

Aktivitas Antidiabetes Fraksi-Fraksi Ekstrak Daun Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) dan Ekspresi Protein GLUT-4 Jaringan Otot *Soleus* pada Tikus Resistensi insulin

Novita N. G. Tumiwa^{1)*}, Fridly Manawan²⁾

^{1)*} Program Studi Farmasi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Prisma

²⁾ Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Trinita

Email: novitanatalia511@gmail.com

Abstrak

Daun yacon merupakan tumbuhan asli dari pegunungan Andes, Peru yang diketahui mengandung senyawa fenolik dan memiliki aktivitas antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak dan fraksi daun yacon terhadap penurunan kadar gula darah pada hewan uji tikus resistensi insulin. Penelitian dilakukan terhadap 7 kelompok uji tikus Wistar (*Ratus norvegicus*) yaitu; kontrol normal, kontrol negatif, kontrol positif (metformin 45 mg/kg BB), pemberian ekstrak etanol yacon, fraksi air, fraksi n-heksan, dan fraksi etil asetat. Resistensi insulin pada hewan uji dilakukan dengan pemberian pakan tinggi lemak dan fruktosa. Hasil penelitian menunjukkan pemberian fraksi etil asetat pada dosis 10 mg/kg BB dalam waktu 21 hari mampu menurunkan kadar gula darah sebesar 79,50% dan meningkatkan translokasi protein GLUT-4 di jaringan otot sebesar 83,22 % pada hewan uji.”

Kata kunci: *Smallanthus sonchifolius*, *high fat diet*, ekspresi protein GLUT-4

Abstract

Yacon is an Andes, PERU crop which known to have antidiabetic activity. This plant consists phenolic compounds and its derivatives have antidiabetic activity. The aim of this study was to determine antidiabetic activity of extracts and fractions of yacon leaves to provide antidiabetic activity which decreasing blood glucose levels and increase insulin receptor sensitivity through GLUT-4 expression in soleus muscle in treating insulin resistance. Thirty-five male Wistar rats were randomly divided into seven groups include normal control, Na-CMC, positive control, ethanol extract, water fraction of yacon leaf, n-hexane fraction and ethyl acetate fraction. We fed male Wistar rats a high fat diet with the composition of pellet (80%), lard (15%, and quail egg yolk (5%). All rats (except normal control) were given a high fat and fructose diet treatment every day for 45 days. Fructose is given 180mg/100g BB once per day orally. Insulin sensitivity was evaluated by insulin tolerance test. Translocation of GLUT-4 in rat muscle using immunohistochemical. The result showed that fractions and ethanol extract of yacon leaves increase blood glucose level within 21 days in rats and 10 mg/ Kg BB ethyl acetate had given the highest percentage of hypoglycemic after normal control also increase GLUT-4 protein translocation in soleus muscle by 83,22% in Diabetes type II insulin resistance.

Keywords: *Smallanthus sonchifolius*, *high fat diet*, GLUT-4

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit gangguan metabolik yang ditandai dengan hiperglikemi akibat gangguan sekresi insulin oleh sel β pankreas atau gangguan pengambilan glukosa darah oleh sel otot dan sel hati, atau produksi glukosa berlebihan dari hati (Rastogi *et al.*, 2010).

Secara umum ada tiga hal yang menyebabkan terjadinya diabetes, dan resistensi insulin merupakan salah satu penyebab dimana insulin di dalam pankreas cukup tetapi reseptor insulin tersebut tidak sensitif lagi sehingga tidak mampu bekerja optimal dan glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel yang mengakibatkan penggunaan glukosa sebagai energi terhambat dan menyebabkan kekurangan energi pada sel (McClung *et al.*, 2004).

World Health Organization (WHO) mengategorikan DM sebagai penyakit global. Berdasarkan data WHO (2006), diperkirakan terdapat 171 juta orang di dunia menderita DM pada tahun 2000 dan diprediksikan pada tahun 2030 akan meningkat menjadi 366 juta orang. Sekitar 4,8 juta orang di dunia telah meninggal akibat DM dan setengah dari penderita DM ini tidak terdiagnosis. Indonesia sendiri menduduki posisi keempat setelah India, Cina, dan Amerika tahun 2000 yaitu sebesar 8,4 juta jiwa dan diprediksikan akan meningkat pada tahun 2030 menjadi 21,3 juta jiwa. Data ini menunjukkan bahwa angka kejadian DM tidak hanya tinggi di negara maju melainkan di negara berkembang juga.

Terapi farmakologi dengan obat modern pada penderita DM terdiri atas obat hipoglikemik oral, injeksi insulin dan injeksi antidiabetes yang lain. Salah satu contoh obat antidiabetes yang sering digunakan oleh masyarakat yaitu metformin dari golongan biguanida. Metformin bekerja dengan cara meningkatkan sensitivitas reseptor insulin sehingga meningkatkan ambilan glukosa di perifer (Ibrahim, 2010). Namun, adanya efek samping dari pemakaian obat-obatan hiperglikemik oral seperti gangguan pada organ hati, ginjal, saluran cerna, atau saluran nafas, gangguan pada susunan saraf pusat, meningkatkan berat badan sehingga merugikan untuk pasien obesitas, dan menyebabkan hematologi seperti leukopenia, trombositopenia, agranulositosis dan anemia aplastik (Depkes, 2005).

Meninjau banyaknya efek samping yang ditimbulkan dan tidak diharapkan oleh sebagian besar penderita, maka banyak penderita DM yang lebih memilih melakukan usaha sendiri dengan beralih memanfaatkan bahan alam (tanaman) yang masih digunakan secara empiris. Bahan alam yang digunakan tidak hanya berasal dari tumbuh-tumbuhan saja tetapi juga dari hewan, mineral, sediaan galenik bahkan campuran dari bahan-bahan tersebut tanpa atau dengan sedikit efek samping (Dewoto, 2007).

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) merupakan salah satu tanaman yang mempunyai aktivitas antidiabetes yang telah banyak diteliti oleh ilmuwan di berbagai negara. Bukti aktivitas antidiabetes dari ekstrak air daun yacon menggunakan induksi STZ dilakukan oleh Aybar *et al.*, (2001) menunjukkan bahwa pemberian ekstrak air yacon dan rebusan daun yacon dalam 30 hari secara signifikan menurunkan kadar glukosa darah pada tikus DM yang diinduksi STZ.

Penyelidikan secara *in vitro* yang dilakukan oleh Satoh *et al.*, (2013) terhadap diet yacon terhadap resistensi insulin hati melalui pengurangan ekspresi Trb3 pada tikus Zucker. Peneliti mengukur tingkat ekspresi phosphoenolpyruvate carboxykinase 1 dan glukosa-6-phosphatase yang merupakan enzim kunci dalam jalur glukoneogenesis dengan melakukan analisis qRT-PCR pada RNA total dari sampel jaringan hati di ujung penjepit *euglycemic-hyperinsulinemic* tikus jantan Zucker dengan pemberian ekstrak yacon menyebabkan peningkatan sensitivitas insulin. Dari penelitian ini diharapkan adanya aktivitas antidiabetes dan sensitivitas insulin dari produk hasil fraksinasi ekstrak daun yacon yang mengandung senyawa-senyawa spesifik dan dominan menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan air serta ekspresi protein *glucose transporter-4* dalam proses insulin signaling, terutama pada jaringan otot *soleus* pada tikus resistensi insulin.

METODE

Desain penelitian ini adalah eksperimental laboratorium. Kegiatan yang dilakukan adalah preparasi sampel, ekstraksi dan fraksinasi daun yacon, identifikasi senyawa kimia, pengujian toleransi insulin, uji aktivitas antidiabetes dan pengamatan ekspresi protein GLUT-4 jaringan otot *soleus*.

Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan maserasi yang terdiri dari bejana maserasi, *beaker glass*, kain flannel, ayakan mesh 40, aluminium foil, bejana tempat hasil maserasi. Alat untuk pembuatan fraksi-fraksi ekstrak etanol daun yacon yaitu corong pisah. Alat lain yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kadang hewan uji, timbangan hewan uji, neraca analitik, oven, corong pisah, alat penggiling, evaporator, *Sterling-Bidwell*, mikrotom, *Inverted microscope* dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun yacon yang diambil dari daerah Wonosobo, Kecamatan Bener, Kabupaten Purworejo, Jawa Tengah, dan disari dengan cara maserasi, kemudian difraksinasi dengan ekstraksi cair-cair. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah metformin sebagai kontrol positif, HFD, CMC 1% untuk kontrol negatif, etanol 96%, n-heksana, etil asetat, aquadestilata, reagen Hayem, normal saline 10%, larutan Von Ebner's, ammonium oksalat 5%, alkohol 96%, hematoxylin, antibodi GLUT-4 dan fruktosa.

Pembuatan ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun yacon

Daun segar dikeringkan dengan oven pada suhu 50⁰, dihaluskan dengan blender dan diayak dengan ayakan nomor 40. Selanjutnya diukur kelembaban air dengan alat *Sterling Bidwell* diperoleh 9,3% yang telah memenuhi syarat kadar air yaitu kurang dari 10%.

Pada pembuatan ekstrak, serbuk yacon diambil 2,4 kg simplisia kering dimaserasi menggunakan etanol 70%. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali dan diperoleh ekstrak rendemen 5,14%.

Kemudian pada pembuatan fraksi-fraksi ekstrak daun yacon menggunakan metode ekstraksi cair-cair dengan alat corong pisah. Ekstrak etanol daun yacon difraksinasi dengan n-heksan dan aquadest dalam corong pisah, digojok lalu didiamkan hingga memisah menjadi dua lapisan. Perlakuan ini dilakukan beberapa kali pengulangan sampai lapisan n-heksan terlihat jernih sehingga diperoleh fraksi n-heksan. Warna bening menunjukkan senyawa non-polar telah tertarik ke fraksi n-heksan. Semua fraksi n-heksan yang keluar dari corong pisah kemudian ditampung dalam erlemeyer dan digabungkan, fraksi yang tidak larut n-heksan difraksinasi kembali dengan etil asetat sehingga diperoleh fraksi etil asetat dan fraksi tidak larut etil asetat.

Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak daun yacon

Flavonoid diidentifikasi dengan menggunakan KLT, fase diam silica gel GF 254 dan fase geraknya n-butanol: asam asetat : air (4: 5: 1). Dideteksi di bawah sinar UV 254 berwarna gelap dan di bawah sinar UV 366 berwarna biru, kuning atau ungu. Pemeriksaan senyawa steroid pada ekstrak dan fraksi daun yacon dilakukan dengan menggunakan pengembangan campuran n-heksana-etil asetat (7:3) dan pereaksi Lieberman-Burchard untuk mendeteksi bercak hijau yang menunjukkan adanya steroid.

Identifikasi alkaloid dilakukan dengan menggunakan pengembang campuran methanol-kloroform (0,5 : 9,5) dan pereaksi Dragendorff untuk mendeteksi bercak coklat jingga yang menunjukkan adanya alkaloid. Saponin diidentifikasi dengan menggunakan KLT, fase diam silica gel GD 254 dan fase geraknya kloroform : methanol : air (6 : 3 : 1). Dideteksi di bawah sinar UV 254 berwarna kuning dan di bawah sinar UV 366 berwarna hijau. Pereaksi semprot aldehid dengan hasil berwarna ungu dan dibawah bercak sinar tampak berwarna biru.

Prosedur uji aktivitas antidiabetes padatikus resisten insulin

Tikus yang telah ditimbang dan dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu tikus normal dan kelompok tikus yang diberi fruktosa (HFD) secara peroral selama 45 hari. Pengelompokan hewan uji menjadi dua kategori bertujuan untuk membandingkan nilai parameter resisten insulin kelompok normal dan kelompok lemak fruktosa. Hal ini dimaksudkan untuk menetapkan suatu kondisi tikus resistensi insulin. Nilai parameter resistensi insulin ditetapkan pada hari ke 0-, 15, 30, dan 45. Sebelum diberi perlakuan, tikus diukur berat badan dan *fasting blood glucose* (FBG). Tikus diukur kadar glukosa darahnya yang diperoleh dari darah ujung ekor (*vena lateralis*). Penetapan kadar glukosa dengan cara 10 µl serum ditambahkan reagen GOD-PAP 1000 µl kemudian divortex. Selanjutnya larutan diinkubasi pada suhu kamar selama 20 menit., kemudian diukur dengan alat spektrofotometer *microlab 3000*, dicatat *output* nilai kadar glukosa yang tercatat pada alat. Kadar glukosa darah pada hewan uji ditetapkan dengan menggunakan reagen GOD-PAP. Untuk memastikan apakah hewan percobaan telah mengalami resistensi insulin adalah dengan melakukan tes toleransi insulin. Tikus atau mencit akan dipuasakan selama 5 jam, kemudian diberikan injeksi insulin secara intraperitoneal dengan dosis 0,75 U/kg bb kemudian kadar glukosa darah diukur pada menit ke 15, 30, 60 dan 120 dengan menggunakan glukometer (Korasa, 2014).

Selanjutnya masing-masing kelompok diberi perlakuan secara oral selama 21 hari. Kelompok perlakuan tikus terdiri dari kelompok kontrol normal, kontrol positif (metformin 45 mg/kg BB), kontrol negatif (larutan Na-CMC 1%), kelompok IV adalah ekstrak etanol 70% dengan dosis 100 mg /kg BB, kelompok V adalah dosis fraksi n- heksan ekstrak daun yacon yaitu 10 mg/kg BB, kelompok VI adalah dosis fraksi air ekstrak daun yacon yaitu 10 mg/kg BB dan kelompok VII adalah dosis fraksi etil asetat daun yacon yaitu 10 mg/kg BB.

Pengamatan struktur anatomi sel otot dan ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot soleus

Tikus selanjutnya dibedah dan diambil jaringan otot paha (*soleus muscle*) dan dilakukan preparasi dan pengamatan secara imunohistokimia. Pengamatan struktur anatomi sel otot dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x dan 400x. Pengamatan struktur anatomi sel otot tikus dilakukan dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) untuk melihat inti sel dan sitoplasma. Kemudian pemeriksaan jumlah protein GLUT-4 dilakukan dengan menghitung translokasi protein GLUT-4 (luas area x intensitas) dalam sel otot soleus tikus yang telah dilakukan pengecatan secara imunohistokimia dengan menggunakan anti GLUT-4 sebagai antibody.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak dan fraksi-fraksi daun yacon menggunakan KLT dengan fase diam silika gel F254, untuk uji flavonoid menggunakan fase gerak Kloroform : etil asetat (6:4), uji tanin menggunakan fase gerak n-butanol : asam asetat:air (4:1:5), uji saponin menggunakan fase gerak kloroform:metanol:air (64:50:1), uji alkaloid menggunakan fase gerak toluen : etil asetat : dietil amin (:2:1), uji terpenoid menggunakan fase gerak n-heksan:etil asetat (93:7). Tujuan dipilih pelarut tersebut karena masing-masing pelarut memiliki kepolaran yang berbeda sehingga senyawa-senyawa dengan kepolaran yang berbeda diharapkan dapat terpisahkan dengan eluen tersebut. Hasil dilihat setelah plat KLT disemprot dengan pereaksi sitroborat untuk menampakkan bercak atau noda. Bercak atau noda warna kuning-kehijauan dapat dilihat di bawah UV 366.

Tabel 4. Hasil identifikasi golongan senyawa kimia dengan metode KLT

Senyawa	Hasil setelah disemprot		Hasil				darah
	254 nm	366 nm	Ekstrak etanol	F.n-heksan	F.Etil asetat	F.air	
Flavonoid	Biru kehijauan	Biru kehijauan	+	-	+	-	
Tanin	Biru	Biru berpendar	+	-	+	+	
Saponin	Biru	Biru	+	-	+	+	
Alkaloid	Coklat jingga	Coklat jingga	+	+	-	-	
Terpenoid	Merah keunguan	Merah keunguan	+	-	+	+	

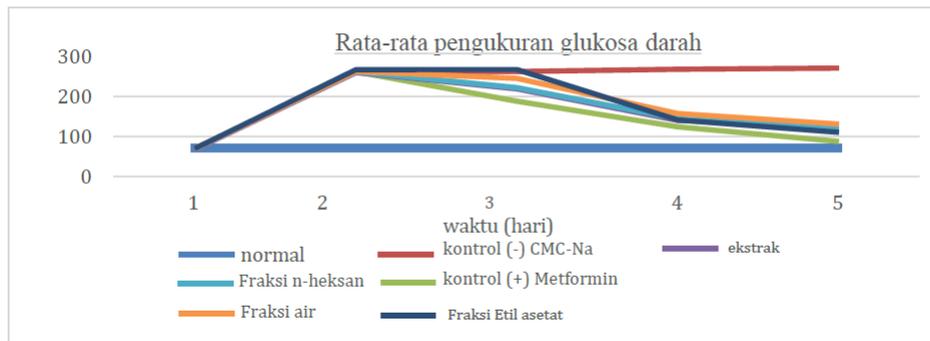
Hasil uji identifikasi kandungan senyawa dalam ekstrak dan fraksi-fraksi daun yacon yaitu flavonoid, tannin, saponin, terpenoid dan alkaloid. Fraksi etil asetat daun yacon mengandung flavonoid dan asam fenolat berdasarkan uji KLT. Flavonoid yang terkandung dalam daun yacon diantaranya yaitu kuersetin, luteolin dan apigenin (Simonovska *et al.*, 2003). Ekstrak etanol daun yacon juga mengandung senyawa flavonoid seperti luteolin dan apigenin serta asam fenolat seperti asam kafeat (Russo *et al.*, 2014). Menurut Lachman (2003) ekstrak daun yacon mengandung senyawa terpenoid berupa seskuiterpen lakton seperti *sonchifolin*, *polymatin B*, *uvedalin* dan *enhydrin*.

Flavonoid dan terpenoid telah banyak dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antidiabetes seperti efek hipoglikemia, ataupun sebagai antioksidan. Alkaloid mempunyai efek hipoglikemia dan menurunkan glukoneogenesis sehingga kadar glukosa dalam darah menurun (Bunting *et al.*, 2006). Menurut Anita *et al* (2014), saponin dapat meningkatkan sekresi insulin di Pulau Langerhans pankreas.

Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus setelah pemberian HFD pada hari ke-45 menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar glukosa darah lebih tinggi pada kelompok tikus yang diberi HFD dibandingkan dengan kelompok tikus normal. Kadar glukosa darah tikus setelah pemberian HFD-fruktosa secara p.o sampai pada hari ke-45, tampak bahwa kenaikan kadar glukosa kelompok tikus yang diberi HFD-fruktosa berbeda bermakna dibandingkan dengan tikus normal. Hal ini membuktikan bahwa pemberian HFD-fruktosa dapat menginduksi terjadinya kondisi DM tipe II resistensi insulin. Pemberian HFD-fruktosa dapat meningkatkan resistensi insulin, hiperinsulinemia dan dislipidemia. Pemberian jangka panjang dapat mempengaruhi penurunan sensitivitas insulin. Hiperinsulinemia mempengaruhi karakteristik sekresi adiposit yang bertanggung jawab dalam resistensi insulin di kedua *adipocytes* dan *myocytes*. Selain itu, akumulasi tinggi fruktosa dalam hati dapat mempercepat akumulasi lipogenesis dan trigliserida (Nugroho *et al.*, 2013).

Setelah dipastikan hewan uji mengalami resisten insulin, larutan uji diberikan selama 21 hari, pada masing-masing hewan uji kecuali kelompok normal. Setelah diberisediaan uji terlihat bahwa terjadi penurunan kadar glukosa darah pada kelompok tikus yang diberikan sediaan uji dan penurunan kadarglukosa terlihat pada kelompok fraksi etil asetat daun yacon 10 mg/kg BB tikus dan fraksi n-heksan daun yacon 10 mg/kg BB tikus seperti terlihat pada Gambar 1.

Hasil pengukuran kadar glukosa darah tikus pada gambar 1 menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah setelah diterapi menggunakan sediaan uji selama 8 hari yaitu hari ke-53 (terhitung mulai hari ke-45, kecuali kelompok normal) dan hari ke-15 setelah pemberian sediaan uji, kemudian dilakukan perbandingan kadar glukosanya antara hari ke-45 setelah tikus dinyatakan resisten insulin dibandingkan dengan kadar glukosa darah hari ke-53, ke-60 dan hari ke-67 setelah perlakuan dengan sediaan uji.



Gambar 1. Hasil pengukuran kadar glukosa darah setelah diberi sediaan uji.

Tabel 2. Rata-rata persentase daya hipoglikemik

Kelompok	Daya Hipoglikemik (%)		
	Hari ke-53 (T2)	Hari ke-60 (T3)	Hari ke-67 (T4)
N	-7.04±1.71	-18.08±1.26	-32.07±1.99
K(-)	-1.01±3.45	-3.83±2.74	-5.29±3.97
K(+)	38.48±3.49	71.54±3.18	90.79±5.21
Y1	19.86±8.03*	62.06±2.43*	68.72±4.71*
Y2	20.87±3.36*	60.61±2.86*	73.36±4.08*
Y3	19.14±2.46*	54.45±5.93*	67.95±6.59*
Y4	21.26±2.28*	63.28±2.73*	79.50±2.86*

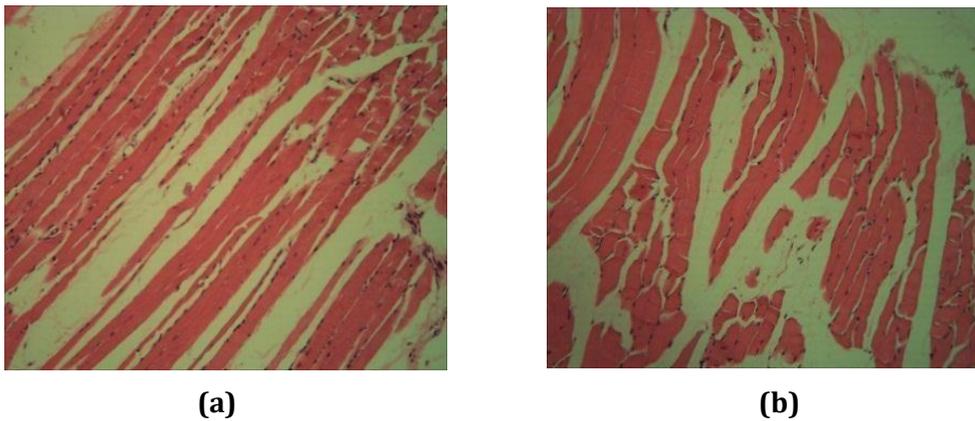
Hasil pengukuran kadar glukosa darahnya setelah diberikan sediaan uji hari ke 53 (T2), hari ke-60 (T3) dan 67 hari (T4) menunjukkan bahwa pemberian fraksi etil asetat memiliki efek hipoglikemik tertinggi setelah metformin, yaitu mampu menurunkan kadar glukosa tikus yang mengalami resistensi insulin sebesar 79.50% diikuti fraksi n-heksan yaitu sebesar 73.36%, ekstrak etanoldan yacon yaitu 68.72% dan kemudian fraksi air yaitu sebesar 67.95%.

Presentasi penurunan kadar glukosa darah disebabkan adanya kandungan flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid dan saponin yang terdapat pada daun yacon memiliki fungsi sebagai antidiabetes. Steroid merupakan bagian struktur aglikon dari saponin yang dapat menstimulasi keluarnya insulin dari pankreas sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah. Sedangkan terpenoid merangsang pengeluaran insulin dan membantu absorpsi glukosa dengan cara merangsang GLUT-4 di dalam sel (Tan *et al.*, 2008).

Mekanisme alkaloid dan flavonoid dalam menurunkan kadar glukosa darah adalah menghambat kerja enzim α -glukosidase. Enzim α -glukosidase berperan dalam pembentukan glukosa pada usus halus manusia melalui pemecahan karbohidrat yang telah dicerna oleh lambung. Karbohidrat akan dipecah menjadi glukosa yang sederhana, yang akan diserap oleh usus dan didistribusikan ke dalam aliran darah. Alkaloid dan flavonoid yang masuk ke dalam tubuh akan menghambat kerja enzim α -glukosidase sehingga karbohidrat yang masuk ke dalam tubuh mengalami penundaan pemecahan (Rais *et al.*, 2013). Berdasarkan hasil penelitian Baroni *et al.* (2008), pemberian 400 mg/kg BB/hari ekstrak daun yacon selama 14 hari dapat menurunkan hiperglikemia pada tikus diabetes.

Daun yacon dapat menurunkan kadar gula darah dengan menstimulasi pelepasan insulin dari sel beta pankreas, sehingga ada perlawanan terhadap hormon yang mampu meningkatkan laju pelepasan glukosa, meningkatkan jumlah dan sensitivitas reseptor insulin, serta meningkatkan penyerapan glukosa oleh jaringan dan organ. Manfaat dari daun yacon, diperoleh dari kandungan yang ada pada daun yacon, seperti flavonoid asam firulat, asam klorogenik, dan *caffeic acid*.

Mekanisme tersebut sama dengan mekanisme kerja obat kimia golongan biguanide yaitu metformin yang digunakan sebagai kontrol positif dimana metformin bekerja meningkatkan pemakaian glukosa oleh sel sehingga menurunkan glukosa darah dan dapat menghambat absorpsi glukosa dari usus sesudah mengkonsumsi makanan. Metformin menstimulasi glikolisis langsung pada jaringan perifer dengan peningkatan pengeluaran glukosa dari darah, mengurangi glukoneogenesis hati, memperlambat absorpsi glukosa dari saluran pencernaan, pengurangan kadar glukagon plasma, dan meningkatkan pengikatan insulin pada reseptor insulin (Katzung 1997). Karena kemampuannya mencegah penambahan berat badan, mengurangi resistensi insulin dan memperbaiki profil lipid, maka metformin digunakan sebagai monoterapi pada awal pengobatan pasien DM yang kelebihan berat badan dengan dislipidemia sebagai obat pilihan pertama (Katzung, 2009)



Gambar 2. Hasil pewarnaan HE terhadap jaringan otot kelompok tikus normal (a) kelompok tikus yang diberi pakan diet lemak tinggi (b)

Setelah itu dilakukan pembedahan pada tikus dan dilakukan pengamatan anatomi. Pengamatan struktur anatomi sel bertujuan untuk mengetahui bentuk anatomi sel yang akan diamati, sehingga setelah dilakukan pewarnaan, struktur sel dan protein GLUT-4 mudah dibedakan. Pengamatan struktur anatomi sel otot dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 100x dan 400x. Pengamatan struktur anatomi sel otot tikus dilakukan dengan pewarnaan Hematoksin Eosin (HE) untuk melihat inti sel dan sitoplasma. Masing-masing kelompok mewakili 2 ekor tikus diterminasi dan diambil *soleus muscle* untuk dilakukan pengamatan secara HE, untuk 1 preparat terdapat 3 organ, 1 preparat dilakukan fotomikroskopi dengan perbesaran lensa okuler 10x dan lensa obyektif 40x. Hasil pengamatan struktur anatomi sel otot dapat dilihat pada gambar 2. Pemeriksaan jumlah protein GLUT-4 dilakukan dengan menghitung translokasi protein GLUT-4 (luas area x intensitas) dalam sel otot soleus tikus yang telah dilakukan pengecatan secara imunohistokimia dengan menggunakan anti GLUT-4 sebagai antibody. Setelah dilakukan pemeriksaan ekspresi protein GLUT-4 pada jaringan otot dengan metode IHC dapat terlihat perbedaannya. Nilai GLUT-4 dinyatakan dengan perhitungan dengan mengalikan luas area dengan intensitas warna. Perhitungan translokasi GLUT-4 ini dianggap bersifat subjektif karena intensitas warna bisa dipengaruhi pencahayaan mikroskopis, sehingga pengamatan intensitas warna GLUT-4 pada jaringan otot dalam penelitian ini merupakan pemeriksaan secara kualitatif. Semakin banyak jumlah translokasi protein GLUT-4 maka penggunaan glukosa oleh jaringan semakin baik, sehingga jumlah glukosa dalam darah menjadi berkurang karena diangkut ke dalam jaringan dan glukosa akan diubah menjadi ATP.

Hasil pengamatan dari seluruh parameter memperlihatkan pengaruh fraksi etil asetat daun yacon dosis 10 mg/kg BB memberikan hasil yang lebih baik sebagai antidiabetes tipe II resistensi insulin dibandingkan dengan ekstrak etanol dosis 100 mg/kg BB, fraksi n- heksan dan fraksi air

daun yacon. Perbaikan kondisi DM tipe II resistensi insulin juga ditunjukkan dengan meningkatnya translokasi protein GLUT-4 pada jaringan otot soleus hewan uji setelah 21 hari pemberian sehingga terjadi penurunan kadar glukosa darah. Berdasarkan tabel 7, diperoleh hasil pada setiap kelompok perlakuan memberikan hasil ekspresi protein GLUT-4 yang berbeda-beda pada setiap kelompok perlakuan.

Dari hasil yang diperoleh, diperkirakan senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun yacon berpotensi dalam memperbaiki homeostatis glukosa yang terganggu akibat pakan diet lemak tinggi yang diberikan. Beberapa senyawa alami termasuk flavonoid telah dilaporkan untuk mengaktifkan PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ). Polifenol seperti tanin dan saponin dari beberapa ekstrak tumbuhan juga telah terbukti mengurangi kadar glukosa darah melalui penghambatan enzim α glukosidase (α - amilase dan sukrosa) dari usus (Kuroda *et al.*, 2003). Tanin meningkatkan fosforilasi tirosine dari subunit β reseptor insulin dan menghambat tirosin fosfatase, menstimulasi aktivitas transport glukosa sehingga meningkatkan aktivitas reseptor insulin. Pada akhirnya dengan peningkatan jumlah sel beta pankreas dan jumlah reseptor insulin akan dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah (Inawati, 2010).

KESIMPULAN

Ekstrak dosis 100 mg/kg BB, fraksi etil asetat dosis 10 mg/kg BB, fraksi n-heksan 10 mg/kg BB, fraksi air 10 mg/kg BB daun yacon memberikan aktivitas antidiabetes, dan fraksi etil asetat dosis 10 mg/kg BB memberikan efek paling optimal terhadap daya hipoglikemik yaitu sebesar 79,50% pada model tikus yang mengalami DM tipe II resistensi insulin dan meningkatkan sensitivitas reseptor insulin melalui ekspresi jaringan otot pada tikus model resistensi insulin.

DAFTAR PUSTAKA

1. McClung JP, Roneker CA, Mu W, Lisk JD, Langlais P, Liu F, Lei XG., 2004, Development of Insulin Resistance and Obesity in Mice Over Expressing Cellular Glutathione Peroxidase, *Proc Natl Acad Sci USA* 101 (24) : 8852 – 8857.
2. World Health Organization. 2006. *Global Report on Diabetes*. World Health Organization. Geneva- Switzerland. S5-36
3. Depkes RI, 2005, *Parmaceutical Care untuk Penyakit Diabetes Melitus*, Jakarta, Departemen Kesehatan RI, hal 27-30.
4. Dewoto, H.R., 2007, *Pengembangan Obat Tradisional Indonesia menjadi Fitofarmaka*, Majalah kedokteran indonesia, 57(7): 205-211
5. Aybar MJ, Riera AS, Grau A, Sanches SS. 2001. *Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats*. *J. Ethnopharmacol.* 74: 125-132.
6. Satoh, H.; Nguyen, M.T.A.; Kudoh, A.; Watanabe, T. 2013. *Yacon diet (*Smallanthus sonchifolius*, Asteraceae) improves hepatic insulin resistance via reducing *Trb3* expression in Zucker *fa/fa* rats*. *Nutrition & Diabetes*.
7. Simonovska B, Vovk I, Andresek S, Valentová K and Ulrichová J. 2003. *Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers*, *Journal of Chromatography A*. 1016(1):89-98.
8. Groop LC. 1999. *Insulin Resistance: The Fundamental trigger of type 2 diabetes*. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 1(supl1): pp.S1-7.
9. Baroni S, Suzuki-Kemmelmeier F, Martins Caparroz-Assef S, Kenji Nakamura, Cuman R and Bersani-Amado CA. 2008. *Effect of crude extracts of leaves of *Smallanthus sonchifolius* (yacon) on glycemia in diabetic rats*, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 44(3):521-530.

10. Miura T, Itoh Y and Ishida T. 2004. *Hypoglycaemic and hipolipidemicactivity of the leaf of Smalanthus sonchifolius in genetically type 2 diabeticmice*, Journal of Traditional and Complementary Medicine. 21:275-277.