

BAB VI

PEMBAHASAN

A. Pembahasan Umum

Hasil penelitian membuktikan hipotesis penelitian, dimana pemberian kombinasi likopen dan metformin menghasilkan fungsi fagositosis yang lebih tinggi dan rerata kadar gula darah (HbA1c), NO, ROS dan AGEs yang lebih rendah pada tikus DM tipe 2 dibandingkan dengan kelompok kontrol. Sejalan penelusuran pustaka, penelitian ini merupakan penelitian pertama yang membuktikan bagaimana dampak kombinasi metformin dan likopen terhadap fungsi fagositosis pada DMT2. Hasil penelitian ini mendukung kelanjutan penelitian-penelitian sebelumnya yang menggabungkan terapi diabetes melitus dengan zat bioaktif alami seperti kombinasi kurkumin dengan metformin [99], kurkumin dengan insulin [100], kurkumin dengan aminoguanidine [101], astaxantin dengan metformin [30], dan likopen dengan metformin [28,44]. Penelitian-penelitian ini hanya melihat efeknya terhadap hiperglikemia dan stres oksidatif diabetes melitus, bukan terhadap imun, khususnya fungsi fagositosis DMT2.

Penelitian sebelumnya yang berkaitan dengan fungsi fagositosis dilakukan secara *in vitro*. Didapatkan hasil pemberian carotenoid astaxantin dapat memperbaiki aktivitas fagositosis yang diberi glukosa tinggi [30], dan likopen juga merupakan carotenoid. Penggabungan terapi metformin dengan likopen, merupakan upaya peningkatan kesehatan untuk meningkatkan status imunitas pasien DMT2. Kombinasi terapi metformin dan likopen diharapkan dapat mengurangi resiko infeksi pada DMT2 akibat penurunan fungsi fagositosis. Terapi kombinasi ini meningkatkan nilai tambah

antioksidan dan imunomodulator metformin. Kombinasi likopen dan metformin dapat memperbaiki fungsi sel fagosit yang rusak akibat radikal bebas sebagai dampak hiperglikemia. Dampak kombinasi metformin dan likopen terhadap fungsi fagositosis, rerata kadar gula darah, ROS, NO dan AGEs, dipengaruhi oleh dosis likopen yang diberikan. Dampak yang lebih tinggi dimulai dengan dosis 20 mg/kg, dan dampak tertinggi dihasilkan dengan kombinasi metformin dan likopen dosis 40 mg/kg.

B. Pembahasan Khusus

1. Pengaruh pemberian kombinasi ekstrak likopen dengan metformin terhadap fungsi fagositosis pada tikus DM tipe 2

Kombinasi ekstrak likopen dan metformin dapat mempengaruhi fungsi fagositosis tikus DM tipe 2 yang ditandai dengan indeks fagositosis yang lebih tinggi, dibandingkan dengan tikus yang hanya mendapat metformin. Fungsi fagositosis tikus DM memiliki nilai 6% lebih rendah bila dibandingkan dengan tikus yang normal. Hal ini sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa penurunan fungsi fagositosis terjadi pada pasien DM [6,8]. Fungsi fagositosis pada penderita DM menurun akibat peningkatan kadar gula darah, buruknya kontrol glikemik [2,5,9,10], tingginya stres oksidatif, dan peningkatan pembentukan AGEs [60]. Hal tersebut juga terlihat pada penelitian dimana pada kelompok tikus DMT2 ditemukan kadar HbA1c, NO, ROS dan AGEs lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang bukan DMT2.

Hasil penelitian menunjukkan pemberian intervensi metformin dosis tunggal atau dikombinasikan dengan likopen dapat memperbaiki fungsi fagositosis. Fungsi fagositosis pada tikus DMT2 yang diberi metformin secara klinis 30,4% lebih tinggi apabila dibandingkan dengan tikus DMT2 yang tidak mendapat terapi, meskipun secara statistik tidak berbeda bermakna. Fungsi fagositosis yang masih rendah meskipun sudah mendapat terapi metformin sebagai terapi standar pasien DM, membuktikan bahwa terapi metformin masih kurang efektif membuat fungsi fagositosis yang maksimal, dan mengakibatkan penyandang DM masih mudah mengalami infeksi [18,19], sehingga diperlukan antioksidan dan imunomodulator tambahan untuk memaksimalkan fungsi fagositosis.

Pemberian likopen yang dikombinasikan dengan metformin memberikan dampak yang lebih baik terhadap fungsi fagositosis. Pemberian kombinasi metformin dan likopen selama 4 minggu berpengaruh secara langsung terhadap indeks fagositosis 78,7% lebih tinggi bila dibandingkan dengan tikus DMT2 yang tidak mendapat terapi. Fungsi fagositosis dengan kombinasi metformin dan likopen dosis 20 dan 40 mg/kg lebih baik dibandingkan terapi metformin tunggal, hasil ini meningkat seiring dengan jumlah dosis likopen yang ditambahkan (20, dan 40 mg/kg) dengan perbedaan masing-masing 30,3% dan 58,2%.

Dosis likopen yang dapat memiliki efek lebih tinggi bila dikombinasikan dengan metformin dimulai dosis 20 mg/kg dan nilai yang paling tinggi ditemukan pada dosis 40 mg/kg. Fungsi fagositosis dapat dilihat dari kemampuan sel makrofag memakan latex seperti terlihat pada **lampiran 6**.

Kombinasi metformin dan likopen dosis 10 mg/kg memberi dampak fungsi fagositosis yang lebih rendah bila dibandingkan dengan kelompok yang mendapat terapi metformin tunggal. Secara teori baik likopen maupun metformin bekerja melalui jalur AMPK, menghambat AGEs, reseptor AGEs, ROS dan NO [25,75,77]. Mekanisme lain yang dapat mempengaruhi fungsi likopen terhadap fagositosis adalah melalui jalur oksidatif dan non oksidatif. Penggabungan antioksidan metformin dan likopen dapat menghentikan reaksi propagaberantai, menyumbangkan electron ke radikal bebas sehingga mengurangi kerusakan oksidatif, dan secara non oksidatif dapat memperbaiki komunikasi *gap junction*, dan memodulasi ekspresi gen dan mengatur siklus sel dan meningkatkan respon imun [31]. Efektivitas kombinasi dua obat akan mempengaruhi farmakokinetik dan farmakodinamik obat. Interaksi farmakodinamik mempengaruhi interaksi antar obat yang bekerja pada tempat kerja atau sistem fisiologik yang sama sehingga memberikan efek terapi maupun efek samping yang serupa atau berlawanan. Interaksi farmakodinamik menunjukkan proses yang mengubah penyerapan, distribusi, metabolisme, atau ekskresi obat dan mempengaruhi kinerja obat di dalam tubuh.

Interaksi metformin dengan herbal memiliki respon yang baik. Interaksi farmakokinetik dan farmakodinamik menunjukkan respon yang sinergis dalam menurunkan gula darah [102]. Metformin memiliki waktu paruh yang singkat yaitu 3,7 jam, dengan konsentrasi maksimal (C_{max}) di usus saat penyerapan dan di ginjal saat ekskresi [103]. Likopen memiliki konsentrasi optimal di serum dan plasma 0,2 – 1 mmol/L [42]. Waktu paruh likopen lebih lama dibandingkan metformin yaitu 5

hari dengan T_{max} di plasma 6 jam. Penyerapan likopen dipengaruhi jumlah likopen di dalam serum. Likopen dosis rendah seperti 10 mg memiliki penyerapan yang lebih tinggi dibandingkan likopen dosis sedang atau tinggi. Proses interaksi likopen dan metformin dengan waktu maksimum dan waktu paruh yang berbeda, mungkin akan mempengaruhi kinerjanya terhadap fungsi fagositosis, rerata kadar gula darah, ROS, NO dan AGEs, namun tidak diobservasi dalam penelitian ini.

Mekanisme kerja likopen dapat memperbaiki status imunitas pasien DM karena likopen bersifat imunomodulator dan meningkatkan fungsi fagositosis dengan memperbaiki aktivitas tingkat seluler [104]. Sejauh penelusuran pustaka, penelitian ini merupakan penelitian pertama yang melihat dampak likopen dosis tunggal maupun dikombinasikan dengan metformin terhadap fungsi fagositosis pada DM tipe 2, sehingga belum dapat dibandingkan dengan penelitian sebelumnya.

Hasil penelitian ini juga sejalan dengan penelitian sebelumnya yang menjelaskan bahwa pemberian likopen yang berperan sebagai antioksidan dapat meningkatkan fungsi fagositosis melalui jalur oksidatif dengan cara menurunkan stres oksidatif dan jalur non oksidatif yang mampu memperbaiki respon imun [77].

Kadar HbA1c yang lebih rendah dibandingkan dengan hanya mendapatkan terapi metformin menunjukkan bahwa kombinasi likopen dan metformin mampu memperbaiki status glikemik DM dan berdampak terhadap fungsi fagositosis. Kontrol glikemik secara klinis memiliki pengaruh langsung terhadap fungsi fagositosis sebesar 49,4%, dimana semakin turun kadar HbA1c maka fungsi fagositosis semakin meningkat. Penemuan ini sesuai dengan penelitian yang mengatakan kontrol glikemik yang baik mampu meningkatkan fungsi

fagositosis [6], dan menolak penelitian yang mengatakan fungsi fagositosis tetap menurun meskipun gula darah sudah terkontrol [105]. Penelitian ini membuktikan bahwa fenomena memori metabolik dapat diperbaiki. Fenomena memori metabolik adalah komplikasi DM akibat gula darah persisten masih terus terjadi meskipun gula darah sudah terkontrol. Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya dimana likopen mampu memperbaiki kinerja metformin dalam memperbaiki fenomena memori metabolik [28].

Peningkatan fungsi fagositosis juga terjadi karena penurunan stres oksidatif. Likopen dapat meningkatkan kinerja metformin dan menghasilkan kadar ROS, NO dan AGEs yang lebih rendah dibandingkan hanya mendapat terapi metformin sebagai monoterapi, meskipun secara statistik tidak bermakna. Stres oksidatif diabetes dengan parameter ROS, NO dan AGEs secara klinis mempengaruhi langsung indeks fagositosis sebesar 5,4% dengan korelasi negatif, dan melalui perbaikan gula darah menurunkan stres oksidatif 7,3%. memperbaiki fungsi fagositosis. yang dapat disimpulkan semakin rendah stres oksidatif, maka semakin tinggi fungsi fagositosis. Sel fagosit dapat melakukan fagositosis dengan menghasilkan ROS dan NO. Stres oksidatif ini bersifat mikrobisida yang kuat, mampu mengoksidasi sebagian besar gugus kimia yang dapat memecah membran sitoplasma patogen [51], namun apabila jumlahnya berlebihan seperti yang ditemukan pada penyandang DM, maka stres oksidatif ini akan mengganggu proses fagositosis.

Pembentukan ROS oleh makrofag melalui jalur NOX diperlukan untuk proses fagositosis dan membunuh bakteri di dalam fagosom melalui ledakan

oksidatif [9]. Penelitian ini menunjukkan ada pengaruh yang tidak bermakna antara kadar ROS dengan fungsi fagositosis. Hal ini dapat terjadi karena ROS yang diperiksa adalah kadar ROS di serum yang dapat mengindikasikan ROS akibat stress oksidatif diabetes. Penilaian yang lebih efektif untuk mengevaluasi bagaimana peran ROS terhadap fungsi fagositosis adalah melihat kadar ROI di dalam makrofag atau kadar ROS di supernatan. Stress oksidatif diabetik yang tinggi dapat mengganggu mekanisme fagositosis, namun untuk memastikan secara langsung bagaimana peran ROS didalam fagositosis lebih menekankan pemeriksaan ROI di dalam makrofag atau sel fagosit.

Jumlah ROS di dalam serum pada pasien DMT2 lebih menggambarkan kondisi peningkatan oksidatif diabetik, tetapi jumlah yang tidak seimbang akan menimbulkan stres oksidatif dan mengakibatkan kerusakan oksidatif dan timbulnya komplikasi [2]. Pemberian kombinasi likopen dan metformin, membuat kadar NO dan ROS yang lebih rendah dan fungsi fagositosis yang lebih tinggi daripada hanya mendapatkan terapi metformin sebagai monoterapi, secara tidak langsung membuktikan bahwa jumlah ROS yang diproduksi oleh makrofag mampu melakukan fungsinya dalam proses fagositosis.

Kemampuan likopen meningkatkan fungsi fagositosis dengan mekanisme kerja likopen jalur oksidatif. Struktur likopen yang mengandung 11 ikatan rangkap yang terkonjugasi mampu menghambat produksi ROS dan NO baik secara langsung sebagai antioksidan, maupun tidak langsung dengan mengekspresikan NADPH [106].

Kombinasi likopen dan metformin juga mampu menghambat produksi AGEs baik langsung maupun melalui perbaikan HbA1c. AGEs memiliki pengaruh yang paling besar terhadap fungsi fagositosis namun tidak bermakna secara statistik. Korelasi negatif antara AGEs dengan fungsi fagositosis menunjukkan penurunan kadar AGEs serum mampu meningkatkan fungsi fagositosis. Sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa likopen mampu meningkatkan kinerja metformin dalam menurunkan AGEs dan memperbaiki memori metabolik DM [28].

Penelitian ini menggunakan likopen dengan dosis bertingkat yaitu 10, 20, dan 40 mg/kg. Fungsi fagositosis meningkat secara linier dengan dosis likopen yang diberikan. Fungsi fagositosis tertinggi ditemukan pada kelompok yang mendapatkan kombinasi metformin dan likopen dosis 40 mg/kg.

Variabel yang paling mempengaruhi fungsi fagositosis adalah intervensi. Penambahan likopen pada terapi metformin mampu memperbaiki fungsi fagositosis yang lebih baik. Pemberian metformin saja tanpa dipengaruhi oleh faktor lain memiliki mempengaruhi fungsi fagositosis sebesar 20,8%. Penambahan dosis likopen memberikan makna terhadap fungsi fagositosis, dimana penambahan dosis likopen kelipatan 10% efektif menghasilkan fungsi fagositosis sebesar 78,7%

Fagositosis merupakan proses yang aktif dengan tahapan pengenalan, perlekatan, memakan dan membunuh antigen. Setiap tahapan dibantu oleh kemokin dan sitokin yang mempengaruhi kinerja proses fagositosis [46,47]. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas makrofag yang diberikan kombinasi metformin dan likopen dosis 20 dan 40 mg/kg memiliki aktivitas makrofag yang lebih tinggi dan melebihi kelompok yang normal. Peningkatan jumlah lateks yang dimakan sel

makrofag dapat memperlihatkan bagaimana aktivitas makrofag dalam melawan antigen. Secara kuantitas, semakin banyak latex yang dimakan makrofag, maka aktivitas fagositosis makin baik, namun apabila sel makrofag memiliki aktivitas fagositosis yang berlebihan atau hiperaktif, maka akan mengganggu sistem imun [53,55].

Aktivitas makrofag dapat dilihat dari kinerja sitokin atau kemokin yang dirangsang, Sitokin yang paling kuat mengaktifkan makrofag adalah interferon gamma. Makrofag yang terangsang oleh antigen atau peradangan akan mengeluarkan sitokin seperti *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), interleukin (IL) 1, IL-6, IL-8 dan IL-12. Makrofag juga mengeluarkan kemokin leukotrien, prostaglandin dan komplemen. Sitokin dan kemokin ini diperlukan dalam jumlah yang sedikit untuk membantu proses inflamasi, apabila jumlahnya berlebihan maka akan mengakibatkan gangguan hemostasis imun. Peningkatan sitokin proinflamasi dapat ditekan dengan mengeluarkan sitokin anti inflamasi yaitu IL-10. Aktivitas IL-10 adalah menekan aktivasi makrofag dan produksi TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12, dan GM-CSF, sehingga dapat menekan ekspresi MHC-II pada makrofag yang teraktivasi dan penghambat potensial dari presentasi antigen [54]. Aktivasi makrofag dengan melibatkan sitokin pada penelitian ini tidak diperiksa, sehingga tidak dapat memastikan apakah proses fagositosis yang terjadi merupakan proses yang masih baik atau sudah mengalami hiperaktivasi makrofag.

Peningkatan aktivitas sel makrofag yang terlalu aktif atau berlebihan akan menyebabkan kerusakan jaringan dan peradangan. Aktivitas makrofag yang berlebihan dapat menimbulkan efek negatif terhadap sel tersebut, misalnya timbul

penyakit autoimun, peradangan dan granulomatosis. Sejauh ini laporan toksitas penggunaan likopen belum ada [83]. Pemberian likopen dosis 60 mg/kg selama 7 hari dapat menurunkan aktivitas AMPK, faktor transkripsi Nf-kB dan mencegah terjadinya inflamasi akibat stimulasi LPS [107]. Pemberian likopen dosis 200 mg/kg selama 8 minggu pada tikus muda mampu mengurangi transkripsi sitokin proinflamasi, immunoglobulin dan reseptor immunoglobulin.

Penggunaan dosis likopen dalam penelitian ini adalah 10, 20 dan 40 mg/kg, dosis tersebut bila dikonversikan ke dalam dosis manusia dengan taksiran berat badan 70 kg menjadi 112, 224, dan 448 mg per hari. Likopen dalam konsumsi sehari-hari didapatkan dari makanan yang mengandung likopen seperti tomat, wortel, buah semangka atau dari ikan salmon. Tomat adalah sumber likopen yang paling banyak. Tomat dan olahannya memiliki kandungan likopen yang berbeda [108]. Tomat segar hanya memiliki kandungan likopen 3,35 mg/100 gr, olahan tomat seperti saus, kecap atau pasta memiliki kandungan likopen lebih dari 61 mg/100 gr, dan tertinggi ditemukan pada tomat yang sudah dikeringkan yaitu 118,1 mg/100gr [109]. Pemanasan tomat dapat meningkatkan jumlah likopen, namun pemanasan yang lama akan merusak komponen bioaktif lain yang terkandung dalam tomat [110]. Pengolahan tomat yang dapat dilakukan agar mendapatkan likopen yang lebih banyak dan tingkat bioaktivitas yang lebih tinggi adalah dengan cara membuat pure tomat kemudian dipanaskan selama 30 menit dengan suhu 88°C [111].

Hasil pengamatan ini membuktikan bahwa likopen bersinergi dengan metformin dalam meningkatkan fungsi fagositosis pada tikus DM, dan diharapkan dapat

membantu pasien DM tipe 2. Standar penggunaan antioksidan pada penderita DM tipe 2 menurut WHO, masih belum dianjurkan, karena masih kurangnya bukti efektivitas dan keamanan jangka panjang pemberian antioksidan pada penderita DM tipe 2 [17]. Hasil penelitian ini dapat menambah bukti efektivitas penggunaan antioksidan terutama likopen pada penderita DM tipe 2 dan dapat dijadikan pertimbangan dalam memberikan suplemen berbasis antioksidan.

Ketepatan penggunaan terapi utama dan tambahan bagi penderita DMT2 perlu dijelaskan melalui edukasi sebagai salah satu pilar manajemen penatalaksanaan penderita DMT2. Edukasi merupakan yang paling efektif dalam melakukan manajemen diri pasien DM [112]. Manajemen diri yang baik pada penderita DM dapat meningkatkan imunitas penderita DM [113]. Perawat memiliki peran sebagai pendamping dan pembela pasien, sangat diperlukan untuk mendampingi pasien dalam memahami penggunaan terapi utama dan tambahan dalam meningkatkan imunitas pasien. Hasil penelitian ini dapat memberi masukan pada perawat dalam mendampingi dan menganjurkan pasien dalam menambah pemanfaatan tomat atau sumber likopen lainnya dengan cara pengolahan dan takaran yang sesuai, sebagai terapi pendamping dalam meningkatkan fungsi fagositosis pasien DMT2.

2. Efektivitas pemberian kombinasi ekstrak likopen dengan metformin terhadap kadar HbA1c pada tikus DM tipe 2.

Diabetes melitus Tipe 2 mengalami peningkatan HbA1c akibat peningkatan gula darah yang persisten dan kontrol glikemik yang buruk [87]. Kondisi ini juga ditemukan pada penelitian dimana pada tikus DMT2 memiliki

kadar HbA1c sebesar 51,09 ng/mL lebih tinggi, apabila dibandingkan dengan kelompok tikus yang bukan DMT2. Pemberian terapi metformin dan likopen telah terbukti sebagai antidiabetic [28,43]. Perbaikan HbA1c ditemukan pada tikus DMT2 yang mendapat terapi metformin dosis tunggal, maupun kombinasi dengan likopen.

Metformin merupakan terapi lini pertama pada pasien DM, dan memiliki keunggulan dalam menurunkan kadar HbA1c sebesar 1-2% [17,20], karena metformin mampu mengurangi pembentukan gula di hati dan menurunkan resistensi insulin [67]. Penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian metformin dosis 250 mg/kg membuat kadar HbA1c sebesar 36,53 mmol/ml atau 47,9% lebih rendah dibandingkan dengan tikus DMT2 yang tidak mendapatkan terapi. Terapi standar metformin sudah baik dalam memperbaiki kadar HbA1c, namun hasilnya masih dibawah 50%.

Penambahan terapi likopen terhadap metformin dapat memperbaiki kontrol glikemik sebesar 75%. Penambahan dosis likopen 20 mg/kg dan 40 mg/kg yang semakin meningkatkan perbaikan kadar HbA1c. Kadar HbA1c dengan terapi kombinasi metformin dan likopen dosis 10 mg/kg lebih rendah bila dibandingkan dengan tikus DMT2 yang hanya mendapat terapi metformin. Kombinasi metformin dan likopen dosis rendah memberi dampak terhadap gula darah yang lebih kecil dibandingkan dengan hanya memberikan metformin tunggal. Penelitian terdahulu yang menggabungkan metformin 250 mg/kg dengan likopen dosis 4 mg/kg, mampu menurunkan gula darah secara bermakna setelah intervensi 21 hari, sedangkan dengan hanya memberikan metformin penurunan gula darah sudah terlihat menurun sejak hari pertama pemberian terapi [43]. Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan

likopen dosis rendah 10 mg/kg dengan metformin tidak menambah kinerja metformin dalam memperbaiki kontrol glikemik.

Penelitian ini juga membuktikan dengan pemberian likopen dapat menurunkan kadar gula darah dan HbA1c, sejalan dengan penelitian studi *in vitro* maupun *case control*. Likopen meningkatkan kinerja metformin dalam menurunkan kadar gula darah puasa [43], HbA1c [28,40], dan meningkatkan sensitivitas insulin [44].

Hasil penelitian ini membuktikan kombinasi likopen dan metformin secara sinergis melalui pengaktifan jalur AMPK mampu memperbaiki metabolisme energi di sel, menghambat proses glukoneogenesis, meningkatkan pengambilan glukosa di otot, dan memperbaiki reseptor insulin [25,28,40,44,68,78]. Komplikasi yang dihindari dari pemberian metformin adalah gangguan pencernaan. Selama penelitian, tikus tidak ada yang mengalami diare atau gangguan pencernaan, ditandai dengan tikus tetap mau makan dan tidak mengalami diare. Pemberian likopen dapat mengurangi efek samping dan toksisitas terapi konvensional metformin [3]. Tikus normal dan tikus DMT2 yang mendapatkan terapi selama 4 minggu intervensi tetap mengalami penambahan berat badan namun tidak ada perbedaan yang bermakna dengan tikus yang normal. Pertambahan berat badan tikus yang mendapat metformin tunggal lebih banyak bila dibandingkan dengan kelompok tikus diabetes yang mendapatkan kombinasi metformin dan likopen dosis 10 mg/kg. Pertambahan berat badan pada kelompok yang mendapat terapi kombinasi metformin dan likopen dosis 20 dan 40 mg/kg tikus lebih sedikit. Hal ini terjadi karena likopen dapat menghambat laju penambahan berat badan dan mencegah obesitas, sesuai dengan penelitian *systematic review* [75]. Korelasi

negatif kontrol glikemik dengan fungsi fagositosis membuktikan bahwa penelitian ini sesuai yang diharapkan, dimana likopen bersinergi dengan metformin dan efektif dalam meningkatkan fungsi fagositosis melalui penurunan HbA1c.

3. Efektivitas pemberian kombinasi ekstrak likopen dengan metformin terhadap penurunan kadar NO pada tikus DM tipe 2.

Pasien DM dengan gula darah yang tidak terkontrol akan menyebabkan peningkatan NO [11]. Hasil penelitian menunjukkan kadar NO serum tikus DMT2 11,13 ng/ml atau 25,52 kali lebih tinggi dibandingkan dengan tikus normal. Hasil ini sejalan dengan penelitian Adela, *et al* 48,6% [13], dimana pasien DMT2 dan tikus DM mengalami peningkatan kadar NO masing-masing sebesar 38,9% dan 48,6%.

Peningkatan HbA1c berpengaruh langsung terhadap peningkatan NO sebesar 97,4%. Kadar NO yang lebih tinggi pada tikus DM terjadi karena adanya gangguan metabolisme glukosa, dimana terjadi proses oksidasi glukosa yang tinggi dan menghasilkan donor elektron yang banyak dan mengganggu transportasi elektron. Elektron akan berikatan dengan oksigen dan membentuk superoksida mitokondria.

Pemberian metformin pada tikus DMT2 menghasilkan jumlah NO 73,4% lebih rendah dibandingkan tikus DMT2 yang tidak mendapatkan terapi. Jumlah NO yang lebih rendah ini terjadi karena metformin berperan sebagai antioksidan yang mampu mengaktifkan AMPK dan menghambat faktor transkripsi NF-kB dan mengurangi stres oksidatif [23]. Penambahan terapi likopen yang dikombinasikan dengan

metformin juga dapat menurunkan NO dengan nilai yang berbeda sesuai dosis likopen yang berbeda.

Kombinasi metformin dan likopen dosis bertingkat, membuat kadar NO lebih rendah bila dibandingkan dengan tikus DMT2 yang mendapat terapi metformin tunggal. Dosis likopen 20 mg/kg dan 40 mg/kg menghasilkan perbedaan NO masing masing sebesar 12,6% dan 58,1% lebih rendah. Pemberian kombinasi likopen 10 mg/kg dengan metformin memberi kadar NO lebih tinggi apabila dibandingkan dengan terapi metformin tunggal. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa likopen yang dapat meningkatkan kinerja metformin adalah minimal 20 mg/kg.

Pemberian kombinasi likopen dan metformin melalui perbaikan HbA1c memiliki pengaruh 91,2 %, lebih tinggi dari pengaruh langsung. Hal ini membuat jumlah NO lebih rendah bila dibandingkan dengan hanya mendapatkan metformin sebagai monoterapi. Penggabungan dua antioksidan metformin dan likopen berkontribusi positif dalam memperbaiki kadar NO melalui perbaikan kontrol glikemik, dimana metformin dan likopen melalui jalur AMPK dapat menghambat produksi NO dan menetralkan produksi oksidasi dan mengurangi stres oksidatif [77]. Penambahan likopen terhadap terapi metformin mampu merubah jumlah NO yang lebih rendah dan fungsi fagositosis yang lebih tinggi, meskipun NO merupakan stres oksidatif yang sangat dibutuhkan untuk proses fagositosis [48].

4. Efektivitas pemberian kombinasi ekstrak likopen dengan metformin terhadap penurunan kadar ROS pada tikus DM tipe 2.

Pasien DM mengalami peningkatan ROS karena hiperglikemia yang persisten. Kelompok tikus DMT2 memiliki kadar ROS 26,5 kali lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang normal. Gula darah yang tidak terkontrol pada DM mengakibatkan gangguan metabolisme gula intrasel, meningkatkan proses oksidasi dan menurunkan antioksidan alami. Peningkatan ROS dan berkurangnya antioksidan alami menyebabkan stres oksidatif yang dapat merusak fungsi protein intrasel dan ekstrasel. Gangguan fungsi tersebut menimbulkan berbagai komplikasi termasuk gangguan imunitas. Peningkatan ROS dan hiperglikemia menyebabkan gangguan fungsi fagositosis. Hasil penelitian menunjukkan adanya korelasi kadar ROS dengan fungsi fagositosis, Proses oksidasi menghasilkan radikal bebas dan menurunkan antioksidan sehingga terjadi stres oksidatif.

Pemberian metformin 250 mg/kg selama 4 minggu pada tikus DMT2 baik dosis tunggal maupun kombinasi dengan likopen dapat menurunkan kadar ROS. Kadar ROS dengan terapi metformin dosis tunggal lebih rendah apabila dibandingkan dengan pemberian kombinasi metformin dengan likopen dosis 10 mg/kg. Penambahan likopen dosis 20 dan 40 mg/kg secara langsung memberi dampak terhadap kadar ROS sebesar 18,5%. Penurunan ROS juga dapat melalui perbaikan gula darah, NO dan AGEs meskipun tidak berbeda secara bermakna. Efek terapi kombinasi likopen dan metformin terhadap penurunan kadar ROS terjadi karena metformin dan likopen secara bersama sama mampu mengaktifkan jalur AMPK,

melalui perbaikan gula darah, NO dan AGEs menghambat faktor transkripsi NF- κ B dan menghambat produksi ROS [24].

5. Pengaruh pemberian kombinasi ekstrak likopen dengan metformin terhadap penurunan kadar AGEs pada tikus DM tipe 2.

Kadar gula darah yang meningkat akan memberi dampak terhadap pembentukan AGEs. Hasil penelitian menunjukkan kadar AGEs pada tikus DMT2 lebih tinggi dibandingkan dengan tikus yang normal. Ditemukan kadar AGEs pada tikus DMT2 32,8 kali tikus normal tikus. Pemberian terapi metformin dosis tunggal maupun dikombinasikan dengan likopen dapat menghambat pembentukan AGEs. Metformin dosis 250 mg/kg yang diberikan secara tunggal selama 4 minggu, memiliki kadar AGEs yang lebih rendah dibandingkan dengan tikus yang tidak mendapat terapi.

Penambahan likopen dengan metformin memberi pengaruh langsung dan tidak langsung melalui perbaikan HbA1c terhadap kadar AGEs. Perbaikan kontrol glikemik akibat pemberian terapi kombinasi likopen dosis 20 dan 40 mg/kg dengan metformin memberi pengaruh yang lebih besar. Mekanisme ini dapat dijelaskan karena hiperglikemia akan menginisiasi pembentukan AGEs melalui jalur polyol pathway.

Pengaruh langsung dan tidak langsung pemberian kombinasi likopen dan metformin melalui kadar AGEs terhadap fungsi fagositosis adalah yang tertinggi dibandingkan stres oksidatif DM lainnya. Kadar AGEs yang lebih rendah dengan terapi kombinasi metformin dan likopen dosis 20 dan 40 mg/kg disebabkan

metformin dan likopen merupakan antioksidan yang mampu mengaktifkan *AMPK* dan menghambat faktor transkripsi *NF-kB*, menghambat pembentukan endapan glikasi lanjut, reseptor untuk ekspresi AGEs (*RAGE*) dan mengurangi stres oksidatif diabetes melitus[25,44].

Penggabungan dua antioksidan metformin dan likopen memberikan kinerja yang lebih baik dalam menghambat pembentukan AGEs. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang menggunakan likopen dosis 45 mg/kg selama 35 hari mampu menghambat pembentukan AGEs [28], namun penurunan kadar AGEs dosis 20 dan 40 mg/kg dan waktu intervensi lebih cepat mendapatkan penurunan kadar AGEs yang lebih tinggi. Korelasi AGEs dengan fungsi fagositosis dengan arah yang negative membuktikan bahwa likopen bersinergi dengan metformin dan efektif dalam memperbaiki kadar AGEs dan fungsi fagositosis pada DMT2. Likopen dan metformin secara bersama-sama menghambat proses oksidasi dan terbentuknya glikasi.

C. Keterbatasan Penelitian

Peneliti menyadari bahwa penelitian ini tidak sempurna, dan masih ada keterbatasan selama penelitian yaitu:

1. Jumlah likopen optimal dalam serum serta interaksi farmakodinamik dan farmakokinetik likopen dan metformin tidak diperiksa. Jumlah likopen dalam tubuh akan mempengaruhi penyerapan likopen yang diberikan. Likopen yang rendah dalam tubuh akan meningkatkan penyerapan likopen yang diberikan.
2. Hasil pemeriksaan tidak dapat dilihat perubahan, karena pemeriksaan hanya

dilakukan pada akhir intervensi (*post test only*)

3. Pemeriksaan variabel fungsi fagositosis makrofag. Penelitian ini hanya melihat indeks fagositosis, jumlah ROS dan NO yang berasal dari serum, sedangkan pemeriksaan yang dapat melihat jumlah dan aktivitas NO dan ROI makrofag supernatan tidak dilakukan, serta sitokin IF γ , TNF-a, IL-1, IL-6, IL-12 dan IL-1 yang dapat merangsang kerja fagositosis dan indikator sitokin yang menandakan adanya peningkatan aktivitas makrofag.