

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
BIJI OYONG (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) SERTA PENGARUHNYA
TERHADAP JUMLAH *GLUCOSE TRANSPORTER 4* MEMBRAN
JARINGAN OTOT PADA TIKUS RESISTENSI INSULIN**

TESIS

Untuk memenuhi sebagian persyaratan

Mencapai derajat Sarjana Strata-2



Oleh :

Benny Rianto

SBF 121710145

PROGRAM STUDI S2 FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS SETIA BUDI

SURAKARTA

2019

PENGESAHAN

berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN IDENTIFIKASI SENYAWA
BIJI OYONG (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) SERTA PENGARUHNYA
TERHADAP JUMLAH *GLUCOSE TRANSPORTER 4* MEMBRAN
JARINGAN OTOT PADA TIKUS RESISTENSI INSULIN**

Oleh :

Benny Rianto
SBF 121710145

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Tesis
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 29 Juli 2019

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi
Dekan,



Prof. Dr. R.A. Oetari, S.U., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing Utama

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

Pembimbing Pendamping

Dr. Jason Merari Paranginangin, M.Si., MM., Apt.

Penguji :

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

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

MOTO DAN PERSEMBAHAN



“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan yang lain). Dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”

{ Q.S. Al-Insyira : 6-8 }

“...Niscaya Allah akan mengangkat (derajat) orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”

{ Q.S. Al-Mujadilah : 11 }

“Kebanyakan orang hidup dalam penjara yang membatasi dirinya, namun hal tersebut bukanlah penjara besi melainkan penjara yang berasal dari dalam pikirannya sendiri”

{ Anonim }

Kupersembahkan karyaku ini kepada:

Allah SWT

*Ibu, Bapak, Kakak dan semua keluarga yang telah
mengalirkan doa kepada diriku*

*Seorang calon pendamping hidup yang telah rela menemaniku
dikala suka maupun duka, kau menjadi inspirasi, semangat &
motivasiku untuk menjadi lebih baik*

Teman-teman satu timku (Mas Fadel, Bu Juvita dan Pak Levi)

Dan teman-teman satu angkatan S2 Farmasi 2017

senang bisa bertemu dan berjuang bersama kalian selama ini

Untuk Agama, Almamater USB 2019, Bangsa dan Negaraku

*Semoga Allah selalu mencurahkan Kasih dan Sayang-Nya untuk kita
Aamiin,..*

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, 29 Juli 2019



Benny Rianto

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena rahmat dan bimbinganNya, penulis telah menyelesaikan tesis dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN IDENTIFIKASI SENYAWA BIJI OYONG (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) SERTA PENGARUHNYA TERHADAP JUMLAH *GLUCOSE TRANSPORTER 4* MEMBRAN JARINGAN OTOT PADA TIKUS RESISTENSI INSULIN”** untuk memenuhi persyaratan guna mencapai gelar Sarjana strata-2 Farmasi (M.Farm) dalam ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam menyusun penelitian ini banyak sekali hambatan dan kesulitan, tetapi berkat bimbingan, pengarahan dari pembimbing dan berbagai pihak, penulis dapat menyelesaikan tesis. Untuk itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat Bapak/Ibu :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA. selaku Rektor Universitas Setia Budi
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, S.U., MM., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Dr. Gunawan Pamudji W, M.Si., Apt. selaku Ketua Program Studi S2 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi dan selaku penguji I yang bersedia memberikan waktu untuk menguji, memberi masukan, dorongan serta semangat kepada penulis untuk menyelesaikan tesis.
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt. selaku selaku pembimbing utama yang bersedia meluangkan waktu membimbing, memberi banyak dorongan, semangat dan pendanaan dalam menyelesaikan tesis ini.
5. Dr. Jason Merari P., M.Si., MM., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan perhatian kepada penulis, memberi dorongan dan semangat serta memberi waktu untuk selalu membimbing dan mengarahkan penulis dalam menyusun dan menyelesaikan tesis ini.
6. Dr. Ika Purwidyaningrum, M.Sc., Apt. Selaku penguji II yang bersedia memberikan waktu untuk menguji, memberi masukan, dorongan serta semangat kepada penulis untuk menyelesaikan tesis.

7. Ibu, Bapak dan Kakak ku terima kasih atas doa, semangat dan nasehatnya kepada penulis untuk selalu bersemangat, tidak pantang menyerah dalam menyelesaikan tesis.
8. Apriyani Dwi Handayani, Calon pendamping yang menjadi inspirasi, semangat dan motivasiku dalam menyelesaikan tesis ini.
9. Mas Fadel, Bu Juvita, Pak Levi dan Pak Arif serta teman-teman S2 Farmasi yang lain, terima kasih telah ada untuk memberi bantuan gagasan dan dorongannya serta semangat untuk penulis.
10. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu yang telah membantu penulisan ini sehingga dapat terselesaikan.

Penulis menyadari bahwa tesis ini jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun untuk memperbaiki tesis ini dan semoga dapat memberi manfaat.

Surakarta, Juli 2019

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Kegunaan Penelitian	5
E. Keaslian Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Tanaman Oyong (<i>Luffa acutangula</i>)	7
1. Sistematika Tanaman	7
2. Nama lain.....	7
3. Kandungan kimia tanaman	7
4. Manfaat tanaman.....	9
B. Diabetes Mellitus (DM)	9
1. Definisi DM.....	9
2. Klasifikasi DM	10
2.1.DM tipe I	10
2.2.DM tipe II.....	10

2.3.DM gestasional	11
2.4.DM tipe lain.....	12
3. Patofisiologi DM	12
4. Komplikasi DM	13
C. Pengelolaan DM	14
1. Terapi non farmakologi DM	14
1.1.Diet	14
1.2.Olahraga	15
1.3.Berhenti merokok.....	15
2. Terapi farmakologi DM.....	15
2.1. Golongan sulfonilurea	15
2.2. Golongan meglitinida	16
2.3. Golongan biguanida.....	17
2.4. Golongan thiazolidindion	17
2.5. Golongan inhibitor α -glukosidase	19
2.6. Golongan amilinomimetik	19
2.7.Golongan agonis <i>glukagon-like peptide 1</i> (GLP-1)	20
2.8. Golongan inhibitor <i>dipeptidyl peptidase-4</i> (DPP-4)	20
2.9.Golongan inhibitor <i>sodium-glucose-Co-transporter 2</i>	21
2.10.Golongan inhibitor sekuestran asam empedu	21
D. Metode Uji Aktivitas Antidiabetes	22
1. Uji efek antidiabetes	22
1.1.Induksi resistensi insulin.....	22
1.2.Uji toleransi glukosa.....	22
1.3.Induksi agen diabetogenik	23
2. Metode analisa glukosa darah.....	24
2.1.Metode glukometer.....	24
2.2.Metode glucose dehidrogenase (GLUC-DH)	24
2.3.Metode GOD-PAP	24
2.4.Metode O-toludine	25
E. Resistensi Insulin	25
1. Struktur dan pelepasan insulin.....	25
2. Mekanisme molekuler GLUT-4.....	27
3. Obesitas	29
4. Mekanisme resistensi insulin	30
F. Metode Imunohistokimia	32
1. Metode langsung (<i>direct method</i>)	32
2. Metode tidak langsung (<i>indirect method</i>).....	33
G. Tikus Putih	33
H. Simplisia.....	34

1. Pengertian simplisia	34
2. Pengeringan simplisia	35
I. Parameter standarisasi.....	35
1. Parameter non spesifik	36
1.1.Susut pengeringan	36
1.2.Kadar air	36
1.3.Kadar abu total dan abu tidak larut asam.....	36
2. Parameter non spesifik	36
2.1.Identitas.....	36
2.2.Organoleptik	36
2.3.Senyawa larut dalam pelarut tertentu	36
2.4.Kandungan kimia tertentu.....	37
J. Metode Penyarian dan Analisis Kandungan	37
1. Ekstraksi	37
2. Fraksinasi.....	37
3. Subfraksinasi.....	38
4. Cairan penyari.....	38
5. Analisis dengan <i>Liquid Chromatography-Mass</i>	39
K. Landasan Teori	40
L. Hipotesis.....	41
M.Kerangka Konsep	42
BAB III METODE PENELITIAN	44
A. Rancangan penelitian.....	44
B. Subyek dan Obyek penelitian.....	44
C. Populasi dan Sampel.....	44
1. Populasi	44
2. Sampel	44
D. Variabel Penelitian	45
1. Identifikasi variabel utama	45
2. Klasifikasi variabel utama	45
3. Definisi operasional variabel utama.....	45
E. Alat dan Bahan	46
1. Alat.....	46
2. Bahan.....	47
3. Hewan percobaan.....	47
F. Jalannya Penelitian	47
1. Determinasi tanaman oyong	47
2. Pembuatan serbuk biji oyong.....	47
3. Penetapan susut pengeringan.....	47

4. Pembuatan ekstrak biji oyong.....	48
5. Penetapan kadar air ekstrak biji oyong	48
6. Penetapan kadar abu total dan abu tidak larut asam	48
7. Uji tabung kandungan senyawa kimia ekstrak	49
8. Pembuatan fraksi biji oyong	49
9. Identifikasi kualitatif ekstrak dan fraksi biji oyong	50
9.1. Identifikasi triterpenoid	50
9.2. Identifikasi flavonoid.....	50
9.3. Identifikasi alkaloid	50
9.4. Identifikasi saponin	50
10. Pembuatan pakan kaya lemak.....	50
11. Pembuatan suspensi CMC 0,5 %.	51
12. Penentuan dosis.....	51
9.1. Dosis metformin.....	51
9.2. Dosis fruktosa	51
9.3. Dosis ekstrak biji oyong	51
13. Penetapan indeks obesitas tikus	52
14. Pengujian tes toleransi glukosa.....	52
15. Pengelompokan hewan percobaan	52
16. Analisa kadar glukosa darah tikus	53
17. Pengujian aktivitas antidiabetes.....	54
18. Preparasi dan pewarnaan jaringan otot paha	54
19. Pemisahan dan identifikasi senyawa fraksi teraktif	55
20. Karakterisasi senyawa dengan LC-MS	55
G. Analisa Hasil	55
1. Data Kuantitatif.....	56
2. Data semikuantitatif	56

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 61

1. Determinasi tanaman oyong.....	61
2. Penetapan susut pengeringan.....	61
3. Pembuatan ekstrak etanol biji oyong	61
4. Penetapan kadar air ekstrak biji oyong	62
5. Penetapan kadar abu total dan abu tak larut asam	63
6. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia ekstrak.....	64
7. Hasil fraksinasi ekstrak biji oyong	65
8. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia ekstrak dan fraksi	65
9. Penentuan indeks obesitas tikus	66
10. Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus.....	69
11. Pengujian tes toleransi glukosa darah tikus.....	70

12. Pengujian tikus DM tipe II resisten insulin	72
12.1. Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus setelah diberi larutan uji	72
12.2. Hasil pengamatan struktur anatomi sel otot	74
12.3. Pengamatan ekspresi protein GLUT-4 dan jaringan otot paha (soleus muscle) tikus	75
13. Subraksinasi dengan kromatografi cair vakum	78
13.1. Penimbangan fraksi etil asetat biji oyong untuk kromatografi cair vakum	78
13.2. Pengelompokan subfraksi	79
14. Karakterisasi isolat fraksi no. 4	85
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	91
A. Kesimpulan	91
B. Saran	91
 RINGKASAN	92
 DAFTAR PUSTAKA	95
 LAMPIRAN	105

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman oyong	7
2. Struktur insulin	25
3. Mekanisme translokasi GLUT-4 di sel otot dan adiposa.....	28
4. Jalur sinyal insulin dalam metabolisme glukosa.....	29
5. Mekanisme resistensi insulin yang diinduksi oleh asam lemak	32
6. Skematis kerja pemisahan dan identifikasi biji oyong.....	55
7. Skematis prosedur pengujian.....	56
8. Skematis kerja preparasi <i>slide</i> sampel jaringan otot paha.....	45
9. Skematis kerja imunohistokimia, pengamatan foto mikroskopi dan kuantifikasi translokasi protein GLUT-4	46
10. Grafik pengukuran berat badan tikus.....	64
11. Grafik kenaikan glukosa darah tikus	68
12. Grafik hasil uji toleransi gula darah.....	69
13. Grafik pengukuran glukosa darah setelah diberi sediaan uji	71
14. Hasil pewarnaan HE terhadap jaringan otot.....	73
15. Hasil pewarnaan imunohistokimia kelompok tikus.....	73
16. Grafik hasil semi kuantitatif jumlah ekspresi protein GLUT-4	74
17. Profil KLT 21 fraksi pada UV 254 nm	77
18. Profil KLT 21 fraksi pada UV 366 nm	78
19. Profil KLT dari fraksi no. 11-21 pada UV 254 nm	78
20. Profil KLT dari fraksi no. 11-21 pada UV 366 nm	79
21. Fraksi no. 9 setelah kering	80
22. Peak kromatografi kolom preparatif dengan pelarut heksan-etil asetat....	80
23. Peak kromatografi kolom preparatif dengan pelarut etil asetat-metanol..	81
24. KLT subfraksi dari fraksi no. 9	81
25. Kristal dari subfraksi no. 4 setelah kering.....	81
26. KLT subfraksi no. 4.....	82
27. KLT subfraksi no. 4 (I) dan apigenin standar (II)	81
28. Hasil analisis spektrofotometri IR subfraksi no. 4	85
29. Hasil analisis ¹ H NMR subfraksi no. 4 biji oyong	86
30. Hasil analisis ¹³ C NMR subfraksi no. 4 biji oyong	88
31. Profil LC-MS pada subfraksi no. 4.....	88
32. <i>Fingerprint</i> LC-MS subfraksi no. 4 peak 0,14 menit	89
33. <i>Fingerprint</i> LC-MS subfraksi no. 4 peak 0,47 menit	89
34. <i>Fingerprint</i> LC-MS subfraksi no. 4 peak 0,65 menit	90
35. Struktur apigenin-6,8-di-C-glukosida (Vicenin-2)	90

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Rumus penghitungan indeks obesitas pada hewan uji.....	30
2. Hasil penetapan susut pengeringan biji oyong	59
3. Rendemen ekstrak etanol biji oyong.....	60
4. Hasil penetapan kadar air ekstrak biji oyong	61
5. Hasil penetapan kadar abu total ekstrak biji oyong	61
6. Hasil penetapan kadar abu tidak larut asam ekstrak biji oyong	62
7. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak biji oyong	62
8. Hasil fraksinasi ekstrak etanol biji oyong	63
9. Hasil identifikasi golongan kandungan senyawa kimia biji oyong	63
10. Hasil pengukuran berat badan	64
11. Indeks Rohrer obesitas tikus	65
12. Hasil pengukuran glukosa darah tikus	67
13. Hasil pengujian tes toleransi glukosa.....	69
14. Pengukuran glukosa darah setelah diberi larutan uji	70
15. Hasil rata-rata perhitungan AUC	72
16. Hasil rata-rata perhitungan protein GLUT-4.....	74
17. Hasil kromatografi cair vakum.....	77
18. Hasil pengelompokkan fraksi.....	79
19. Analisis gugus fungsi subfraksi no. 4 dengan spektrofotometri IR.....	85
20. Analisis HNMR subfraksi no. 4	86
21. Analisis CNMR subfraksi no. 4.....	87

LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Surat Keterangan Hasil Determinasi Tanaman Oyong	105
Lampiran 2 Surat Keterangan <i>Ethical Clearance</i>	106
Lampiran 3 Surat Keterangan Kesehatan Hewan Uji	107
Lampiran 4 Foto pembuatan pakan diet tinggi lemak (DTLF)	108
Lampiran 5 Gambar simplisia, serbuk, ekstrak dan fraksi biji oyong	108
Lampiran 6 Perhitungan rendemen ekstrak dan fraksi biji oyong	109
Lampiran 7 Hasil identifikasi golongan senyawa kimia biji oyong	110
Lampiran 8 Tabel maksimum larutan sediaan uji untuk hewan	115
Lampiran 9 Pembuatan suspensi metformin, ekstrak etanol biji oyong dan glukosa monohidrat	116
Lampiran 10 Data hasil pengukuran berat badan tikus	119
Lampiran 11 Data hasil pengukuran tes toleransi glukosa darah tikus	121
Lampiran 12 Data hasil pengukuran glukosa darah tikus	122
Lampiran 13 Data prosen penurunan kadar gula darah tikus	123
Lampiran 14 Analisis statistik peningkatan berat badan tikus	126
Lampiran 15 Analisis statistik kadar glukosa darah tikus	132
Lampiran 16 Analisis statistik tes toleransi glukosa	138
Lampiran 17 Perhitungan AUC kadar glukosa darah	140
Lampiran 18 Analisis statistik AUCtotal kadar glukosa darah tikus	142
Lampiran 19 Hasil kuantifikasi jumlah ekspresi protein GLUT-4	144
Lampiran 20 Analisis statistik hasil kuantifikasi GLUT-4	145
Lampiran 21 Foto-foto jalannya penelitian	147

INTISARI

RIANTO, B., 2019, UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES DAN IDENTIFIKASI SENYAWA BIJI OYONG (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) SERTA PENGARUHNYA TERHADAP JUMLAH *GLUCOSE TRANSPORTER 4* MEMBRAN JARINGAN OTOT PADA TIKUS RESISTENSI INSULIN, TESIS, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) merupakan tanaman yang dapat digunakan untuk mengatasi penyakit Diabetes Mellitus (DM) tipe II. Bagian oyong yang digunakan adalah bijinya. Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antidiabetes dan identifikasi ekstrak dan fraksi-fraksi biji oyong yang didasarkan pada penurunan kadar glukosa darah dan peningkatan jumlah protein *glucose transporter 4* (GLUT-4) membran jaringan otot pada model tikus DM tipe II resistensi insulin.

Penelitian ini menggunakan 40 ekor tikus, dibagi dalam 8 kelompok yaitu kelompok normal, kontrol positif (metformin 45 mg/KgBB), kontrol negatif (CMC 0,5%), ekstrak etanol biji oyong 100 dan 200 mg/kgBB, fraksi *n*-heksana 84,82 mg/KgBB, fraksi etil asetat 34,44 mg/KgBB, fraksi air 80,74 mg/KgBB. Tikus diinduksi resisten insulin dengan pemberian diet tinggi lemak fruktosa (DTLF) selama 60 hari dan diinjeksi (i.p) dosis rendah STZ 30 mg/KgBB pada hari ke-30 dan hari ke-44. Kadar glukosa darah diukur pada hari ke-69, 76, 83 dan 90 setelah perlakuan. Fraksi teraktif dilanjutkan *immunohistochemistry* dan dilakukan isolasi.

Fraksi etil asetat biji oyong sebagai fraksi teraktif memiliki persentase aktivitas antihiperglikemik sebesar 42,20 % dan persentase terhadap aktivitas peningkatan jumlah protein GLUT-4 membran sebesar 42,07 %. Isolasi dan identifikasi terhadap fraksi etil asetat diperkirakan mengandung senyawa kimia apigenin-6,8-di-*C*-glukosida (Vicenin-2).

Kata kunci : Biji oyong, antidiabetes, resistensi insulin, GLUT-4, identifikasi.

ABSTRACT

RIANTO, B., 2019, ANTIDIABETIC ACTIVITY AND IDENTIFICATION OF OYONG SEEDS COMPOUNDS (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) AND THE EFFECT TO GLUCOSE TRANSPORTER 4 LEVEL MEMBRANE MUSCLE TISSUE IN INSULIN RESISTANCE RATS, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Oyong (*Luffa acutangula* (L.) Roxb) was a plant that can be used to treat type II Diabetes Mellitus (DM). The oyong used was the seeds. This study aims to determine the antidiabetic activity and identification of extract and fractions of oyong seeds based on a decrease in blood glucose levels and an increase in the amount of glucose transporter protein 4 (GLUT-4) membranes muscle tissue on type II DM rats model of insulin resistance.

This study used 40 experimental animals, divided into 8 groups: normal, positive control (metformin 45 mg / kgBW), negative control (CMC 0.5%), ethanol extract of oyong seeds 100 and 200 mg / kgBW, n-hexane fraction 84.82 mg / kgBW, ethyl acetate fraction 34.44 mg / kgBW, water fraction 80.74 mg / kgBW. Rats induced insulin resistance by giving a high fat diet (HFD) and fructose for 60 days and injected (i.p) low-dose STZ 30 mg / kgBW on the 30th day and 44th day. Blood glucose levels were measured at 69, 76, 83 and 90th days after treatment. The most active fraction was followed by immunohistochemistry and isolation.

The ethyl acetate fraction of oyong seeds as the most active fraction has a percentage of antihyperglycemic activity was 42.20% and the percentage of the activity of increasing GLUT-4 level membrane was 42.07%. Isolation and identification of ethyl acetate fraction was estimated to contain chemical compound apigenin-6,8-di-C-glucoside (Vicenin-2).

Keywords : Oyong seeds, antidiabetic, insulin resistance, GLUT-4, identification.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) dapat digambarkan sebagai sekelompok penyakit metabolik multisistem 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).

International Diabetes Federation (IDF) menyebutkan prevalensi penyakit DM tahun 2017 di Indonesia pada kelompok usia 20-79 tahun menempati urutan keenam di dunia dengan jumlah penderita sekitar 10,3 juta jiwa dan diperkirakan meningkat menjadi 16,7 juta jiwa pada tahun 2045 dengan proporsi jumlah penderita sekitar 7,6 juta jiwa (73,3%) merupakan kondisi DM tidak terdiagnosis. Tentu ini akan menjadi ancaman serius bagi pembangunan kesehatan dan pertumbuhan ekonomi nasional (IDF, 2017).

DM merupakan suatu penyakit yang menunjukkan keadaan hiperglikemi di mana kadar HbA1c atau hemoglobin terglikosilasi di atas 6,5%, glukosa darah saat puasa (GDP) di atas 126 mg/dL dan saat 2 jam setelah makan di atas 200 mg/dL. Disebutkan juga bahwa baik keadaan hiperglikemi maupun krisis hiperglikemi, keduanya ditandai dengan kadar glukosa darah acak di atas 200 mg/dL (ADA, 2015). Adapun gejala-gejala dari penyakit tersebut antara lain poliuria (sering berkemih dengan jumlah banyak), polidipsi (sering haus), polifagia (sering merasa lapar) dan berat badan menurun (Soewondo *et al.*, 2013).

America Diabetes Assosiation (ADA) mengklasifikasikan DM ke dalam empat kelas yaitu diabetes mellitus tipe I disebabkan oleh rusaknya sel β pankreas yang berakibat pada defisiensi insulin, selain itu ada DM tipe II, DM gestasional, dan DM penyebab lain (ADA, 2015). DM tipe II ditandai adanya resistensi kerja insulin (Katzung, 2015).

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).

Resistensi insulin juga menyebabkan penurunan translokasi *glucose transporter 4* (GLUT-4). 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 *et al.*, 2001).

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). 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. 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 dikembangkan sebagai obat antidiabetes (Purwanti, 2012).

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa buah oyong memiliki aktivitas sebagai antihiperglikemia 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 dengan dosis 200 mg/kg 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 etanol biji *Luffa acutangula* dengan dosis 200 mg/kg 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).

Efek antihiperglikemia dari biji oyong tidak lepas dari kandungan senyawa kimia didalamnya. Menurut Dashora *et al.* (2013) kandungan *Luffa acutangula* adalah karbohidrat, karoten, lemak, protein, phytin, asam amino, alanin, arginin, sistin, asam glutamat, glisin, hidroksiprolin, leusin, serin, tryptophan, asam pipecolic, flavonoid, dan saponin. Zat pahit amorf, luffe terkandung didalam buahnya dan daun mengandung berbagai jenis vitamin dan mineral sedangkan gliserida palmitat, stearat, asam miristat, zat pahit, Cucurbitacin B, sapogenin, asam oleat juga terkandung pada bijinya. Flavonoid dan saponin yang terdapat dalam oyong memiliki efek antihiperglikemik karena flavonoid dapat menekan level glukosa darah dengan cara meningkatkan aktivitas dari enzim glukokinase hepar yang akan menstimulasi pancreas untuk menghasilkan insulin, sedangkan saponin menurunkan kadar glukosa darah dengan cara melepas insulin dan mencegah terbentuknya formasi glukosa pada pembuluh darah (Bushan, *et al.*, 2009)

Ekstraksi dilakukan untuk menyari kandungan senyawa pada biji oyong tersebut, metode yang digunakan adalah maserasi karena praktis dan dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang termolabil (Mukhriani 2014). pelarut yang digunakan adalah etanol 96% karena etanol merupakan pelarut universal, sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa yang ada pada simplisia. Penggunaan etanol (96% b/v) juga dapat menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam penyarian (Voight 1995).

Fraksinasi sebagai lanjutan dari proses ekstraksi guna memisahkan senyawa-senyawa yang terkandung didalam biji oyong berdasarkan tingkat kepolarannya, Metode fraksinasi yang digunakan adalah ekstraksi cair-cair, ekstraksi cukup dilakukan dengan corong pisah. Campuran dua pelarut yang tidak

saling bercampur dimasukkan dengan corong pemisah yakni *n*-heksana, etil asetat dan air, lapisan dengan berat jenis yang lebih ringan berada pada lapisan atas (Sarker *et al.*, 2006).

Subfraksi dilakukan terhadap fraksi teraktif, yakni fraksi yang paling tinggi menurunkan kadar glukosa darah. Metode pemisahan ini dilakukan dengan kromatografi cair vakum dengan sistem gradien karena memiliki beberapa keunggulan, seperti peralatan yang sederhana, waktu pemisahan yang cepat, resolusi yang lebih baik dan kapasitas pemisahan besar (Sarker *et. al.*, 2006; Xu *et al*, 2012).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka peneliti bermaksud untuk menguji aktivitas antidiabetes ekstrak dan fraksi-fraksi biji oyong serta pengaruh fraksi aktifnya terhadap jumlah protein GLUT-4 membran pada jaringan otot paha (*soleus muscle*) tikus yang menderita DM tipe II resistensi insulin disamping itu juga dilakukan tahap pemisahan dan identifikasi terhadap fraksi teraktif. Parameter yang diamati adalah peningkatan berat badan tikus, efek antihiperglikemik dan jumlah protein GLUT-4 membran dengan metode imunohistokimia.

Pengujian dilakukan pada model hewan uji yang mengalami resistensi insulin dengan diberi makanan diet tinggi lemak dan fruktosa (DTLF) secara peroral hingga terjadi obesitas. DTLF dibuat dengan komposisi pelet, lemak babi dan kuning telur bebek ditambah fruktosa yang diberikan 1 kali sehari dengan dosis 180 mg tiap 100 g berat tikus. Salah satu faktor pemicu terjadinya DM tipe II adalah karena obesitas. Kemampuan sensitivitas insulin akan mengalami penurunan pada pasien dengan obesitas (Adriawan *et al.*, 2014).

B. Rumusan Masalah

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

1. Apakah ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji oyong dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin ?

2. Manakah dari fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak etanol biji oyong yang memberikan efek paling tinggi terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin ?
3. Apakah fraksi teraktif dari ekstrak etanol biji oyong mampu meningkatkan jumlah protein GLUT-4 membran pada jaringan otot tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin ?
4. Senyawa kimia apa yang terdapat dari hasil isolasi fraksi teraktif biji oyong ?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui kemampuan ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air biji oyong dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin
2. Mengetahui fraksi dari ekstrak etanol biji oyong yang dapat memberikan efek paling tinggi terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin.
3. Mengetahui kemampuan fraksi teraktif dari ekstrak etanol biji oyong terhadap peningkatan jumlah protein GLUT-4 membran pada jaringan otot tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin.
4. Mengetahui senyawa kimia dari isolasi fraksi teraktif biji oyong.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengungkap lebih lanjut khasiat dari ekstrak maupun fraksi-fraksi biji oyong, memberikan informasi tentang senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas antidiabetes sehingga bisa dijadikan 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.

E. Keaslian Penelitian

Penelitian ekstrak etanol biji oyong pada tikus diabetes mellitus tipe II resisten insulin belum banyak dilakukan, ekstrak etanaol buah oyong dapat merangsang pelepasan insulin dan menghambat absorpsi glukosa melalui penghambatan enzim *alfa-glukosidase* dan *alfa-amilase*. Dosis 100 mg/kg BB, 200 mg/kg BB dan 400 mg/kg BB ekstrak metanol buah oyong dapat menurunkan kadar glukosa tikus yang diinduksi stereptozotosin (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) terdapat juga curcubitacin yang merupakan golongan saponin dan dapat memberikan efek antihiperglikemik (Patil *et al.*, 2010). Penelitian tentang biji oyong untuk terapi DM tipe II resistensi insulin hanya terbatas pada ekstrak sedangkan untuk fraksinya belum pernah dilakukan.