

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Diabetes mellitus merupakan suatu kumpulan gejala klinis (sindromaklinis) yang timbul karena adanya peningkatan kadar glukosa darah kronis akibat kekurangan insulin, baik relatif maupun absolut (Katzung, 2002). *World Health Organization* (WHO) memprediksi kenaikan jumlah pasien DM di Indonesia, dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. Data dari studi global menunjukkan bahwa jumlah pasien DM pada tahun 2011 telah mencapai 366 juta orang. Jika tidak ada tindakan yang dilakukan, maka jumlah ini diperkirakan akan terus meningkat menjadi 552 juta pada tahun 2030. Meskipun terdapat perbedaan angka prevalensi, laporan keduanya menunjukkan adanya peningkatan jumlah pasien DM sebanyak 2-3 kali lipat pada tahun 2030 (Perkeni, 2011).

Obat sintetik yang banyak digunakan untuk mengatasi diabetes mellitus, salah satunya adalah kelompok obat biguanid. Penggunaan obat-obat tersebut mempunyai efek samping gangguan saluran cerna seperti mual, muntah, kembung, sering buang angin, tidak nafsu makan, dan diare. Obat ini dikontraindikasikan pada pasien gangguan fungsi ginjal, gangguan fungsi hati, kekurangan cairan, asidosis metabolik, sepsis, dan mempunyai resiko terjadi asidosis laktat (Sustrani dkk., 2006). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian berkelanjutan dalam rangka penemuan obat baru sebagai alternatif lain dengan

efek samping minimal. Salah satu usaha yang telah dilakukan di Indonesia adalah penemuan senyawa obat baru dari tumbuhan berkhasiat obat.

Indonesia memiliki banyak spesies tumbuhan berkhasiat, diantaranya adalah daun alpukat dan rimpang temulawak. Daun alpukat sudah dikenal dalam dunia pengobatan memiliki banyak manfaat, baik secara empiris maupun ilmiah. Salah satu khasiat daun alpukat yaitu dapat digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah (Kristinawati, 2010). Hasil penapisan fitokimia pada ekstrak daun alpukat adalah polifenolat, flavonoid, tanin, polifenol, monoterpen dan sesquiterpen, saponin, serta alkaloid (Putri dkk., 2015). Begitu juga rimpang temulawak yang telah terbukti dapat menurunkan kadar glukosa darah. Dimana kandungan senyawa aktif dari rimpang temulawak, berdasarkan hasil pengujian skrining fitokimia ekstrak etanol rimpang temulawak yaitu triterpenoid, alkaloid, fenol, flavonoid, tanin, dan glikosida (Cahyani, 2014).

Senyawa obat yang dapat berperan sebagai antidiabetes harus mampu mengurangi resistensi insulin dan mencegah kerusakan sel β pankreas. Misalnya flavonoid adalah salah satu senyawa yang mampu memiliki peran tersebut. Hal tersebut disebabkan karena senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan yang mampu mengikat radikal bebas dan mencegah kerusakan sel β pankreas (Stefek, 2011). Begitu juga dengan senyawa lain seperti alkaloid, triterpenoid, dan fenol. Alkaloid terbukti mampu meregenerasi sel beta pankreas yang rusak (Agrawal dkk., 2013). Triterpenoid dapat mempertahankan massa sel β pankreas (Liu dkk., 2010) dan memiliki aktivitas antidiabetes yang terkait aktivasi jalur enzim *AMP-activated protein kinase*, dimana enzim ini mengatur translokasi glukosa untuk

dapat masuk ke dalam sel (Tan dkk., 2008). Golongan fenol khususnya kurkumin dapat menghambat glukoneogenesis di hati (Kim dkk., 2009).

Berbagai macam hasil penelitian mengenai daun alpukat dan rimpang temulawak telah banyak diteliti oleh kalangan masyarakat. Salah satu yang meneliti tentang daun alpukat adalah Antia dkk., (2005). Hasil penelitian yang dilakukan oleh Antia dkk., (2005) menunjukkan bahwa ekstrak air daun alpukat (100-200) mg/KgBB mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan monohidrat. Begitu juga dengan Cahyani, (2014) yang telah berhasil meneliti rimpang temulawak yang berkhasiat sebagai antidiabetes. Dimana dalam penelitiannya, ekstrak etanol rimpang temulawak 17,5 mg/KgBB ternyata efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus yang diinduksi aloksan hingga ke dalam rentang normal dan sama efektifnya dengan metformin.

Ditinjau dari data praklinis tentang khasiat dari masing-masing tanaman, keduanya dapat dikombinasikan sebagai suatu sediaan obat herbal untuk pengobatan alternatif bagi penderita diabetes mellitus. Herbal merupakan campuran bahan alami yang berbentuk racikan/ramuan dalam formulasinya tanpa penambahan bahan kimia sintetik. Pemakaian herbal untuk penanganan kesehatan telah berkembang sangat pesat seiring dengan *trend back to nature* (Hernani, 2011). Kombinasi ini dilakukan karena untuk meningkatkan efektifitas dari pemakaian herbal, dimana dalam dosis yang kecil mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus dibandingkan penggunaannya dalam dosis tunggal dan efeknya setara dengan penggunaan obat sintetik. Selain itu, dengan dilakukannya

kombinasi herbal, maka efek terapi lebih besar sekaligus relatif aman karena 100% menggunakan bahan alami tanpa penambahan bahan-bahan sintetik.

Alasan lainnya dilakukan kombinasi dalam penelitian ini adalah karena efek terapi pada rimpang temulawak sangat besar. Hal tersebut dibuktikan dengan 17,5 mg/KgBB sudah mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus sebesar 47% (252,05 mg/dL menjadi 109,83 mg/dL) (Cahyani, 2014), sedangkan efek sebagai antidiabetes dari daun alpukat sangatlah rendah yang dibuktikan dengan 100-200 mg/KgBB baru bisa menurunkan kadar glukosa darah sebesar 39% (223,3 mg/dL menjadi 69,2 mg/dL) (Antia dkk., 2005). Dengan dilakukannya kombinasi tanaman herbal ini, maka diharapkan efek terapi dari daun alpukat sebagai antidiabetes dapat meningkat dengan adanya efek sinergis dari rimpang temulawak. Produk kombinasi herbal ini nantinya diharapkan juga dapat dikembangkan untuk pengobatan DM tipe-2 bagi pasien di Indonesia.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian pendahuluan untuk membuktikan efek antidiabetes dari kombinasi ekstrak etanol daun (EED) alpukat dan rimpang temulawak pada tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin, serta membandingkannya dengan efek antidiabetes masing-masing ekstrak tunggalnya. Hewan uji yang digunakan adalah tikus yang mengalami diabetes setelah diberi perlakuan insulin eksogen 1,8 IU/KgBB/hari selama 14 hari, sehingga diharapkan dapat memberikan informasi yang mendukung secara ilmiah dan dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan DM tipe-2.

Alasan digunakannya tikus DM tipe-2 sebagai hewan uji adalah untuk membuktikan apakah sediaan uji memiliki efek antidiabetes pada tikus yang

sedang mengalami penyakit DM tipe-2. Apabila sediaan uji yang diberikan pada tikus yang sedang mengalami penyakit DM tipe-2 memiliki efek dapat menurunkan kadar GDP, maka sediaan uji tersebut berpotensi dikembangkan dalam penemuan obat DM tipe-2 yang nantinya dapat diaplikasikan pada manusia setelah dilakukannya uji klinis.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan rimpang temulawak memiliki efek antidiabetes pada tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin?
2. Bagaimanakah perbandingan efek antidiabetes kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan rimpang temulawak dengan masing-masing ekstrak tunggalnya pada tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin?

C. Tujuan Penelitian

1. Menentukan adanya efek antidiabetes kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan rimpang temulawak pada tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin.
2. Membandingkan efek antidiabetes kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan rimpang temulawak dengan masing-masing ekstrak tunggalnya pada tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin.

D. Manfaat Penelitian

Data penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai dasar dalam pengembangan produk herbal yang digunakan sebagai antidiabetes untuk pengobatan DM tipe-2. Selain itu, hasil penelitian ini dapat memacu Industri Obat Tradisional dalam menciptakan produk-produk herbal baru yang digunakan untuk pengobatan DM tipe-2.

E. Tinjauan Pustaka

1. Daun Alpukat (*Persea americana*)

Ciri-ciri pohon alpukat adalah memiliki ketinggian 20 m dengan daun sepanjang 12 hingga 25 cm, bunga tersembunyi dengan warna hijau kekuningan, dan bunga memiliki ukuran sebesar 5-10 milimeter (gambar 1). Selain itu, ukuran buah alpukat bervariasi dari 7-20 cm dengan massa 100 hingga 1000 gram dan biji buah berukuran besar dengan berat 5-6,4 cm (Backer dan Brink, 1968 dan Steenis, 1981).



Gambar 1. Daun Alpukat (Dokumen Pribadi)

Secara empiris, khasiat dari daun alpukat antara lain: antidiabetes (Kristinawati, 2010), diuretik (Sumiati dkk., 2016), antelmintik (Pratama, 2010), antiviral (Miranda dkk., 1997), repellent (Mustanir dan Rosnani, 2008), kardioprotektor (Ojewole dkk., 2007), antihiperlipidemia (Brai dkk., 2007), aktivitas hipoglikemia (Antia dkk., 2005), analgesik dan antiinflamasi (Adeyemi dkk., 2002), serta daun alpukat digunakan untuk mengobati kencing batu, darah tinggi, sakit kepala, nyeri syaraf, sakit pinggang, nyeri lambung, saluran nafas membengkak, dan menstruasi tidak teratur (BRC, 2013).

Kandungan senyawa aktif dari daging buah dan daun alpukat adalah saponin, alkaloid, dan flavonoid. Selain itu, daun alpukat juga mengandung polifenol, quersetin dan alkohol persit (Yuniarti, 2008). Pada ekstrak air daun alpukat (*Persea americana*) terdapat senyawa saponin, tanin, phlobatanin, flavonoid, alkaloid, dan polisakarida (Antia dkk., 2005).

2. Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*)

Akar rimpang terbentuk dengan sempurna dan bercabang kuat, berwarna hijau gelap (gambar 2). Khasiat dari rimpang temulawak antara lain: analgetik antiinflamasi (Sidik, 2006), hepatoprotektif (Marinda, 2014), antioksidan (Jayaprakasha dkk., 2006), dan antidiabetes (Cahyani, 2014). Rimpang temulawak mengandung pati, kurkuminoid, serat kasar, abu, protein, mineral, minyak atsiri yang terdiri dari *d-kamfer*, *siklo isoren*, *mirsen*, *tumerol*, *xanthorrhizol*, *zingiberen*, dan *zingiberol* (Wijayakusuma, 2007). Rimpang temulawak dapat digunakan sebagai antioksidan, aktifitas

tersebut disebabkan karena adanya senyawa flavonoid, fenol serta kurkumin (Jayaprakasha dkk., 2006).



Gambar 2. Rimpang Temulawak (Dokumen Pribadi)

3. Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik tingginya kadar gula darah pada pasien (hiperglikemia) yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. DM dibagi menjadi dua, yaitu DM tipe-1 dan DM tipe-2. DM tipe-1 disebut DM tergantung insulin dan biasanya terjadi pada masa anak-anak (*juvenile onset*). DM tipe-2 tidak tergantung insulin dan biasanya terjadi pada orang dewasa (ADA, 2010). DM tipe-2 dapat disebabkan karena kurangnya respon sel-sel sasaran insulin setelah terjadinya ikatan insulin dengan reseptornya sehingga banyak glukosa yang tidak dapat dipindahkan ke dalam sel. Keadaan ini disebut dengan istilah resistensi insulin (DepKes RI, 2005).

Resistensi insulin merupakan suatu kondisi yang berhubungan dengan kegagalan organ target yang secara normal merespon aktivitas hormon insulin. Kondisi ini menyebabkan penggunaan glukosa yang diperantarai insulin di jaringan perifer berkurang. Kekurangan insulin atau resistensi insulin menyebabkan kegagalan fosforilasi kompleks IRS, penurunan

translokasi GLUT-4 (*Glucose Transporter*) dan penurunan oksidasi glukosa, sehingga glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel dan akan terjadi hiperglikemia (Sulistyoningrum, 2010).

Gangguan sekresi insulin dan produksi glukosa hepatic yang berlebihan juga dapat terjadi pada pasien DM tipe-2. Namun demikian, tidak terjadi kerusakan sel-sel β pankreas seperti yang terjadi pada pasien DM tipe-1. Sel-sel β pankreas mensekresikan insulin dalam dua fase. Fase pertama, sekresi insulin terjadi segera setelah rangsangan glukosa yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah, sedangkan sekresi fase kedua terjadi sekitar 20 menit sesudahnya. Pada awal perkembangan DM tipe-2, sel-sel β pankreas menunjukkan gangguan pada sekresi insulin fase pertama, artinya sekresi insulin gagal mengkompensasi keadaan resistensi insulin. Apabila tidak ditangani dengan baik, pada perkembangan penyakit selanjutnya, penderita DM tipe-2 akan mengalami kerusakan sel-sel β pankreas yang terjadi secara progresif (Depkes RI, 2005). Terapi pada Diabetes Mellitus terdiri dari berbagai macam golongan obat antidiabetes antara lain:

a. Sulfonilurea

Antidiabetes oral golongan sulfonilurea bekerja dengan cara merangsang sekresi insulin dari granul-granul sel beta langerhans pankreas. Rangsangannya melalui interaksi dengan *ATP-sensitive K Channel* pada membran sel-sel β yang menimbulkan depolarisasi membran dan keadaan ini akan membuka kanal ion Ca^{2+} . Dengan terbukanya kanal ion Ca^{2+} maka ion Ca^{2+} akan masuk ke sel β , merangsang granula yang berisi

insulin dan akan terjadi sekresi insulin dengan jumlah yang ekuivalen dengan peptide-C. Contoh obat diabetes dari golongan ini adalah glibenklamid, glipizida, glikazida (Sola dkk., 2015).

b. Biguanid

Obat ini bekerja dengan menekan glukoneogenesis/glikolisis, mengurangi absorpsi karbohidrat, meningkatkan oksidasi asam lemak, serta meningkatkan sensitivitas insulin di jaringan perifer. Mekanisme aksi metformin yaitu mengaktifasi enzim *AMP* yang diaktivasi oleh protein kinase (AMPK) yang dapat menurunkan serum lipid dan konsentrasi glukosa darah. Hal tersebut kemudian menekan lipogenesis dan menurunkan lemak seluler sintesis asam di hati dan otot, yang pada gilirannya meningkatkan sensitivitas insulin dan mengurangi kadar glukosa darah. Contoh obat diabetes golongan ini adalah metformin (Suherman, 2009).

c. Meglitinid

Mekanisme kerja dari obat golongan meglitinid sama seperti sulfonilurea, yaitu bekerja dengan cara meningkatkan sekresi insulin di kelenjar pankreas. Akan tetapi struktur kimia dari obat golongan ini berbeda dengan struktur obat golongan sulfonilurea. Mekanisme kerja molekuler obat ini adalah menutup *ATP-sensitive potassium channel* pada sel β pankreas. Sehingga terjadi depolarisasi dan menyebabkan perangsangan pengeluaran insulin dari sel-sel β pankreas. Meglitinid tidak menekan biosintesis proinsulin dan tidak merangsang secara langsung eksositosis

sebagaimana golongan sulfonilurea. Contoh obat diabetes golongan meglitinid adalah repaglinide dan nateglinide (Suherman, 2009).

d. Tiazolidindone

Antidiabetes oral golongan tiazolidindone bekerja dengan cara meningkatkan sensitivitas sel terhadap insulin. Mekanisme obat antidiabetes golongan tiazolidindone adalah dengan cara terikat pada PPAR γ , sehingga meningkatkan perangsangan insulin oleh reseptor Glukosa Transporter-4 (GLUT4) dan sintesis glikogen yang menyebabkan peningkatan sinyal insulin dan sensitivitas insulin. *Peroxisome Proliferator-Activated Reseptors* (PPARs) merupakan salah satu yang berperan dalam pengaturan diferensiasi adiposit, pada lipid dan homeostatis glukosa. PPAR γ berperan dalam proses sensitivasi insulin, dan digunakan sebagai target terapi DM tipe-2. Contoh obat golongan tiazolidindone adalah rosiglitazon dan pioglitazon (Suherman, 2009).

e. α -glucosidase inhibitor

Antidiabetes oral golongan *α -glucosidase inhibitor* bekerja dengan cara menghambat enzim α -glucosidase di saluran cerna, sehingga pemecahan karbohidrat menjadi glukosa atau pencernaan karbohidrat di usus menjadi berkurang. Akibatnya, penyerapan glukosa ke darah menjadi lambat. Contoh obat golongan *α -glucosidase inhibitor* adalah acarbose dan meglitol (Bosenberg dan Zyl, 2008).

f. DPP-IV inhibitor

Antidiabetes oral golongan DPP-IV inhibitor bekerja dengan cara menghambat kerja enzim DPP-IV sehingga GLP-1 tetap dalam konsentrasi tinggi dalam bentuk aktif dan mampu merangsang pelepasan insulin dan menghambat pelepasan glukagon. Contoh obat golongan DPP-IV inhibitor adalah sitagliptin dan linagliptin (Suherman, 2009).

g. GLP-1 (*Glucagon-like peptide-1*)

GLP-1 memegang peranan pada homeostasis glukosa dengan cara mengatur regulasi glukosa hepatic dan peningkatan sintesis glikogen, oksidasi dan utilisasi glukosa. GLP-1 meningkatkan massa sel β pankreas dengan cara menstimulasi proliferasi dan neogenesis sel β pankreas, serta menghambat apoptosis. GLP-1 yang mengatur regulasi glukosa hepatic dan peningkatan glikogen, maka GLP-1 juga dapat menurunkan nafsu makan dan memperlambat pengosongan lambung. Contoh obat golongan GLP-1 adalah exenatide (Suherman, 2009).

4. Metode Pengukuran Kadar Glukosa Menggunakan Alat Glukometer

Secara umum, kadar glukosa darah dapat ditentukan dengan beberapa cara, antara lain yaitu metode kondensasi gugus amin (Dubowsky, 2008), metode enzimatik (Hones dkk., 2008), dan metode reduksi (Widowati dkk., 1997). Sekarang ini, metode kondensasi gugus amin dan metode reduksi sudah jarang dipakai untuk pemeriksaan kadar glukosa darah pada hewan percobaan. Hal ini disebabkan karena dibutuhkan proses yang lama, kurang praktis, dan biaya yang dikeluarkan cukup mahal. Sementara itu, metode

enzimatik lebih populer digunakan untuk pengukuran kadar glukosa darah tikus karena hasil yang didapatkan lebih cepat, sampel yang dibutuhkan sedikit, tidak membutuhkan reagen khusus, praktis, mudah digunakan, murah, dan dapat dilakukan oleh siapa saja tanpa membutuhkan keahlian khusus (Sacher dan Richard, 2004).

Pengukuran kadar glukosa darah dengan metode enzimatik dapat dilakukan dengan menggunakan alat glukometer *Easy Touch*® GCU. Alat ini bekerja dengan menggunakan sedikit sampel darah ($\geq 4 \mu\text{L}$) yang diaplikasikan pada strip untuk pengukuran kadar glukosa darah, dan hasilnya akan ditampilkan pada layar glukometer setelah sampel darah diteteskan pada strip. Prinsip kerja alat ini yaitu, pada strip terdapat enzim yang secara spesifik bereaksi dengan glukosa. Enzim tersebut adalah glukosa oksidase yang merubah glukosa dalam sampel darah menjadi asam glukonat. Asam glukonat bereaksi dengan ferricyanide yang nantinya akan membentuk ferrocyanide. Ferrocyanide akan menghantarkan elektron ke elektroda untuk pengukuran secara elektrokimia, dan ferrocyanide yang akan menentukan seberapa banyak glukosa dalam sampel darah. Angka itu kemudian ditampilkan pada layar alat glukometer (Hones dkk., 2008).

F. Landasan Teori

Banyak penelitian yang dilakukan guna menemukan obat baru yang mempunyai khasiat lebih baik ataupun mempunyai khasiat yang sama dengan obat yang telah ada. Dua tanaman yang memiliki khasiat untuk antidiabetes

misalnya yaitu daun alpukat (Kristinawati, 2010) dan rimpang temulawak (Cahyani, 2014). Kedua tanaman tersebut mempunyai berbagai kandungan senyawa aktif yang telah berhasil diidentifikasi. Beberapa senyawa aktif yang mampu berkhasiat sebagai antidiabetes adalah flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid. Penelitian Antia dkk., (2005) mengatakan bahwa ekstrak daun alpukat terbukti mengandung senyawa aktif flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid. Sementara itu, penelitian Jayaprakasha dkk., (2006) menyebutkan bahwa rimpang temulawak dapat digunakan sebagai antioksidan karena adanya aktivitas senyawa flavonoid, fenol, serta kurkumin.

Penelitian yang telah dilakukan oleh Antia dkk., (2005) menunjukkan bahwa ekstrak air daun alpukat 100-200 mg/KgBB mampu menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan galur Wistar yang diinduksi aloksan monohidrat. Sementara itu, penelitian yang dilakukan oleh Cahyani (2014) menyatakan bahwa ekstrak etanol rimpang temulawak 17,5 mg/KgBB mampu memberikan hasil terbaik dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi aloksan hingga ke rentang normal dan sama efektifnya dengan metformin.

G. Hipotesis

1. Kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan rimpang temulawak memiliki efek antidiabetes pada tikus DM tipe-2 yang mengalami resistensi insulin.
2. Aktivitas antidiabetes kombinasi ekstrak etanol daun alpukat dan rimpang temulawak lebih tinggi dibandingkan dengan masing-masing ekstrak tunggalnya.