

TESIS

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AIR KULIT SEMANGKA (*Citrullus vulgaris* Schard.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DAN TRIGLISERIDA SERUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA



KK
KK. A
TKD. 15
Sug
P

SUGIYANTA
NIM. 090810207

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2010

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK AIR KULIT SEMANGKA
(*Citrullus vulgaris* Schard.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DAN
TRIGLISERIDA SERUM TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
YANG DIINDUKSI STREPTOZOTOSIN**

TESIS

**Untuk Memperoleh Gelar Magister
Dalam Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar
Pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga**

Oleh :

**SUGIYANTA
NIM. 090810207**

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2010**

Lembar Pengesahan

TESIS INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 10 AGUSTUS 2010

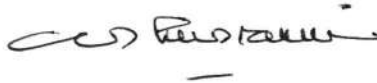
Oleh

Pembimbing Ketua



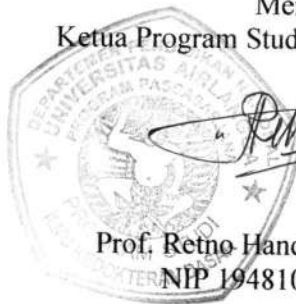
Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS
NIP 194912131976031001


Pembimbing



Sutji Kuswarini, dr., M.Kes.
NIP 131 406 059

Mengetahui
Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar




Prof. Retno Handayani, dr., MS., PhD
NIP 194810121976032001

Tesis ini telah diuji dan dinilai oleh panitia penguji
Pada tanggal 10 Agustus 2010

PANITIA PENGUJI TESIS

- Ketua** : Prof. Dr. Suhartati, dr., MS
- Anggota** : 1. Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS
2. Sutji Kuswarini, dr., M.Kes
3. Tri Martini, dr., SpBK
4. Juniadi Soewoto, dr., SpBK
5. Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur alhamdulillah terpanjat kehadirat Allah SWT yang melimpahkan rahmat dan kemudahan, sehingga penyusunan tesis ini dapat terselesaikan dengan baik. Tesis ini merupakan prasyarat dalam memperoleh gelar Magister Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Terima kasih dan penghargaan disampaikan dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati kepada :

1. Prof. Dr. Harianto Notopuro, dr., MS, sebagai pembimbing ketua yang dengan ikhlas, penuh kesabaran dan perhatian telah memberikan waktu, pengarahan, saran, bimbingan, dan dorongan sejak penyusunan usulan penelitian, pelaksanaan penelitian, dan penyusunan tesis dan sekaligus sebagai ketua minat studi Biokimia Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya
2. Sutji Kuswarini, dr., M.Kes, sebagai pembimbing kedua yang juga dengan ikhlas, penuh kesabaran dan perhatian telah memberikan pengarahan, saran, bimbingan, dan dorongan sejak penyusunan usulan penelitian, pelaksanaan penelitian, dan penyusunan tesis.
3. Prof. Dr. Fasichul Lisan, Apt, sebagai Rektor Universitas Airlangga Surabaya.
4. Prof. Dr. Muhammad Amin, dr, SpP(K), sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.

5. Prof. Dr. Harjanto JM, dr, AIF, sebagai Ketua Tim Koordinasi Program Studi Magister (TKPSM) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
6. Prof. Retno Handajani, dr, MS, PhD, sebagai Ketua Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar (IKD) Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
7. Tim Penguji Tesis yaitu : Prof. Dr. Suhartati, dr., MS; Tri Martini, dr., SpBK; Juniadi Soewoto, dr., SpBK; Dr. Hari Basuki Notobroto, dr., M.Kes. yang telah memberikan koreksi, saran, dan masukan untuk perbaikan tesis ini
8. Teman seangkatan minat studi Biokimia Program Studi Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya yaitu: dr. Ema Qurnianingsih dan Hasyim As'ari SKp Ners, yang telah menjadi sahabat dan saudara selama menempuh pendidikan. Semoga persahabatan kita dapat tetap terjaga.
9. Orang – orang yang berperan dan membantu pelaksanaan penelitian ini yaitu: Bpk Heri di Unit Hewan Coba Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, Mbak Yuni dan Mbak Puji di GRAMIK Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
10. Bapak Yoso Sumarto, Ibu Waliyem, Bpk. HM Soeroso (Alm) dan Ibu Hajah Djuwariyah (Alm) selaku orang tua dan mertua yang menjadi sumber motivasi dan pendoa yang ikhlas. Semoga kesuksesan ini dapat membuat mereka bangga.

11. dr. Retno Handayani, Syahla Aqila Tsabita, Usamah Faiq Tsaqif dan Alma Rizqya Ramadhani, istri dan anak – anakku yang ikut merasakan berkorban dan berjuang menuntut ilmu. Semoga mereka menjadi istri dan anak shalih – shalihah yang selalu dirahmati Allah SWT
12. Para Bapak dan Ibu Guru yang telah mendidik saya sejak di SDN Margorejo 1 Surakarta, SMPN 4 Surakarta, SMAN 3 Surakarta, Fakultas Kedokteran UNS Surakarta, dan Program Pascasarjana Ilmu Kedokteran Dasar Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya, semoga Allah membalas jasa bapak dan ibu guru semua
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu namun tanpa bantuan mereka, penelitian ini tidak dapat berjalan dengan baik.
Permohonan maaf sebesar-besarnya disampaikan kepada semua pihak atas segala sesuatu yang kurang berkenan selama menempuh pendidikan magister ini.
Semoga Allah SWT melimpahkan berkah dan rahmat Nya bagi kita semua.
Amin

Surabaya, September 2010

Penulis

RINGKASAN

Pengaruh Pemberian Ekstrak Air Kulit Semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) Terhadap Kadar Glukosa Dan Trigliserida Serum Tikus Putih (*Rattus Norvegicus*) Yang Diinduksi Streptozotosin

Sugiyanta

Diabetes Melitus merupakan kelainan endokrin yang banyak dijumpai pada manusia. Pada DM tipe 2 terjadi penurunan kemampuan insulin bekerja di jaringan perifer (*insulin resistance*) dan disfungsi sel beta yang mengakibatkan pankreas tidak mampu memproduksi insulin yang cukup untuk mengkompensasi *insulin resistance*. Kedua hal ini menyebabkan terjadinya defisiensi insulin. Gangguan aktifitas insulin ini akan mengganggu berbagai proses metabolisme yang akan menyebabkan terjadinya hiperglikemia yaitu peningkatan kadar glukosa darah.

Pada DM, kadar asam lemak bebas dalam darah meningkat karena pelepasan yang berlebihan dari jaringan adiposa (*lipolisis*) dan penurunan pengambilan oleh otot skeletal. Asam lemak bebas ini akan lebih banyak yang masuk ke hati. Respon hati terhadap peningkatan aliran asam lemak bebas adalah dengan meningkatkan sintesis trigliserida, VLDL dan sistesis kolesterol ester. Selanjutnya VLDL akan disekresikan ke dalam sirkulasi. Peningkatan VLDL dan penurunan aktifitas lipoprotein lipase menyebabkan hipertrigliseridemia.

Pada penelitian ini, pengaruh antidiabetik dan antihipertrigliseridemia dari ekstrak kulit semangka yang diberikan secara oral dikaji pada tikus putih jantan yang dibuat menderita DM dengan memberikan injeksi streptozotosin dosis tunggal 50 mg/kgBB secara intraperitoneal.

Sitruin adalah senyawa kimia yang terdapat dalam kulit semangka. Kemungkinan aktifitas sebagai antidiabetik adalah meningkatkan sekresi insulin dan meningkatkan transpor glukosa melalui pembentukan NO. Penggunaan glukosa yang meningkat oleh jaringan akan mengakibatkan penurunan mobilisasi lemak dari jaringan. Hal ini akan menurunkan kadar asam lemak bebas dalam darah. Asam lemak bebas merupakan bahan bakul sintesis trigliserida di hati.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (*Completely Randomized Design*). Tiga puluh ekor tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain wistar dikelompokkan menjadi 6 kelompok dan tiap kelompok terdiri dari 5 ekor tikus. Kelompok 1 adalah kelompok normal, sedangkan kelompok 2, 3,4,5. dan 6 adalah kelompok yang dibuat DM. Kelompok 2 adalah kelompok kontrol diabetes sebelum perlakuan, kelompok 3 adalah kelompok kontrol diabetes setelah perlakuan diberikan, kelompok 4 adalah kelompok yang diberikan ekstrak air kulit semangka 250 mg/kgbb/hari, kelompok 5 adalah kelompok yang diberikan ekstrak air kulit semangka 500 mg/kgbb/hari dan kelompok 6 adalah kelompok yang diberikan ekstrak air kulit semangka 1000 mg/kgbb/hari. Ekstrak air kulit semangka diberikan melalui sonde selama 8 hari. Penyesuaian dosis dilakukan setiap hari berdasarkan berat badan tikus. Unit analisis adalah darah dari jantung tikus yang diperiksa kadar glukosa dan trigliserida serumnya.

Hasil penelitian menunjukkan nilai rerata kadar glukosa serum dan trigliserida pada kelompok normal adalah 110.80 ± 9.445 mg/dl dan 50.00 ± 25.788 mg/dl; kelompok kontrol diabetes sebelum perlakuan adalah 461.75 ± 45.705 mg/dl dan 643.00 ± 539.568 mg/dl; kelompok kontrol diabetes setelah perlakuan diberikan adalah 548.00 ± 84.425 mg/dl dan 158.80 ± 38.926 mg/dl; kelompok ekstrak air kulit semangka 250 mg/kgbb/hari adalah 246.20 ± 11.189 mg/dl dan 63.80 ± 24.345 mg/dl; kelompok ekstrak air kulit semangka 500 mg/kgbb/hari adalah 144.40 ± 11.194 mg/dl dan 68.60 ± 20.367 mg/dl; dan kelompok ekstrak air kulit semangka 1000 mg/kgbb/hari adalah 149.00 ± 26.60 mg/dl dan 21.366 ± 9.555 mg/dl.

Hasil uji beda dengan menggunakan anova pada variabel dependen pada kelompok kontrol diabetes setelah perlakuan diberikan, kelompok ekstrak air kulit semangka 250 mg/kgbb/hari, kelompok ekstrak air kulit semangka 500 mg/kgbb/hari dan kelompok ekstrak air kulit semangka 1000 mg/kgbb/hari menunjukkan kadar glukosa dengan $p = 0,000$ dan trigliserida dengan $p = 0,000$, sehingga kadar glukosa dan trigliserida berbeda secara bermakna pada kelompok kontrol diabetik, kelompok ekstrak 250 mg/kgbb/hari, kelompok ekstrak 500 mg/kgbb/hari dan kelompok ekstrak 1000 mg/kgbb/hari.

Hasil dari uji beda dengan menggunakan LSD terhadap kadar glukosa, terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) untuk kadar glukosa antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak air kulit semangka dosis 250 mg/kg bb/ hari ($p = 0,000$), 500 mg/kg bb/hari ($p = 0,000$) dan 1000 mg/kg bb ($p = 0,000$). Ada perbedaan yang bermakna antara kelompok ekstrak 250 mg/kg bb dengan kelompok ekstrak 500 mg/kg bb ($p = 0,002$) dan kelompok ekstrak 1000 mg/kg bb ($p = 0,003$). Kelompok ekstrak 500 mg/kg bb tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak 1000 mg/kg bb ($p = 0,872$), dengan dosis optimal pada pemberian ekstrak air kulit semangka dosis 500 mg/kg bb/hari.

Hasil dari uji beda dengan menggunakan LSD terhadap kadar trigliserida, terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) untuk kadar trigliserida antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak air kulit semangka dosis 250 mg/kg bb/ hari ($p = 0,000$), 500 mg/kg bb/hari ($p = 0,000$) dan 1000 mg/kg bb ($p = 0,000$). Dan diperoleh hasil dilihat ada perbedaan yang bermakna antara kelompok ekstrak 250 mg/kg bb dengan kelompok ekstrak 1000 mg/kg bb/hari ($p = 0,035$), tetapi tidak ada perbedaan yang bermakna dengan kelompok ekstrak 500 mg/kgbb/hari ($p = 0,770$). Kelompok ekstrak 500mg/kgbb/hari berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak 1000mg/kgbb/hari ($p = 0.019$), dengan dosis optimal pada pemberian ekstrak air kulit semangka dosis 1000 mg/kg bb/hari.

Dengan demikian ekstrak air kulit semangka dosis 250 mg/kg bb/hari, 500 mg/kg bb/hari, dan 1000 mg/kg bb/hari dapat menurunkan kadar glukosa serum pada tikus putih jantan yang diinjeksi streptozotisin dengan dosis optimal pada pemberian ekstrak air kulit semangka dosis 500 mg/kg bb/hari, sedangkan pemberian ekstrak air kulit semangka dosis 250 mg/kg bb/hari, 500 mg/kg bb/hari, dan 1000 mg/kg bb/hari juga dapat menurunkan kadar trigliserida dengan dosis optimal pada pemberian ekstrak air kulit semangka dosis 1000 mg/kg bb/hari.

SUMMARY

**EFFECT OF WATERMELON RIND WATER EXTRACTS
ADMINISTRATION ON SERUM GLUCOSE AND TRIGLYSERIDE
LEVELS IN STREPTOZOTOSIN INDUCED DIABETIC RATS**

Sugiyanta

Diabetes Mellitus is a common human endocrine disorder. It is characterized by insulin disability in the peripheral tissue (insulin-resistance) and beta cell dysfunction, both cause hyperglycemia. In diabetic disorder, the blood free fatty acid level increase due to the excessive release from adipose tissue (increase lipolysis) and decreased uptake by the skeletal muscle. As more free fatty acids will enter the liver. The synthesis of triglycerides, VLDL and cholesterol esters in liver will be increased. Increased secretion of VLDL and decreased activity of lipoprotein lipase could lead to hypertriglyceridemia.

In this study the antidiabetic and antihypertriglyceridemia effects of oral watermelon rind extracts were studied in streptozotosin induced diabetic rats. Diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotosin (50 mg/kgbw rats).

Citrulline is a chemical compound detected in the rind of the watermelon. It is a precursor of generating Nitric Oxide (NO). NO possibly acts as an antidiabetic substance by increasing insulin secretion and increasing glucose transport and as antihypertriglyceridemia substance by decreasing lipolysis.

This was a laboratory experimental study using completely randomized design. A number of 30 male Wistar stain white rats were divided into six groups, each comprising five rats. Group one served as pretest normal control. Group two, three, four, five and six was streptozotosin induced diabetic rats. Group two served as pretest diabetic control group. Group three was post test diabetic control receiving CMC 0,5% 2ml/200 g bw rats/day as placebo. Group four was given the watermelon rind extract with dose 250 mg/kg bw rats/ day in CMC 0,5% 2ml/200 g bw rats/day. Group five was given the watermelon rind extract with dose 500 mg/kg bw rats/day in CMC 0,5% 2ml/200 g bw rats/day. Group six was given the watermelon rind extract with dose 1000 mg/kg bw rats/day in CMC 0,5% 2ml/200 g bw rats/day. The treatment was given for 8 day and the dose adjustment were done every day based on rat body weights. The analysis unit was blood from rats heart examined for serum glucose and triglyceride level.

The results showed that mean value of the variables of serum glucose and triglyceride level at pretest control group was respectively $111,00 \pm 10,893$ mg/dl and $53,25 \pm 28,570$ mg/dl respectively; in the pretest diabetic control group was $461,75 \pm 45,705$ mg/dl and $643,00 \pm 539,568$ mg/dl; in the posttest diabetic control group was $550,00 \pm 97,348$ mg/dl and $164,50 \pm 42,470$ mg/dl; in the group of watermelon rind extract 250 mg / kg bw / day was $218,75 \pm 49,230$ mg/dl and $27,767 \pm 65,50$ mg/ dl; in the group of watermelon rind extract 500 mg /kg bw/day was $74,16 \pm 148,50$ mg/dl and $71,75 \pm 22,066$ mg/dl, and in the group of

watermelon rind extract 1000 mg/ kg bw/day was $156,25 \pm 16,070$ mg/dl and $24,75 \pm 9,946$ mg/dl, respectively

Results of discriminant test using ANOVA on the dependent variable in posttest diabetic control group, group of the watermelon rind extract 250 mg/kg bw/day, groups of watermelon rind extract 500 mg/kgbw/day and group of watermelon rind extract 1000 mg/kgbw/day for serum glucose levels were $p = 0,000$ and triglycerides levels were $p = 0,000$, so that serum glucose level and triglyceride level was significantly different on variable dependent in posttest diabetic control group, group of the watermelon rind extract 250 mg/kg bw/day, groups of watermelon rind extract 500 mg/kgbw/day and groups of watermelon rind extract 1000 mg/kgbw/day. Results of discriminant test using LSD on dependent variable for serum glucose in posttest diabetic control group were significantly different ($p < 0,05$) from that watermelon rind extract groups dose of 250 mg/kg bw/day ($p = 0,000$), 500 mg/kg bw/day ($p = 0,000$) and 1000 mg/kg bw/day ($p = 0,000$), but no significant difference between the group of 500 mg/kg bw with group of 1,000 mg/kg bw ($p = 0,872$), with the optimal doses was 500 mg kg bw/day.

Results of discriminant test using LSD on dependent variable for serum triglycerides in posttest diabetic control group were significantly different ($p < 0,05$) from that watermelon rind extract dose of 250 mg/kg bw/day ($p = 0,000$), 500 mg/kg bw/day ($p = 0,001$) and 1000 mg/kg bw/day ($p = 0,000$), but there was no significantly different between the groups extract 250 mg / kg bw with a group of 500 mg/ kg bw ($p = 0,770$), but there was significant difference with the group of 1000 mg/kgbw/day ($p=0,035$). Result of the group of 500 mg/kgbw/day was significantly different with the group of 1000 mg/kgbw/day ($p=0,019$), with the optimal dose of 1000 mg/kg bw/day

In conclusion, extracts of watermelon rind dose of 250 mg/kg bw/day, 500 mg/kg bw/day and 1000 mg/kg bw/day can be used reduced serum glucose level and triglyceride level, with the optimal dose was 500 mg/kg bw/day for reduced serum glucose level and dose was 1000 mg/kg bw/day for reduced serum triglycerides level.

ABSTRACT**EFFECT OF WATERMELON RIND WATER EXTRACTS
ADMINISTRATION ON SERUM GLUCOSE AND TRIGLYSERIDE
LEVELS IN STREPTOZOTOSIN INDUCED DIABETIC RATS****Sugiyanta**

Watermelon rind water extract contain of citrulline. Citrulline is a precursor of generating Nitric Oxide (NO). NO possibly reduced the level of blood glucose and triglyseride in streptozotosin-induced diabetic rats.

This study was a laboratory experimental study completely randomized design. A number of 30 male albino Wistar rats weighting 100 – 200 gr were divided into six groups (N=5), with group 1 served as normal control group. The other groups were given streptozotosin to induced diabetes mellitus. The rats in control diabetic group were given CMC 0,5%, the others were given watermelon rind extracts for 8 days with different doses for each group.

The results showed that serum glucose levels in posttest control group was significantly different, from that group of the watermelon rind extract 250 mg/kg bw/day ($p = 0,000$), groups of watermelon rind extract 500 mg/kgbw/day ($p = 0,000$) and groups of watermelon rind extract 1000 mg/kgbw/day ($p = 0,000$). The level of triglyceride in posttest control was significantly different from that group of the watermelon rind extract 250 mg/kg bw/day ($p = 0,000$), groups of watermelon rind extract 500 mg/kgbw/day ($p = 0,000$) and groups of watermelon rind extract 1000 mg/kgbw/day ($p = 0,000$).

The conclusion, the watermelon rind water extrac can be used to reduced glucose serum level (250, 500, 1000mg/kg bw) with the optimal dose was 500 mg /kgbw/day and can be used to reduced triglyseride level (250, 500, 1000mg/kg bw) with the optimal dose was 1000 mg /kgbw/day.

Keywords: watermelon rind, streptozotosin, diabetes mellitus, glucose, triglyceride



DAFTAR ISI

Sampul Depan	i
Sampul Dalam	ii
Persyaratan Gelar	iii
Persetujuan	iv
Penetapan Panitia	v
Ucapan terima kasih	vi
Ringkasan	ix
Summary	xi
Abstract	xiii
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian	6
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Semangka	7
2.2 Klasifikasi Semangka	8
2.3 Kandungan Semangka	9
2.4 Reseptor Hormon Insulin	16
2.5 Streptozotosin	22
2.6 Diabetes Melitus	25
2.7 Sintesis Triasilgliserol	28
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Dasar Teori	30
3.2 Kerangka Konseptual	32
3.3 Hipotesis	32
BAB 4 MATERI DAN METODE PENELITIAN	
4.1 Jenis Penelitian	33
4.2 Rancangan Penelitian	33
4.3 Unit Eksperimen dan Replikasi	34
4.4 Variabel penelitian	35
4.5 Bahan Penelitian	36
4.6 Instrumen Penelitian	37
4.7 Lokasi dan Waktu Penelitian	38
4.8 Prosedur Penelitian	38
4.9 Pengambilan Data	40
4.10 Teknik Analisis Data	41

4.11 Operasional Penelitian	42
BAB 5 HASIL PENELITIAN	
5.1 Data Hasil Penelitian kelompok normal dan kelompok DM	43
5.2 Data Hasil Penelitian Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan	45
BAB 6 PEMBAHASAN	
6.1 Hasil Penelitian Setelah Diinjeksi Streptozotosin	51
6.2 Hasil Penelitian Setelah Pemberian Ekstrak Kulit Semangka	53
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan	57
7.2 Saran	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN	62

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Nilai rerata dan simpang baku berat badan awal, berat badan akhir dan variabel tergantung pada dua kelompok	43
Tabel 5.2.	Hasil uji normalitas data.....	44
Tabel. 5.3.	Hasil uji homogenitas kelompok normal dan kelompok DM	44
Tabel 5.4.	Hasil uji beda variabel tergantung pada kelompok normal dan kelompok diabetes mellitus	45
Tabel 5.5	Nilai rerata dan simpang baku variabel tergantung pada dua kelompok	46
Tabel 5.6	Hasil uji normalitas data.....	46
Tabel 5.7.	Hasil uji homogenitas	47
Tabel 5.8.	Hasil uji beda dengan anova variabel tergantung pada kelompok kontrol positif dan ekstrak kulit semangka....	47
Tabel 5.9.	Hasil uji beda dengan LSD pada variabel kadar glukosa.	48
Tabel 5.10.	Hasil uji beda dengan LSD pada variabel kadar trigliserida	49

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Buah Semangka.....	8
Gambar 2.2. Rumus Kimia Sitrulin.....	10
Gambar 2.3. Sintesis sitrulin dan arginin dari glutamin	12
Gambar 2.4. Sintesis <i>carbamoyl-PO4</i>	12
Gambar 2.5. Struktur NO	13
Gambar 2.6 Sintesis NO	13
Gambar 2.7. Model Interaksi antara NO dan AMPK pada otot skelet...	14
Gambar 2.8. Famili Reseptor Tirosin Kinase	17
Gambar 2.9. Aktivasi Tirosin kinase oleh ligan	18
Gambar 2.10. Pengantaran sinyal lewat aktivasi reseptor insulin.....	20
Gambar 3.1. Kerangka Konseptual	31
Gambar 4.1. Bagan rancangan penelitian	33
Gambar 4.2. Prosedur kerja penelitian	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Ijin Kelaikan Etik	63
Lampiran 2. Data Hasil Penelitian	64
Lampiran 3. Hasil analisis kelompok normal dan DM	65
Lampiran 4. Hasil analisis kelompok kontrol dan perlakuan.....	69
Lampiran 5. Konversi dosis ekstrak kulit semangka	75
Lampiran 6. Skema kerja ekstrak kulit semangka	76

DAFTAR SINGKATAN

ABC-1	= ATP-binding cassette transporter-1
ACAT	= Asil-KoA kolesterol asil tranferase
AMPK	= 5'-AMP- activated protein kinase
ATP	= Adenosin Tri Phosphat
CETP	= Cholesteryl ester transfer protein
CP	= Carbamoylphosphate
CPS-I	= Carbamoyl-phosphate synthase I
DM	= Diabetes Melitus
eNOS	= Endothelial NOS
GC – MS	= Gas Chromatography – Mass Spectrometry
GLUT	= Glucose transporter isoform
HFD	= High fat / fructose diet
HMG-KoA	= Hidroksi metil glutaril – KoA
IDL	= Intermediate Density Lipoprotein
NIDDM	= Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus.
IDDM	= Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus.
INF	= Interferon
iNOS	= Inducible NOS
i.p	= Intraperitoneal
IP3	= Inositol trifosfat
i.v.	= Intravena
LCAT	= Lecithin kolesterol acyltransferase
LDL	= Low Density Lipoprotein
LRP	= LDL receptor-related protein
LSD	= Least Significant Difference
NO	= Nitric Oxide
NOS	= Nitric oxide syntase
nNOS	= Neural NOS
OAT	= Ornithine aminotransferase
OCT	= Ornithine carbamoyltransferase
P-5-C-S	= Pvroline-5-carboxylate synthase
ROS	= Reactive Oxygen Species
SR-B1	= Scavenger receptor B1
STZ	= Streptozotocin
TNF	= Tumor necrosis factor
VLDL	= Very Low Density Lipoprotein
VSMC	= Vascular Smooth Muscle Cell



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada tahun 2004, di dunia terdapat 170 juta penderita Diabetes Melitus (DM), dan angka ini diprediksi akan meningkat menjadi lebih dari 350 juta penderita pada 25 tahun mendatang (Wild *et al.*, 2004).

Di Indonesia, angka kejadian DM menduduki peringkat 4 di dunia setelah India, Cina, dan Amerika Serikat. Suatu survei yang diadakan Depkes bekerjasama dengan PERKENI dalam pemeriksaan glukosa darah acak di masyarakat umum, di dapatkan sebanyak 8,29% memiliki kadar gula darah sewaktu melebihi 200mg/dL, dan 15,63% dengan kadar gula darah 140 – 199 mg/dL. Dengan asumsi prevalensi DM sebesar 4%, berdasarkan pola pertumbuhan penduduk seperti saat ini, diperkirakan pada tahun 2025 nanti akan ada 178 juta penduduk Indonesia berusia diatas 20 tahun, sehingga diperkirakan akan didapatkan 7 juta dengan DM (PERKENI, 2006). WHO pada tahun 1998, memperkirakan jumlah orang dengan DM di Indonesia akan meningkat hampir 250%, dari 5 juta orang di tahun 1995 menjadi 12 juta di tahun 2025. Dari beberapa penelitian didapatkan 95% - 98% penderita DM merupakan DM tipe 2 (Alberti and Zimmet, 1998).

DM adalah kelainan metabolisme karbohidrat, di mana glukosa darah tidak dapat digunakan dengan baik, sehingga menyebabkan keadaan hiperglikemia (Dods, 1996 dan Sacks, 2001). DM merupakan kelainan endokrin yang terbanyak dijumpai pada manusia (Foster, 1998).

DM tipe 2 merupakan 90% dari kasus DM yang dulu dikenal sebagai *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM)*. Pada diabetes ini terjadi

penurunan kemampuan insulin bekerja di jaringan perifer (*insulin resistance*) dan disfungsi sel beta. Akibatnya, pankreas tidak mampu memproduksi insulin yang cukup untuk mengkompensasi *insulin resistance*. Kedua hal ini menyebabkan terjadinya defisiensi insulin (Sacks, 2001). Insulin menurunkan kadar glukosa darah dengan meningkatkan pengambilan glukosa oleh otot dan jaringan adiposa, meningkatkan oksidasi glukosa dan sintesis glikogen. Insulin juga menghambat lipolisis jaringan adiposa, glikogenolisis dan glukoneogenesis di hati, dan meningkatkan lipogenesis (Jakus, 2000).

Gangguan aktifitas insulin akan mengganggu berbagai proses metabolisme yang akan menyebabkan terjadinya hiperglikemia yaitu peningkatan kadar glukosa darah. Hiperglikemia kronis pada penderita DM, dapat menyebabkan timbulnya komplikasi, 19% mikrovaskuler (retinopati, nefropati, neuropati), 10% makrovaskuler (iskemia jantung, stroke, aterosklerosis), dan 24% mengalami komplikasi keduanya (Payne, 2002).

Pada DM, kadar asam lemak bebas dalam darah meningkat karena pelepasan yang berlebihan dari jaringan adiposa (lipolisis) dan penurunan pengambilan oleh otot skeletal. Asam lemak bebas ini akan lebih banyak yang masuk ke hati. Respon hati terhadap peningkatan aliran asam lemak bebas adalah dengan meningkatkan sintesis trigliserida, VLDL dan sistesis kolesterol ester (Murray *et al.*, 2003). Selanjutnya VLDL akan disekresikan ke dalam sirkulasi. Peningkatan VLDL dan penurunan aktifitas lipoprotein lipase menyebabkan hipertrigliseridemia (Creager *et al.*, 2003).

Pengelolaan DM meliputi : pengaturan pola makan, olahraga teratur dan penggunaan terapi farmakologi. Perkembangan terapi farmakologi pada penderita DM sangat pesat, baik obat – obatan maupun suplemen nutrisi pendukung terapi. Salah satu penggunaan suplemen nutrisi yaitu dengan mengoptimalkan penggunaan bahan herbal (Subroto, 2006).

Indonesia merupakan negara yang sangat kaya akan sumber alam hayati karena topografi Indonesia dengan iklim tropisnya menunjang tumbuhnya beraneka ragam tumbuhan. Hal ini merupakan potensi yang harus dimanfaatkan dan dilestarikan keberadaannya dengan tujuan untuk kesejahteraan manusia (Subroto, 2006).

Salah satu produk tumbuhan yang diduga mengandung zat aktif yang berkhasiat sebagai antidiabetik dan antihipertriglisideremia adalah buah semangka (*Citrullus vulgaris* Schard). Bagian yang dapat dimanfaatkan sebagai antidiabetik dan antihipertriglisideremia adalah bagian kulitnya. Senyawa aktif pada kulit semangka yang berperan adalah sitrulin. Sitrulin sekitar 60% didapatkan di kulit semangka dibandingkan di dagingnya. Dengan menggunakan metode *Gas Chromatography – Mass Spectrometry* (GC – MS), didapatkan kadar sitrulin dalam buah semangka sebanyak : 3,9 – 28,5 mg/g berat kering, sedangkan kadar sitrulin dalam kulit semangka mencapai 24,4 mg/g berat kering (Rimando, 2005).

Sitrulin berfungsi sebagai prekursor pembentukan NO, dimana NO terlibat langsung dalam regulasi sekresi insulin dengan menyebabkan depolarisasi membran serta peningkatan konsentrasi Ca^{2+} intraselular. NO yang berada di dalam sel, akan menyebabkan timbulnya retensi K^+ intraseluler yang menimbulkan depolarisasi membran, kemudian membuka Ca^{2+} channel sehingga

Ca^{2+} influx meningkat, maka terjadilah sekresi insulin, selanjutnya merangsang glikogenesis di hepar sehingga menurunkan kadar glukosa darah. (Laffranchi, 2002).

Lee *et al* (2009) menyatakan bahwa pemberian NO eksogen dapat meningkatkan sensitifitas insulin dan jalur *signaling* insulin pada otot skelet. Dalam keadaan fisiologis, eNOS diekspresikan di otot skelet dan secara lokal mampu memproduksi NO dalam jumlah kecil. Jumlah NO yang dihasilkan oleh eNOS memegang peranan penting dalam homeostasis glukosa dan produksi energi (Kobzik, 1995). Pada tikus dengan fungsi eNOS yang dihilangkan, terjadi resistensi insulin dan pemberian donor NO merangsang transpor glukosa secara *invitro* (Morino, 2006).

Aktifitas insulin yang meningkat akibat pemberian sitrulin menyebabkan peningkatan pengikatan antara insulin dengan reseptor insulin yang selanjutnya menyebabkan translokasi GLUT 4 pada permukaan membran sel yang mengakibatkan pengangkutan glukosa menjadi lebih optimal, sehingga terjadi penurunan kadar glukosa dalam darah. Penggunaan glukosa yang meningkat oleh jaringan akan mengakibatkan penurunan mobilisasi lemak dari jaringan. Hal ini akan menurunkan kadar asam lemak bebas dalam darah. Asam lemak bebas merupakan bahan bakal sintesis trigliserida di hati (Murray *et al.*, 2003).

Untuk membuktikan pengaruh antidiabetik dan antihipertrigliseridemia kulit semangka, akan dilakukan penelitian eksperimental dengan menggunakan tikus putih jantan yang dibuat menderita DM dengan memberikan injeksi streptozotosin dosis tunggal 50 mg/kgBB. Dengan dosis ini, akan menunjukkan hasil hiperglikemia pada hari ke tiga dan terjadi peningkatan profil lemak serum

pada tikus putih jantan pada hari ketujuh (Cattopadhyay *et al.*, 2005 dalam Joeliantina, 2008). Penelitian ini menggunakan tikus putih karena mudah dikendalikan, dan dapat diambil darahnya dalam jumlah yang relatif banyak. Selain itu, organ tubuh tikus mempunyai fisiologi yang diperkirakan sesuai atau mirip dengan manusia. Penelitian ini menggunakan tikus jantan sebagai hewan coba karena : tidak dipengaruhi oleh siklus estrus, lebih mudah melakukan kontrol terhadap makanan, aktifitas, dan lingkungan (Kusumawati, 2004).

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah ekstrak air kulit semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) dapat menurunkan kadar glukosa serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotosin?
- 1.2.2 Apakah ekstrak air kulit semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) dapat menurunkan kadar trigliserida serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotosin?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan bahwa ekstrak air kulit semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) berpengaruh terhadap kadar glukosa dan trigliserida serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotosin.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mempelajari bahwa pemberian ekstrak air kulit semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) dapat menurunkan kadar glukosa serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotosin.

- b. Mempelajari bahwa pemberian ekstrak air kulit semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) dapat menurunkan kadar trigliserida serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotosin.

1.4 Manfaat Penelitian

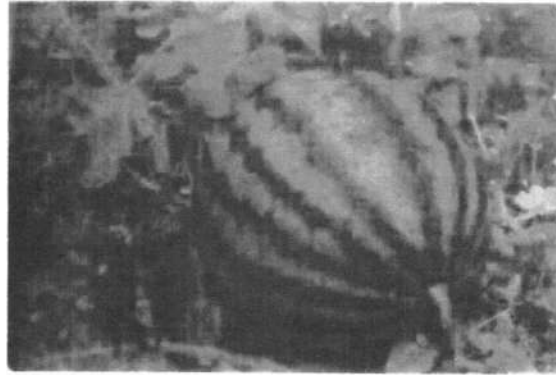
- a. Memberikan informasi tentang potensi ekstrak air kulit semangka sebagai antidiabetik dan antihipertrigliseridemia.
- b. Pertimbangan dalam terapi DM dan hipertrigliseridemia di masa mendatang.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.)

Semangka berasal dari daerah tropik dan subtropik Afrika. Tumbuh liar di tepi jalan, padang belukar, pantai laut, atau ditanam di kebun dan pekarangan sebagai tanaman buah. Semangka dapat ditemukan dari dataran rendah sampai ketinggian 1.000 meter dari permukaan laut. Tanaman ini tumbuh menjalar di atas tanah atau memanjat dengan sulur – sulur atau alat pembelit. Batangnya lunak, bersegi dan berambut, panjangnya 1,5 – 5 m. Sulur tumbuh dari ketiak daun, bercabang 2 – 3 . Daun berseling, bertangkai, helaian daun lebar dan berbulu, berbagi menjari, dengan ujung runcing, panjang 3 – 25 cm, lebar 1,5 – 15 cm, tepi bergelombang, kadang bergigi tidak teratur, permukaan bawah berambut rapat pada tulangnya. Bunga uniseksual, keluar dari ketiak daun, tunggal, biasanya bunga jantan lebih banyak, berbentuk lonceng lebar, warnanya kuning, mekar pada pagi hari (Dalimartha, 2003).

Buah berbentuk bola sampai bulat memanjang, besar bervariasi dengan panjang 20 – 30 cm, diameter 15 – 20 cm, dengan berat mulai dari 4 kg sampai 20 kg. Kulit buahnya tebal dan berdaging, licin, warnanya bermacam-macam seperti hijau tua, kuning agak putih, atau hijau muda bergaris-garis putih. Daging buah warnanya merah, merah muda (pink), jingga (oranye), kuning, bahkan ada yang putih. Biji bentuk memanjang, pipih, warnanya hitam, putih, kuning, atau cokelat kemerahan. Ada juga yang tanpa biji (*seedless*). Buah semangka memiliki kulit luar yang keras, berwarna hijau pekat atau hijau muda dengan larik-larik hijau tua (Dalimartha, 2003).



Gambar 2.1. Buah Semangka

2.2 Klasifikasi Semangka

Semangka termasuk dalam familia Cucurbitaceae . Berikut klasifikasi dari semangka :

Regnum: Plantae

Divisio: Magnoliophyta

Kelas: Magnoliopsida

Ordo: Violales

Familia: Cucurbitaceae

Genus: Citrullus

Spesies: ***C. vulgaris* Schard.**

Sinonim dari *Citrullus vulgaris* Schard adalah : *C. lanatus* (Thunb.) *Matsumara & Nakai*, *C. lanata* (Thunb.) *Mansf.*, *C. edulis* Spach., *Colocynthis citrullus* (L.) *O. Ktze.*, *Cucurmis citrullus* (L.) *ser.*, *Cucurbita citrullus* L., *C. anguria* Duch., *Momordica lanata* Thunb(IPTEKnet, 2005).

2.3 Kandungan Semangka

Daging buah semangka rendah kalori dan mengandung air sebanyak 93,4%, protein 0,5%, karbohidrat 5,3%, lemak 0,1%, serat 0,2%, abu 0,5%, dan vitamin (A, B dan C). Selain itu, juga mengandung molekul – molekul antioksidan seperti : *carotenoids* (*lycopene* dan β *caroten*), asam amino sitrulin ($C_6H_{13}N_3O_3$), dan mineral – mineral seperti kalium (Micol *et al.*, 2007).

Pada 280 g semangka terdiri dari 80 kalori, 0 g lemak, 27 g karbohidrat, 10 mg Natrium, 80 mcg Vitamin A, sedikit Vitamin B, 80 mg Vitamin C, 18 mg likopen, sedikit kalium, besi dan kalsium (Ong , 2009)

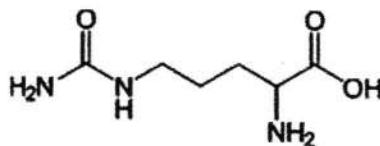
Penelitian yang dilakukan Tedesco *et al.* (1984) mengenai kandungan asam amino dalam 1 gram berat basah ekstrak buah semangka, didapatkan hasil (dalam satuan mmol/gram berat basah) sebagai berikut : fenilalanin, 1.25; histidin, 0.24; triptofan, 0.35; lisin, 0.82; ornitin, 0.32; arginin, 11.36; asam aspartat, 0.97; treonin, 0.74; serin, 1.05; glutamin, 3.86; asam glutamat, 1.38; sitrulin, 23.68; alanin, 1.15; valin, 0.17; isoleusin, 1.24; leusin, 0.24.

Kulit semangka banyak mengandung sitrulin, dimana kandungan sitrulin semangka, 60% terdapat pada kulitnya. Dengan menggunakan metode *Gas Chromatography – Mass Spectometry* (GC – MS), didapatkan kadar sitrulin dalam buah semangka sebanyak : 3,9 – 28,5 mg/g berat kering, sedangkan kadar sitrulin dalam kulit semangka mencapai 24,4 mg/g berat kering (Rimando, 2005). Sitrulin ini diduga mempunyai pengaruh terhadap penurunan kadar glukosa serum dan penurunan kadar trigliserida serum. Kulit semangka juga kaya akan vitamin C, beta karoten, and likopen. Di samping itu, kulit semangka juga mengandung

sedikit vitamin A, Tiamin, Riboflavin, Niasin, Vitamin B6, Kalsium, Besi, Magnesium, Fosfor, kalium dan Zn.

2.3.1 Sitrulin

Sitrulin adalah asam amino non- esensial yang tidak berwarna dengan ikatan karbon asimetris. Sitrulin merupakan metabolik intermediet dari siklus urea. Tetapi pada penelitian – penelitian terakhir menunjukkan bahwa sitrulin juga berperan penting dalam metabolisme dan regulasi NO (Romero, *et al.*,2006).



Gambar 2.2. Rumus kimia sitrulin

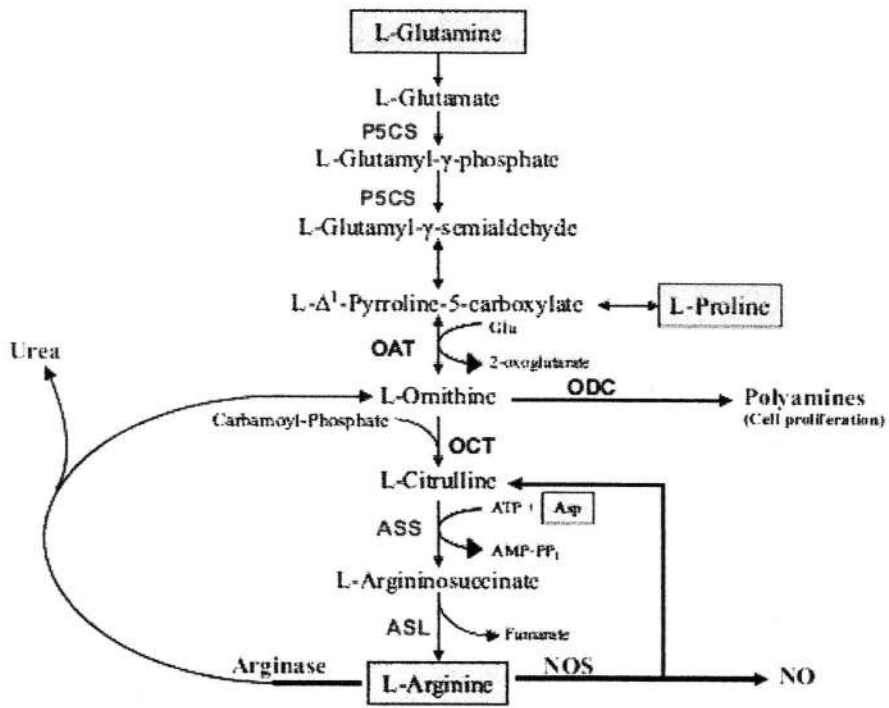
Sitrulin adalah prekursor alami dari arginin, yaitu substrat bagi *nitric oxide syntase* (NOS) dalam memproduksi NO. Pemberian suplemen arginin sangat efektif untuk meningkatkan produksi NO dan fungsi kardiovaskuler pada penyakit kardiovaskuler yang berhubungan dengan disfungsi endotel, seperti gagal jantung, hipertensi, aterosklerosis (Romero, *et al.*, 2006). Tetapi oleh karena bahan – bahan di usus dan adanya metabolisme hepatic, arginin cepat diubah menjadi ornitin dan urea oleh arginase, sehingga pemberian arginin oral sangat tidak efektif. Sebaliknya sitrulin tidak dimetabolisme di usus atau hepar dan tidak dipengaruhi oleh arginase. Sitrulin masuk ke ginjal, endotel vaskuler, dan jaringan

yang lain dan siap diubah menjadi arginin, yang akan meningkatkan kadar arginin plasma dan jaringan sehingga akan meningkatkan produksi NO (Shearer, 1997).

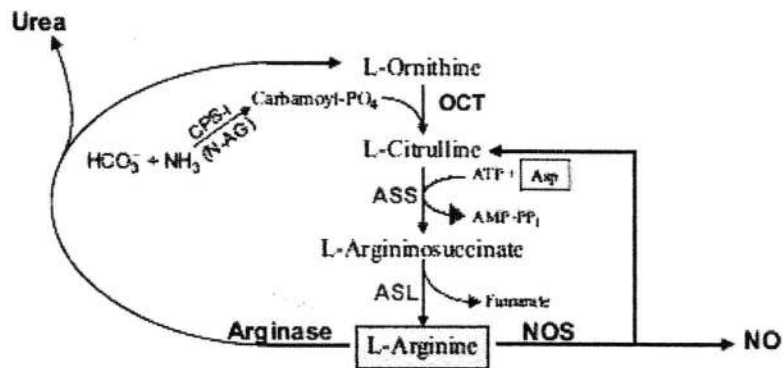
2.3.1.1. Sintesis Sitrulin

Sitrulin adalah asam amino hasil dari metabolisme glutamin dimana sitrulin berperan dalam sintesis *de novo* arginin pada mamalia. Meskipun sitrulin diproduksi oleh sel enterosit dan hepatosit, hanya usus halus yang memberikan kontribusi signifikan pada kadar sitrulin pada sirkulasi. Sebaliknya sitrulin yang diproduksi di hepar merupakan senyawa intermediet dalam siklus urea. Sitrulin hanya larut dalam pelarut air. (Curis, 2005).

Sintesis sitrulin dalam intestinal dimulai dengan perubahan glutamin menjadi glutamat, selanjutnya menjadi ornitin yang dikatalis oleh *pyroline-5-carboxylate synthase* (P-5-C-S), dan *ornithine aminotransferase* (OAT). Ornitin diubah menjadi sitrulin oleh *ornithine carbamoyltransferase* (OCT) (Gambar 2.3). Prekursor yang lain, *carbamoylphosphate* (CP), juga terlibat dalam proses ini. Jalur ini melibatkan dua enzim : *N – acetylglutamate synthase* untuk memproduksi *N – acetylglutamate*, dimana enzim regulator sintesis CP adalah *carbamoyl-phosphate synthase I* (CPS-I) (Gambar 2.4). Ornitin juga bisa dihasilkan dari prolin makanan oleh enzim *prolin oxidase* (Dillon, 1999).



Gambar 2.3. Sintesis sitrulin dan arginin dari glutamin (Dillon, 1999).



Gambar 2.4. Sintesis *carbamoyl-PO4* dan ikatan dengan NH_3 masuk siklus urea (Dillon, 1999)..

2.3.2 Nitric Oxide (NO)

Nitric oxide (NO) adalah molekul bioaktif yang penting dalam berbagai kondisi baik fisiologis maupun patologis (Lane and Gross, 1999).

2.3.2.1. Stuktur NO

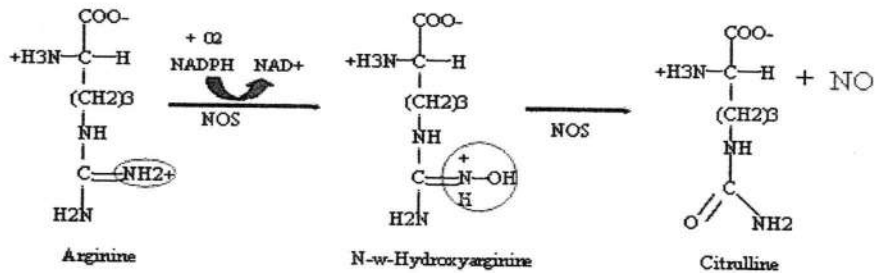


Gambar 2.5. Stuktur NO

NO merupakan *diatomic free radical* yaitu satu atom nitrogen dan satu atom oksigen. NO larut dalam lemak dan sangat mudah melewati membran sel, mudah didegradasi dan dialam dalam bentuk gas (Keefer, 1998)

2.3.2.2. Sintesis NO

NO disintesis di dalam sel dari arginin oleh enzim *nitric oxide synthase* (NOS).



Gambar 2.6. Sintesis NO

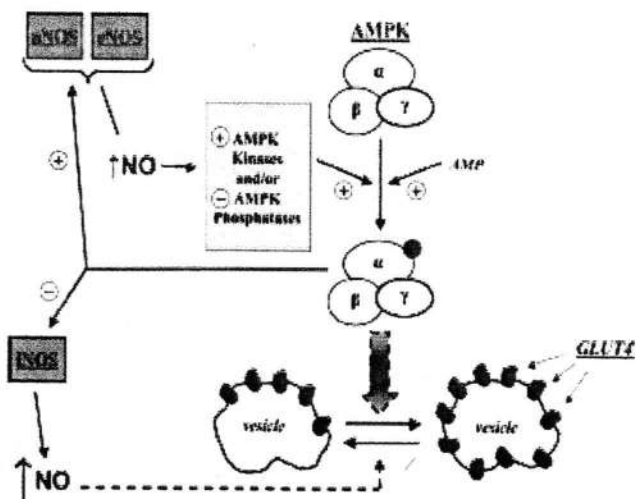
2.3.3 Hubungan ekstrak kulit semangka dengan DM dan Hipertrigliseridemia

Ekstrak kulit semangka diduga dapat menurunkan kadar glukosa darah dan trigliserida pada penderita DM. Senyawa aktif dalam kulit semangka yang diduga berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah dan trigliserida adalah sitrulin. Sitrulin berfungsi sebagai prekursor pembentukan NO, dimana NO terlibat langsung dalam regulasi sekresi insulin dengan menyebabkan depolarisasi



membran serta peningkatan konsentrasi Ca^{2+} intraselular. NO yang berada di dalam sel, akan menyebabkan timbulnya retensi K^+ intraseluler yang menimbulkan depolarisasi membran, kemudian membuka Ca^{2+} channel sehingga Ca^{2+} influx meningkat, maka terjadilah sekresi insulin, selanjutnya merangsang glikogenesis di hepar sehingga menurunkan kadar glukosa darah (Laffranchi, 2002). Banyak fakta mengatakan bahwa NO eksogen merangsang transpor glukosa dan meningkatkan ekspresi *glucose transporter isoform 4* (GLUT 4) pada otot skelet .

Menurut Lira *et al.*,(2007) aktifitas NOS dipengaruhi AMPK (5'-AMP-activated protein kinase) dalam meningkatkan ekspresi GLUT4 dan NO yang sedikit akan merangsang ekspresi GLUT4 dan aktivasi AMPK serta adanya interaksi umpan balik positif antara AMPK dan enzim – enzim NOS [(n) NOS and endothelial (e) NOS] dalam mengontrol ekspresi GLUT4 pada otot. Meskipun mekanisme interaksi ini belum jelas, NO mungkin memfasilitasi aksi AMPK dengan meningkatkan aktifitas AMPK kinase dan/atau menurunkan aktifitas AMPK phosphatases. AMPK juga menghambat ekspresi (i) NOS pada otot. Dengan demikian terjadi pencegahan adanya efek negatif dari produksi NO yang sangat tinggi pada ekspresi GLUT4.



Gambar 2.5. Model Interaksi antara NO dan AMPK pada otot skelet (Lira *et al.*, 2007)

Lee *et al* (2009) menyatakan bahwa pemberian NO eksogen dapat meningkatkan sensitifitas insulin dan jalur *signaling* insulin pada otot skelet.

Dalam keadaan fisiologis, eNOS diekspresikan di otot skelet dan secara lokal mampu memproduksi NO dalam jumlah kecil. Jumlah NO yang dihasilkan oleh eNOS memegang peranan penting dalam homeostasis glukosa dan produksi energi (Kobzik, 1995). Pada tikus yang dihilangkan fungsi eNOS terjadi resistensi insulin dan pemberian donor NO merangsang transpor glukosa secara invitro (Morino, 2006). Sebagai tambahan, bahwa tikus yang dibuat tidak mengandung eNOS ternyata mengalami resistensi insulin (Duplain, *et al.*, 2001).

Aktifitas insulin yang meningkat akibat pemberian ekstrak kulit semangka, menyebabkan peningkatan pengikatan antara insulin dengan reseptor insulin yang selanjutnya menyebabkan translokasi GLUT 4 pada permukaan membran sel yang mengakibatkan pengangkutan glukosa menjadi lebih optimal, sehingga terjadi penurunan kadar glukosa dalam darah. Penggunaan glukosa yang meningkat oleh

jaringan akan mengakibatkan penurunan mobilisasi lemak dari jaringan. Hal ini akan menurunkan kadar asam lemak bebas dalam darah. Asam lemak bebas merupakan bahan bakal sintesis trigliserida di hati.

Dari penelitian yang dilakukan oleh Micol *et al.*, (2007), dosis ekstrak semangka yang digunakan untuk meningkatkan metabolisme glukosa dan metabolisme lipid adalah 250 mg/kgbb/hari. Menurut penelitian Rokiban (2005) bahwa dosis ekstrak buah semangka (*Citrulus Vulgaris* Schrad) yang memberikan efek terhadap penurunan kadar glukosa darah pada kelinci jantan yang diinduksi glukosa standar, berkisar antara 125 mg/kgbb/hari – 1000 mg/kgbb/hari dengan dosis optimal pada pemberian 1000 mg/kgbb/hari.

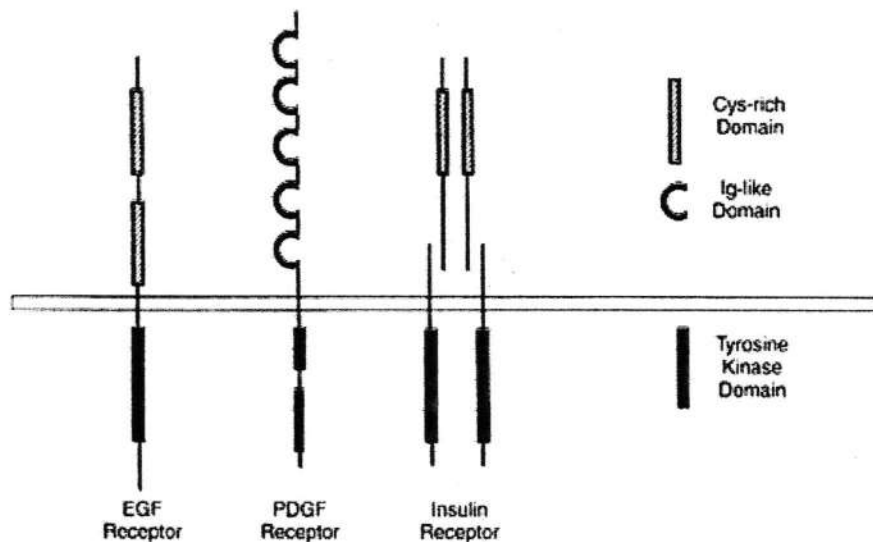
2.4 Reseptor Hormon Insulin

2.4.1. Struktur dan fungsi

Reseptor insulin merupakan suatu tetramer yang terdiri dari dua sub unit α dan dua sub unit β dalam konfigurasi $\alpha_2\beta_2$ yang dihubungkan dengan ikatan disulfida. Masing-masing subunit glikoprotein ini mempunyai struktur dan fungsi yang unik. Sub unit α dengan BM 135 kDa berada seluruhnya di luar sel (ekstraseluler) bertugas untuk mengikat insulin lewat daerah (domain) yang kaya akan sistein. Sub unit β adalah sub unit dengan BM 95 kDa merupakan protein transmembran yang merupakan efektor dalam melaksanakan fungsi sekunder yang utama pada reseptor yaitu proses transduksi sinyal. Sub unit β ini terletak dominan di dalam sitoplasma dan mengandung suatu kinase yang akan teraktivasi pada pengikatan insulin dengan akibat fosforilasi pada sub unit β itu sendiri (Murray *et al.*, 2003)

Reseptor insulin secara konstan disintesis dan diuraikan dan usia paruhnya adalah 7-12 jam. Reseptor ini disintesis dalam retikulum endoplasmik kasar sebagai peptida rantai tunggal dan dengan cepat mengalami glikosilasi dalam regio aparatus golgi. Prekursor reseptor insulin manusia mempunyai 1382 asam amino dan terpecah hingga terbentuk subunit α dan β yang matur. Gen reseptor insulin terletak pada kromosom 19. Reseptor insulin ini ditemukan pada sebagian besar sel mamalia dengan konsentrasi sampai 20.000 per sel (Murray *et al*, 2003)

Pada sel lemak, hati dan otot, ikatan insulin pada reseptor-reseptor ini dikaitkan dengan respon biologik jaringan-jaringan ini terhadap hormon. Reseptor-reseptor ini mengikat insulin secara cepat, dengan spesifitas tinggi dan affinitas yang cukup tinggi untuk mengikat dalam jumlah pikomolar (Murray *et al*, 2003)



Gambar 2.5 Famili Kelompok Reseptor Tirosin Kinase

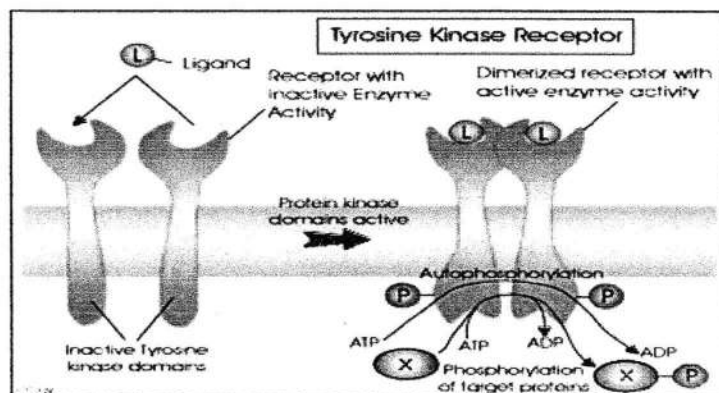
2.4.2 Transmisi Sinyal Melalui Reseptor Insulin

Struktur reseptor insulin dan kemampuan insulin yang berbeda untuk berikatan dengan reseptor mencetuskan berbagai respon biologik. Kalau reseptor insulin berikatan dengan hormon insulin, beberapa peristiwa akan terjadi yaitu: (Greenspan *et al*, 1994)

1. Terjadi perubahan bentuk reseptor
2. Reseptor akan berikatan silang dan membentuk mikroagregat
3. Reseptor akan mengalami penyatuan (internalisasi)
4. Dihasilkan satu atau lebih sinyal

Perubahan penyesuaian hormon insulin dan reseptor insulin mengaktifasi kinase tirosin yang terdapat pada sub unit β dari reseptor ini. (Larsen *et al*, 2003).

Ikatan insulin pada reseptor insulin terjadi pada sub unit α dari reseptor insulin. Subunit β reseptor insulin yang mempunyai aktifitas tirosin kinase intrinsik akan mengalami reaksi fosforilasi (autofosforilasi) pada target protein. Kejadian ini akan memulai suatu rangkaian peristiwa yang kompleks (Murray *et al*, 2003)



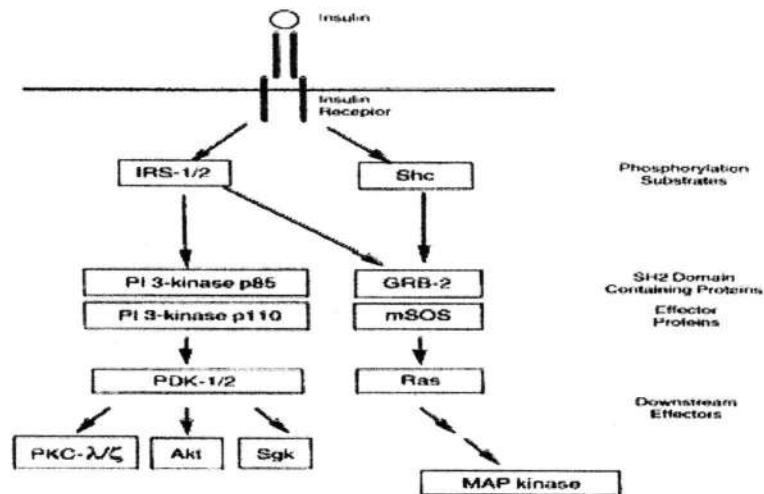
Gambar 2.6 Aktivasi Reseptor Tirosin Kinase oleh ligan

Sub unit yang terfosforilasi selanjutnya melakukan reaksi fosforilasi terhadap Insulin reseptor substrat-1 (IRS-1). IRS-1 yang terfosforilasi akan terikat pada daerah domain SH2 pada sejumlah protein yang terlibat langsung dalam pemberian sinyal sitoplasmik yang memperantarai berbagai efek insulin yang berbeda. Protein-proten ini termasuk fosfolipase C (PLC), protein aktivasi pp21ras GTPase, PI3 kinase (fosfoinositol 3-kinase). PI3 kinase dapat menghubungkan aktifitas reseptor insulin dengan kerja insulin melalui pengaktifan sejumlah molekul termasuk p70 S6 kinase (Murray *et al*, 2003).

Aktivasi PI3K menimbulkan fosforilasi pada cincin inositol dari PI pada posisi D-3 kinase tirosin, juga dipostulasi mengaktifasi enzim-enzim lain pada beberapa kasus melalui pengikatan pada domain selain SH (Murray *et al*, 2003). Enzim-enzim yang mungkin diaktifasi oleh tirosin kinase termasuk glikogen sintetase fosfatase, yang mengaktifasi glikogen sintetase dengan mengangkat suatu gugusan fosfat inhibisi; dehidrogenase piruvat; lipase peka hormon (Murray *et al*, 2003).

Protein lain yang mengandung domain SH2 adalah GRB2 (protein growth factor binding protein-2) yang menghubungkan fosforilasi tirosin dengan beberapa protein. IRS-1 yang terfosforilasi akan mengikat GRB-2 dan protein *Son of sevenless* (SOS). Protein SOS sitosolik akan mengaktifasi protein Ras, dimana protein Ras akan melepaskan gugus GDP dan mengikat gugus GTP. Protein Ras aktif akan menstimulasi aktifitas tiga protein kinase yang terdiri dari *Mitogen activated protein kinase* (MAPK), *Mitogen activated protein kinase kinase* (MEK), dan Mitogen activated protein

kinase kinase kinase (Raf). MAPK sebagai produk protein kinase terhilir dalam hirarki kaskade MAP akan mengaktifasi fosforilasi protein faktor transkripsi yang akan mengaktifkan proses penyandian protein tertentu sebagai respon seluler terhadap stimulasi insulin (Larsen *et al*, 2003)



Gambar 2.7. Pengantaran sinyal lewat aktivasi reseptor insulin

Proses fosforilasi yang berawal dari daerah kinase yang teraktivasi terutama juga menyebabkan protein-protein intraseluler seperti glukosa transpoter, transferin, reseptor lipoprotein density rendah, reseptor faktor pertumbuhan II mirip insulin (IGF II), untuk berpindah ke permukaan sel. Jika protein-protein yang tersebar intraseluler berpindah ke permukaan sel pada saat pasca absorpsi sesudah pemberian makan, maka hal ini akan mempermudah transport zat gizi ke dalam jaringan sasaran insulin. Hal ini juga dapat membantu pertumbuhan dengan cara memungkinkan akses IGF II dalam sirkulasi pada reseptor permukaan sel (Greenspan *et al*, 1994)

2.4.3. Mekanisme Sekresi Insulin oleh sel β pankreas

Glukosa dapat melewati sel β pankreas dengan bebas melalui transporter glukosa (GLUT 2). Didalam sitoplasma glukosa akan mengalami fosforilasi melalui alur glikolisis dengan akibat meningkatnya kadar ATP (dan menurunnya kadar ADP) intrasel. Enzim pertama dalam sel β yang berperan dalam glikosis adalah glukokinase yang merupakan enzim kunci dalam mekanisme sekresi insulin. ATP kemudian terikat pada suatu jenis saluran K^+ peka ATP (*ATP-sensitive K^+ channel*). Aktifasi ATP ini kemudian akan menutup saluran ion tersebut sehingga terjadi penurunan efluks K^+ yang menyebabkan depolarisasi sel β . Depolarisasi membran sel selanjutnya akan membuka saluran Ca^{2+} peka voltase (*voltage-sensitive Ca^{2+} channel*). Sebagai akibatnya Ca^{2+} mengalir masuk kedalam sel. Kadar Ca^{2+} intrasel yang meningkat akan memicu pergerakan gelembung sekresi (*secretory vesicle*) ke arah membrane sel yang akhirnya menyebabkan sekresi insulin melalui eksositosis.

Pada manusia dan tikus sekresi insulin bersifat bifasik. Fase pertama langsung disebabkan oleh kenaikan kadar Ca^{2+} intrasel akibat perubahan saluran Ca^{2+} , sedangkan fase kedua timbul karena kenaikan kadar Ca^{2+} intrasel meningkatkan kadar IP3 (inositol trifosfat) yang selanjutnya melepaskan Ca^{2+} dari cadangan intrasel terutama dari retikulum endoplasma. (Ganong, 1999). Respon sekresi insulin terhenti apabila *voltage-gated K^+ channel* yang diaktifkan oleh depolarisasi membran memungkinkan aliran masuk K^+ dalam jumlah cukup untuk memulihkan potensial membran ke tingkat semula. Bila kadar glukosa ekstra sel tetap tinggi, maka siklus kembali berulang dan lebih banyak insulin yang dikeluarkan (Ganong, 1999).

2.5 Streptozotosin

Streptozotosin (STZ, 2-deoksi-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranosa, disintesis oleh *streptomyces achromogenes* dan digunakan untuk menginduksi *insulin dependent dan non insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM dan NIDDM). Rumus kimia STZ adalah $C_8H_{15}N_3O_7$. STZ digunakan untuk menginduksi DM tipe 2 dengan menggunakan model tikus neonatus. STZ dapat menyebabkan berbagai tahap diabetes tipe 2, seperti gangguan toleransi glukosa, hiperglikemia sedang dan berat (Arulmozhi, 2004). Dosis STZ yang digunakan untuk menginduksi DM tipe 2 adalah bervariasi sesuai dengan model yang digunakan yaitu 35-36 mg/kgbb secara intravena (i.v.) atau intraperitoneal (i.p.) (Srinivasan and Ramaro, 2007 dalam Joeliantina, 2008).

Neonatal streptozotocin diabetic rats, model ini menggunakan dosis 100 mg/kg bb secara i.p. yang diberikan pada tikus yang baru lahir (n0). Setelah 8 minggu tikus akan menunjukkan hiperglikemia. Cara lain adalah memberikan STZ pada hari ke dua kelahiran (n2) dan hari ke lima kelahiran (n5) dengan dosis yang digunakan adalah 80 mg/kg bb i.p. Setelah 6 minggu tikus akan menunjukkan hiperglikemia dan gangguan toleransi glukosa (Arulmozhi, 2004)

Saat ini suatu model untuk menginduksi DM tipe 2 pada hewan telah ditemukan yakni dengan mengkombinasi antara STZ dengan nikotinamid yang diberikan pada tikus dewasa. Tikus diberi nikotinamid dengan dosis 230 mg/kg bb i.p. 15 menit sebelum injeksi STZ dengan dosis 65 mg/kg bb. Pemberian NAD sebagai antioksidan yang menghambat aksi sitotoksik dari STZ dengan membersihkan radikal bebas dan hanya menyebabkan kerusakan minor dari sel β pankreas.

Model lain yang digunakan untuk membuat Diabetes Melitus tipe 2 pada tikus adalah dengan memberikan kombinasi diet tinggi lipid (HFD) atau tinggi fruktosa jangka pendek diikuti dengan injeksi STZ dosis rendah 35 mg/kg bb i.p. Pemberian diet HFD ditujukan untuk menimbulkan kondisi obesitas yang dapat menyebabkan gangguan hormon insulin sama seperti yang terjadi pada manusia, yang berisiko berkembang menjadi Diabetes Melitus tipe 2 yaitu dengan adanya resistensi insulin (Srinivasan and Ramaro, 2007).

Dari penelitian terdahulu yang menggunakan lidah buaya sebagai antidiabetik, dosis STZ yang digunakan untuk menginduksi DM adalah dosis tunggal 55 mg/kg bb secara intraperitoneal, dan hasilnya menunjukkan hiperglikemia pada hari ke tujuh (Rajasekaran *et al*, 2005). Menurut Cattopadhyay dan Bandyopadhyay, (2005) dan Joeliantina, (2008) pada penelitian dengan bahan herbal sebagai antidiabetik, dosis STZ yang digunakan untuk menginduksi DM adalah dosis tunggal 50 mg/kg bb dan menunjukkan hasil hiperglikemia pada hari ke tiga dan ketujuh. Dengan dosis ini diduga telah terjadi DM tipe 2 dengan alasan, kelompok kontrol diabetes dapat tetap hidup sampai hari ke 15 dan kelompok yang diterapi dengan obat sulfonilurea dapat berespon dengan baik, walaupun tanpa diberikan insulin (Cattopadhyay dan Bandyopadhyay, 2005).

STZ diambil oleh sel β pankreas melalui glukosa transporter GLUT 2. Aksi STZ intraseluler ini menyebabkan perubahan DNA sel β pankreas yaitu terjadi fragmentasi DNA melalui alkilasi DNA. STZ merupakan donor NO, NO dapat menyebabkan destruksi sel β pankreas dan menyebabkan kerusakan DNA (Szkudelski, 2001). STZ juga memproduksi ROS yang menyebabkan fragmentasi DNA dan menimbulkan kerusakan sel. Terbentuknya anion superoksida

dihasilkan dari aksi STZ di mitokondria dan peningkatan aktifitas xantin oksidase. Hal ini ditunjukkan dengan adanya hambatan oleh STZ pada siklus kreb sehingga menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Efek ini secara kuat membatasi produksi ATP mitokondria dan menyebabkan pengurangan nukleotida ini dalam sel β (Szkudelski, 2001).

Penghambatan pembentukan ATP mitokondria sebagian diperantarai oleh NO. molekul ini berikatan dengan akonitase pengandung besi (*iron-containing acotinase*) dengan menghambat aktifitas enzim ini. Peningkatan defosforilasi ATP meningkatkan suplai substrat xantin oksidase dan meningkatkan produksi asam urat yang merupakan produk akhir degradasi ATP. Kemudian xantin oksidase mengkatalisis reaksi ini, yang diikuti terbentuknya anion superoksida. Akibatnya anion superoksida menghasilkan hydrogen peroksida dan radikal hidroksil. Aksi sinergis NO dan *Reactive Oxygen Species* (ROS) juga berperan dalam terjadinya fragmentasi DNA. NO dan ROS dapat membentuk peroksinitrit yang dapat menyebabkan kerusakan DNA. Kerusakan DNA yang terjadi setelah pemberian STZ akan mengaktifasi poli ADP ribosilasi. Proses ini menyebabkan penurunan NAD seluler dan ATP yang selanjutnya menimbulkan hambatan sintesis dan sekresi insulin (Szkudelski, 2001).

Pada penelitian ini digunakan STZ dengan dosis tunggal 50 mg/kg bb secara intraperitoneal. Dengan dosis ini diduga telah terjadi DM tipe 2 dengan alasan, kelompok kontrol diabetes dapat tetap hidup sampai hari ke 15 dan kelompok yang diterapi dengan obat sulfonilurea dapat berespon dengan baik, walaupun tanpa diberikan insulin (Cattopadhyay dan Bandyopadhyay, 2005). Kerugian penggunaan dosis ini adalah pelaksanaannya relatif lebih sulit, karena

pemberian secara intraperitoneal, sehingga perlu keahlian khusus dalam melakukannya dan resiko kematiannya lebih besar dibanding dengan pemberian dosis terbagi secara intravena (Kusumawati, 2004)

2.6 Diabetes Melitus

2.6.1 Definisi Diabetes Melitus

Diabetes Melitus (DM) adalah kelainan metabolisme di mana glukosa darah tidak dapat digunakan dengan baik, sehingga menyebabkan keadaan hiperglikemia (Dods, 1996 dan Sacks, 2001). DM merupakan kelainan endokrin yang banyak dijumpai pada manusia (Foster, 1998). Menurut WHO (2006), DM adalah penyakit kronis yang terjadi ketika pankreas tidak memproduksi cukup insulin, atau ketika tubuh tidak dapat menggunakan secara efektif insulin yang diproduksi. Manifestasi klinik dari gangguan ini adalah adanya hiperglikemia yaitu kadar glukosa plasma puasa $\geq 7,0$ mmol/l (126 mg/dl) atau glukosa plasma 2 jam setelah makan $\geq 11,1$ mmol/l (200 mg/dl).

Tikus putih mempunyai kadar glukosa darah 50-135 mg/dl. Berdasarkan hasil penelitian terdahulu, tikus dikatakan menderita DM apabila kadar glukosa plasma ≥ 250 mg/dl (Ravi *et al.*, 2004 dalam Joeliantina, 2008).

2.6.2 Etiologi dan Patofisiologi (Joeliantina, 2008)

Pada kondisi normal, masuknya glukosa kedalam sel β pankreas memicu sekresi insulin. Pelepasan insulin dibawa oleh darah ke jaringan perifer, selanjutnya berikatan dengan reseptor insulin yaitu famili reseptor tirosin kinase. Adanya jalur berjenjang dari reseptor transmembran ini mengakibatkan pengambilan (uptake) glukosa oleh sel untuk dimetabolisme menjadi energi atau disimpan sebagai glikogen. Gangguan apapun yang terjadi sepanjang jalur sel β

sampai jaringan perifer dapat menimbulkan hiperglikemia seperti pada DM. Secara klinis ada 2 tipe DM yaitu DM tipe 1 dan tipe 2.

DM tipe 1 berkaitan dengan faktor genetik, usia muda, proses autoimun dan tergantung pada terapi insulin secara injeksi selama hidupnya. DM tipe 1 disebabkan oleh defisiensi absolut produksi insulin sebagai akibat kerusakan sel β pankreas. Kerusakan sel β pankreas terjadi melalui *mechanisms of immune-mediated beta cell killing*, yaitu :

- a. Secara langsung (sel ke sel) interaksi antara limfosit T sitotoksik (CD8) dan autoantigen pada sel β yang mengakibatkan matinya sel β . Autoantigen yang diproses dan disajikan sebagai peptida dalam suatu kompleks molekul MHC klas I pada permukaan sel β dikenali oleh antigen spesifik CD8 limfosit T sitotoksik. Hal ini mengakibatkan *up-regulation* dari sejumlah molekul *costimulatory* (FAS/FASL). Terjadinya reaksi berjenjang trasduksi sinyal yang mengakibatkan kematian sel β melalui apoptosis.
- b. Secara tidak langsung antigen spesifik CD4 limfosit T helper tidak mengenali autoantigen sel β menyebabkan sel β tidak mengespresikan molekul MHC klas II. Aktifitas ini dikenali oleh molekul APCs klas II (seperti pada makrofag dan sel dendritik), memicu pelepasan sejumlah sitokin yaitu interferon γ (INF γ), tumor necrosis factor γ (TNF γ), dan NO dari sel T CD4 dan APCs yang mengakibatkan apoptosis sel β .

DM tipe 2 berkaitan dengan faktor lingkungan seperti diet dan kegiatan fisik, obesitas, usia lanjut dan dianjurkan mengkonsumsi obat antidiabetika oral (Isselbacher *et al.*, 2000). DM tipe 2 dikarakteristikan oleh disfungsi sel β

pankreas dan resistensi insulin pada jaringan sasaran seperti otot skeletal dan jaringan adiposa (Isselbacher *et al.*, 2000). Setelah glukosa dicerna, toleransi glukosa normal tergantung pada tiga hal yaitu : stimulasi sekresi insulin, supresi produksi glukosa endogen, dan stimulasi ambilan glukosa yang diperantarai insulin oleh jaringan perifer terutama otot (DeFronzo, 1999). Pada DM tipe 2 terjadi abnormalitas pada proses tersebut. Glukosa plasma tetap normal meskipun terdapat resistensi insulin. Selanjutnya resistensi insulin akan menyebabkan peningkatan sekresi insulin untuk mengkompensasi keadaan resistensi ini. Selanjutnya resistensi insulin cenderung memburuk sehingga walaupun kadar insulin meningkat tampak adanya intoleransi glukosa dalam bentuk hiperglikemia setelah makan. Akhirnya resistensi insulin tidak berubah, sementara sekresi insulin menurun yang menyebabkan hiperglikemia puasa. Hal ini menjadi gejala yang nyata pada penderita DM (Isselbacher *et al.*, 2000). Resistensi insulin berkaitan dengan adanya gangguan fungsi reseptor insulin, jalur transduksi sinyal reseptor insulin, transport dan fosforilasi glukosa dan sintesis glukosa, dan oksidasi glukosa (DeFronzo, 1999).

2.6.3 Komplikasi Diabetes Melitus (Joeliantina, 2008)

Bahaya utama penyakit DM adalah timbulnya komplikasi baik akut maupun kronis. Komplikasi akut meliputi hipoglikemia, ketoasidosis dan koma diabetikum. Komplikasi kronis yang timbul disebabkan karena tingginya kadar glukosa darah (hiperglikemia), meliputi komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler. Komplikasi mikrovaskuler meliputi nefropati, retinopati dan neuropati, sedangkan komplikasi makrovaskuler meliputi aterosklerosis dan

iskemia jantung yang dapat berisiko menimbulkan morbiditas, mortalitas dan kecacatan 2-4 kali lipat pada penderita DM (Jakus. 2000; Payne, 2002).

Komplikasi kronis DM ini tampaknya diperantarai oleh adanya stress oksidatif. Pada Diabetes Melitus stress oksidatif disebabkan oleh peningkatan produksi ROS, penurunan pertahanan antioksidan dan gangguan status redoks seluler. Hiperglikemia memicu peningkatan produksi ROS melalui berbagai mekanisme, yaitu autooksidasi glukosa, glikasi protein, gliko-oksidasi, yang dapat menimbulkan kerusakan jaringan (Jakus, 2000).

2.7 Sintesis Triasilgliserol

Triasilgliserol merupakan lipid yang paling sederhana dan paling banyak dalam tubuh sebagai deposit lemak tubuh dan makanan, sering dinamakan *fat*, lipid netral, atau trigliserida. Triasilgliserol mempunyai fungsi utama sebagai lipid penyimpan. Triasilgliserol merupakan ester dari alkohol gliserol dengan asam lemak yang mengandung asam lemak jenuh berjumlah 12 atau lebih karbon yang bersifat padat pada suhu tubuh (Murray *et al.*, 2003).

Triasilgliserol disintesis dari senyawa gliserol 3-fosfat. Pada sintesis triasilgliserol asam lemak diaktifkan menjadi asil-KoA oleh enzim asil-KoA sintase, melalui ATP dan KoA. Dua molekul asil-KoA bergabung dengan gliserol 3-fosfat untuk membentuk senyawa fosfatidat (1,2-diasilgliserol fosfat) yang terjadi dalam 2 tahap lewat lisofosfatidat, awalnya di katalisis oleh enzim gliserol 3-fosfat asiltransferase, kemudian oleh enzim fosfatidat fosfohidrolase menjadi 1,2 diasilgliserol. Molekul asil-KoA berikutnya diesterifikasi dengan diasilgliserol untuk membentuk triasilgliserol yang

dikatalisis oleh diasilgliserol asil transferase. Dalam mukosa usus melalui lintasan monoasilgliserol, senyawa monoasilgliserol dikonversi menjadi 1,2 diasilgliserol oleh enzim monoasilgliserol asiltransferase (Murray *et al.*,2003).

Sintesis triasilgliserol menghasilkan rangsangan untuk pembentukan dan sekresi VLDL. Asam lemak yang dipakai dalam sintesis triasilgliserol hepatic berasal dari karbohidrat dan ambilan bebas dari sirkulasi darah. Secara normal triasilgliserol tidak terkumpul dihati, tetapi diangkut dari hati oleh VLDL (Murray *et al.*,2003).

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

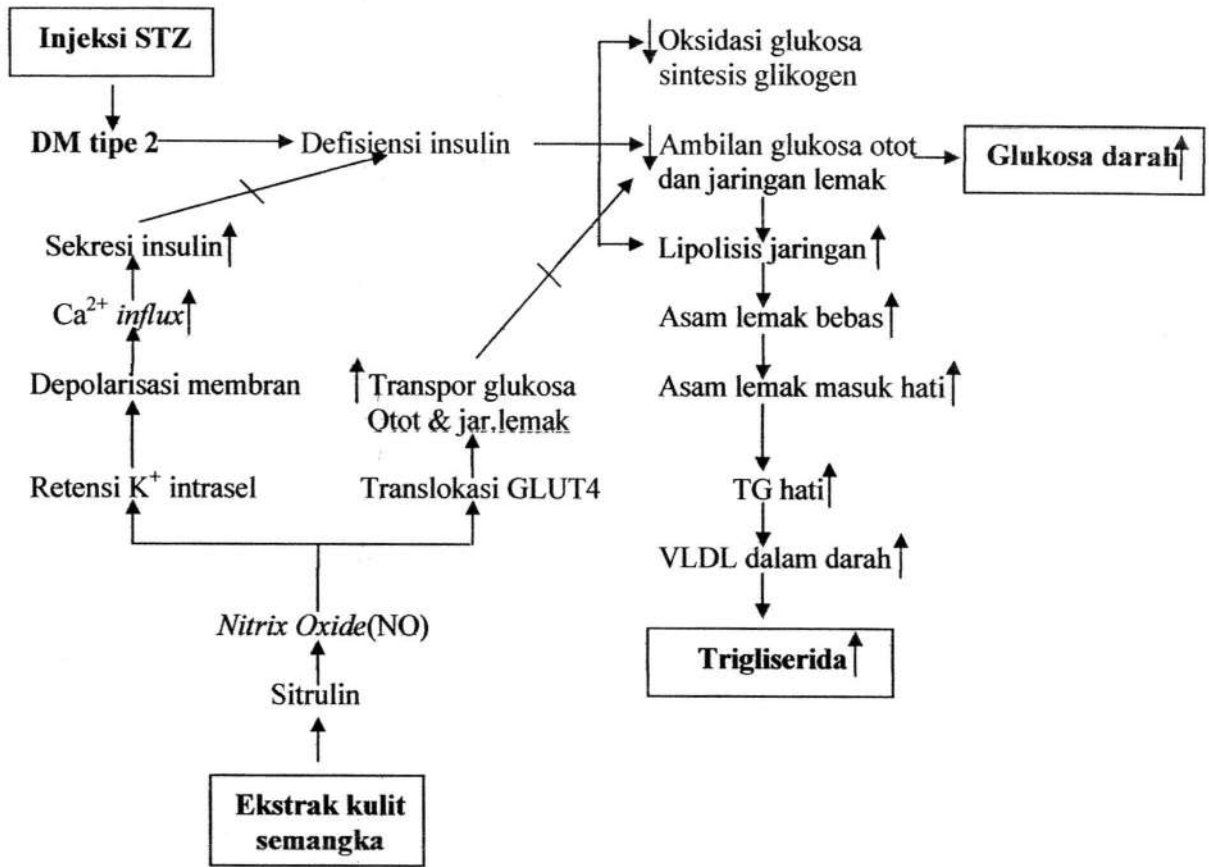
3.1 Dasar Teori

Pada DM tipe 2, terjadi penurunan kemampuan insulin bekerja di jaringan perifer (*insulin resistance*) dan disfungsi sel beta. Akibatnya, pankreas tidak mampu memproduksi insulin yang cukup untuk mengkompensasi *insulin resistance*. Kedua hal ini menyebabkan terjadinya defisiensi insulin (Sacks, 2001). Dengan adanya defisiensi insulin akan menyebabkan kenaikan kadar glukosa darah (hiperglikemia) akibat dari penurunan pengambilan glukosa oleh otot dan jaringan adiposa, penurunan oksidasi glukosa dan sintesis glikogen serta meningkatnya lipolisis jaringan adiposa.

Pada DM, kadar asam lemak bebas dalam darah meningkat karena pelepasan yang berlebihan dari jaringan adiposa (lipolisis) dan penurunan pengambilan oleh otot skeletal. Asam lemak bebas ini akan lebih banyak yang masuk ke hati. Respon hati terhadap peningkatan aliran asam lemak bebas adalah dengan meningkatkan sintesis trigliserida, VLDL dan sistesis kolesterol ester (Murray *et al.*, 2003). Selanjutnya VLDL akan disekresikan ke dalam sirkulasi. Peningkatan VLDL dan penurunan aktifitas lipoprotein lipase menyebabkan hipertrigliseridemia (Creager *et al.*, 2003).

Ekstrak kulit semangka mengandung sitrulin yang diduga dapat menurunkan kadar glukosa darah dan menurunkan kadar trigliserida. Sitrulin berfungsi sebagai prekursor pembentukan NO, dimana NO terlibat langsung dalam regulasi sekresi insulin dengan meningkatkan sekresi insulin. NO yang

3.2 Kerangka Konseptual



Keterangan :

- : yang diteliti
- : menghambat

Gambar 3.1. Kerangka Konseptual

3.2 Hipotesis

- 3.2.1 Ekstrak air kulit semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) dapat menurunkan kadar glukosa serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotosin.
- 3.2.2 Ekstrak air kulit semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) dapat menurunkan kadar trigliserida serum tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotosin.

BAB 4

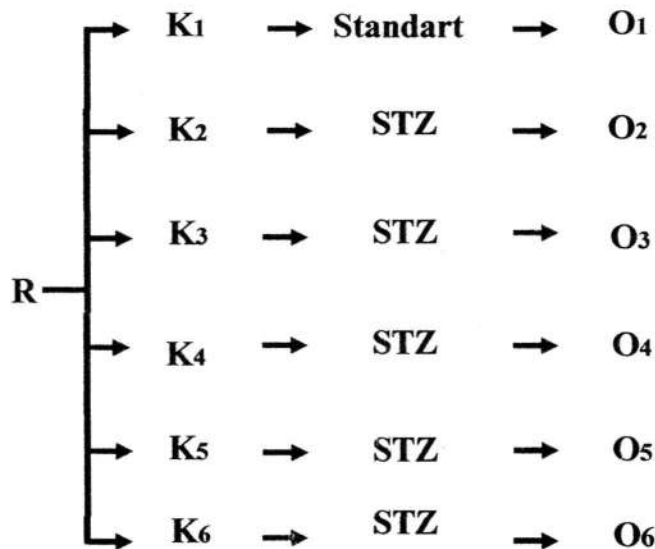
MATERI DAN METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini bersifat eksperimental laboratoris

4.2. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (*Completely Randomized Design*) (Zainuddin, 1995), secara skematis rancangan penelitian dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 4.1. Bagan Rancangan Acak Lengkap (*Completely Randomized Design*)

R = Randomisasi subyek penelitian

K1 = Kelompok kontrol yang tidak diinjeksi yang diukur awal kadar glukosa dan trigliserida

K2 = Kelompok kontrol positif, yang diberikan injeksi STZ 50 mg/kgbb yang diukur awal kadar glukosa dan trigliserida

K3 = Kelompok kontrol positif, diberikan injeksi STZ 50 mg/kgbb dan diberikan CMC 0,5%

K4 = Kelompok perlakuan, diberikan injeksi STZ 50 mg/kgbb dan diberikan ekstrak air kulit semangka 250 mg/kgbb/hari

K5 = Kelompok perlakuan, diberikan injeksi STZ 50 mg/kgbb dan diberikan ekstrak air kulit semangka 500 mg/kgbb/hari

K6 = Kelompok perlakuan, diberikan injeksi STZ 50 mg/kgbb dan diberikan ekstrak air kulit semangka 1000 mg/kgbb/hari

O = Observasi

4.3 Unit Eksperimen dan Replikasi

Unit eksperimen pada penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang berumur 1 – 2 bulan dengan berat badan 100 – 200 gram dan kondisi sehat. Besar replikasi minimal untuk pengujian hipotesis penelitian ditentukan berdasar rumus Federer (Hanafiah, 2003) :

$$(t-1)(r-1) \geq 15$$

$$(6-1)(r-1) \geq 15$$

$$r \geq 4$$

t = jumlah kelompok

r = jumlah replikasi

Jadi jumlah replikasi minimal perkelompok adalah 4

Pada penelitian eksperimen, untuk mengantisipasi hilangnya unit eksperimen, dilakukan koreksi dengan $1/(1-f)$, di mana f adalah proporsi unit eksperimen yang hilang atau mengundurkan diri atau *drop out*. Pada penelitian ini ditetapkan $f \pm 20\%$, sehingga :

$$1/(1-0,2) \times 4 = 5$$

Jadi replikasi pada penelitian ini adalah 5 ekor per kelompok perlakuan.

Dalam pelaksanaan penelitian, satu ekor tikus mati ditemukan pada kelompok 2, sehingga jumlah tikus di kelompok 2, hanya tersisa 4 ekor.

4.4 Variabel penelitian :

4.4.1. Klasifikasi variabel

1. Variabel bebas : pemberian ekstrak air kulit semangka
2. Variabel tergantung :
 - a. Kadar glukosa serum
 - b. Kadar trigliserida serum
3. Variabel kendali :
 - a. Umur tikus
 - b. Jenis kelamin tikus
 - c. Berat badan tikus
 - d. Perawatan dan sanitasi kandang
 - e. Makanan dan minuman tikus
 - f. Waktu perlakuan
 - g. Darah yang dijadikan bahan penelitian

4.4.2. Definisi operasional

Variabel yang digunakan pada penelitian ini dapat didefinisikan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak air kulit semangka adalah pemberian ekstrak air kulit bagian putih tebal dari semangka yang diberikan dengan menggunakan sonde melalui mulut tikus. Jenis semangka yang digunakan adalah semangka dengan daging berwarna merah, tanpa biji yang diperoleh di pasar Keputran

Surabaya. Penentuan dosis diperoleh dari uji pendahuluan untuk mendapatkan dosis terkecil yang memberikan efek. Dari uji pendahuluan didapatkan variasi dosis yaitu : 250 mg/kgbb/hari, 500 mg/kgbb/hari, dan 1000 mg/kgbb/hari.

2. Kadar glukosa serum adalah kadar glukosa dalam serum yang diukur dengan menggunakan metode enzimatis (GOD – PAP) dengan satuan mg/dl
3. Kadar trigliserida adalah kadar trigliserida yang terkandung dalam serum yang diukur dengan *triglycerides* GPO-PAP, dengan satuan mg/dl
4. Streptozotosin (*STZ, 2-deoksi-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucofuranosa*, adalah senyawa yang menginduksi *insulin dependent dan non insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM dan NIDDM),

4.5 Bahan Penelitian

- 4.5.1 Hewan coba adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang berumur sekitar 1 -2 bulan, berat badan sekitar 100-200 gram
- 4.5.2 Kulit semangka segar diambil bagian dagingnya (yang berwarna putih kekuningan) sebanyak 1 kg. Daging kulit semangka tersebut diiris kecil – kecil, kemudian ditambahkan 5 liter aquadest, kemudian dihaluskan dengan blender, setelah itu disaring sebanyak 4x. Filtrat hasil saringan dikeringkan dengan *freeze dryer*, sedangkan ampas hasil saringan, dicuci dengan aquadest, disaring kembali sebanyak 4x, dan filtratnya juga dikeringkan dengan *freeze*

dryer, sehingga diperoleh ekstrak air kulit semangka dalam bentuk kering/serbuk sebanyak 25 gram. Pembuatan ekstrak air kulit semangka dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi UNAIR Surabaya

4.5.3 Streptozotisin (*STZ, 2-deoksi-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranosa)*) yang diperoleh dari MP Biomedicals, LLC dengan nomor katalog 100557

4.5.4 Pakan tikus dan aqua, serta sekam untuk alas tidur

4.5.5 Ether untuk pembiusan yang diperoleh dari Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UNAIR Surabaya

4.5.6 Buffer sitrat 0,01 M, pH 4,5

4.5.7 CMC (Carboxy Metyl Cellulose) 0,5 % untuk pelarut ekstrak kulit semangka

4.6 Instrumen penelitian

4.6.1 Alat untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba

1. Kandang plastik polypropilen ukuran 20 cm x 30 cm x 40 cm yang ditutup dengan kawat kasa dengan ukuran 6 mm, terdapat sekat – sekat untuk memisahkan antar tikus. Satu sekat ditempati satu tikus
2. Botol minum
3. Tempat makan dari aluminium
4. Sekam
5. Alat suntik 1 cc yang ujungnya dimodifikasi
6. Timbangan untuk menimbang berat badan tikus

4.6.2 Alat untuk pembiusan

1. Toples dan penutupnya dari kaca untuk pembiusan
2. Alat fiksasi dan diseksi hewan coba

4.6.3 Alat untuk penyuntikan dan pengambilan darah

1. Alat suntik Icc untuk menyuntikkan STZ dan mengambil darah
2. Botol untuk mengencerkan atau melarutkan STZ
3. Timbangan anatomik untuk menentukan dosis STZ dan ekstrak kulit semangka

4.6.4 Kit untuk pemeriksaan kadar glukosa serum.

4.6.5.Kit untuk pemeriksaan kadar trigliserida

4.7. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UNAIR Surabaya untuk pemeliharaan dan perlakuan hewan coba serta pengambilan darah, dan di Fakultas Farmasi UNAIR Surabaya untuk pembuatan ekstrak air kulit semangka

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Maret – Juni 2010.

4.8. Prosedur Penelitian

4.8.1 Aklimatisasi

Aklimatisasi dilakukan selama 7 hari untuk membiasakan pada lingkungan percobaan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UNAIR Surabaya. Tikus ditempatkan dalam kandang yang diberi sekat – sekat, sehingga antar tikus yang satu dengan yang lain terpisah. Hal ini dilakukan untuk menghindari perkelahian antar tikus. Jika terdapat tikus yang sakit atau mati dikeluarkan dari penelitian.

4.8.2 Pembagian kelompok hewan coba

Dilakukan pengacakan terhadap 30 ekor tikus. Tikus dikelompokkan menjadi 6 kelompok, yaitu; kelompok 1, kelompok 2, kelompok 3, kelompok 4, kelompok 5 dan kelompok 6 yang masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Pada tikus kelompok 1 diambil darahnya untuk diperiksa kadar glukosa serum pada hari kedelapan

4.8.3 Membuat hewan coba menjadi diabetes

Tikus pada kelompok 2, 3, 4, 5 dan 6 dijadikan diabetes dengan diinjeksi STZ dosis tunggal 50 mg/kg bb secara intraperitoneal Pada hari kedelapan, darah tikus kelompok 2 diambil untuk diperiksa kadar glukosa serum dan trigliserida. Hasil selanjutnya dibandingkan dengan kelompok 1 untuk mengetahui terjadinya diabetes melitus.

Selanjutnya kelompok 3, 4, 5, dan 6 diberikan perlakuan sampai hari ke-15

Kelompok 3 : kelompok kontrol positif, diberi CMC 0,5% sebanyak 2 ml perhari lewat sonde

Kelompok 4: kelompok perlakuan, diberi ekstrak air kulit semangka 250 mg/kgbb/hari dalam 2 ml CMC 0,5% lewat sonde

Kelompok 5: kelompok perlakuan, diberi ekstrak air kulit semangka 500 mg/kgbb/hari dalam 2ml CMC 0,5% lewat sonde

Kelompok 6: kelompok perlakuan, diberi ekstrak air kulit semangka 1000 mg/kgbb/hari dalam 2ml CMC 0,5% lewat sonde

4.8.4 Penimbangan berat badan

Penimbangan berat badan dilakukan pada pagi hari sebelum penyuntikan STZ untuk penyesuaian dosis STZ. Setelah hari kedelapan, tikus akan ditimbang setiap hari untuk penyesuaian dosis ekstrak kulit semangka. Penimbangan berat badan tikus ini dilakukan dengan menggunakan timbangan Torbal (*Torsion Balance*) dalam satuan gram.

4.8.5 Pengambilan darah

Darah diambil dari jantung tikus. Sebelumnya dipuasakan selama 8 jam (sejak malam hari) minum tetap diberikan dan pagi hari dilakukan penimbangan terakhir. Selanjutnya dilakukan pembiusan pada tikus dengan ether didalam toples pembiusan. Setelah 2 menit tikus tidak bergerak dan mata meredup, selanjutnya kulit perut tikus disayat dengan pisau bedah sampai terlihat jantungnya, darah diambil dengan alat suntik 5 ml sebanyak 3 ml. Setelah darah diambil dilakukan pembiusan sampai tikus mati.

4.9 Pengambilan data

4.9.1 Pemeriksaan kadar glukosa serum

Kadar glukosa serum ditentukan dengan metode enzimatik (GOD-PAP). Dengan adanya oksigen atau udara, glukosa dioksidasi oleh enzim glukosa oksidase (GOD) menjadi asam glukonat disertai pembentukan H_2O_2 . Dengan adanya enzim peroksidase (POD), H_2O_2 akan menghasilkan H_2O . Kadar glukosa serum ditentukan berdasarkan intensitas warna violet yang terbentuk dan diukur dengan

spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm. Pengukuran dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya.

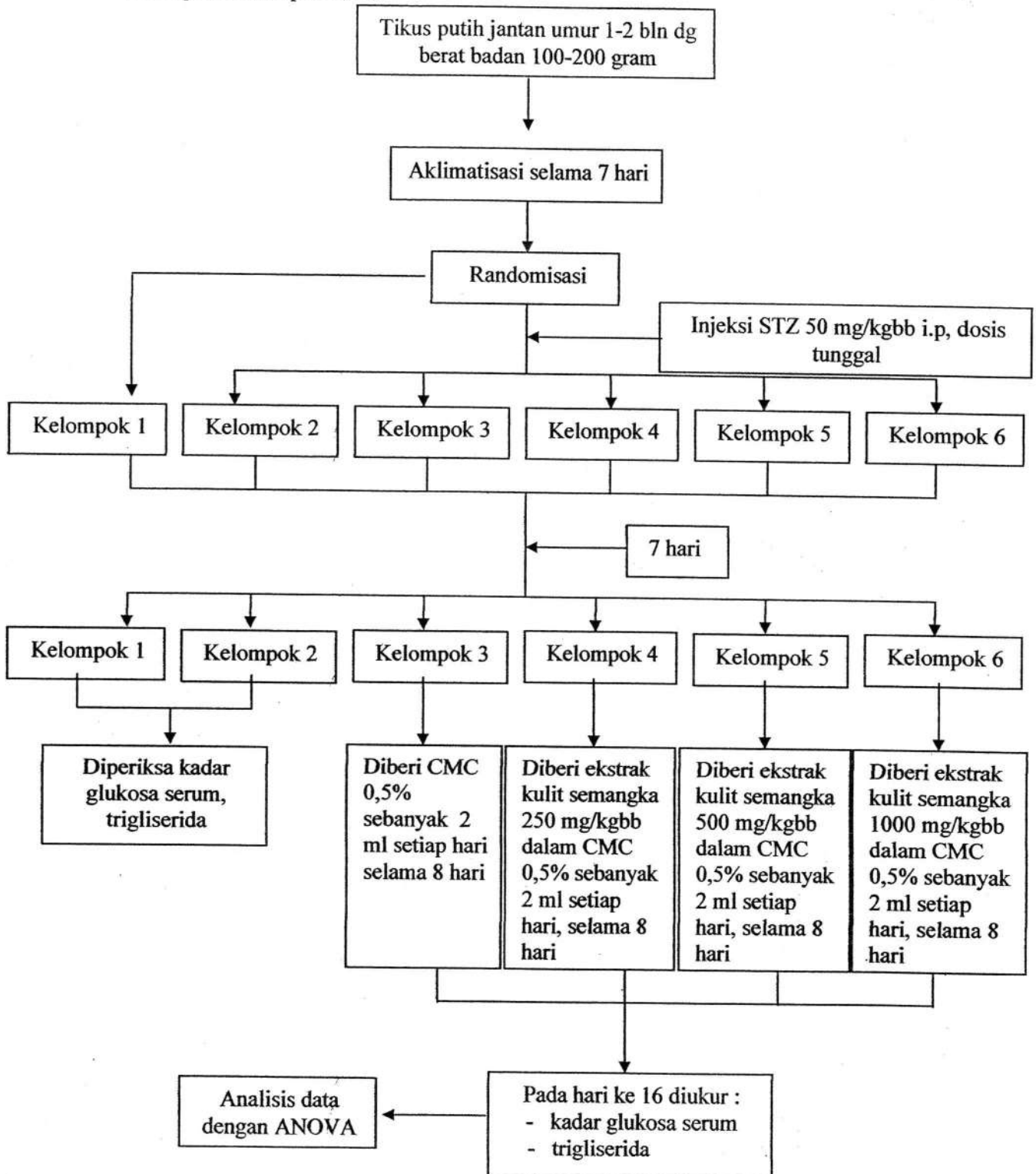
4.9.2 Pemeriksaan kadar trigliserida

Trigliserida diukur dengan menggunakan metode *triglycerides* GPO-PAP, yaitu hidrolisis enzimatis trigliserida diikuti pelepasan gliserol. Dengan adanya air, trigliserida dihidrolisis oleh enzim lipase menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Gliserol kemudian diubah menjadi gliserol – 3 – fosfat oleh enzim gliserol kinase (GK) dan ATP. Dengan adanya GPO, gliserol – 3 – fosfat akan diubah menjadi dihidroksi aseton fosfat disertai pembentukan H_2O_2 . Dengan adanya enzim peroksidase, H_2O_2 akan menghasilkan H_2O . Kadar trigliserida serum ditentukan berdasarkan intensitas warna violet yang terbentuk dan diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 546 nm. Pengukuran dilakukan di Balai Laboratorium Kesehatan Daerah Surabaya.

4.10 Teknik analisis data

Teknik analisis data menggunakan statistik Analisa Varian (ANOVA) satu arah (dengan asumsi data homogen dan distribusi normal) dengan tingkat kesalahan 5 %. Jika terdapat perbedaan yang bermakna, maka untuk mengetahui beda antar perlakuan dipergunakan Uji Beda Nyata Terkecil atau *Least Significant Difference* (LSD).

4.11 Operasional penelitian



Gambar 4.2. Prosedur kerja penelitian

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Data Hasil Penelitian kelompok normal dan kelompok DM

5.1.1 Data berat badan, kadar glukosa dan trigliserida

Hasil analisis untuk berat badan awal, berat badan akhir, kadar glukosa dan trigliserida serum pada kelompok normal dan kelompok Diabetes Melitus dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

Tabel 5.1 Nilai rerata dan simpang baku berat badan awal, berat badan akhir dan variabel tergantung pada dua kelompok

Kelompok		BB Awal (gram)	BB Akhir (gram)	Glukosa (mg/dl)	Trigliserida (mg/dl)
K1 n = 5	Rerata	157.00	158.00	110.80	50.00
	Simpang baku	9.083	13.038	9.445	25.788
K2 n = 4	Rerata	162.50	155.00	461.75	643.00
	Simpang baku	15.546	19.149	45.705	539.568

5.1.2 Uji normalitas kelompok normal dan kelompok DM

Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel dilakukan untuk berat badan awal, berat badan akhir, kadar glukosa, dan trigliserida serum pada kelompok normal dan kelompok Diabetes Melitus. Besar signifikansi (probabilitas = p) hasil uji normalitas berat badan awal, berat badan akhir dan variabel tergantung pada kelompok normal dan kelompok DM adalah $p > 0,05$, sehingga data tersebut berdistribusi normal. Hasil uji normalitas kelompok normal dan kelompok DM selengkapnya dapat dilihat pada tabel berikut :

Tabel 5.2. Hasil uji normalitas data

Variabel	Sig.
Berat badan awal	0,857
Berat badan akhir	0,742
Kadar glukosa	0,282
Kadar trigliserida	0,236

5.1.3 Uji homogenitas variansi kadar glukosa dan trigliserida kelompok normal dan Diabetes Melitus

Untuk mengetahui homogenitas variansi data dilakukan uji *Levene Test* pada variabel kelompok normal dan kelompok Diabetes Melitus. Signifikansi pada data kadar glukosa adalah $p > 0,05$ sehingga variansi data tersebut homogen, sedangkan trigliserida tidak homogen dengan $p < 0,05$. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel. 5.3. Hasil uji homogenitas variansi kadar glukosa dan trigliserida kelompok normal dan kelompok DM

Variabel	Sig.
Kadar glukosa	0,027
Kadar trigliserida	0,000

5.1.4 Hasil uji beda kadar glukosa dan trigliserida kelompok normal dan Diabetes Melitus

Untuk mengetahui beda variabel kadar glukosa, dan trigliserida dilakukan uji beda antar kelompok normal dan Diabetes Melitus dengan menggunakan *Independent T-Test*. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4. Hasil uji beda variabel tergantung pada kelompok normal dan kelompok diabetes mellitus

Variabel dependen	Kelompok		Sig. (p)
	Normal N=5	Diabetes N=4	
Glukosa (Mean ±SD)	110.80 ± 9.445	461.75 ± 45.705	0,000
Trigliserida (Mean ±SD)	50.00 ± 25.788	643.00 ± 539.568	0,115

Hasil uji beda dengan *Independent T-test* penelitian tahap awal selengkapnya dapat dilihat pada lampiran.

Dari tabel 5.4 tampak bahwa kadar glukosa kelompok normal berbeda secara bermakna dengan kelompok diabetes melitus dengan $p < 0,05$, sedangkan kadar trigliserida tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok diabetes dengan $p > 0,05$.

5.2 Data Hasil Penelitian Kelompok Kontrol dan Kelompok Perlakuan

5.2.1 Data berat badan, kadar glukosa dan trigliserida

Hasil analisis berat badan awal, berat badan akhir, perubahan berat badan, kadar glukosa dan trigliserida serum antara kelompok kontrol, kelompok perlakuan pemberian ekstrak kulit semangka dengan dosis 250 mg/kg bb/hari, 500 mg/kg bb/hari dan 1000 mg/kg bb/hari dapat dilihat pada tabel 5.5

Tabel 5.5 Nilai rerata dan simpang baku berat badan awal, berat badan akhir dan variabel tergantung pada dua kelompok

Kelompok		BB Awal (gram)	BB Akhir (gram)	Glukosa (mg/dl)	Trigliserida (mg/dl)
K positif n =5	Rerata	146.00	138.00	548.00	158.80
	Simpang baku	10.840	9.083	84.425	38.926
K ekstrak 250 mg n = 5	Rerata	186.00	178.00	246.20	63.80
	Simpang baku	11.402	11.511	11.189	24.345
K ekstrak 500 mg n = 5	Rerata	159.00	156.00	144.40	68.60
	Simpang baku	37.815	32.288	11.194	20.367
K. ekstrak 1000 mg n = 5	Rerata	134.00	136.00	149.00	21.366
	Simpang baku	6.519	7.416	26.60	9.555

5.2.2 Uji Normalitas kelompok kontrol dan perlakuan

Hasil uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* satu sampel dilakukan untuk perubahan berat badan awal dan akhir serta kadar glukosa dan trigliserida pada kelompok kontrol positif, kelompok ekstrak kulit semangka 250 mg/kg bb/hari, 500 mg/kg bb/hari, 1000 mg/kg bb/hari, dan untuk semua kelompok tersebut berdistribusi normal ($p > 0,05$), seperti yang tampak pada Tabel 5.6

Tabel 5.6 Hasil uji normalitas data

Variabel	Sig.
Berat badan awal	0,273
Berat badan akhir	0,195
Kadar glukosa	0,118
Kadar trigliserida	0,686

5.2.3 Uji Homogenitas variansi kadar glukosa dan trigliserida kelompok kontrol dan perlakuan

Untuk mengetahui homogenitas variansi data dilakukan uji *Levene Test* pada variabel tergantung kelompok kontrol positif dan kelompok ekstrak kulit semangka dosis 250 mg/kgbb/hari, 500 mg/kgbb/hari, dan 1000 mg/kgbb/hari. Signifikansi pada variansi data kadar glukosa dan trigliserida adalah $p > 0,05$ sehingga data tersebut memiliki variansi homogen. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel di bawah ini.

Tabel 5.7. Hasil uji homogenitas variansi kadar glukosa dan trigliserida kelompok kontrol dan perlakuan

Variabel	Sig.
Kadar glukosa	0,164
Kadar trigliserida	0,216

Pada penelitian ini diperoleh data kadar glukosa dan trigliserida berdistribusi normal dan memiliki variansi homogen antar kelompok, sehingga dapat dilanjutkan pada uji Anova.

5.2.4 Hasil Analisis Varians

Untuk mengetahui variabel tergantung apa saja yang berbeda pada seluruh anggota kelompok akan diuji menggunakan uji statistik analisis varians (Anova). Hasil uji Anova untuk seluruh kelompok terhadap variabel dependen seperti pada tabel 5.8.



Tabel 5.8. Hasil uji beda dengan anova variabel tergantung pada kelompok kontrol positif dan ekstrak kulit semangka

Variabel tergantung	F _{hitung}	Sig.
Kadar glukosa	47.474	0,000*
Kadar trigliserida	17.652	0,000*

Tanda * menunjukkan berbeda bermakna

Dari tabel di atas tampak bahwa kadar glukosa darah dan trigliserida berbeda secara bermakna dengan $p < 0,05$ antar kelompok kontrol positif, dengan ekstrak kulit semangka 250mg/kgbb/hari, 500 mg/kgbb/hari, 1000 mg/kgbb/hari. Hasil selengkapnya dapat dilihat di lampiran.

5.2.5 Hasil Uji LSD

Untuk mengetahui antar kelompok mana yang berbeda, dilanjutkan dengan uji LSD. Pada penelitian ini uji LSD dilakukan pada variabel kadar glukosa dan trigliserida karena dari hasil uji beda diperoleh hasil perbedaan yang bermakna. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.9.

Tabel 5.9. Hasil uji beda dengan LSD pada variabel kadar glukosa

Variabel Tergantung	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Rerata Perbedaan (I -J)	Standart Error	Sig.
Glukosa	Kontrol positif (K 3) N = 5	Ekstrak 250 mg	301.80*	27.990	0,000
		Ekstrak 500 mg	403.60*	27.990	0,000
		Ekstrak 1000 mg	399.00*	27.990	0,000
	Ekstrak 250 mg (K 4) N = 5	Kontrol positif	-301.80*	27.990	0,000
		Ekstrak 500 mg	101.80*	27.990	0,002
		Ekstrak 1000 mg	97.20*	27.990	0,003
	Ekstrak 500 mg (K 5) N = 5	Kontrol positif	-403.60*	27.990	0,000
		Ekstrak 250 mg	-101.80*	27.990	0,002
		Ekstrak 1000 mg	-4.60	27.990	0,872
	Ekstrak 1000 mg (K 6) N= 5	Kontrol positif	-399.00*	27.990	0,000
		Ekstrak 250 mg	-97.20*	27.990	0,003
		Ekstrak 500 mg	4.60	27.990	0,872

Berdasarkan tabel 5.9, terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) untuk kadar glukosa antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak kulit semangka dosis 250 mg/kg bb/ hari ($p = 0,000$), 500 mg/kg bb/hari ($p = 0,000$) dan 1000 mg/kg bb ($p = 0,000$). Dari tabel tersebut juga dapat dilihat ada perbedaan yang bermakna antara kelompok ekstrak 250 mg/kg bb dengan kelompok ekstrak 500 mg/kg bb ($p = 0,002$) dan kelompok ekstrak 1000 mg/kg bb ($p = 0,003$). Kelompok ekstrak 500 mg/kg bb tidak berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak 1000 mg/kg bb ($p = 0,872$).

Tabel 5.10. Hasil uji beda dengan LSD pada variabel kadar trigliserida

Variabel Tergantung	(I) Kelompok	(J) Kelompok	Rerata Perbedaan (I -J)	Standart Error	Sig.
Trigliserida	Kontrol positif (K 3) N = 4	Ekstrak 250 mg	95.00*	16.168	0,000
		Ekstrak 500 mg	90.20*	16.168	0,000
		Ekstrak 1000 mg	132.20*	16.168	0,000
	Ekstrak 250 mg (K 4) N = 4	Kontrol positif	-95.00*	16.168	0,000
		Ekstrak 500 mg	-4.80	16.168	0,770
		Ekstrak 1000 mg	37.20*	16.168	0,035
	Ekstrak 500 mg (K 5) N = 4	Kontrol positif	-90.20*	16.168	0,000
		Ekstrak 250 mg	4.80	16.168	0,770
		Ekstrak 1000 mg	42.00*	16.168	0,019
	Ekstrak 1000 mg (K 6) N = 4	Kontrol positif	-132.20*	16.168	0,000
		Ekstrak 250 mg	-37.20*	16.168	0,035
		Ekstrak 500 mg	-42.00*	16.168	0,019

Berdasarkan tabel di atas, terdapat perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) untuk kadar trigliserida antara kelompok kontrol positif dengan kelompok ekstrak kulit semangka dosis 250 mg/kg bb/ hari ($p = 0,000$), 500 mg/kg bb/hari ($p = 0,000$) dan 1000 mg/kg bb ($p = 0,000$). Dari tabel tersebut juga dapat dilihat ada perbedaan yang bermakna antara kelompok ekstrak 250 mg/kg bb dengan kelompok ekstrak 1000 mg/kg bb/hari ($p = 0,035$), tetapi tidak ada perbedaan

yang bermakna dengan kelompok ekstrak 500mg/kgbb/hari ($p= 0,770$).
Kelompok ekstrak 500mg/kgbb/hari berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak 1000mg/kgbb/hari ($p= 0.019$)

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang memenuhi kriteria sebagai penelitian eksperimen murni (*true experiment*) yaitu kriteria perlakuan, kelompok perlakuan, kelompok kontrol, replikasi dan randomisasi (Zainuddin, 1995).

Rancangan penelitian yang digunakan adalah acak lengkap, karena penelitian dilakukan dengan membagi hewan coba yang sudah mengalami DM menjadi lima kelompok dengan jumlah yang sama secara acak. Pengukuran kadar glukosa dan trigliserida serum dilakukan dengan mengambil darah secara intrakardial. Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama lebih kurang delapan jam dan hanya diberikan minum. Kemudian dilakukan pembiusan dengan menggunakan eter sampai tikus tidak bergerak lagi.

6.1. Pengaruh penyuntikan streptozotosin

Pada penelitian ini, hewan coba yang diberikan injeksi STZ 50 mg/kg bb intraperitoneal dosis tunggal, pada semua kelompok telah mengalami DM yaitu kadar glukosa darah telah di atas 250 mg/dl lebih tinggi secara bermakna dari kelompok yang tidak diinjeksi dengan STZ dan diikuti dengan peningkatan kadar trigliserida.

Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Cattopadhyay dan Bandyopadhyay, (2005) dan Joeliantina, (2008) pada penelitian dengan bahan herbal sebagai antidiabetik, dosis STZ yang digunakan untuk menginduksi DM adalah dosis tunggal 50 mg/kg bb dan menunjukkan hasil hiperglikemia pada hari

ke tiga dan ketujuh. Dengan dosis ini diduga telah terjadi DM tipe 2 dengan alasan, kelompok kontrol diabetes dapat tetap hidup sampai hari ke 15 dan kelompok yang diterapi dengan obat sulfonilurea dapat berespon dengan baik, walaupun tanpa diberikan insulin (Cattopadhyay dan Bandyopadhyay, 2005).

Pemberian STZ menyebabkan perubahan DNA sel β pankreas yaitu terjadi fragmentasi DNA melalui alkilasi DNA. STZ merupakan donor NO dalam dosis besar, dimana NO dapat menyebabkan destruksi sel β pankreas dan menyebabkan kerusakan DNA (Szkudelski, 2001). STZ juga memproduksi ROS yang menyebabkan fragmentasi DNA dan menimbulkan kerusakan sel. Terbentuknya anion superoksida dihasilkan dari aksi STZ di mitokondria dan peningkatan aktifitas xantin oksidase. Hal ini ditunjukkan dengan adanya hambatan oleh STZ pada siklus kreb sehingga menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Efek ini secara kuat membatasi produksi ATP mitokondria dan menyebabkan pengurangan nukleotida ini dalam sel β pankreas (Szkudelski, 2001).

Aksi sinergis NO dan ROS juga berperan dalam terjadinya fragmentasi DNA. NO dan ROS dapat membentuk peroksinitrit yang dapat menyebabkan kerusakan DNA. Kerusakan DNA yang terjadi setelah pemberian STZ akan mengaktifasi poli ADP ribosilasi. Proses ini menyebabkan penurunan NAD seluler dan ATP yang selanjutnya menimbulkan hambatan sintesis dan sekresi insulin (Szkudelski, 2001). Jadi STZ juga merupakan donor NO seperti juga kulit semangka, tetapi NO yang dihasilkan dari STZ disertai dengan pembentukan ROS yang tinggi yang mengakibatkan kerusakan DNA sel β pankreas. NO yang berasal dari kulit semangka berperan sebagai mediator yang berfungsi untuk

meningkatkan sekresi insulin dan translokasi GLUT 4 ke membran plasma.

6.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Semangka

6.2.1 Peran ekstrak kulit semangka dalam menurunkan kadar glukosa serum

Hasil uji analisis varians antar kelompok terhadap kadar glukosa serum menunjukkan hasil berbeda secara bermakna $p = 0,000$. Uji LSD juga menunjukkan kelompok kontrol positif berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak kulit semangka dosis 250 mg/kg/hari, 500 mg/kg/hari dan 1000 mg/kg bb/hari dan berbeda bermakna dengan dosis. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kulit semangka berpengaruh terhadap penurunan kadar glukosa serum Hal ini disebabkan karena kulit semangka mengandung sitrulin.

Sitrulin berfungsi sebagai prekursor pembentukan NO, dimana NO terlibat langsung dalam regulasi sekresi insulin dengan menyebabkan depolarisasi membran serta peningkatan konsentrasi Ca^{2+} intraselular. NO yang berada di dalam sel, akan menyebabkan timbulnya retensi K^+ intraseluler yang menimbulkan depolarisasi membran, kemudian membuka Ca^{2+} channel sehingga Ca^{2+} influx meningkat, maka terjadilah sekresi insulin, selanjutnya merangsang glikogenesis di hepar sehingga menurunkan kadar glukosa darah. (Laffranchi, 2002).

Pemberian ekstrak kulit semangka dosis 250 mg/kg bb/hari berbeda secara bermakna dengan kelompok ekstrak 500 mg/kg bb/hari dan kelompok 1000mg/kgbb/hari. Hal ini kemungkinan karena mekanisme peningkatan sekresi insulin oleh NO. Semakin banyak NO yang dihasilkan dari kulit semangka,

semakin tinggi insulin yang dihasilkan dan akhirnya akan menurunkan kadar glukosa serum. Dalam hal ini kerja dari NO sesuai dengan kerja obat anti diabetik oral golongan sulfonilurea yaitu meningkatkan sekresi insulin (Suparman.2003)

Dosis 500 mg ekstrak air kulit semangka tidak berbeda dengan dosis 1000 mg, artinya pemberian 500 mg mempunyai efek sama dengan pemberian 1000 mg. Hal ini kemungkinan karena peran NO yang menyebabkan translokasi GLUT 4 pada permukaan membran sel.

Translokasi GLUT 4 intraseluler yang dirangsang oleh NO, sebenarnya dimulai dari ikatan insulin pada reseptor di bagian ekstraseluler. Ikatan ini memacu terbentuknya beberapa reaksi fosforilasi yang sangat penting bagi kerja insulin. Auto-fosforilasi pada gugus tirosin dari protein reseptor yang dirangsang oleh insulin akan memperkuat kerja enzim tirosin kinase, yang kemudian memfosforilasi beberapa protein intraseluler termasuk IRS-1. Fosforilasi dari IRS-1, mengakibatkan terjadinya sinyal – sinyal sekunder yang menghubungkan reseptor insulin pada transpor glukosa trans-membran. Selanjutnya aktivasi fosfoinositol-3 kinase ini diperlukan untuk stimulasi transpor glukosa oleh insulin dan diperlukan untuk menginduksi translokasi GLUT 4 ke membran plasma (Larsen *et al*, 2003).

Pada dosis 500 mg, NO sudah maksimal dalam meningkatkan kepekaan reseptor insulin melalui translokasi GLUT 4 ke membran plasma yang menyebabkan transduksi sinyal. Dalam hal ini mekanisme kerja NO mirip dengan obat antidiabetik oral golongan *thiazolidinediones* (TZDs) atau *glitazones* sebagai sensitizer insulin. Mekanismenya adalah meningkatkan ambilan glukosa di jaringan perifer dan juga menurunkan produksi glukosa hati (Dagogo *et al*, 1997).

Untuk mengetahui secara pasti mekanisme kerja NO sebagai senyawa yang dapat menurunkan kadar glukosa darah, dapat dilakukan penelitian lanjutan dengan memeriksa HOMA B dan HOMA R pada hewan coba yang dibuat menderita DM.

6.2.2 Peran ekstrak kulit semangka dalam menurunkan kadar trigliserida

Hasil uji analisis varians antar kelompok terhadap kadar trigliserida pada penelitian ini menunjukkan hasil berbeda secara bermakna $p = 0,000$. Hasil uji tersebut menunjukkan bahwa perlakuan pemberian ekstrak kulit semangka dengan dosis 250, 500 dan 1000 mg/kg bb berpengaruh terhadap penurunan kadar trigliserida serum.

Hipertrigliseridemia merupakan salah satu komplikasi pada penderita DM. Sama halnya dengan hiperkolesterolemia, hipertrigliseridemia juga memerlukan pengobatan dalam jangka panjang (Suparman, 2003).

Secara normal triasilgliserol tidak terakumulasi dalam hati, tetapi akan diangkut dari hati dalam bentuk VLDL. Pada DM kadar asam lemak bebas di dalam darah akan meningkat, sehingga lebih banyak lagi asam lemak bebas yang ditarik ke dalam hati. Pada keadaan ini lipogenesis akan terhambat sehingga asam lemak bebas merupakan sumber utama asam lemak triasilgliserol di hati dan VLDL (Murray et al., 2003).

Penurunan trigliserida disebabkan adanya peningkatan sekresi insulin akibat rangsangan NO. Aktifitas insulin yang meningkat menyebabkan peningkatan pengikatan antara insulin dengan reseptor insulin yang selanjutnya menyebabkan translokasi GLUT 4 pada permukaan membran sel yang mengakibatkan pengangkutan glukosa menjadi lebih optimal, sehingga terjadi

penurunan kadar glukosa dalam darah. Penggunaan glukosa yang meningkat oleh jaringan akan mengakibatkan penurunan mobilisasi lemak dari jaringan. Hal ini akan menurunkan kadar asam lemak bebas dalam darah. Asam lemak bebas merupakan bahan bakul sintesis trigliserida di hati(Murray et al., 2003).

Dosis 250 mg dan 500 mg ekstrak air kulit semangka memberikan efek yang sama dalam menurunkan kadar trliserida, diduga NO sudah maksimal dalam meningkatkan kepekaan resptor insulin melalui translokasi GLUT 4 ke membran plasma yang menyebabkan transduksi sinyal seperti pada penurunan glukosa darah.

Dosis 1000 mg ekstrak air kulit semangka memberikan efek maksimal dalam menurunkan kadar trigliserida. Hal ini sesuai dengan kerja NO yang meningkatkan sekresi insulin. Semakin tinggi insulin, mobilisasi lemak dari jaringan akan semakin turun, sehingga akan menurunkan kadar asam lemak bebas dalam darah yang akhirnya akan menurunkan kadar trigliserida.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

- 7.1.1 Pemberian ekstrak air kulit semangka dosis 250 mg/kg bb/hari, 500 mg/kg bb/hari, dan 1000 mg/kg bb/hari dapat menurunkan kadar glukosa serum pada tikus putih jantan yang diinjeksi streptozotisin dosis tunggal 50 mg/kg bb yang diberikan secara intraperitoneal dengan dosis optimal pada pemberian ekstrak air kulit semangka dosis 500 mg/kg bb/hari
- 7.1.2 Pemberian ekstrak air kulit semangka dosis 250 mg/kg bb/hari, 500 mg/kg bb/hari, dan 1000 mg/kg bb/hari dapat menurunkan kadar trigliserida pada tikus putih jantan yang diinjeksi streptozotisin dosis tunggal 50 mg/kg bb yang diberikan secara intraperitoneal dosis optimal pada pemberian ekstrak air kulit semangka dosis 1000 mg/kg bb/hari

7.2 Saran

- 7.2.1 Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme kerja ekstrak kulit semangka dalam meningkatkan sensitifitas insulin dengan memeriksa HOMA B dan HOMA R pada tikus yang dibuat Diabetes Melitus.

DAFTAR PUSTAKA

- Alberti KG, Zimmet PZ, 1998. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and Its Complications. *Diagnosis and Classification Diabetes Mellitus* : Provisional Report of a WHO consultation. *Diabet Med*; 15 : 539 – 53
- Arulmozhi DK, Veeranjanyulu A, Bodhankar SL, 2004. Neonatal Streptozotocin-induced rat model of type 2 diabetes mellitus. *Indian J Pharmacol*, Vol 36, Issue 4, 217 – 221
- Cattopadhyay RR, Bandyopadhyay M, 2005. Effect of *Azadirachta indica* leaf extract on serum lipid profile changes in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *African Journal of Biomedical Research*, Vol 8, NUM.2, pp. 101-104
- Collins JK, Wu G, Perkins-VP, Spears K, Claypool PL, Baker RA, Clevidence BA, 2007. Watermelon consumption increases plasma arginine concentrations in adults. *Nutrition*. Mar;23(3):261-6.
- Cooke JP, Dzau VJ, 1997. Nitric oxide synthase : role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med*. 48:489-509
- Cosentino, F, Hishikawa, K, Katusic, ZS, Luscher, TF, 1997. High glucose increases nitric oxide synthase expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells. *Circulation*. 96:25-28.
- Creager MA, Luscher TF, Cosentino F, Beckham JA, 2003. Diabetes and Vascular disease : pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part 1. *Circulation Journal of The American Heart Association*. pp 1527 – 1530
- Curis E, Nicolis I, Moinard C, 2005. Almost all about citrulline in mammals. *Amino Acids* ;29;177 – 205
- Dagogo, JS and Santiago, JV. 1997. Pathophysiology of the type 2 diabetes and modes of action of therapeutic interventions. *Arch Intern Med*.157: 1802 - 1817
- Dalimartha, S, 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Tradisional* Jilid 3, Puspa Swara , Jakarta
- DeFronzo RA, 1999. Pharmacology therapy for type 2 diabetes mellitus. *Annal of Internal Medicine*, Volume 131, Number 4, pp: 281 – 303
- Dillon EL, Knabe DA, Wu G, 1999 Lactate inhibits citrulline and arginine synthesis from proline in pig enterocytes. *Am J Physiol*; 276; G1079 – 1086
- Dods RF, 1996. Diabetes Mellitus, *In Clinical Chemistry: Theory, Analysis, Correlation*, Eds, Kaplan L.A, Pesce A.J, 3rd Edition, Mosby Inc, USA, p 613-640

- Duplain H, Burcelin R, Sartori C, Cook S, Egli M, Lepori M, Vollenweider P, Pedrazzini T, Nicod P, Thorens B, Scherrer U, 2001. Insulin resistance, hyperlipidemia, and hypertension in mice lacking endothelial nitric oxide synthase. *Circulation* 104:342-5
- Foster DW, 1998. Diabetes Mellitus, *In Harrison's Principles of Internal Medicine*, Eds Fauci, Braunwald, Isselbacher, et al, 14th Edition, McGraw-Hill Companies, USA, p. 623-75
- Greenspan FS, Baxter JD. 1994. *Basic and Clinical Endocrinology* 4th., hal : 43 – 49; 54; 748-749
- Hanafiah KA, 2003. *Rancangan Percobaan, Teori & Aplikasi*. Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, Palembang. Penerbit PT RajaGrafindo Persada Jakarta
- Harrison DG, 1998. Cellular and molecular mechanisms of endothelial dysfunction. *J. Clin. Invest.* 100:2153-2157.
- IPTEKnet, 2005. *Teknologi budidaya Tanaman Pangan*. BPPT dan Ristek
- Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci A, et al., 2000. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, Vol III. Edisi Bahasa Indonesia Oleh : Asdie, Jakarta: EGC, hal 2196 - 2201
- Jakus V, 2000. *The Role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease*. Bratisl Lek Listy, 101 (10) : 541-551
- Joeliantina, A, 2008. Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Jamblang (*Eugenia jambolana*) Terhadap Kadar Glukosa dan Profil Lemak Serum Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Streptozotisin. *Tesis*, Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya
- Kapur S, Bedard S, Marcotte B, Cote CH, Marette A, 1997. Expression of nitric oxide synthase in skeletal muscle: A novel role for nitric oxide as a modulator of insulin action. *Diabetes* 46:1691-700
- Keefer, LK. "Nitric oxide-releasing compounds: From basic research to promising drugs." *Modern Drug Discovery*. November/December 1998. 20-29.
- Kobzik L, Stringer B, Balligand JL, Reid MB, Stamler JS, 1995. Endothelial type nitric oxide synthase in skeletal muscle fibers: Mitochondrial relationships. *Biochem Biophys Res Commun* 211:375-8
- Kusumawati D, 2004. Bersahabat dengan hewan coba, Gajah Mada University Press, Hal. 8,68,82-90

- Lane P, Gross SS, 1999. Cell signaling by nitric oxide. *Semin Nephrol* 19:215-29
- Laffranchi R., Gogvadze V., Richter C. and Spinass G. A., 2002. Nitric Oxide (Nitrogen Monoxide, No) Stimulates Insulin Secretion by Inducing Calcium Release from Mitochondria
- Larsen K., 2003. *Williams Textbook of Endocrinology 10th*. Hal : 45-49
- Lee WJ, 2009. Nitric Oxide Increases Insulin Sensitivity in Skeletal Muscle by Improving Mitochondrial Function and Insulin Signaling. *Korean Diabetes J*, 33: 198 – 205
- Lira VA, Soltow QA, Long JH, Betters JL, Sellman JE, Criswell DS, 2007. Nitric oxide increases GLUT4 expression and regulates AMPK signaling in skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 293:E1062-8
- Lucotti P, Setola E, Monti LD, Galluccio E, Costa S, Sandoli EP, Fermo I, Rabaiotti G, Gatti R, Piatti P. 2006. Beneficial effects of a long-term oral L-arginine treatment added to a hypocaloric diet and exercise training program in obese, insulin-resistant type 2 diabetic patients. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. Nov;291(5):E906-12
- Marks DB, Marks AD, Smith CM, 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar, Sebuah Pendekatan klinis*. Edisi Bahasa Indonesia oleh : Bram U, Pendit, Jakarta EGC, hal 513 – 529
- Micol V, Larson H, Edeas B, 2007. Watermelon extract stimulates antioxidant enzymes and improves glycemic and lipid metabolism. *Agrofood Industry Hitech* Anno 18 No1
- Moncada S, Higgs A, 1993. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 329:2002-12
- Morino K, Petersen KF, Shulman GI, 2006. Molecular mechanisms of insulin resistance in humans and their potential links with mitochondrial dysfunction. *Diabetes* 55:S9-15
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, 2003. *Biokimia Harper*, Edisi 25, EGC, Jakarta, hal 203 – 261
- Nisoli E, Clementi E, Paolucci C, Cozzi V, Tonello C, Sciorati C, Bracale R, Valerio A, Francolini M, Moncada S, Carruba MO, 2003. Mitochondrial biogenesis in mammals: The role of endogenous nitric oxide. *Science* 299:896-9

- Ong WT, 2009. *Watermelon : Summer's Number One Fruit*. <http://www.philstar.com/Article.aspx?articleId=461165&publicationSubCategoryId=90>
- Payne C, 2002. *Complication of Diabetes*. Diabetes – Lecture 2, Health Sciences, Department of Pediatrics, p. 200
- PB PERKENI. 2006. *Konsensus Pengelolaan Diabetes Melitus Tipe 2 di Indonesia*, Jakarta
- Powers AC. 2004. *Diabetes Mellitus*. In Kaspers DL, Braunwald E, Fauci A, Hauser SL, Longo DL, Jamesson JL, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 16th ed. New York : Mc Graw Hill Co.;p. 2152-80
- Rokiban A, 2005. Uji Efek Ekstrak Kulit Buah Semangka (*Citrulus Vulgaris* Schrad) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Kelinci Jantan Secara Oral, *Skripsi*, Jurusan Farmasi, FMIPA UTB, Lampung
- Romero MJ, Platt DH, Caldwell RB, Caldwell RW, 2006. Therapeutic Use of Citrulline in Cardiovascular Disease. *Cardiovascular Drug Review*. Vol 24, No. 3 – 4, pp 275 – 290
- Sacks DB, 2001. Carbohydrates, *In Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, Eds Burtis C.A, Ashwood E.R, 5th Edition, W.B. Saunders Company, USA, p 427-461
- Shearer JD, Richards JR, Mills CD, Caldwell MD, 1997 Differential regulation of macrophage arginin metabolism: A proposed role in wound healing. *Am J Physiol*; 272; E 181 – 190
- Srinivasan K, and Ramaro P, 2007. Aminimal Model in type 2 diabetes research : An overview, *Indian Journal Med Res* ,125, p 451 – 472
- Subroto, 2006. *Ramual Herbal untuk Diabetes Melitus*. Penebar Swadaya, hal.20-50
- Suparman, 2003. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Gaya Baru, Jakarta, hal 571
- Steel, R.G.D., dan J.H. Torrie, 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistik, Suatu Pendekatan Biometrik*. Terjemahan. Judul Asli : Principles and Procedures of Statistic, a Biometrical Approach. Penerjemah : B. Sumantri. Gramedia, Jakarta.
- Szkudelski T, 2001. The mechanism of alloxan and streptozotosin action in B cell of the rat pancreas: Minireview, *Physiological Research*. 50: 536 - 546
- World Health Organization (WHO), 2006. Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and intermediate hyperglycemia, Report of a WHO/IDF Consultation

Wild SH, Roglic G, Green A, Sicree R, King H, 2004. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Response to Rathman and Giani. *Diabetes Care*. 27:2569-2570

Zainuddin M, 1995. *Metodologi Penelitian*. Universitas Airlangga Surabaya, hal. 38 - 57

Lampiran 1



**KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")**

No. 20/EC/KEPK/FKUA/2010

KOMITE ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA, TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN BERJUDUL :

Pengaruh Pemberian Ekstrak Kulit Semangka (*Citrullus Vulgaris Schard.*) Terhadap Kadar Glukosa dan Kolesterol Total Tikus Putih (*Rattus Novergicus*) yang Diinduksi Streptozotosin

PENELITI UTAMA :

Sugiyanta (NIM: 090810207)

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN :

Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, dan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga

DINYATAKAN LAIK ETIK.

Surabaya, 4 Juni 2010



Lampiran 2

HASIL PENELITIAN

Kelompok	BB awal (gram)	BB akhir (gram)	Glukosa (mg/dl)	Trigliserida (mg/dl)
K.normal 1	145	150	112	93
K.normal 2	160	160	126	34
K.normal 3	170	180	102	55
K.normal 4	155	150	104	31
K.normal 5	155	150	110	37
K. injeksi STZ 1	180	180	401	1192
K. injeksi STZ 2	170	160	503	237
K. injeksi STZ 3	145	140	490	126
K. injeksi STZ 4	155	140	453	1017
K. injeksi STZ 5	mati			
K. kontrol 1	150	140	547	153
K. kontrol 2	155	135	436	227
K. kontrol 3	155	150	543	133
K. kontrol 4	130	125	674	145
K. kontrol 5	140	140	540	136
K. ekstrak 250 1	190	180	265	88
K. ekstrak 250 2	170	165	246	55
K. ekstrak 250 3	190	180	240	88
K. ekstrak 250 4	200	195	244	31
K. ekstrak 250 5	180	170	236	57
K. ekstrak 500 1	200	180	152	92
K. ekstrak 500 2	130	125	155	72
K. ekstrak 500 3	200	200	149	41
K. ekstrak 500 4	125	135	138	82
K. ekstrak 500 5	140	140	128	56
K. ekstrak 1000 1	135	135	153	24
K. ekstrak 1000 2	130	140	138	33
K. ekstrak 1000 3	125	125	177	31
K. ekstrak 1000 4	140	145	157	11
K. ekstrak 1000 5	140	135	120	34

Lampiran 3

HASIL ANALISIS DESKRIPSI BERAT BADAN

Deskriptif = Berat badan K1

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	5	145	170	157.00	9.083
berat badan akhir	5	150	180	158.00	13.038
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif = Berat badan K2

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	4	145	180	162.50	15.546
berat badan akhir	4	140	180	155.00	19.149
Valid N (listwise)	4				

HASIL UJI NORMALITAS DATA BERAT BADAN

NPar Tests = kelompok 1 dan 2

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		berat badan awal	berat badan akhir
N		9	9
Normal Parameters(a,b)	Mean	159.44	156.67
	Std. Deviation	11.844	15.000
Most Extreme Differences	Absolute	.202	.227
	Positive	.202	.227
	Negative	-.147	-.162
Kolmogorov-Smirnov Z		.605	.682
Asymp. Sig. (2-tailed)		.857	.742

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

HASIL ANALISIS DESKRIPTIF VARIABEL TERGANTUNG**Descriptives = kelompok normal (K1)****Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
glukosa 1	5	102	126	110.80	9.445
trigliserida 1	5	31	93	50.00	25.788
Valid N (listwise)	5				

Descriptives= kelompok diabetes (K 2)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
glukosa 2	4	401	503	461.75	45.705
trigliserida 2	4	126	1192	643.00	539.568
Valid N (listwise)	4				

UJI NORMALITAS DATA VARIABEL TERGANTUNG**NPar Tests= kelompok 1 dan 2****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		glukosa	trigliserida
N		9	9
Normal Parameters(a,b)	Mean	266.78	313.56
	Std. Deviation	187.192	455.179
Most Extreme Differences	Absolute	.330	.345
	Positive	.330	.345
	Negative	-.208	-.267
Kolmogorov-Smirnov Z		.989	1.034
Asymp. Sig. (2-tailed)		.282	.236

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

HASIL UJI BEDA VARIABEL TERGANTUNG DENGAN INDEPENDENT

T- TEST

Independent t-test glukosa kelompok 1 dan 2
Group Statistics

	KELOMPOK	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
glukosa	1	5	110.80	9.445	4.224
	2	4	461.75	45.705	22.852

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
glukosa	Equal variances assumed	7.833	.027	-17.008	7	.000	-350.95	20.635	-399.744	-302.156
	Equal variances not assumed			-15.102	3.206	.000	-350.95	23.239	-422.295	-279.605

Independent t-test trigliserida kelompok 1 dan 2
Group Statistics

	KELOMPOK	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
trigliserida	1	5	50.00	25.788	11.533
	2	4	643.00	539.568	269.784

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
trigliserida	Equal variances assumed	136.525	.000	-2.499	7	.041	-593.00	237.315	-1154.160	-31.840
	Equal variances not assumed			-2.196	3.011	.115	-593.00	270.031	-1450.590	264.590

Lampiran 4

HASIL ANALISIS DESKRIPTIF BERAT BADAN

Deskriptif = Berat badan kelompok kontrol positif (K 3)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	5	130	155	146.00	10.840
berat badan akhir	5	125	150	138.00	9.083
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif = Berat badan kelompok ekstrak 250 mg (K 4)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	5	170	200	186.00	11.402
berat badan akhir	5	165	195	178.00	11.511
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif = Berat badan kelompok ekstrak 500 mg (K 5)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	5	125	200	159.00	37.815
berat badan akhir	5	125	200	156.00	32.288
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif = Berat badan kelompok ekstrak 1000 mg (K 6)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
berat badan awal	5	125	140	134.00	6.519
berat badan akhir	5	125	145	136.00	7.416
Valid N (listwise)	5				

HASIL UJI NORMALITAS DATA BERAT BADAN**NPar Tests = Kelompok 3,4,5,6****One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		berat badan awal	berat badan akhir
N		20	20
Normal Parameters(a,b)	Mean	156.25	152.00
	Std. Deviation	27.476	24.028
Most Extreme Differences	Absolute	.223	.241
	Positive	.223	.241
	Negative	-.140	-.131
Kolmogorov-Smirnov Z		.997	1.079
Asymp. Sig. (2-tailed)		.273	.195

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

HASIL ANALISIS DESKRIPTIF VARIABEL TERGANTUNG**Deskriptif = kelompok kontrol positif (K 3)****Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
GLUKOSA3	5	436	674	548.00	84.425
TG3	5	133	227	158.80	38.926
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif = kelompok ekstrak 250 mg (K 4)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
GLUKOSA4	5	236	265	246.20	11.189
TG4	5	31	88	63.80	24.345
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif = kelompok ekstrak 500 mg (K 5)**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
GLUKOSA5	5	128	155	144.40	11.194
TG5	5	41	92	68.60	20.367
Valid N (listwise)	5				

Deskriptif = kelompok ekstrak 1000 mg (K 6)

Descriptive Statistics

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation
GLUKOSA6	5	120	177	149.00	21.366
TG6	5	11	34	26.60	9.555
Valid N (listwise)	5				

UJI NORMALITAS DATA VARIABEL TERGANTUNG

NPar Tests = kelompok 3,4,5,6

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		GLUKOSA	TG
N		20	20
Normal Parameters(a,b)	Mean	271.90	79.45
	Std. Deviation	173.600	55.116
Most Extreme Differences	Absolute	.266	.160
	Positive	.266	.160
	Negative	-.191	-.107
Kolmogorov-Smirnov Z		1.189	.715
Asymp. Sig. (2-tailed)		.118	.686

a Test distribution is Normal.

b Calculated from data.

Uji Homogenitas, Anova dan LSD untuk kelompok 3,4,5 dan 6

GLUKOSA

Descriptives

GLUKOSA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
3	5	548.00	84.425	37.756	443.17	652.83	436	674
4	5	246.20	11.189	5.004	232.31	260.09	236	265
5	5	144.40	11.194	5.006	130.50	158.30	128	155
6	5	149.00	21.366	9.555	122.47	175.53	120	177
Total	20	271.90	173.600	38.818	190.65	353.15	120	674

Test of Homogeneity of Variances

GLUKOSA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.940	3	16	.164

ANOVA

GLUKOSA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	541261.800	3	180420.600	92.116	.000
Within Groups	31338.000	16	1958.625		
Total	572599.800	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: GLUKOSA
LSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
3	4	301.80(*)	27.990	.000	242.46	361.14
	5	403.60(*)	27.990	.000	344.26	462.94
	6	399.00(*)	27.990	.000	339.66	458.34
4	3	-301.80(*)	27.990	.000	-361.14	-242.46
	5	101.80(*)	27.990	.002	42.46	161.14
	6	97.20(*)	27.990	.003	37.86	156.54
5	3	-403.60(*)	27.990	.000	-462.94	-344.26
	4	-101.80(*)	27.990	.002	-161.14	-42.46
	6	-4.60	27.990	.872	-63.94	54.74
6	3	-399.00(*)	27.990	.000	-458.34	-339.66
	4	-97.20(*)	27.990	.003	-156.54	-37.86
	5	4.60	27.990	.872	-54.74	63.94

* The mean difference is significant at the .05 level.

TRIGLISERIDA

Descriptives

TRIGLISERIDA

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
3	5	158.80	38.926	17.408	110.47	207.13	133	227
4	5	63.80	24.345	10.888	33.57	94.03	31	88
5	5	68.60	20.367	9.108	43.31	93.89	41	92
6	5	26.60	9.555	4.273	14.74	38.46	11	34
Total	20	79.45	55.116	12.324	53.66	105.24	11	227

Test of Homogeneity of Variances

TRIGLISERIDA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.660	3	16	.216

ANOVA

TRIGLISERIDA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	47260.950	3	15753.650	24.107	.000
Within Groups	10456.000	16	653.500		
Total	57716.950	19			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: TRIGLISERIDA

LSD

(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
3	4	95.00(*)	16.168	.000	60.73	129.27
	5	90.20(*)	16.168	.000	55.93	124.47
	6	132.20(*)	16.168	.000	97.93	166.47
4	3	-95.00(*)	16.168	.000	-129.27	-60.73
	5	-4.80	16.168	.770	-39.07	29.47
	6	37.20(*)	16.168	.035	2.93	71.47
5	3	-90.20(*)	16.168	.000	-124.47	-55.93
	4	4.80	16.168	.770	-29.47	39.07
	6	42.00(*)	16.168	.019	7.73	76.27
6	3	-132.20(*)	16.168	.000	-166.47	-97.93
	4	-37.20(*)	16.168	.035	-71.47	-2.93
	5	-42.00(*)	16.168	.019	-76.27	-7.73

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 5. Perhitungan konversi dosis ekstrak dari manusia ke tikus sediaan uji ekstrak kulit buah semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.)

Diketahui :

Dosis tradisional kulit semangka pada manusia adalah 100 g

Sampel segar 1kg = 25 g

$$\frac{100 \text{ g}}{1000 \text{ g}} \times 25 \text{ g} = 2,5 \text{ g}$$

Jadi dosis tradisional 100 g, setara dosis ekstrak sebesar = 2,5 g

Konversi dosis = dosis ekstrak x Faktor konversi

$$= 2,5 \text{ g} \times 0,018$$

$$= 0,045 \text{ g}$$

$$= 45 \text{ mg} / 200 \text{ g}$$

$$= 225 \text{ mg/kgBB}$$

Variasi dosis yang direncanakan :

P1 = 250 mg/KgBB/hari

P2 = 500 mg/KgBB/hari

P3 = 1000 mg/KgBB/hari

Lampiran 6. Skema kerja ekstraksi kulit buah semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.) dan uji farmakologi ekstrak kulit buah semangka (*Citrullus vulgaris* Schard.)

