

**AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIA, ANTIDISLIPIDEMIA DAN  
EFEK TERHADAP GLUT-4 DARI FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK  
ETANOL DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina Delile*) PADA  
TIKUS DIABETES RESISTENSI INSULIN**

**TESIS**



**Oleh:**

**Maria Happy Christian Klau  
SBF131710171**

**PROGRAM STUDI S2 ILMU FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2019**

**AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIA, ANTIDISLIPIDEMIA DAN  
EFEK TERHADAP GLUT-4 DARI FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK  
ETANOL DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*) PADA  
TIKUS DIABETES RESISTENSI INSULIN**

***TESIS***



*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat  
mencapai derajat Sarjana Strata-2  
Program studi S-2 Farmasi  
Minat Farmasi sains*

**Oleh:**

**Maria Happy Christian Klau  
SBF131710171**

**PROGRAM STUDI S2 ILMU FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2019**

**PENGESAHAN TESIS**

berjudul

**AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIA, ANTIDISLIPIDEMIA DAN EFEK  
TERHADAP GLUT-4 DARI FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL  
DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina Delile*) PADA TIKUS  
DIABETES RESISTENSI INSULIN**

oleh:

**Maria Happy Christian Klau  
SBF131710171**

Dipertahankan di hadapan Dewan Penguji Tesis  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal: 30 Juli 2019

Mengetahui  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Dekan

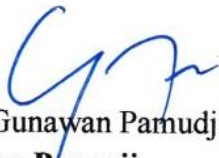
  
Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

**Pembimbing Utama**



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

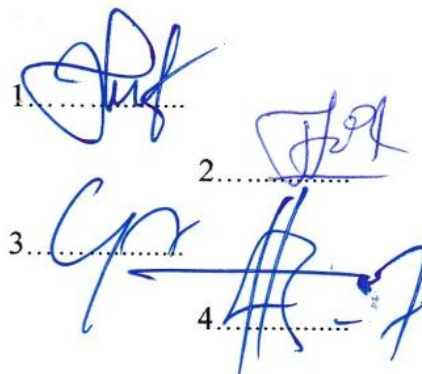
**Pembimbing Pendamping**



Dr. Gunawan Pamudji, M.Si., Apt

**Dewan Penguji:**

1. Dr. Jason Merari P., M.Si., MM., Apt
2. Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt
3. Dr. Gunawan Pamudji, M.Si., Apt
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

  
1.....  
2.....  
3.....  
4.....

## **MOTTO DAN PERSEMBAHAN**

- ❖ *Mintalah, maka akan diberikan padamu; carilah, maka kamu akan mendapat; ketoklah, maka pintu akan dibukakan bagimu. Karena setiap orang yang meminta, menerima dan setiap orang yang mencari, mendapat dan setiap orang yang mengetok, baginya pintu dibukakan.  
(Matius 7:7-8)*
- ❖ *Sukses tak datang dari apa yang diberikan orang lain padamu, tapi dari keyakinan dan kerja keras dirimu sendiri*

## **PERSEMBAHAN**

*Kupersembahkan karya ini kepada:*

*Tuhan YME untuk segala rahmat dari-Nya,  
terima kasih telah memberiku kesempatan  
untuk bernafas di dunia ini.*

*Orang tua, bapak, mama, k'jhon, ion, Aris, ancis,  
k'adrian, terima kasih atas dukungannya,  
motivasi dan doa buatku selalu.*

*sahabat-sahabatku tercinta yang setiap saat selalu  
bersamaku ;Evi, ona, cian, tesa, anggita, helmi,  
pis, ade ina, nendis, pia, githa.*

*Anak- anak kost mawar, patner kerja tesis, ivan,  
bily, irvan n santus*

*Rekan-rekan mahasiswa seangkatan tahun 2017*

*Seluruh civitas akademika Universitas Setia Budi*

## **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, Juli 2019



Maria Happy Christian Klau

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang senantiasa memberikan berkat dan anugrah-Nya yang telah memberikan ilmu kekuatan dan kesempatan sehingga akhirnya penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul **“AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIA, ANTIDISLIPIDEMIA DAN EFEK TERHADAP GLUT-4 DARI FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*) PADA TIKUS DIABETES RESISTENSI INSULIN”** sebagai syarat untuk memperoleh gelar Magister Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Pelaksanaan dan penyusunan tesis ini tentunya tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Dr Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku rector universitas setia budi Surakarta
2. Prof. Dr. RA. Oetari, SU, MM., M.Sc., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi surakarta.
3. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt., selaku Pembimbing Utama yang telah bersedia meluangkan waktunya dan masukan-masukan berharga.
4. Dr. Gunawan Pamudji, M.Si., Apt., selaku Pembimbing Pendamping yang turut memberikan masukan.
5. Dr. Jason Merari P., M.Si., MM., Apt., selaku dosen penguji yang telah bersedia meluangkan waktu.
6. Dr. Ika Purwidyaningrum, S. Farm., M.Sc., Apt., selaku dosen penguji yang telah bersedia meluangkan waktu.
7. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bekal ilmu pengetahuan kepada penulis selama di bangku kuliah.
8. Semua pihak yang secara langsung maupun tidak langsung berperan penting dalam penyelesaian skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa karya ini masih jauh dari kesempurnaan dan memiliki banyak kekurangan sehingga mengharapkan dukungan berupa saran dan kritik dari berbagai pihak yang membaca, guna perbaikan pada penyusunan selanjutnya. Semoga karya ini dapat memberikan manfaat bagi semua pihak yang terkait.

Surakarta, Juli 2019

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	i
PENGESAHAN TESIS .....	ii
MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN .....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI.....	xvi
ABSTRACT .....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Keaslian Penelitian.....	5
E. Kegunaan Penelitian.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>8</b>
A. Daun Afrika .....	8
1. Sistematika Tumbuhan .....	8
2. Nama Daerah .....	8
3. Morfologi Tanaman.....	9
4. Kandungan Kimia .....	9
5. Manfaat dan Kegunaan Tanaman.....	9
B. Simplisia dan Metode Penyarian .....	10
1. Simplisia .....	10
2. Metode penyarian.....	10
3. Cairan Penyari.....	11
C. Metode Pemisahan .....	12
D. DM Tipe 2 .....	12
1. Definisi DM tpe 2.....	12



2.	Terapi DM .....	13
2.1	Peningkat sekresi Insulin. ....	13
2.2	Penambah Sensitivitas Insulin. ....	13
2.3	Penghambat Glukoneogenesis. ....	14
2.4	Penghambat alfa Glukosidase. ....	14
2.5	Golongan dipeptidil peptidase tipe 4. ....	14
E.	Insulin.....	15
1.	Struktur dan bahan kimia insulin .....	15
2.	Sintesis dan sekresi insulin .....	15
3.	Aktivitas Insulin .....	17
4.	Resistensi Insulin .....	18
F.	Metode Uji Aktivitas Antidiabetes .....	20
1.	Uji efek antidiabetes .....	20
1.1.	Induksi resistensi insulin. ....	21
1.2.	Uji toleransi glukosa. ....	21
1.3.	Uji diabetonik (aloksan, streptozotocin). ....	22
2.	Metode analisa kadar glukosa darah .....	22
2.1	Metode glukometer. ....	22
2.2	Metode <i>glucose dehydrogenase</i> (GLUC-DH). ....	23
2.3	Metode GOD-PAP. ....	23
2.4	Metode <i>O-Toluidine</i> . ....	23
G.	Metode Imunohistokimia.....	23
1.	Metode Langsung ( <i>Direct</i> ) .....	24
2.	Metode tidak langsung ( <i>Indirect</i> ).....	24
H.	Hewan Uji.....	24
1.	Sistematika Hewan .....	24
2.	Karakteristik Utama .....	25
I.	Landasan Teori.....	25
J.	Hipotesis .....	27
K.	Kerangka Konsep.....	28
BAB III METODE PENELITIAN.....		29
A.	Rancangan Penelitian .....	29
B.	Subjek dan Lokasi Penelitian.....	29
C.	Populasi dan Sampel .....	29
D.	Variabel Penelitian.....	30
1.	Identifikasi variabel utama .....	30
2.	Klasifikasi variabel utama .....	30
E.	Definisi Operasional Variabel Utama .....	31
F.	Alat, Bahan dan Hewan Percobaan.....	32
1.	Alat .....	32
2.	Bahan.....	32
3.	Hewan percobaan .....	32
G.	Jalannya Penelitian.....	32
1.	Determinasi tanaman afrika .....	32
2.	Pengeringan dan pembuatan serbuk daun afrika.....	33

3.	Pembuatan ekstrak etanol daun afrika .....	33
4.	Parameter spesifik ekstrak etanol.....	33
4.1	Penetapan kadar senyawa terlarut dalam pelarut etanol dan pelarut air. ....	33
5.	Parameter non spesifik ekstrak etanol .....	34
5.1.	Penetapan kadar air .....	34
5.2.	Penetapan bobot jenis.....	34
6.	Pembuatan Fraksi .....	34
7.	Identifikasi kualitatif ekstrak dan fraksi daun afrika dengan menggunakan Kromatografi lapis tipis (KLT) .....	35
7.1.	Identifikasi alkaloid.....	35
7.2	Identifikasi flavonoid. ....	35
7.3.	Identifikasi terpenoid dan steroid. ....	36
7.4.	Identifikasi saponin. ....	36
8.	Pembuatan sediaan .....	36
8.1.	Pembuatan HFD ( <i>High Fat Diet</i> ).....	36
8.2.	Pembuatan suspensi CMC 1 %.....	36
9.	Penentuan dosis.....	36
9.1.	Dosis metformin.....	36
9.2.	Dosis ekstrak daun afrika. ....	36
10.	Pembuatan hewan uji DM tipe 2 resistensi insulin. ....	37
11.	Uji resistensi insulin .....	37
12.	Pengelompokan hewan uji.....	37
13.	Pengukuran parameter lipid. ....	38
14.	Uji imunohistokimia.....	38
H.	Analisa Data.....	39
1.	Data kuantitatif.....	39
2.	Data semi kuantitatif .....	39
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....		44
1.	Determinasi tanaman afrika .....	44
2.	Pengambilan bahan dan hasil pembuatan serbuk daun afrika.....	44
3.	Hasil pembuatan ekstrak daun afrika .....	44
4.	Parameter spesifik ekstrak etanol daun afrika .....	45
4.1.	Penetapan kadar senyawa terlarut dalam pelarut etanol dan pelarut air. ....	45
5.	Parameter non spesifik ekstrak etanol daun afrika.....	45
5.1.	Hasil penetapan kadar air ekstrak daun afrika .....	45
5.2.	Penetapan bobot jenis dengan menggunakan piknometer. ....	46
6.	Hasil pembuatan fraksi-fraksi dari ekstrak daun afrika.....	46
7.	Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi-fraksi daun afrika secara KLT.....	47
8.	Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus .....	48
9.	Hasil uji toleransi insulin .....	50

10. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah.....	51
11. Hasil Pengukuran Profil Lipid .....	55
11.1 Hasil pengukuran Kolesterol .....	55
11.2 Hasil pengukuran kadar Triglicerida .....	58
11.3 Hasil pengukuran kadar HDL .....	61
11.4 Hasil pengukuran kadar LDL .....	64
13. Hasil pengamatan struktur anatomi sel otot.....	68
13.1 Pengamatan translokasi protein GLUT-4 pada jaringan otot paha tikus. ....	69
14. Hubungan antara penurunan kadar glukosa darah dengan penurunan profil lipid .....	71
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	 74
A. Kesimpulan.....	74
B. Saran.....	74
 BAB VI RINGKASAN.....	 75
 DAFTAR PUSTAKA .....	 82
 LAMPIRAN .....	 92

## DAFTAR GAMBAR

### Halaman

1. Tanaman <i>V. amygdalina</i> (a), belukar <i>V. amygdalina</i> (b), bunga <i>V. amygdalina</i> (c), daun <i>V. amygdalina</i> (d) (Yeap <i>et al.</i> , 2010) .....	8
2. Struktur insulin (Joshi <i>et al.</i> , 2007).....	15
3. Sekresi insulin (Chen <i>et al.</i> , 2016).....	16
4. Mekanisme Translokasi GLUT-4 Di Sel Otot Dan Adipose (Shepherd, 1999) .....	18
5. Jalur sinyal insulin dalam metabolisme glukosa di sel otot dan adiposa (Sherper <i>et al.</i> , 1999).....	18
6. Mekanisme asam lemak bebas dapat menyebabkan resistensi insulin (Shulman, 2000).....	20
7. Kerangka konsep.....	28
8. Skema pembuatan ekstrak dan fraksi daun afrika .....	40
9. Rancangan penelitian .....	41
10. Skema kerja preparasi slide sampel jaringan otot paha (soleus muscle) .....	42
11. Skema kerja Hematoksilin Eosin.....	42
12. Skema kerja preparasi slide sampel jaringan otot paha ( <i>soleus muscle</i> ).....	43
13. Berat Badan Tikus selama pemberian Pakan Tinggi Lemak selama 31 hari berbeda bermakna dengan tikus normal .....	49
14. Hasil pengukuran kadar glukosa.....	50
15. Grafik pengukuran kadar glukosa darah .....	52
16. Grafik rata-rata kadar kolesterol total hari ke-0, hari ke-31 dan hari ke-45.....	56
17. Grafik rata-rata kadar trigliserida hari ke-0, hari ke-31 dan hari ke-45 .....	59
18. Rata-rata kadar HDL hari ke-0, hari ke-31 dan hari ke-45 .....	61
19. Rata-rata kadar LDL hari ke-0, hari ke-31 dan hari ke-45.....	64
20. Hasil pewarnaan HE terhadap jaringan otot kelompok tikus normal (a) dan kelompok tikus HFD-STZ (b).....	68

21. Hasil pewarnaan dengan metode imunohistokimia dengan pembesaran 40x, (a) pakan standar, (b) Na-CMC 1%, (c) Metformin 45 mg/Kg BB, (d) fraksi etil asetat daun afrika 100 mg/KgBB, dimana terdapat adanya protein GLUT-4 yang ditandai dengan inti sel berwarna biru dan dikelilingi oleh sitoplasma yang berwarna coklat dan yang berwarna putih menunjukkan sel lemak. .... 69
22. Grafik persamaan regresi linear (a) penurunan kadar gula dan kolesterol total, (b) penurunan kadar gula dan trigliserida, (c) penurunan kadar gula dan HDL, (d) penurunan kadar gula dan LDL. .... 73

## DAFTAR TABEL

	<b>Halaman</b>
1. Kandungan nutrisi yang terdapat dalam daun afrika. ....	9
2. Rendemen serbuk kering daun afrika.....	44
3. Rendemen ekstrak etanol daun afrika .....	45
4. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun afrika .....	45
5. Rendemen fraksi-fraksi daun afrika .....	46
6. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia dengan metode KLT .....	47
7. Rata-rata kadar glukosa darah .....	53
8. Hasil analisa subsets perubahan kadar glukosa darah H <sub>7</sub> setelah perlakuan bahan uji menggunakan <i>one way ANOVA</i> .....	54
9. Hasil analisa subsets perubahan kadar glukosa darah H <sub>14</sub> setelah perlakuan bahan uji menggunakan <i>one way ANOVA</i> .....	54
10. Hasil rata-rata kadar kolesterol total .....	57
11. Hasil analisa subsets perubahan kadar kolesterol total H <sub>0</sub> sampai H <sub>45</sub> pada kelompok perlakuan menggunakan <i>one Way ANOVA</i> .....	57
12. Rata-rata kadar trigliserida .....	60
13. Hasil analisa subsets perubahan kadar trigliserida H <sub>0</sub> sampai H <sub>45</sub> pada kelompok perlakuan menggunakan <i>one Way ANOVA</i> .....	60
14. Rata-rata kadar HDL .....	62
15. Hasil analisa subsets perubahan kadar HDL H <sub>0</sub> sampai H <sub>45</sub> pada kelompok perlakuan menggunakan <i>one Way ANOVA</i> .....	63
16. Rata-rata pengukuran kadar LDL .....	65
17. Hasil analisa subsets perubahan kadar LDL H <sub>0</sub> sampai H <sub>45</sub> pada kelompok perlakuan menggunakan <i>one Way ANOVA</i> .....	65
18. Rata rata indeks aterogenik .....	67
19. Hasil analisa subsets perubahan IA H <sub>0</sub> sampai H <sub>45</sub> pada kelompok perlakuan menggunakan <i>one Way ANOVA</i> .....	67
20. Hasil perhitungan nilai translokasi protein GLUT-4 .....	70

## DAFTAR LAMPIRAN

	<b>Halaman</b>
1. Surat Keterangan Determinasi Tanaman.....	93
2. <i>Ethical Clearance</i> .....	94
3. Foto serbuk daun Afrika, Ekstrak dan Fraksi .....	95
4. Hasil Perhitungan Persen Rendemen Pembuatan Ekstrak Daun Afrika .....	96
5. Perhitungan Kadar Air daun afrika .....	97
6. Hasil perhitungan persen rendemen pembuatan fraksinasi .....	98
7. Hasil perhitungan High Fat Diet .....	99
8. Pembuatan suspensi metformin, suspensi ekstrak etanol daun afrika, suspensi fraksi n-heksan, suspensi fraksi etil asetat, suspensi air.....	100
9. Foto hasil KLT .....	103
10. Foto pengambilan darah tikus.....	105
11. Foto pembedahan .....	106
12. Hasil Pengukuran Berat Badan Tikus .....	107
13. Data Hasil pengukuran tes toleransi insulin .....	109
14. Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah.....	110
15. Hasil Pengukuran Kadar Kolesterol Total.....	112
16. Hasil Pengukuran Kadar Trigliserida .....	114
17. Hasil Pengukuran Kadar HDL.....	116
18. Hasil Pengukuran Kadar LDL .....	118
19. Hasil Pengukuran Indeks Aterogenik.....	120
20. Analisa statistik peningkatan berat badan tikus dengan menggunakan metode independent t test .....	122
21. Analisa statistik dengan Independent sample T-test terhadap nilai peningkatan kadar glukosa darah tikus setelah diberi HFD-STZ.....	124

22. Analisa Nilai Statistik Penurunan kadar glukosa darah Tikus HFD-Stz Pada Waktu 7 hari (T3) setelah Pemberian Larutan Uji .....	126
23. Analisa Nilai Statistik Penurunan kadar glukosa darah Tikus HFD-Stz Pada Waktu 14 hari (T2) setelah Pemberian Larutan Uji .....	130
24. Hasil statistik pengukuran kadar kolesterol.....	134
25. Analisis statistik Pengukuran kadar Trigliserida .....	137
26. Hasil uji statistik Pengukuran kadar HDL.....	140
27. Hasil uji statistik Pengukuran kadar LDL .....	143
28. Hasil Uji statistik indeks aterogenik setelah diberikan HFD- STZ.....	146
29. Hasil Uji statistik indeks aterogenik setelah diberikan perlakuan selama 14 hari.....	147
30. Hasil SPSS perbedaan GLUT-4 tikus dengan sediaan uji setelah perlakuan .....	149
31. Hasil analisa statistik hubungan antara penurunan kadar glukosa darah dengan penurunan profil lipid.....	152



## INTISARI

**KLAU, M.H.C., 2019, AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIA, ANTIDISLIPIDEMIA DAN EFEK TERHADAP GLUT 4 DARI FRAKSI-FRAKSI EKSTRAK ETANOL DAUN AFRIKA (*Vernonia amygdalina*) PADA TIKUS DIABETES RESISTENSI INSULIN, TESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) adalah salah satu tanaman baru yang digunakan untuk berbagai pengobatan di Indonesia. Salah satu kegunaannya adalah sebagai obat antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antihyperglikemia, antidislipidemia, dan translokasi GLUT-4 dari ekstrak dan fraksi-fraksi daun afrika pada tikus resistensi insulin.

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan acak lengkap pola searah. Hewan uji yang digunakan dibagi dalam 7 kelompok uji yang setiap kelompok terdiri dari 5 ekor: kelompok I sebagai kontrol normal tikus yang hanya diberikan sejumlah ekivalen Na-CMC 1%, kelompok II sebagai kontrol negatif diberikan pakan HDF dan STZ tanpa perlakuan, kelompok III sebagai kontrol positif diberikan metformin 500 mg/KgBB, kelompok IV ekstrak etanol 400 mg/KgBB, kelompok V fraksi n-heksan 100 mg/KgBB, kelompok VI fraksi eti asetat 100 mg/KgBB, kelompok VII fraksi air 100 mg/KgBB. Semua kelompok diberikan pakan HFD-STZ selama 31 hari kecuali kelompok normal diberikan pakan standar. Pemberian ekstrak dan fraksi uji dilakukan selama 14 hari.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun afrika memiliki efek dalam menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki profil lipid serta memiliki aktivitas terhadap GLUT-4 di sel otot soleus muscle tikus DM resistensi insulin.

---

Kata kunci : *Vernonia amygdalina*, antihyperglicemia, antidislipidemia, insulin resistance, GLUT-4

## ABSTRACT

**KLAU, M.H.C., 2019, ANTIHYPERGLYCEMIA, ANTIDYSLIPIDEMIA ACTIVITY OF ETHANOLIC EXTRACT FRACTION OF AFRICA LEAVES (*Vernonia amygdalina*) AND EFFECT OF GLUT-4 INSULIN RESISTANCE DIABETIC RAT, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI OF UVIVERSITY, SURAKARTA.**

*Afrika* leaf (*Vernonia amygdalina* Del.) is one kind of new plant used in Indonesia as medication for various type of illness. One of its uses is for antidiabetic. This research conducted on finding out antidiabetes, antidiabetes and GLUT-4 translocation from extract and fractions of Afrika leaf on insulin resistance mice.

This research was carried out using completely randomized pattern. The creature used as treatment subjects were separated into seven groups consists of five individual each; Group I, subjected as normal control mice which only being given equivalent Na-CMC 1%, group II, as negative controls which fed with *HDF* and *STZ* with no further treatment, group III, as positive controls which given metformin 500 mg/KgBB, group IV, were given ethanol extract 400 mg/KgBB, Group V, n-hexane fraction 100 mg/KgBB, group VI, etile acetate fraction 100 mg/KgBB, group VII, water fraction 100 mg/KgBB. All Groups fed with HFD-STZ for 31 days except the normal group which fed with standard food. Extracts and fractions tests were conducted for as long as 14 days.

The result of the studies showed that both, ethanol extract and afrika leaf fractions, were effective on lowering the blood glucose level and also recover lipid profile, also active to *GLUT-4* in the soleus muscle cells of the insulin resistance mice *DM*.

-----  
Key word: *Vernonia amygdalina*, antihyperglycemia, antidiabetes, insulin resistance, GLUT-4

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

Diabetes melitus (DM) adalah suatu penyakit gangguan metabolisme yang ditandai dengan adanya peningkatan kadar glukosa darah. Peningkatan glukosa tersebut disebabkan oleh adanya kelainan pada sekresi insulin, kerja insulin maupun keduanya. Insulin yang dilepaskan sel  $\beta$  pankreas dengan fungsi untuk menormalkan kadar gula darah tidak bekerja dengan baik sehingga menyebabkan hiperglikemia. Ketika terjadi hiperglikemia maka tubuh akan mengalami gangguan metabolisme lemak, protein dan karbohidrat (Guangcui Xu, 2015). Hiperglikemia dalam jangka waktu yang panjang akan menyebabkan komplikasi makrovaskuler maupun mikrovaskuler. Oleh karena itu ketika terjadi hiperglikemia, tubuh membutuhkan aktivitas insulin sehingga kadar glukosa dalam darah mengalami penurunan. Sesuai klasifikasi WHO, disebut DM jika kadar glukosa darah puasa  $> 126$  mg/dl, atau bila kadar glukosa darah sesudah pembebanan glukosa  $75$  g  $> 200$  mg/d (ADA, 2004).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh *International Diabetes Federation* (IDF), prevalensi DM pada orang dewasa berusia 18-99 tahun yaitu 8,4% pada tahun 2017 dan angka ini akan diperkirakan meningkat menjadi 9,9% pada tahun 2045 (Cho, 2018). Indonesia merupakan salah satu negara yang menempati urutan ketujuh dunia untuk prevalensi penyakit DM. Pada tahun 2015 tercatat 10 juta orang yang mengidap penyakit tersebut dan jumlah kematian akibat DM menempati urutan kedua tertinggi setelah negara Srilangka (IDF, 2015). Menurut penelitian Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) pada tahun 2018, terjadi peningkatan prevalensi DM dari 6,9% (tahun 2013) menjadi 8,5% berdasarkan wawancara pada umur  $\geq 15$  tahun untuk 34 provinsi di Indonesia (Riskesdas, 2018).

Menurut *American Diabetes Association* (ADA) penyakit DM diklasifikasikan menjadi DM tipe 1, DM tipe 2, DM gestasional dan DM tipe spesifik lainnya. DM tipe 1 sering disebut sebagai *insulin dependent diabetes*

*melitus* (IDDM) karena pada dasarnya pasien yang mengidap penyakit DM tipe 1 sangat bergantung pada insulin. DM tipe 2 terjadi karena resistensi insulin maupun karena defisiensi sel  $\beta$  pankreas sehingga biasa disebut dengan *non-insulin dependent diabetes melitus* (NIDDM) (ADA, 2018).

Kasus DM yang terjadi kebanyakan adalah kasus DM tipe 2 yang berkaitan dengan resistensi insulin. Resistensi insulin merupakan suatu keadaan dimana tubuh tidak mampu merespon insulin dengan baik. Hal tersebut disebabkan karena adanya gangguan pada kerja insulin baik itu pada reseptor insulin maupun pada transduksi sinyal di jaringan otot, sehingga untuk mempertahankan kadar glukosa tetap normal dan menghasilkan efek biologi dibutuhkan insulin lebih banyak. Efek biologi akan tercapai jika glukosa dapat diangkut menuju jaringan otot. Proses pengangkutan tersebut dibantu oleh suatu protein transport yang disebut Glut 4. Tanpa adanya stimulasi insulin, Glut 4 akan berada di dalam sel. Ketika terjadi pengikatan insulin pada reseptornya, Glut 4 akan bertranslokasi menuju membran sel dalam meningkatkan transport glukosa menuju jaringan otot. Oleh karena itu ketika terjadi resistensi insulin maka akan menyebabkan disfungsi Glut 4 (Merentek, 2006., Offermanns, 2008). Selain itu resistensi insulin juga disebabkan oleh adanya dislipidemia karena pada resistensi insulin ditemukan perubahan metabolisme lipoprotein.

Dislipidemia merupakan kelainan metabolisme lipid yang ditandai dengan peningkatan maupun penurunan komponen lipid dalam darah. Kelainan komponen lipid diantaranya yaitu peningkatan kolesterol total, LDL (*Low Density Lipoprotein*) Trigliserida dan penurunan HDL (*High Density Lipoprotein*). Oleh karena itu pada kondisi DM yang disertai komplikasi dislipidemia akan ditemukan kelainan profil lipid serum yang khas yaitu kadar trigliserida yang tinggi, kolesterol-HDL yang rendah dan meningkatnya kadar LDL yang mudah teroksidasi serta bersifat aterogenik (dapat membentuk Aterosklerosis) (Solano *et al*, 2006)

Tata laksana terapi DM yang resistensi insulin pilihan pertamanya adalah golongan biguanide yaitu metformin. Mekanisme kerja metformin yaitu selain meningkatkan sensitifitas reseptor insulin sehingga dapat menurunkan kadar

glukosa adalah dengan bekerja dalam menurunkan kadar lipid seperti menurunkan konsentrasi trigliserida, menurunkan LDL dan meningkatkan kadar HDL (Penalve, 2016). Tetapi terapi dengan menggunakan metformin menyebabkan efek samping seperti diare, dispepsia, edema dan muntah (BNF, 2011). Karena itu saat ini banyak masyarakat yang lebih memilih menggunakan obat herbal untuk menghindari efek samping yang membahayakan.

Daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) adalah salah satu tanaman baru yang digunakan untuk pengobatan DM. Beberapa penelitian dilakukan untuk melihat khasiat dari tanaman daun afrika seperti di Indonesia secara empiris daun afrika digunakan sebagai obat antidiabetes, antimalaria dan antikanker. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kusuma *et al.* (2015) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun afrika dengan dosis 100 mg/KgBB, 200 mg/KgBB dan dosis 400 mg/KgBB dapat menurunkan kadar glukosa darah. Hasil penelitian Ong *et al.* (2010) menunjukkan bahwa daun afrika dengan dosis 400 mg/KgBB tikus dapat menurunkan kadar gula darah yang paling efektif jika dibandingkan dengan kelompok kontrol. Selain itu daun afrika juga dapat menurunkan kadar kolesterol total dan trigliserida secara signifikan serta dapat meningkatkan ekspresi Glut 4 pada membran sel otot tikus.

Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan di Nigeria, zat aktif yang terdapat dalam tanaman daun afrika adalah saponin, alkaloid, tannin, flavonoid, dan terpen (Forimbi & Owoeye, 2011). Efek antidiabetik pada daun afrika disebabkan oleh kandungan polifenol yang memiliki aktivitas biologi diantaranya *1,5-dicaffeoyl quinic acid*, *dicaffeoyl-quinic acid*, *chlorogenic acid* dan *luteolin-7-O-glucoside* (Ong *et al.*, 2010). Penelitian lain yang dilakukan oleh Atangwho *et al.* (2010) menyimpulkan bahwa efek antihiperqlikemia dipengaruhi oleh produksi insulin setelah diberikan daun afrika yang menyebabkan regenerasi sel  $\beta$  pankreas dan kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun afrika yang bekerja secara sinergis dalam menurunkan kadar gula darah. Senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes yang berhasil diisolasi dari daun afrika yaitu senyawa golongan flavonoid berupa *luteolin*, *luteolin 7-O- $\beta$ -glucuronoside* and *lutelin7-O- $\beta$ -glucoside* (Alara, 2017). Penelitian lain yang dilakukan oleh Zang *et*

al. (2016) menunjukkan bahwa senyawa *luteolin* dan *lutelin7-O- $\beta$ -glucoside* dapat memperbaiki kadar glukosa, HbA<sub>1c</sub> serta insulin pada tikus DM tipe 2.

Berdasarkan penelitian tersebut maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh fraksi-fraksi ekstrak etanol daun afrika terhadap profil lipid dan translokasi Glut 4 pada sel otot paha tikus DM tipe 2 resistensi insulin karena dengan penelitian tersebut peneliti ingin mengetahui golongan senyawa apa yang berfungsi pada aktivitas antidiabetes. Pengamatan dilakukan pada hewan uji setelah mengalami resistensi insulin yang diberi diet tinggi lemak, minyak babi hingga terjadi obesitas dan streptosotosin dosis rendah. Parameter yang diamati untuk melihat kondisi resistensi insulin yaitu pengukuran kadar glukosa darah, pengukuran profil lipid (HDL, LDL, Triglicerida, kolesterol total), kemudian pengukuran Indeks aterogenik untuk melihat komplikasi makrovaskuler jangka panjang.

### **B. Perumusan Masalah**

1. Apakah fraksi-fraksi ekstrak etanol daun afrika (n-heksana, etil asetat, dan air) dapat menurunkan kadar glukosa darah dan profil lipid tikus DM resisten insulin?
2. Apakah fraksi-fraksi ekstrak etanol daun afrika (n-heksana, etil asetat, dan air) dapat menurunkan indeks aterogenik (AI) pada tikus DM resisten insulin?
3. Apakah fraksi teraktif daun afrika dapat meningkatkan translokasi protein GLUT-4 pada tikus DM resisten insulin?
4. Apakah ada hubungan antara penurunan kadar glukosa darah dengan penurunan profil lipid pada tikus DM resisten insulin?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui kemampuan fraksi-fraksi ekstrak etanol daun afrika (n-heksana, etil asetat, dan air) dapat menurunkan kadar glukosa darah dan profil lipid tikus DM resisten insulin.

2. Mengetahui fraksi-fraksi ekstrak etanol daun afrika (n-heksana, etil asetat, dan air) dapat menurunkan indeks aterogenik (AI) pada tikus DM resisten insulin.
3. Mengetahui kemampuan fraksi teraktif daun afrika (n-hexana, etil asetat, dan air) dapat meningkatkan translokasi protein GLUT 4 pada tikus DM resisten insulin.
4. Mengetahui hubungan antara penurunan kadar glukosa darah dengan penurunan profil lipid pada tikus DM resisten insulin.

#### **D. Keaslian Penelitian**

Penelitian Madu *et al.* (2018) melaporkan pemberian ekstrak air daun afrika memiliki efek antihiperlipidemia dan antihiperglukemia pada tikus wistar dengan dosis efektif 80 mg/Kg BB tikus. Ong *et al.* (2010) menyimpulkan bahwa kandungan polifenol yang tinggi dalam ekstrak daun afrika menunjukkan efek sebagai antihiperglukemia dengan adanya peningkatan translokasi protein Glut 4 dan penghambatan glukosa 6 fosfat. Pada pemberian oral dengan dosis 400 mg/Kg BB dapat menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan dibanding tikus kontrol diabetes (metformin 500 mg/Kg BB). Micahel *et al.* (2010) melaporkan terlepas dari penggunaan daun afrika sebagai agen hipoglikemia, daun afrika juga memiliki indeks terapi yang tinggi pada uji toksisitas akut dengan nilai LD50 sebesar 1265 mg/Kg.

Menurut Akah *et al.* (2009) melaporkan bahwa ekstrak daun afrika memiliki efek hipolipidemia dan hipoglikemia yang aman dan kuat dalam menormalkan kelainan biokimia dan hematologi yang berhubungan dengan diabetes melitus sehingga dapat digunakan sebagai agen tambahan dalam diet terapi untuk diabetes melitus. Penelitian lain yang dilakukan oleh Adaramoye *et al.* (2008) menunjukkan bahwa efek daun afrika mampu menurunkan kadar lipid pada tikus diet tinggi lemak dengan dosis efektif sebesar 200 mg/Kg BB. Penelitian lain yang dilakukan oleh Atangwho *et al.* (2010) melaporkan bahwa

efek antihiperlikemia dipengaruhi oleh produksi insulin setelah diberikan daun afrika yang menyebabkan regenerasi sel  $\beta$  pankreas dan kandungan senyawa kimia yang terdapat dalam daun afrika yang bekerja secara sinergis dalam menurunkan kadar glukosa darah. Menurut Owolabi *et al.* (2011) kerusakan sel  $\beta$  pankreas dapat menurunkan sekresi insulin sehingga kadar glukosa dalam darah meningkat.

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Nwanjo (2005) tentang efek ekstrak air daun afrika terhadap lipoprotein plasma dan stress oksidatif tikus diabetes menunjukkan secara signifikan penurunan kadar trigliserida dan menormalkan kolesterol pada tikus diabetes. Hal tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun afrika memiliki aktivitas sebagai antioksidan yang ditunjukkan dengan penurunan kadar malondialdehid. Skrining fitokimia yang dilakukan menunjukkan tingginya kandungan saponin dan alkaloid, selain itu juga dilaporkan mengandung tannin, fenol dan flavonoid dalam jumlah yang kecil. Tannin dilaporkan memiliki aktivitas dalam menghambat enzim alfa amilase, sukrosa dan memiliki aktivitas yang sama dengan SGLUT-1 pada usus halus dan beberapa enzim (Tiwari dan Rao, 2002).

Penelitian tentang ekstrak daun afrika sejauh ini yang dilakukan adalah tentang DM tipe 2 yang berhubungan dengan resistensi insulin sehingga produksi insulin terganggu yang mengakibatkan tingginya kadar glukosa dalam darah (hiperglikemia), hipertrigliserida serta penurunan translokasi protein Glut 4 pada sel otot. Oleh karena itu dalam penelitian ini yang menjadi pembeda dengan penelitian sebelumnya adalah peneliti akan melanjutkan penelitian dengan menggunakan metode yang berbeda dimana pengamatan dilakukan pada hewan uji setelah mengalami resistensi insulin yang diberi diet tinggi lemak, minyak babi hingga terjadi obesitas dan streptosotosin dosis rendah, kemudian dilakukan uji fraksi-fraksi ekstrak etanol daun afrika terhadap komplikasi makrovaskuler jangka panjang yaitu Aterosklerosis dengan parameter uji yang diukur yaitu indeks aterogenik (IA).



### **E. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan informasi pada masyarakat terkait manfaat daun afrika dalam dunia pendidikan dan ilmu pengetahuan, khususnya dalam upaya pengembangan dan pemanfaatan zat aktif yang terkandung dalam ekstrak daun afrika yang dapat digunakan sebagai alternatif untuk penderita DM tipe 2 resistensi insulin.