

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI OYONG
(*Luffa acutangula* (L.) Roxb) DENGAN METFORMIN TERHADAP
AKTIVITAS *GLUCOSE TRANSPORTER 4* JARINGAN OTOT
PADA MODEL TIKUS DIABETES MELLITUS TIPE II
RESISTEN INSULIN**

TESIS

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

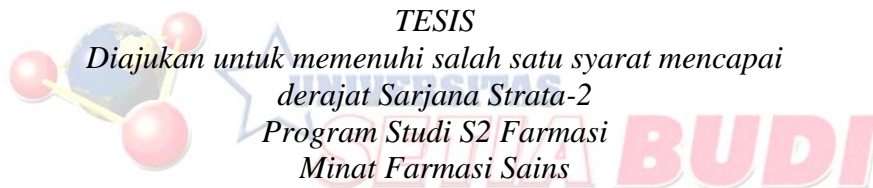


Oleh:

**Yulius Baki Korassa
SBF 031210038**

**PROGRAM STUDI S2 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI OYONG
(*Luffa acutangula* (L.) Roxb) DENGAN METFORMIN TERHADAP
AKTIVITAS *GLUCOSE TRANSPORTER 4* JARINGAN OTOT
PADA MODEL 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:

**Yulius Baki Korassa
SBF 031210038**

**PROGRAM STUDI S2 FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN TESIS
berjudul

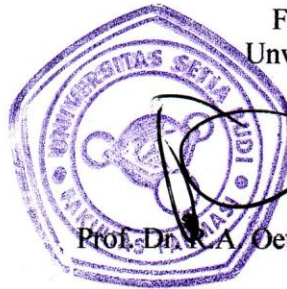
**PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI OYONG
(*Luffa acutangula* (L.) Roxb) DENGAN METFORMIN TERHADAP
AKTIVITAS *GLUCOSE TRANSPORTER 4* JARINGAN OTOT
PADA MODEL TIKUS DIABETES MELLITUS TIPE II
RESISTENSI INSULIN**

Oleh:

Yulius Baki Korassa
SBF 031210038

Dipertahankan di hadapan Dewan Penguji Tesis
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal: 19 Februari 2014

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



Prof. Dr. R. A. Oetari., SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing,

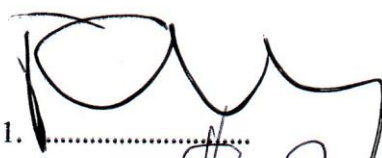
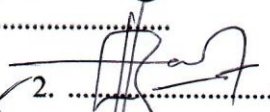
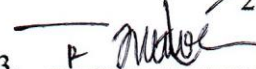
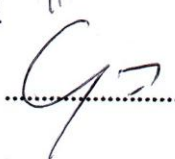

Dr. Gunawan Pamudji Widodo.,M.Si., Apt

Pembimbing pendamping,


Drh. Retno Murwanti.,M.P.,Ph.D

Penguji:

1. Prof. Dr. R.A. Oetari.,SU.,MM.,M.Sc.,Apt
2. Dr. Rina Herowati.,M.Si.,Apt
3. Drh. Retno Murwanti.,M.P., Ph.D
4. Dr. Gunawan Pamudji Widodo.,M.Si., Apt

1.
2.
3.
4.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Kolose 3:23

(Apa pun juga yang kamu perbuat, perbuatlah dengan segenap hatimu seperti untuk Tuhan dan bukan untuk manusia)

Nahum 1:7

Tuhan itu baik; Ia adalah tempat pengungsian pada waktu kesusahan; Ia mengenal orang-orang yang berlindung kepada-Nya.

Ku persembahkan TESIS ini kepada :

- ✚ Yesus Kristus, Tuhan & Juruslamatku*
- ✚ Ayah Tercinta Frederick Korassa dan Ibu Tersayang Normalina Amfoni*
- ✚ Saudaraku Tersayang Yenni Rosmalia Korassa., SKM dan Allexander Immanuel Korassa.*
- ✚ Orang Yang Paling Kusayangi dan ku cintai Elsha Yuliesta Yusuf.*
- ✚ Almamater Tercinta Universitas Setia Budi*

Ucapan Terimakasih ku ucapkan kepada :

Elisabeth oriana Djawa La dan Matias Kolobani, kalian berdua yang selalu memberikan suport dan semangat dalam menyusun tesis ini, Untuk bang risman, yang sudah meluangkan waktu dan tenaga untuk ujian proposal dan tesis

Keluarga besar PMK Katharos yang selalu mendukung dalam doa dan mendengarkan keluh kesah

Pak Gunawan Pamudji, Trimakasih atas kepercayaan dalam pengelolaan proyek tesis ini dan Pak Sigit, Tuhan akan memberkatimu lebih lagi

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa Tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan dapat disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila Tesis ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/tesis orang lain maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 19 Februari 2013

Yulius Baki Korassa., S.Farm., Apt

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas rahmat dan karunia Tuhan yang Maha Esa, yang telah memberi tuntunan dan kemampuan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis yang berjudul: **PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI OYONG (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) DENGAN METFORMIN TERHADAP AKTIVITAS *GLUCOSE TRANSPORTER 4* JARINGAN OTOT PADA MODEL TIKUS DIABETES MELLITUS TIPE II RESISTENSI INSULIN.**

Tesis ini disusun dalam rangka melengkapi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Sains pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penyusunan Tesis ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Winarso Suryolegowo, SH., M.Pd, selaku Rektor Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi dan penguji Tesis yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam pelaksanaan penelitian dan penyusunan Tesis ini.
3. Dr. Gunawan Pamudji Widodo.,M.Si.,Apt selaku pembimbing utama yang telah memberikan nasehat dan petunjuk dalam penyusunan Tesis ini.

4. Drh. Retno Murwanti., M.P., Ph.D selaku pembimbing pendamping yang telah membantu dalam penyusunan Tesis ini.
5. Dr. Rina Herowati, M.Si.,Apt, selaku penguji kedua yang telah meluangkan waktu sehingga ujian Tesis dapat terlaksana.
6. Segenap Dosen, Karyawan dan Staff Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah banyak membantu kelancaran Tesis ini.
7. Segenap Staff Laboratorium Histologi dan Biologi Sel, Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.
8. Segenap karyawan Perpustakaan Universitas Setia Budi dan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta yang telah banyak membantu kelancaran pelaksanaan Tesis ini.
9. Orang tua dan saudara-saudara yang selalu mendoakan dan mendukung.
10. Keluarga besar PMK Katharos dan semua pihak yang telah membantu sehingga penulis dapat menyelesaikan Tesis ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan Tesis ini masih ada kekurangan dan kurang sempurna. Penulis mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun, semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta untuk pengembangan ilmu farmasi dan pengobatan.

Surakarta, 19 Februari 2014

Yulius Baki Korassa.,S.Farm.,Apt

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.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xv
<i>ABSTRACT</i>	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	6
D. Keaslian Penelitian.....	7
E. Kegunaan Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. Tanaman Biji Oyong (<i>Luffa acutangula</i> (L.) Roxb)	8
1. Sistematika tanaman.....	8
2. Nama lain.....	8
3. Morfologi tanaman	8
4. Kandungan kimia.....	9
5. Manfaat tanaman	10
B. Diabetes Mellitus.....	10
1. Definisi diabetes mellitus (DM)	10
2. Klasifikasi diabetes mellitus.....	10
2.1. Diabetes mellitus tipe I	11
2.2. Diabetes mellitus tipe II	11
2.3. Diabetes mellitus tipe lain	11
2.4. Diabetes gestasional	12

3.	Patofisiologi diabetes mellitus.....	12
4.	Komplikasi diabetes Mellitus	13
5.	Terapi diabetes mellitus.....	13
5.1	Golongan sulfonilurea	14
5.2	Golongan biguanida	14
5.3	Golongan meglitinid.....	15
5.4	Golongan thiazolidindion atau glitazon	15
5.5	Golongan inhibitor α -glukosidase	16
C.	Metode Uji Aktivitas Antidiabetes	17
1.	Uji efek antidiabetes	17
1.1	Induksi resistensi insulin	17
1.2	Uji toleransi glukosa.....	17
2.	Metode analisa kadar glukosa darah.....	19
1.1.	Metode glukometer	19
1.2.	Metode <i>glucose dehidrogenase</i> (GLUC-DH)	19
1.3.	Metode GOD-PAP.....	20
1.4.	Metode O-toludine.....	20
D.	Insulin	20
1.	Struktur dan bahan kimia insulin	20
1.1.	Sintesis dan pelepasan insulin	20
1.2.	Glukosa transpoter.....	24
1.3.	Mekanisme molekuler <i>uptake</i> glukosa	24
2.	Resistensi insulin.....	27
E.	Metode Imunohistokimia.....	29
1.	Metode langsung (<i>direct method</i>)	30
2.	Metode tidak langsung (<i>indirect method</i>)	30
F.	Tikus	31
G.	Simplisia	32
1.	Pengertian simplisia.....	32
2.	Pengeringan simplisia.....	33
H.	Metode Penyarian	34
2.	Ekstraksi	34
3.	Maserasi.....	34
3.	Pelarut.....	35
I.	Landasan Teori	36
J.	Hipotesis	39
BAB III	METODE PENELITIAN	41
A.	Populasi dan Sampel	41
1.	Populasi	41
2.	Sampel.....	41
B.	Variabel Penelitian	41
1.	Identifikasi variabel utama	41
2.	Klasifikasi variabel utama	41
3.	Definisi operasional variabel utama	42
C.	Alat dan Bahan	43

1. Alat	43
2. Bahan.....	43
3. Hewan percobaan	44
D. Jalannya Penelitian	44
1. Identifikasi biji oyong.....	44
2. Pembuatan serbuk biji oyong	44
3. Penetapan kadar air serbuk biji oyong.....	44
4. Pembuatan ekstrak etanol biji oyong.....	45
5. Identifikasi kualitatif ekstrak etanol biji oyong.....	45
5.1. Pemeriksaan organoleptik	45
5.2. Identifikasi flavonoid	45
5.3. Identifikasi alkaloid.....	46
5.4. Identifikasi saponin	46
5.5. Identifikasi glikosida	46
6. Pembuatan pakan kaya lemak.....	46
7. Pembuatan suspensi CMC 1 %.....	47
8. Pembuatan larutan glukosa monohidrat	47
9. Penentuan dosis	47
9.1. Dosis metformin	48
9.2. Dosis glukosa monohidrat	48
9.3. Dosis biji oyong.....	48
10. Pengelompokan hewan percobaan.....	48
11. Analisa glukosa darah tikus.....	50
12. Pengujian <i>in vivo</i>	51
13. Preparasi dan pewarnaan jaringan otot.....	52
E. Analisa hasil	53
1. Data kuantitatif.....	53
2. Data semikuantitatif	53
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	59
1. Identifikasi biji oyong	59
2. Pengambilan bahan	60
3. Hasil Pembuatan serbuk biji oyong.....	60
4. Hasil penetapan kadar air serbuk biji oyong	60
5. Identifikasi kandungan kimia serbuk etanolik biji oyong ..	61
6. Pembuatan ekstrak etanol biji oyong	62
7. Identifikasi kandungan kimia ekstrak etanolik biji oyong .	64
8. Pengukuran berat badan tikus	65
9. Pengujian tes toleransi glukosa darah tikus	69
10. Pengujian tikus diabetes mellitus tipe II resisten insulin ...	71
10.1 Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus setelah diberi pakan lemak.....	71
10.2 Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus setelah diberi larutan uji.....	72
10.3 Hasil pengamatan struktur anatomi sel otot.....	75

10.4	Pengamatan ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot paha (<i>soleus muscle</i>) tikus	76
11.	Hubungan antara penurunan kadar glukosa darah dan jumlah peningkatan protein GLUT-4.....	87
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN.....	90
	A. Kesimpulan	90
	B. Saran.....	90
BAB VI	RINGKASAN	92
	DAFTAR PUSTAKA	97
	LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema jalur sinyal insulin.....	23
Gambar 2. Mekanisme translokasi GLUT-4 di sel otot dan adiposa.....	25
Gambar 3. Jalur sinyal insulin dalam metabolisme glukosa	26
Gambar 4. Mekanisme resistensi insulin yang diinduksi oleh asam lemak .	29
Gambar 5. Skema pembuatan ekstrak etanol biji oyong	55
Gambar 6. Prosedur pengujian	56
Gambar 7. Skema kerja preparasi <i>slide</i> sampel jaringan otot paha (<i>soleus muscle</i>).....	57
Gambar 8. Skema kerja imunohistokimia, pengamatan foto mikroskopi dan kuantifikasi translokasi protein GLUT-4	58
Gambar 9. Berat badan (BB) tikus setelah pemberian <i>High Fat Diet</i> (HFD), glukosa monohidrat dan minyak babi p.o sampai pada hari ke 60, tampak bahwa kenaikan BB kelompok tikus HFD berbeda bermakna dibandingkan tikus normal.....	66
Gambar 10. Grafik hasil uji toleransi glukosa darah	70
Gambar 11. Hasil pengukuran glukosa darah tikus setelah diberi <i>High Fat Diet</i> (HFD).....	72
Gambar 12. Hasil pengukuran kadar glukosa darah setelah diberi sediaan uji	73
Gambar 13. Hasil pewarnaan HE terhadap jaringan otot kelompok tikus normal (1) dan kelompok tikus yang diberi HFD (2) dengan pembesaran 100x (a) dan perbesaran 400 x (b)	76
Gambar 14. Hasil pewarnaan dengan metode imunohistokimia tampak adanya protein GLUT-4 pada jaringan otot dengan pembesaran 100x (a) dan perbesaran 400 x (b)	79
Gambar 15. Grafik hasil kuantifikasi (luas x intensitas) daerah translokasi protein GLUT-4	81

Gambar 16. Hasil pewarnaan imunohistokimia kelompok tikus normal (1) dengan kelompok tikus yang diberi pakan lemak dan diberi sediaan uji kombinasi 25:25 (2) dengan pembesaran 100x (a) dan perbesaran 400 x (b)..... 83

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil penetapan kadar air serbuk biji oyong	61
Tabel 2. Hasil identifikasi kandungan kimia serbuk biji oyong	62
Tabel 3. Rendemen ekstrak biji oyong dengan pelarut etanol 96%	63
Tabel 4. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanol biji oyong	64
Tabel 5. Rata-rata prosentase penurunan kadar glukosa darah tikus.....	74
Tabel 6. Hasil rata-rata perhitungan protein GLUT-4	80
Tabel 7. Prosentase penurunan kadar glukosa darah dan jumlah protein GLUT-4 kelompok uji	87

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Surat keterangan hasil determinasi biji oyong.....	105
Lampiran 2. Surat keterangan penelitian dari Laboratorium Histologi dan Biologi Sel. Fakultas Kedokteran, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta	106
Lampiran 3. Foto buah dan biji oyong (<i>Luffa acutangula</i> (L.) Roxb).....	107
Lampiran 4. Botol maserasi, <i>Evaporator</i> Sterling-Bidwell dan Glukometer	108
Lampiran 5. Foto serbuk biji oyong, ekstrak etanol biji oyong dan kandungan kimia biji oyong	109
Lampiran 6. Foto pembuatan pakan kaya lemak dan hasil perhitungan	110
Lampiran 7. Tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	112
Lampiran 8. Gambar prosedur preparasi dan pewarnaan jaringan otot paha (<i>soleus muscle</i>) tikus.....	113
Lampiran 9. Prosedur preparasi dan pewarnaan jaringan otot paha (<i>soleus muscle</i>) tikus	115
Lampiran 10. Hasil pewarnaan secara Hematoksilin Eosin (HE) tiap kelompok perlakuan	122
Lampiran 11. Hasil pewarnaan secara Imunohistokimia tiap kelompok perlakuan	127
Lampiran 12. Perhitungan kadar air serbuk biji oyong.....	132
Lampiran 13. Perhitungan rendemen ekstrak etanol 96 % biji oyong	133
Lampiran 14. Tabel maksimum larutan sediaan uji untuk hewan	134
Lampiran 15. Tabel konversi dosis hewan dengan manusia.....	135
Lampiran 16. Pembuatan suspensi metformin, ekstrak etanol biji oyong (<i>Luffa acutangula</i> (L.) Roxb) dan glukosa monohidrat.....	136
Lampiran 17. Data hasil pengukuran berat badan tikus hari ke 0, 30, 60 dan prosentase peningkatan berat badan tikus	141

Lampiran 18. Data hasil pengukuran glukosa darah tikus hari ke-0, 30, 60 dan prosentase penurunan kadar glukosa darah	143
Lampiran 19. Data hasil perhitungan jumlah ekspresi protein GLUT-4 jaringan otot paha (<i>soleus muscle</i>) tikus.....	145
Lampiran 20. Data hasil pengukuran tes toleransi glukosa darah tikus.....	146
Lampiran 21. Analisa statistik nilai peningkatan berat badan tikus dengan menggunakan metode anova satu arah	148
Lampiran 22. Analisa statistik dengan <i>independent samplet test</i> terhadap nilai peningkatan kadar glukosa darah tikus setelah diberi HFD	153
Lampiran 23. Analisa statistik nilai hipoglikemia ekstrak etanol biji oyong dan kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin dengan menggunakan metode anova satu arah	155
Lampiran 24. Analisa statistik nilai ekspresi protein GLUT-4 jaringan otot paha (<i>soleus muscle</i>) tikus ekstrak etanol biji oyong dan kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin dengan menggunakan metode anova satu arah	162
Lampiran 25. Analisa statistik hubungan antara proaentase penurunan kadar glukosa darah dengan peningkatan jumlah protein GLUT-4 ...	167

INTISARI

KORASSA, Y. B. 2014. PENGARUH KOMBINASI EKSTRAK ETANOL BIJI OYONG (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) DENGAN METFORMIN TERHADAP AKTIVITAS *GLUCOSE TRANSPORTER 4* JARINGAN OTOT PADA MODEL TIKUS DIABETES MELLITUS TIPE II RESISTENSI INSULIN, TESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Oyong merupakan tanaman yang dapat digunakan untuk mengatasi penyakit Diabetes Mellitus (DM) tipe II. Dalam terapi DM terdapat kemungkinan pemakaian bersama-sama dengan antidiabetes oral (ADO) seperti metformin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin terhadap penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan aktivitas translokasi protein *glucose transporter 4* (GLUT-4) jaringan otot pada model tikus DM tipe II resistensi insulin.

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode acak lengkap pola searah. Hewan uji yang digunakan dibagi menjadi 10 kelompok uji. Kelompok 1: kontrol normal; kelompok 2: metformin 45 mg/kg BB; kelompok 3: ekstrak etanol 200 mg/kg BB; kelompok kombinasi metformin:ekstrak etanol berturut-turut dari kelompok 4 sampai kelompok 10: 11,25:150; 22,5:100; 33,7:50; 11,25:100; 11,25:50; 22,5:50 dan 33,7:150 mg/kg BB. Hewan diinduksi resisten insulin dengan pemberian glukosa monohidrat, *High Fat Diet* (HFD) dan minyak babi. Resistensi insulin pada tikus diuji menggunakan 3 parameter, yaitu: (1) uji kadar glukosa darah puasa, (2) uji toleransi glukosa darah dan (3) pengamatan ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot.

Hasil uji aktivitas antidiabetes menunjukkan bahwa kelompok kombinasi metformin 22,5 mg/kg BB dan ekstrak etanol biji oyong 100 mg/kg BB (50:50) memiliki aktivitas yang paling optimal terhadap prosentase penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan jumlah translokasi protein GLUT-4 pada tikus yang dikondisikan DM tipe II resistensi insulin. Hasil analisis statistik ($p < 0,05$) menunjukkan hubungan antara jumlah peningkatan protein GLUT-4 dengan persen penurunan kadar glukosa darah adalah linear atau saling mempengaruhi.

Kata kunci: *Luffa acutangula* (L.) Roxb, resistensi insulin, protein GLUT-4

ABSTRACT

KORASSA, Y. B. 2014. COMBINATION EFFECT OF ETHANOL EXTRACT OF OYONG SEED (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) WITH METFORMIN TO GLUCOSE TRANSPORTER 4 ACTIVITY OF MUSCLE TISSUE IN MICE MODEL OF DIABETES MELLITUS TYPE II INSULIN RESISTANCE. THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Luffa acutangula (L.) Roxb is a plant that can be used to treat Diabetes Mellitus (DM) type II. In DM therapy is possible usage together with antidiabetic oral (ADO) like metformin. This study aims to determine the combination activity of ethanol extract of *Luffa acutangula* (L.) Roxb seed and metformin to decrease in blood glucose levels and increase in protein translocation activity of glucose transporter 4 (GLUT-4) of muscle tissue in mice model of diabetes mellitus type II insulin resistance

The research was conducted by using completely randomized same direction pattern method. Test animals used were divided into 10 test groups. Group 1: normal control; group 2: metformin 45 mg/kg BW; group 3: ethanol extract 200 mg/kg BW; combination groups metformin : ethanol extract respectively from group 4 to group 10: 11,25:150; 22,5:100; 33,7:50; 11,25:100; 11,25:50; 22,5:50 and 33,7:150 mg/kg BW. Animal induced insulin resistance by administration of glucose monohydrate, High Fat Diet (HFD) and lard. Insulin resistance in mice was tested using three parameters, which are: (1) test of fasting blood glucose levels, (2) test of blood glucose tolerance, and (3) observation of GLUT-4 protein expression in muscle tissue.

Resultsof antidiabetic activity test showed that combination group of metformin 22.5 mg/kg and ethanol extract of *Luffa acutangula* (L.) Roxb seed 100 mg/kg BW (50:50) had the most optimal activity to percentage of decrease in blood glucose levels and increase in amount GLUT-4 protein translocation in micewhich conditioned DM type II insulin resistance. Result of statistical analysis ($p < 0.05$) showed there was linear relationship between amount of increase in GLUT-4 protein with decrease percentin blood glucose levels.

Keywords : *Luffa acutangula* (L.) Roxb, insulin resistance, GLUT-4 protein

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) dapat digambarkan sebagai sekelompok penyakit metabolik multisystem yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, protein dan menyebabkan komplikasi kronis, seperti mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropati. Penyakit DM dapat terjadi akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya (Triplitt *et al.*, 2005). DM menjadi salah satu masalah penyakit terbesar di dunia. Tercatat oleh *World Health Organization* (WHO) sebanyak 346 miliar manusia di dunia diindikasikan mengalami DM (Aklima *et al.*, 2013). Hasil studi global menunjukkan bahwa jumlah penderita DM pada tahun 2011 telah mencapai 366 juta orang. Jumlah ini akan meningkat dan jika tidak dilakukan tindakan akan mencapai jumlahnya hingga 552 juta pada tahun 2030 yang berakibat meningkatnya angka kematian (Trisnawati *et al.*, 2013). WHO memprediksi Indonesia sebagai negara nomor 4 di dunia dengan jumlah penderita DM sebesar 21.3 juta pada tahun 2030 setelah India, Cina, dan Amerika Serikat.

DM merupakan salah satu penyakit metabolisme kronik yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa dalam darah di atas nilai normalnya. Biasanya DM dikaitkan dengan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia) di atas 126 mg/dL dalam keadaan puasa dan di atas 200 mg/dL pada 2 jam setelah makan, disertai keluhan poliuri (sering buang air kecil), polidipsi (meningkat rasa

haus), dan polifagi (rasa lapar berlebihan) serta penurunan berat badan (Yaman, 2012).

America Diabetes Assosiation (ADA) mengklasifikasikan DM ke dalam empat kelas yaitu diabetes mellitus tipe I disebabkan karena kerusakan sel β pankreas yang berakibat pada defisiensi insulin, DM tipe II, DM gestasional, dan DM penyebab lain (ADA, 2012).

DM tipe II ditandai adanya resistensi jaringan terhadap kerja insulin, berakibat pada defisiensi sekresi insulin (Katzung, 2010). Pada penderita DM tipe II didapatkan bahwa ekspresi mRNA SREBP-1c (*Sterol Regulatory-Element Binding Protein-1c*) menurun. SREBP-1c merupakan faktor transkripsi untuk beberapa gen yang berbeda antara lain adalah gen *glucose transporter 4* (GLUT-4) (Lay *et al.*, 2002). GLUT-4 adalah protein transpor untuk glukosa yang bertujuan membawa glukosa masuk ke dalam sel. Penurunan jumlah GLUT-4 akan menurunkan glukosa yang masuk ke dalam sel sehingga dapat terjadi hiperglikemia. Bila hal ini berlangsung dalam waktu yang lama maka dapat berubah menjadi penyakit DM tipe II yang menetap (Wu YC *et al.*, 2001).

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. Hipotesis Randle menyatakan mekanisme induksi resistensi insulin oleh asam lemak ini terjadi akibat kompetisi asam lemak dan glukosa untuk berikatan dengan reseptor insulin (Rothman *et al.*, 1995).

Terapi pasien DM tipe II dimulai dengan terapi non-farmakologi terlebih dahulu, apabila usaha tersebut tidak berhasil, maka perlu dilakukan dengan menggunakan terapi farmakologi berupa obat antidiabetes oral (Khotib *et al.*, 2010). Obat antidiabetes yang telah digunakan sebagai terapi sampai saat ini antara lain adalah obat golongan sulfonilurea dan non sulfonilurea (*insulin secretagogue*) seperti golongan biguanid dan thiazolidinedion (*insulin sensitizer*), serta golongan *inhibitor α -glukosidase* (Belfiore *et al.*, 2000).

Pengobatan dengan obat tradisional yang diberikan secara tunggal tidak direkomendasikan oleh komite etik Departemen Kesehatan Republik Indonesia, karena mengingat DM merupakan penyakit kronis yang penatalaksanaannya harus menggunakan obat antidiabetes oral sintetis. Metformin merupakan salah satu obat antidiabetes oral yang merupakan obat pilihan pertama pada pengatasan DM tipe II. Metformin merupakan obat antidiabetes oral golongan biguanid, dimana obat ini bekerja untuk mengurangi produksi glukosa hati dan memperbaiki ambilan glukosa dari jaringan, membantu otot dan sel-sel lemak dan hati menyerap kelebihan glukosa dari aliran darah sehingga akan menurunkan kadar glukosa darah (DepKes RI, 2007). Namun, efek samping yang sering terjadi dari penggunaan obat golongan biguanid adalah terjadinya anoreksia, mual dan muntah (Reid, 2007). Oleh sebab itu banyak dilakukan penelitian terhadap

tanaman tradisional yang memiliki potensi untuk di kembangkan sebagai obat antidiabetes (Purwanti, 2012).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa buah oyong memiliki aktivitas sebagai antihiperqlikemia dan antihiperlipidemia pada tikus yang diinduksi oleh streptozotosin (Pimple *et al.*, 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Hazra dkk (2011) menunjukkan bahwa ekstrak metanol buah oyong memiliki aktivitas antidiabetes yang sangat efektif terhadap tikus diabetes yang diinduksi aloksan dimana terjadi penurunan kadar glukosa darah yang signifikan. Studi toksisitas akut menunjukkan bahwa ekstrak buah oyong tidak bersifat toksik sampai dosis 3000 mg/kg BB tikus. Penelitian lain menyebutkan bahwa ekstrak kloroform dan ekstrak alkohol biji *Luffa acutangula* dilaporkan mampu menurunkan kadar glukosa darah pada tikus wistar yang mengalami diabetes setelah diinduksi aloksan secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol dan kelompok yang diberikan glibenklamid (Jyothi *et al.*, 2010).

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu tentang aktivitas antidiabetes tanaman oyong, maka peneliti tertarik untuk menguji pengaruh kombinasi ekstrak etanol biji oyong dengan metformin terhadap aktivitas protein *glucose transporter* (GLUT-4) dalam proses insulin *signaling*, terutama pada jaringan otot paha (*soleus muscle*) tikus yang menderita DM tipe II resistensi insulin. Mengingat pengobatan yang diberikan pada pasien DM harus tetap menggunakan obat antidiabetes oral dan tidak boleh memberikan obat tradisional secara tunggal, maka penelitian ini menjadi penting untuk dilakukan. Parameter yang dapat dihitung yaitu persen daya hipoglikemik darah pada tikus yang diberikan sediaan

uji kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin dalam berbagai dosis dibandingkan dengan pemberian keduanya secara tunggal. Selain parameter pengujian terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus, dilakukan juga pengamatan aktivitas protein GLUT-4 dengan metode imunohistokimia, yang diawali dengan menganalisis morfologi jaringan otot paha (*soleus muscle*) tikus menggunakan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) untuk mengetahui bentuk dan ukuran dari jaringan, kemudian dilakukan preparasi dan pewarnaan jaringan dengan metode imunohistokimia untuk mengamati aktivitas translokasi protein GLUT-4 dengan menggunakan antiGLUT-4 sebagai antibodi.

Pengujian dilakukan pada model hewan uji yang mengalami resistensi insulin dengan diberi *High Fat Diet* (HFD), glukosa monohidrat dan minyak babi secara peroral hingga terjadi obesitas. Salah satu faktor pemicu terjadinya DM tipe II adalah karena obesitas. Kemampuan sensitivitas insulin akan mengalami penurunan pada pasien dengan obesitas (Ahima & Flier, 2000). Pemberian HFD yang digunakan pada penelitian ini adalah pakan pelet, lemak sapi dan kuning telur puyuh.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan maka timbul permasalahan sebagai berikut:

1. Apakah pemberian kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin dapat menurunkan kadar glukosa darah pada model tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin?

2. Berapa dosis kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin yang dapat memberikan efek paling optimal terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin?
3. Bagaimana pengaruh kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin terhadap aktivitas protein GLUT-4 jaringan otot tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin?
4. Berapa dosis kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin yang dapat memberikan efek paling optimal terhadap peningkatan jumlah protein GLUT-4 jaringan otot tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh pemberian kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin dalam menurunkan kadar glukosa darah pada model tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin.
2. Mengetahui dosis kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin yang dapat memberikan efek paling optimal terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin.
3. Mengetahui pengaruh kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin terhadap aktivitas protein GLUT-4 jaringan otot tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin.
4. Mengetahui dosis kombinasi ekstrak etanol biji oyong dan metformin yang dapat memberikan efek paling optimal terhadap peningkatan jumlah protein GLUT-4 jaringan otot tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin?

D. Keaslian Penelitian

Penelitian ekstrak etanol biji oyong pada tikus diabetes mellitus tipe II resisten insulin belum banyak dilakukan, ekstrak etanol buah oyong dapat merangsang pelepasan insulin dan menghambat absorpsi glukosa melalui penghambatan enzim *alfa-glukosidase* dan *alfa-amilase*. Dosis 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB ekstrak etanol buah oyong dapat menurunkan kadar glukosa tikus yang diinduksi streptozotosin (Pimple *et al.*, 2011).

Kandungan kimia yang terdapat dalam biji oyong antara lain: minyak lemak, asam laurat, asam miristat, asam palmitat, asam stearat, asam oleat, dan asam linoleat (vonguru *et al.*, 2010). Menurut Adnyana (2010) Senyawa yang berperan dalam penurunan kadar glukosa darah pada biji oyong adalah cucubitasin.

Penelitian tentang aktivitas ekstrak etanol biji oyong yang dikombinasikan dengan metformin untuk terapi DM tipe II resistensi insulin, belum pernah dilakukan.

E. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengungkap lebih lanjut khasiat dari ekstrak etanol biji oyong sebagai terapi alternatif untuk pengobatan penyakit diabetes melitus dan dapat digunakan sebagai suatu gagasan baru bagi kemajuan ilmu pengetahuan di Indonesia, terutama dalam pengembangan dan pemanfaatan tanaman tradisional, serta dapat menjadi suatu masukan untuk berbagai pihak dalam memproduksi produk-produk obat herbal sebagai antidiabetes.

