

Laporan Hasil Penelitian**PERBEDAAN PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK *ZINGIBER OFFICINALE* DENGAN INSULIN TERHADAP JUMLAH ANAK HIDUP, MATI ATAU RESORBSI DAN CACAT PADA *RATTUS NORVEGICUS* MODEL *DIABETES MELITUS* PRAGESTASIONAL****Yasinta Siskaningtia¹⁾, Hermanto Tri Joewono²⁾, Widjiati³⁾**¹⁾Program Studi Ilmu Kesehatan Reproduksi Jenjang Magister, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Surabaya. ²⁾Departemen SMF Obstetri Ginekologi RSUD Dr. Soetomo, Surabaya³⁾Departemen Embriologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, Surabaya**Submitted : Agustus 2017 | Accepted : November 2017 | Published : Januari 2017****ABSTRACT**

Diabetes mellitus is a metabolic disease with chronic hyperglycemic characteristic. The risk of fetal death and malformation are higher in pregestational diabetes. The complications could be suppressed through insulin therapy. The insulin side effects made herbal therapy began to develop, such as ginger (*Zingiber officinale*). This research aimed to prove the difference effect of *Zingiber officinale* extract and insulin on the number of fetal dead or resorbsion, and malformations in *Rattus norvegicus* model of pregestational diabetes mellitus. Thirty rats were divided into 1 negative control group and 4 groups which were modeled with type 1 DM with streptozotocin (STZ) i.p dose 50mg/kgBB in citrate buffer 0,05M pH 4,5. Rat with blood glucose levels >200mg/dL after 2 days of induction, were sampled and banded. The treatment groups were given 1 IU insulin, ginger extract 500mg/kgBB, and 1 IU insulin plus ginger extract 500mg / kgBB. The 17th day of pregnancy fetal sample was observed macroscopically. Analysis data with *One Way ANOVA* and *Post Hoc* with LSD. There were significant differences in fetal malformation ($p=0,012$, $=0,05$) and death or resorbsion were $p=0,001$, $=0,05$). Ginger extract could be used as a single therapy or combination therapy to reduced the number of fetal death or malformation.

Keywords : pregestational diabetes mellitus, *Zingiber officinale* extract, insulin, fetal death malformation**Correspondence to** : yasintasiskaningtia@gmail.com**ABSTRAK**

Diabetes melitus (DM) adalah penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia kronis serta kelainan metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak yang diakibatkan oleh ketidakmampuan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya. *Diabetes melitus* pada kehamilan memiliki dampak yang serius baik pada ibu dan anak jika tidak dikendalikan. Risiko kematian dan malformasi janin pada ibu dengan diabetes melitus pragestasional lebih tinggi daripada ibu non diabetes. Komplikasi diabetes ini dapat ditekan dengan pemberian terapi insulin atau terapi dari bahan herbal, salah satunya jahe (*Zingiber officinale*). Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan perbedaan pengaruh pemberian ekstrak *Zingiber officinale* dan

insulin terhadap jumlah anak hidup, mati atau resorpsi, dan cacat pada *Rattus norvegicus* model *diabetes melitus* pragestasional. Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih betina (*Rattus norvegicus*) berjumlah 30 ekor dibagi menjadi 5 kelompok yaitu: 1 kelompok kontrol negatif dan 4 kelompok model DM tipe 1 dengan streptozotocin i.p dosis 50mg/kgBB dalam larutan *buffer* sitrat 0,05 M pH 4,5. Sampel adalah tikus dengan kadar glukosa darah acak >200mg/dL setelah 2 hari induksi, kemudian semua kelompok dibuat hamil. Tikus dinyatakan hamil bila terdapat sumbatan vagina. Perlakuan diberikan mulai hari ke 1-16 kebuntingan, yaitu dengan insulin 1 IU, ekstrak jahe 500mg/kgBB, dan insulin 1 IU dan ekstrak jahe 500mg/kgBB. Hari ke-17 kehamilan tikus dikorbankan dan sampel anak diamati secara makroskopis. Analisis data yang berdistribusi normal dengan *One Way ANOVA* dan uji *Post Hoc LSD*. Hasil penelitian ini adalah ada perbedaan pada jumlah anak mati dan cacat dengan nilai p 0,001 dan 0,012 ($\alpha=0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak jahe dapat digunakan sebagai terapi tunggal maupun terapi kombinasi karena dapat mengurangi jumlah anak yang mati dan cacat pada tikus model *diabetes melitus* pragestasional.

Kata kunci : *Diabetes melitus* pragestasional, ekstrak *Zingiber officinale*, insulin, jumlah anak mati dan cacat

Korespondensi : yasintasiskaningtia@gmail.com

PENDAHULUAN

Indonesia menempati peringkat ke-7 dari 10 negara dengan jumlah penderita diabetes sebanyak 8,5 juta orang (AFES, 2013). Data di Amerika Serikat menunjukkan bahwa, dari semua kehamilan, 88% merupakan diabetes gestasional dan 12% merupakan diabetes pragestasional. Wanita hamil di Australia, 1,7% mengalami diabetes pragestasional dan 6,9% didiagnosis menderita diabetes gestasional (Robson dan Nolan, 2013). Data menunjukkan bahwa di RSUD Dr. Soetomo, angka kejadian diabetes dalam kehamilan tahun 1991 hingga 2003 adalah 12 penderita dari 602 kehamilan (Hermanto dan Pranoto, 2004).

Diabetes melitus pada kehamilan memiliki dampak yang serius baik pada ibu dan anak jika tidak dikontrol (Karmakar dan Sharma, 2010). Wanita diabetes pragestasional berisiko memiliki janin dengan cacat kongenital, terjadinya resorpsi pada janin dan peningkatan perfusi uterus ke tempat

implantasi (Zahibi, 2008). Penelitian yang dilakukan pada tahun 2012 menunjukkan bahwa risiko kematian pada janin dua kali lebih banyak pada wanita hamil dengan diabetes dibandingkan dengan wanita non diabetes (Wahabi *et al.*, 2012).

Wanita dengan diabetes pragestasional memiliki risiko 2-5 kali lebih besar mengalami malformasi dibandingkan wanita non diabetes. Wanita diabetes pragestasional dengan *early onset* diabetes dan durasi diabetes yang lama dan peningkatan glikasi hemoglobin memiliki risiko lebih tinggi untuk memiliki janin dengan retardasi pertumbuhan dan malformasi (Zahibi, 2008).

Komplikasi diabetes dalam kehamilan dapat dikontrol dengan diet yang benar, aktivitas dan pemberian terapi insulin (Karmakar dan Sharma, 2010). Efek samping penggunaan insulin membuat terapi dari bahan-bahan herbal mulai dikembangkan, salah satunya adalah jahe (*Zingiber officinale*). Jahe mengandung bahan aktif yang dapat

menurunkan risiko komplikasi kronis diabetes (Li *et al*, 2012). Dari data diatas bahwa komplikasi mengenai diabetes pragestasional belum jelas, maka penulis tertarik untuk meneliti masalah tersebut.

METODE PENELITIAN

Bahan

Ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) diperoleh dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya. Insulin dengan *Merk Novorapid* didapatkan dari apotek Kimia Farma. Bahan-bahan lain yang digunakan yaitu pakan standar hewan coba, streptozotocin produk *Sigma-Aldrich chemical Co.*, St.Louis. Mo, USA, dapar sitrat 0,05M pH 4,5. Tikus putih betina dengan berat 150-200 g usia 3-4 bulan sebanyak 30 ekor diperoleh dari Pusat *Breeding* Surabaya, tikus yang digunakan harus sehat dan beraktivitas normal.

Alat

Kandang hewan coba yang dilengkapi dengan tempat makan dan minum, timbangan hewan, erlenmeyer, alat-alat gelas, spuit, sonde oral, *glucosemeter*.

Metode

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) betina galur Wistar berjumlah 30 ekor, kemudian dibagi menjadi : 1 kelompok kontrol negatif, 1 kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan yang dibuat model DM tipe 1 dengan injeksi streptozotocin (STZ) i.p dengan dosis 50mg/kgBB dalam dapar sitrat 0,05M pH 4,5, setelah 2 hari, induksi tikus dengan kadar glukosa darah acak >200mg/dL dijadikan sampel dan dibuntingkan. Kelompok perlakuan diberikan insulin 1IU, kelompok kedua diberikan ekstrak jahe 500mg/kgBB, ketiga

diberi insulin 1IU dan ekstrak jahe 500mg/kgBB. Hari ke-17 kebuntingan dilakukan pembedahan dan pengambilan sampel anak yang dikandung.

Pengukuran Kadar Glukosa Darah

Pengukuran kadar glukosa darah tikus melalui vena ekor dengan alat "*blood glucosemeter Safe Touch*".

Pengukuran Jumlah anak hidup, Mati atau resorpsi, dan Cacat

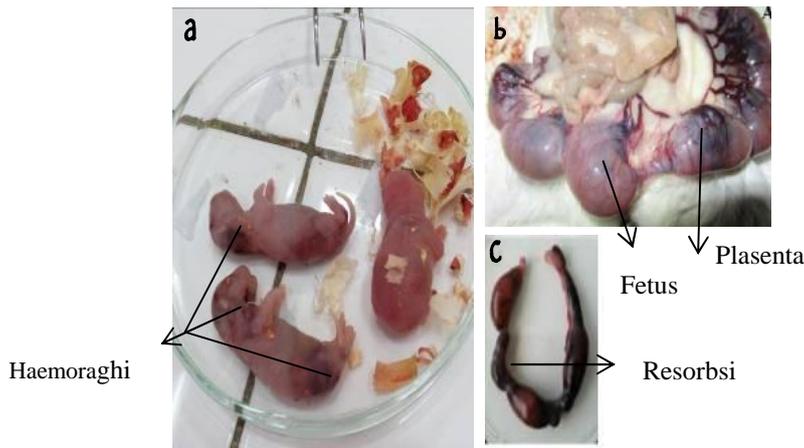
Pemeriksaan jumlah anak hidup, mati atau resorpsi, dan cacat dengan pengamatan makroskopis.

Analisis Data

Analisis deskriptif, kemudian diuji normalitas dan homogenitas dengan *Shapiro Wilk* dan *Levene test*, nilai $p > 0,05$. Data yang berdistribusi normal dan homogen kemudian dianalisis dengan *One Way Anova* untuk menguji hipotesis dengan tingkat kepercayaan 95% atau dinyatakan berbeda bila $p < 0,05$ dan selanjutnya dengan uji *Post Hoc* untuk menguji efek perlakuan. Data yang tidak berdistribusi normal diolah dengan *Kruskal Wallis*, setelah itu dilakukan analisis *Post Hoc* dengan *Mann Whitney* pada variabel. Data diolah dengan program SPSS.

HASIL PENELITIAN

Bentuk kematian pada anak tikus dan bentuk kecacatan saat lahir pada anak tikus dapat dilihat pada Gambar 1. Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan bahwa variabel kecacatan dan kematian atau resorpsi mempunyai perbedaan yang signifikan dengan nilai p masing-masing adalah 0,012 dan 0,001, sedangkan variabel anak hidup tidak memiliki perbedaan dengan nilai $p = 0,092$.



Gambar 1. (a) Anak tikus mati dengan adanya *hemoraghi* di beberapa bagian tubuh (b) uterus normal dengan fetus normal (c) uterus dengan fetus yang resorpsi.

PEMBAHASAN

Hasil analisis menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan antara kelompok kontrol negatif dengan semua kelompok, karena kelompok ini merupakan kelompok yang tidak dibuat model diabetes melitus, sehingga anak tikus tidak ada yang mati dan cacat. Kelompok perlakuan dibuat sakit atau dibuat model diabetes, tetapi kelompok-kelompok ini diberikan perlakuan yang bertujuan untuk mengontrol kadar gula darah selama kehamilan, sehingga anak yang dilahirkan juga tidak banyak yang mati dan cacat.

Terdapat perbedaan pada kelompok kontrol positif dengan semua kelompok perlakuan pada variabel kecacatan. Hal ini sesuai dengan keadaan diabetes bahwa p ekspresi *inducible nitric oxide synthase* (iNOS) meningkat yang dapat menghasilkan spesies nitrogen reaktif. Diabetes melitus pragestasional juga merangsang terjadinya stres oksidatif dan mengaktifkan *c-Jun-N-terminal kinase 1/2* (JNK 1/2). Ketiadaan JNK1/2 dapat meningkatkan terjadinya kelainan pada tabung saraf. Aktivasi dari

JNK 1/2 mentransmisikan sinyal pro-apoptosis yang berasal dari stres oksidatif (Gabbay-Benziv, 2015). Jalur JNK 1/2, yang diaktifkan oleh stres oksidatif, memainkan peran utama terjadinya kelainan pada embrio wanita diabetes. Penelitian yang dilakukan menemukan bahwa aktivasi *apoptosis signal-regulating kinase 1* (ASK1) dapat meningkatkan aktivitas faktor *forkhead* transkripsi 3a (FoxO3a), dan bahwa FoxO3a menginduksi TNFR1 *death domain* (TRADD). TNFR1 *death domain* jika dalam keadaan regulasi meningkat dapat memicu aktivasi caspase 8, kemudian akan mengaktifkan caspase dan menyebabkan apoptosis meningkat (Gabbay-Benziv, 2015).

Penelitian lain menunjukkan bahwa aktivasi dari JNK1/2 menyebabkan *reticulum endoplasmic stress* (ER). Stres ER dapat mengaktifkan *unfolded protein response* (UPR). Keadaan aktivasi UPR berkepanjangan kemudian menginduksi apoptosis, sehingga terjadi kerusakan pada embrio atau janin yang dikandung (Gabbay-Benziv, 2015).

Hasil uji analisis juga menunjukkan bahwa kelompok kontrol positif memiliki perbedaan dengan semua kelompok perlakuan pada variabel mati atau resorpsi. Kematian janin pada wanita hamil dengan diabetes sering digambarkan sebagai kematian janin yang tidak dapat dijelaskan (*unexplained fetal death*). Kematian ini adalah hasil dari meningkatnya asidosis metabolik di kompartemen janin oleh karena tingkat glukosa yang sangat tinggi.

Risiko kematian janin pada trimester kedua dan sampai ke tengah trimester ketiga, tidak seperti yang terjadi pada akhir kehamilan, kejadian meningkat karena afinitas janin terhadap insulin meningkat (Langer, 2015). Hal ini menyebabkan hiperinsulinemia janin yang mengarah pada asidemia janin dan hiperlaktisemia dan hipoksia janin. Penelitian yang dilakukan dengan didukung konsep ini menemukan bahwa pada 236/1000 kematian janin, mayoritas pada bayi dengan berat yang lebih besar daripada usia kehamilannya dari ibu dengan diabetes gestasional dapat terjadi asidemia dan hiperlaktisemia (Langer, 2015).

Hipoksemia janin dan asidemia dapat terjadi pada semua jenis diabetes, terutama kehamilan yang dikaitkan dengan gangguan hipertensi dan komplikasi mikrovaskuler. Hiperinsulinemia ibu sendiri dapat menjadi penyebab vasokonstriksi yang mengarah ke hipoksia janin (Langer, 2015).

Hipoksia yang terjadi secara berkepanjangan mengganggu kehidupan janin di dalam uterus, sehingga janin dapat mengalami kelainan dalam tubuhnya sebagai kompensasi dari perubahan yang terjadi atau bahkan kematian janin dalam rahim.

Berdasarkan penjelasan diatas bahwa kelompok kontrol positif dapat meningkatkan kejadian kecacatan dan

kematian pada anak yang dilahirkan, sedangkan pemberian terapi insulin, ekstrak jahe, dan insulin kombinasi ekstrak jahe memberikan efek hipoglikemik yang memperbaiki kadar glukosa darah ibu sehingga hal-hal yang dapat menyebabkan kematian dan kerusakan atau kecacatan pada anak dapat dicegah.

KESIMPULAN

Terdapat perbedaan signifikan jumlah kematian atau resorpsi dan kecacatan pada anak tikus model *diabetes melitus* pragestasional pada pemberian terapi tunggal jahe dan terapi kombinasi dengan insulin.

REFERENSI

- AFES (2013) Asian Federation of Endocrine Societies (US) *Toward brighter future of endocrinology-metabolic care in asean region: from bench to clinical practice*. The 17th ASEAN Federation of Endocrine Societies (AFES) congress. Jakarta on 13-16 November 2013.
- Gabbay-Benziv, R., Reece, E.A., Wang, F., Yang, P. (2015) Birth defects in pregestational diabetes: Defect range, glycemic threshold and pathogenesis. *World J Diabetes*, vol.6(3), pp.481-8
- Hermanto, HT., Pranoto, A., (2004) Konsensus pedoman diagnosis dan terapi diabetes melitus dalam kehamilan.
- Karmakar, D. and Sharma, J.B. (2010) Diabetes mellitus in pregnancy. *JIMSA*, Vol.23(4)
- Langer, O., (2015), *The Diabetes in pregnancy dilemma: Leading Change with Proven Solutions*, 2e. USA: PMPH USA. Copyright Li, Y., Tran, V.H., Duke, C.C.,

- Roufogalis, BD., (2012) Preventive and Protective Properties of Zingiber officinale (Ginger) in Diabetes Mellitus, Diabetic Complications, and Associated Lipid and Other Metabolic Disorders: A Brief Review. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2012, Article ID 516870.
- Robson, S., Nolan, C., (2013) 'Diabetes and stillbirth'. *Obstetry Gynecology Magazine*; Vol.15(4), pp.36-8
- Wahabi, HA., Alzeidan, RA., Esmæil, SA., (2012), Pre-pregnancy care for women with pre-gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis, *Public Health J*, vol.12, pp.792
- Zahibi, S., (2008) *Fetal outcome in experimental diabetic pregnancy*. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine. Uppsala University