

**PENGARUH FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKSTRAK ETANOL KULIT
BATANG JUWET (*Syzygium cumini* (L.)) TERHADAP TRANSLOKASI
GLUCOSE TRANSPORTER - 4 JARINGAN OTOT
PADA TIKUS DIABETES MELLITUS
TIPE II RESISTENSI INSULIN**

TESIS

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat
mencapai derajat Sarjana Strata-2
Program Studi S2 Farmasi
Minat Farmasi Sains*



Oleh :

ENDRA PUJIASTUTI

SBF 051310064

**PROGRAM STUDI S2 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2015**

PENGESAHAN TESIS
PENGARUH FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKSTRAK ETANOL KULIT
BATANG JUWET (*Syzygium cumini* (L.)) TERHADAP TRANSLOKASI
GLUCOSE TRANSPORTER - 4 JARINGAN OTOT
PADA TIKUS DIABETES MELLITUS
TIPE II RESISTENSI INSULIN

Oleh:

Nama : Endra Pujiastuti

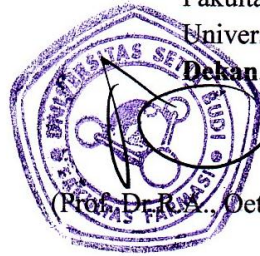
NIM : SBF 051310064

Telah Dipertahankan dihadapan Dewan Penguji Tesis

Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi

Pada Tanggal: 14 Februari 2015

Megetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

(Prof. Dr. R. M. ... Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt)

Pembimbing Utama

Prof. Agung Endro Nugroho, M.Si., Ph.D., Apt.

Pembimbing Pendamping

Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt.



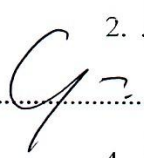
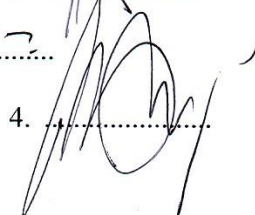
Dewan Penguji:

1. Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt.

2. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt.

3. Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt.

4. Prof. Agung Endro Nugroho, M.Si., Ph.D., Apt.

1. 
2. 
3. 
4. 

HALAMAN PERSEMBAHAN

“Segala puji bagi Allah, Tuhan Yang Maha Pandai”

“Katakanlah: Sekiranya lautan menjadi tinta untuk (menulis) kalimat-kalimat Tuhanku, sungguh habislah lautan itu sebelum habis (ditulis) kalimat-kalimat Tuhanku, meskipun Kami datangkan tambahan sebanyak itu (pula)”.

(QS. Al-Kahfi: 109)

Kebaikan apa saja yang kamu perbuat untuk dirimu niscaya kamu memperoleh balasannya di sisi Allah sebagai balasan yang paling baik dan yang paling besar pahalanya.

(Al-Muzzammil : 20)

“Ya Robb, tambahkan kebaikan kepada hambamu ini melalui ilmu bermanfaat yang Engkau ridloi”.

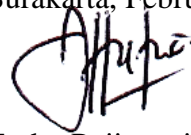
Dengan segala kerendahan hati dan kebanggaan hati tesis ini kupersembahkan untuk:

- ✚ Ibu dan Bapak tercinta sebagai wujud bakti dan sayangku
- ✚ Suami dan anaku tercinta “Fathan”
- ✚ Keluarga besar dan semua teman-temanku
- ✚ Semua dosen dan guruku
- ✚ Untuk almamaterku

HALAMAN PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa tesis ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, Februari 2015



Endra Pujiastuti

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah puji syukur penulis panjatkan kehadira Allah SWT yang telah memberikan petunjuk, segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya yang dilimpahkan sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul “**Pengaruh Fraksi Etil Asetat Dari Ekstrak Etanol Kulit Batang Juwet (*Syzygium Cumini* (L.)) Terhadap Ekspresi *Glucose Transporter - 4* Jaringan Otot Pada Tikus Diabetes Mellitus Tipe Ii Resistensi Insulin**”.

Penulis menyadari dalam menyelesaikan tesis ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak dan pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Winarso Suryo Legowo, S.H., M.Pd., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt., selaku Ketua Program Pasca Sarjana Ilmu Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
4. Prof. Agung Endro N, M.Si., Ph.D., Apt. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Penguji yang telah meluangkan waktu, pikiran untuk mengarahkan, memberi masukan, membimbing, memotivasi penulis hingga akhir penyusunan tesis.
5. Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt., selaku Dosen Pembimbing Pendamping dan Penguji yang senantiasa memperhatikan, memberikan nasehat, bimbingan, motivasi, meluangkan waktu untuk berdiskusi.

6. Dr. Arief Nurrochmad, M.Si., M.Sc., Apt.; dan Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt. selaku Dosen penguji yang telah memberikan masukan dan koreksi untuk perbaikan tesis ini.
7. Segenap dosen dan guru yang telah mengajarkan ilmunya dengan ikhlas kepada penulis selama menuntut ilmu.
8. Ibuku, kakakku dan Omku Pak Yoto, Bu Nur serta keluarga tercinta yang selalu memberikan dorongan dan kasih sayang serta do'anya.
9. Kepada suamiku "Supriyanto" yang selalu memberikan motivasi serta anaku "Fathan" yang selalu memberikan inspirasi tersediri.
10. Temanku "kak Uni" terima kasih kerja samanya dan teman-teman S2 Ilmu Farmasi angkatan ke 5 terima kasih untuk kebersamaanya.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberikan bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung sehingga dapat diselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari sempurna dengan kerendahan hati penulis mengharapkan segala saran dan kritik yang membangun dari pembaca akan penulis terima dengan senang hati. Penulis betharap semoga tesis ini bermanfaat bagi perkembangan ilm pengetahuan dan masyarakat.

Surakarta, Februari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Tujuan Penelitian.....	7
D. Keaslian Penelitian	7
E. Kegunaan Penelitian.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
A. Tanaman Juwet (<i>Syzygium cumini</i> L.)	10
1. Sistematika tanaman.....	10
2. Nama lain	10
3. Morfologi tanaman	11
4. Kandungan kimia tanaman.....	11
4.1 Flavonoid	12
4.2 Tanin	12
4.3 Saponin	13
4.4 Terpenoid	13
5. Manfaat tanaman	14
B. Simplisia.....	14
1. Pengertian simplisia	14
2. Pengeringan simplisia.....	15

C.	Metode Ekstraksi Simplisia.....	16
1.	Ekstraksi	16
2.	Maserasi.....	16
3.	Larutan penyari.....	17
D.	Diabetes Mellitus.....	17
1.	Definisi diabetes mellitus	17
2.	Klasifikasi diabetes mellitus.....	19
2.1.	Diabetes mellitus tipe 1.....	19
2.2.	Diabetes mellitus tipe II.....	19
2.3.	Diabetes mellitus gestasional.....	20
2.4.	Diabetes mellitus tipe lain.....	21
3.	Patofisiologi diabetes mellitus.....	21
4.	Komplikasi diabetes mellitus	22
4.1.	Komplikasi akut	22
4.2.	Komplikasi kronik	23
5.	Terapi non farmakologi diabetes mellitus	24
5.1.	Edukasi.....	24
5.2.	Terapi gizi medis	24
5.3.	Latihan Jasmani	25
6.	Obat Hipoglikemik Oral.....	26
6.1.	Sulfonilurea.....	26
6.2.	Golongan biguanida.....	27
6.3.	Golongan thiazolidinedione atau glitazon	27
6.4.	Golongan meglitinid	28
6.5.	Golongan inhibitor α -glukosidase.....	29
6.6.	Amilin	29
E.	Metode Uji Aktivitas Antidiabetes.....	29
1.	Uji efek antidiabetes	29
1.1	Metode uji toleransi glukosa.....	30
1.2	Induksi resistensi insulin.....	30
1.3	Induksi aloksan atau streptozotocin.....	31
2.	Metode analisa kadar glukosa darah	32
2.1	Metode glukometer	32
2.2	Metode GLUC-DH	33
2.3	Metode O-Tolouidine	34
F.	Insulin.....	34
1.	Struktur dan bahan kimia insulin.....	34
1.1	Sekresi insulin.....	35
1.2	Glukosa transporter.....	36
1.3	Mekanisme molekuler <i>uptake</i> glukosa	37
2.	Resistensi insulin.....	39
G.	Metode Imunohistokimia	42
1.	Metode langsung	42
2.	Metode tak langsung	42
H.	Tikus Putih	43
1.	Sistematika hewan percobaan	43
2.	Karakteristik tikus	43

3.	Teknik memegang dan penanganan	44
4.	Pengambilan darah hewan percobaan	44
5.	Pengambilan otot skeletal.....	45
I.	Landasan Teori	45
J.	Hipotesis.....	47
BAB III	METODE PENELITIAN	48
A.	Rancangan Penelitian	48
B.	Subjek dan Lokasi Penelitian	48
C.	Populasi dan Sampel	49
1.	Populasi	49
2.	Sampel	49
D.	Variabel Utama.....	49
1.	Identifikasi variabel utama	49
2.	Klasifikasi variabel utama	49
E.	Bahan dan Alat	51
1.	Bahan.....	51
2.	Alat	51
3.	Hewan percobaan	51
F.	Jalannya Penelitian	52
1.	Determinasi kulit batang juwet	52
2.	Identifikasi makroskopik dan mikroskopik kulit batang juwet	52
2.1	Identifikasi makroskopik	52
2.2	Identifikasi mikroskopik	52
3.	Pengeringan dan Pembuatan serbuk kulit batang juwet	53
4.	Penetapan kadar air serbuk kulit batang juwet	53
5.	Pembuatan ekstrak etanol kulit batang juwet	54
6.	Fraksinasi ekstrak kulit batang juwet	54
7.	Identifikasi kualitatif kulit batang juwet	54
7.1.	Identifikasi serbuk kulit batang juwet.....	55
7.2.	Identifikasi flavonoid.....	55
7.3.	Identifikasi saponin.....	55
7.4.	Identifikasi tanin	55
7.5.	Identifikasi terpenoid	56
8.	Kromatografi Lapis Tipis	56
9.	Penentuan kadar flavonoid total	56
10.	Pembuatan pakan kaya lemak	57
11.	Pembuatan suspensi CMC 1%	57
12.	Pembuatan larutan fruktosa	57
13.	Penentuan dosis	58
13.1.	Dosis fruktosa	58
13.2.	Dosis metformin	58
13.3.	Dosis fraksi etil asetat kulit batang juwet	58
13.4.	Dosis ekstrak etanol kulit batang juwet	59

14. Pengelompokan hewan percobaan	59
15. Analisa kadar glukosa darah tikus.....	59
16. Pengujian <i>in vivo</i>	60
17. Teknik euthanasia.....	61
18. Preparasi dan pewarnaan jaringan otot paha (<i>Soleus muscle</i>) tikus	62
G. Analisa Data	62
1. Data kuantitatif	63
2. Data semikuantitatif.....	63
 BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	 68
A. Hasil Penelitian.....	68
1. Identifikasi kulit batang juwet	68
2. Pengambilan bahan.....	68
3. Pembuatan serbuk.....	69
4. Penetapan kadar air serbuk kulit batang juwet	69
5. Identifikasi mikroskopis kulit batang juwet	70
6. Identifikasi serbuk kulit batang juwet	71
7. Identifikasi fraksi etil asetat dari kulit batang batang juwet	72
8. Pembuatan fraksi etil asetat dari etanol kulit batang juwet ..	74
9. Kromatografi Lapis Tipis	75
10. Penentuan kadar flavonoid total	78
11. Pengukuran berat badan tikus.....	79
12. Pengujian tikus DM tipe II resistensi insulin.....	81
12.1. Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus setelah pemberian <i>high fat diet</i>	81
12.2. Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus setelah diberi sediaan uji	83
12.3. Hasil pengamatan struktur anatomi otot polos	85
12.4. Pengamatan translokasi protein GLUT-4 pada Jaringan otot paha (<i>soleus muscle</i>) tikus.....	86
13. Hubungan antara penurunan kadar glukosa darah dan jumlah peningkatan protein GLUT-4	94
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	 97
A. Kesimpulan.....	97
B. Saran	97
 BAB VI RINGKASAN	 98
DAFTAR PUSTAKA.....	106
LAMPIRAN.....	116

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Jalur sinyal insulin dalam metabolisme glukosa di sel otot dan adipose (Shepherd, & Kahn, 1999).....	38
Gambar 2. Mekanisme molekular resistensi insulin karena inflamasi (Shoelson et al., 2006)	40
Gambar 3. Mekanisme resistensi insulin yang diinduksi oleh asam lemak (Savage <i>et al.</i> , 2005)	41
Gambar 4. Skema pembuatan fraksi etil asetat kulit batang juwet.....	64
Gambar 5. Prosedur Pengujian	65
Gambar 6. Skema kerja preparasi <i>slide</i> sampel jaringan otot paha (<i>soleus muscle</i>).....	66
Gambar 7. Skema kerja imunohistokimia, pengamatan foto mikroskopi dan kuantifikasi translokasi protein GLUT-4	67
Gambar 8. Kulit batang Juwet (<i>Syzygium cumini</i> L.).....	68
Gambar 9. Kurva kalibrasi larutan standart quersetin	79
Gambar 10. Berat badan tikus dengan pemberian pakan <i>high fat diet</i> selama 50 hari berbeda bermakna dengan tikus normal.....	80
Gambar 11. Kenaikan kadar glukosa darah preprandial dan postprandial	82
Gambar 12. Hasil pengukuran kadar glukosa darah setelah diberikan sediaan uji	84
Gambar 13. Hasil pewarnaan HE terhadap jaringan otot kelompok tikus normal dan kelompok tikus yang diberi high fat diet dengan pembesaran 400x (tanda lingkaran menunjukkan adanya inti sel berwarna biru yang dikelilingi oleh sitoplasma yang berwarna merah). Tanda panah menunjukkan jaringan adiposa yang berwarna putih	86
Gambar 14. Hasil pewarnaan dengan metode imunohistokimia tampak adanya protein GLUT-4 pada jaringan otot dengan pembesaran 400x (tanda lingkaran menunjukkan adanya inti sel berwarna	

biru dan tanda panah menunjukkan protein GLUT-4 yang berwarna coklat.....	87
Gambar 15. Grafik persamaan regresi linear	95

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil penetapan kadar air serbuk kulit batang juwet.....	70
Tabel 2. Hasil identifikasi mikroskopis kulit batang juwet.....	71
Tabel 3. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk kulit batang juwet	72
Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan kimia fraksi etil asetat dan ekstrak etanol kulit batang juwet	74
Tabel 5. Rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet .	75
Tabel 6. Hasil kromatografi lapis tipis <i>quersetin</i>	76
Tabel 7. Hasil kromatografi lapis tipis saponin.....	77
Tabel 8. Hasil kromatografi lapis tipis tanin	78
Tabel 9. Hasil kadar flavonoid total fraksi etil asetat kulit batang juwet	78
Tabel 10. Rata-rata prosentase penurunan kadar glukosa darah tikus.....	85
Tabel 11. Hasil perhitungan rata-rata protein GLUT-4.....	88
Tabel 12. Persentase penurunan kadar glukosa darah dan jumlah protein GLUT-4 kelompok uji.....	94

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan hasil identifikasi kulit batang juwet.....	116
Lampiran 2. Surat keterangan dari Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.....	117
Lampiran 3. Surat keterangan Histopatologi	118
Lampiran 4. Surat keterangan hewan uji	119
Lampiran 5. Surat Ethics Committee Approval (Ethical clearance).....	120
Lampiran 6. Perhitungan kadar air kulit batang juwet.....	121
Lampiran 7. Foto Kandungan kimia kulit batang juwet	122
Lampiran 8. Foto serbuk kulit batang juwet, ekstrak etanol, fraksi etil asetat kulit batang juwet	123
Lampiran 9. Perhitungan Rendemen fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet	124
Lampiran 10. <i>Sterling bidwell</i> , <i>Evaporator</i> , GOD-PAP dan Serum.....	125
Lampiran 11. Foto <i>High Fat Diet</i> dan hasil perhitungan.....	126
Lampiran 12. Tikus Putih (<i>Ratus Norvegicus</i>)	128
Lampiran 13. Pembuatan suspensi metformin, fruktosa, fraksi etil asetat dan ekstrak etanol kulit batang juwet.....	129
Lampiran 14. Perhitungan kadar Flavonoid total.....	134
Lampiran 15. Data hasil pengukuran berat badan tikus dari hari ke-0, 8, 15, 22, 29, 36, 43 dan 50 dan prosentase berat badan tikus	135
Lampiran 16. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Tikus Hari ke-0, 30, 50 dan Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus	137
Lampiran 17. Gambar prosedur dan pewarnaan jaringan otot paha (<i>Soleus muscle</i>) tikus.....	139
Lampiran 18. Prosedur preparasi dan pewarnaan jaringan otot paha (<i>soleus muscle</i>) tikus.....	141

Lampiran 19. Analisa statistik nilai peningkatan berat badan tikus normal dengan perlakuan HFD.....	148
Lampiran 20. Analisa statistik nilai peningkatan kadar glukosa tikus normal dengan perlakuan HFD.....	150
Lampiran 21. Analisa nilai statistik efek hipoglikemik tikus HFD pada waktu 8 hari setelah pemberian larutan uji dengan metode ANOVA satu arah.....	152
Lampiran 22. Analisa nilai statistik efek hipoglikemik tikus HFD pada waktu 15 hari setelah pemberian larutan uji dengan metode ANOVA satu arah.....	156
Lampiran 23. Analisa statistik nilai translokasi protein GLUT-4 jaringan otot paha (<i>soleus muscle</i>) tikus Fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet dengan menggunakan metode ANOVA satu arah	160
Lampiran 24. Analisa statistik hubungan antara penurunan kadar glukosa darah dengan nilai GLUT-4	164
Lampiran 25. Hasil Pewarnaan secara Hematotoksin Eosin setiap perlakuan	167
Lampiran 26. Hasil Pewarnaan secara Imunohistokimia setiap perlakuan.....	172

INTISARI

PUJIASTUTI, E. 2014. PENGARUH FRAKSI ETIL ASETAT DARI EKSTRAK ETANOL KULIT BATANG JUWET (*Syzygium cumini* L.) TERHADAP TRANSLOKASI *GLUKOSA TRANSPORTER-4* JARINGAN OTOT PADA TIKUS DIABETES MELLITUS TIPE II RESISTENSI INSULIN, TESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI

Kulit batang juwet (*Syzygium cumini* L.) merupakan salah satu bahan dimanfaatkan untuk mengobati diabetes mellitus. Diabetes mellitus tipe 2 bisa disebabkan karena resistensi insulin dan defisiensi fungsi insulin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktifitas fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet dalam penurunan kadar gula darah dan peningkatan aktivitas protein GLUT-4 pada tikus Wistar yang dibuat resistensi insulin.

Metode yang digunakan adalah fraksinasi dengan etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet. Hewan uji yang digunakan dibagi menjadi 7 kelompok uji. Kelompok 1: kontrol normal; kelompok 2: negative; kelompok 3 : KOnترول positif (metformin 45 mg/kg BB); kelompok 4: fraksi etil asetat 25 mg/kg BB; kelompok 5 : fraksi etil asetat 50 mg/kg BB; kelompok 6: fraksi etil asetat 150 mg/kg BB;kelompok 5: ekstrak etanol 150 mg/kg BB. .Hewan uji diberikan fruktosa dan *high fat diet* (HFD) sehingga resistensi. Kadar glukosa darah diamati pada hari ke-0, hari ke-30 dan 50 sebagai pra perlakuan dan setelah perlakuan pada hari ke-58 (T2) dan hari ke-65 (T3). Resistensi insulin dilakukan uji kadar glukosa darah puasa, pengamatan ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot. Penelitian ini menggunakan analisa ANOVA one way dengan taraf kepercayaan 95%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelompok fraksi etil asetat 100 mg/kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah dan menaikkan nilai translokasi protein GLUT-4 paling optimal. Hasil uji statistik terdapat hubungan yang signifikan ($p < 0.05$) antara penurunan kadar gula darah dengan peningkatan translokasi GLUT-4.

Kata kunci : *Syzygium cumini* L., Resistensi insulin, Translokasi, GLUT-4

ABSTRACT

PUJIASTUTI. E. 2014. THE EFFECT OF ETHYL ACETATE FRACTION JUWET CORTEX (*Syzygium cumini* (L.) TOWARD *GLUCOSE TRANSPOTER 4* TRANSLOCATION OF MUSCLE TISSUE ON RAT WITH DIABETES MELLITUS TYPE II INSULIN RESISTANCE. THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA

Syzygium cortex has been used as antidiabetic agent. Diabetes mellitus type II is due to resistant and function deficiency of insulin. This research aimed to determine the activity of ethyl acetate fraction of *Syzygium cumini* L. cortex toward reducing of blood glucose and enhancement of translocation of GLUT-4 on Wistar rat with insulin resistant.

The animals were divided in to 7 groups, i.e. normal control (group 1), negative control using Na CMC 1% (group 2), positive control using metformin (group 3), ethyl acetate fraction 25, 50 and 100 mg/kg body weight (BW) (group 4, 5 and 6, respectively) and ethanol extract 150 mg/kg BW (group 7). The animals were administrated fructose and high fat diet (HFD) until insulin resistant condition was achieved. Blood glucose was measured after administration of HFD, 30 days and 50 days as pretreatment and post treatment was observed at 58 and 65 days. Insulin resistant was tested by fasting blood glucose and translocation of GLUT-4 protein in muscular tissue. The result were analyzed statistically using one way ANOVA confidence interval level of 95% ($p = 0.05$).

The results showed that ethyl acetate fraction 100 mg/kg BW was the most optimum could reduce the blood glucose and increased the translocation of GLUT-4 protein. Decreasing of blood glucose associated with increasing of GLUT-4 expression statistically ($p < 0.05$).

Key word: *Syzygium cumini* L, insulin resistance, translocation, GLUT-4

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Berdasarkan pola pertumbuhan penduduk Indonesia diperkirakan pada tahun 2020 sejumlah 128 juta penduduk Indonesia berusia di atas 20 tahun asumsi prevalensi sebesar 4% akan diperoleh 7 juta penduduk menderita diabetes mellitus. Berdasarkan data World Health Organization (WHO) pada tahun 1998, diperkirakan jumlah penderita diabetes mellitus akan meningkat 250% dari 5 juta penduduk pada tahun 1995 menjadi 12 juta penduduk pada tahun 2025 (Soegondo, 2007).

Menurut WHO (*World Health Organization*) suatu penyakit atau gangguan autoimun dengan tanda tingginya glukosa darah disertai gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein sebagai akibat insufisiensi insulin dinamakan diabetes mellitus. Insufisiensi fungsi insulin disebabkan oleh gangguan atau turunnya produksi insulin oleh sel-sel beta Langerhans kelenjar pankreas, atau respon sel tubuh menurun terhadap insulin. Diabetes mellitus merupakan penyakit kronik dapat berakibat fatal bila pengelolaannya tidak tepat, meskipun bukan penyebab kematian secara langsung. Pengelolaan DM memerlukan penanganan secara multidisiplin yang mencakup terapi non-obat dan terapi obat (Aliyan, 2012).

Data-data epidemiologi yang diperoleh menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan angka insidensi dan prevalensi DM tipe 2 di berbagai

penjuru dunia. *International Diabetes Federation* (IDF) memprediksi kenaikan jumlah penderita DM dari 7,0 juta pada tahun 2009 menjadi 12,0 juta pada tahun 2030. Laporan tersebut menunjukkan adanya peningkatan jumlah penderita DM sebanyak 2-3 kali lipat pada tahun 2030 (Perkeni, 2011).

DM tipe 2 ditandai adanya resistensi jaringan terhadap kerja insulin, berakibat pada defisiensi sekresi insulin (Katzung, 2010). Resistensi insulin berperan penting dalam patogenesis DM tipe II. Manifestasi klinis dari resistensi insulin, intoleransi glukosa dan hiperinsulinemia adalah konsekuensi dari ketidakmampuan insulin untuk merangsang penyerapan glukosa dalam jaringan target insulin, seperti otot dan lemak (Garvey *et al.*, 1998).

Resistensi insulin dapat disebabkan karena obesitas. Obesitas dapat menimbulkan resistensi insulin melalui peningkatan produksi asam lemak bebas. Asam lemak bebas yang terakumulasi di jaringan akan menginduksi resistensi insulin terutama pada hati dan otot. Mekanisme induksi resistensi insulin oleh asam lemak ini terjadi akibat kompetisi asam lemak dan glukosa untuk berikatan dengan reseptor insulin (Rothman *et al.*, 1995).

Salah satu terapi pada DM tipe 2 adalah pemberian obat hipoglikemik oral. Golongan biguanida merupakan obat antidiabetes yang tidak menstimulasi pelepasan insulin dan tidak menurunkan gula darah pada orang sehat (Tjay & Rahardja, 2006). Golongan biguanida mempunyai efek penurunan kadar glukosa darah melalui produksi glukosa di hati yang menurun (glukoneogenesis), meningkatkan penggunaan glukosa pada jaringan adipose dan otot, menurunkan absorpsi glukosa di usus dan meningkatkan sintesis glikogen. Contoh obat

golongan ini adalah metformin (Nugroho, 2012). Efek samping yang sering terjadi dari penggunaan obat pada golongan biguanid adalah terjadinya anoreksia (Reid *et al.*, 2007)

Beberapa jenis obat diabetes mellitus saat ini cukup mahal dan pendistribusian obat yang belum optimal sampai keseluruh pelosok tanah air, sehingga memerlukan pengelolaan yang lebih murah dan efektif untuk mengatasi pengendalian kadar glukosa pada penderita DM dengan terapi alternatif yakni menggali potensi lokal menggunakan tanaman obat (Hupatea,1994). Pengobatan DM dengan bahan herbal banyak dicari terutama yang efektif, aman dan efek samping rendah.

Pengujian terhadap tanaman obat yang mempunyai potensi menurunkan kadar glukosa darah mulai banyak dilakukan. Tanaman yang telah dilakukan penelitian memiliki efek penurun kadar gula darah adalah daun mengkudu (Aguslina *et al.*, 2008), *Syzygium cumini* dan *Syzygium syzygoides* (Saraswaty, 2010), buncis (Andayani, 2003) dan masih banyak lagi. Salah satu tanaman yang diduga dapat digunakan untuk penderita DM adalah juwet. Tanaman ini banyak digunakan di negara India oleh para praktisi ayurveda (Bhowmik, 2013).

Syzygium cumini atau *Eugenia jambolana* pada pengobatan Ayurveda dan sistem pengobatan Yunani memiliki berbagai sifat terapeutik. Menurut Ayurveda, kulit batang digunakan untuk sakit perut obat cacing, sakit tenggorokan, bronkitis, asma, disentri, kotoran darah dan untuk mengobati bisul (Kirtikar & Basu, 1975). Dalam sistem Kedokteran Yunani daun digunakan untuk memperkuat gigi dan gusi, biji juwet sebagai astringent, diuretik, diabetes dan penyembuh luka. Juwet

digunakan sebagai tanaman obat yang pada bagian-bagian tanaman sudah terbukti memiliki aktivitas hipoglikemik, antibakteri, anti HIV aktivitas dan efek anti diare, antiinflamasi (Bhuiyan *et al.*, 1996; Kusumoto *et al.*, 1995; Indira & Mohan, 1993; Ravi *et al.*, 2004). Juwet (*Syzygium cumini* (L.) Skeel) digunakan sebagai obat tradisional. Secara empiris kulit batang, buah, daun dan biji digunakan untuk menurunkan kadar gula darah (Arifin *et al.*, 2006).

Bagian kulit batang juwet memiliki kandungan *betulinic acid*, β -sitosterol, *eugenin*, *acetyl oleanolic acid*, *tanin*, *gallic acid*, *ellagic acid*, *quercetin*, *isoquercetin*, *kaempferol*, *myricetin*, *flavonoid*, *triterpenoids*, *saponin* dan *anthocyanin*. Zat kimia yang terdapat pada kulit batang juwet memiliki berbagai efek farmakologi, diantaranya efek antidiabetik, hipolipidemia, anti HIV, antiinflamasi, antioksidan, antidiare, antibakteri, antipiretik, radioprotektif (Saravaanan & Pari, 2008; Ayyanar & Subash-Babu, 2012).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Saravaanan dan Pari (2006) menyimpulkan bahwa pemberian ekstrak polar kulit batang juwet dosis 300 mg/kgBB selama 30 hari dapat menurunkan kadar glukosa darah dan memiliki efek yang lebih besar dari pada pemberian glibenklamid 600 μ g/kgBB. Uji fitokimia, didapatkan flavonoid yang dapat meregenerasi sel β pankreas yang rusak, *quercetin* meregenerasi pulau langerhans pankreas dan meningkatkan pelepasan insulin, *anthocyanin* sebagai pewarna alami dapat merangsang insulin dari sel β pankreas, *myricetin* dapat menurunkan kadar glukosa darah. Pengobatan DM diharapkan juga fokus pada peningkatan sensitivitas insulin atau atau menambah sekresi insulin-dependent glukosa atau menurunkan resistensi insulin.

Polifenolik seperti tanin dan saponin dapat mengurangi penghambatan enzim α glukosidase. Terdapat penelitian yang menyatakan bahwa senyawa alami seperti flavonoid dapat mengaktifkan *peroxisome proliferator-aktivitas reseptor* (PPAR γ).

Efek antidiabetes dari ekstrak kulit batang juwet melalui penghambatan penyerapan glukosa, meningkatkan sensitivitas reseptor terhadap insulin, menghambat efek insulinase, stimulasi sel β pankreas untuk mensekresikan insulin atau stimulasi jaringan perifer terhadap penyerapan glukosa (Saravaanan dan Pari, 2006). Penelitian yang dilakukan oleh Saraswaty (2010) menyebutkan bahwa kulit batang juwet memiliki aktivitas *alfa glukosidase*.

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu tentang aktivitas antidiabetes kulit batang juwet, maka peneliti tertarik untuk menguji pengaruh fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet terhadap *glucose transporter* (GLUT-4) dalam proses insulin *signaling*, terutama pada jaringan otot paha (*soleus muscle*) tikus yang menderita DM tipe II resistensi insulin. Kulit batang juwet yang memiliki efektifitas mempercepat keluarnya glukosa dari sirkulasi, dengan cara mempercepat peredaran darah yang erat kaitannya dengan kerja jantung dan dengan cara mempercepat filtrasi dan ekskresi ginjal sehingga produksi urin meningkat, laju ekskresi glukosa melalui ginjal meningkat sehingga kadar glukosa dalam darah menurun (Suryowinoto, 2005). Tanaman juwet memiliki efek α -amilase inhibisi, anti inflamasi, menurunkan stress oksidatif dan regenerasi sel β serta meningkatkan *uptake* glukosa (Krishna *et al.*, 2013; Chang & Shen, 2008).

Kandungan *quercetin* pada kulit batang juwet dapat memperbaiki *uptake* glukosa melalui stimulasi 3T3-L1 pada sel adiposit matur oleh insulin dan

diharapkan mampu mensensitisasi kerja insulin dengan meningkatkan forforilasi tirosin pada reseptor insulin dan memperpanjang proses signaling. Kedua mekanisme ini mengindikasikan bahwa quersetin akan memperbaiki resistensi insulin di jaringan perifer (Fang *et al.*, 2008; Pitoyo & Fatmawati, 2012).

Penelitian yang dilakukan Inawati (2011) menyebutkan bahwa *quersetin* memiliki kemampuan untuk memberikan perlindungan terhadap kerusakan sel yang diakibatkan oleh stress oxidative (seperti peroksidasi lipid dari membrane dan degradasi membrane) yang berhubungan dengan radikal bebas. *Quersetin* banyak ditemukan pada kulit batang juwet (Saraswati, 2010). Senyawa *quersetin* bersifat semi polar yakni sebagai aglikon flavonoid polihidroksi yang tidak larut dalam heksan, petroleum eter dan kloroform; larut dalam eter, etil asetat dan etanol; dan sedikit larut dalam air (Harbone, 1987; Markham, 1988).

Pada penelitian ini parameter yang dapat dihitung yaitu persen daya hipoglikemik darah pada tikus yang diberikan 5 sediaan uji fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet berbagai dosis. Parameter yang lain yaitu pengujian terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus, dilakukan pengamatan aktivitas protein GLUT-4 dengan metode imunohistokimia, yang diawali dengan menganalisis morfologi jaringan otot paha tikus menggunakan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) untuk mengetahui bentuk dan ukuran dari jaringan, selanjutnya dilakukan preparasi dan pewarnaan jaringan dengan metode imunohistokimia untuk mengamati aktivitas translokasi protein GLUT-4 dengan menggunakan anti GLUT-4 sebagai antibodi.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet dapat menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan translokasi protein GLUT-4 jaringan otot tikus pada tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin?
2. Berapa dosis fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet yang memberikan efek paling optimal terhadap penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan translokasi protein GLUT-4 jaringan otot tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet dalam menurunkan kadar glukosa darah dan peningkatan translokasi protein GLUT-4 jaringan otot tikus pada tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin.
2. Mengetahui besarnya dosis fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet memberikan efek paling optimal terhadap penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan translokasi protein GLUT-4 jaringan otot tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin.

D. Keaslian Penelitian

Penelitian yang dilakukan oleh Saravaanan dan Pari (2006) menyimpulkan bahwa pemberian ekstrak air kulit batang juwet dosis 300 mg/kgBB terhadap tikus yang diinduksi streptozotocin signifikan dengan pemberian glibenklamid 600

$\mu\text{g/kg}$ BB menurunkan kadar glukosa darah. Uji fitokimia, didapatkan flavonoid yang dapat meregenerasi sel β pankreas yang rusak, quercetin meregenerasi pulau langerhans pankreas dan meningkatkan pelepasan insulin. Anthocyanin sebagai pewarna alami dapat merangsang insulin dari sel β pankreas. Myricetin dapat menurunkan kadar glukosa darah. Polifenolik seperti tanin dan saponin dapat mengurangi penghambatan enzim α glukosidase. Terdapat penelitian yang menyatakan bahwa senyawa alami seperti flavonoid untuk mengaktifkan *peroxisome proliferasi reseptor* (PPAR γ) (Kuroda *et al*, 2003). Efek antidiabetes dari ekstrak kulit batang juwet melalui penghambatan penyerapan glukosa, meningkatkan sensitivitas reseptor terhadap insulin, menghambat efek insulinase, stimulasi sel β pankreas untuk mensekresikan insulin atau stimulasi jaringan perifer terhadap penyerapan glukosa

Batang juwet yang memiliki efektifitas mempercepat keluarnya glukosa dari sirkulasi, dengan cara mempercepat peredaran darah yang erat kaitannya dengan kerja jantung dan dengan cara mempercepat filtrasi dan ekskresi ginjal sehingga produksi urin meningkat, laju ekskresi glukosa melalui ginjal meningkat sehingga kadar glukosa dalam darah menurun (Suryowinoto, 2005). Tanaman juwet memiliki efek α -amilase inhibisi, anti inflamasi, menurunkan stress oksidatif dan regenerasi sel β serta meningkatkan *uptake* glukosa (Krishna *et al.*, 2013; Chang & Shen, 2013).

Penelitian pengaruh fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet terhadap translokasi GLUT-4 jaringan otot pada tikus diabetes mellitus tipe II resisten insulin belum banyak diteliti.

E. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi bagi masyarakat mengenai farmakologi tanaman obat di Indonesia, khususnya dalam hal penggunaan fraksi etil asetat dari ekstrak etanol kulit batang juwet sebagai antidiabetes, sekaligus sebagai landasan pengembangan pengobatan tradisional menggunakan bahan alami yang banyak terdapat di Indonesia sehingga dapat digunakan oleh masyarakat luas sebagai pengobatan alternatif terhadap diabetes mellitus serta dapat menjadi masukan berbagai pihak dalam memproduksi produk-produk herbal sebagai antidiabetes.

Penelitian ini juga dapat memberikan nilai tambah sumber daya alam Indonesia dengan mengidentifikasi kandungan bahan aktif dan khasiat yang terdapat dalam kulit batang juwet sebagai bahan sediaan obat antidiabetes yang akan meningkatkan daya saing di pasar global sehingga menambah devisa negara.