

## PENGARUH PEMBERIAN KOPI TERHADAP PENURUNAN KADAR GLUKOSA DARAH PADA TIKUS PUTIH STRAIN WISTAR DIABETES MELLITUS TIPE 2

Alifaneta Yustisiani<sup>1</sup>, Desy Andari<sup>2</sup>, Isbandiyah<sup>3</sup>

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang, Jl. Bendungan Sutami No. 188A, Kota Malang, 65145, Indonesia, (0341)551149

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh kopi terhadap penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih strain wistar diabetes mellitus tipe 2. Peneliti ini menggunakan metode eksperimen laboratoris rancangan *the post test only control group desain*. Sampel tikus putih strain wistar dibagi 4 kelompok. Sampel I : kontrol negatif, II: kontrol positif, dua kelompok lainnya diberikan kopi Robusta berbagai dosis (5,4 mL/200 gr BB/ hari, 10,8 mL/200 gr BB/hari). Analisis data menggunakan *One Way Anova*, uji Tukey 5%, uji korelasi dan uji regresi linier. Hasil uji *One Way Anova* terdapat pengaruh perlakuan dengan perbedaan yang bermakna terhadap penurunan kadar glukosa darah. Dari uji korelasi terdapat korelasi yang berbanding lurus dan sangat bermakna antara dosis kopi dan jumlah penurunan kadar glukosa darah tikus putih diabetes mellitus tipe 2 dengan nilai Pearson Correlation -0,978 pada glukosa darah puasa dan -0,932 pada glukosa darah 2 jam post pandrial, sedangkan hasil uji regresi didapatkan nilai  $R^2 = 0,956$  pada glukosa darah puasa dan  $0,869$  pada glukosa darah 2 jam post pandrial. **Kesimpulan** : Pemberian kopi berbagai dosis dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes mellitus tipe 2.

**Kata kunci** : diabetes mellitus tipe 2, kadar glukosa darah, kopi Robusta

### ABSTRACT

*The objectives of this research were to understanding the effect of coffee to decrease the blood glucose level in diabetes mellitus type 2 wistar strain white mice models. This research was Laboratory experiment the post test only control group design. Wistar white mice groups were divided into 4 groups. Sample I : negative control, II: positive control, the other two groups were treated with Robusta coffee in various doses (5,4 mL/200 grBW/day, 10,8 mL/200 gr BW/day). Data analysis used One Way Anova, Tukey test 5%, correlation test, and linear regression test. One way Anova test result's that there were an influence of treatments with the obviously different to decrease the blood glucose level. From the correlation test result that there were an inversely and meaningful correlation between coffee doses and the increasing of decrease of blood glucose level in diabetes mellitus type 2 white mice models with the value of Pearson Correlation -0,978 fasting glucose blood and -0,932 2 hours post pandrial, while regression test result was  $R^2 = 0,956$  fasting glucose blood and  $R^2 = 0,869$  2 hours post pandrial. **Conclusion** : Coffee administration in various doses can reduce the number of blood glucose level in diabetes type 2 mice models.*

**Key words** : diabetes type 2, the number of blood glucose level, Robusta coffee

## PENDAHULUAN

### Diabetes

Diabetes yang lebih dikenal sebagai penyakit kencing manis di Indonesia adalah penyakit kronik, yang terjadi ketika pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau ketika tubuh tidak dapat memanfaatkan insulin hasil produksinya sendiri (WHO, 2011).

Dalam bidang medis, salah satu yang terpenting adalah mulai berkembangnya cara pengobatan dengan bahan alam yang lebih dikenal dengan fitofarmaka sebagai alternatif lain dari pengobatan kimiawi (Kumalaningsih, 2007).

Menurut *World Health Organization* (WHO) tahun 2009, Diabetes Melitus adalah penyakit kronik yang terjadi ketika pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau ketika tubuh

tidak dapat secara efektif menggunakan insulin. Insulin adalah suatu hormon yang meregulasi glukosa dalam darah. Hiperglikemia atau peningkatan kadar glukosa dalam darah adalah efek yang biasa terjadi pada diabetes yang tidak terkontrol dan lebih lanjut akan menimbulkan kerusakan yang serius pada banyak sistem dalam tubuh, terutama saraf dan pembuluh darah (WHO, 2009).

### Kopi

Selama ini di Indonesia lebih dikenal sebagai penghasil Kopi Robusta terbesar didunia, meskipun kontribusi kopi Arabika Indonesia dalam perdagangan kopi dunia secara kuantitatif kecil namun secara kualitatif sangat disukai konsumen dengan keanekaragaman jenis serta cita rasa yang spesifik (Tondok, 1999).

Lebih dari 90% kopi di Indonesia diusahakan oleh rakyat. Umumnya komoditi kopi telah menjadi komoditas penting dalam bidang perekonomian beberapa propinsi penghasil kopi seperti Sulawesi Selatan, Bali, Sumatera Selatan, Sumatera Utara dan Aceh (AAK, 2009).

Pada saat ini saja tanaman Kopi Robusta lebih dari 95%, sedangkan selebihnya adalah kopi Arabika dan jenis lainnya. Meskipun kopi Robusta ini semula ditanam dan diusahakan oleh perkebunan besar, namun dalam perkembangannya tanaman ini telah banyak menjadi tanaman rakyat atau pertanian rakyat (AAK, 2009).

Svilass (2004) telah melakukan penelitian tentang asupan berbagai bahan pangan sumber antioksidan terhadap kadar antioksidan dalam plasma, dengan subjek 61 orang Norwegia dewasa selama 7 hari. Dia melaporkan bahwa asupan kopi menyumbang antioksidan plasma sebanyak 11,1 mmol, asupan buah-buahan 1,8 mmol, teh 1,4 mmol, anggur 0,8 mmol, sereal 0,8 mmol dan sayuran 0,4 mmol. Asupan total antioksidan tersebut berkaitan erat dengan kadar lutein, zeaxanthin dan 3 likopen plasma. Data ini membuktikan bahwa kopi menyumbang total antioksidan terbesar diantara sumber antioksidan lainnya.

Kopi lebih dikenal dengan efek buruknya bagi kesehatan, namun telah dibuktikan dalam penelitian bahwa kopi ternyata juga mengandung senyawa antioksidan.

Di dalam kopi, terdapat senyawa polifenol yang telah dikenal sebagai senyawa antioksidan yang dapat melawan radikal bebas. Menurut beberapa hasil penelitian, mengkonsumsi kopi dapat menurunkan insiden dari berbagai macam penyakit diantaranya diabetes mellitus tipe II (Johnston, 2003), kardiovaskuler (Morton, 2007), kanker (Svilaas *et al.*, 2004), serta menurunkan kadar asam urat (Choi, 2007).

### Manfaat Kopi

Kopi lebih dikenal dengan efek buruknya bagi kesehatan, namun telah dibuktikan dalam penelitian bahwa kopi ternyata juga mengandung senyawa antioksidan. Di dalam kopi, terdapat senyawa polifenol yang telah dikenal sebagai senyawa antioksidan yang dapat melawan radikal bebas. Menurut beberapa hasil penelitian, mengkonsumsi kopi dapat menurunkan insiden dari berbagai macam penyakit diantaranya diabetes mellitus tipe II (Johnston, 2003), kardiovaskuler (Morton, 2007), kanker (Svilaas *et al.*, 2004), serta menurunkan kadar asam urat (Choi, 2007).

Manfaat kopi antara lain dapat menurunkan resiko penyakit Alzheimer dan Demensia, menurunkan resiko batu empedu, menurunkan resiko penyakit Parkinson, fungsi kognitif yang baik, sebagai analgesic, antidiabetes, proteksi hati, penurunan resiko kanker, *cardioprotective*, antioksidan, mencegah karies gigi, dan *Gout*.

### Diabetes Mellitus

Menurut *World Health Organization* (WHO) tahun 2009, Diabetes Mellitus adalah penyakit kronik yang terjadi ketika pankreas tidak memproduksi cukup insulin atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin. Insulin adalah suatu hormon yang mengatur glukosa dalam darah. Hiperglikemia atau peningkatan kadar glukosa dalam darah adalah efek yang biasa terjadi pada diabetes yang tidak

terkontrol dan lebih lanjut akan menimbulkan kerusakan yang serius pada banyak sistem dalam tubuh, terutama saraf dan pembuluh darah (WHO, 2009).

WHO sebelumnya telah merumuskan bahwa diabetes mellitus merupakan sesuatu yang tidak dapat dituangkan dalam satu jawaban yang jelas dan singkat, tetapi secara umum dapat dikatakan sebagai suatu kumpulan problem anatomik dan kimiawi akibat dari sejumlah faktor dimana didapat defisiensi insulin absolut atau relatif dan gangguan fungsi insulin (Gustaviani, 2006).

### Diabetes Mellitus Tipe II

Diabetes tipe ini terjadi pada 90-95% penderita diabetes yang biasa disebut diabetes *non-depende insulin*, diabetes tipe 2 dan *adult onset diabetes* (diabetes onset dewasa). Diabetes tipe ini meliputi individu yang memiliki resistensi insulin dan biasanya memiliki defisiensi insulin relatif. Pada pasien diabetes tipe ini tidak dibutuhkan terapi insulin untuk bertahan (*American Diabetes Association*, 2011).

Ada banyak kemungkinan penyebab diabetes tipe ini. Meskipun etiologi spesifik masih belum diketahui, kerusakan autoimun sel  $\beta$  tidak terjadi pasien diabetes tipe ini. Hampir semua pasien dengan diabetes tipe adalah obese dan obesitas itu sendiri yang menimbulkan beberapa tingkatan resistensi insulin. (*American Diabetes Association*, 2011)

Pasien yang tidak obese menurut kriteria berat badan tradisional dapat meningkatkan prosentase distribusi lemak tubuh terutama pada regio abdomen. Ketoasidosis jarang terjadi secara tiba-tiba pada diabetes tipe ini, namun ketika muncul ketoasidosis maka berhubungan stres akibat adanya penyakit lain seperti adanya infeksi (*American Diabetes Association*, 2011).

Diabetes tipe ini sering tidak terdiagnosa selama beberapa tahun karena hiperglikemia berkembang secara bertahap dan pada tahap awal tidak cukup parah untuk pasien memperhatikan gejala klasik diabetes (*American Diabetes Association*, 2011). Meskipun demikian pasien tersebut meningkatkan resiko makrovaskular dan mikrovaskular. Padahal pasien dengan diabetes tipe ini memiliki kadar insulin yang normal atau lebih, kadar glukosa darah yang tinggi akan meningkat kadar insulin dimana sel  $\beta$  berfungsi normal. Hingga sekresi insulin menjadi terganggu dan tidak cukup untuk mengkompensasi resistensi insulin (*American Diabetes Association*, 2011).

Resistensi insulin dapat membaik pada penurunan berat badan dan/atau terapi farmakologi untuk tapi jarang pulih kembali normal. Yang meningkatkan resiko berkembangnya diabetes tipe ini adalah meningkatnya usia dan berat badan serta berkurangnya aktivitas fisik. Ini sering terjadi pada wanita yang sebelumnya GDM dan individu dengan hipertensi atau dislipidemia, serta frekuensinya bervariasi pada setiap ras atau etnik (*American Diabetes Association*, 2011).

Kadar glukosa dapat dipertahankan dalam waktu yang cukup lama dengan meningkatkan resiko berkembangnya diabetes tipe ini adalah meningkatnya usia dan berat badan serta berkurangnya aktivitas fisik. Ini sering terjadi pada wanita yang sebelumnya GDM dan individu dengan hipertensi atau dislipidemia, serta frekuensinya bervariasi pada setiap ras atau etnik (*American Diabetes Association*, 2011).

Kadar glukosa dapat dipertahankan dalam waktu yang cukup lama dengan meningkatkan sekresi insulin, tetapi pada akhirnya sekresi insulin menurun dan jumlah insulin yang beredar tidak lagi memadai untuk mempertahankan keadaan euglikemia. Pasien diabetes mellitus tipe II sekitar 80% mengalami obesitas, maka kemungkinan besar gangguan glukosa pada diabetes mellitus yang pada akhirnya terjadi pada pasien diabetes mellitus tipe II merupakan akibat dari obesitasnya (Schteingart, 2005).

Patogenesis pasien diabetes mellitus tipe II disebabkan oleh tiga faktor penting, yaitu kerentanan genetik, menurunnya fungsi sel beta pankreas, dan terjadinya resistensi insulin akibat penurunan kerja insulin pada reseptor insulin yang meliputi otot skeletal, hati, dan jaringan lemak. Seringkali faktor herediter menyebabkan timbulnya diabetes melalui peningkatan kerentanan sel-sel beta pankreas terhadap penghancuran oleh virus atau mempermudah perkembangan antibodi autoimun melawan sel-sel beta, jadi juga mengarah kepada penghancuran sel-sel beta pankreas (Guyton, 2007).

Manifestasi diabetes mellitus bervariasi dari pasien ke pasien. Pertolongan medis paling sering dicari karena gejala yang berkaitan dengan hiperglikemia (poliuria, polidipsi, dan polifagia), tetapi kejadian pertama mungkin berupa dekompensasi metabolik akut yang menyebabkan koma diabetik (Foster, 2000).

Gejala-gejala diabetes mellitus meliputi frekuensi buang air kecil yang meningkat, rasa haus berlebihan, rasa lapar berlebihan, merasa lelah dan lemah hampir disepanjang waktu, menurunnya berat badan, luka yang sulit sembuh, rasa kesemutan pada kaki, penglihatan kabur, kulit yang kering atau gatal (Soegondo, 2007).

Terdapat gejala klasik yaitu poliuri, polidipsi, polifagi serta penurunan berat badan tanpa penyebab ditambah satu dari tiga keadaan : 1) kadar glukosa darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dL 2) kadar glukosa darah puasa  $\geq 126$  mg/dL 3) tes toleransi glukosa sebanyak 75 gram oral dan setelah 2 jam kadar glukosa darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dL (*American Association of Clinical Endocrinologist*, 2007).

## Kopi dan Diabetes Mellitus Tipe II

Kopi di absorpsi di lambung dan usus halus kurang dari 45 menit setelah intake dan mencapai konsentrasi maksimum dalam darah 15-120 menit (Sinclair, 2000). Metabolisme kafein pada liver diawali dengan pembuangan methyl 1 dan 7 grup pada reaksi katalisasi oleh sitokrom P450, memungkinan formasi menjadi 3 grup *methylxanthine* : *paraxanthine*, *theobromine*, *theophylline*. *Theophylline* yang berperan dalam mengontrol metabolisme glukosa (Kallow, 1993).

Pengaruh kopi terhadap sekresi gastrointestinal peptide seperti *glukagon-like peptide 1* (GLP-1) dan *gastric inhibitory polypeptide* (GIP) menurunkan absorpsi glukosa pada usus halus dan aktivasi *central anorexigenic peptides* (POMC/CART). Mekanisme langsung juga terjadi pada beta pankreas oleh kafein dan *theophylline* (Gustavo, 2009).

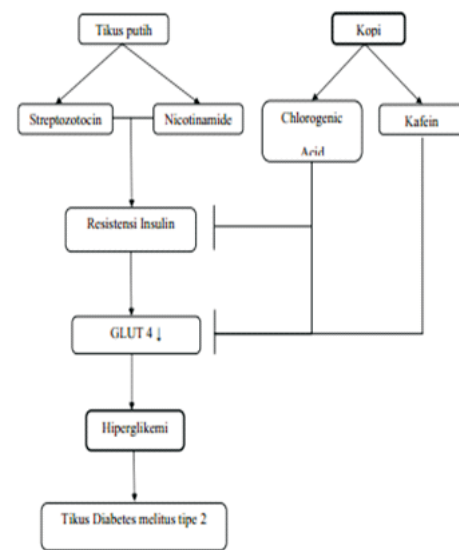
Kafein (*1,3,7-trimethylxanthine*) terlibat dalam regulasi metabolisme glukosa lipid termasuk aksi seperti *insulin-dependent glucose transport*, ekspresi *glucose transporter 4* dan pemanfaatan asam lemak di otot skeletal. Efek ini mirip dengan *exercise-induced* dan *5'adenosine monophosphate activated*

*protein kinase* (AMPK) dimediasi perubahan metabolik di otot skeletal, menunjukkan bahwa kafein terlibat dalam regulasi metabolisme otot melalui aktivasi AMPK (Egawa T, 2009).

Hasil studi menunjukkan dalam stimulasi akut dari *glucose transport*, aktivasi AMPK memegang peranan penting dalam meningkatkan kapasitas untuk *glucose transport* dengan menginduksi peningkatan GLUT 4 pada otot skeletal (Edward O, 2002).

## KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

### Kerangka



Keterangan :



*Streptozotocin* adalah kombinasi dari *glucosamine-nitrosourea* yang memiliki efek diabetogenik poten pada beberapa spesies binatang termasuk mencit, tikus, anjing, dan kerbau. Diabetes yang dipicu oleh *streptozotocin* pada binatang bersifat ireversibel dan mewakili diabetes mellitus tipe 2 pada manusia (McEvoy, 2002). *Streptozotocin* toksik pada sel dengan merusak DNA, meskipun mekanisme lainnya juga berperan. Struktur *streptozotocin* cukup mirip dengan glukosa sehingga ditransportasikan ke dalam sel melalui protein transport glukosa GLUT 2, tetapi hal ini tidak terjadi pada transport glukosa yang lain (Schnedl et al., 1994; Wang and Gleichmann, 1998).

Induksi STZ menyebabkan resistensi insulin yang mengakibatkan penurunan pemasukan glukosa ke dalam otot dan jaringan adipose sehingga kadar glukosa dalam darah tinggi (Rees dan Alcolado, 2005). *Nicotinamide* adalah bentuk Vitamin B3 yang dapat mempertahankan dan meningkatkan fungsi sel beta (Knip, 2000). Alasan untuk menggunakan *nicotinamide* dalam pencegahan dan diabetes mellitus tipe 1 berasal dari studi manusia dan hewan serta

dalam penelitian *in vitro*. Dalam studi *in vitro* telah menunjukkan bahwa nicotinamide dapat mencegah makrofag-atau interleukin- $\alpha$ 1 yang menginduksi kerusakan sel  $\beta$ .

Setelah terjadi resistensi insulin pre-diabetik, pankreas mengkompensasi dengan mensekresi insulin lebih banyak untuk membantu *uptake* glukosa dalam sel dan terjadi defek aktivitas GLUT 4 sehingga timbul diabetes mellitus tipe 2 (Emily, 2003).

Insulin sendiri dapat mencetuskan resisten insulin, apabila setiap saat sel terpapar insulin, produksi GLUT 4 (reseptor glukosa tipe 4) pada membran sel menurun, hal ini menyebabkan kebutuhan insulin meningkat yang menyebabkan reseptor glukosa berkurang (MacLean, 2002).

Kopi mengandung senyawa antioksidan yang kuat yaitu *chlorogenic acid* atau asam klorogenat. Ketika kopi dipanggang, asam klorogenat berubah menjadi senyawa baru yang memberikan aroma unik. Hilangnya molekul air dan terbentuknya ikatan ester dari asam klorogenat menghasilkan quinolaktone atau quinida yang tidak asam. Menurut hasil pengujian hasil pengujian, asam klorogenat dan derivatnya ternyata dapat diserap aktif dalam tubuh (Hery W, 2007).

Senyawa quinida terdapat dalam jumlah banyak berupa *3-caffeoylquinide* dan *4-caffeoylquinide*. Senyawa ini mampu memperbaiki kerja insulin, terutama yang bekerja dalam otot skelet. Sehingga sensitivitas insulin meningkat (Hery W, 2007). Asam klorogenat juga menyebabkan penurunan resistensi insulin, menghambat absorpsi glukosa, menghambat atau memperlambat hidrolisis *glucose-6-phosphatase* pada *hepatic stage* yang mungkin dapat menurunkan output plasma glukosa darah, menyebabkan penurunan konsentrasi plasma glukosa darah (Gustavo, 2009).

Asam klorogenat juga dapat meningkatkan uptake glukosa dengan meningkatkan ekspresi GLUT 4 melalui PI3K independent pathway dimana *ferulic acid* meningkatkan uptake glukosa melalui PI3K dependent pathway (Prabhakar PK, 2009).

## Hipotesis

Terdapat penurunan kadar glukosa darah setelah pemberian kopi pada tikus putih strain wistar diabetes mellitus tipe 2.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan *penelitian eksperimental* dengan menggunakan metode *The Post Test Only Control Group Design*.

Penelitian ini akan dilaksanakan selama 4 minggu bertempat di Laboratorium Biokimia dan laboratorium Bomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang.

Populasi penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar dewasa, jenis kelamin jantan, umur 2-3 bulan, berat badan 150-250 gram dengan kondisi sehat yang ditandai dengan gerakannya yang aktif.

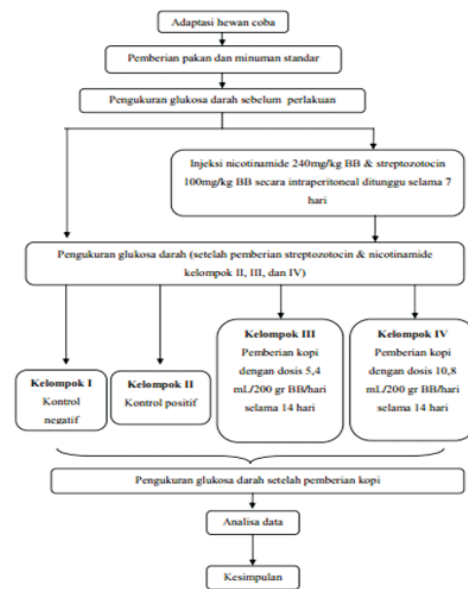
Sampel diambil secara random dari populasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar jantan sebagai hewan

coba. Sampel terdiri atas 4 kelompok yang diambil secara random.

Alat yang digunakan adalah Timbangan untuk menimbang berat badan tikus, gelas ukur, botol air dan botol kopi, beker gelas, Spuit mikro, strip glukosa dan glucometer, sonde modifikasi, spet insulin.

Bahan-bahannya antara lain hewan percobaan, makanan tikus, pengukuran variable, zat yang diberikan untuk membuat tikus diabet *streptozotocin* dan *Nicotinimide*

## Alur Penelitian



## Prosedur Penelitian

### 1. Adaptasi Hewan Percobaan

Tikus diaklimatisasi dahulu dengan lingkungan dan pakan selama satu minggu di laboratorium sebelum injeksi *Streptozotocin* dan *Nicotinamide* sambil diamati kesehatannya.

### 2. Penentuan Dosis

Dosis Aquades, nicotinamide, streptozotocin, dan kopi. Pada manusia, di dalam 1 cangkir kopi 200ml air mengandung 10g bubuk kopi (konsentrasi 1 kali), dan dosis konversi banyaknya volume larutan untuk tikus yang setara dengan 200ml air  $\sim 0,018 \times 200\text{ml}$  adalah 3,6ml. Untuk 2 cangkir kopi setara dengan 7,2ml; sedang untuk 4 cangkir kopi setara dengan 14,4ml; dan untuk 8 cangkir kopi setara dengan 28,8ml.

Sehingga dapat diperoleh dosis kopi Robusta menurut hasil konversi dari dosis manusia, dimana berat badan manusia 70 kg setara dengan 200 gram berat badan tikus dengan satuan konversi = 0,018 (Laurence & Bacharach, 1964). Sehingga dosis kopi Robusta yang diberikan yaitu :

- Dosis I =  $300 \text{ mL} \times 0,018 = 5,4 \text{ ml}/200 \text{ gr BB/hari}$   
Dosis II =  $600 \text{ mL} \times 0,018 = 10,8 \text{ ml}/200 \text{ gr BB/hari}$ .

### 3. Penyiapan Larutan Uji

- Serbuk nicotinamide dilarutkan dalam larutan PBS (*phosphate buffered saline*) sebelum disuntikkan ke hewan coba (Firdous *et al*, 2009). Serbuk STZ dilarutkan dengan dapar sitrat. Larutan dapar sitrat merupakan kombinasi antara dinatrium sitrat (asam sitrat



monohidrat dan NaOH 1M) dengan volume 53,2 ml serta penambahan larutan NaOH 1M sehingga larutan tepat 100 ml. Larutan yang disuntikkan ke tikus yaitu 0,5 ml tiap ekor tikus. Kopi robusta diberikan dalam sediaan seduhan sesuai dengan dosis masing-masing kelompok.

#### 4. Pengambilan Darah Tikus

Seluruh hewan coba dari semua kelompok diukur kadar gula darahnya. Darahnya diteteskan pada strip glukosa dan ditentukan angka glukosa darahnya dengan melihat hasilnya pada glukometer.

#### 5. Percobaan

##### a. Pembuatan Tikus Diabetes

Induksi diabetes mellitus tipe 2 pada tikus putih dilakukan dengan jalan memberikan *nicotinamide* 240 mg/kg BB (Barik, 2008) yang dilarutkan dgn PBS secara intraperitoneal (Firdous, 2009). Setelah 15 menit pemberian *nicotinamide* dilanjutkan dengan pemberian STZ sebanyak 100 mg/kg BB (Firdous, 2009). Dalam waktu 10 menit sebelum disuntikkan, STZ dilarutkan dengan buffer sitrat yang memiliki pH 4,5 (Robert *et al*, 1984).

##### b. Pemberian Kopi Robusta

Kelompok I sebagai kelompok kontrol negatif. Kelompok I ini tidak diberi pemberian apapun (pakan standar). Kelompok II sebagai kelompok kontrol positif hanya diberi perlakuan injeksi streptozotocin dan *nicotinamide*, sedangkan pada kelompok III dan IV selain pemberian injeksi larutan *streptozotocin* dan *nicotinamide* pada hari ke 2 selama 7 hari juga diberi perlakuan kopi robusta. Kopi diberikan masing-masing dengan dosis 5,4 ml/200 gr BB/hari untuk kelompok III dan 10,8 ml/200 gr BB/hari untuk kelompok IV. Untuk keseragaman maka pemberian kopi robusta dilakukan setiap hari selama 14 hari jam 12.00 – 13.00 WIB siang. Setelah selama 14 hari tikus diberikan kopi robusta kemudian tikus dihitung kadar glukosa darahnya.

##### c. Pemeriksaan Kadar Gula Darah

Dalam penelitian ini, pemeriksaan kadar gula darah tikus dilakukan sebelum perlakuan, pada hari ke-7, dan hari ke-14. Pemeriksaan pada hari-7 bertujuan untuk mengetahui efek hiperglikemi dari *Streptozotocin*. Pemeriksaan pada hari ke-14 adalah untuk mengetahui pengaruh pemberian kopi robusta terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) strain wistar yang diinduksi *Streptozotocin* dan *Nicotinamide*.

## Analisis Data

### Analisis statistik yang digunakan adalah:

1. *One way ANOVA*, yaitu untuk menguji hipotesis kesamaan rata-rata antar kelompok ( $> 2$  kelompok), apakah rata-rata antar sampel berbeda secara signifikan atau tidak; dengan tingkat kepercayaan  $p = 0,05$ , di mana apabila diperoleh  $p > 0,05$  artinya tidak ada perbedaan yang bermakna sebaliknya bila  $p < 0,05$  menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna.

2. Uji Tukey 5% merupakan uji kelanjutan dari uji ANOVA, digunakan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan dalam penelitian.
3. Uji korelasi digunakan untuk mengetahui hubungan yang signifikan antara dosis kopi dengan perlakuan (penurunan kadar glukosa darah).
4. Analisa regresi linier untuk mengetahui seberapa kuat hubungan antara dosis kopi dengan penurunan kadar glukosa darah.

## HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan tiga kali pengukuran kadar glukosa darah, yaitu sebelum perlakuan, setelah pemberian *streptozotocin* dan *nicotinamide*, dan setelah pemberian kopi.

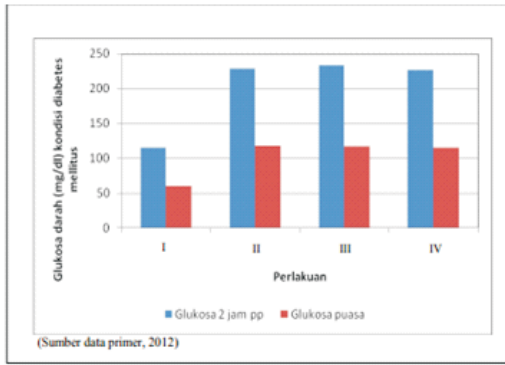
Pengukuran pertama dilakukan pada semua kelompok sebelum perlakuan yaitu setelah tikus diadaptasikan selama 7 hari. Pengukuran kedua dilakukan setelah pemberian *streptozotocin* 100mg/kg dan *nicotinamide* 240mg/kg BB secara intraperitoneal yang diberikan pada kelompok II, III dan IV dan ditunggu selama 1 minggu kemudian pengukuran ketiga dilakukan setelah pemberian kopi yang diberikan pada kelompok III dan IV dengan masing – masing dosis 5,4 mL/200 gr BB/hari pada kelompok III dan 10,8 mL/200gr BB/hari pada kelompok IV yang diberikan selama 14 hari. Kadar glukosa yang diukur adalah kadar glukosa puasa dan kadar glukosa darah 2 jam PP.

Dari pengukuran tersebut didapatkan hasil glukosa darah sebelum perlakuan, setelah pemberian *streptozotocin* dan *nicotinamide*, dan setelah pemberian kopi robusta dengan dosis yang telah ditentukan seperti table di bawah ini:

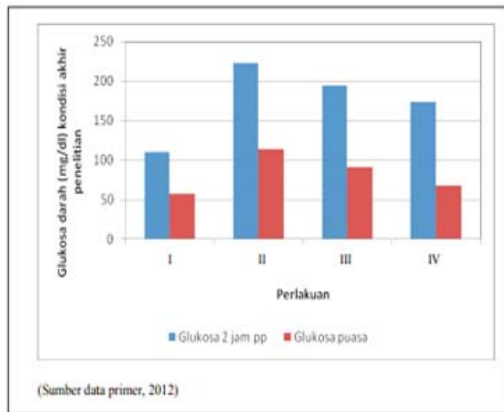
Perlakuan	Awal (mg/dl)		Induksi DM (mg/dl)		Akhir kopi (mg/dl)	
	Puasa	2JPP	Puasa	2 jam PP	Puasa	2 jam PP
K I	57,950	112,956	60,836	115,607	57,951	110,483
K II	57,832	113,015	118,375	228,151	114,605	222,615
K III	57,302	115,429	116,843	232,803	91,814	194,817
K IV	56,772	114,782	114,723	220,848	68,375	173,852

Dari tabel hasil rerata di atas dapat dilihat setelah pemberian kopi rerata kadar glukosa darah puasa tikus putih strain wistar terendah terdapat pada kelompok IV dengan pemberian dosis kopi 10,8 ml/200 gr BB/hari yaitu 68.375, sedangkan kadar glukosa darah 2 jam PP tikus putih strain wistar terendah terdapat pada kelompok IV dengan pemberian kopi 10,8 ml/200 gr BB/hari yaitu 173,852.

Peningkatan kadar glukosa darah terbukti dengan dilakukan uji *One way ANOVA* dan uji tukey 5% yang membuktikan adanya pengaruh yang bermakna terhadap kadar glukosa darah setelah pemberian *streptozotocin* dan *nicotinamide*, dirangkum dalam diagram batang di bawah ini



Setelah pemberian *streptozotocin* dan *nicotinamide*, tikus dalam keadaan diabetes mellitus tipe 2. Dalam penelitian ini hewan coba akan dibiarkan selama 1 minggu atau 7 hari dalam keadaan hiperglikemia. Kemudian dilanjutkan perlakuan pemberian kopi pada kelompok III dan kelompok IV. Pada Kelompok III dan IV terjadi penurunan kadar glukosa darah dari kadar glukosa darah setelah perlakuan *streptozotocin* dan *nicotinamide* dengan kadar glukosa darah setelah perlakuan kopi pada gambar di bawah ini



**Uji One Way ANOVA**

Tabel uji *One way* ANOVA menunjukkan rata-rata antar sampel berbeda secara signifikan atau tidak; dengan tingkat kepercayaan  $p = 0,05$ , di mana apabila diperoleh  $p > 0,05$  artinya tidak ada perbedaan bermakna sebaliknya bila  $p < 0,05$  menunjukkan adanya perbedaan bermakna.

**Uji One way ANOVA Kadar Glukosa Darah Puasa Tikus Putih setelah Pemberian Kopi.**

Pada uji anova kadar glukosa darah puasa tikus setelah pemberian kopi (*Lampiran 2*) menunjukkan bahwa nilai sig = 0,000 lebih kecil daripada  $p = 0,05$  yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara pemberian kopi terhadap penurunan kadar glukosa darah puasa tikus putih strain wistar diabetes mellitus tipe 2.

**Uji One way ANOVA Kadar Glukosa Darah 2 Jam PP Tikus Putih setelah Pemberian Kopi.**

Pada uji anova kadar glukosa darah 2 jam post-pandrial tikus setelah pemberian kopi (*Lampiran 2*) menunjukkan bahwa nilai sig = 0,000 lebih kecil daripada  $p = 0,05$  yang berarti terdapat perbedaan bermakna antara pemberian kopi terhadap penurunan kadar glukosa darah 2 jam PP tikus putih strain wistar diabetes mellitus tipe 2.

**Uji Tukey 5%**

Sebagai kelanjutan dari uji anova dilakukan uji lanjut tukey 5%. Uji Tukey 5% dilakukan untuk mengetahui perbedaan yang bermakna pada masing- masing kelompok dan bagaimana perbedaan tersebut. Tabel dibawah ini menunjukkan bahwa angka yang diikuti huruf yang sama berarti tidak berbeda secara signifikan pada uji Tukey 5%, sedangkan angka yang memiliki notasi yang berbeda dapat diartikan berbeda nyata pada uji tukey 5% (*Lampiran 2*)

**Uji Korelasi**

Uji korelasi digunakan untuk mengetahui hubungan yang signifikan antara dosis kopi dengan penurunan kadar glukosa darah.

**Uji Korelasi Kadar Glukosa Darah Tikus Putih setelah Pemberian Kopi**

Tabel uji korelasi antara perlakuan dan penurunan kadar glukosa darah puasa menunjukkan bahwa nilai sig (2-tailed) = 0,000 <  $p (0,05)$  dan dengan nilai pearson correlation = -0,978, hal tersebut menunjukkan korelasi yang berbanding terbalik bermakna yang berarti bahwa semakin tinggi dosis kopi menyebabkan semakin besar penurunan glukosa puasa tikus putih diabetes pada akhir perlakuan.

**Uji Korelasi Kadar Glukosa Darah 2 Jam PP Tikus Putih Setelah Pemberian Kopi**

Uji korelasi antara perlakuan dan penurunan glukosa puasa menunjukkan bahwa nilai sig (2-tailed) = 0,000 <  $p (0,05)$  dan dengan nilai pearson correlation = -0,932, hal tersebut menunjukkan korelasi yang berbanding terbalik sangat bermakna yang berarti semakin tinggi dosis kopi menyebabkan semakin besar penurunan glukosa 2 jam pp tikus putih strain wistar diabetes pada akhir perlakuan.

**Uji Regresi**

Uji regresi digunakan untuk menentukan hubungan antara dosis kopi terhadap penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih strain wistar model diabetes mellitus tipe 2.

**Uji Regresi Glukosa Darah Puasa Tikus setelah Pemberian Kopi.**

$$Y = 114,713 - 4,281 (X)$$

Keterangan:

$$Y = \text{Kadar glukosa puasa (mg/dl)}$$

$$X = \text{dosis kopi (ml/ekor/hari)}$$

$R^2 = 0,956$  Persamaan tersebut dapat digunakan, hal ini dikarenakan sig anova regresi = 0,000 <  $p = 0,05$ . Koefisien determinasi  $R^2 = 0,956$ , berarti penurunan kadar glukosa darah puasa pada tikus putih strain wistar ditentukan oleh 95,6% pemberian dosis kopi.

**Uji Regresi Penurunan Kadar Glukosa Darah 2 jam PP Tikus Putih setelah**

$$Y = 221,476 - 4,515 (X)$$

Keterangan:

$$Y = \text{Kadar glukosa 2 jam pp (mg/dl)}$$

$$X = \text{dosis kopi (ml/ekor/hari)}$$

$$R^2 = 0,869$$

Persamaan tersebut dapat digunakan, hal ini dikarenakan sig anova regresi =  $0,000 < p (0,05)$ . Koefisien determinasi  $R^2 = 0,873$ , berarti penurunan kadar glukosa darah 2 jam pp pada tikus putih strain wistar ditentukan oleh 86,9% pemberian dosis kopi.

## ANALISIS DATA

Setelah didapatkan kadar glukosa darah akhir penelitian dilakukan analisa data dengan menggunakan uji *one way* ANOVA, uji tukey 5%, uji korelasi dan uji regresi linier.

Dari data perhitungan yang diperoleh dilakukan uji asumsi normalitas dan uji homogenitas. Hasil uji normalitas dan homogenitas, menunjukkan bahwa data bersifat normal dan homogen sehingga dapat dilakukan uji ANOVA.

## PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *the posttest only group* yang membuktikan pengaruh kopi terhadap penurunan kadar glukosa darah pada tikus putih strain wistar diabetes mellitus tipe 2. Penelitian ini dilakukan selama 4 minggu dengan injeksi *streptozotocin* dan *nicotinamide* pada kelompok II, III, dan IV selama 1 minggu, sedang kelompok I sebagai kontrol negatif (K-). Pada tikus kelompok III dan IV dilakukan pemberian kopi selama 2 minggu (14 hari) dengan dosis yang telah ditentukan.

Kadar glukosa darah puasa dan 2 jam PP pada tiap – tiap kelompok dihitung kemudian dibuat rerata. Setelah induksi *nicotinamide* dan *streptozotocin* dan dibiarkan 7 hari dalam kondisi hiperglikemi kemudian ditambah dengan pemberian kopi Robusta selama 14 hari dosis 5,4 ml/200grBB tikus/hari (kelompok III) didapatkan rerata kadar glukosa darah puasa 91,814 dan kadar glukosa darah 2 jam PP 194,817 sedangkan dengan dosis 10,8 ml/200 grBB tikus/hari (kelompok IV) didapatkan rerata kadar glukosa darah puasa 68,375 dan kadar glukosa darah 2 jam PP 173.852.

Hasil diatas menunjukkan adanya pengaruh pemberian injeksi *streptozotocin* dan *nicotinamide* ditambah dengan pemberian berbagai dosis kopi robusta pada kelompok III dan kelompok IV terhadap penurunan kadar glukosa darah. Hasil tersebut disebabkan oleh beberapa mekanisme senyawa yang terdapat dalam kopi seperti yang dikemukakan oleh peneliti lain.

Kopi mengandung dua senyawa kompleks terbanyak, yaitu *chlorogenic acid* (asam klorogenat) dan kafein. *Chlorogenic acid* memiliki mekanisme dalam menurunkan hiperglikemia intraselular serta berperan sebagai senyawa polifenol yang bekerja sebagai antioksidan kuat di dalam kopi. Tingginya kadar antioksidan kopi juga telah dilaporkan oleh beberapa peneliti (Pellegrini et al., 2003; Richelle, 2001). Mereka meyakini bahwa *chlorogenic acid*, yakni ester dari asam kafeat dan asam kuinat, merupakan komponen polifenol yang bertanggung jawab sebagai antioksidan (Winarsi, 2009).

*Chlorogenic acid* mampu meningkatkan sensitivitas insulin terutama yang bekerja di otot melalui senyawa quinida di dalamnya yang terbentuk saat kopi dipanggang (Herry W, 2007). Selain menurunkan resistensi insulin, *chlorogenic acid*

juga menurunkan konsentrasi plasma glukosa darah (Gustavo 2009) dan meningkatkan ekspresi GLUT 4 melalui PI3K independent pathways.

Beberapa studi menyatakan konsumsi kafein yang terkandung dalam kopi berhubungan dengan penurunan berat badan dan meningkatkan rasa kenyang (Gustavo, 2009). Kafein pada kopi dimetabolisme dalam hepar dan memungkinkan formasi menjadi 3 grup *methylxanthine* salah satunya *theophylline* yang berperan dalam mengontrol metabolisme glukosa darah (Kallow).

Pada kelompok II atau sebagai K+ dari penelitian ini hanya diberikan injeksi *streptozotocin* dan *nicotinamide* untuk mendapatkan hasil tikus DM tipe II. Hasilnya adalah kadar glukosa darah puasa dan 2 jam PP masing-masing 118.374 mg/dl dan 228.150mg/dl. Hasil ini dapat dibandingkan dengan kelompok satu sebagai K- yaitu kelompok yang tidak diberikan perlakuan apapun. Pada kelompok I didapatkan hasil kadar glukosa darah puasa dan 2 jam PP masing-masing 60.836 mg/dl dan 115.606 mg/dl. Dari perbedaan hasil dari kedua kelompok tersebut dapat dilihat bahwa pemberian injeksi *streptozotocin* dan *nicotinamide* dapat meningkatkan kadar glukosa darah.

Kafein juga terlibat dalam metabolisme glukosa lain, salah satunya dengan menginduksi peningkatan glucose transporter 4 melalui aktivasi AMPK (Egawa T, 2009) dimana pada diabetes mellitus tipe 2 selain resistensi insulin juga didapatkan penurunan GLUT 4 yang memperparah kondisi diabetes mellitus (MacLean, 2002). Mekanisme kopi ini terbukti dengan adanya penurunan kadar glukosa darah pada tikus kelompok III dan IV yang diberi perlakuan tambahan yakni dengan pemberian kopi dengan dosis yang ditentukan.

Pada kelompok II atau sebagai K+ dari penelitian ini hanya diberikan injeksi *streptozotocin* dan *nicotinamide* untuk mendapatkan hasil tikus DM tipe II. Hasilnya adalah kadar glukosa darah puasa dan 2 jam PP masing-masing 118.374 mg/dl dan 228.150mg/dl. Hasil ini dapat dibandingkan dengan kelompok satu sebagai K- yaitu kelompok yang tidak diberikan perlakuan apapun. Pada kelompok I didapatkan hasil kadar glukosa darah puasa dan 2 jam PP masing-masing 60.836 mg/dl dan 115.606 mg/dl.

Dari perbedaan hasil dari kedua kelompok tersebut dapat dilihat bahwa pemberian injeksi *streptozotocin* dan *nicotinamide* dapat meningkatkan kadar glukosa darah. Kondisi hiperglikemia intraselular disebabkan dari injeksi *streptozotocin* (STZ) dan *nicotinamide*. STZ adalah kombinasi dari *glucosamine-nitrosourea*. STZ memiliki efek diabetogenik poten pada beberapa spesies binatang termasuk mencit, tikus, anjing, dan kera. Diabetes yang dipicu oleh STZ pada binatang bersifat *irreversibel* dan mewakili diabetes mellitus tipe 2 pada manusia (McEvoy, 2002).

Pada hewan coba yang diinduksi STZ akan mengalami gangguan respon terhadap glukosa dan sensitivitas sel  $\beta$  terhadap glukosa. Di lain pihak sel  $\alpha$  dan  $\gamma$  tidak dipengaruhi secara signifikan oleh pemberian STZ (Szkudelski, 2001). Induksi STZ dapat mengakibatkan resistensi insulin yang sehingga kadar glukosa dalam darah tinggi, STZ juga dapat pula menyebabkan Glucose Transporter 4 (GLUT 4) yang memfasilitasi glukosa masuk ke dalam sel menurun. Hal

tersebut mengakibatkan penurunan pemasukkan glukosa ke dalam otot dan jaringan adiposa (Rees and Alcolado, 2005).

*Nicotinamide* adalah bentuk Vitamin B3 yang dapat mempertahankan dan meningkatkan fungsi sel beta. Dalam studi *in vitro* telah menunjukkan bahwa *nicotinamide* dapat mencegah makrofag-atau interleukin- $\alpha$ 1 yang menginduksi kerusakan sel  $\alpha$ . Sebuah studi intervensi di Selandia Baru menggunakan pengobatan *nicotinamide* yang menunjukkan penurunan 50% dari insiden IDDM selama periode lima tahun. Namun, penggunaan *nicotinamide* sehubungan dengan penyakit diabetes mellitus adalah dalam studi eksperimental (Passero, 2011).

Induksi hewan coba menjadi DM tipe II selain diberikan STZ juga perlu diinjeksikan *nicotinamide* yang digunakan untuk mencegah pengaruh pemberian STZ sebagai bahan diabetogenik yang dapat merusak sel  $\beta$  pankreas. Pemberian STZ dan *nicotinamide* pada hewan coba akan menyebabkan resistensi insulin yang merupakan mekanisme patologis dari diabetes mellitus tipe 2. Mekanisme dari STZ yang masuk ke dalam sel  $\beta$  melalui GLUT 2 dan mengalami metabolisme di dalam sel sehingga dapat melepaskan molekul NO yang selanjutnya dapat menyebabkan kerusakan DNA sel  $\beta$  pankreas. *Nicotinamide* dapat mencegah makrofag-atau interleukin- $\beta$ 1 yang menginduksi kerusakan sel  $\beta$  pankreas sehingga terjadi bukanlah kerusakan sel  $\beta$  pankreas pada DM tipe I namun terjadi resistensi insulin pada diabetes mellitus tipe 2 (Ruskar, 2010).

Dari berbagai fakta yang ditemukan pada penelitian ini dan melalui kajian statistika, maka hipotesis tentang pemberian kopi pada tikus putih strain wistar diabetes mellitus tipe 2 menurunkan kadar glukosa darah terbukti, namun masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme pasti kopi dalam menurunkan kadar glukosa darah.

## KESIMPULAN

Pemberian kopi dapat menurunkan secara signifikan kadar glukosa darah pada tikus diabetes mellitus tipe 2.

Pada penelitian ini, dosis paling efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus adalah 10,8 ml/200gr BB/hari atau setara dengan 600 ml pada manusia.

## DAFTAR PUSTAKA

- Edward O, Terry E, Lorraine A, et al., 2002, Regulation of GLUT4 Biogenesis in Muscle : Evidence for Involvement of AMPK and Ca<sup>2+</sup>, *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282, pp. 1008-1013.
- Emily Updegraff, C. Wilborn, 2003, What's GLUT 4?, viewed 9 March 2012, < <http://www.wisegeek.com/what-is-glut4.htm>>.
- Hery Winarsi MS, 2007, Antioksidan Alami dan Radikal Bebas, Penerbit Kanisius, Jakarta.
- Johnston KL, Clifford MN, Morgan LM, 2003, Coffee Acutely Modifies Gastrointestinal Hormone Secretion and Glucose Tolerance in Humans: Glycemic Effects of Chlorogenic Acid and Caffeine, *Am J Clin Nutr*, 79(4), pp. 728–733.

- Kallow W, Tang BK, 1993, The Use of Caffeine for Enzyme Assays: A Critical Appraisal, *Clin Pharmacol Ther*, 53(5), pp.503–514.
- Kumalaningsih S, 2007, Antioksidan Alami Penangkal Radikal Bebas, PT. Trubus Swadaya, Depok.
- Morton, Lincoln W, Rima ACC, et al., 2007, Chemistry And Biological Effects of Dietary Phenolic Compounds: Relevance To Cardiovascular Disease, *Clin Exp Pharmacol and Physiol*, 27(3): 152-59
- Prabhakar PK, Doble M, 2009, Synergistic effect of phytochemical drugs on glucose uptake myotubes, Departement of Biotechnolog. Indian Institute of Thechnology Madras.
- Schnedl WJ, Ferber S, Johnson JH, et al, 1994, STZ Transport and Cytotoxicity, Specific Enhancement in GLUT2-Expressing Cells, *Diabetes* 43(11), pp. 1326–33
- Svilaas A, 2004, Intakes of Antioxidants in Coffee, Wine, and Vegetables are Correlated with Plasma Carotenoids in Humans, *Journal of Nutrition*, 134, pp. 562-567.
- Svilaas A, 2004, Intakes of Antioxidants in Coffee, Wine, and Vegetables are Correlated with Plasma Carotenoids in Humans, *Journal of Nutrition*, 134, pp. 562 567.
- Tondok, A.R, 1999, Kebijakan Pengembangan Kopi di Indonesia, Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao.
- Wang Z, Gleichmann H, 1998, GLUT2 in pancreatic islets: crucial target molecule in diabetes induced with multiple low doses of streptozotocin in mice, *Diabetes*, 47 (1): 50–6.
- World Healthy Organization, 2011, Diabetes Programme, viewed 9 February 2011, <[http://www.who.int/diabetes/action\\_online/basics/en/index.html](http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/en/index.html)>.