

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil Penelitian

Subjek penelitian berupa 28 tikus putih diperoleh dari Laboratorium Hewan Coba Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Tikus putih tersebut telah memenuhi kriteria yang ditetapkan dalam penelitian ini yaitu tikus putih jantan, galur Wistar, umur 8-10 minggu, berat badan 200–250 g, tidak cacat fisik dan aktivitas tampak normal. Selain itu tikus juga tidak mengalami kerusakan pada matanya. Selama masa pemeliharaan tikus mendapat diet makanan standar berupa pellet dengan volume pakan sekitar 15-25 gram per hari per ekor tikus dan minuman berupa air steril seperti aqua steril dengan volume sekitar 50-100 ml per hari per ekor tikus. Tikus putih ditempatkan pada ruangan dengan suhu kamar yang sama berkisar antara 25-28 °C, kelembaban 40-60% dan cahaya normal. Luas kandang dengan ruang berkisar 20x30x20 cm per ekor tikus diharapkan dapat leluasa untuk tikus bergerak.

Perlakuan penelitian dilakukan di Laboratorium Hewan Coba Pusat Studi Pangan dan Gizi, gedung Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Setelah 7 hari mengalami adaptasi, tikus putih dibagi secara random menjadi 4 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 7 tikus putih, yaitu:

K1 : Kelompok kontrol N tanpa propolis.

K2 : Kelompok DM tanpa propolis.

P1 : Kelompok DM + propolis 100 mg/kgBB /hari.

P2 : Kelompok DM + propolis 200 mg/kgBB /hari.

Sebelumnya data kadar glukosa darah puasa (GDP) diukur pada H- (1 hari sebelum tikus diinduksi STZ 45 mg/kgBB dan NA 110 mg/kgBB). Kemudian tikus putih kelompok K2, P1 dan P2 dibuat model DM dengan cara induksi STZ 45 mg/KgBB dan nikotinamid (NA) 110 mg/kgBB, sedangkan tikus putih kelompok K1 sebagai kontrol normal.

Data kadar GDP diukur kembali pada H0 saat terdiagnosis DM (3 hari pasca induksi STZ 45 mg/KgBB dan NA 110 mg/kgBB), menunjukkan status diabetik jika kadar glukosa darah puasa (GDP) > 250 mg/dL (kelompok K2, P1 dan P2). Kadar gula darah juga diukur pada H14 (sebelum perlakuan / tikus putih dibiarkan dalam kondisi DM selama 14 hari) dan H28 (setelah tikus putih mendapat perlakuan pemberian ekstrak propolis 14 hari berturut turut). Selama perlakuan tidak ada tikus putih yang mati.

Data kadar MDA , ekspresi TGF- $\beta$ , kadar TGF- $\beta$ , CRP, ekspresi Caspase-3, kadar Caspase-3 , nekrosis saraf optik, penipisan RNFL, dan apoptosis RGC akan dijelaskan di bawah ini.

### 1. Kadar Glukosa Darah Puasa

Rerata kadar GDP berdasar waktu dapat dilihat pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.1.

Tabel 4.1 Rerata kadar GDP (mg/dL) Berdasar Waktu Pada Masing-masing Kelompok Sampel

Kelompok	Kadar GDP (mg/dL)			
	H-	H0	H14	H28
K1	71,85 $\pm$ 1,42	73,25 $\pm$ 2,31	74,13 $\pm$ 2,50	75,41 $\pm$ 2,23
K2	72,79 $\pm$ 1,36	258,23 $\pm$ 2,95	270,72 $\pm$ 3,35	272,09 $\pm$ 3,23
P1	73,57 $\pm$ 1,03	259,32 $\pm$ 2,81	269,48 $\pm$ 5,13	115,87 $\pm$ 5,11
P2	71,90 $\pm$ 1,37	258,08 $\pm$ 3,19	267,91 $\pm$ 5,18	98,27 $\pm$ 4,68

**Keterangan :**

K1 : Kelompok kontrol N tanpa propolis

K2 : Kelompok DM tanpa propolis

P1 : Kelompok DM + propolis 100 mg/kgBB

P2 : Kelompok DM + propolis 200 mg/kgBB

H- : 1 hari sebelum induksi STZ dan NA

H0 : 3 hari paska induksi STZ + NA(status diabetik)

H14 : 14 hari setelah status diabetik

H28 : 14 hari setelah pemberian propolis

Std Error (H- : 0,697; H0 : 1,514; H14 : 2,245; H28 : 2,127)



Gambar 4.1 Grafik rerata Kadar GDP Berdasar Waktu pada Masing-masing Kelompok

Mulai saat H- hingga H28, kadar GDP pada K1 tetap stabil normal, K2 meningkat dan tetap tinggi (>250 mg/dL), sedangkan pada P1 dan P2 meningkat kemudian menurun secara bertahap hingga kadar GDP <250 mg/dL.

**Keterangan :**

K1 : Kelompok kontrol N tanpa propolis

K2 : Kelompok DM tanpa propolis

P1 : Kelompok DM + propolis 100 mg/kgBB

P2 : Kelompok DM + propolis 200 mg/kgBB

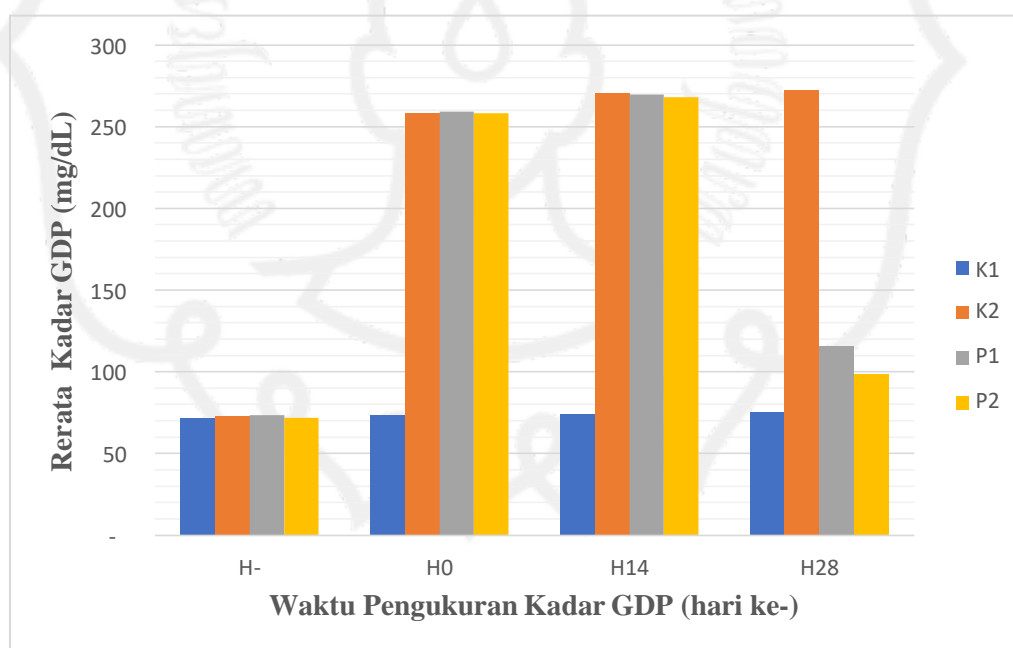
H- : 1 hari sebelum induksi STZ dan NA

H0 : 3 hari paska induksi STZ + NA(status diabetik)

H14 : 14 hari setelah status diabetik

H28 : 14 hari setelah pemberian propolis

Dari Tabel 4.1 dan Gambar 4.1 menunjukkan bahwa kadar gula darah puasa pada H-, H0, H14 dan H28 menunjukkan pola tertentu. Pada GDP kelompok K1 (kontrol N tanpa propolis) rerata GDP stabil di rentang nilai normal, pada kelompok K2 (kelompok DM tanpa propolis) rerata GDP di H-normal kemudian pada H0 dan H14 meningkat > 250 mg/dL dan tetap tinggi sampai H28. Pada kelompok P1 (kelompok DM + propolis 100 mg/kgBB) rerata GDP di H- normal kemudian pada H0 dan H14 meningkat setelah itu menurun setelah pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu selama 14 hari. Pada kelompok P2 (kelompok DM + propolis 200 mg/dL) pola seperti kelompok P1 dengan penurunan pada H28 lebih tajam daripada kelompok P1. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok P2 lebih rendah kadar GDP. Hal ini menunjukkan propolis dosis 200 mg/kgBB lebih berpotensi menurunkan kadar GDP dibanding dosis 100 mg/kgBB.



Gambar 4.2 Diagram Batang Perbandingan Rerata Kadar GDP berdasar Waktu pada Masing-masing Kelompok

Kadar GDP pada H- sama sama dalam rentang normal pada semua kelompok, pada H0 rerata kadar GDP kelompok K1 tetap normal, K2, P1 dan P2 meningkat > 250 mg/dL, pada H14 kadar GDP kelompok K2, P1 dan P2 masih tetap tinggi seperti kondisi pada H0 sementara kelompok K1 stabil normal, kemudian pada

H28 kadar GDP kelompok K1 masih tetap normal, kelompok K2 tetap tinggi, kelompok P1 dan P2 menurun dengan pemberian propolis.

**Keterangan :**

K1 : Kelompok kontrol N tanpa propolis

K2 : Kelompok DM tanpa propolis

P1 : Kelompok DM + propolis 100 mg/kgBB

P2 : Kelompok DM + propolis 200 mg/kgBB

H- : 1 hari sebelum induksi STZ dan NA

H0 : 3 hari paska induksi STZ + NA(status diabetik)

H14 : 14 hari setelah status diabetik

H28 : 14 hari setelah pemberian propolis

Gambar 4.2 menunjukkan bahwa pada waktu H- (sebelum induksi STZ dan NA), rerata kadar GDP tikus putih pada semua kelompok masih dalam batas normal. Menurut Wang et al. (2010), kadar GDP tikus putih dalam keadaan normal berkisar antara 47,52 - 94,68 mg/dL. Pada waktu H0 (3 hari post induksi STZ dan NA), kelompok K1 rerata kadar GDP masih dalam batas normal, sementara itu kelompok K2, P1 dan P2 tikus dalam kondisi status diabetik dengan rerata kadar GDP meningkat menjadi  $> 250$  mg/dL, pada H14 kadar GDP kelompok K2, P1 dan P2 masih tetap tinggi sama dengan kondisi dengan H0 sedang kelompok K1 tetap rendah, pada H28 kadar GDP kelompok K1 masih tetap normal, kelompok K2 tetap tinggi, kelompok P1 dan P2 menurun dengan pemberian propolis dan kelompok P2 menunjukkan penurunan yang lebih dibanding kelompok P1. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dapat menurunkan kadar GDP pada tikus model diabetik dan dosis 200 mg/kgBB menunjukkan lebih efektif dibanding dosis 100 mg/kgBB.

Hasil uji normalitas data kadar GDP menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan  $p = 0,963$  berarti data berdistribusi normal, maka uji variasi atau beda beberapa rata-rata dapat menggunakan uji statistik parametrik Anova. Untuk melihat perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dilanjutkan uji Post-Hoc LSD.

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel kadar GDP masing masing kelompok pada H0 dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel pada H0 dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan 4.3.

Tabel 4.2 Perbedaan Rata-rata Variabel Kadar GDP (mg/dL) pada H0 (3 hari post induksi STZ dan NA) Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Mean±SD	p
K1	7	73,25±2,31	
K2	7	258,23±2,95	0,001*
P1	7	259,32±2,81	
P2	7	258,08±3,19	

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; Std Error 1,514; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Tabel 4.3 Perbandingan Dua Rata-rata Variabel Kadar GDP (mg/dL) pada H0 (3 hari post induksi STZ dan NA) antar Kelompok Sampel

Perbandingan	Mean	Beda Mean	IK95%		p
			Minimum	Maksimum	
K1 vs K2	73,25 vs 258,23	-184,99	-188,11	-181,86	0,001*
K1 vs P1	73,25 vs 259,32	-186,08	-189,20	-182,95	0,001*
K1 vs P2	73,25 vs 258,08	-184,83	-187,96	-181,71	0,001*
K2 vs P1	258,23 vs 259,32	-1,09	-4,21	2,04	0,479
K2 vs P2	258,23 vs 258,08	0,15	-2,97	3,28	0,920
P1 vs P2	259,32 vs 258,08	1,24	-1,88	4,36	0,419

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis , P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+propolis 200 mg/kgBB; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Uji Anova pada H0 menunjukkan bahwa hasil uji beda rata-rata kadar GDP menunjukkan perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok sampel ( $p= 0,001$ ) dan setelah dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD, hasil menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p =0,001$ ) hanya pada kelompok K1 vs K2, K1 vs P1 dan K1 vs P2. Kadar GDP pada kelompok K1 mempunyai rata-rata lebih rendah secara signifikan ( $p= 0,001$ ) dibanding kelompok K2, P1 dan P2. Sedangkan perbandingan beda rata-rata antar kelompok K2 vs P1, K2 vs P2 dan P1 vs P2 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,479$ ,  $p=0,920$ , dan  $p=0,419$ ) artinya bahwa kadar GDP kelompok K2, P1 dan P2 sama sama tinggi ( $> 250$  mg/dL) .

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel kadar GDP masing masing kelompok pada H14 dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel pada H14 dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan 4.5.

Tabel 4.4 Perbedaan Rata-rata Variabel Kadar GDP (mg/dL) pada H14 (14 hari setelah status diabetik) Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Mean±SD	p
K1	7	74,13± 2,50	0,001*
K2	7	270,72±3,35	
P1	7	269,48±5,13	
P2	7	267,91±5,18	

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis , P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; Std Error 2,245; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Tabel 4.5 Perbandingan Dua Rata-rata Variabel Kadar GDP (mg/dL) pada H14 (14 hari setelah diabetik) Antar Kelompok Sampel

Perbandingan	Mean	Beda Mean	IK95%		P
			Minimum	Maksimum	
K1 vs K2	74,13 vs 270,72	-196,59	-201,22	-191,96	0,001*
K1 vs P1	74,13 vs 269,48	-195,38	-199,98	-190,71	0,001*
K1 vs P2	74,13 vs 267,91	-193,78	-198,41	189,14	0,001*
K2 vs P1	270,72 vs 269,48	-1,24	-3,39	5,88	0,584
K2 vs P2	270,72 vs 267,91	2,81	-1,82	7,45	0,222
P1 vs P2	269,48 vs 267,91	1,57	-3,06	6,20	0,491

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis , P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Uji Anova pada H14 sama dengan kondisi H0 menunjukkan bahwa hasil uji beda rata-rata kadar GDP menunjukkan perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok sampel ( $p = 0,001$ ) dan setelah dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD, hasil menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,001$ ) pada kelompok K1 vs K2, K1 vs P1 dan K1 vs P2. Kadar GDP pada kelompok K1 mempunyai rata-rata lebih rendah secara signifikan dibanding kelompok K2, P1 dan P2. Sedangkan antar kelompok K2 vs P1, K2 vs P2, dan P1vs P2 tidak



menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,584$ ,  $p=0,222$ , dan  $p=0,491$ ) artinya bahwa kadar GDP kelompok K2, P1 dan P2 masih tetap tinggi ( $>250$  mg/dL).

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel kadar GDP masing masing kelompok pada H28 dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel pada H28 dapat dilihat pada Tabel 4.6 dan 4.7.

Tabel 4.6 Perbedaan Rata-rata Variabel Kadar GDP (mg/dL) pada H28 (14 hari setelah pemberian propolis) Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Mean±SD	p
K1	7	75,41±2,23	
K2	7	272,09±3,23	0,001*
P1	7	115,87±5,11	
P2	7	98,27±4,68	

**Keterangan** : K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; Std error : 2,127; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Tabel 4.7 Perbandingan Dua Rata-rata variabel Kadar GDP (mg/dL) pada H28 (14 hari setelah pemberian propolis) Antar Kelompok Sampel

Perbandingan	Mean	Beda Mean	IK95%		p
			Minimum	Maksimum	
K1 vs K2	75,41 vs 272,09	-196,69	-201,08	-192,29	0,001*
K1 vs P1	75,41 vs 115,87	-40,46	-44,85	-36,07	0,001*
K1 vs P2	75,41 vs 98,27	-22,86	-27,25	-18,47	0,001*
K2 vs P1	272,09 vs 115,87	156,23	151,83	160,62	0,001*
K2 vs P2	272,09 vs 98,27	173,83	169,44	178,22	0,001*
P1 vs P2	115,87 vs 98,27	17,60	13,21	21,99	0,001*

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; Std error : 2,127; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Uji Anova pada H28 menunjukkan bahwa hasil uji beda rata-rata kadar GDP menunjukkan perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok sampel ( $p=0,001$ ) dan setelah dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD, hasil juga menunjukkan perbedaan yang signifikan untuk semua antar kelompok baik K1 vs K2, K1 vs P1, K1 vs P2, K2 vs P1, K2 vs P2, dan P1 vs P2. Rerata kadar GDP pada kelompok K2 mempunyai rata-rata lebih tinggi (meningkat) secara signifikan ( $p=0,001$ ) dibanding kelompok K1 dan setelah diberi perlakuan dengan ekstrak etanol propolis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB, kadar GDP pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan penurunan (lebih rendah) yang signifikan ( $p = 0,001$ ) dibanding K2. Hal ini menunjukkan bahwa propolis dosis 100 mg/kgBB maupun 200 mg/kgBB mampu secara signifikan menurunkan GDP pada tikus model diabetik.

## 2. Kadar MDA Serum

Hasil uji normalitas data kadar MDA serum menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan  $p=0,389$  berarti data berdistribusi normal, maka uji variasi atau beda beberapa rata-rata dapat menggunakan uji statistik parametrik Anova.

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel kadar MDA serum masing masing kelompok dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dapat dilihat pada Tabel 4.8 dan 4.9.

Tabel 4.8 Perbedaan Rata-rata Variabel Kadar MDA Serum (nmo/dL) Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Mean±SD	p
K1	7	1,627±0,286	0,001*
K2	7	9,886±0,486	
P1	7	4,886±0,495	
P2	7	3,539±0,310	

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; Std error : 0,202; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Tabel 4.9 Perbandingan Dua Rata-rata Variabel Kadar MDA Serum (nmol/dL) Antar Kelompok Sampel

Perbandingan	Mean	Beda Mean	IK95%		P
			Minimum	Maksimum	
K1 vs K2	1,6271 vs 9,886	-8,259	-8,706	-7,811	0,001*
K1 vs P1	1,6271 vs 4,886	-3,259	-3,706	-2,811	0,001*
K1 vs P2	1,6271 vs 3,539	-1,912	-2,359	-1,464	0,001*
K2 vs P1	9,886 vs 4,886	5,000	4,553	5,447	0,001*
K2 vs P2	9,886 vs 3,539	6,347	5,899	6,794	0,001*
P1 vs P2	4,886 vs 3,539	1,347	0,899	1,794	0,001*

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; Std error : 0,217; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Uji Anova menunjukkan bahwa hasil uji beda rata-rata kadar MDA serum menunjukkan perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok sampel ( $p=0,001$ ) dan setelah dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD, hasil juga menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok sampel ( $p = 0,001$ ). Kadar MDA serum pada kelompok K2 mempunyai rata-rata lebih tinggi (meningkat) secara signifikan ( $p = 0,001$ ) dibanding kelompok K1 dan setelah diberi perlakuan dengan ekstrak etanol propolis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB, kadar MDA serum pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan penurunan (lebih rendah) yang signifikan ( $p = 0,001$ ) dibanding K2.

Hasil ini menunjukkan, hipotesis yang menyatakan “Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dapat menurunkan kadar MDA serum pada tikus model diabetik” dapat teruji secara signifikan. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak etanol propolis (100 mg/kgBB menjadi 200 mg/kgBB) secara signifikan menurunkan kadar MDA serum ( $4,886\pm 0,495$  nmol/mL vs  $3,539\pm 0,310$  nmol/mL;  $p = 0,001$ ).

### **3. Ekspresi TGF- $\beta$ Saraf Optik**

Pada penelitian ini ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik pada tikus model diabetik berdasar kategorik ekspresi yaitu 0 = tidak ada sel coklat, 1 = 1-30%, 2 = 31-70%, 3 = > 70%. Hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan  $p = 0,000$  data tidak terdistribusi normal maka uji beda menggunakan uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney.

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik masing masing kelompok dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dapat dilihat pada Tabel 4.10 dan 4.11.

Tabel 4.10 Perbedaan Rata-rata Variabel Tingkat Ekspresi TGF- $\beta$  Saraf Optik Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Median (minimum-maksimum)	P
K1	7	1 (1-1)	0,002*
K2	7	3 (2-3)	
P1	7	2 (1-3)	
P2	7	2 (1-3)	

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; tingkat ekspresi 1 = 1-30%, 2 = 31-70%, 3 = > 70%, \*) signifikan pada derajat signifikansi 5 persen.

Hasil analisis uji beda rata-rata tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik di atas menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,002$ ) artinya rata-rata ekspresi TGF- $\beta$  kelompok K1, K2, P1, dan P2 berbeda signifikan. Jika dibanding ekspresi rata-rata tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik pada kelompok K1, rata-rata kelompok K2 menunjukkan kecenderungan peningkatan (lebih tinggi), dan setelah pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB (kelompok P1) dan dosis 200 mg/kgBB (kelompok P2) maka rata-rata tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik cenderung menurun (lebih rendah). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB maupun dosis 200 mg/kgBB dapat menekan tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik.

Hasil perbandingan dua rata-rata ekspresi TGF- $\beta$  antar kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.11.

Tabel 4.11 Perbandingan Dua Rata-rata Variabel Tingkat Ekspresi TGF- $\beta$  Saraf Optik Antar Kelompok Sampel

Perbandingan	Mean	Beda Mean Rank	p
K1 vs K2	6,00 vs 21,07	-15,07	0,001**
K1 vs P1	6,00 vs 17,36	-11,36	0,003*
K1 vs P2	6,00 vs 13,57	-7,57	0,025*
K2 vs P1	21,07 vs 17,36	3,71	0,244
K2 vs P2	21,07 vs 13,57	7,5	0,061
P1 vs P2	17,36 vs 13,57	3,79	0,343

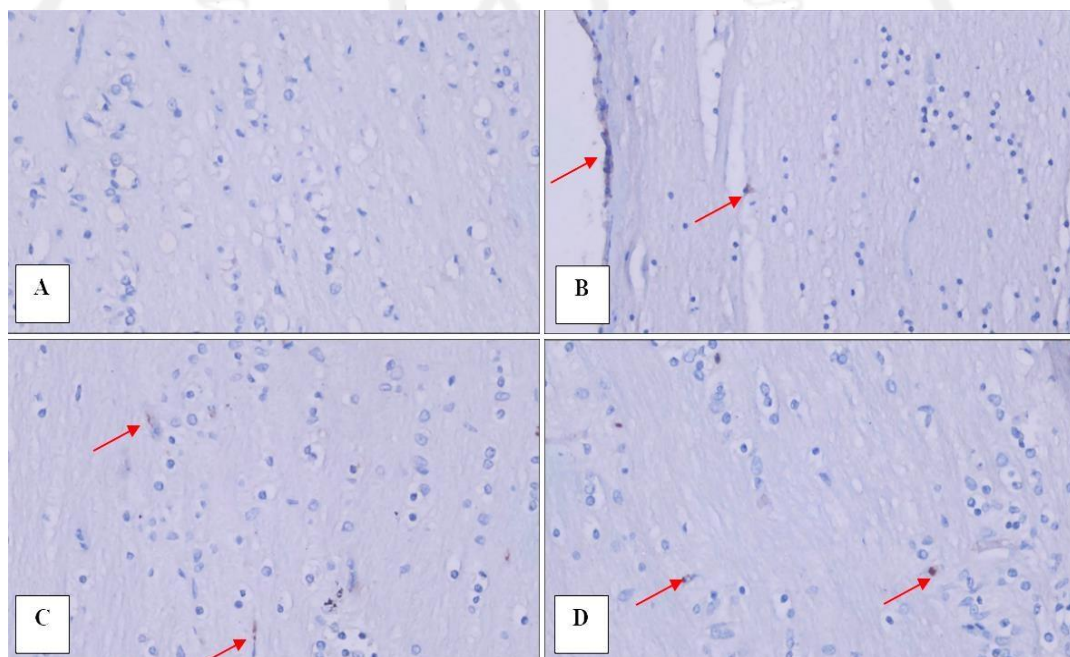
**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; \*\*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen. \*) signifikan pada derajat signifikansi 5 persen.

Hasil analisis uji beda rata-rata tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik antar 2 kelompok sampel menggunakan Mann-Whitney menunjukkan bahwa rata-rata tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik antar kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan hanya pada kelompok K1 vs K2 ( $p=0,001$ ), K1 vs P1 ( $p=0,003$ ), dan K1 vs P2 ( $p=0,025$ ). Tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik pada kelompok K1 mempunyai rata-rata lebih rendah secara signifikan dengan kelompok K2 dan kelompok P1 dan P2. Sedangkan tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik antar kelompok K2 vs P1, K2 vs P2, dan P1 vs P2 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,244$ ),  $p=0,061$  dan  $p=0,343$ ) walaupun terdapat kecenderungan menurun.

Tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik pada kelompok K2 mempunyai kecenderungan peningkatan (lebih tinggi) yang signifikan dibanding kelompok

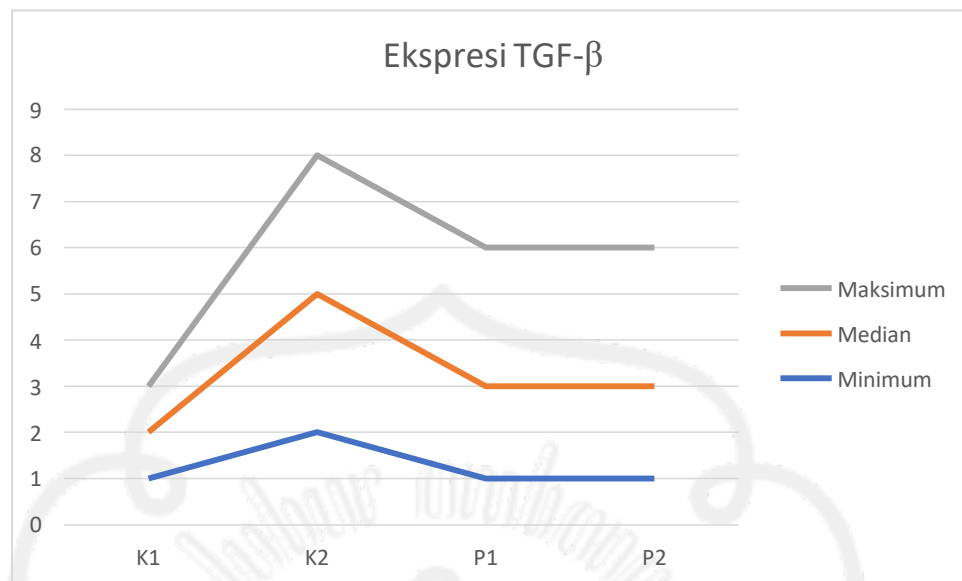
K1. Setelah pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB mempunyai kecenderungan menurun (lebih rendah) tetapi tidak signifikan baik pada kelompok P1 maupun P2. Analisis rata-rata tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik pada kelompok P1 dan P2 juga tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,343$ ).

Hasil ini menunjukkan bahwa hipotesis yang menyatakan “Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dapat menurunkan ekspresi TGF- $\beta$  pada tikus model diabetik” tidak teruji secara signifikan walaupun sudah terdapat kecenderungan menurun. Hal ini kemungkinan karena TGF- $\beta$  bersifat kronik maka diperlukan waktu pengamatan yang lebih lama dan dosis propolis yang lebih besar. Tingkat ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik pada kelompok P1 dan P2 mengalami penurunan tetapi tidak signifikan dan perbedaan pemberian dosis propolis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p = 0,343$ ).



Gambar 4. 3 Perbandingan Sebaran Protein TGF- $\beta$  Saraf Optik yang diekspresikan Sel Masing-masing Kelompok pada Pembesaran 400x

**Keterangan :** Ekspresi protein TGF- $\beta$  di sel terlihat berwarna coklat. A : kelompok kontrol N tanpa propolis; B : kelompok DM tanpa propolis; C : kelompok DM + propolis 100 mg/kgBB; D : kelompok DM + propolis 200 mg/kgBB. (Pewarnaan imunohistokimia ; pembesaran 400x - Olympus CX31, Sigma HD microscope Digital Camera )



Gambar 4.4 Trend Analisis Ekspresi TGF- $\beta$  Saraf Optik

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis , P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB

#### 4. Kadar TGF- $\beta$ Serum

Hasil uji normalitas data kadar TGF- $\beta$  serum menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan  $p = 0,972$  berarti data berdistribusi normal, maka uji variasi atau beda beberapa rata-rata dapat menggunakan uji statistik parametrik Anova. Untuk melihat perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dilanjutkan uji Post-Hoc LSD.

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel kadar TGF- $\beta$  serum masing masing kelompok dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dapat dilihat pada Tabel 4.12 dan 4.13.



Tabel 4.12 Perbedaan Rata-rata Variabel Kadar TGF- $\beta$  serum (pg/mL) Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Mean $\pm$ SD	p
K1	7	6,887 $\pm$ 0,254	
K2	7	20,703 $\pm$ 0,330	0,001*
P1	7	12,553 $\pm$ 0,381	
P2	7	10,787 $\pm$ 0,312	

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+propolis 200 mg/kgBB; Str error : 0,172; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Tabel 4.13 Perbandingan Dua Rata-rata Variabel Kadar TGF- $\beta$  serum (pg/mL) Antar Kelompok Sampel

Perbandingan	Mean	Beda Mean	IK95%		P
			Minimum	Maksimum	
K1 vs K2	6,887 vs 20,703	-13,815	-14,172	-13,459	0,001*
K1 vs P1	6,887 vs 12,553	-5,665	-6,022	-5,309	0,001*
K1 vs P2	6,887 vs 10,787	-3,900	-4,256	-3,544	0,001*
K2 vs P1	20,703 vs 12,553	8,150	7,794	8,506	0,001*
K2 vs P2	20,703 vs 10,787	9,915	9,599	10,272	0,001*
P1 vs P2	12,553 vs 10,787	1,766	1,409	2,122	0,001*

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Uji Anova menunjukkan bahwa hasil uji beda rata-rata kadar TGF- $\beta$  serum menunjukkan perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok sampel ( $p=0,001$ ) dan setelah dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD, hasil juga

menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok sampel ( $p=0,001$ ). Kadar TGF- $\beta$  serum pada kelompok K2 mempunyai rata-rata lebih tinggi (meningkat) secara signifikan ( $p= 0,001$ ) dibanding kelompok K1 dan setelah diberi perlakuan dengan ekstrak etanol propolis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB , kadar TGF- $\beta$  serum pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan penurunan (lebih rendah) yang signifikan ( $p=0,001$ ) dibanding K2.

Hasil ini menunjukkan, hipotesis yang menyatakan “Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dapat menurunkan kadar TGF- $\beta$  serum pada tikus model diabetik” dapat teruji secara signifikan. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak etanol propolis (100 mg/kgBB menjadi 200 mg/kgBB) secara signifikan ( $p=0,001$ ) menurunkan kadar TGF- $\beta$  serum .

## 5. Kadar CRP Serum

Hasil uji normalitas data kadar CRP serum menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan  $p = 0,741$  berarti data berdistribusi normal, maka uji variasi atau beda beberapa rata-rata dapat menggunakan uji statistik parametrik Anova. Untuk melihat perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dilanjutkan uji Post-Hoc LSD.

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel kadar CRP serum masing masing kelompok dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dapat dilihat pada Tabel 4.14 dan 4.15.

Tabel 4.14 Perbedaan Rata-rata Variabel Kadar CRP serum (ng/dL) Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Mean $\pm$ SD	p
K1	7	3,0556 $\pm$ 0,089	0,001*
K2	7	18,030 $\pm$ 0,613	
P1	7	6,309 $\pm$ 0,424	
P2	7	4,547 $\pm$ 0,084	

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis , P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; Std error : 0,202; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Tabel 4.15 Perbandingan Dua Rata-rata Variabel Kadar CRP serum (ng/dL) Antar Kelompok Sampel

Perbandingan	Mean	Beda Mean	IK95%		p
			Minimum	Maksimum	
K1 vs K2	3,0556 vs 18,030	-14,9744	-15,391	-14,558	0,001*
K1 vs P1	3,0556 vs 6,309	-3,2534	-3,669	-2,836	0,001*
K1 vs P2	3,0556 vs 4,547	-1,4914	-1,908	-1,0747	0,001*
K2 vs P1	18,030 vs 6,309	11,721	11,305	12,138	0,001*
K2 vs P2	18,030 vs 4,547	13,483	13,066	13,899	0,001*
P1 vs P2	6,309 vs 4,547	1,762	1,345	2,178	0,001*

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis , P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+propolis 200 mg/kgBB; Std error : 0,202; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Uji Anova menunjukkan bahwa hasil uji beda rata-rata kadar CRP serum menunjukkan perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok sampel ( $p=0,001$ ) dan setelah dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD, hasil juga menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok sampel ( $p=0,001$ ). Kadar CRP serum pada kelompok K2 mempunyai rata-rata lebih tinggi (meningkat) secara signifikan ( $p=0,001$ ) dibanding kelompok K1 dan setelah diberi perlakuan dengan ekstrak etanol propolis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB ,

kadar CRP serum pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan penurunan (lebih rendah) yang signifikan ( $p=0,001$ ) dibanding K2.

Hasil ini menunjukkan, hipotesis yang menyatakan “Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dapat menurunkan kadar CRP serum pada tikus model diabetik” dapat teruji secara signifikan. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak etanol propolis (100 mg/kgBB menjadi 200 mg/kgBB) secara signifikan ( $p=0,001$ ) menurunkan kadar CRP ( $6,309\pm 0,424$  ng/mL vs  $4,547\pm 0,084$  ng/mL;  $p = 0,001$ ).

## 6. Ekspresi Caspase-3 Saraf Optik

Pada penelitian ini ekspresi Caspase-3 diambil dari jaringan saraf optik tikus model diabetik berdasar kategorik ekspresi yaitu 0 = tidak ada sel coklat, 1 = 1-30%, 2 = 31-70%, 3 = > 70%. Hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan  $p = 0,000$  berarti data tidak terdistribusi normal maka uji beda menggunakan uji Kruskal-Wallis. Uji ini digunakan untuk uji beda data tidak berpasangan, lebih dari 2 kelompok dan tidak berdistribusi normal.

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel tingkat ekspresi Caspase-3 saraf optik masing masing kelompok dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dapat dilihat pada Tabel 4.16 dan 4.17.

Tabel 4.16 Perbedaan Rata-rata Variabel Tingkat Ekspresi Caspase-3 Saraf Optik Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Median (minimum-maksimum)	p
K1	7	1 (1-1)	0,001*
K2	7	3 (2-3)	
P1	7	2 (2-3)	
P2	7	2 (1-3)	

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; tingkat ekspresi 1 = 1-30%, 2 = 31-70%, 3 = > 70%, \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Hasil analisis uji beda 4 rata-rata di atas menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,001$ ) tingkat ekspresi Caspase-3 saraf optik antara kelompok K1, K2, P1 dan P2. Jika dibanding tingkat ekspresi rata-rata Caspase-3 saraf optik pada kelompok K1, rata-rata kelompok K2 menunjukkan kecenderungan peningkatan (lebih tinggi), dan setelah pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB (kelompok P1) dan dosis 200 mg/kgBB (kelompok P2) maka rata-rata tingkat ekspresi Caspase-3 saraf optik cenderung menurun (lebih rendah). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB maupun dosis 200 mg/kgBB keduanya dapat menekan tingkat ekspresi Caspase-3 saraf optik.

Tabel 4.17 Perbandingan Dua Rata-rata Variabel Tingkat Ekspresi Caspase-3 Saraf Optik Antar Kelompok Sampel

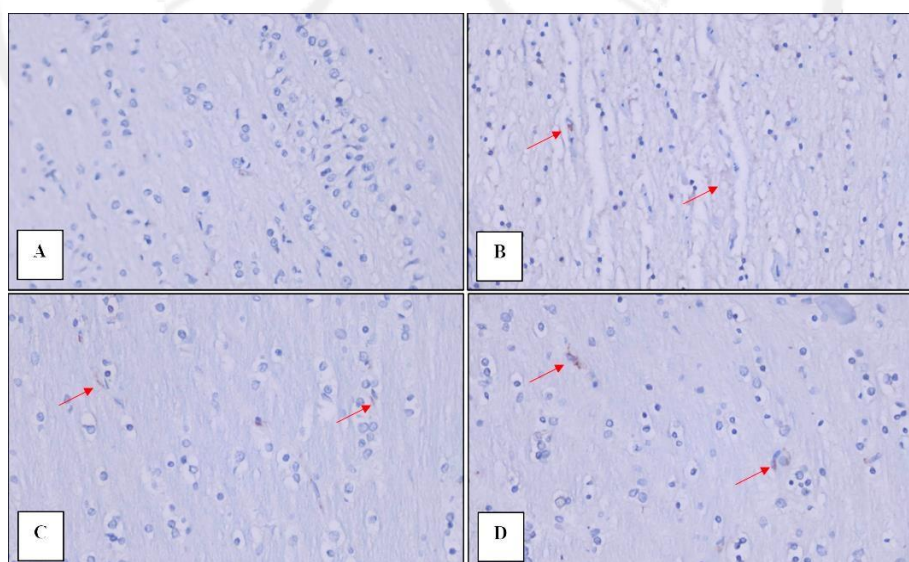
Perbandingan	Mean	Beda Mean Rank	P
K1 vs K2	5,50 vs 22,71	-17,21	0,001**
K1 vs P1	5,50 vs 17,57	-12,07	0,001**
K1 vs P2	5,50 vs 12,21	-6,71	0,024*
K2 vs P1	22,71 vs 17,57	5,14	0,037*
K2 vs P2	22,71 vs 12,21	10,5	0,008*
P1 vs P2	17,57 vs 12,21	5,36	0,116

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+propolis 200 mg/kgBB; \*\*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen. \*) signifikan pada derajat signifikansi 5 persen.

Hasil analisis uji beda rata-rata tingkat ekspresi Caspase-3 saraf optik antar 2 kelompok sampel menggunakan uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa rata-rata tingkat ekspresi Caspase-3 saraf optik antar kelompok K1 vs K2 menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,001$ ), begitu juga antara K1 vs P1

( $p=0,001$ ) dan K1 vs P2 ( $p=0,024$ ). Tingkat ekspresi Caspase-3 saraf optik pada kelompok K2 mempunyai kecenderungan peningkatan (lebih tinggi) yang signifikan dibanding kelompok K1, setelah itu menurun pada kelompok P1 dan P2. Setelah pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB mempunyai kecenderungan menurun (lebih rendah) secara signifikan baik pada kelompok P1 ( $p=0,037$ ) maupun P2 ( $p=0,008$ ). Analisis rata-rata tingkat ekspresi Caspase-3 saraf optik pada kelompok P1 dan P2 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,116$ ) artinya tidak ada pengaruh dosis ekstrak etanol propolis dalam menurunkan ekspresi Caspase-3 pada tikus model diabetik. Ekstrak etanol dosis 100 mg/kgBB sudah mampu menurunkan secara signifikan ekspresi Caspase-3 setara dengan dosis 200 mg/kgBB.

Hasil ini menunjukkan bahwa hipotesis yang menyatakan “Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dapat menurunkan kadar ekspresi Caspase-3 serum pada tikus model diabetik” dapat teruji secara signifikan. Perbedaan pemberian dosis propolis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,116$ ). Ekstrak etanol dosis 100 mg/kgBB sudah mampu menurunkan secara signifikan ekspresi Caspase-3 setara dengan dosis 200 mg/kgBB.



Gambar 4.5 Perbandingan Sebaran Protein Caspase-3 Saraf Optik yang diekspresikan Sel Masing-masing Kelompok pada Pembesaran 400x

**Keterangan** : Ekspresi protein Caspase-3 di sel terlihat berwarna coklat. A : kelompok kontrol N tanpa propolis; B : kelompok DM tanpa propolis; C : kelompok DM + propolis 100 mg/kgBB; D : kelompok DM + propolis 200 mg/kgBB. (Pewarnaan imunohistokimia ; pembesaran 400x - Olympus CX31, Sigma HD microscope Digital Camera ).

## 7. Kadar Caspase-3 Serum

Hasil uji normalitas data kadar Caspase-3 serum menggunakan uji Shapiro-Wilk menunjukkan  $p = 0,589$  berarti data berdistribusi normal, maka uji variasi atau beda beberapa rata-rata dapat menggunakan uji statistik parametrik Anova. Untuk melihat perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dilanjutkan uji Post-Hoc LSD.

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel kadar Caspase-3 serum masing masing kelompok dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dapat dilihat pada Tabel 4.18 dan 4.19.

Tabel 4.18 Perbedaan Rata-rata Variabel Kadar Caspase-3 Serum (ng/mL/Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Mean±SD	p
K1	7	1,511±0,488	0,001*
K2	7	7,296±0,115	
P1	7	3,930±0,286	
P2	7	2,884±0,139	

**Keterangan** : K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis , P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+propolis 200 mg/kgBB; Std error : 0,091; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Tabel 4.19 Perbandingan Dua Rata-rata Variabel Kadar Caspase-3 Serum (ng/mL) Antar Kelompok Sampel

Perbandingan	Mean	Beda Mean	Minimum	IK95%		P
					Maksimum	
K1 vs K2	1,511 vs 7,296	-5,7843	-5,973		-5,596	0,001*
K1 vs P1	1,511 vs 3,390	-2,4185	-2,607		-2,230	0,001*
K1 vs P2	1,511 vs 2,884	-1,3729	-1,561		-1,184	0,001*
K2 vs P1	7,296 vs 3,390	3,366	3,177		3,554	0,001*
K2 vs P2	7,296 vs 2,884	4,411	4,223		4,599	0,001*
P1 vs P2	3,390 vs 2,884	1,046	0,857		1,234	0,001*

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+propolis 200 mg/kgBB; Std error : 0,091; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Uji Anova menunjukkan bahwa hasil uji beda rata-rata kadar Caspase-3 serum menunjukkan perbedaan yang signifikan pada seluruh kelompok sampel ( $p=0,001$  dan setelah dilanjutkan dengan uji Post-Hoc LSD, hasil juga menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompok sampel ( $p=0,001$ ). Kadar Caspase-3 serum pada kelompok K2 mempunyai rata-rata lebih tinggi (meningkat) secara signifikan ( $p=0,001$ ) dibanding kelompok K1 dan setelah diberi perlakuan dengan ekstrak etanol propolis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB, kadar Caspase-3 serum pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan penurunan (lebih rendah) yang signifikan ( $p=0,001$ ) dibanding K2.



Hasil ini menunjukkan, hipotesis yang menyatakan “Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dapat menurunkan kadar Caspase-3 serum pada tikus model diabetik” dapat teruji secara signifikan. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak etanol propolis (100 mg/kgBB menjadi 200 mg/kgBB) secara signifikan ( $p=0,001$ ) menurunkan kadar Caspase-3.

### 8. Nekrosis Saraf Optik

Pada penelitian ini nekrosis saraf optik pada tikus model diabetik berdasar kategorik ekspresi yaitu 0 = tidak ada nekrosis, 1 = nekrosis di 1 tempat, 2 = nekrosis di beberapa tempat, 3= nekrosis di semua tempat. Hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan  $p = 0,000$  data tidak terdistribusi normal maka uji beda menggunakan uji Kruskal-Wallis .

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel nekrosis saraf optik masing masing kelompok dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dapat dilihat pada Tabel 4.20 dan 4.21.

Tabel 4.20 Perbedaan Rata-rata Variabel Tingkat Nekrosis Saraf Optik Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Median (minimum-maksimum)	p
K1	7	1 (0-1)	0,001*
K2	7	3 (2-3)	
P1	7	2 (0-2)	
P2	7	2 (0-2)	

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis , P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; tingkat ekspresi 0= tidak ada nekrosis, 1 = nekrosis di 1 tempat, 2 = nekrosis di beberapa tempat, , 3 = nekrosis di semua tempat. \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Hasil analisis uji beda rata-rata tingkat nekrosis saraf optik di atas menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,001$ ) artinya rata-rata tingkat nekrosis saraf optik kelompok K1, K2, P1 dan P2 berbeda signifikan. Jika dibanding rata-rata tingkat nekrosis saraf optik pada kelompok K1, rata-rata kelompok K2 menunjukkan kecenderungan peningkatan (lebih tinggi), dan setelah pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB (kelompok P1) dan dosis 200 mg/kgBB (kelompok P2) maka rata-rata tingkat nekrosis saraf optik cenderung menurun (lebih rendah). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB maupun dosis 200 mg/kgBB dapat menekan nekrosis saraf optik.

Hasil perbandingan dua rata-rata variabel tingkat nekrosis saraf optik antar kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.21.

Tabel 4.21 Perbandingan Dua Rata-rata Variabel Tingkat Nekrosis Saraf Optik Antar Kelompok Sampel

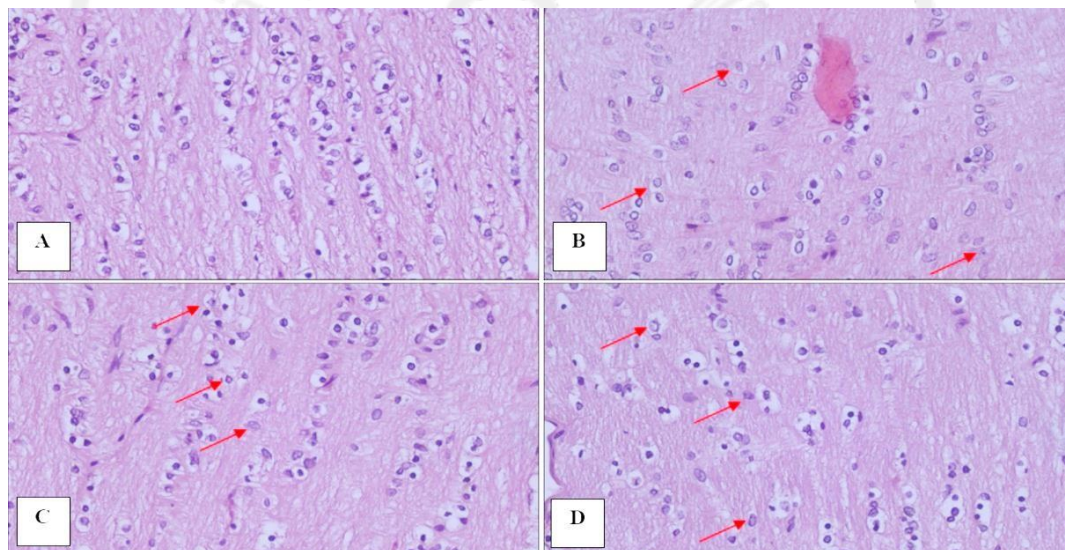
Perbandingan	Mean	Beda Mean Rank	p
K1 vs K2	6,79 vs 22,64	-15,85	0,001**
K1 vs P1	6,79 vs 13,21	-6,42	0,115
K1 vs P2	6,79 vs 15,36	-8,57	0,012*
K2 vs P1	22,64 vs 13,21	9,43	0,015*
K2 vs P2	22,64 vs 15,36	7,28	0,019*
P1 vs P2	13,21 vs 15,36	-2,15	0,530

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB;\*\*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen. \*) signifikan pada derajat signifikansi 5 persen.

Hasil analisis uji beda rata-rata tingkat nekrosis saraf optik antar 2 kelompok sampel menggunakan Mann-Whitney menunjukkan bahwa rata-rata tingkat nekrosis saraf optik antara kelompok K1 dengan kelompok K2 menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,001$ ). Hal ini menunjukkan bahwa tingkat nekrosis saraf optik pada kelompok K2 mempunyai kecenderungan peningkatan (lebih tinggi) yang signifikan dibanding kelompok K1. Setelah pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB kecenderungan

menurun (lebih rendah) secara signifikan baik pada kelompok P1 ( $p=0,015$ ) maupun P2 ( $p=0,019$ ). Analisis rata-rata tingkat nekrosis saraf optik pada kelompok P1 dan P2 tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,530$ ) artinya tidak ada pengaruh dosis propolis dalam memperbaiki tingkat nekrosis saraf optik. Propolis dosis 100 mg/kgBB sudah mampu memperbaiki secara signifikan tingkat nekrosis saraf optik setara dengan dosis 200 mg/kgBB pada tikus model diabetik.

Hasil ini menunjukkan bahwa hipotesis yang menyatakan “Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dapat memperbaiki nekrosis saraf optik pada tikus model diabetik” dapat teruji secara signifikan. Perbedaan pemberian dosis propolis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ( $p=0,530$ ).



Gambar 4.6 Perbandingan Sebaran Nekrosis saraf optik yang diekspresi Sel Masing-masing Kelompok pada Pembesaran 400x

**Keterangan** : Ekspresi sel nekrosis tampak sel membesar, membrane plasma rusak, inti sel piknotik, inti karioreksis, inti kariolisis. A : kelompok kontrol N tanpa propolis; B : kelompok DM tanpa propolis; C : kelompok DM + propolis 100 mg/kgBB; D : kelompok DM + propolis 200 mg/kgBB. (Pewarnaan hematoxilin eosin ; pembesaran 400x - Olympus CX31, Sigma HD microscope Digital Camera )

## 9. Penipisan *Retinal Nerve Fiber Layer* (RNFL)

Pada penelitian ini ketebalan RNFL dihitung pada lapisan RNFL dari tepi retina bagian dalam sampai ke RGC. Hasil uji normalitas data ketebalan RNFL menggunakan uji Shapiro-Wilk  $p = 0,593$  berarti data berdistribusi normal, maka uji variasi atau beda beberapa rata-rata dapat menggunakan uji statistik parametrik Anova. Untuk melihat perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dilanjutkan uji Post-Hoc LSD.

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel ketebalan RNFL masing masing kelompok dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dapat dilihat pada Tabel 4.22 dan 4.23.

Tabel 4.22 Perbedaan Rata-rata Variabel Ketebalan RNFL (pixel) Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Mean±SD	p
K1	7	125,667±37,283	0,001*
K2	7	41,010±7,342	
P1	7	80,330±17,378	
P2	7	125,337±21,381	

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; Std error : 12,544; \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Hasil analisis uji beda rata-rata ketebalan RNFL di atas menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p = 0,001$ ) artinya rata-rata ketebalan RNFL kelompok K1, K2, P1 dan P2 berbeda signifikan. Jika dibanding rata-rata ketebalan RNFL pada kelompok K1, rata-rata kelompok K2 menunjukkan kecenderungan menurun (lebih rendah/lebih tipis). Setelah pemberian propolis

dosis 100 mg/kgBB (kelompok P1) dan dosis 200 mg/kgBB (kelompok P2) maka rata-rata ketebalan cenderung meningkat (lebih tinggi). Hal ini menunjukkan bahwa pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB maupun dosis 200 mg/kgBB dapat memperbaiki penipisan RNFL.

Hasil perbandingan rata-rata variabel ketebalan RNFL antar kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.23.

Tabel 4.23 Perbandingan Dua Rata-rata Ketebalan RNFL Antar Kelompok Sampel

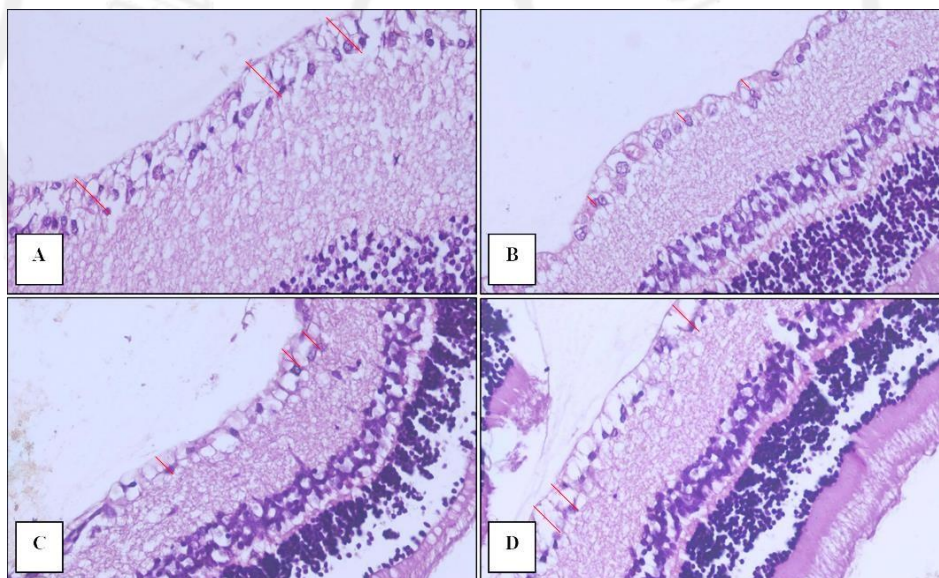
Perbandingan	Mean	Beda Mean	IK95%		P
			Minimum	Maksimum	
K1 vs K2	125,667 vs 41,010	84,657	58,767	110,548	0,001**
K1 vs P1	125,667 vs 80,330	45,337	19,447	71,228	0,001**
K1 vs P2	125,667 vs 125,337	0,330	25,560	26,2203	0,979
K2 vs P1	41,010 vs 80,330	-39,320	-65,210	-13,429	0,004*
K2 vs P2	41,010 vs 125,337	-84,327	-110,218	-58,437	0,001**
P1 vs P2	80,330 vs 125,337	-45,007	-70,898	-19,117	0,001**

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis, P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+propolis 200 mg/kgBB; \*\*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen. \*) signifikan pada derajat signifikansi 5 persen.

Hasil analisis uji beda dua rata-rata ketebalan RNFL antar 2 kelompok sampel menggunakan Post-Hoc LSD menunjukkan bahwa rata-rata ketebalan RNFL antara kelompok K1 dengan kelompok K2 menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,001$ ). Hal ini menunjukkan bahwa ketebalan RNFL pada kelompok K2 mempunyai kecenderungan menipis (menurun / lebih rendah )

yang signifikan dibanding kelompok K1. Setelah pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB dan dosis 200 mg/kgBB ketebalan RNFL meningkat (lebih tinggi) dengan signifikan baik pada kelompok P1 ( $p=0,004$ ) maupun kelompok P2 ( $p=0,001$ ). Analisis rata-rata ketebalan RNFL pada kelompok P1 dan P2 menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,001$ ) artinya ada pengaruh dosis dalam memperbaiki penipisan RNFL. Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 200 mg/kgBB secara signifikan ( $p=0,001$ ) memperbaiki penipisan RNFL.

Hasil ini menunjukkan bahwa hipotesis yang menyatakan “Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dapat memperbaiki penipisan RNFL pada tikus model diabetik” dapat teruji secara signifikan. Perbedaan pemberian dosis propolis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,001$ ).



Gambar 4.7 Perbandingan Ketebalan RNFL Masing-masing Kelompok pada Pembesaran 400x

**Keterangan :** Ketebalan RNFL diukur dari tepi dalam retina sampai lapisan RGC, A : kelompok kontrol N tanpa propolis; B : kelompok DM tanpa propolis; C : kelompok DM + propolis 100 mg/kgBB; D : kelompok DM + propolis 200 mg/kgBB. (Pewarnaan hematoxilin eosin ; pembesaran 400x - Olympus CX31, Sigma HD microscope Digital Camera ).

## 10. Apoptosis Retinal Ganglions Cells (RGC)

Apoptosis RGC pada penelitian ini dilihat dengan pewarnaan imunohistokimia dengan melihat ekspresi Caspase-3 pada RGC yang ditandai dengan adanya sel coklat berdasar kategorik ekspresi yaitu 0 = tidak ada sel coklat, 1 = 1-30%, 2 = 31-70%, 3 = > 70%. Hasil uji Shapiro-Wilk menunjukkan  $p = 0,000$  data tidak terdistribusi normal maka uji beda menggunakan uji Kruskal-Wallis .

Untuk menunjukkan perbedaan rata-rata variabel apoptosis RGC masing masing kelompok dan perbandingan dua rata-rata antar kelompok sampel dapat dilihat pada Tabel 4.24 dan 4.25.

Tabel 4.24 Perbedaan Rata-rata Variabel Tingkat Apoptosis RGC (Ekspresi Caspase-3 pada RGC) Menurut Kelompok Sampel

Kelompok	N	Median (minimum-maksimum)	P
K1	7	1 (1-1)	0,001*
K2	7	3 (3-3)	
P1	7	3 (2-3)	
P2	7	2 (2-3)	

**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis , P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; tingkat ekspresi 1 = 1-30%, 2 = 31-70%, 3 = > 70%, \*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen.

Hasil analisis uji beda rata-rata di atas menunjukkan perbedaan yang signifikan apoptosis RGC ( $p=0,001$ ) artinya rata-rata apoptosis RGC kelompok K1, K2, P1 dan P2 berbeda signifikan. Jika dibanding ekspresi rata-rata apoptosis RGC pada kelompok K1, rata-rata kelompok K2 menunjukkan kecenderungan

peningkatan (lebih tinggi ). Setelah pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB (kelompok P1) dan dosis 200 mg/kgBB (kelompok P2) maka rata-rata apoptosis RGC cenderung menurun (lebih rendah ).

Hasil perbandingan dua rata-rata apoptosis RGC antar kelompok dapat dilihat pada Tabel 4.25.

Tabel 4.25 Perbandingan Dua Rata-rata Variabel Tingkat Apoptosis RGC (Ekspresi Caspase-3 pada RGC) Antar Kelompok Sampel

Perbandingan	Mean	Beda Mean Rank	P
K1 vs K2	4 vs 22,00	-18	0,001**
K1 vs P1	4 vs 17,5	-13,5	0,001**
K1 vs P2	4 vs 14,5	-10,5	0,001**
K2 vs P1	22 vs 17,5	4,5	0,060
K2 vs P2	22 vs 14,5	7,5	0,007*
P1 vs P2	17,5 vs 14,5	3	0,298

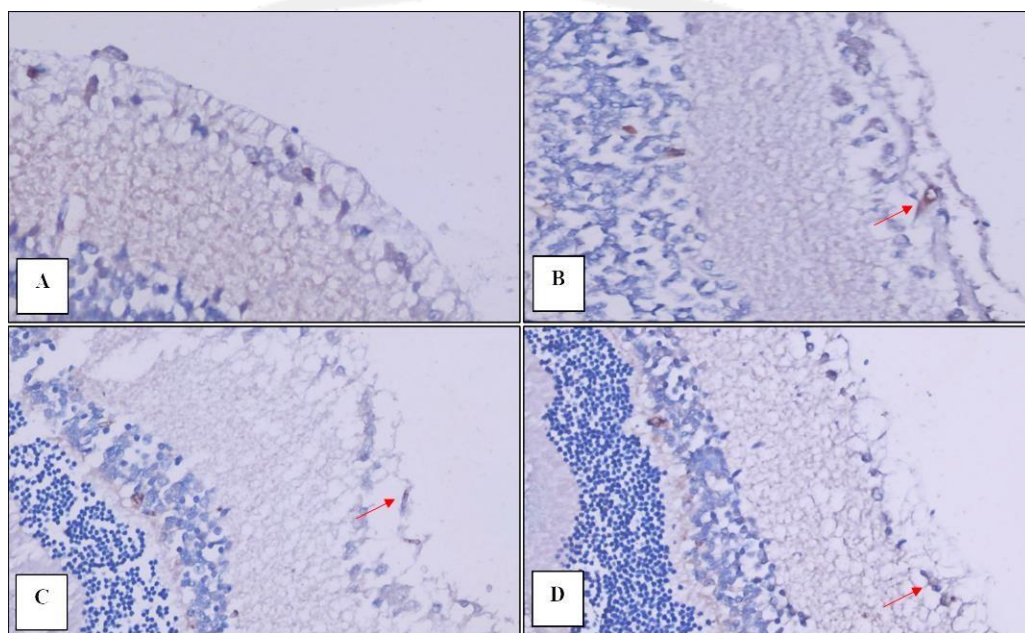
**Keterangan :** K1 = kelompok kontrol N tanpa propolis, K2 = kelompok DM tanpa propolis , P1 = Kelompok DM+propolis 100 mg/kgBB, P2 = Kelompok DM+ propolis 200 mg/kgBB; \*\*) signifikan pada derajat signifikansi 1 persen. \*) signifikan pada derajat signifikansi 5 persen.

Hasil analisis uji beda rata-rata apoptosis RGC antar 2 kelompok sampel menggunakan Mann-Whitney menunjukkan bahwa rata-rata apoptosis RGC antara kelompok K1 dengan kelompok K2 menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p= 0,001$ ). Hal ini menunjukkan bahwa apoptosis RGC pada kelompok K2 mempunyai kecenderungan meningkat (lebih tinggi) yang signifikan dibanding kelompok K1. Setelah pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB apoptosis RGC menurun(lebih rendah) tetapi hanya pada kelompok P2



yang menunjukkan signifikan ( $p=0,007$ ) sedangkan pada kelompok P1 tidak menunjukkan signifikan ( $p=0,060$ ).

Hasil ini menunjukkan bahwa hipotesis yang menyatakan “Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dapat memperbaiki apoptosis RGC pada tikus model diabetik” dapat teruji secara signifikan hanya pada dosis 200 mg/kgBB. Sedangkan pada pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB tidak menunjukkan signifikansi.



Gambar 4. 8 Perbandingan Sebaran Apoptosis RGC (Ekspresi Caspase-3 pada RGC) yang diekspresikan Sel Masing-masing Kelompok pada Pembesaran 400x

**Keterangan** :Ekspresi Caspase 3 RGC (Apoptosis RGC) di sel tampak berwarna coklat, A : kelompok kontrol N tanpa propolis; B : kelompok DM tanpa propolis; C : kelompok DM + propolis 100 mg/kgBB; D : kelompok DM + propolis 200 mg/kgBB. (Pewarnaan imunohistokimia; pembesaran 400x - Olympus CX31, Sigma HD microscope Digital Camera )

Data di atas menunjukkan bahwa hiperglikemia akibat DM dapat menyebabkan kerusakan saraf optik pada tikus model diabetik, yang ditandai adanya nekrosis saraf optik, penipisan RNFL dan apoptosis RGC. Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu yang direkomendasikan adalah dosis 200 mg/kgBB untuk menunjukkan perbaikan kerusakan saraf optik yang ditandai

dengan adanya perbaikan secara signifikan kondisi nekrosis saraf optik, penipisan RNFL, dan apoptosis RGC.

## **B. Pembahasan**

Kondisi hiperglikemia pada penyakit DM dapat menimbulkan kerusakan saraf optik glaukoma dan pada tahap akhir dapat menimbulkan kebutaan (Zhou *et al.*, 2014; Zhao *et al.*, 2017;). Adanya glukosa yang berlebihan dapat menjadi agen yang bersifat toksik. Gugus aldehid dari glukosa akan bereaksi dengan gugus amino bebas dari protein sehingga terbentuk prekursor *advanced glycation end products* (AGE's) (Setiawan dan Suhartono, 2005). Hiperglikemia juga meningkatkan aktivitas NADPH oksidase yang selanjutnya dapat meningkatkan ROS. Adanya ROS akan meningkatkan stress oksidatif (Wright, 2006; Kida, 2015). Stress oksidatif dapat memicu timbulnya kerusakan saraf optik antara lain glaukoma (Ferreira *et al.*, 2011; Benoist *et al.*, 2016; Maria *et al.*, 2018; Tang, 2019). Pada penyakit kerusakan saraf optik akibat DM dengan kondisi hiperglikemia, terapi akan lebih sulit karena penyebab menjadi lebih kompleks dan kerusakan menjadi semakin lebih cepat terjadi. Beberapa laporan penelitian tentang suplemen antioksidan dan antiinflamasi dalam membantu mengoptimalkan pengobatan kerusakan saraf optik seperti pada glaukoma (Yu, 2014; Garcia-Medina *et al.*, 2015).

Propolis adalah suatu produk alami yang berasal dari resin tanaman yang dikumpulkan oleh lebah yang mengandung lebih dari 300 senyawa kimia yang terkandung di dalamnya. Senyawa fenol merupakan senyawa yang paling banyak ditemukan dalam sampel propolis (Magdalena *et al.*, 2019). Senyawa fenol seperti CAPE mempunyai kemampuan aktivitas sebagai antioksidan. Mekanisme antioksidan propolis melalui cara bahwa senyawa fenol memberikan ion hidrogen ke radikal bebas untuk melindungi sel dari reaksi oksidasi. Propolis mampu melindungi kerusakan DNA, lipid, dan protein dari senyawa radikal bebas (Jia *et al.*, 2019; Anjum *et al.*, 2019).

## 1. Pendekatan Prinsip Ontologi

Penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dapat menurunkan secara signifikan kadar GDP, MDA, TGF- $\beta$ , CRP, ekspresi Caspase-3, dan kadar Caspase-3 serum pada tikus model diabetik. Propolis tidak dapat menurunkan secara signifikan ekspresi TGF- $\beta$ . Ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik pada penelitian ini mempunyai kecenderungan menurun tapi belum teruji secara signifikan ( $p > 0,05$ ). Hal ini dimungkinkan karena ekspresi TGF- $\beta$  bersifat kronik sehingga butuh waktu pengamatan lebih lama dan kemungkinan juga membutuhkan dosis lebih banyak. Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 200 mg/kgBB dapat memperbaiki secara signifikan nekrosis saraf optik, penipisan RNFL, dan apoptosis RGC pada tikus model diabetik.

Kondisi hiperglikemia kronik pada DM dapat mengakibatkan peningkatan stres oksidatif, menimbulkan kerusakan saraf optik dan dapat memicu timbulnya glaukoma (Ferreira *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2014; Benoist *et al.*, 2016; Vieira-Potter, 2016; Zhao *et al.*, 2017; Vasudev, 2018; Maria *et al.*, 2018; Tang, 2019). Pada keadaan hiperglikemia pada penyakit DM, peningkatan kadar glukosa dapat menjadi agen yang bersifat toksik. Gugus aldehid dari glukosa akan bereaksi dengan gugus amino bebas dari protein sehingga terbentuk prekursor AGE's. Hiperglikemia juga meningkatkan aktivitas NADPH oksidase yang selanjutnya dapat meningkatkan ROS serta meningkatkan stres oksidatif yang dapat dilihat dengan peningkatan kadar MDA (Setiawan dan Suhartono, 2005; Wright, 2006; Nucci, 2013; Singh, 2014; Kida, 2015; Hernamdez-Martinez, 2017). Adanya stres oksidatif akan merusak *Inhibitor kappa B* (IkB) yang selanjutnya dapat mengaktivasi NF-kB, meningkatkan *Transforming growth factor –  $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) di dalam sel trabekular meshwork dan akan merangsang deposisi ekstraseluler matrik serta merangsang proliferasi yang akibatnya dapat menghambat aliran humor akuos, meningkatkan tekanan intraokuler dan dapat menimbulkan kerusakan saraf optik seperti pada glaukoma. Aktivasi NF-kB juga menyebabkan peningkatan sintesis IL-6 dan di dalam sel hepatosit dapat meningkatkan *C-reaktif*

*protein* (CRP). Kadar CRP yang meningkat dapat menimbulkan defek endotel dan dapat menimbulkan atherosklerosis di dalam sistem vaskuler, selanjutnya menimbulkan iskemi dan terjadi kerusakan saraf optik (Kida *et al.*, 2015; Maria *et al.*, 2018).

Kerusakan saraf optik dapat berupa nekrosis saraf optik dan pada penyakit glaukoma dapat berupa degenerasi secara progresif sel ganglion retina dengan kenaikan tekanan intraokuler (secara relatif) sebagai salahsatu faktor risikonya (Gauthier and Liu *et al.*, 2016; Tripathi *et al.*, 2018). Glaukoma dicirikan dengan penipisan *retina nerve fiber layer* (RNFL) dan kerusakan secara gradual *retinal ganglion cells* (RGC) beserta *axon* (*atrofi axon*) yang selanjutnya dapat mengganggu transport *axon* (Vidal-Sanz *et al.*, 2012; Galvao *et al.*, 2013; Agudo-Barriuso *et al.*, 2013; Cvenkel and Kolko , 2020). Adanya peningkatan ROS akan memacu apoptosis melalui jalur intrinsik, yang akan mengaktivasi Caspase 9 melalui pelepasan sitokrom C dari mitokondria. Caspase 9 akan mengaktivasi Caspase 3 , menyebabkan apoptosis dan menimbulkan kerusakan saraf optik (Gauthier and Liu, 2017).

Terjadinya kerusakan saraf optik bisa dideteksi dari :

- a. Tingkat molekuler (ekspresi Caspase-3, ekspresi TGF- $\beta$ ) yang dapat dideteksi dengan pemeriksaan imunobiologik dengan metode IHC.
- b. Tingkat seluler (nekrosis saraf optik, penipisan RNFL dan apoptosis RGC) yang dapat dideteksi dari perubahan histopatologi dengan metode HE dan IHC.
- c. Tingkat klinis yang dapat dideteksi melalui kadar GDP, MDA, TGF- $\beta$ , CRP dan kadar Caspase-3 yang dapat dideteksi dengan pemeriksaan GOD-PAP, TBARS, dan Elisa.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa proses yang kami sampaikan terbukti. Kelebihan penelitian ini adalah pemeriksaan dilakukan sampai pada tingkat molekuler, seluler, dan klinis.

## 2. Pendekatan Prinsip Epistemologi

### a. Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu terhadap kadar GDP pada tikus model diabetik.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB pada kelompok perlakuan menurunkan GDP secara signifikan ( $p=0,001$ ).

Beberapa studi menunjukkan bahwa propolis yang berasal dari beberapa negara seperti Morroco, Iran, dan Chihuahua mempunyai aktivitas hipoglikemik. Sebagai inovasi propolis pada penelitian kami menggunakan propolis yang berasal dari Indonesia yang mempunyai kadar kandungan yang berbeda dibanding negara lain dan juga dapat bersifat hipoglikemik.

Propolis sebagai antioksidan dapat mengontrol kadar gula darah pada tikus model diabetik. Propolis dapat menghambat produksi glukosa dengan cara meningkatkan sensitivitas reseptor insulin dan merangsang pelepasan insulin pada sel  $\beta$  pankreas. Propolis juga dapat menurunkan absorpsi karbohidrat di usus, menghambat aktivitas maltase usus, meningkatkan glikolisis serta pengambilan glukosa di jaringan perifer (seperti sel otot skeletal), melalui pengaktifan *insulin-sensitive glucose transporter*, menghambat pelepasan glukosa dari hepar, dan melindungi jaringan pankreas (Al-Hariri *et al.*, 2011; Taebe *et al.*, 2012; 2012; Sameni *et al.*, 2015; Rivera-Yañez *et al.*, 2018; Menyiy *et al.*, 2019; Zakerkish *et al.*, 2019).

### b. Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu terhadap kadar MDA serum pada tikus model diabetik.

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB pada kelompok perlakuan menurunkan kadar MDA secara signifikan ( $p=0,001$ ).

Senyawa fenol seperti CAPE di dalam propolis mempunyai kemampuan aktivitas sebagai antioksidan. Pada penelitian kami menggunakan ekstrak etanol propolis Gunung Lawu mengandung senyawa fenol CAPE sebesar  $30,24 \pm 3,53 \times 10^{-6}$  gram dan kuersetin  $4,42 \pm 0,50 \times 10^{-6}$  gram. Mekanisme antioksidan propolis

melalui cara bahwa senyawa fenol memberikan ion hidrogen ke radikal bebas untuk melindungi sel dari reaksi peroksidasi. Propolis mampu melindungi kerusakan DNA, lipid, dan protein dari senyawa radikal bebas (Sarsono *et al.*, 2012; Jia *et al.*, 2019; Anjum *et al.*, 2019).

Beberapa bukti laporan penelitian menunjukkan bahwa propolis yang berasal dari Iran dan Malaysia dapat menurunkan kadar MDA pada tikus diabetik. Hal ini berhubungan dengan aktivitas antioksidan dan efek hipoglikemik dari propolis. Penurunan kadar glukosa akibat pemberian propolis dapat mengurangi stres oksidatif yang ditandai dengan penurunan kadar MDA sebagai hasil akhir dari peroksidasi lipid dan digunakan sebagai penanda biomarker atau prediktor tingkat stres oksidatif (Singh, 2014; Sameni *et al.*, 2015; Nna *et al.*, 2021;).

**c. Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu terhadap ekspresi TGF- $\beta$  saraf optik dan kadar TGF- $\beta$  serum pada tikus model diabetik.**

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 200 mg/kgBB pada kelompok perlakuan tidak dapat menurunkan ekspresi TGF- $\beta$  secara signifikan ( $p=0,061$ ) walaupun sudah terdapat kecenderungan menurun. Akan tetapi pemberian propolis dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB sudah dapat menurunkan kadar TGF- $\beta$  serum secara signifikan ( $p=0,001$ ). Hal ini menunjukkan bahwa reaksi penurunan ekspresi TGF- $\beta$  di jaringan (saraf optik) membutuhkan proses lebih lama dibanding dalam sirkulasi darah, sehingga dibutuhkan waktu pengamatan yang lebih lama. Di samping itu kemungkinan dosis propolis kurang banyak. Dosis propolis bisa dinaikkan lagi tapi maksimal 300 mg/kg BB karena dapat menimbulkan toksisitas (Silva *et al.*, 2015).

Kondisi hiperglikemi akibat penyakit DM dapat meningkatkan stres oksidatif. Adanya stres oksidatif akan merusak *Inhibitor kappa B* (IkB) yang selanjutnya dapat mengaktivasi NF-kB. Aktivasi NF-kB menyebabkan peningkatan *Transforming growth factor –  $\beta$*  (TGF- $\beta$ ) di dalam sel *trabekulum*

*meshwork* dan akan merangsang deposisi matrik ekstraseluler dan merangsang proliferasi, akibatnya aliran *humor aquos* terhambat, tekanan intraokuler meningkat dan dapat menimbulkan kerusakan saraf optik seperti pada glaukoma (Kida *et al.*, 2015; Maria *et al.*, 2018). Peran propolis sebagai antioksidan dan efek hipoglikemik menyebabkan I $\kappa$ B tetap stabil, NF- $\kappa$ B tidak teraktivasi, TGF- $\beta$  menurun, tidak merangsang deposisi matrik ekstraseluler dan proliferasi sel di dalam *trabekulum meshwork* dan jaringan penunjang saraf optik, sehingga bisa terjadi perbaikan kerusakan saraf optik.

Penelitian ini sesuai dengan penelitian Kutchey John (2014) yang melaporkan bahwa terdapat kenaikan kadar TGF- $\beta$  pada pasien glaukoma dibandingkan dengan kontrol. Glaukoma dicirikan dengan timbunan matrik ekstraseluler di dalam *trabekular meshwork* dan jaringan penunjang di *lamina cribosa* pada saraf optik, yang memberikan kerusakan *axon*. Adanya TGF- $\beta$  diduga berperan dalam peningkatan matrik ekstraseluler tersebut, menyebabkan tekanan intraokuler meningkat dan dapat menyebabkan kerusakan saraf optik. Peningkatan TGF- $\beta$  berperan dalam kerusakan saraf optik akibat glaukoma (Andrew, 2012; Murphy-Ullrich and Crawford, 2015; Wang *et al.*, 2017).

#### **d. Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu terhadap kadar CRP serum pada tikus model diabetik.**

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 100 mg/kgBB dan 200 mg/kgBB pada kelompok perlakuan menurunkan kadar CRP secara signifikan ( $p=0,001$ ).

Kondisi hiperglikemi akibat penyakit DM dapat meningkatkan stres oksidatif. Adanya stres oksidatif akan merusak *Inhibitor kappa B* (I $\kappa$ B) yang selanjutnya dapat mengaktivasi NF- $\kappa$ B. Aktivasi NF- $\kappa$ B meningkatkan sintesis IL-6 dan di dalam sel hepatosit dapat meningkatkan *C-reaktif protein* (CRP). Senyawa CRP diproduksi sebagai reaksi terhadap sitokin inflamasi terutama IL-6. Kadar CRP yang meningkat dapat menimbulkan disfungsi endotel dan dapat menimbulkan sklerosis di sistem vaskuler, meningkatkan tekanan intraokuler dan

dapat menyebabkan nekrosis atau kerusakan saraf optik (Kida *et al.*, 2015; Maria *et al.*, 2018).

Beberapa bukti laporan penelitian menunjukkan bahwa propolis dapat menurunkan kadar CRP secara signifikan pada tikus diabetik. Pada penelitian kami menggunakan ekstrak etanol propolis Gunung Lawu mengandung senyawa fenol CAPE sebesar  $30,24 \pm 3,53 \times 10^{-6}$  gram dan kuersetin  $4,42 \pm 0,50 \times 10^{-6}$  gram. Senyawa fenol dalam propolis mempunyai aktivitas antioksidan dan antiinflamasi. Penurunan kadar glukosa akibat pemberian propolis dapat mengurangi stres oksidatif, mengurangi inflamasi, selanjutnya menurunkan kadar CRP sebagai biomarker inflamasi sistemik (Hemieda *et al.*, 2015; Afsharpour *et al.*, 2017; Zakerkish *et al.*, 2019; Shang *et al.*, 2020).

**e. Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu terhadap ekspresi Caspase-3 saraf optik dan kadar Caspase-3 serum pada tikus model diabetik.**

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 200 mg/kgBB pada kelompok perlakuan menurunkan secara signifikan ekspresi Caspase-3 ( $p=0,008$ ) dan dosis 100mg/kgBB dan 200 mg/kgBB dapat menurunkan kadar Caspase-3 serum secara signifikan ( $p=0,001$ ). Pada penelitian kami ekspresi Caspase-3 diambil dari jaringan saraf optik.

Kondisi hiperglikemi akibat penyakit DM dapat meningkatkan stres oksidatif. Adanya stres oksidatif akan memacu apoptosis melalui jalur intrinsik. Stres oksidatif akan mengaktifasi Caspase 9 melalui pelepasan sitokrom C dari mitokondria. Caspase 9 akan mengaktifasi caspase 3, menyebabkan apoptosis dan menimbulkan kerusakan saraf optik (Gauthier and Liu, 2017).

Beberapa bukti laporan penelitian menunjukkan bahwa propolis dapat menurunkan ekspresi Caspase-3 pada tikus diabetik. Hal ini berhubungan dengan peran propolis sebagai antioksidan sehingga stres oksidatif akan menurun dan ekspresi Caspase-3 menjadi menurun (Zakerkish *et al.*, 2019; Nna *et al.*, 2021). Pada jalur apoptosis, *flavonoid* yang terkandung dalam propolis mempunyai efek



neuroprotektan yang hasilnya secara signifikan meningkatkan Bcl-2 dan menurunkan Caspase-3 sebagai tanda awal terjadinya apoptosis sel. Kandungan CAPE dalam propolis diketahui dapat menghambat aktivasi ROS dengan hambatan langsung pada aktivitas katalik dari *inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS) (Candra Dewi *et al.*, 2016).

**f. Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu terhadap nekrosis saraf optik pada tikus model diabetik.**

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 200 mg/kgBB pada kelompok perlakuan dapat memperbaiki nekrosis saraf optik secara signifikan ( $p=0,019$ ). Kondisi hiperglikemi akibat penyakit DM dapat meningkatkan stres oksidatif yang melalui beberapa jalur mekanisme menimbulkan nekrosis saraf optik. Propolis dapat memperbaiki nekrosis saraf optik pada tikus diabetik. Propolis hijau dari Brasilia dapat memperbaiki nekrosis saraf optik (Inokuchi *et al.*, 2006). Terdapat studi yang melaporkan senyawa CAPE suatu senyawa fenol yang terdapat dalam propolis bersifat antioksidan kuat dan antiinflamasi kuat, bekerja dengan cara menekan NF-kB, melalui beberapa jalur mekanisme dapat memperbaiki nekrosis saraf optik (Jia *et al.*, 2019).

**g. Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu terhadap penipisan *retinal nerve fiber layer* pada tikus model diabetik.**

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 200 mg/kgBB pada kelompok perlakuan dapat memperbaiki penipisan RNFL secara signifikan ( $p=0,001$ ). Kondisi hiperglikemi akibat penyakit DM dapat meningkatkan stres oksidatif yang melalui beberapa jalur mekanisme menimbulkan kerusakan saraf optik yang dapat berupa penipisan RNFL seperti pada penyakit glaukoma. Penyakit glaukoma terutama pada pasien DM kerusakan saraf optik ditandai dengan penipisan RNFL (Shahidi *et al.*, 2012; Vidal-Sanz *et al.*, 2012; Galvao *et al.*, 2013; Agudo-Barriuso *et al.*, 2013; Gauthier and Liu, 2016; Takis *et al.*, 2017; Tripathi *et al.*, 2018; Cvenkel and Kolko, 2020). Propolis dapat memperbaiki kerusakan saraf optik pada tikus

model diabetik. Propolis hijau dari Brasilia dapat memperbaiki ketebalan retina bagian *inner plexiform layer* ( Inokuchi *et al.*, 2006).

#### **h. Pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu terhadap apoptosis *retinal ganglions cells* pada tikus model diabetik.**

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 200 mg/kgBB pada kelompok perlakuan dapat memperbaiki apoptosis RGC secara signifikan ( $p=0,007$ ).

Kondisi hiperglikemi akibat penyakit DM dapat meningkatkan stres oksidatif yang melalui beberapa jalur mekanisme menimbulkan kerusakan saraf optik antara lain glaukoma. Penyakit glaukoma terutama pada pasien DM ditandai dengan degenerasi secara progresif RGC beserta *axon* (Shahidi *et al.*, 2012; Vidal-Sanz *et al.*, 2012; Galvao *et al.*, 2013; Agudo-Barriuso *et al.*, 2013; Gauthier and Liu, 2016; Takis *et al.*, 2017; Tripathi *et al.*, 2018; Cvenkel and Kolko, 2020). Propolis dapat memperbaiki kerusakan saraf optik pada tikus diabetik. Propolis hijau dari Brasilia dapat memperbaiki kerusakan saraf optik yang dapat dilihat dari perbaikan apoptosis RGC ( Inokuchi *et al.*, 2006). Terdapat studi yang melaporkan bahwa senyawa CAPE dapat melindungi kematian RGC. Senyawa CAPE suatu senyawa fenol yang terdapat dalam propolis bersifat antioksidan kuat dan antiinflamasi kuat, bekerja dengan cara menekan NF-kB, melalui beberapa jalur mekanisme dapat memperbaiki kerusakan saraf optik. Efek anti apoptosis CAPE pada neuron bekerja dengan cara reperfusi iskemi atau menurunkan kadar potasium dengan mencegah produksi ROS dan menghambat aktivitas Caspase ( Jia *et al.*, 2019).

### **3. Pendekatan Prinsip Aksiologi.**

Hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat sumbangan ilmiah mengenai efek ekstrak etanol propolis Gunung Lawu terhadap penurunan kadar MDA, ekspresi TGF- $\beta$ , kadar TGF-, CRP, ekspresi Caspase-3, kadar Caspase-3, dan perbaikan nekrosis saraf optik, penipisan RNFL, dan apoptosis RGC. Selain

itu dapat digunakan untuk mendorong pemanfaatan propolis sebagai suplemen tambahan pada penderita DM untuk mencegah komplikasi lebih lanjut.

Penelitian ini baru pada tahap penelitian preklinik pada hewan coba model diabetik sehingga jika akan digunakan untuk manusia perlu dilakukan penelitian lebih lanjut antara lain dengan uji toksisitas dan uji klinis tahap 2 dengan konversi dosis (60 gr/kgBB) dan waktu penelitian. Pemberian propolis pada manusia sebaiknya berbentuk isolat atau fraksi agar tidak memerlukan dosis yang besar.

Penelitian ini memberikan manfaat di dalam bidang pendidikan terutama tentang pemahaman komunikasi antar sel dan biologi molekuler serta imunologi. Pemahaman patofisiologi dan patogenesis penyakit melalui analisis biomolekuler menjadi penting untuk bisa memberikan terapi yang tepat dan memperbaiki prognosis.

Manfaat untuk pelayanan masyarakat dengan terbuktinya secara ilmiah molekuler tentang manfaat pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu maka semakin mendukung pemanfaatan bahan kearifan lokal untuk masyarakat di klinik-klinik tapi masih memerlukan uji klinis selanjutnya walaupun pada penelitian ini terbukti pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu pada kasus diabetik dapat memperbaiki kerusakan saraf optik. Hasil penelitian ini belum dapat untuk dijadikan jastifikasi dan belum dapat digeneralisasi propolis yang beredar di masyarakat dapat memperbaiki kerusakan saraf optik pada kasus diabetik dan masih diperlukan uji toksisitas dan uji klinis.

### **C. Nilai-nilai Kebaruan**

Nilai-nilai kebaruan dalam penelitian ini dapat ditinjau dari dua aspek yaitu aspek ilmiah dan aspek klinis.

#### **1. Nilai Kebaruan Ilmiah**

Peneliti membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu dosis 200 mg/kgBB mampu menurunkan secara signifikan kadar GDP ( $p=0,001$ ), MDA ( $p=0,001$ ), kadar TGF- $\beta$  ( $p=0,001$ ), CRP ( $p=0,001$ ), ekspresi Caspase-3 ( $p=0,008$ ), dan kadar Caspase-3 serum ( $p=0,001$ ) serta tidak signifikan pada ekspresi TGF- $\beta$  ( $p=0,061$ ). Pemberian propolis dosis 200 mg/kgBB mampu memperbaiki secara signifikan nekrosis saraf optik ( $p=0,019$ ), penipisan RNFL ( $p=0,001$ ) dan apoptosis RGC ( $p=0,007$ ).

## 2. Nilai Kebaruan Klinis

- a. Solusi baru : ekstrak etanol Propolis Gunung Lawu dapat menjadi suplemen tambahan untuk memperbaiki prognosis kasus kerusakan saraf optik akibat DM.
- b. Strategi baru : penelitian ini diharapkan menjadi dasar untuk penelitian lanjutan dan menjadi protokol baru uji klinis pada manusia yang selanjutnya bisa dipakai sebagai konsensus penatalaksanaan terapi kerusakan saraf optik akibat DM.
- c. Prospektif : penelitian ini diharapkan bisa menginspirasi bagi peneliti selanjutnya untuk menilai variabel lain seperti variasi dosis propolis, lama pemberian dan lama observasi, parameter serum darah, parameter histopatologi, kerusakan mata lain akibat DM dan dengan metode penelitian yang lebih baik. Penelitian ini merupakan penelitian preklinis, sehingga dapat dipertimbangkan dilakukan uji klinis tahap 1 dengan dosis konversi untuk manusia (60 gram/kgBB) yang selanjutnya dapat dilanjutkan penelitian uji klinis tahap 2 dan 3. Bentuk ekstrak propolis dapat diganti bentuk isolat atau fraksi agar tidak membutuhkan dosis yang besar.
- d. Kondisi baru : kerusakan saraf optik akibat DM akan membaik dengan pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu.

#### D. Keterbatasan Penelitian

1. Tikus yang digunakan adalah tikus Wistar jantan, bisa dilakukan penelitian pada tikus betina karena kemungkinan ada perbedaan hasil penelitian karena pengaruh hormonal.
2. Lama pemberian ekstrak etanol propolis Gunung Lawu hanya 14 hari dengan observasi penelitian hanya 28 hari, pengamatan bisa dilakukan lebih lama sehingga bisa memberikan hasil ekspresi TGF- $\beta$  yang signifikan.
3. Kandungan CAPE pada penelitian ini dengan menggunakan data penelitian terdahulu, perlu dipertimbangan pengukuran kadar CAPE terbaru (khusus CAPE yang digunakan pada saat penelitian) karena kemungkinan adanya perbedaan kadar CAPE pada tiap panen propolis.
4. Kerusakan saraf optik pada penelitian ini baru mengamati nekrosis saraf optik, penipisan RNFL dan apoptosis RGC. Pengamatan lain untuk menegakkan diagnosis glaukoma perlu dilakukan dengan melihat kelainan di trabekulum meshwork, *cup of disk* (CD) rasio nervus optikus dan pemeriksaan TIO.
5. Bentuk kerusakan saraf optik akibat DM baru melihat kemungkinan adanya glaukoma sedang kemungkinan yang lain seperti retinopati diabetik dan edem makula belum dilakukan.
6. Metode yang digunakan untuk mengukur kerusakan saraf optik masih menggunakan metode semikuantitatif yaitu pengecatan HE dan IHC, bisa dipertimbangan dengan metode kuantitatif seperti RGC *counting*.
7. Penelitian ini baru mengamati pada satu waktu saja, perlu dilakukan penelitian secara *time series* sehingga dapat diketahui mulai kapan perbaikan kerusakan saraf optik terjadi.

8. Penelitian ini mengamati peran propolis sebagai pengobatan (kuratif), perlu dilakukan penelitian peran propolis secara preventif terhadap kerusakan saraf optik akibat DM dengan pemberian propolis langsung diberikan segera setelah tikus dalam status diabetik.
9. Penelitian ini hanya memberikan propolis saja untuk perlakuan, perlu dilakukan penelitian dengan kombinasi pemberian obat antidiabetik (metformin, insulin) dan atau obat glaukoma.
10. Penelitian ini menggunakan parameter biomolekuler terbatas, perlu penelitian dengan menambah parameter lain seperti VEGF, IL-6, TNF- $\alpha$  dan NFkB.