0,00 ^{†*}
GDP (mg/dl)							
Sebelum ^a	71,1 ± 2,4	268,8 ± 6,5	273,6 ± 10,4	269,6 ± 0,9	268,7 ± 7,4	269,9 ± 7,5	0,82 ^{†*}
Sesudah ^b	76,2 ± 1,4	274,3 ± 5,3	112,3 ± 2,3	128,5 ± 3,6	95,6 ± 2,3	88,8 ± 3,2	0,22 ^{†*}
Δ ^a	5,20 ± 2,25	5,49 ± 1,52	-156,47 ± 8,38	-136,83 ± 6,34	-173 ± 7,95	-180,82 ± 4,94	<0,001 ^{†*}

Keterangan:

Data disajikan dalam ^arerata, ^bmedian ± S.D, uji homogen menggunakan [†]*Levene*, [‡]uji *Kruskal-Wallis*, *Nilai *p*>0,05

N: tikus normal, DM: tikus diabetes, DMet: tikus DM yang diberi metformin 250 mg/kg, DML-10: Tikus DM yang diberi metformin dan likopen 10 mg/kg, DML-20: Tikus DM yang diberi metformin dan likopen 20 mg/kg, DML-40: Tikus DM yang diberi metformin dan likopen 40 mg/kg

2. Parameter klinis subyek penelitian

Parameter yang dinilai dalam penelitian ini meliputi fungsi fagositosis, rerata kadar gula darah (HbA1c), NO, ROS dan AGEs.

a. Fungsi fagositosis

Fungsi fagositosis dilihat dengan memeriksa parameter Indeks fagositosis (IF) makrofag yang diukur dengan cara mengobservasi jumlah latex yang difagositosis 100 sel makrofag. Sebaran data IF menggunakan uji *saphiro-wilk* terdistribusi normal (**Lampiran 5**), sehingga data yang disajikan adalah rerata dan uji parametrik *One-way ANOVA*. Rerata IF kelompok DM lebih rendah bila dibandingkan dengan tikus yang tidak mengalami DM. IF berbeda bermakna (*p*<0,001) pada semua kelompok. IF tertinggi ditemukan pada kelompok DML-40. (**Tabel 4**)

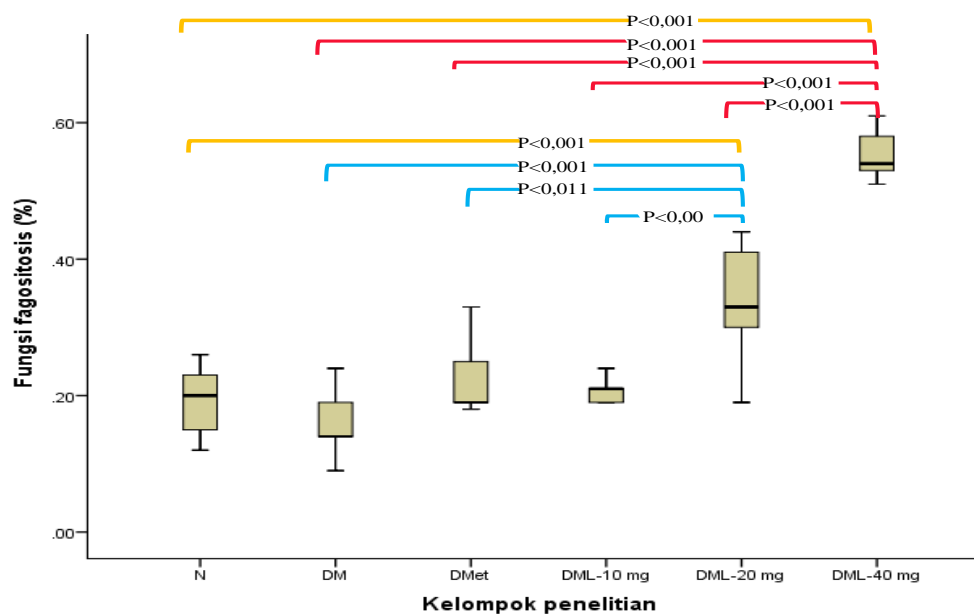
Tabel 4. Nilai parameter klinis penelitian

Parameter	Kelompok						Nilai p
	N	DM	DMet	DML-10	DML-20	DML-40	
HbA1c (ng/ml)	25,1 ± 1,9	76,2 ± 1,3	39,7 ± 1,1	46,6 ± 0,8	33,7 ± 1,4	28,9 ± 0,9	<0,001*
NO (ng/ml)	0,4 ± 0,1	11,7 ± 0,9	3,1 ± 0,9	6,9 ± 0,2	2,71 ± 0,3	1,3 ± 0,3	<0,001*
ROS (nmol/ml)	1,2 ± 0,2	10,3 ± 0,5	4,1 ± 0,2	5,1 ± 0,3	3,14 ± 0,2	2,3 ± 0,3	<0,001*
AGEs (ng/ml)	0,7 ± 0,2	22 ± 0,3	3,9 ± 0,3	5,8 ± 0,3	1,97 ± 0,16	1,2 ± 0,9	<0,001*
IF (%)	0,2 ± 0,1	0,16 ± 0,1	0,23 ± 0,1	0,21 ± 0,2	0,33 ± 0,1	0,55 ± 0,04	<0,001*

Keterangan :

Data disajikan dalam bentuk rerata, ± S.D., uji beda menggunakan uji *One-way ANOVA*, *signifikan p<0,05

Hasil uji *post hoc*-LSD memperlihatkan adanya perbedaan fungsi fagositosis yang bermakna antara kelompok DML-20 dan DML-40 dengan kelompok DM, DMet dan DML-10. (**Gambar 15**).



Keterangan:

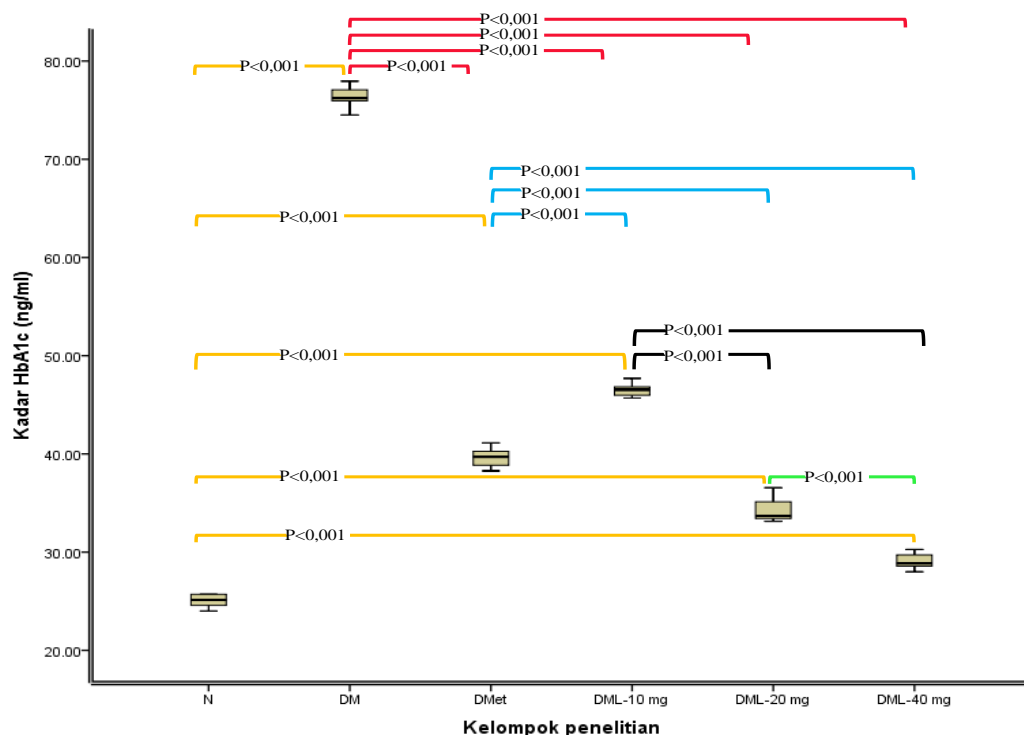
Uji LSD p<0,05 dibandingkan dengan kelompok N, DM, DMet, DML-10, DML-20, dan DML-40

Gambar 15. Box plot fungsi fagositosis makrofag

Fungsi fagositosis pada kelompok tikus dengan dosis 20 mg/kg dan 40 mg/kg yang dikombinasikan dengan metformin memiliki nilai yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kelompok yang hanya mendapat terapi metformin (DMet). Perbedaan rerata fungsi fagositosis pada kelompok tikus DML-40 lebih tinggi jika dibandingkan dengan kelompok N, DM, DMet, DML-10, dan DML-20, dengan perbedaan rerata masing-masing sebesar 0,36%, 0,39%, 0,33%, 0,35%, dan 0,22%.

b. Kadar HbA1c

Rerata jumlah HbA1c tikus yang mengalami DM2 lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang bukan DM, (**Tabel 4**) dengan perbedaan rerata sebesar 50,68 ng/ml. (**Gambar 16**)



Keterangan:

Uji LSD $p < 0,05$ dibandingkan dengan kelompok N, DM, DMet, DML-10, DML-20, dan DML-40

Gambar 16. Box plot kadar HbA1c

Jumlah HbA1c terendah pada kelompok intervensi pada kelompok DML-40 sebesar 28,85 ng/ml, namun nilai tersebut masih lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kelompok tikus normal.

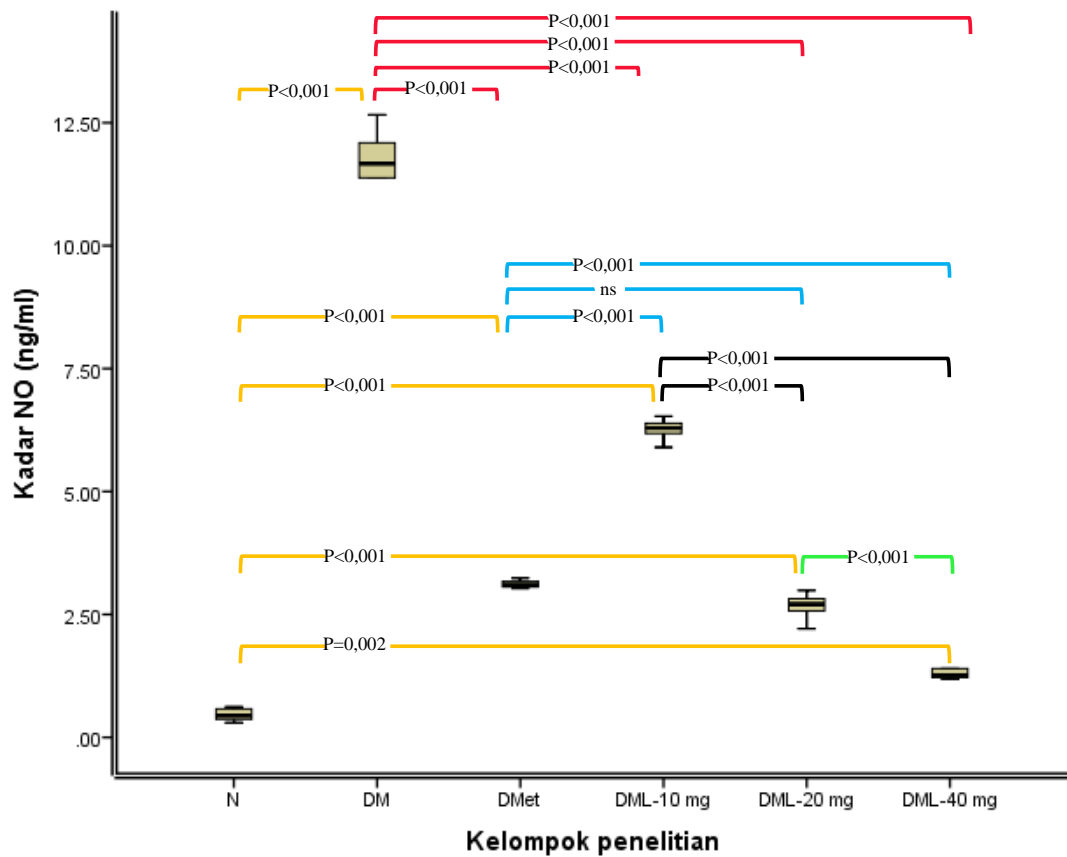
Kadar HbA1c terdistribusi normal (**Lampiran 5**) sehingga dilakukan uji *One-way ANOVA*. Terdapat perbedaan yang bermakna pada semua kelompok ($p < 0,001$) (**Tabel 4**). Perbedaan antar kelompok intervensi metformin dan likopen menggunakan uji *post hoc* - LSD (**Gambar 16**) didapat hasil bahwa rerata kadar HbA1c pada kelompok tikus DML-40 lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok N, DM, DMet, DML-10, dan DML-20. Perbedaan rerata masing-masing sebesar 3,42, -47,26, -10,55, -17,46, dan -5,3 ng/ml. Kadar HbA1c pada kelompok DMet lebih rendah dari kelompok DML-10 ($p < 0,001$).

c. Kadar NO

Rerata jumlah NO tikus yang mengalami DMT2 lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang normal (**Tabel 4**), dengan perbedaan rerata sebesar 11,13 ng/ml. Jumlah NO terendah yang didapat pada kelompok intervensi metformin atau kombinasi metformin dengan likopen, ditemukan pada kelompok DML-40 sebesar 1,26 ng/ml, namun nilai tersebut masih lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kelompok tikus normal. Kadar NO terdistribusi normal (**Lampiran 5**), sehingga dilakukan Uji *One-way ANOVA*. Terdapat perbedaan yang bermakna pada semua kelompok ($p < 0,001$)

Perbedaan antar kelompok intervensi metformin dan likopen menggunakan uji *post hoc*-LSD (**Gambar 17**) didapat hasil bahwa rerata kadar NO pada kelompok

tikus DML-40 lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok N, DM, DMet, DML-10, dan DML-20, Perbedaan rerata masing masing sebesar 0,91, -10,22, -1,74, -4,89, dan -1,29 ng/ml. Kadar NO pada kelompok DMet lebih rendah dari kelompok DML-10 ($p < 0.001$).



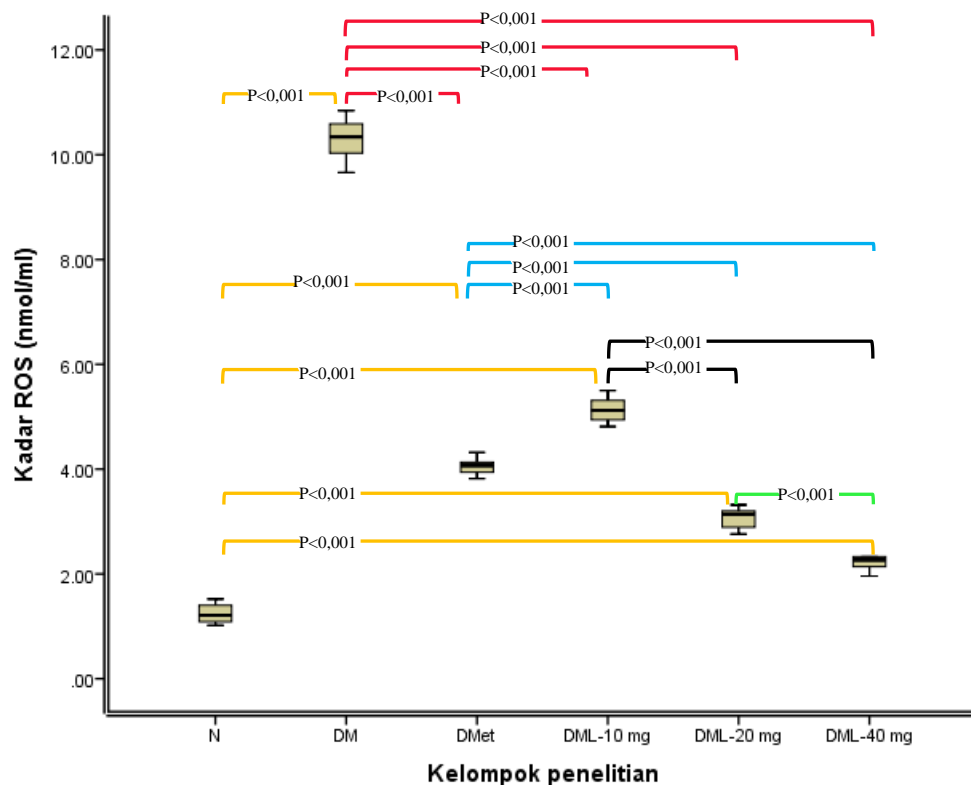
Keterangan:

Uji LSD $p < 0,05$ dibandingkan dengan kelompok N, DM, DMet, DML-10, DML-20, dan DML-40

Gambar 17. Box plot kadar NO

d. Kadar ROS

Rerata jumlah ROS tikus yang mengalami DMT2 lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang normal, (**Tabel 4**) dengan perbedaan rerata sebesar 9,04 nmol/ml. Jumlah ROS terendah yang didapat pada kelompok intervensi metformin atau kombinasi metformin dan likopen, ditemukan pada kelompok DML-40 sebesar 1,24 nmol/ml, namun nilai tersebut masih lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kelompok tikus normal. Kadar ROS terdistribusi normal (**Lampiran 5**), sehingga dilakukan Uji *Oneway ANOVA*. Terdapat perbedaan yang bermakna pada semua kelompok ($p < 0,001$) (**Gambar 18**).



Keterangan:

Uji LSD $p < 0,05$ dibandingkan dengan kelompok N, DM, DMet, DML-10, DML-20, dan DML-40

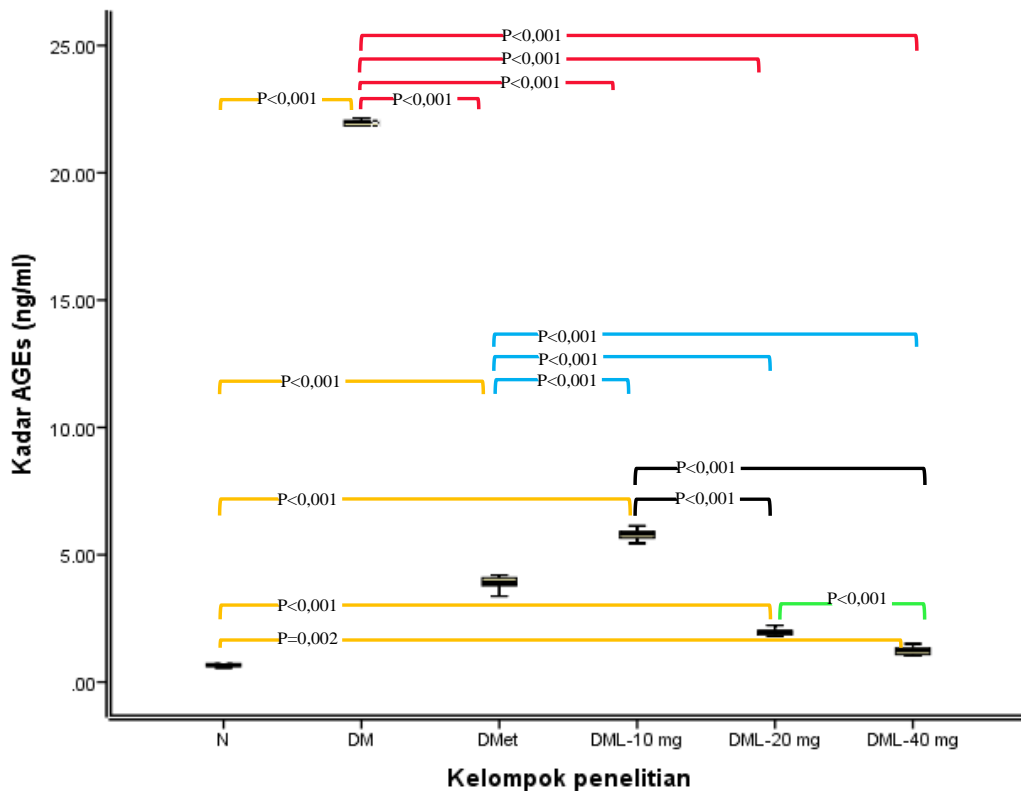
Gambar 18. Box plot kadar ROS

Perbedaan antar kelompok intervensi metformin dan likopen menggunakan uji *post hoc* - LSD (**Gambar 18**) didapat hasil bahwa rerata kadar ROS pada kelompok tikus DML-40 lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok DM, DMet, DML-10, dan DML-20, dengan perbedaan rerata masing masing sebesar - 8,01, -1,78, -2,86, dan -0,78 ng/ml. Kadar ROS pada kelompok DMet lebih rendah dari kelompok DML-10 ($p < 0.001$).

e. Kadar AGEs

Rerata jumlah AGEs tikus yang mengalami DMT2 lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang normal (**Tabel 4**), dengan perbedaan rerata sebesar 21,19 ng/ml. Jumlah AGEs terendah yang didapat pada kelompok intervensi metformin atau kombinasi metformin dan likopen, ditemukan pada kelompok DML-40 sebesar 2,27 ng/ml, namun nilai tersebut masih lebih tinggi apabila dibandingkan dengan kelompok tikus normal. Kadar AGEs terdistribusi normal (**Lampiran 5**), sehingga dilakukan Uji *One-way ANOVA*. Terdapat perbedaan yang bermakna pada semua kelompok ($p < 0,001$).

Perbedaan antar kelompok intervensi metformin dan likopen menggunakan uji *post hoc* - LSD (**Gambar 19**) didapat hasil bahwa rerata kadar AGEs pada kelompok tikus DML-40 lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok DM, DMet, DML-10, dan DML-20, dengan perbedaan rerata masing masing sebesar - 20,66, -2,63, -4,55, dan -0,74 ng/ml. Kadar AGEs pada kelompok DMet lebih rendah dari kelompok DML-10 ($p < 0.001$).



Keterangan:

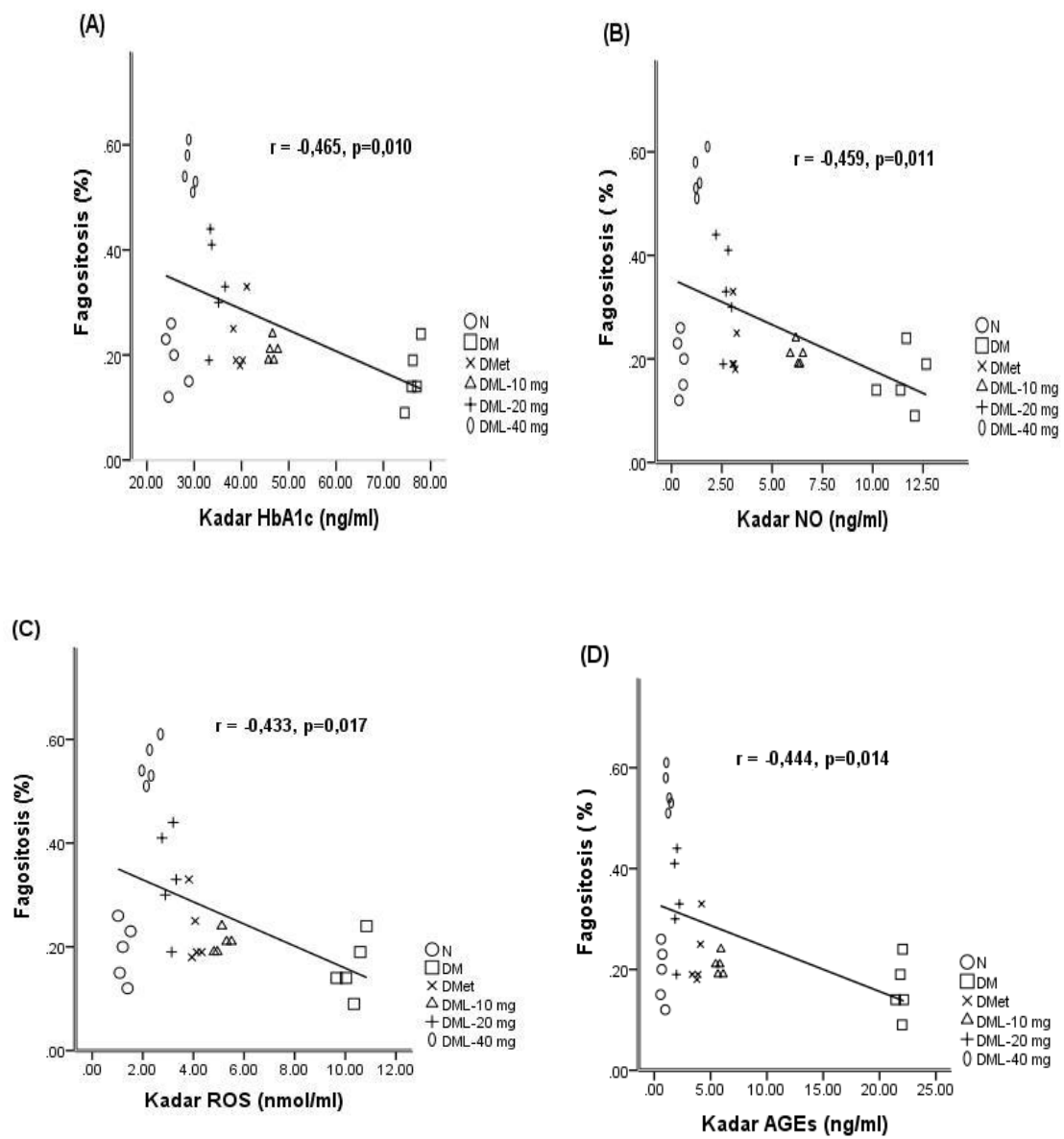
Uji LSD $p < 0,05$ dibandingkan dengan kelompok N, DM, DMet, DML-10, DML-20, dan DML-40

Gambar 19. Box plot kadar AGEs

C. Sajian analisis data inferensial

1. Korelasi HbA1c, NO, ROS, dan AGEs dengan fungsi fagositosis

Hasil uji korelasi *Spearman Rank* ($p < 0,01$) pada **Gambar 20**, menunjukkan pada kelompok intervensi terdapat perbaikan kontrol glikemik dengan parameter HbA1c, dimana HbA1c memiliki korelasi sedang dengan arah negatif dengan indeks fagositosis. Hasil tersebut membuktikan bahwa semakin rendah kadar HbA1c maka indeks fagositosis akan meningkat. Stres oksidatif diabetes dengan parameter NO, ROS, dan AGEs memberi hasil korelasi sedang dengan arah negatif. Diinterpretasikan semakin rendah stres oksidatif, maka semakin tinggi indeks fagositosis.



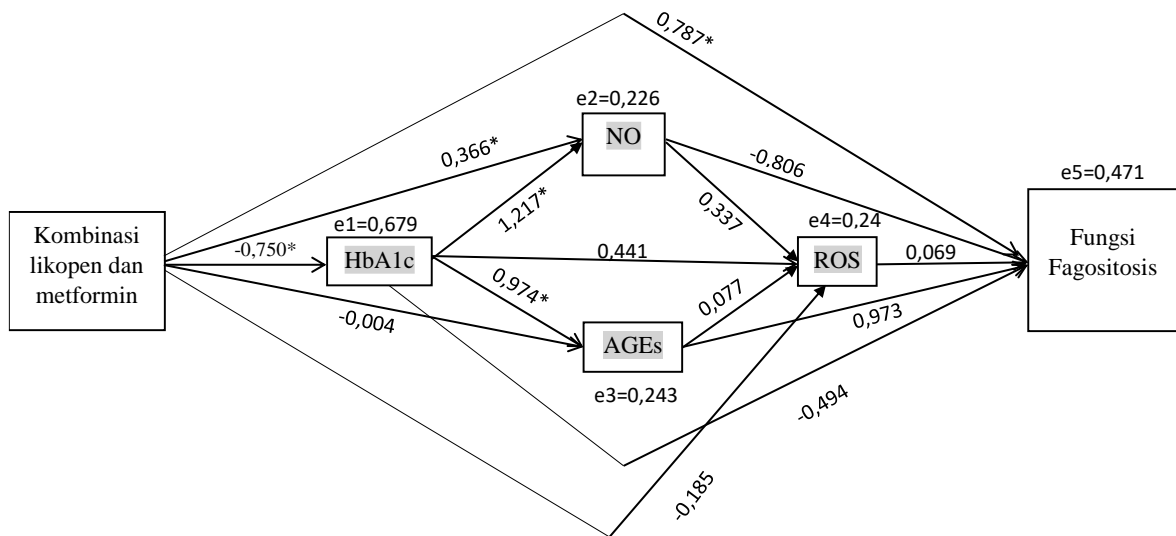
Gambar 20. Korelasi regresi linier HbA1c, NO, ROS dan AGEs dengan fungsi fagositosis

2. Analisis jalur

Efektivitas kombinasi likopen dan metformin terhadap fungsi fagositosis melalui variable rerata kadar gula darah, kadar ROS, NO, dan AGEs dianalisis dengan analisis jalur yang terangkum dalam pada **Tabel 5** dan **Gambar 21**.

Tabel 5. Hasil uji analisis jalur (N=30)

Model	Variabel		Koefisien b	Nilai p	CI 95%	R ² Adj
	Dependent	Independent				
1	HbA1c	(Constant)		<0,001	48,26 – 66,02	0,538
		Kelompok intervensi	-0,75	<0,001	-6,30 - -2,47	
2	AGEs	(Constant)		<0,001	-9,39 - -3,98-	0,949
		Kelompok intervensi	-0,004	0,957	-,27 – 0,257	
		Kadar HbA1c (ng/ml)	0,974	<0,001	0,22 – 0,31	
3	NO	(Constant)		<0,001	-14,85 - -8,94	0,941
		Kelompok intervensi	0,366	<0,001	0,30 – 0,88	
		Kadar HbA1c (ng/ml)	1,217	<0,001	0,29 – 0,39	
4	ROS	(Constant)		0,675	-3,39 – 5,09	0,942
		Kelompok intervensi	-0,185	0,163	-0,44 – 0,08	
		Kadar HbA1c (ng/ml)	0,441	0,22	-0,04 – 0,20	
		Kadar AGEs (ng/ml)	0,077	0,785	-0,31 – 0,41	
		Kadar NO (ng/ml)	0,337	0,209	-0,13 – 0,53	
5	IF	(Constant)	0,208	0,7	-0,93 – 1,34	0,778
		Kelompok intervensi	0,787	0,01	0,03 – 0,18	
		Kadar HbA1c (ng/ml)	-0,494	0,496	-0,06 – 0,02	
		Kadar AGEs (ng/ml)	0,973	0,093	-0,02 – 0,02	
		Kadar NO (ng/ml)	-0,806	0,149	-0,16 – 0,03	
		Kadar ROS (nmol/ml)	0,069	0,893	-0,14 – 0,16	



Keterangan: Uji Regresi linier *p<0,05

Gambar 21. Analisis jalur efektivitas kombinasi likopen dan metformin terhadap fungsi fagositosis

a. Koefisien jalur

Koefisien jalur dihitung dan disajikan dalam model sebagai berikut:

Regresi model jalur 1

$$\text{HbA1c} = -0,750 \text{ kombinasi likopen dan metformin} + 0,679$$

Regresi model jalur 2

$$\text{AGEs} = -0,004 \text{ kombinasi likopen dan metformin} + 0,974 \text{ HbA1c} + 0,226$$

Regresi model jalur 3

$$\text{NO} = 0,366 \text{ kombinasi likopen dan metformin} + 1,217 \text{ HbA1c} + 0,337$$

Regresi model jalur 4

$$\begin{aligned} \text{ROS} = & -0,185 \text{ kombinasi likopen dan metformin} + 0,441 \text{ HbA1c} + 0,077 \text{ AGEs} \\ & + 0,337 \text{ NO} + 0,24 \end{aligned}$$

Regresi model jalur 5

$$\text{Fungsi fagositosis} = 0,787 \text{ kombinasi likopen dan metformin} - 0,494 \text{ HbA1c} + 0,069 \text{ ROS} - 0,806 \text{ NO} + 0,973 \text{ AGEs} + 0,471$$

b. Pengaruh Langsung

Pengaruh langsung di dapat hasil sebagai berikut:

Terdapat pengaruh parsial kombinasi likopen dan metformin terhadap rerata gula darah, NO, AGEs dan fungsi fagositosis secara signifikan masing masing sebesar – 75%, 36,6%, – 0,4%, dan 78,7%.

c. Pengaruh tidak langsung

Pengaruh tidak langsung setiap variabel di dapat hasil sebagai berikut:

- 1) Terdapat pengaruh simultan kombinasi likopen dan metformin melalui rerata gula darah terhadap NO dan AGEs secara signifikan masing masing sebesar 91,27% dan 73,05%.
- 2) Tidak terdapat pengaruh yang simulatan kombinasi likopen dan metformin melalui kadar HbA1c, NO, ROS dan AGEs terhadap fungsi fagositosis

d. Kesimpulan

- 1) Intervensi kombinasi likopen dan metformin dapat mempengaruhi fungsi fagositosis, sebesar 78,7 %, sedang sisanya 21,3 % dipengaruhi oleh faktor lain.
($\beta = 0,787$, CI 95%: 0,030 - 0,179, $p=0,010$).
- 2) Terdapat pengaruh total intervensi kombinasi likopen dan metformin melalui kadar rerata gula darah terhadap kadar NO dan AGEs, secara signifikan masing-masing sebesar 127,87% dan 151,75.