



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP  
KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS WISTAR JANTAN  
SETELAH DIPAPAR *SIDESTREAM*  
*CIGARETTE SMOKE***

**SKRIPSI**

Oleh

**Ni Putu Inda Prisilia  
NIM 111610101018**

**BAGIAN BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**



**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP  
KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS WISTAR JANTAN  
SETELAH DIPAPAR *SIDESTREAM*  
*CIGARETTE SMOKE***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Kedokteran Gigi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh

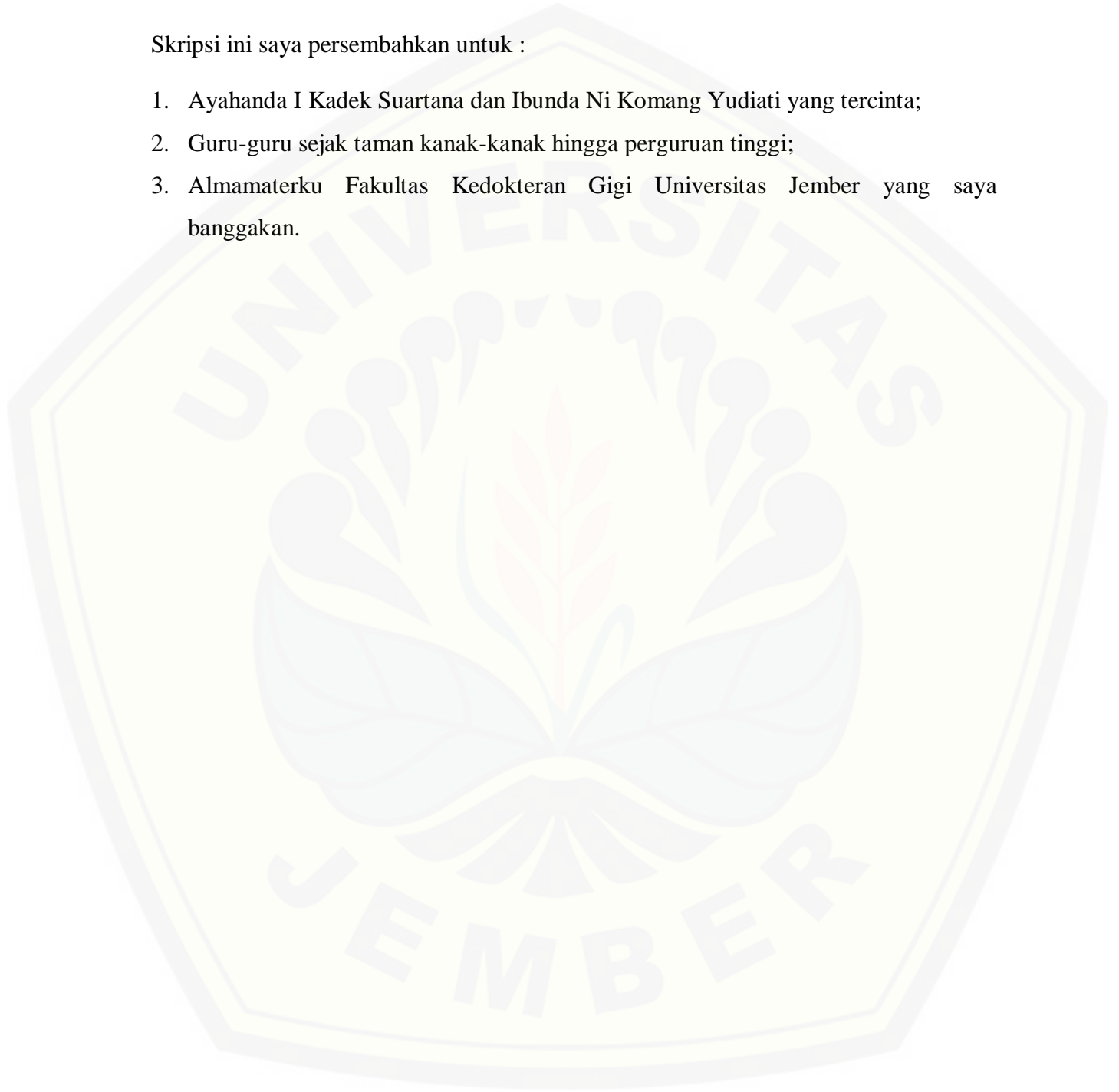
**Ni Putu Inda Prisilia  
NIM 111610101018**

**BAGIAN BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

**PERSEMBAHAN**

Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Ayahanda I Kadek Suartana dan Ibunda Ni Komang Yudiati yang tercinta;
2. Guru-guru sejak taman kanak-kanak hingga perguruan tinggi;
3. Almamaterku Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember yang saya banggakan.



**MOTTO**

Engkau berhak melakukan tugas kewajibanmu yang telah ditetapkan, tetapi engkau tidak berhak atas hasil perbuatanmu, jangan menganggap dirimu penyebab hasil kegiatanmu dan jangan terikat pada kebiasaan tidak melakukan kewajiban.\*)

Orang yang dilahirkan pasti akan meninggal dan sesudah kematian seseorang pasti akan dilahirkan lagi, oleh karena itu dalam melaksanakan tugas kewajibanmu yang tidak dapat dihindari, hendaknya engkau jangan menyesal.\*\*)

---

\*)Sloka 2.47 Bhagawad gita dan terjemahannya

\*\*)Sloka 2.27 Bhagawad gita dan terjemahannya

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Ni Putu Inda Prisilia

NIM : 111610101018

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Pengaruh Pemberian Esktrak Propolis terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Jantan setelah Dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggungjawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 12 Maret 2015

Yang menyatakan,

Ni Putu Inda Prisilia  
NIM 111610101018

**SKRIPSI**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP  
KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS WISTAR JANTAN  
SETELAH DIPAPAR *SIDESTREAM*  
*CIGARETTE SMOKE***

Oleh

Ni Putu Inda Prisilia  
NIM 111610101018

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp. KGA  
Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Budi Yuwono, M.Kes

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul “Pengaruh Pemberian Esktrak Propolis Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Jantan Setelah Dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*” telah diuji dan disahkan pada :

hari, tanggal : Kamis, 12 Maret 2015

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Utama

Penguji Anggota

drg. Erna Sulistyani, M. Kes  
NIP 196711081996012001

drg. Agustin Wulan Suci D, MDSc  
NIP 197908142008122003

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp. KGA  
NIP. 196407132000121001

drg. Budi Yuwono, M.Kes  
NIP 196709141999031002

Mengesahkan  
Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Jember,

drg. Hj. Herniyati, M. Kes.  
NIP 195909061985032001

**RINGKASAN**

**Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Jantan Setelah Dipapar *Sidestream Cigarette Smoke***; Ni Putu Inda Prisilia, 111610101018; 2015; 51 Halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Kebiasaan merokok merupakan salah satu masalah kesehatan utama di Indonesia. Efek rokok tidak hanya dirasakan oleh perokok tetapi juga orang-orang disekitar perokok (perokok pasif). *Sidestream Cigarette Smoke* (SCS) merupakan salah satu jenis asap yang dihasilkan rokok. Radikal bebas dan bahan kimia yang terkandung pada SCS lebih banyak dibandingkan asap rokok yang lain. Radikal bebas yang terdapat pada SCS akan menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS tersebut menyebabkan stres oksidatif yang berdampak pada resistensi insulin akibat gangguan pada reseptor insulin di membran sel hati dan otot. Hal ini menyebabkan kondisi hiperglikemia. Hiperglikemia perlu ditangani karena berisiko menjadi diabetes mellitus tipe-2 (DM tipe-2). Hiperglikemia dapat diturunkan dengan menggunakan obat dari bahan alam karena diharapkan memiliki efek samping yang minimal, salah satunya adalah propolis. Propolis merupakan produk lebah yang terbukti mampu menangani beberapa penyakit, salah satunya adalah diabetes mellitus karena memiliki efek antihiperglikemik yang berasal dari kandungan antioksidan tinggi, seperti flavonoid, *caffeid acid*, dan vitamin E. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan setelah dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *post-test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Sampel penelitian ini tikus wistar jantan (*Rattus Norvegicus*).



Penelitian terdiri dari 3 kelompok yaitu kelompok kontrol yang diberi akuades tanpa diberi perlakuan SCS dan propolis, kelompok perlakuan 1 diberi paparan SCS selama 20 menit/hari, kelompok perlakuan 2 diberi paparan SCS selama 20 menit/hari dan ekstrak propolis dua kali sehari, secara oral dengan dosis 4,5  $\mu$ L ekstrak propolis dalam 3,6 ml air selama 8 hari. Pengambilan darah dilakukan pada hari ke-9 secara intrakardial, pengukuran kadar glukosa darah menggunakan metode *enzymatic photometric test*. Data dianalisa menggunakan uji parametrik *One Way Anova* dan *Tukey HSD*.

Hasil analisis statistik penelitian menunjukkan bahwa kadar glukosa darah pada kelompok perlakuan 2 yang diberi ekstrak propolis lebih rendah daripada kelompok perlakuan 1 yang dipapar SCS tetapi tidak diberi ekstrak propolis ( $p < 0,05$ ). Propolis mengandung zat-zat seperti flavonoid, *caffeid acid*, dan vitamin E yang merupakan antioksidan kuat dan berperan dalam aktivitas *scavenging* atau pembersihan ROS yang dihasilkan oleh SCS serta memberikan manfaat dalam mencegah stres oksidatif dan meningkatkan ekspresi reseptor insulin pada membran sel, sehingga mampu menurunkan hiperglikemia. Kesimpulan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan setelah dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Ida Sang Hyang Widhi Wasa atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Jantan Setelah Dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. drg. Hj. Herniyati, M. Kes, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
2. drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp. KGA, selaku Dosen Pembimbing Utama dan drg. Budi Yuwono, M.Kes, selaku Dosen Pembimbing Pendamping atas bimbingan, pengarahan, waktu serta perhatian dalam penyusunan skripsi ini.
3. drg. Erna Sulistyani, M. Kes. selaku Dosen Penguji Utama dan drg. Agustin Wulan Suci D, MDSc selaku Dosen Penguji Anggota atas masukan pemikiran dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini.
4. drg. Rina Sudjiati, M. Kes, drg. Supriyadi, M.Kes, dan drg. Rudy Joelijanto, M. Biomed, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang selalu memantau dan memberikan perhatian, masukan serta motivasi dari awal semester hingga terselesaikannya skripsi ini.
5. Kedua orang tua, I Kadek Suartana dan Ni Komang Yudiati atas semangat, dan limpahan kasih sayang, serta dukungan moril yang tiada batas
6. Saudara kandung saya I Kadek Indra Purnama Lesmana dan Ni Komang Satya Dewi Satwika
7. Sahabat karib saya I Gusti Ayu Dwityani Adhi Pratiwi dan Komang Pratiwi Libravi Oktaviana terimakasih atas dukungan dan ucapan semangatnya

8. *My best one* Putu Citra Aditya Tama dan saudara Kadek Dwi Putra Adinata, terimakasih atas dukungan dan ucapan semangatnya
9. Rekan seperjuangan skripsiku Chusna Sekar Wardani atas dukungan dan kerjasamanya
10. Analis laboratorium mas agus, mba indri, mba nuris terimakasih atas segala bantuan yang diberikan selama penelitian.
11. Sahabat- sahabat di Kos Anggrek Berty, Dewi, Mbak Izzah, Kiki, Uul, Devi, Mega, Megi terimakasih atas bantuan selama penelitian.
12. Teman- teman seperjuanganku angkatan 2011 FKG UNEJ atas segala bantuan dan kerjasamanya selama menuntut ilmu, semoga kita semua menjadi dokter gigi masa depan yang terbaik.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu serta memberikan dorongan pada penulis selama proses penyelesaian karya tulis ilmiah ini.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari sempurna, maka penulis menerima kritik dan saran yang membangun dari semua pihak untuk melengkapi dan menyempurnakan dengan harapan skripsi ini dapat bermanfaat.

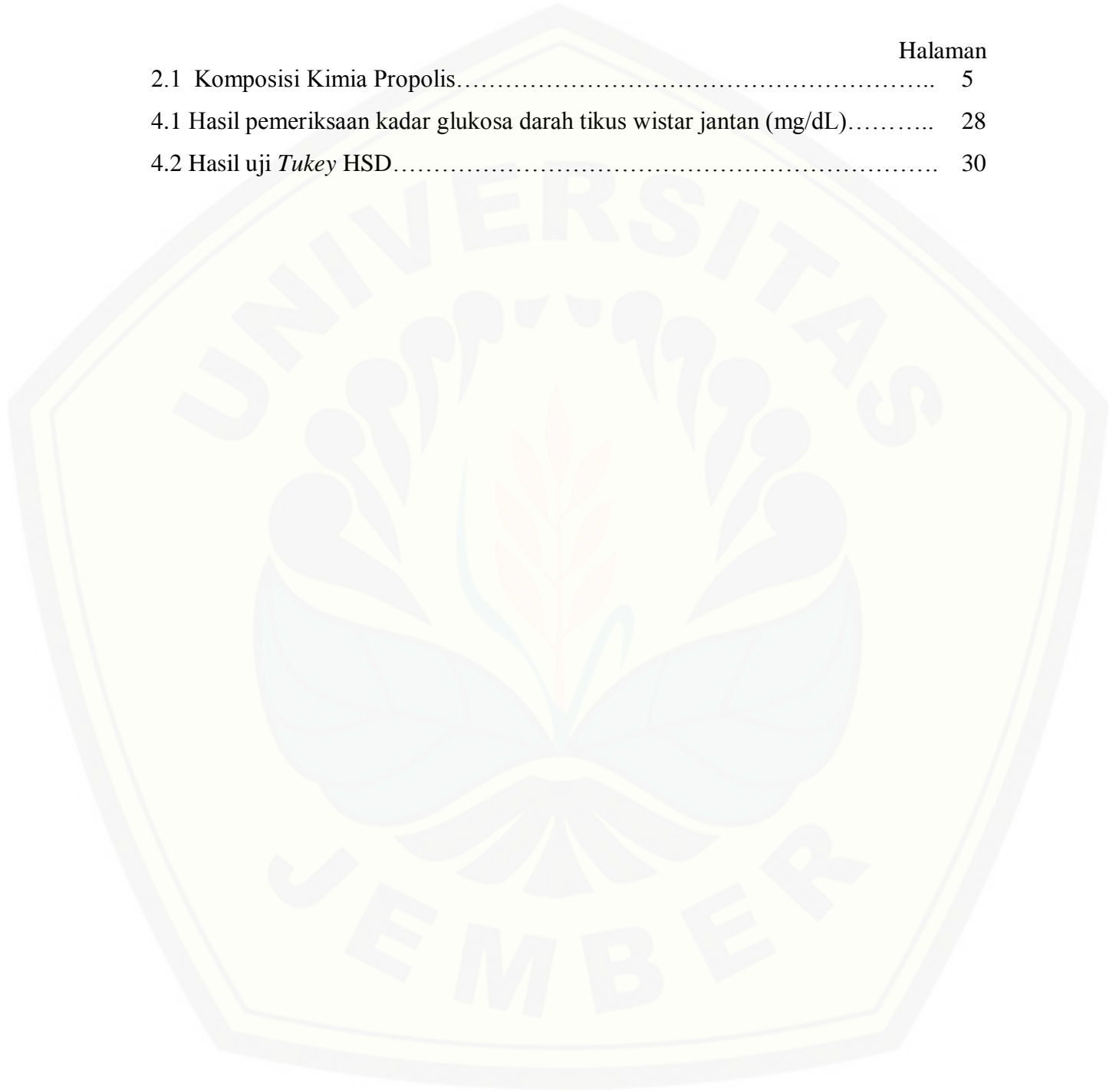
DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>PRAKATA</b> .....	x
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	2
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Propolis</b> .....	4
2.1.1 Definisi.....	4
2.1.2 Karakteristik Propolis.....	4
2.1.3 Komponen Propolis.....	5
2.1.4 Manfaat Propolis Bagi Kesehatan.....	6
<b>2.2 Sidestream Cigarette Smoke</b> .....	8
<b>2.3 Glukosa Darah</b> .....	9
2.3.1 Definisi dan Fungsi Glukosa Darah.....	9
2.3.2 Kadar Glukosa Darah.....	9
2.3.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kadar Glukosa Darah.....	10
2.3.4 Hormon yang Mengatur Kadar Glukosa Darah.....	11

2.3.5 Pengaruh SCS terhadap Kadar Glukosa Darah.....	13
2.3.6 Manfaat Propolis terhadap Kadar Glukosa Darah.....	15
<b>2.4 Kerangka Konseptual Penelitian.....</b>	<b>17</b>
<b>2.5 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian.....</b>	<b>18</b>
<b>2.6 Hipotesis Penelitian .....</b>	<b>19</b>
<b>BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>20</b>
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>20</b>
<b>3.3 Identifikasi Variabel Penelitian.....</b>	<b>20</b>
<b>3.4 Definisi Operasional Penelitian.....</b>	<b>21</b>
<b>3.5 Populasi dan Sampel Penelitian.....</b>	<b>21</b>
<b>3.6 Alat dan Bahan Penelitian.....</b>	<b>23</b>
<b>3.7 Prosedur Penelitian.....</b>	<b>24</b>
<b>3.8 Analisis Data.....</b>	<b>26</b>
<b>3.9 Skema penelitian.....</b>	<b>27</b>
<b>BAB 4. HASIL DANPEMBAHASAN.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1 Hasil.....</b>	<b>28</b>
<b>4.2 Analisis Data.....</b>	<b>29</b>
<b>4.3 Pembahasan.....</b>	<b>30</b>
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>33</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>34</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>38</b>

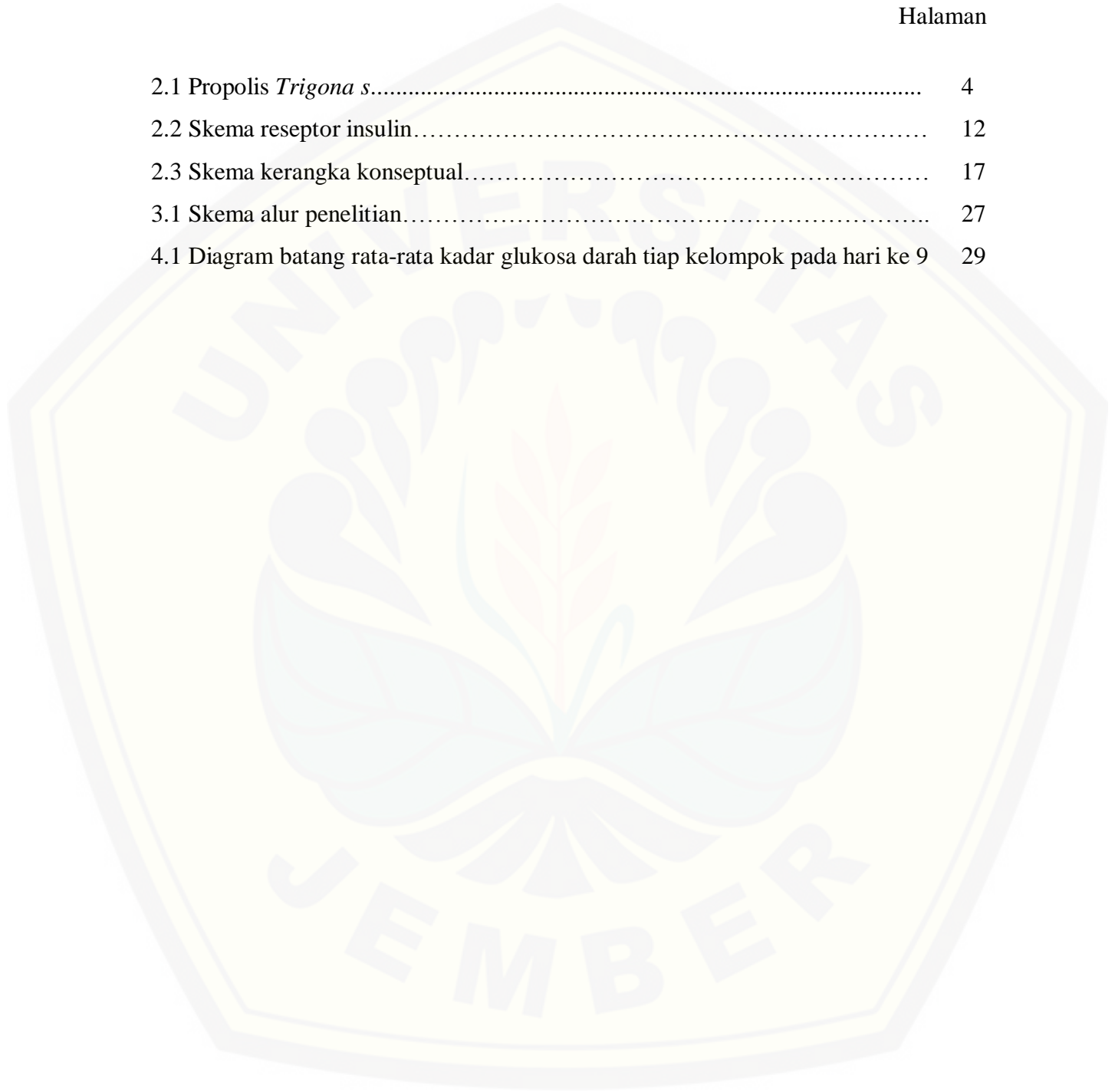
**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Komposisi Kimia Propolis.....	5
4.1 Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah tikus wistar jantan (mg/dL).....	28
4.2 Hasil uji <i>Tukey</i> HSD.....	30



**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Propolis <i>Trigona s.</i> .....	4
2.2 Skema reseptor insulin.....	12
2.3 Skema kerangka konseptual.....	17
3.1 Skema alur penelitian.....	27
4.1 Diagram batang rata-rata kadar glukosa darah tiap kelompok pada hari ke 9	29



**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
A. Penghitungan Besar Sampel.....	38
B. Kadar Glukosa Darah .....	39
C. Surat Keterangan Pemeriksaan Kesehatan Tikus .....	40
D. <i>Ethical Clearance</i> .....	42
E. Hasil Uji Analisis Data.....	43
F. Foto Penelitian.....	46



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kebiasaan merokok merupakan masalah kesehatan utama di Indonesia dan menjadi penyebab lebih dari 200.000 kematian per tahunnya. Survey WHO (2011) menyatakan bahwa angka prevalensi perokok di Indonesia merupakan yang tertinggi di dunia yaitu 46,8 persen untuk perokok laki-laki dan 3,1 persen untuk perokok perempuan dengan usia diatas 10 tahun (Reimondos *et al.*, 2010). Efek rokok tidak hanya dirasakan oleh perokok tetapi juga orang-orang disekitar perokok. Rokok menghasilkan dua jenis asap rokok, yaitu *Mainstream Cigarette Smoke* (MCS) dan *Sidestream Cigarette Smoke* (SCS). MCS adalah asap yang dihisap oleh perokok. SCS adalah asap yang berasal dari ujung rokok yang terbakar. MCS dan SCS menimbulkan polusi udara yang disebut *Environment Tobacco Smoke* (ETS). Mereka yang menghirup ETS disebut perokok pasif dan berisiko menderita berbagai penyakit (Syamsuddin, 2014).

SCS menghasilkan radikal bebas dan bahan kimia dalam jumlah tinggi dibandingkan MCS, sehingga SCS lebih berbahaya dibandingkan MCS (Syamsuddin, 2014). Radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh secara inhalasi dapat menimbulkan kondisi stres oksidatif. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Singh (2009) dan Lestari (2013) stres oksidatif menyebabkan resistensi insulin yang disebabkan oleh gangguan pada reseptor insulin terutama pada membrane sel hati dan otot, sehingga terjadi hiperglikemia. Hiperglikemia yang tidak ditangani dapat meningkatkan risiko terjadinya penyakit diabetes mellitus tipe-2 (DM tipe-2) (Manaf, 2009).

Hiperglikemia dapat diterapi menggunakan obat golongan biguanid, yaitu metformin. Metformin mampu menurunkan resistensi insulin, meningkatkan pengangkutan glukosa ke jaringan tubuh, serta menekan produksi glukosa hati.

Metformin berperan dalam mengontrol hiperglikemia tanpa mengakibatkan hipoglikemia. Akan tetapi, metformin memiliki efek samping yaitu menyebabkan gangguan absorpsi vitamin B12 dan menurunkan konsentrasi vitamin B12 dalam serum darah, sehingga meningkatkan risiko terjadinya anemia (Soegondo dan Sidartawan, 2009).

Saat ini telah dikembangkan obat dari bahan alam yang diharapkan kurang memiliki efek samping, salah satunya adalah propolis. Propolis memiliki banyak manfaat bagi kesehatan, yaitu sebagai anti bakteri, anti inflamasi, anti tumor, anti kanker, anti oksidan, serta memberikan efek perlindungan terhadap hati, ginjal, dan jantung (Lotfy, 2006; Martoz *et al.*, 2008). Propolis sudah dimanfaatkan sebagai terapi berbagai penyakit, salah satunya adalah diabetes mellitus pada tikus yang diinduksi streptozotocin. Propolis mempunyai efek antihiperglikemik karena mengandung zat-zat seperti flavonoid, *caffeid acid*, dan vitamin E yang merupakan antioksidan kuat (Abdelghany, 2012). Terapi antihiperglikemik menggunakan antioksidan (*N-acetyl-L-cysteine*) dibuktikan oleh penelitian yang dilakukan oleh Kaneto (2005) dan Haber (2003). Penelitian di Jepang menunjukkan bahwa propolis memiliki potensi antioksidan 4-6 kali lebih kuat dari *N-acetyl-L-cysteine* dalam melawan radikal bebas penyebab hiperglikemia (Nakajima, 2009). Akan tetapi, penelitian mengenai pengaruh propolis terhadap kadar glukosa darah yang dipicu SCS belum dilakukan.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan yaitu apakah pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan setelah dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan setelah dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

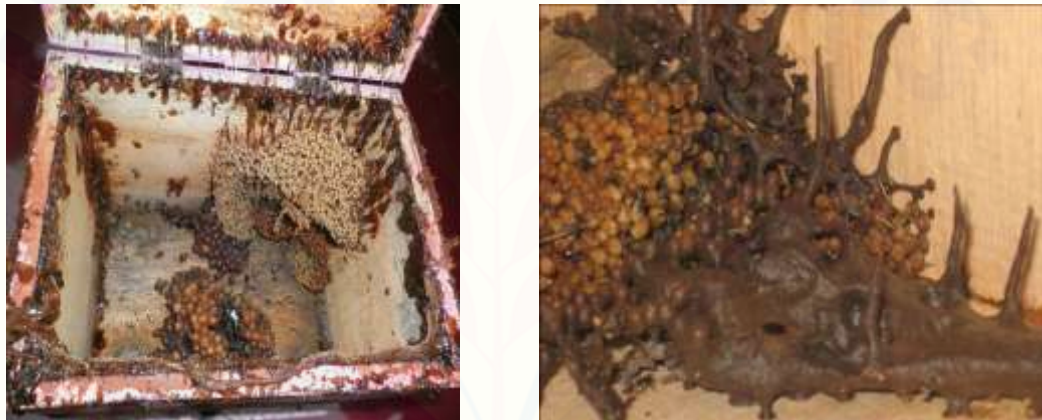
- 1.4.1 Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi kepada masyarakat tentang pengaruh pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan setelah dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*
- 1.4.2 Dapat memberikan informasi bagi masyarakat tentang manfaat propolis
- 1.4.3 Dapat dipergunakan sebagai dasar pengembangan penelitian selanjutnya.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Propolis

#### 2.1.1 Definisi

Propolis atau lem lebah adalah produk yang dihasilkan oleh lebah madu, mengandung resin dan lilin lebah yang dikumpulkan dari sumber tanaman dan bercampur dengan air liur lebah. Propolis digunakan oleh lebah madu untuk melindungi ruang-ruang heksagonal sarang lebah (El Sohaimy dan Masry, 2014).



Gambar 2.1 Propolis *Trigona sp* (Sumber : Hardiyanti, 2011)

#### 2.1.2 Karakteristik Propolis

Propolis memiliki warna bervariasi, seperti kuning, hijau, atau coklat tua tergantung pada sumber tumbuhannya. Substansi resin alami pada propolis memberikan aroma wangi dan tekstur yang lengket pada suhu sarang yang baru dibentuk. Propolis mengeras pada suhu 15<sup>0</sup>C, mudah pecah pada suhu 5<sup>0</sup>C, sedangkan pada suhu 45<sup>0</sup>C propolis semakin lengket seperti karet, dan mudah mencair pada suhu 60-100<sup>0</sup>C (Krell, 1996).

### 2.1.3 Komponen Propolis

Kandungan propolis bergantung pada sumber tanaman pembentuknya. Kandungan propolis yang sudah teridentifikasi sebanyak > 300 komponen, seperti resin (50 %), minyak aromatik, esensial, dan lilin lebah (30 %), serbuk sari atau pollen (5-10 %), asam amino, mineral, vitamin A, vitamin B kompleks, vitamin E, serta substansi kimia aktif dalam jumlah tinggi yaitu flavonoid, fenol, senyawa aromatik, asam diterpenoid, dan triterpenoid ( El Sohaimy dan Masry, 2014).

Tabel 2.1 Komposisi Kimia Propolis

Grup Komponen	Jumlah	Kelas Komponen
Resin	45-55 %	Flavonoid, fenol dan esternya
Lilin dan asam lemak	25-35 %	Sebagian besar dari lilin lebah dan beberapa dari tanaman
Minyak essential	10%	Senyawa volatil
Pollen	5 %	Protein berasal dari pollen dan amino bebas
Senyawa organik dan mineral	5 %	mineral yang paling terkenal adalah Fe dan Zn, sisanya seperti Au, Ag, Cs, Hg, La, dan Sb. Senyawa organik lain seperti keton, laktan, kuinon, steroids, asam benzoat dan esternya, vitamin A, vitamin B kompleks, vitamin E

Sumber : Krell, 1996

#### 2.1.4 Manfaat Propolis Bagi Kesehatan

Propolis merupakan produk lebah madu yang memiliki banyak manfaat bagi kesehatan yaitu :

##### a. Anti oksidan

Propolis merupakan produk lebah yang memiliki potensi anti oksidan. Kemampuan anti oksidan propolis berasal dari kandungan fenol dan flavonoid, asam amino dan protein, vitamin E serta vitamin C. Fenol dan flavonoid merupakan komponen utama di dalam propolis yang terdapat di dalam resin.

Fenol dan flavonoid merupakan zat yang memiliki kemampuan antioksidan tinggi. Salah satu ikatan fenol yang ada dalam propolis yaitu *Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)* yang merupakan sisi aktif flavonoid mampu memaksimalkan aktivitas *scavenger* terhadap radikal bebas. Penelitian di Jepang menunjukkan bahwa kandungan *Caffeic acid* di dalam propolis mempunyai aktivitas antioksidan tinggi, yang dapat meningkatkan ekspresi *glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)* yang didapat dari ekspresi gen antioksidan, lebih kuat dibandingkan vitamin E. *Caffeic acid* mempunyai aktivitas antioksidan 4-6 kali lebih kuat terhadap radikal bebas dibandingkan vitamin C dan *N-acetyl-cystein (NAC)* (Nakajima *et al.*, 2009).

Aktivitas antioksidan senyawa fenol meliputi *scavenging* atau pembersihan radikal bebas (superoksida, hidroksil, dan hydrogen peroksida) dan mengeliminasi ion logam berat (besi, tembaga). Aktivitas antioksidan fenol serupa dengan aktivitas enzim antioksidan tubuh dalam melawan radikal bebas. Efek anti oksidan propolis berperan dalam pencegahan risiko penyakit diabetes mellitus (Taebe *et al.*, 2012).

##### b. Anti inflamasi

Propolis telah terbukti memiliki manfaat sebagai anti inflamasi. Kemampuan anti inflamasi propolis berasal dari kandungan flavonoid dan *Caffeic Acid Phenethyl Ester (CAPE)*. Flavonoid menghambat aktivitas enzim *Cyclooxygenase (COX)* dan aktivitas *lipo-oxygenase*. *CAFE* mempunyai aktivitas antiinflamasi dengan menghambat pengeluaran asam arakidonat pada membran sel, sehingga menekan

aktivasi *Cyclooxygenase-1* (COX-1), *Cyclooxygenase-2* (COX-2), serta menghambat ekspresi gen dari COX-2 (Martoz *et al.*, 2008).

c. Anti bakteri

Propolis memiliki manfaat sebagai anti bakteri yang bekerja pada bakteri gram positif dan gram negative, seperti *mycobacterium tuberculosis*, *mycobacterium avium*, *staphylococcus epidermis*, *streptococcus piogenes*. Kemampuan anti bakteri propolis berasal dari kandungan asam aromatik dan esternya, flavonoid dan CAPE. Flavonoid bekerja pada membrane sel bakteri dengan cara mengganggu sintesis ATP, mengganggu transport pada membrane sel bakteri, dan menyebabkan kematian sel bakteri (Lotfy, 2006).

d. Anti hiperlipidemia

Propolis terbukti memiliki kemampuan dalam menurunkan kadar LDL dan kolesterol total, serta meningkatkan kadar HDL di dalam serum darah (Abdulbasit *et al.*, 2013). Kemampuan anti hiperlipidemia propolis berasal dari kandungan flavonoid. Flavonoid berperan dalam menurunkan kadar kolesterol total darah dengan cara menurunkan aktivitas HMG-KoA reduktase, menurunkan aktivitas enzim *acyl-CoA cholesterol acyltransferase* (ACAT), dan menurunkan absorpsi kolesterol di saluran pencernaan. Kemampuan anti hiperlipidemia propolis berperan dalam menurunkan risiko penyakit kardiovaskular dan komplikasi lain pada penyakit diabetes (Rumanti, 2011).

e. Efek perlindungan terhadap hepar

Propolis terbukti mampu memberikan perlindungan terhadap hepar dari kerusakan. Hal ini ditandai dengan penurunan kadar serum ALT dan AST, yang merupakan indikator dari hepatotoxicity dan digunakan sebagai biomarker dari kerusakan akut pada hepar. Kemampuan perlindungan hepar berkaitan dengan kemampuan antioksidan yang berasal dari kandungan flavonoid di dalam propolis (Abdulbasit *et al.*, 2013).

## 2.2 Sidestream Cigarette Smoke (SCS)

*Sidestream Cigarette Smoke* (SCS) merupakan asap yang berasal dari ujung rokok yang terbakar. SCS menjadi salah penyebab timbulnya polusi udara yang disebut *Environment Tobacco Smoke* (ETS) (Haris *et al.*, 2014). SCS yang terdapat di dalam *Environment Tobacco Smoke* (ETS) sekitar 85 % dan 15% sisanya adalah MCS (Penn dan Snyder, 1993). SCS mengandung > 400 zat di dalam rokok yang mampu menimbulkan ROS selama dimetabolisme oleh tubuh. Sebagian besar sumber utama ROS berasal dari fase gas dan tar rokok. Pada fase tar terdapat 4 jenis radikal bebas dalam asap rokok, salah satunya adalah *semiquinone*. *Semiquinone* mampu mengurangi  $O_2$  untuk membentuk *Superoxide* ( $O_2^-$ ). Selain *semiquinone*, asap rokok menghasilkan *Nitrid Oxide* (NO). NO merupakan salah satu jenis ROS terbesar yang terkandung di dalam rokok yaitu sebanyak 500 ppm. NO bereaksi dengan  $O_2$  membentuk *peroksinitrite* ( $ONOO^-$ ) dan menimbulkan *alkil peroxynitrite* (ROONO) jika bereaksi dengan radikal peroxy organik. Kedua zat tersebut merupakan mediator penting dalam kerusakan sistem biologis yang meningkatkan risiko penyakit paru dan kardiovaskular. SCS juga mampu menginduksi ROS endogen seperti anion superoksida, hydrogen peroksida, dan radikal hidroksil yang dapat meningkatkan stres oksidatif intraseluler (Danusantoso, 2003; Zhang *et al.*, 2001).

SCS juga menghasilkan zat-zat beracun yang berbahaya kesehatan, seperti zat nitrosamine, hidrokarbon aromatic, dan polinuklear lebih banyak dibandingkan MCS. Hal ini disebabkan karena SCS tidak berkurang oleh filter rokok (Penn dan Snyder, 1993). Nikotin adalah minyak alkaloid yang dapat mempengaruhi system saraf pusat sebagai stimulan atau penenang. Zat yang terkandung di dalam nikotin bersifat adiktif. Tar adalah senyawa polinuklir hidrokarbon aromatik yang bersifat karsinogenik. Karbon monoksida (CO) adalah gas yang tidak berwarna dan tidak berbau. Karbon monoksida dan nikotin dapat mempengaruhi kerja jantung, sehingga jantung membutuhkan oksigen lebih banyak (Syamsuddin, 2014).



## 2.3 Glukosa Darah

### 2.3.1 Definisi dan Fungsi Glukosa Darah

Glukosa darah merupakan sejumlah glukosa hasil interkonversi monosakarida (fruktosa dan galaktosa) dari pencernaan karbohidrat di dalam hati atau yang berasal dari pemecahan glikogen hati dan diwakili dalam miligram glukosa per desiliter darah, serta digunakan untuk memenuhi kebutuhan energi oleh sebagian besar jaringan tubuh (Guyton dan Hall, 2007; Farlex, 2012). Glukosa merupakan jenis monosarida yang paling banyak beredar di dalam darah ( $\pm 95\%$ ) dibandingkan monosakarida lain. Hal ini disebabkan karena sejumlah fruktosa dan galaktosa diubah menjadi glukosa di dalam hati untuk disimpan dalam bentuk glikogen sebanyak 1-3% dari masa hati dan sisanya diedarkan kembali ke dalam darah untuk diangkut ke jaringan tubuh seperti otot, lemak, dan otak untuk menyediakan energi (Guyton dan Hall, 2007). Penyediaan energi oleh glukosa melalui proses oksidasi dengan mensintesis molekul adenosine triphosphate (ATP), yang merupakan molekul-molekul dasar penghasil energi di dalam tubuh (Irawan, 2007).

### 2.3.2 Kadar Glukosa Darah

Kadar glukosa darah normal waktu puasa sebesar 80-90 mg/dl, kadar ini meningkat menjadi 120 sampai 140 mg/dl dalam waktu satu jam setelah makan. Kadar glukosa darah yang tinggi setelah makan akan disimpan di hati dalam bentuk glikogen. Hati merupakan tempat metabolik primer pengatur konsentrasi glukosa yang normal dalam darah, sehingga kadar glukosa darah yang turun selama beberapa jam setelah makan menyebabkan hati memecah glikogennya menjadi glukosa untuk diedarkan kembali ke dalam darah (Guyton dan Hall, 2007). Kadar glukosa darah normal pada tikus lebih rendah dibandingkan manusia karena adanya adaptasi progresif tikus pada diet tinggi lemak. Kadar glukosa darah normal tikus waktu puasa yaitu 50-109 mg/dL (Madhira *et al.*, 2012; Murray, 2003).

### 2.3.3 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kadar Glukosa Darah

Beberapa faktor yang mempengaruhi kadar glukosa darah seseorang diantaranya (Trisnawati dan Setyorogo, 2013) :

#### a. Faktor Makanan

Adanya pergeseran pola makan yaitu mengkonsumsi makanan yang mengandung banyak karbohidrat dan lemak menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah. Kadar kolestrol tinggi menyebabkan meningkatnya asam lemak bebas sehingga terjadi lipotoksicity. Hal ini akan menyebabkan kerusakan sel beta pankreas sehingga sensitivitas insulin terganggu yang berakibat pada peningkatan kadar glukosa darah.

#### b. Faktor Lingkungan dan Gaya hidup

Faktor-faktor lingkungan dan gaya hidup yang dapat mempengaruhi kadar glukosa darah adalah kurangnya aktivitas fisik, tekanan darah tinggi, dan paparan asap rokok. Aktivitas fisik dapat mengontrol glukosa darah. Glukosa akan diubah menjadi energi pada saat beraktivitas fisik. Aktivitas fisik mengakibatkan insulin semakin meningkat sehingga kadar gula dalam darah akan berkurang. Hipertensi berkaitan dengan resistensi insulin dan gangguan pengangkutan glukosa dari darah ke jaringan yang disebabkan oleh penebalan pembuluh darah arteri sehingga diameter pembuluh darah menyempit. Berdasarkan penelitian Lestari (2013) terdapat hubungan peningkatan kadar glukosa darah yang disebabkan oleh paparan asap rokok karena menimbulkan resistensi insulin.

#### c. Faktor Stres

Kondisi stres emosional dan fisik dapat mempengaruhi kadar glukosa darah yang disebabkan oleh produksi hormon kortisol. Hormon kortisol memiliki kemampuan merangsang proses glukogeneogenesis, yaitu pembentukan glukosa dari protein dan beberapa zat lain oleh hati sehingga meningkatkan kadar glukosa dalam darah.

#### d. Faktor Usia

Kadar glukosa darah dapat dipengaruhi oleh faktor usia, khususnya usia diatas 40 tahun. Hal ini disebabkan karena pada usia tersebut terjadi peningkatan intoleransi glukosa. Adanya proses penuaan menyebabkan berkurangnya kemampuan sel  $\beta$  pankreas dalam memproduksi insulin serta penurunan aktivitas *mitokondria* di sel-sel otot sebesar 35%. Hal ini berhubungan dengan peningkatan kadar lemak di otot sebesar 30% dan memicu terjadinya resistensi insulin.

#### 2.3.4 Hormon yang Mengatur Kadar Glukosa Darah

Pengaturan kadar glukosa darah dipengaruhi oleh beberapa hormon, yaitu :

##### a. Hormon Insulin

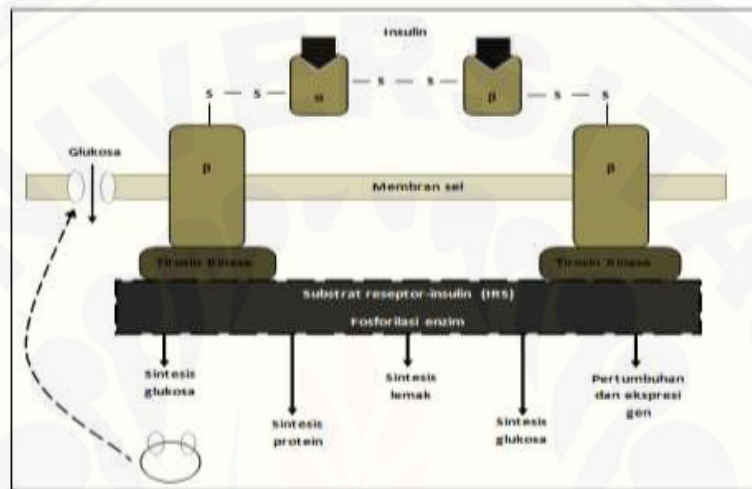
Tingginya kadar glukosa darah setelah makan menyebabkan insulin disekresikan dalam jumlah tinggi ke dalam darah oleh sel beta pulau-pulau langerhans pankreas. Insulin berperan meningkatkan kecepatan ambilan glukosa oleh hampir semua jaringan tubuh, terutama jaringan hati, otot, dan jaringan adipose. Kecepatan ambilan glukosa ditimbulkan oleh ikatan antara insulin dengan reseptornya pada organ target (Guyton dan Hall, 2007).

Reseptor insulin merupakan suatu kombinasi empat subunit yang dihubungkan oleh ikatan disulfida yaitu dua subunit alfa dan dua subunit beta. Insulin berikatan dengan subunit alfa di bagian luar membran sel dan subunit alfa berikatan dengan subunit beta di bagian sitoplasma sel sehingga mengalami autofosforilasi.

Autofosforilasi subunit beta di reseptor mengaktifkan tirosin kinase setempat dan menimbulkan fosforilasi berbagai enzim intrasel lain, seperti substrat reseptor-insulin (IRS). Protein IRS mengaktifasi protein glukosa transporter (GLUT). GLUT memfasilitasi pengangkutan glukosa ke dalam sel, terutama sel hati, otot, dan jaringan adiposa tetapi tidak terjadi pada sebagian besar sel neuron di otak (Guyton, 2007).

Glukosa disimpan disimpan dalam bentuk glikogen hati sebanyak 5-6 % dari massa hati dan glikogen otot sebanyak 2-3 % dari massa otot. Kelebihan glukosa yang tidak dapat disimpan dalam bentuk glikogen hati, disimpan dalam bentuk lemak

di dalam jaringan adipose. Pengangkutan sejumlah besar glukosa oleh sel otot dalam waktu beberapa jam setelah makan. Pada saat ini konsentrasi glukosa darah tinggi dan pankreas mensekresikan sejumlah besar insulin. Insulin menyebabkan peningkatan transpor glukosa ke dalam sel otot (Guyton dan Hall, 2007).



Gambar 2.2 skema reseptor insulin (Sumber : Guyton dan Hall, 2007)

#### b. Hormon Glukagon dan Epinefrin

Penurunan kadar glukosa darah akibat kondisi stres, aktivitas fisik berat, dan kelaparan merangsang sekresi glukagon oleh sel alfa pulau-pulau langerhans pankreas. Glukagon memiliki fungsi berlawanan dengan insulin, yaitu meningkatkan kadar glukosa darah kembali ke nilai normalnya. Glukagon mampu meningkatkan glukosa darah melalui mekanisme glukogenolisis dan glukoneogenesis. Glukogenolisis merupakan pemecahan glikogen hati menjadi glukosa melalui aktivasi enzim fosforilase. Glukagon mampu menghasilkan glukosa darah melalui glukogenolisis dalam waktu beberapa menit. (Guyton dan Hall, 2007). Glukoneogenesis merupakan produksi glukosa dari asam amino. Glukagon meningkatkan proses glukoneogenesis dengan cara meningkatkan kecepatan ambilan asam amino oleh sel hati untuk dirubah menjadi glukosa.

Epinefrin merupakan hormon yang disekresikan oleh medula adrenal pada kondisi hipoglikemia berat, yaitu kadar glukosa rendah dalam hipotalamus sehingga merangsang system saraf simpatis. Epinefrin mempunyai efek yang sangat kuat dalam pemecahan glikogen hati menjadi glukosa untuk diedarkan ke dalam darah dalam waktu beberapa menit (Guyton dan Hall, 2007).

#### c. Hormon Glukokortikoid

Kadar glukosa darah yang rendah dalam waktu beberapa jam atau hari akibat kondisi stres merangsang pengeluaran *corticotrophin releasing factor* (CRF) dari hipotalamus. CRF melalui sumbu *hypothalamus pituitary adrenal* (HPA) memicu pelepasan hormon *adrenocorticotropin hormone* (ACTH) dari kelenjar pituitary. Hormon ini mengikuti aliran darah mencapai kelenjar adrenal. Hormon ACTH bereaksi dengan korteks adrenal memicu sekresi hormon glukokortikoid (terutama kortisol) ke dalam aliran darah (Guyton dan Hall, 2007).

Hormon glukokortikoid memiliki kemampuan merangsang proses glukogeneogenesis, yaitu pembentukan glukosa dari protein dan beberapa zat lain oleh hati. Glukokortikoid merangsang pembentukan glukosa dengan cara meningkatkan enzim-enzim yang dibutuhkan untuk mengubah asam amino menjadi glukosa dan menyebabkan pengangkutan asam amino dari jaringan ekstrahepatik terutama dari otot ke dalam plasma untuk masuk dalam proses glukogeneogenesis di hati, sehingga meningkatkan pembentukan glukosa. Glukosa yang dihasilkan dari pemecahan asam amino akan diedarkan ke dalam darah untuk menjaga kadar glukosa yang normal, namun hormon ini menyebabkan penurunan sensitivitas banyak jaringan, terutama jaringan otot dan jaringan lemak. Hal ini menyebabkan penurunan sensitivitas jaringan terhadap efek perangsangan insulin pada ambilan dan pemakaian glukosa (Guyton dan Hall, 2007).

#### 2.3.5 Pengaruh SCS terhadap Kadar Glukosa Darah

SCS merupakan penghasil ROS eksogen dan endogen dalam jumlah tinggi yang berbahaya bagi kesehatan (Danusantoso, 2003). Radikal bebas yang dihasilkan

memiliki ukuran partikel lebih kecil sehingga mudah masuk ke dalam tubuh secara inhalasi (Syamsuddin, 2014). Tingginya jumlah ROS di dalam tubuh menyebabkan ketidakseimbangan antioksidan endogen tubuh untuk memusnahkannya, sehingga menimbulkan kondisi stres oksidatif (Setiawan dan Suhartono, 2005). Sel hati merupakan jaringan utama yang menjadi sasaran kerusakan oleh ROS, karena sel hati merupakan tempat terjadinya proses metabolisme senyawa xenobiotik (Ernawati, 2006). Stres oksidatif yang terjadi pada sel hati disebabkan karena menurunnya fungsi enzim-enzim antioksidan tubuh seperti glutathione peroxidase, superoksida dismutase, dan katalase (Kim *et al.*, 2008).

ROS menyebabkan kerusakan pada sel dengan bereaksi dengan asam lemak tak jenuh penyusun membrane sel. Kerusakan pada struktur membrane sel memberikan dampak pada kerusakan pada tingkat sel yang lebih dalam yaitu DNA mitokondria (Ernawati, 2006). Hal ini menyebabkan peningkatan pembentukan ROS di mitokondria dan penurunan fungsi enzim antioksidan tubuh sehingga menimbulkan kondisi stres oksidatif. Stres oksidatif akan memicu sinyal sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  yang akan mengaktifkan IKK $\beta$  yaitu serin kinase yang mampu memfosforilasi dan mendegradasi protein *insulin receptor substrat* (IRS) sehingga menurunkan sinyal metabolik melalui penghambatan sinyal insulin dan terjadi resistensi insulin (Kim *et al.*, 2008; Widowati, 2008). Resistensi insulin merupakan suatu kondisi yang berhubungan dengan kegagalan jaringan target yang secara normal merespon aktivitas hormon insulin (Guyton dan Hall, 2007). Hati dan otot merupakan jaringan utama dalam pengaturan kadar glukosa darah. Resistensi insulin pada sel otot mengurangi ambilan glukosa akibat penurunan ekspresi *glucose transporter-4* (GLUT-4) pada membrane sel serta menurunkan penyimpanan glukosa dalam bentuk glikogen (Sing *et al.*, 2009). Resistensi insulin pada sel hati mengurangi ambilan glukosa akibat penurunan ekspresi *glucose transporter-2* (GLUT-2) pada membrane sel, menurunkan penyimpanan glukosa sebagai glikogen, dan kegagalan dalam menekan produksi glukosa hati sehingga meningkatkan kadar glukosa darah (Guyton dan Hall, 2007).

### 2.3.6 Manfaat Propolis terhadap Kadar Glukosa Darah

Propolis mampu menurunkan hiperglikemia karena mengandung zat-zat seperti flavonoid, fenol, serta vitamin E yang merupakan antioksidan tinggi di dalam propolis. Efek anti oksidan dari flavonoid memberikan perlindungan pada sel hati dari kerusakan yang ditimbulkan oleh ROS. Flavonoid memaksimalkan aktivitas *scavenger* atau pembersihan terhadap radikal bebas dengan cara menurunkan aktivitas ROS dan mengaktifkan kembali enzim antioksidan tubuh, seperti *Glutation Peroksidase* (GSH) (Abdelghany *et al.*, 2012). Salah satu ikatan fenol yang ada dalam propolis yaitu *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE). CAPE merupakan sisi aktif flavonoid yang bekerja untuk memaksimalkan aktivitas *scavenger* terhadap radikal bebas, dengan cara menurunkan aktivitas radikal hidroksil sehingga tidak terlalu reaktif lagi, melalui tiga tahap yaitu mencegah proses inisiasi, melalui proses scavenger terhadap radikal hidroksil melalui reaksi yang melibatkan transfer elektron dan mungkin pula eliminasi logam berat, memutuskan reaksi berantai peroksidatif dengan menstabilkan radikal peroksil, membentuknya menjadi *peroxide* dengan mendonorkan atom hidrogen (H), dan regenerasi  $\alpha$ -tocopherol dengan mengurangi radikal  $\alpha$ -tocopheroxyl.

Penelitian di Jepang menunjukkan bahwa kandungan *Caffeic acid* di dalam propolis mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi, yang dapat meningkatkan ekspresi *glucose-6-phosphate dehydrogenase* (G6PD) yang didapat dari ekspresi gen antioksidan, lebih kuat dibandingkan vitamin E. *Caffeic acid* mempunyai aktivitas antioksidan 4-6 kali lebih kuat terhadap radikal bebas dibandingkan vitamin C dan *N-acetyl-cystein* (NAC) (Nakajima *et al.*, 2009).

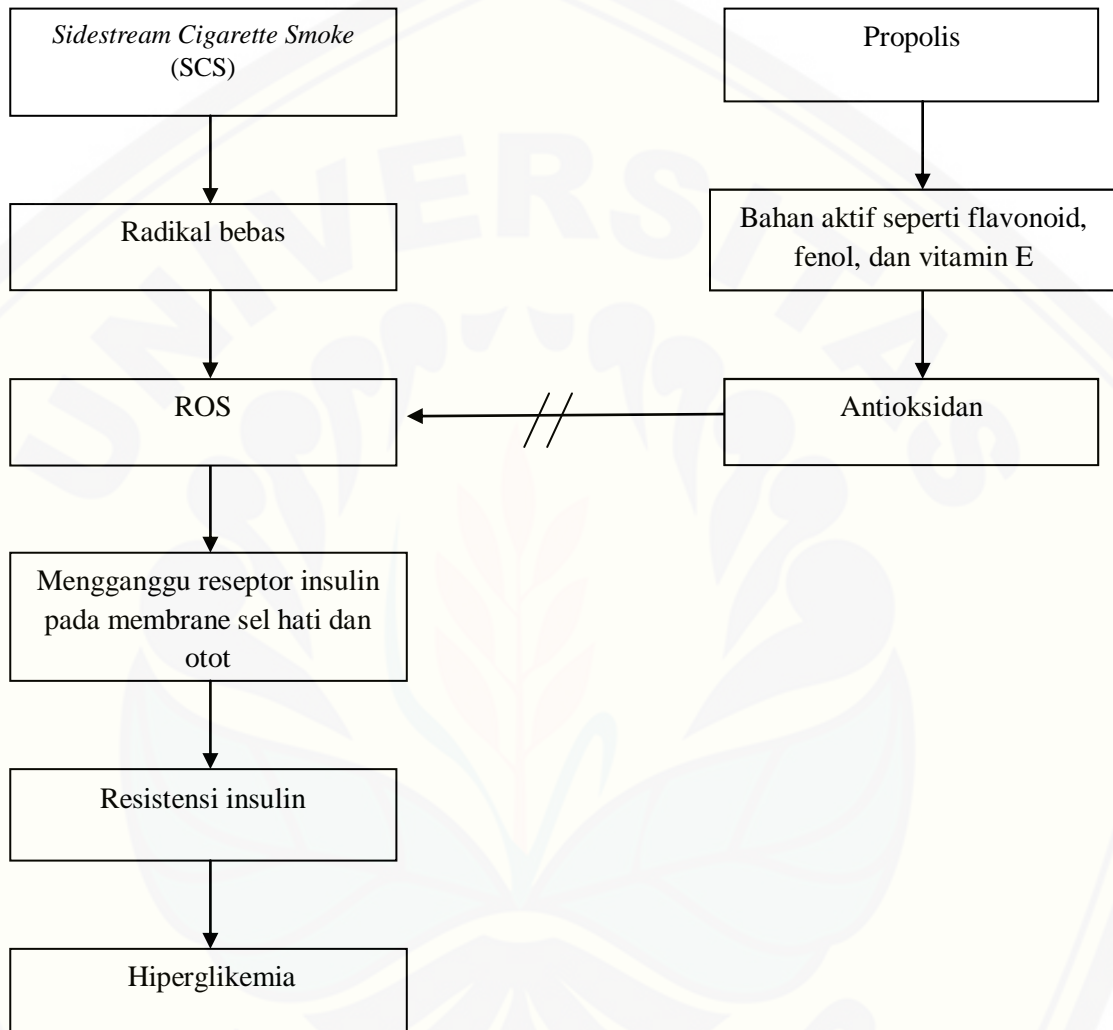
Efek anti oksidan propolis terhadap ROS memberikan manfaat dalam meningkatkan sensitivitas reseptor insulin pada sel hati dan otot yang berdampak pada penurunan resistensi insulin. Ikatan antara insulin dengan reseptornya pada membrane sel hati dan otot meningkatkan kecepatan ambilan glukosa ke dalam sel dan mengatur aktivitas beberapa enzim di dalam sel hati yang berpengaruh terhadap penekanan produksi glukosa hati sehingga mampu menurunkan kadar glukosa darah.

Penurunan kadar glukosa darah yang terjadi juga disebabkan karena kandungan vitamin E (tokoferol) yang berfungsi sebagai antioksidan. Vitamin E memperbaiki potensi system pertahanan radikal bebas dan memiliki efek menguntungkan dalam perbaikan sensitivitas reseptor insulin pada jaringan tubuh terhadap insulin (Setiawan dan Suhartono, 2005).





## 2.4 Kerangka Konseptual Penelitian



Gambar 2.3 Skema kerangka konseptual

## 2.5 Penjelasan Kerangka Konseptual Penelitian

SCS merupakan sumber ROS endogen dan eksogen dalam jumlah tinggi yang berbahaya bagi kesehatan. Radikal bebas yang dihasilkan memiliki ukuran partikel lebih kecil sehingga mudah masuk ke dalam tubuh secara inhalasi. Tingginya jumlah ROS di dalam tubuh menyebabkan ketidakseimbangan anti oksidan endogen tubuh untuk memusnahkannya, sehingga menimbulkan kondisi stres oksidatif. Stres oksidatif akan memicu sinyal sitokin proinflamasi seperti TNF- $\alpha$  yang akan mengaktifkan IKK $\beta$  yaitu serin kinase yang mampu memfosforilasi dan mendegradasi protein *insulin receptor substrat* (IRS) sehingga menurunkan sinyal metabolik melalui penghambatan sinyal insulin dan terjadi resistensi insulin. Resistensi insulin merupakan suatu kondisi yang berhubungan dengan kegagalan jaringan target yang secara normal merespon aktivitas hormon insulin. Hati dan otot merupakan jaringan utama dalam pengaturan kadar glukosa darah. Resistensi insulin pada sel otot mengurangi ambilan glukosa akibat penurunan ekspresi *glucose transporter-4* (GLUT-4) pada membrane sel serta menurunkan penyimpanan glukosa dalam bentuk glikogen (Sing *et al.*, 2009). Resistensi insulin pada sel hati mengurangi ambilan glukosa akibat penurunan ekspresi *glucose transporter-2* (GLUT-2) pada membrane sel, menurunkan penyimpanan glukosa sebagai glikogen, dan kegagalan dalam menekan produksi glukosa hati sehingga meningkatkan kadar glukosa darah.

Propolis mampu menurunkan hiperglikemia karena mengandung zat-zat seperti flavonoid, fenol, serta vitamin E yang merupakan antioksidan tinggi di dalam propolis. Efek anti oksidan dari flavonoid memberikan perlindungan pada sel hati dari kerusakan yang ditimbulkan oleh ROS. Flavonoid memaksimalkan aktivitas *scavenger* atau pembersihan terhadap radikal bebas dengan cara menurunkan aktivitas ROS dan mengaktifkan kembali enzim antioksidan tubuh, seperti *Glutation Peroksidase* (GSH). Salah satu ikatan fenol yang ada dalam propolis yaitu *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE). CAPE merupakan sisi aktif flavonoid yang bekerja untuk memaksimalkan aktivitas *scavenger* terhadap radikal bebas, dengan cara

menurunkan aktivitas radikal hidroksil sehingga tidak terlalu reaktif lagi. Efek anti oksidan propolis terhadap ROS memberikan manfaat dalam meningkatkan sensitivitas reseptor insulin pada sel hati dan otot yang berdampak pada penurunan resistensi insulin. Ikatan antara insulin dengan reseptornya pada membran sel hati dan otot meningkatkan kecepatan ambilan glukosa ke dalam sel dan mengatur aktivitas beberapa enzim di dalam sel hati yang berpengaruh terhadap penekanan produksi glukosa hati sehingga mampu menurunkan kadar glukosa darah.

## **2.6 Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan tinjauan pustaka dapat ditarik hipotesis, pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan setelah dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*.

## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Jenis Penelitian**

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *post-test only control group design*.

### **3.2 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini di laksanakan di Laboratorium Fisiologi Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi, dan Lab. Biokimia, Fakultas Kedokteran Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2014 - Maret 2015.

### **3.3 Identifikasi Variabel Penelitian**

#### **3.3.1 Variabel Bebas**

Pemberian ekstrak propolis.

#### **3.3.2 Variabel Terikat**

Kadar glukosa darah tikus wistar jantan.

#### **3.3.3 Variabel Terkendali**

- a. Makanan dan minuman hewan coba;
- b. Cara pemeliharaan hewan coba;
- c. Durasi paparan *sidestream smoke*;
- d. Teknik pemeriksaan kadar glukosa darah.

### 3.4 Definisi Operasional Penelitian

#### 3.4.1 *Sidestream Cigarette Smoke* (SCS)

SCS adalah asap yang keluar dari ujung rokok kretek berfilter (Gudang Garam Kretek Filter, Kediri, Indonesia) yang dibakar. Pada penelitian ini SCS yang dihasilkan dengan cara meletakan rokok menyala dalam tabung yang berada dibawah *acrylic chamber* tertutup berukuran 30x30x30 cm<sup>3</sup>. Rokok diletakan pada ujung *chipblower* yang digunakan sebagai alat bantu penghasil SCS (per satu menit dilakukan pemompaan). Pemaparan dilakukan selama 20 menit/hari dengan setiap 5 menit paparan diberi waktu jeda (tanpa paparan) selama 3 menit.

#### 3.4.2 Kadar glukosa darah

Kadar glukosa darah merupakan kadar glukosa darah hewan coba setelah subjek dipuasakan selama  $\pm$  10 jam dan diukur menggunakan metode GOD-PAP (*Glucose Oxidase-Phenol 4-Aminoantipirin*). Hasil akhir yang diperoleh dalam satuan mg/dL.

#### 3.4.3 Ekstrak propolis

Pada penelitian ini menggunakan ekstrak propolis dalam bentuk cair dengan konsentrasi sebesar 90%, diproduksi oleh *Herbal Science* Malaysia yang didistribusikan oleh PT. Melia Sehat Sejahtera dengan merk dagang Melia Propolis. Propolis diberikan dengan dosis 4,5  $\mu$ L propolis dicampur dengan 3,6 ml air.

### 3.5 Populasi dan Sampel Penelitian

#### 3.5.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus wistar (*Rattus Norvegicus*) dengan jenis kelamin jantan.

### 3.5.2 Kriteria Hewan Coba

Hewan Coba diambil secara acak dari populasi tikus wistar dengan kriteria:

- a. Jenis kelamin jantan,
- b. Berat 200-250 gr,
- c. Usia 3 bulan,
- d. Tikus dalam keadaan sehat.

### 3.5.3 Besar Sampel

Menurut Daniel (1995), rumus yang digunakan untuk menentukan besar sampel jika populasi tidak terbatas sebagai berikut :

$$n = \frac{Z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n = besar sampel tiap kelompok

$\sigma$  = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditolerir, diasumsikan  $\sigma = d$

Z = nilai pada tingkat kesalahan tertentu, jika  $\alpha = 0,05$  maka  $z = 1,96$

Berdasarkan rumus tersebut didapat besar sampel 4 ekor hewan coba pada tiap kelompok (Lampiran A).

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini dikelompokkan menjadi 3 kelompok, yaitu :

- a. Kelompok kontrol

Tikus hanya berada di dalam kandang pemeliharaan dan tidak diberi paparan SCS dan diberi akuades steril dua kali sehari secara oral sebesar 3,6 selama 8 hari.

b. Kelompok perlakuan 1

Dipapar SCS rokok selama 20 menit/hari dan diberi akuades steril dua kali sehari secara oral sebesar 3,6 ml selama 8 hari.

c. Kelompok perlakuan 2

Diapapar SCS rokok selama 20 menit/hari dan diberi ekstrak propolis dua kali sehari, secara oral dengan dosis 4,5  $\mu$ L ekstrak propolis dalam 3,6 ml air selama 8 hari.

### 3.6 Alat dan Bahan Penelitian

#### 3.6.1 Alat- alat penelitian

- a. Masker (*Diapro*),
- b. Sarung tangan (*Latex*),
- c. Kandang pemeliharaan,
- d. Timbangan untuk menimbang tikus (*Neraca Ohaus, Germany*),
- e. Gunting,
- f. Isolasi bening,
- g. Autoklaf,
- h. chipblower,
- i. *Acrylic chamber* ukuran 30x30x30 cm<sup>2</sup>,
- j. Stopwatch (*Diamond, Cina*),
- k. Alat sondasi,
- l. Tabung vial 12 ml,
- m. Mikropipet 100  $\mu$ l dan 1000  $\mu$ l (*eppendorf*),
- n. Disposable syringe (*Terumo, Japan*),
- o. Papan tabung reaksi,
- p. Botol anastesi,
- q. papan fiksasi,
- r. Centrifuge (*Mega 17 R*),

- s. Microtube (*eppendorf*),
- t. Tabung mikrohematokrit,
- u. Tabung reaksi dan rak tabung reaksi,
- v. *Vortex*,
- w. Spektrofotometer (*Genesys 20, Germany*).

### 3.6.2 Bahan Penelitian

- a. Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan,
- b. Makanan dan minuman tikus wistar yang beredar dipasaran,
- c. Rokok Gudang Garam Kretek Filter, Kediri, Indonesia,
- d. Ekstrak Propolis cair dengan merk Melia Propolis,
- e. Akuades steril,
- f. *Chloroform*,
- g. Alkohol 70%

## 3.7 Prosedur Penelitian

### 3.7.1 Ethical Clearance

Penelitian ini dilakukan berdasarkan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.

### 3.7.2 Tahap Persiapan Hewan coba

Hewan coba diadaptasikan terhadap lingkungan kandang di laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember selama satu minggu, diberi makan standard an air minum secara *ad libitum* (sesukanya) dan ditimbang kemudian dikelompokan secara acak. Tikus wistar (*Rattus norvegicus*) yang sesuai kriteria hewan coba dan telah dipilih secara acak ditempatkan pada sebuah kandang dengan ketentuan satu kandang diisi satu ekor tikus.



### 3.7.3 Penentuan Dosis Propolis

Dosis yang akan digunakan adalah dosis berdasarkan saran penyajian pada kemasan propolis yaitu 5 tetes.

Dosis untuk manusia yaitu 5 tetes dicampur dengan 200 cc air (1 tetes = 0,05 ml).

Dosis untuk hewan coba yaitu dosis untuk manusia x 0,018

$$\begin{aligned}\text{Propolis} &= 0,025 \text{ ml} \times 0,018 \\ &= 0,0045 \text{ ml} = 4,5 \mu\text{L}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Air} &= 200 \text{ cc} \times 0,018 \\ &= 3,6 \text{ cc}\end{aligned}$$

Jadi dosis pemberian pada hewan coba adalah propolis 4,5  $\mu\text{L}$  dicampur dengan 3,6 cc air. Diberikan dua kali sehari secara oral.

### 3.7.4 Tahap Pemberian Ekstrak Propolis

Ekstrak propolis diberikan peroral dengan sonde. Ekstrak diberikan dua kali sehari peroral secara bertahap, 2 ml pertama kemudian ditunggu  $\pm 1$  menit lalu diberikan 1,6 ml untuk menghindari sensasi muntah oleh hewan coba. Pemberian propolis dilakukan selama 8 hari.

### 3.7.5 Tahap Pengambilan Sampel Darah

Hewan coba dianastesi secara inhalasi dengan *chloroform* (*chloroform* diteteskan pada kapas) sampai terlihat hewan coba teranastesi. Setelah itu hewan difiksasi dan dilakukan pembedahan sampai organ jantung terlihat, kemudian darah diambil secara intrakardial menggunakan disposable syringe sebanyak  $\pm 3$  ml. Darah yang telah diambil ditampung di dalam mikrotube (*ependorf*) yang bersih dan kering.

### 3.7.6 Tahap Penghitungan Kadar Glukosa Darah

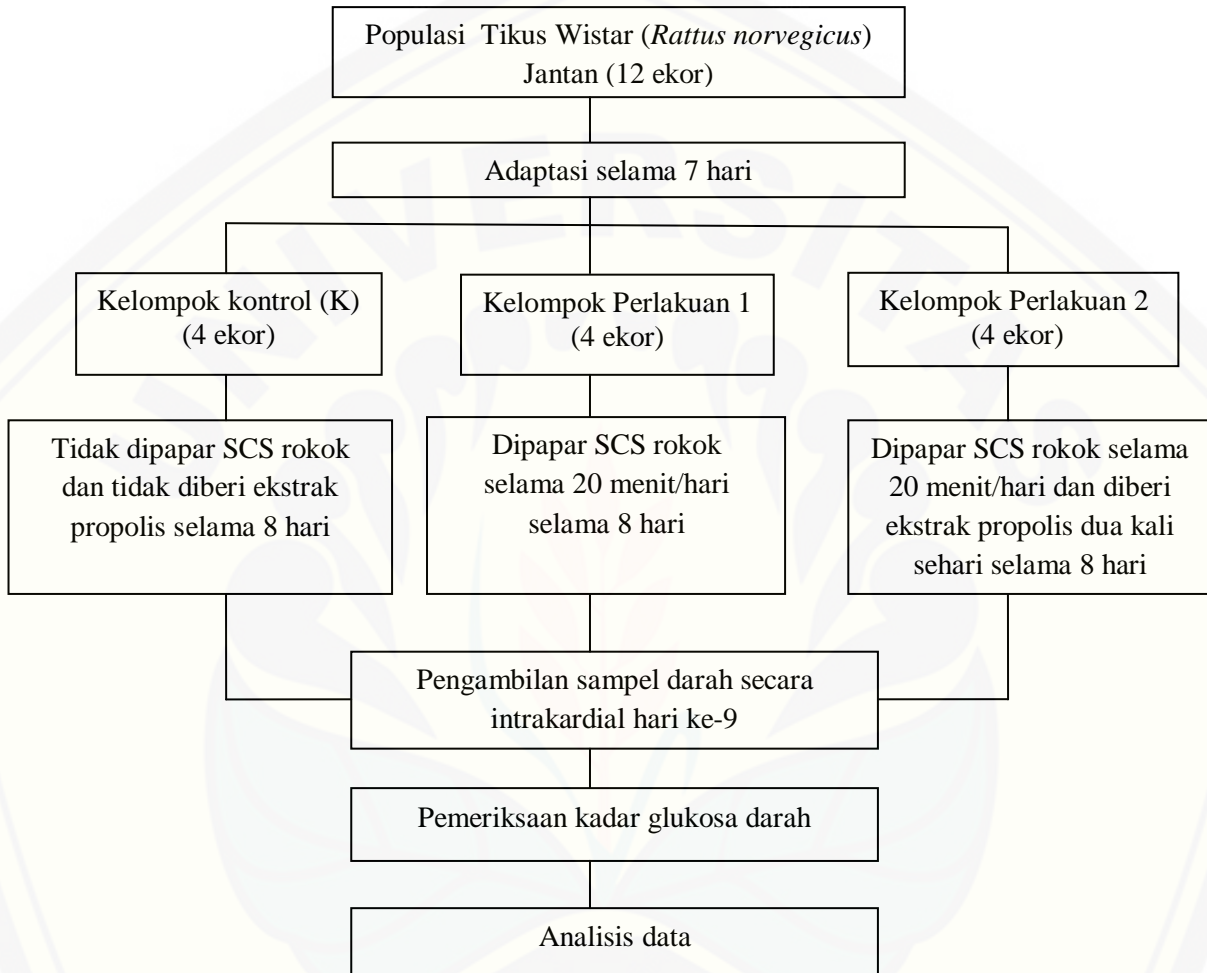
Sampel darah dilakukan pengukuran kadar glukosa darah dengan metode GOD-PAP (*Glucose Oxidase-Phenol 4-Aminoantipirin*) prinsip pengujian secara

*enzymatic photometric test*. Sampel darah kemudian dimasukkan ke dalam *centrifuge* (5000 rpm) selama 15-20 menit dalam suhu 37<sup>0</sup>C. Setelah terbentuk lapisan darah merah dan serum, serum diambil menggunakan mikropipet dan ditempatkan di dalam tabung reaksi yang telah diberi tanda. Serum kemudian dicampur dengan *reagent* glukosa dengan alat bantu *vortex* supaya homogen dan didiamkan selama ±10 menit pada suhu 37<sup>0</sup>C. Reagent yang digunakan *glucose FS (DiaSys, Hilzeim germany)*. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam mesin spektrofotometer dan diproses selama ± 30 detik, kemudian hasil dapat terbaca pada layar mesin.

### 3.8 Analisis Data

Data diuji normalitas dengan uji *Kolmogrof smirnov* dan homogenitas dengan uji *levene*. Bila hasil distribusi data normal dilanjutkan dengan menggunakan uji statistik parametrik *One-way Anova* untuk mengetahui perbedaan kadar glukosa darah pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Bila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan menggunakan uji *Tukey HSD*. Uji data dilakukan dengan tingkat kemaknaan  $p < 0,05$  ( $\alpha = 0,05$ ).

### 3.9 Skema penelitian



Gambar 3.1 Skema alur penelitian

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

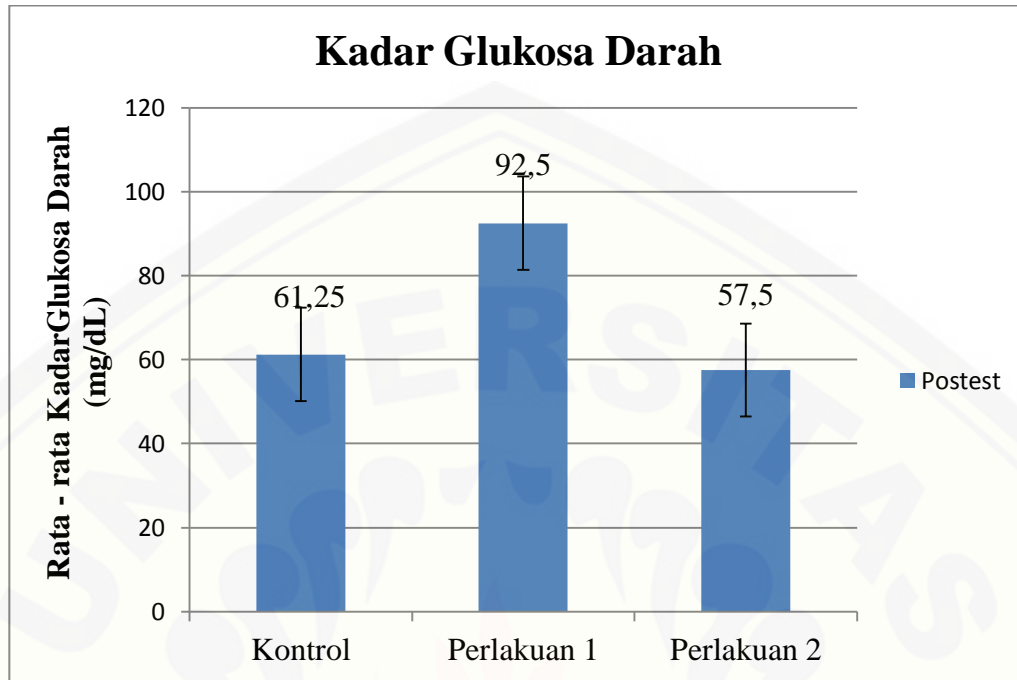
### 4.1 Hasil

Penelitian tentang “Pengaruh Pemberian Ekstrak Propolis terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Jantan Setelah Dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*” telah dilaksanakan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada Bulan Oktober 2014 - Maret 2015. Data rata-rata pengukuran kadar glukosa darah hasil penelitian disajikan pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah tikus wistar jantan (mg/dL)

Kelompok	Kontrol	Perlakuan 1	Perlakuan 2
X±SD	61,25±3,77	92,5 ± 6,24	57,5± 5,68

- Keterangan : X = Rata-rata kadar glukosa darah  
 SD = Standart Deviasi  
 Kontrol = pemberian akuades steril 3,6 ml  
 Perlakuan 1 = pemberian akuades steril 3,6 ml dan pemaparan SCS  
 Perlakuan 2 = Pemberian propolis 90% dan paparan SCS



Gambar 4.1 Diagram batang rata-rata kadar glukosa darah tiap kelompok pada hari ke 9

#### 4.2 Analisis Data

Data rata-rata hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus wistar jantan diuji normalitas dan homogenitas dengan menggunakan uji *Kolmogrov-Smirnov* dan uji *Levene*. Hasil uji normalitas dan homogenitas menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen (Lampiran E.1 dan E.2).

Hasil penelitian kemudian dilanjutkan dengan uji statistik parametrik. Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata kadar glukosa darah tikus wistar jantan ( $p < 0,05$ ) (Lampiran E.3). Hasil analisis menunjukkan terdapat perbedaan rata-rata kadar glukosa darah antara kelompok perlakuan, kecuali antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan 2.

Tabel 4.2 Hasil uji *Tukey* HSD

Perbandingan	Perbedaan	Signifikansi
Kontrol - Perlakuan 1	-31,25	0,000*
Kontrol - Perlakuan 2	3,75	0,599
Perlakuan 1 - Kontrol	31,25	0,000*
Perlakuan 1 - Perlakuan 2	35,00	0,000*
Perlakuan 2 - Kontrol	-3,75	0,599
Perlakuan 2 - Perlakuan 1	-35,00	0,000*

Keterangan : Kontrol = pemberian akuades steril 3,6 ml

Perlakuan 1 = pemberian akuades steril 3,6 ml dan paparan SCS

Perlakuan 2 = Pemberian propolis 90% dan paparan SCS

\* = Ada perbedaan signifikan ( $p < 0,05$ )

### 4.3 Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata kadar glukosa darah tertinggi terdapat pada kelompok perlakuan 1. Peningkatan kadar glukosa darah disebabkan karena pada kelompok perlakuan 1 (P1) sampel penelitian yaitu tikus wistar jantan diberi paparan *Sidestream Cigarette Smoke* (SCS). SCS merupakan penghasil ROS yang diduga dapat meningkatkan kadar glukosa darah dengan cara memicu stres oksidatif yang berdampak pada penghambatan sinyal insulin dan resistensi insulin, sehingga menyebabkan hiperglikemia.

Berdasarkan hasil penelitian antara kelompok perlakuan 2 dan kontrol diperoleh hasil tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa propolis diduga mampu menurunkan kadar glukosa darah mendekati kadar glukosa darah normal seperti pada kontrol, sedangkan antara kelompok perlakuan 2 dan kelompok perlakuan 1 hasil penelitian menunjukkan

terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok tersebut. Hal ini membuktikan bahwa propolis efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah. Peran propolis dalam menurunkan kadar glukosa darah diduga disebabkan oleh pengaruh dari senyawa aktif yang terdapat di dalam propolis, yang diduga berkaitan dengan fungsinya sebagai anti oksidan dan bekerja dengan cara mencegah stres oksidatif sehingga berdampak pada peningkatan sensitivitas jaringan terhadap insulin. Hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Abdelghany *et al* (2012) yang menyatakan bahwa propolis mampu meredam efek buruk ROS dan mencegah stres oksidatif sehingga mampu menurunkan kadar glukosa darah.

Propolis berfungsi sebagai anti oksidan yang bekerja dengan cara melakukan *scavenging* atau pembersihan terhadap ROS dan meningkatkan level anti oksidan tubuh seperti *Glutation peroksidase* (GSH), *Catalase* (CAT), dan *Superoksida dismutase* (SOD), propolis juga mampu menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$ , mampu menghambat nitrit oksida (NO) sintase sehingga radikal superoksida sebagai produk samping pembentukan nitrit oksida dapat ditekan (Hariri, 2011; Widowati, 2008). Hal ini menyebabkan propolis mampu mencegah stres oksidatif dan menurunkan kadar glukosa darah. Kemampuan anti oksidan propolis diketahui berasal dari senyawa aktif seperti flavonoid, fenol, dan vitamin E (Martoz *et al.*, 2008; Setiawan dan Suhartono, 2005).

Flavonoid dan vitamin E merupakan senyawa anti oksidan tinggi yang mampu mencegah stres oksidatif dan menurunkan kadar glukosa darah yang bekerja dengan cara meningkatkan ekspresi reseptor insulin di membran sel hati sehingga meningkatkan pengangkutan glukosa ke dalam sel. Flavonoid juga berperan dalam menstimulasi enzim glikolitik, enzim glikogenik, dan sebaliknya menghambat glukosa 6-fosfatase dalam hati sehingga menurunkan glukosa dalam darah (Winarsi *et al.*, 2011; Hariri *et al.*, 2011; Setiawan dan Suhartono, 2005).

Peran senyawa fenol dalam meredam efek buruk radikal bebas diduga disebabkan karena adanya salah satu ikatan fenol dalam propolis yaitu *Caffeid Acid*

*Phenethyl Ester* (CAPE). CAPE bekerja dengan cara menurunkan aktivitas radikal hidroksil sehingga tidak terlalu reaktif lagi (Martoz *et al.*, 2008). Penurunan jumlah radikal bebas dapat mencegah stres oksidatif sehingga memberikan dampak terhadap peningkatan sensitivitas jaringan terhadap insulin melalui peningkatan fosforilasi *Phosphatidylinositol 3-kinase* (PI 3-kinase) yang merupakan molekul esensial penting dalam merangsang translokasi glukosa transpoter-4 (GLUT-4) ke membrane sel sehingga meningkatkan kecepatan ambilan glukosa ke dalam sel otot. Selain itu, fenol juga dapat meningkatkan sensitivitas jaringan terhadap insulin dengan meningkatkan fosforilasi *AMP-activated protein kinase* (AMPK) yang juga merupakan molekul signaling penting dalam translokasi GLUT-4 di sel otot dan mampu menekan fosforilasi serin kinase yang merupakan inhibitor pada *insuline receptor substrat* (IRS) sehingga mampu menurunkan resistensi insulin dan menurunkan kadar glukosa darah (Ueda *et al.*, 2012; Hayashi *et al.*, 2007).

Propolis juga diketahui memiliki kemampuan anti hiperglikemik yang kuat, yaitu mampu menginhibisi aktivitas maltase pada saluran cerna, sehingga mampu menghambat pelepasan glukosa dari maltosa atau disakarida dari membrane sel saluran cerna. Hal ini memberikan dampak yang menguntungkan dalam memodulasi peningkatan kadar glukosa darah postprandial (Hariri, 2011; Matsui *et al.*, 2004).



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian ekstrak propolis dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan setelah dipapar *Sidestream Cigarette Smoke*.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan penulis dapat memberikan saran sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan desain serupa terhadap potensi ekstrak propolis dalam mempengaruhi kadar glukosa darah dengan dosis dan frekuensi yang lebih bervariasi.
2. Perlu dilakuakan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh ekstrak propolis terhadap kadar glukosa darah dengan modifikasi rancangan penelitian menggunakan *pre-test post-test control group design*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdelghany, Khedr, Bukari, Header. 2012. Hepatorenal Protective Effect of Yogurt Pillared with Propolis on Normal and Hyperglycemic Rats. *Journal of Home Economics*, 22 (3) : 1-21.
- Abdulbasit, Oladoyo, Olamide, Olasisle, Babatunde, Gbolahan. 2013. Effect Nigerian Propolis on Glycemia, Lipid Profile, and Oxidative Stress Markers in Alloxan-Induced Diabetic Rats. *PHOL*, 2; 149-158.
- Daniel, W. W. 1995. *Biostatistic a Foundation for Analysis in the Health science*. Fifth Edition. Canada: John Wiley and Sons, Inc.
- Danusantoso, H. 2003. Peran Radikal Bebas terhadap Beberapa Penyakit Paru. *Jurnal Kedokteran Trisakti*, 22(1): 31-36.
- El Sohaimy, S. A. dan Masry, S. H. D. 2014. Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Egyptian and Chinese Propolis. *American-Eurasian J. Agric & Environ. Sci*, 14 (10): 1116-11124.
- Ernawati, M. D. W. 2006. Pengaruh Paparan Halotan dengan Dosis Subanastesi terhadap Gangguan Hati Mencit. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 11(2): 71-75.
- Farlex. 2009. *Dictionary of Sport and Exercise Science and Medicine* : Churchill Livingstone.
- Guyton, A. C. dan Hall, J. E. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Alih bahasa oleh Irawati. 2007. Edisi XI. Jakarta : EGC.
- Hardiyanti, D. 2011. “Pemberian Ekstrak Propolis Peroral Menurunkan Kadar F2-Isoprostan Dalam Urin Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Jantan yang Mengalami Aktivitas Fisik Maksimal”. Tidak Diterbitkan. Tesis. Program Pasca sarjana Universitas Udayana Denpasar.
- Haris, A., Ikhsan, M., Rogayah, R. 2014. Asap Rokok sebagai Bahan Pencemar dalam Ruangan. *CDK-189*, vol. 39 (1) : 17-24.

- Haber, Lam, Yu, Gupta, Goh, Bogdanovic, Giacca, Fantus. 2003. *N*-acetylcysteine and taurine prevent hyperglycemia-induced insulin resistance in vivo: possible role of oxidative stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 285: E744–E753.
- Hariri, M. T. A. 2011. Propolis and Its Direct and Indirect Hypoglycemic Effects. *J Family Community Med*, 18(3): 152-154.
- Hariri, Eldin, Hozaifa, Elnour. 2011. Glycemic Control and Anti-Osteopathic Effect of Propolis in Diabetic Rats. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 4: 377–384.
- Hayashi, T., Wojtaszewski, J. F. P., Goodyear, L. J. 2007. Exercise Regulation of Glucose Transport in Skeletal Muscle. *Invited Review*. The American Physiological Society.
- Irawan, M, A. 2007. Glukosa dan Metabolisme Energi. *Polton Sports Science & Performance Lab*, 1(3) :1-6.
- Kaneto, Nakatani, Kawamori., Miyatsuka, Matsuoka, Matsuhisa, 2006. Role of Oxydative Stress, Endoplasmic Reticulum Stress, and c-Jun N-terminal Kinase in Pancreatic  $\beta$ -cell dysfunction and Insulin resistance. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 38 : 782-793.
- Krell, R. 1996. Value Added Products From Beekeeping. *FAO Agricultural Service Bulletin Food and Agricultural Organization of The United Nation*, (124): 157-194.
- Kim, J., Wei, Y., Sowers, J. R. 2008. Role of Mitochondrial Dysfunction in Insulin Resistance. *Circ Res*, 102: 401-414.
- Lestari, W. I. 2013. “Efek Paparan Sidestream Cigarette Smoke Pada Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar (*RattusNorvegicus*)”. Skripsi. Tidak diterbitkan. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Lotfy, M. 2006. Biology Activity of Bee Propolis in Health and Desease. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 7: 22-31.
- Manaf, Asman. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Alih bahasa oleh Aru.2009. Edisi V. Jakarta : Interna Publishing.
- Murray, Granner, Mayes, Rodwell. *Biokimia Harper*. Alih bahasa oleh Andry

- Hartono. 2003. Edisi XXV . Jakarta : EGC.
- Martoz, Navajaz, Lopez, Alvarez. 2008. Functional Properties of Honey, Propolis, and Royal Jelly. *Journal of Food Science*, 73(9) : 117-123.
- Madhira, Challa, Chalasani, Nappanveethi, Bhonde, Ajumeera, Venkatesan. 2012. Promise(s) of Mesenchymal Stem Cells as an In Vitro Model System to Depict Pre-Diabetic/Diabetic Milieu in WNIN/GR-Ob Mutant Rats. *PLoS ONE*, 7(10): 1-13.
- Matsui, Ebuchi, Fujise, Kanthi, Abesundara, Doi, Yamada, Matsumoto. 2004. Strong Antihyperglycemic Effects of Water-Soluble Fraction of Brazilian Propolis and Its Bioactive Constituent, 3,4,5-Tri-*O*-caffeoylquinic Acid. *Biol. Pharm. Bull*, 27(11): 1797-1803.
- Nakajima, Tsuruma, Shimazawa, Mishima, Hara. 2009. Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 1-9.
- Penn, A. dan Snyder, C. A. 1993. Inhalation of Sidestream Cigarette Smoke Accelerates Development of Arteriosclerotic Plaque. *Journal of The American Heart Association*, 88: 1820-1825.
- Reimondos, Utomo, McDonald, Hull, Suparno, Utomo. 2010. Merokok dan Penduduk Dewasa Muda di Indonesia. *The 2010 Greater Jakarta Transition to Adult Survey*.
- Rumanti, R. T. Efek Propolis Terhadap Kadar Kolesterol Total pada Tikus Model Tinggi Lemak. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 11(1): 17-22.
- Setiawan, B. dan Suhartono, E. 2005. Stres Oksidatif dan Peran Antioksidan pada Diabetes Melitus. *Jurnal Kedokteran Indonesia*, 55(2): 87-91.
- Singh, P. P., Mahadi, F., Roy, A., Sharma, P. 2009. Reactive Oxygen Species, Reactive Nitrogen Species And Antioxidant In Etiopathogenesis Species Of Diabetes Mellitus Type-2. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 24 (4) : 324-342.
- Syamsuddin. 2014. Asap Rokok Dan Ruangan Ber AC. *Jurnal Ilmiah Kesehatan Diagnosis*, 4(2) : 2302-1721.
- Soegondo dan Sidartawan. 2009. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Alih bahasa oleh

Aru.2009. Edisi V. Jakarta : Interna Publishing.

Taebe, Randalingsi, Manggau, Usmar. 2012. Uji Efek Hipoglikemik Kombinasi Ekstrak Etanol Propolis dan Ekstrak Etanol Sarang Semut. (*Myrmecodia pendens* Merr & Perry) pada Mencit (*Mus musculus*). *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 16 (3) : 151 – 158.

Trisnawati, S. H.dan Setyorogo, S. 2013. Faktor Risiko Kejadian Diabetes Melitus Tipe II Di Puskesmas Kecamatan Cengkareng Jakarta Barat Tahun 2012. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 5(1): 6-11.

Ueda, M., Hayashibara, K., Ashida, H. 2013. Propolis Extract Promotes Translocation of Glucose Transporter 4 and Glucose Uptake Through Both PI3-Kinase and AMPK-dependent Pathway in Skeletal Muscle. *Biofactors*, 39(4): 457-466.

Widowati, W. 2008. Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 7(2): 1-10.

Winarsi, Sasongko, Purwanto, Nuraeni. 2013. Ekstrak Daun Kapulaga Menurunkan Indeks Atherogenik dan Kadar Gula Darah Tikus Diabetes Induksi Alloxan. *Agritech*, 33(3): 27-280.

WHO (World Health Organisation), 2011. WHO report on the Global Tobacco Epidemic. <http://www.who.int/tobacco/globalreport/2011/en/index.html>. Accessed 27 December, 2011.

Zhang, J., Jiang, S., Waston, R. R. 2001. Antioxidant Supplement Prevents Oxidation and Inflammatory Responses Induced by Sidestream Cigarette Smoke in Old Mice. *Article Environmental Health Perspectives*, 9(10): 1007-1009.

**Lampiran A. Penghitungan Besar Sampel**

Besar sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah berdasarkan penghitungan rumus menurut Daniel (1995) :

$$n = \frac{Z^2 \times \sigma^2}{d^2}$$

Keterangan :

n = besar sampel

$\sigma$  = standar deviasi sampel

d = kesalahan yang masih dapat ditolerir, diasumsikan  $\sigma = d$

Z = nilai pada tingkat kesalah tertentu, jika  $\alpha = 0,05$  maka  $Z = 1,96$

Maka hasil perhitungan besar sampela dalah sebagai berikut :

$$n = \frac{Z^2 \times \sigma^2}{d^2} = \frac{(1,96)^2 \sigma^2}{d^2}$$

$$n = (1,96)^2$$

$$n = 3,84, \text{ dibulatkan menjadi } 4$$

**Lampiran B. Kadar Glukosa Darah****HASIL PEMERIKSAAN DARAH TIKUS DI LAB. BIOKIMIA FAKULTAS  
KEDOKTERAN UNIVERSITAS JEMBER**

Tabel 4.1.1 Hasil pemeriksaan kadar glukosa darah tikus sesudah perlakuan kelompok kontrol, kelompok perlakuan 1, dan kelompok perlakuan 2

No Sampel	Kadar Glukosa Darah Kontrol (mg/dL)	Kadar Glukosa Darah Perlakuan 1 (mg/dL)	Kadar Glukosa Darah Perlakuan 2 (mg/dL)
1	57	84	51
2	60	93	55
3	62	94	60
4	66	99	64

## Lampiran C. Surat Keterangan Pemeriksaan Kesehatan Tikus

**DENTIST-STORY**

DEPT. LABORATORY RATS FARM

Ketawanggede Malang

085 6556 1 8668

**LAMPIRAN KETERANGAN PEMERIKSAAN****KESEHATAN HEWAN**

Berdasarkan Surat Keterangan Kesehatan Hewan Pemerintah Kota Malang Dinas  
Pertanian Nomor : 524.3/ 068/ 35.73.309/ 2014

Dengan ini menerangkan bahwa hewan dengan spesifikasi dibawah ini :

Species	Strain	Kelamin	Umur	Warna Bulu	Jumlah
<i>Rattus</i>	<i>Wistar</i>	Jantan	10 minggu	Putih	18 ekor

Pemilik hewan,

Nama : Dani Sugeng Prasetyo

Alamat : Jl. Kertorejo 26 Malang

Penerima hewan,

Nama : Chusna Sekar Wardani

Alamat : FKG Unej

Tujuan pengiriman : kebutuhan penelitian laboratoris

Terhadap hewan tersebut telah dilakukan pemeriksaan dan dalam keadaan sehat ( tidak teridentifikasi adanya penyakit-penyakit menular ). Surat Keterangan ini dikeluarkan untuk satu kali dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 10 November 2014

Owner Dentist-story,

Dani Sugeng P., S.KG

Tembusan : -Bag. Kandang dan Pemeliharaan

-Arsip







**PEMERINTAH KOTA MALANG  
DINAS PERTANIAN**

Jl. Jendral Ahmad Yani Utara No. 202 Telp. (0341) 491914/Facs. (0341) 408273 MALANG  
MALANG Kode Pos 65128

**SURAT KETERANGAN PEMERIKSAAN KESEHATAN HEWAN**

Nomor : 524.3 /068/ 35.73.309 / 2014

Dengan ini menerangkan bahwa hewan dengan signalemen :

Hewan signalemen	I
Spesies	Rattus
Ras	Wistar
Jumlah	100 ekor
Umur	± 8 Minggu
Kelamin	Jantan
Warna Bulu	Putih

**Pemilik Hewan**

Nama : Dani Sugeng Prasetyo  
 Alamat : Jl. Kertorejo 26 RT 05 RW 03  
 Kel. Ketawanggede Kec. Lowokwaru Malang  
 Tujuan : Untuk Percobaan Hewan

Terhadap hewan tersebut diatas pada tanggal 21 Juli 2014 telah kami periksa dalam keadaan sehat (tidak menunjukkan adanya gejala penyakit hewan menular).

Malang, 21 Juli 2014

Kepala Dinas Pertanian Kota Malang  
 Kepala Bidang Peternakan dan Kesehatan  
 Hewan

  
**BUDI BROTO, M.H**  
 NIP. 19590915 198903 1 018

**Lampiran D. Ethical Clearance**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK PENELITIAN**  
**("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 0046 /KKEP/FGK-UGM/EC/2014

Setelah Tim Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada mempelajari dengan seksama rancangan penelitian yang diusulkan:

Judul : PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK PROPOLIS TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH TIKUS WISTAR JANTAN SETELAH DIPAPAR SIDESTREAM CIGARETTE SMOKE

Peneliti Utama : Ni Putu Inda Prisilia

Penanggung Jawab Medis : drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes, Sp.KGA

Unit/Lembaga : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Lokasi Penelitian : Laboratorium Biomedik FKG Universitas Jember

Waktu Penelitian : Oktober 2014 s/d Selesai

Maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian tersebut telah memenuhi syarat atau laik etik.

Yogyakarta, 4 November 2014

Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kemahasiswaan



drg. Diatri Nari Ratih, M.Kes., Sp. KG, Ph.D.

Ketua Komisi Etik Penelitian FKG UGM



drg. Suryono, S.H, Ph.D.

**Lampiran E. Hasil Uji Analisis Data****E.1 Uji Normalitas *Kolmogrov-Smirnov*****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		kontrol	Perlakuan_1	Perlakuan_2
N		4	4	4
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	61.2500	92.5000	57.5000
	Std. Deviation	3.77492	6.24500	5.68624
Most Extreme Differences	Absolute	.171	.282	.170
	Positive	.171	.163	.170
	Negative	-.146	-.282	-.170
Kolmogorov-Smirnov Z		.343	.564	.340
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000	.908	1.000

a. Test distribution is Normal.

**E.2 Uji Homogenitas *Levene*****Test of Homogeneity of Variances**

post \_test

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.440	2	9	.657

**E.3 Uji Beda *One-Way Anova*****ANOVA**

Post\_test

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2954.167	2	1477.083	51.777	.000
Within Groups	256.750	9	28.528		
Total	3210.917	11			

**E.4 Uji *Tukey HSD*****Multiple Comparisons***Tukey HSD*

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
kontrol	P1	-31.25000*	3.77676	.000	-41.7947	-20.7053
	P2	3.75000	3.77676	.599	-6.7947	14.2947
P1	kontrol	31.25000*	3.77676	.000	20.7053	41.7947
	P2	35.00000*	3.77676	.000	24.4553	45.5447
P2	kontrol	-3.75000	3.77676	.599	-14.2947	6.7947
	P1	-35.00000*	3.77676	.000	-45.5447	-24.4553

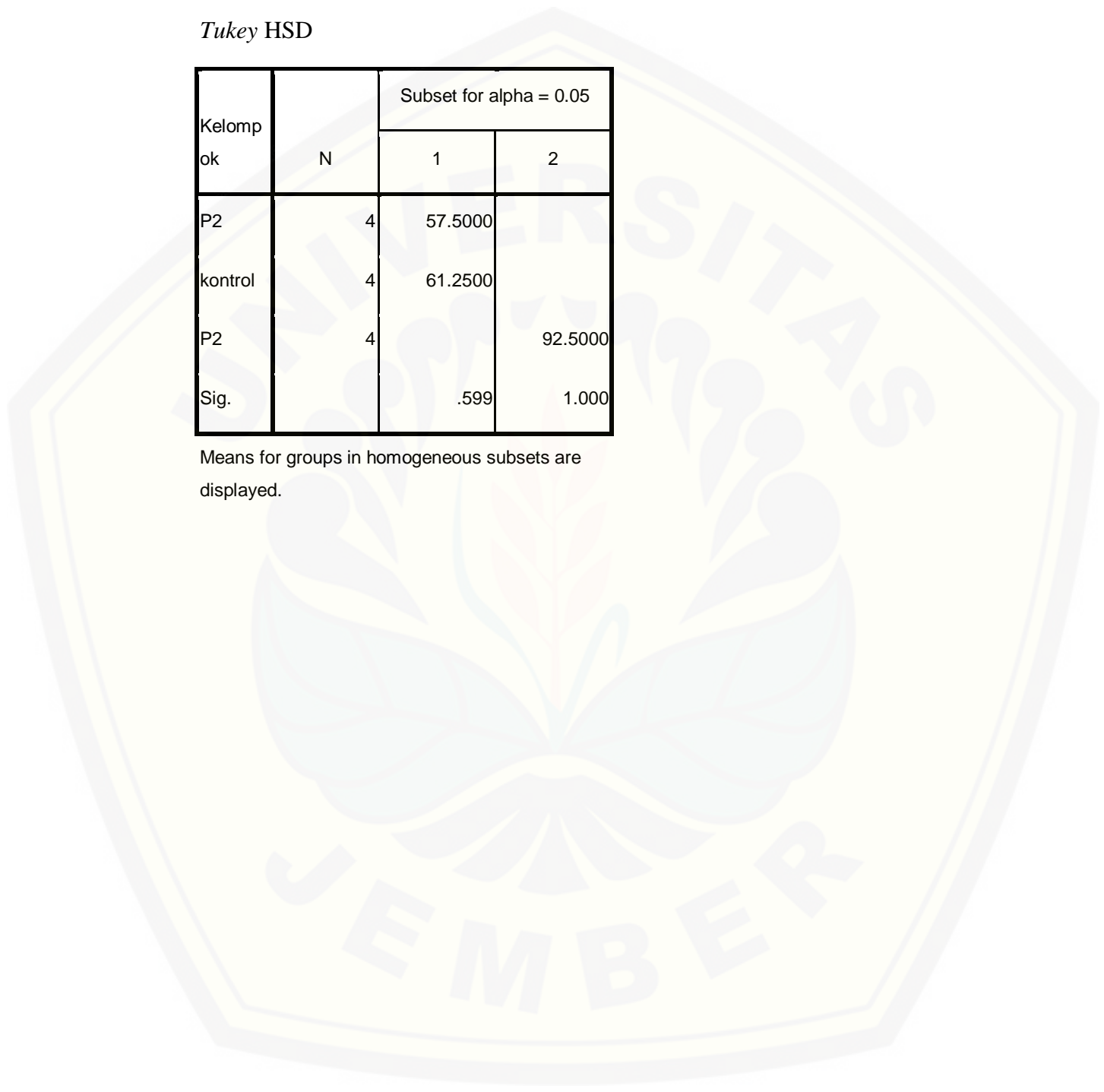
\* The mean difference is significant at the 0.05 level.

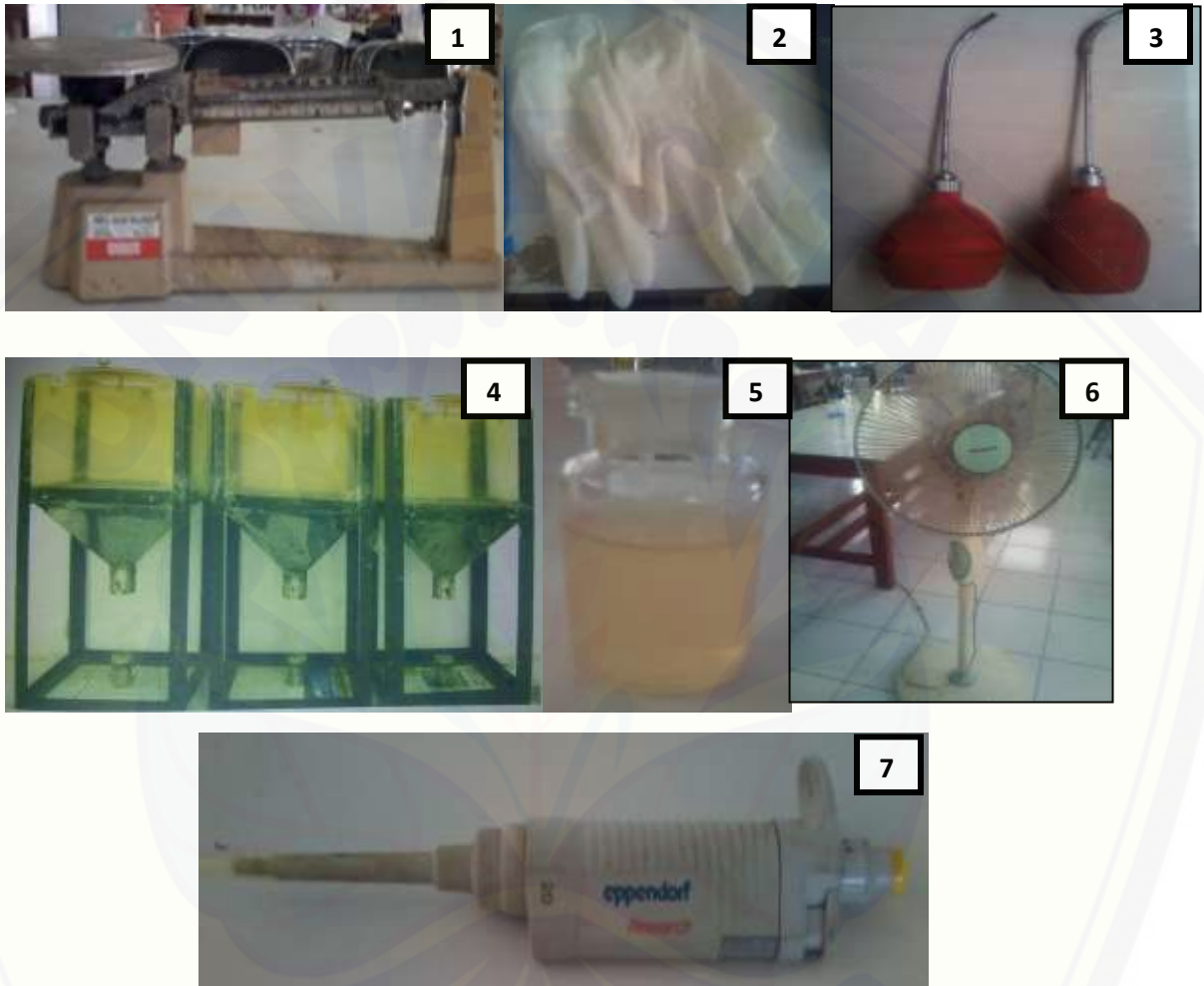
**Post\_test**

*Tukey HSD*

Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
P2	4	57.5000	
kontrol	4	61.2500	
P2	4		92.5000
Sig.		.599	1.000

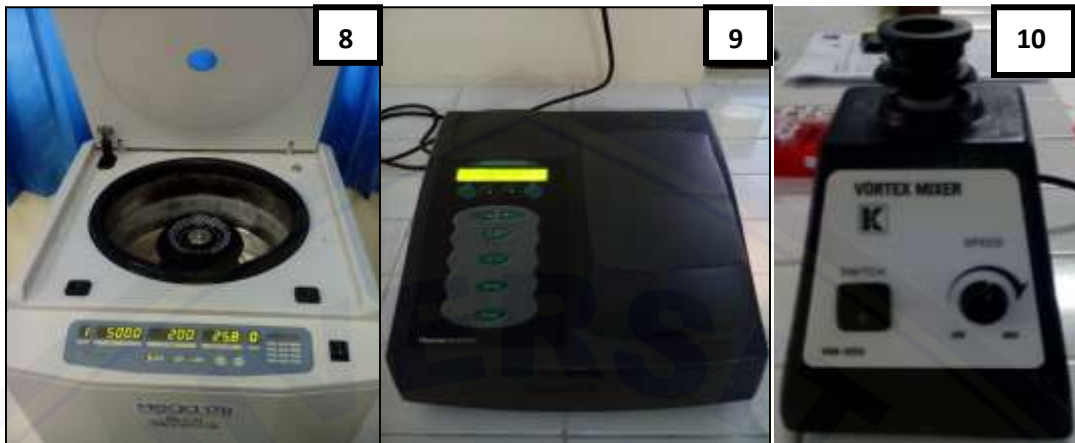
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



**Lampiran F. Foto Penelitian****F.1 Alat Penelitian**

Keterangan :

1. Timbangan;
2. Sarung tangan (Latex);
3. *Chipblower*;
4. *Acrilic chamber* ukuran 30x30x30 cm;
5. Tabung vial;
6. Kipas angin;
7. Mikropipet;



Keterangan :

8. Centrifuge (Mega 17R);
9. Spektrofotometer (*Genesys 20, Germany*).
10. Vortex;
11. Rak dan Tabung reaksi;
12. Microtube (*eppendorf*),
13. Papan fiksasi,

**F.2 Bahan Penelitian**



Keterangan :

1. Tikus Wistar Jantan;
2. Propolis;
3. Aquades steril;





Keterangan :

4. Makanan hewan coba;
5. Minuman hewan coba;
6. Rokok kretek filter;
9. Reagen Glukosa fs;
10. *Chloroform*.

**F.3 Prosedur Penelitian**

Keterangan :

1. Sondasi ekstrak propolis;
2. Pemaparan *Sidestream Cigarette Smoke*;
3. Anestesi dengan Chloroform;
4. Pengambilan darah secara intrakardial.



Keterangan :

5. Penampungan sampel darah di mikrotube;
6. Sentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm;
7. Terbentuk lapisan serum darah;
8. Serum darah yang telah terbentuk dicampur dengan reagent glukosa dan didiamkan  $\pm 10$  menit;
9. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam mesin spektrofotometer dan diproses selama  $\pm 30$  detik, kemudian hasil dapat dibaca pada layar mesin.