

EFEKTIVITAS *LACTOBACILLUS SPOROGENEUS* TERHADAP PENURUNAN INTOLERANSI GLUKOSA PADA MENCIT JANTAN GALUR SWISS WEBSTER

Yedy Purwandi Sukmawan

Program Studi S1 Farmasi
STIKes Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya

ABSTRACT

Problem health or Disease has change from infectious disease become degenerative disease. This change stimulated by life style, environment and genetics. Diabetes Mellitus is one of degenerative disease. Therefore, researcher implement research to evaluated reduction glucose intolerance effect of Lactobacillus sporogenes. Test Group Male swiss webster mice given orally Lactobacillus sporogenes suspension for 7 days with dosage used are 12×10^6 /Kg BW, 24×10^6 /Kg BW and 48×10^6 /Kg BW. Afterward, given dexamethason (20 mg /Kg BW) intraperitoneally for 4 days. Reduction blood glucose concentration evaluated in 0, 30, 60 and 120 minute after given glucose at dosage 1.5 g/Kg BW. The results showed that all dose above, given significant ($p < 0.05$) reduction glucose intolerance. Therefore, Lactobacillus sporogenes may potensial as a preventive for Glucose intolerance. However, further studies still required.

Key words: *Diabetes Mellitus, Lactobacillus sporogenes , Glucose intolerance*

ABSTRAK

Saat ini masalah kesehatan telah mengalami pergeseran dari penyakit infeksi menjadi penyakit degeneratif. Perkembangan penyakit degeneratif dipicu oleh perubahan gaya hidup, lingkungan dan genetika. Salah satu penyakit degeneratif yang banyak diderita adalah Diabetes Mellitus. Penelitian kali ini dilakukan untuk mengevaluasi efektifitas *lactobacillus sporogenes* terhadap penurunan intoleransi glukosa yang menjadi penanda awal terjadinya Diabetes Mellitus. Mencit jantan galur swiss webster diberi suspensi *lactobacillus sporogenes* secara oral selama 7 hari, dengan dosis yang digunakan adalah 12×10^6 / Kg BB, 24×10^6 / Kg BB dan 48×10^6 / Kg BB. Setelah diberikan suspensi *lactobacillus sporogenes* kemudian diberikan deksametason secara intraperitoneal selama 4 hari dengan dosis 20mg/ Kg BB, selanjutnya diberikan glukosa dengan dosis 1.5 gr/ Kg BB. Aktivitas antidiabetes ini dievaluasi dengan dilakukannya pengamatan kadar glukosa darah puasa pada waktu 0, 30, 60, dan 120 menit pada seluruh kelompok. Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh dosis diatas yang digunakan dari suspensi *lactobacillus sporogenes* memberikan penurunan intoleransi glukosa dengan ditandai penurunan kadar gula darah secara bermakna ($p < 0.05$). Oleh karena itu, *lactobacillus sporogenes* mungkin bisa diterima sebagai sumber yang potensial sebagai terapi preventif dan bahkan kuratif pada intoleransi glukosa. Akan tetapi masih perlu dilakukan suatu penelitian lebih lanjut

Kata Kunci: *Diabetes Mellitus, Lactobacillus sporogenes , Intoleransi Glukosa*

PENDAHULUAN

Perkembangan zaman yang disertai dengan perubahan gaya hidup dan perubahan situasi lingkungan mengakibatkan terjadinya perubahan pola penyakit dari penyakit infeksi menjadi penyakit degeneratif.

Penyakit degeneratif adalah suatu penyakit atau gangguan yang mengakibatkan penurunan fungsi tubuh atau pada keadaan dimana tubuh tidak dapat memperbaikinya (Bateman *et*

al,2005). Salah satu penyakit degeneratif adalah penyakit Diabetes Mellitus. Diabetes mellitus adalah suatu penyakit yang termasuk pada gangguan metabolismik kronik serta memiliki ciri hiperglikemia yang dihubungkan dengan komplikasi mikrovaskular, makrovaskular dan neuropati.

Perkembangan penyakit diabetes yang sangat cepat dan berkorelasi dengan peningkatan morbiditas dan mortalitas telah mendorong untuk penemuan serta

penciptaan-penciptaan obat terbaru. Akan tetapi, penemuan-penemuan obat masih cenderung pada penemuan senyawasenyawa kimia atau penurunan dari struktur induknya.

Kita terkadang lupa bahwa sebenarnya tubuh memiliki mekanisme pencegahan serta pemulihan kembali kondisi tubuh terhadap perkembangan berbagai penyakit. Salah satunya adalah fungsi mikrobiota tubuh terhadap resistensi insulin dan perkembangan diabetes. Perubahan keanekaragaman atau komposisi mikrobiota dapat mengakibatkan peningkatan permeabilitas intestinal sehingga meningkatkan absorpsi Lipopolisakarida (LPS) yang dapat mengaktifkan Toll Like Receptor 4 dan Toll Like Reseptor 2 dan reseptor LPS CD14 (selain oleh lipopolisakarida TLR 4 dan 2 dapat juga diaktifkan oleh asam lemak jenuh) yang dapat mengakibatkan aktifasi jalur inflamasi. Aktifnya jalur tersebut dapat mengakibatkan gangguan sinyal insulin, dengan menurunnya fosforilasi reseptor insulin yang akibatnya dapat mengakibatkan resistensi insulin dan berkembang menjadi diabetes tipe 2 (Andrea et al ,2013)

Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui efektifitas *lactobacillus sporogenes* sebagai salah satu flora normal (mikrobiota) terhadap penurunan intoleransi glukosa.

BAHAN DAN METODE ALAT

Peralatan yang digunakan dalam percobaan ini ialah timbangan mencit, gelas kimia, gelas ukur, batang pengaduk kaca, kandang mencit, kandang pengamatan, tempat minum, sonde oral, kertas saring, mortir dan stemper, , tabung reaksi, pipet tetes, cawan penguap, blender, *hotplate*, baskom, timbangan, corong, clinipet, labu ukur, gunting bedah, kaca arloji, botol semprot, cawan penguap, glucometer (easy touch), glucotest strip test (easy touch) dan syringe 1ml.

BAHAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Aquabidest, serbuk gergaji kayu, NaCl 0,9 %, *dexamethasone injection*, alkohol, Pakan

Tikus, Etanol 96% , *Lactobacillus sporogenes* (/ tablet \geq 50 juta spora).

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah mencit putih galur swiss-webster dengan berat 25-30 gram. . Hewan uji diadaptasikan (aklimatisasi) selama 7 hari.

Prosedur Penelitian

Dosis *Lactobacillus sporogenes*

Dosis untuk manusia sekali minum adalah \pm 600 juta spora *Lactobacillus sporogenes*. Dosis pada mencit merupakan hasil konversi dari manusia dengan faktor konversi 0.0026. Dosis yang akan digunakan adalah :

- a. Dosis I : $(12 \times 10^6 / \text{Kg BB})$
- b. Dosis II : $(24 \times 10^6 / \text{Kg BB})$
- c. Dosis III : $(48 \times 10^6 / \text{Kg BB})$

Pengujian Aktivitas Intoleransi Glukosa

Hewan uji diadaptasikan (aklimatisasi) selama 7 hari. Selama pengujian tikus diberikan minuman dan makanan standar dan larutan uji dosis I, dosis II dan dosis III selama 7 hari sebelum pengujian. Pengujian dilakukan pada 5 kelompok mencit jantan galur swiss-webster, pengelompokan tersebut dipilih secara acak dan masing-masing kelompok terdiri dari 6 ekor mencit.

Kelompok I : kelompok normal, diberikan minuman dan makanan standar dan suspensi CMC 0.5%. Kemudian diberikan glukosa (dosis 1.5g/ kg bb) setelah dipuaskan terlebih dahulu selama 15 jam Kelompok II : kelompok kontrol negatif, diberikan injeksi dexamethasone (20 mg/kg bb /hari) secara intraperitoneal selama 4 hari. Kemudian diberikan glukosa (dosis 1.5g/ kg bb) setelah dipuaskan terlebih dahulu selama 15 jam Kelompok III : kelompok uji dosis I, diberikan injeksi dexamethasone (20 mg/kg/hari) secara intraperitoneal selama 4 hari. Kemudian diberikan glukosa (dosis 1.5g/ kg bb) setelah dipuaskan terlebih dahulu selama 15 jam.

Kelompok IV : kelompok uji dosis II, diberikan injeksi dexamethasone (20mg/kg/hari) secara intraperitoneal selama 4 hari. Kemudian diberikan glukosa (dosis 1.5g/ kg bb) setelah dipuaskan terlebih dahulu selama 15 jam

Kelompok V : kelompok uji dosis III, diberikan injeksi dexamethasone (20 mg/kg/hari) secara intraperitoneal selama 4 hari. Kemudian diberikan glukosa (dosis 1.5g/ kg bb) setelah dipuaskan terlebih dahulu selama 15 jam.

Dilakukan pengamatan kadar glukosa darah puasa dan pengamatan gula darah setelah pemberian glukosa (1.5g/kg BB) pada waktu 0, 30, 60, dan 120 menit pada seluruh kelompok (ruiying zhou et all, 2011)

Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis secara statistic dengan menggunakan Uji ANAVA untuk melihat apakah dosis uji yang diberikan mempunyai pengaruh yang berbeda terhadap penurunan gula darah

dibandingkan terhadap control. Dilanjutkan dengan uji Post Hoc LSD untuk melihat perbedaan nyata antar perlakuan.

Hasil

Pengujian aktivitas intoleransi glukosa *Lactobacillus sporogenes* ini didasarkan berkembang pesatnya penelitian mengenai peran mikrobiota pada berbagai macam penyakit salah satunya diduga memiliki khasiat dalam pencegahan intoleransi glukosa.

Berdasarkan hasil pengujian dan dihitung menggunakan statistika menunjukkan bahwa *Lactobacillus sporogenes* memiliki efektifitas dalam meningkatkan sensitifitas dan menurunkan resiko intoleransi glukosa. Data hasil penelitian adalah sebagai berikut.

Tabel 1. Data Pemeriksaan Intoleransi Glukosa

Data Pemeriksaan Intoleransi Glukosa						
No	Kelompok	Waktu/ Rata-rata Kadar Gula Darah				
		0	30	60	120	
1	Normal	49.4±4.2778	122.4±5.8137	123.3±8.2280	93±2.2360	
2	Negatif	45.8±4.8166	110.2±10.0349	111.8±10.3778	101±5.1961	
3	Uji 1	52.8±4.8167	119.2±15.2381	102±7.0710	75±4.3588	
4	Uji 2	50.4±7.8049	124±17.1731	109±10.2428	73±3.9475	
5	Uji 3	45.8±10.9407	115.6±18.3384	92.8±14.2896	66±3.8729	

Berdasarkan hasil pengujian diatas, dapat terlihat pada tabel 1 diatas dapat terlihat bahwa pada waktu 2 jam setelah pemberian glukosa tmenunjukkan dosis uji 1, 2 dan 3 kadar gula darahnya lebih rendah dibanding kelompok kontrol dan kelompok negative, sehingga dapat disimpulkan bahwa dosis tersebut memberikan efek penurunan gula darah.. Dikarenakan kadar gula darah kembali normal setelah 2 jam pada homesotasis normal karenanya dilakukan pengujian lanjutan statistika hanya pada waktu 120 menit.

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas
One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	KadarGula
<i>N</i>	24
<i>Normal Parameters(a,b)</i>	
<i>Mean</i>	82.08
<i>Std. Deviation</i>	14.015
<i>Most Extreme Differences</i>	
<i>Absolute</i>	.156
<i>Positive</i>	.156
<i>Negative</i>	-.135
<i>Kolmogorov-Smirnov Z</i>	.766
<i>Asymp. Sig. (2-tailed)</i>	.601

Berdasarkan pada tabel 2 diatas didapatkan hasil pengujian normalitas bahwa data sampel adalah normal ($p>0.05$).

Tabel 3. Pengujian Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.156	4	19	.361

Berdasarkan pada hasil diatas menunjukkan bahwa data tersebut memiliki varian yang homogen ($p > 0.05$)

Tabel 4. Hasil Pengujian ANAVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4207.083	4	1051.771	64.308	.000
Within Groups	310.750	19	16.355		
Total	4517.833	23			

Dikarenakan data yang digunakan memiliki nilai distribusi normal dan homogen, maka bisa dilanjutkan dengan pengujian ANOVA. Hasil pengujian ANAVA bisa dilihat diatas pada tabel 4. Berdasarkan pada pengujian ANOVA didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar perlakuan pada taraf nyata 0.05 sehingga H_0 ditolak. Hal ini mengindikasikan *Lactobacillus*

sporogenes dari ketiga dosis uji memberikan perbedaan yang bermakna terhadap turunnya kadar gula darah dengan tingkat kepercayaan 95%. Penurunan kadar gula darah untuk masing-masing kelompok kemudian dibandingkan dan dianalisis dengan menggunakan uji LSD (*Least Significant Differences*).

Tabel 5. Hasil Uji LSD

Multiple Comparisons						
		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) Kelompok	(J) Kelompok				Lower Bound	Upper Bound
normal	negatif	-8.000*	2.558	.006	-13.35	-2.65
	uji1	18.000*	2.558	.000	12.65	23.35
	uji2	19.250*	2.713	.000	13.57	24.93
	uji3	27.000*	2.558	.000	21.65	32.35
	negatif	8.000*	2.558	.006	2.65	13.35
uji1	normal	8.000*	2.558	.006	2.65	13.35
	uji1	26.000*	2.558	.000	20.65	31.35
	uji2	27.250*	2.713	.000	21.57	32.93
	uji3	35.000*	2.558	.000	29.65	40.35
uji2	normal	-18.000*	2.558	.000	-23.35	-12.65
	negatif	-26.000*	2.558	.000	-31.35	-20.65
	uji1	1.250	2.713	.650	-4.43	6.93
	uji3	9.000*	2.558	.002	3.65	14.35
uji3	normal	-19.250*	2.713	.000	-24.93	-13.57
	negatif	-27.250*	2.713	.000	-32.93	-21.57
	uji1	-1.250	2.713	.650	-6.93	4.43
	uji2	7.750*	2.713	.010	2.07	13.43

*. The mean difference is significant at the .05 level.

*. Perbedaan Rataan Signifikan Pada Level 0.05.

Keterangan:

Negatif : larutan CMC 0.5%,

Normal : Tidak diberikan perlakuan apapun

Uji I : suspensi *Lactobacillus sporogenes*(12 x 10⁶ / Kg BB)disuspensikan dalam CMC 0.5%

Uji II : suspensi *Lactobacillus sporogenes*(24 x 10⁶ / Kg BB)disuspensikan dalam CMC 0.5%

Uji III : suspensi *Lactobacillus sporogenes*(48 x 10⁶ / Kg BB)disuspensikan dalam CMC 0.5%

Pada tabel 5. diatas dapat terlihat bahwa masing-masing dosis uji *Lactobacillus sporogenes* menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna terhadap kelompok normal dan kontrol negatif pada penurunan gula darah pada taraf nyata 0.05. Dari tabel hasil LSD tersebut dapat terlihat juga adanya perbedaan bermakna antara kelompok normal dan kelompok negatif, artinya pada kelompok negatif mengalami intoleransi glukosa dengan ditandai kenaikan dibanding kelompok normal yang diakibatkan induksi dexamethasone, meskipun tidak pada nilai ambang intoleransi glukosa yang ditetapkan *American Diabetes Association* (140-199 mg/dl). Sedangkan dosis uji I dan uji II tidak berbeda secara bermakna, sedangkan uji III memiliki perbedaan secara bermakna dengan seluruh kelompok. Jadi uji III memiliki khasiat yang lebih baik dibanding dengan dosis uji I dan uji II.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan pada hasil ANAVA pada table 4 diatas, bahwa ketiga dosis uji memiliki perbedaan yang bermakna, kemudian untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok pengujian dilanjutkan dengan analisis LSD.

Hasil dari analisis LSD menunjukkan bahwa seluruh kelompok uji dan kelompok negatif memberikan perbedaan yang bermakna dibanding kelompok normal, artinya dosis uji 1, 2 dan 3 memiliki perbedaan yang signifikan dalam penurunan kadar gula darah dibandingkan dengan kelompok normal.

Perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol negatif dan kelompok normal dalam kadar gula darah dimana kelompok negatif lebih tinggi dibandingkan kelompok kelompok normal kemungkinan dikarenakan efek perlakuan pada pemberian deksametason kepada kelompok kontrol negatif meskipun tidak sampai pada nilai IGT sesuai rekomendasi *American Diabetes Association* (140-199 mg/dl). Pemberian deksametason ini dapat

mengakibatkan intoleransi glukosa dengan cara merubah metabolisme lemak. Perubahan metabolism lemak ini mengakibatkan induksi asam lemak bebas yang menyebabkan meningkatnya kadar lemak sehingga mengakibatkan aktivasi jalur inflamasi melalui TLR-4 (Toll like receptor-4). Aktivasi TLR-4 mengakibatkan sekresi sitokin seperti c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) and I κ B kinase complex (IKK β)/inhibitor of nuclear factor- κ B (I κ B α)/nuclear factor- κ B (NF- κ B), IL-6 yang dapat menurunkan fosforilasi reseptor insulin yang akibatnya dapat mengakibatkan resistensi insulin dan berkembang menjadi diabetes tipe 2.

Sedangkan pada hasil seluruh kelompok uji, hasilnya memiliki perbedaan yang bermakna dibandingkan dengan kelompok normal dan kelompok negatif, hal ini sesuai dengan hipotesa penulis bahwa mikrobiota dalam hal ini adalah *Lactobacillus sporogenes* memiliki efektifitas dalam menurunkan resiko intoleransi glukosa.

Perbedaan hasil yang bermakna antara kelompok uji dan kelompok normal memberikan indikasi bahwa dengan pemberian *Lactobacillus sporogenes* sebagai pemeliharaan mikrobiota usus(flora normal usus) kemungkinan dapat memberikan efektifitas yang baik dalam memelihara sensitifitas insulin dan kadar insulin dengan cara menghambat aktivasi jalur inflamasi baik dari adanya pathogen, lipopolisakarida atau asam lemak bebas. Selain itu dengan terpeliharanya mikrobiota usus juga dapat menginduksi pertumbuhan L-sel pada proksimal usus yang meningkatkan respon GLP-1 terhadap adanya makanan.

Sedangkan pada hasil perbedaan yang bermakna dengan seluruh kelompok uji dengan kelompok negatif kemungkinan diakibatkan karena dihambatnya efek metabolism lemak karena induksi deksametason oleh *Lactobacillus sporogenes* melalui supresi *Fasting Induce Adypocite Factor* yang mengakibatkan tetap disimpannya kadar lemak didalam

adipose dan tidak disejekresikan ke dalam darah yang mengakibatkan oksidasi pada lemak tersebut yang kemudian dapat mengaktifasi jalur inflamasi dan akhirnya mengakibatkan resistensi insulin. Selain itu, efek glukoneogenesis yang disebabkan induksi deksametason juga diturunkan efeknya melalui induksi L-sel yang mengakibatkan sekresi GLP-1.

Setelah membahas perbandingan antara kelompok normal dan kelompok negatif serta kelompok uji dengan kelompok negatif dan kelompok normal sekarang kita melanjutkan pada perbandingan antara setiap kelompok uji.

Berdasarkan pada hasil analisis LSD perbandingan antar kelompok uji dihasilkan bahwa kelompok uji 3 memberikan hasil penurunan intoleransi glukosa yang bermakna terhadap setiap kelompok uji. yang ditandai penurunan kadar gula darah .Sedangkan kelompok kelompok uji 2 memberikan hasil yang tidak bermakna dibanding dengan kelompok uji 1. Sehingga dapat disimpulkan bahwa dosis uji III memberikan efektivitas penurunan intoleransi glukosa yang paling tinggi serta penurunan glukosa darah bergantung pada peningkatan dosis

KESIMPULAN

Hasil studi pra klinis terhadap mencit setelah pemberian tiga macam dosis, ($12 \times 10^6 / \text{Kg BB}$) untuk dosis uji I, ($24 \times 10^6 / \text{Kg BB}$) untuk dosis uji II, ($48 \times 10^6 / \text{Kg BB}$) untuk dosis uji III dengan pemerian selama 7 hari , ketiga dosis uji ini menunjukkan aktivitas penurunan intoleransi glukosa yang ditandai dengan penurunan kadar gula darah yang berbeda secara bermakna dibanding kelompok normal dan negatif. Penggunaan dosis uji III ($48 \times 10^6 / \text{Kg BB}$) memberikan hasil tertinggi dalam penurunan intoleransi glukosa dengan ditandai penurunan gula darah tertinggi.

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode uji yang berbeda dan mengetahui secara pasti mekanisme yang terjadi dalam efektifitas penurunan intoleransi glukosa oleh *Lactobacillus sporogenes*.

DAFTAR PUSTAKA

- J. Dipiro *et al* (2005). Pharmacotherapy “A Pathophysiologic Approach”. New York: Mc Graw Hill
- J. Dipiro *et al* (2008). Pharmacotherapy “Principle and Practice”. New York: Mc Graw Hill
- Andrea *et al* (2013). The Role Of Gut Microbiota on Insulin Resistance.
[http : www.com/journal/nutrients](http://www.com/journal/nutrients)
- Anonim (2013). Diabetes : Differences between type 1 and 2-Topic Overview.
http :
<http://www.webmd.com/diabetes/tc/diabetes-differences-between-type-1-and-2-topic-overview>
- Saunders (2007). Dorland : Medical Dictionary. New York: Dorland
- Hammer, B. W. (1915). Bacteriological studies on the coagulation of evaporated milk. Iowa Agric. Exp. Stn. Res. Bull. 19:119-131
- Ruiying Zhou *et al* (2011) Exenatide improves Glucocorticoid-Induced Glucose Intolerance in Mice . USA : Dove Press Journal.