EKSPRESI mRNA IRS-1 'DAN' HOMA IR PASCA PEMBERIAN MADU TRIGONA (*Tetragonula Sp*) PADA MENCIT HIPERGLIKEMIA

EXPRESSION mRNA IRS-1 'AND' HOMA IR POST INTERVENTION TRIGONA HONEY (Tetragonula Sp) IN HYPERGHLYCHEMIC BALB/C MICE

TRI DAMAYANTY SYAMSUL
C013171011

PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

EKSPRESI mRNA IRS-1 'DAN' HOMA IR PASCA PEMBERIAN MADU TRIGONA (*Tetragonula Sp*) PADA MENCIT HIPERGLIKEMIA

EXPRESSION mRNA IRS-1 'AND' HOMA IR POST INTERVENTION TRIGONA HONEY (Tetragonula Sp) IN HYPERGHLYCHEMIC BALB/C MICE

TRI DAMAYANTY SYAMSUL
C013171011

PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

EKSPRESI mRNA IRS-1 ‘DAN’ HOMA IR PASCA PEMBERIAN MADU TRIGONA (*Tetragonula Sp*) PADA MENCIT HIPERGLIKEMIA

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Dalam Bidang Ilmu Kedokteran

Disusun dan diajukan oleh

TRI DAMAYANTY SYAMSUL

Kepada

PROGRAM STUDI S3 ILMU KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021

DISERTASI

EKSPRESI mRNA IRS-1, DAN HOMA-IR PASCA PEMBERIAN MADU TRIGONA (*Tetragonula Sp)* PADA MENCIT HIPERGLIKEMIA

Disusun dan diajukan oleh

Tri Damayanty Syamsul
C013171011

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Doktor Program Studi Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal, 24 Maret 2021 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Promotor,

Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, Sp.Biok
Nip. 19551019 198203 1 001

Co. Promotor

Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK(K)
Nip. 196005041986012002

Co. Promotor

Prof. dr. Veni Hadju, M.Sc, Ph.D
Nip. 196203181988031004

Ketua Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran,

dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK (K)
Nip. 19700821 199903 1 001

Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin,

Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M(K), M.Med.Ed
Nip. 19661213 199503 1 009

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini ,

Nama : Tri Damayanty Syamsul

NIM : C013171011

Program Studi : S3 Ilmu Kedokteran

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang berjudul : **"Ekspresi mRNA IRS-1 'dan' Homa IR Pasca Pemberian Madu Trigona (*Tetragonula Sp)* Pada Mencit Hiperglikemia"** adalah benar-benar merupakan hasil karya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain dan sepanjang pengetahuan saya di dalam naskah disertasi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan/ditulis/diterbitkan sebelumnya, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis/disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Maret 2021

TRI DAMAYANTY SYAMSUL

v

DAFTAR TIM PENGUJI

Promotor : Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, M.Sc, Sp Biok

Cp Promotor : Prof. Dr. dr. Suryani As'ad, M.Sc, Sp.GK (K)

Co Promotor : Prof.dr.Veni Hadju, Ph.D, M.Sc, SP.GK (K)

Anggota :

1. Dr. Neni Nurainy, Apt
2. Prof. Dr. dr. Sutji Pratiwi Rahardjo, Sp THT-KL (K)
3. Prof. dr Mochammad Hatta, Ph.D, Sp MK (K)
4. dr. Marhaen Hardjo, Ph.D, M.Biomed
5. Dr. dr. Hasyim Kasim, Sp. PD (K)
6. Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillahi ladzi hadana lihadza wamakunna linahtadiya an laula an hadanallah. Puji-pujian hanya kepada Allah swt yang telah menerangi cahaya hati sehingga bisa menyelesaikan disertasi ini dengan judul **“"Ekspresi mRNA IRS-1 ‘dan’ Homa IR Pasca Pemberian Madu Trigona (*Tetragonula Sp)* Pada Mencit Hiperglikemia”** Disertasi ini merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar kesarjanaan S3 di Universitas Hasanuddin, Program Studi Kedokteran.

Pada Kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih dan penghargaan kepada yang terhormat **Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D, M.Sc, Sp Biok** Selaku promotor, **Prof. Dr. dr. Suryani As’ad, M.Sc, Sp.GK (K)** dan **Prof.dr.Veni Hadju, Ph.D, M.Sc, SP.GK (K)** masing-masing selaku ko-promotor yang telah meluangkan waktu untuk memibimbing penulis dari pengembangan konsep permasalahan yang akan dikaji di dalam penelitian, pelaksanaan penelitian sampai penyelesaian disertasi ini.

Terimakasih juga kepada penguji eksternal, **Dr. Neni Nurainy, Apt, yang** senantiasa memberikan masukan,saran dan motivasi**, Prof. Dr. dr. Sutji Pratiwi Rahardjo, Sp THT-KL (K)** yang selalu menyemangati untuk bisa terus mengembangkan skill**, Prof. dr Mochammad Hatta, Ph.D, Sp MK (K)**

yang selalu memberikan masukan, saran, arahan,dan selalu mengingatkan agar bisa selesai study**, dr. Marhaen Hardjo, Ph.D, M.Biomed,** yang selalu memberikan masukan dan arahan, **Dr. dr. Hasyim Kasim, Sp. PD (K)** yang memberikan saran agar riset ini bisa digunakan dimasyarakat dengan memperhatikan budget penelitian**, Dr. dr. Burhanuddin Bahar, MS** yang senantiasa meluangkan waktu untuk bisa berdiskusi**.**

Dalam Kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih yang sangat dalam sebagai wujud penghargaan yang tulus kepada orang tua **Ayahanda H. Syamsul, SKM., M.Kes Dg Naro** dan **Ibunda tercinta Hj.Aisyah.,AMd.Keb, Dg Ngintang** yang telah melahirkan, memelihara, membesarkan, mendidik dan berdoa dengan penuh kasih sayang dan selalu memberikan semangat, sehingga membentuk saya sebagaimana hari ini serta memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan mulai dari Tingkat dasar sampai ke Tingkat selanjutnya. Semoga Allah SWT memberikan rahmat, hidayah, taufik, keselamatan dan semoga kami dapat menjadi anak-anak yang berbakti baginya. Kepada mertua saya Alm Bontojai Dg ka'ba dan Alm (h) Hj .Siti Jaisah dg Kanang, semoga Allah SWT mengampuni semua kesalahan dan menempatkan keduanya di tempat terbaik disisiNya,Aamiin Ya Rabbal Alamiin.

Kepada suami tercinta **"Bakry, M.Si, Ph.D,** yang telah mendampingi dalam suka dan duka, Terima kasih tak terhingga atas segala kesabaran,

semangat, motivasi, kesempatan, kepercayaan, dukungan moril dan spiritual, menjadi pendorong terbesar saya untuk melewati perjalanan panjang selama menjalani pendidikan S-3, dan kepada Ananda **Fiqri Hafidz** yang selalu memberikan semangat, dorongan, pengertian dan do'a. Kepada kakak-kakakku **Yulia Ekawati,SE, MM,** dan **Dedy Janwar Syamsul, S.IP**, adek-adekku **Dudi Agusrianto, Indah Mayasari, Yuni Asrianti dan Amirah Maudy Zhafira Syamsul** terima kasih atas kasih sayang, dukungan dan motivasi selama penulis memulai studi sampai akhir. Terima kasih juga buat saudara ipar **Nurwinda Tahir, Sunarti, Bakhtiar, Sulaeman** dan **Sudirman** atas doa dan dukungannya.

Penulis juga mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. **Prof . Dr. Dwia Aries Tina Palubuhu, MA** selaku Rektor Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kesempatan untuk mengikuti program pendidikan Doktor di Universitas Hasanuddin
2. **Kementerian Keuangan LPDP** yang telah memberikan bantuan beasiswa unggulan dosen Indonesia (BUDI-DN) selama penulis mengikuti pendidikan di Universitas Hasanuddin
3. **Prof. dr. Budu, Ph.D, Sp.M (K), M.Med.Ed** sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin telah memberikan kesempatan untuk mengikuti program pendidikan Doktor di Universitas Hasanuddin

4. **Dr. Agussalim Bukhari,M. Clin, Ph.D, Sp. GK (K)** selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah memberikan saran demi kelancaran penyelesaian disertasi
5. **Direktur Akademi Keperawatan MappaOudang** yang telah memberikan ijin kepada penulis untuk mengikuti pendidikan program S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin serta dukungan sehingga penulis bisa menyelesaikan masa studi
6. Kepada Pengajar S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin yang telah membekali ilmu yang begitu bermanfaat bagi penulis terima kasih juga kepada pegawai administrasi Bapak **Akmal,S.Sos,MAP, Abdul Muin Amd.FT** dan **Rahmat** atas bantuan dan dukungan yang diberikan selama menjalani pendidikan program studi S3.
7. Kepada teman-teman seperjuangan **Jafriati, Wahyuni, Andi Tenriola, Subair, Harningsih Karim, Imelda Iskandar, Dahniar** dan teman-teman mahasiswa S3 angkatan 2017 terima kasih atas dukungan, kebersamaan, dan bantuannya selama pendidikan.
8. Teman-teman dosen dan staf Akademi Keperawatan MappaOudang, terima kasih atas dukungan dan bantuannya kepada penulis.

Kepada semua pihak yang telah ikut membantu, Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan disertasi ini masih jauh dari kesempurnaan. Olehnya, penulis mengharapkan saran yang bersifat membangun demi

kesempurnaan disertasi. Akhir kata semoga disertasi ini dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya didunia kesehatan, dan semoga seluruh bantuan dan doa mendapat balasan dan pahala yang berlipat dari Allah swt, Aamiin Yarabbal alamin.

Makassar, Maret 2021
Penulis

Tri Damayanty Syamsul

ABSTRACT

TRI DAMAYANTI SYAMSUL. *Expression of mRNA IRS-1 and HOMA IR After Giving Trigona Honey (Tetragonula Biroi) in Hyperglycemic Mice* (supervised by **Rosdiana Natzir, Suryani As'ad,** and **Veni Hadju**)

The aim od this research is to examine the effect of trigona honey (Tetragonula sp) as a herbal for diabetes mellitus type 2 in hyperglycemic mice.

This research was an experimental laboratory study with pre-test post-test design with control group. The sample consisted of 20 Balb/c mouse divided into four groups, i.e. negative control group (aquades), positive control group (metformin), group with 0.2 ml/kgBB honey, and group with 0.4 ml/kgBB honey. The data were analyzed statistically using One Way Anova test, and post hoc Bonferroni follow-up test. The procedure of examining blood glucose level used glucometer; the examination of plasma insulin level used ELISA method, and RNA extraction used Bom method. The procedure of examining mRNA gen IRS-1 expression used TR-PCR method.

The results of the study indicate that the mean blood glucose level of (KN) group is 218.8 mg / dl; KP (Metformin) group is 56.2 mg / dl; honey with dose of 0.2 ml / KgBB is 139.1, and treatment and honey with dose of 0.4 ml / KgBB is 125.6 mg / dl. Plasma insulin levels for (KN) group is 64.56; KP (Metformin) group is 256. 29; honey with dose of 0.2 ml / KgBB is 167.47, and honey with a dose of 0.4 ml / KgBB is 159.14 respectively. IR Homa index for (KN) group is 2.0; KP (Metformin) group is 5.5; honey with a dose of 0.2 ml / KgBB is 3.3, and honey with a dose of 0.4 ml / KgBB2.7. The mean value of IRS-1 gene mRNA expression is that (KN) group is 6.338; KP (Metformin) group is 11.653; honey with a dose of 0.2 ml / KgBB is 10.019, and honey with a dose of 0.4 ml / KgBB is 10,240 foldchange. These results indicate that there is an effect of trigone honey on the decrease of fasting blood glucose levels; there is an effect of trigone honey on the increase of plasma insulin levels; there is an effect of trigone honey on the decrease of IR HOMA index, and there is an effect of trigone honey on the increase of IRS-1 gene expression after the intervention of trigona honey for 21 days.

Key words: trigona honey, blood glucose, plasma insulin, IRS-1, diabetes mellitus

ABSTRAK

TRI DAMAYANTY SYAMSUL. *Ekspresi m-RNA IRS-1 dan HOMA IR Pascapemberian Madu Trigona (Tetragonula biroi) pada Mencit Hiperglikemia* (dibimbing oleh Rosdianan Natzir, Suryani As'ad, dan Veni Hadju).

Penelitian ini bertujuan menguji efek pemberian madu trigona (*Tetragonula sp.)* sebagai herbal untuk pengobatan diabetes mellitus Tipe 2 pada mencit BALB-C.

Jenis penelitian yang digunakan adalah eksperimental laboratorium dengan desain prauji dan pascauji dengan kelompok kontrol. Sampel terdiri atas 20 mencit BALB-C yang dibagi ke dalam empat kelompok, yakni kelompok kontrol negatif (aquades), kontrol positif (metformin), kelompok madu dosis 0,2 ml/kg BB. Analisis data dilakukan secara statistik dengan menggunakan uji One Way dan uji lanjut *posthoc* Bonferroni; prosedur pemeriksaan kadar glukosa darah menggunakan glukometer; pemeriksaan kadar insulin plasma menggunakan metode ELISA; pengekstraksian RNA menggunakan metode Boom; dan prosedur pemeriksaan ekspresi m-RNA gen IRS-1 dengan metode RT-PCR.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rerata kadar glukosa darah untuk kelompok (KN) = 218,8 mg/dl, KP (metformin) = 156,2 mg/dl, madu dosis 0,2 ml/Kg BB = 139,1 mg/dl, perlakuan dan madu dosis 0,4 ml/Kg BB = 125,6 mg/dl, kadar insulin plasma untuk setiap kelompok (KN) = 64,56; KP (metformin) = 256,29; madu dosis 0,2 ml/Kg BB = 167,47; madu dosis 0,4 ml/Kg BB = 159,14. Indeks HOMA IR untuk setiap kelompok (KN) = 2,0; KP (metformin) = 5,5; madu dosis 0,2 ml/Kg BB = 3,3; madu dosis 0,4 ml/Kg BB = 2,7; nilai rerata ekspresi m-RNA gen IRS-1 diperoleh nilai sebagai berikut: (KN) = 6,338; KP (metformin) = 11,653; madu dosis 0,2 ml/Kg BB = 10.019; dan madu dosis 0,4 ml/Kg BB = 10.240 *foldchange*. Hasil ini menunjukkan bahwa ada pengaruh madu trigona terhadap penurunan kadar glukosa darah puasa; ada pengaruh madu trigona terhadap peningkatan kadar insulin plasma; ada pengaruh madu trigona terhadap penurunan indeks HOMA IR; dan ada pengaruh madu trigona terhadap peningkatan ekspresi gen IRS-1 setelah intervensi madu trigona selama 21 hari.

Kata kunci: madu trigona, glukosa darah, insulin plasma, IRS,-1, diabetes mellitus

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i

HALAMAN PENGAJUAN ii

HALAMAN PERSETUJUAAN iii

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI iv

DAFTAR TIM PENGUJI v

KATA PENGANTAR vi

ABSTRAK vii

ABSTRACT viii

DAFTAR ISI ix

DAFTAR TABEL x

DAFTAR GAMBAR xi

DAFTAR LAMPIRAN xii

DAFTAR SINGKATAN xiii

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang 1

1.2 Rumusan masalah 11

1.3 Tujuan Penelitian 12

1.4 Manfaat Penelitian 13

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Lebah Madu Trigona Sp 14

2.2 Kandungan Kimia Madu Trigona 19

2.3 Efek Farmakologis Madu 24

2.4 Tinjauan tentang Diabetes Mellitus 28

2.5 Tinjauan tentang Resistensi Insulin 33

2.6 Kerja dan Jalur Sinyal Insulin 36

2.7 Insulin Reseptor Substrat 1 39

2.8 Uraian tentang Metformin 43

2.9 Uraian tentang Hiperglikemia 44

2.10 Induksi streptozotocin pada mencit 45

2.11 Kandungan Senyawa antioksidan 51

2.12 Hubungan Diabetes mellitus, Gen IRS-1 dan Madu Trigona *Tetragonula Biroi* 58

2.13 Kerangka Teori 67

2.14 Kerangka Konsep 68

2.15 Defenisi Operasional dan kriteria obyektif 68

2.16 Hipotesis penelitian 69

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian 71

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian 73

3.3 Subyek Penelitian 74

3.4 Prosedur Penelitian 79
3.5 Etika Penelitian 87
3.6 Analisis data dan Uji Statistik 88
3.7 Alur Penelitian 89
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN
4.1 Hasil Penelitian
4.1.1 Hasil Uji Fitokimia Secara Kromatografi lapis tipis (KLT)…90
4.1.2 Hasil Uji Proksimat Madu Trigona (*Tetragonula Sp*) 91
4.1.3 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Madu Trigona (*Tetragonula Sp*) 93
4.1.4 Hasil Pengukuran Kadar Glukosa darah pada Model Tikus putih DM yang diiinduksi dengan streptozotocin 94
4.1.5 Hasil Pengukuran Kadar Insulin plasma pada Model Tikus putih DM yang diiinduksi dengan streptozotocin 98
4.1.6 Hasil Perhitungan HOMA IR darah pada Model Tikus putih DM yang diiinduksi dengan streptozotocin..... 102
4.1.7 Hasil Pengukuran ekspresi mRNA Gen IRS-1 pada Model Tikus putih DM yang diiinduksi dengan streptozotocin 108
4.2 Pembahasan
4.2.1 Analisis fitokimia Kualitatif Madu Trigona (*Tetragonula Sp*) 117
4.2.2 Analisis Proksimat Madu Trigona (*Tetragonula Sp*) 119

4.2.3 Analisis Aktivitas Antioksidan Madu Trigona (*Tetragonula Sp*) …….123

4.2.4 Perbedaan dosis madu 0.2 ml, madu 0.4 ml dengan metformin terhadap Kadar Glukosa Darah pada mencit BAlb/c sebelum dan setelah perlakuan 126

4.2.5 Perbedaan dosis madu 0,2 ml, madu 0,4 ml dan metformin terhadap Kadar Insulin plasma pada mencit BAlb/c sebelum dan setelah perlakuan 133

4.2.6 Perbedaan dosis madu 0,2 ml, madu 0,4 ml dan metformin terhadap HOMA IR pada mencit BAlb/c sebelum dan setelah perlakuan..... 139

4.2.7 Perbedaan dosis madu 0,2 ml, madu 0,4 ml dan metformin terhadap ekspresi mRNA gen IRS-1 pada mencit BAlb/c sebelum dan setelah perlakuan..... 143

4.2.8 Keterbatasan penelitian 146

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan 147

5.2 Saran 147

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

DAFTAR TABEL

Hal

1. Kandungan Madu Trigona 133
2. Kandungan Fenol Pada beberapa Jenis Madu 133
3. Primer yang digunakan untuk realtime PCR 133
4. Hasil Uji fitokimia Madu Trigona 133
5. Komposisi Madu Trigona 133
6. Pengujian aktivitas antioksidan Madu Trigona 133
7. Hasil pengukuran Kadar Glukosa darah setiap kelompok sebelum perlakuan dan selama perlakuan 133
8. Intervensi perbedaan kadar glukosa darah sebelum perlakuan dan selama perlakuan 133
9. Perbandingan nilai signifikan masing-masing kelompok pada uji lanjut Bonferroni 133
10. Hasil pengukuran Kadar Insulin plasma setiap kelompok sebelum perlakua sebelum perlakuan dsetelah perlakuan 133
11. Intervensi perbedaan Kadar Insulin plasma sebelum perlakuan dan setelah perlakuan 133
12. Nilai signifikan rata-rata Kadar Insulin plasma masing-masing kelompok pada uji lanjut Bonferroni 133

13. Hasil perhitungan HOMA IR setiap kelompok sebelum perlakuan dan setelah perlakuan 133
14. Intervensi perbedaan indeks HOMA IR sebelum dan setelah perlakuan pada keempat kelompok 133
15. Nilai signifikan rata-rata nilai HOMA IR masing-masing kelompok pada uji lanjut Bonferroni 133
16. Perbedaan ekspresi mRNA gen IRS-1 pada Madu trigona dosis 0,2 ml dan 0,4 ml sebelum perlakuan 133
17. Nilai ekspresi gen setelah induksi Hari ke-6..... 133
18. Perbedaan ekspresi mRNA gen IRS-1 pada Madu trigona dosis 0,2 ml dan 0,4 ml sebelum perlakuan 133
19. Nilai ekspresi gen setelah induksi Hari ke-28 setelah perlakuan... 133
20. Perbandingan peningkatan ekspresi mRNA gen IRS-1 sebelum perlakuan dan setelah perlakuan 133

DAFTAR GAMBAR

Hal

1. Jalur pensinyalan insulin 133
2. Mekanisme asam lemak bebas yang dapat menyebabkan resistensi insulin jalur pensinyalan insulin 133
3. Kerja insulin pada sel sasaran 133
4. Jalur sinyal reseptor Insulin termasuk pengaruh ROS 133
5. Struktur kimia streptozotocin 133
6. Lebah trigona 133
7. Bagan Kerangka Teori 133
8. Bagan Kerangka konsep 133
9. Profil hasil pengukuran kadar glukosa darah 133
10. Kadar glukosa darah mencit putih jantan sebelum perlakuan, setelah induksi dan selama perlakuan 133
11. Profil hasil pengukuran kadar insulin plasma 133
12. Kadar insulin plasma mencit putih jantan sebelum perlakuan, setelah induksi dan selama perlakuan 133
13. Profil nilai HOMA IR 133
14. NIlai HOMA IR setiap kelompok 133
15. Analisis perbedaan ekspresi mRNA gen IRS-1 sebelum perlakuan 133

16. Analisis perbedaan ekspresi mRNA gen IRS-1 sebelum perlakuan 133

17. Perbedaan profil eskpresi IRS-1 sebelum dan setelah perlakuan ... 133

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1: Rekomendasi persetujuan Etik dari Komisi Etik penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin

Lampiran 2: Hasil analisis kualitatif dari Laboratorium Kimia Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

Lampiran 3: Hasil analisis proksimat komposisi pakan dari Laboratorium Kimia Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Hasanuddin

Lampiran 4:Hasil analisis aktivitas antioksidan dari Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin

Lampiran 5: Master data hasil penelitian

Lampiran 6: Hasil analisis SPSS

Lampiran 7: Dokumentasi

DAFTAR SINGKATAN

ABTS	= *[2,2-azinobis (asam 3-ehtylbenzothiazoline-6-sulfonic) assay garam diammonium*
BB	= Berat badan
Cgmp	=*cyclic guanosine monophosphate non-obese diabetic* (NOD)
CRP	= C-Reactive protein
DCCT	= *Diabetes Control and Complications Tria*
DPPH	= *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*
DM	= Diabetes Mellitus
DNA	= *deoxyribonucleic acid* /RNA
ELISA	= *Enzym-Linked Immuno Sorbent Assay*
FeCl3	= Ferric Chloride
FRAP	= Fluorescence recovery after photobleaching
GLUT1	= Transporter Glukosa 1
GLUT2	= Transporter Glukosa 2
GLUT4	= Transporter Glukosa 4
GLP-1	= Inhibitor α-glukosidase, dan glucagon-like peptide-1
GPx	= Glutatatione peroksidase
HbA1c	= Hemoglobin glikosilasi
HDL	= *High density lipoprotein*
HDL-C	= *High density lipoprotein kolesterol*
$H_2 O_2$	= Hydrogen peroksida
H2SO4	= Asam asetat anhidrat-
HOMA-IR	= *Homeostasis model assessment of insulin resistance*

HMG-CoA = *3-hidrokdi-3-methylglutarylcoenzyme A reduktase*

IL-1 = Interleuikin-1

IL-6 = Interleuikin-6

IR = Reseptor insulin

IRS-1 = Insulin Reseptor substrat-1

LDL-C0 = *lipoprotein cholesterol*

LSD = UJi Least Significantly Difference

Kg = Kilogram

KEPK = Komisi Etik Penelitian kesehatan

Mg = Milligram

mRNA = Messenger RNA

Mg = *Magnesium*

MCP-1 = Moncyte Chemoattractant Protein-1

MAPK = *Mitogen-activated protein kinase*

MDA = Malondialdehid

NAD+ = *Nicotinamide adenine dinucleotide*

NO = *Nitrik oksida*

NGSP = *National Glycohemoglobin Standardization Program*

OH = *Radikal hidroksi*

O_2 = *Superoksida*

PIP2 = Phosphatidiylinositol

PGE2 = Prostaglandin E2

PGF2 = Prostaglandin F2 alpha

PI3K = Phosphatidylinositol 3-kinase

PA-1 = Plasminogen activator inhibitor-1.

PCR = Polymerase chain reaction

ROS = Reactive oxygen species

SH2 = *Src-homology-2 domain protein phosphotyrosine phosphatase* SHPTP2

STZ = *Streptozotocin*

SH2 = Src Homology 2

SOD = Superoksida dismutase

Tyr = *kinase reseptor insulin*.

TNF-α = Tumor necrosis factor α

TZD = Thiazolidinedione

TG = Trigliserida

TMB = Tetramethylhylbenzidine

TNF- = *Tumor necrosis faktor*

TLR4 = *Toll-like receptor 4*

TEAC = Kapasitas antioksidan setara Trolox) *assay* dan *assorbicacid content assay*

TTGO = Tes toleransi glukosa oral

Zn = *Seng*

2 α = Subunit α

2 β = subunit β transmembran

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Dewasa ini, DM banyak diderita oleh penduduk dunia. Perubahan gaya hidup telah menyebabkan peningkatan dramatis prevalensi diabetes mellitus tipe 2 di hampir seluruh dunia. Pengurangan aktivitas fisik, peningkatan asupan makanan, dan penuaan populasi adalah faktor kunci perubahan. Westernisasi diet dan aspek lain dari gaya hidup dinegara berkembang (Mark N,*et al.*, 2008). Pola gaya hidup tidak sehat berdampak negative terhadap meningkatnya prevalensi diabetes mellitus. (Akinci *et al.*, 2008). Diabetes mellitus (DM) adalah salah satu penyakit kronis yang paling umum di hampir semua negara, dan cenderung mengalami peningkatan jumlah dan signifikansi, karena perubahan gaya hidup menyebabkan berkurang aktivitas fisik (Shaw *et al*, 2010).

Penyakit DM adalah penyakit metabolik multisistem dengan ciri hiperglikemia akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya. Kelainan sekresi atau kerja insulin menyebabkan abnormalitas dalam metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Pada DM tipe II ditandai dengan terjadinya resistensi insulin pada jaringan tubuh (Yance, 2015).

Resistensi insulin memegang peran penting dalam patofisiologi terjadinya diabetes mellitus. Resistensi insulin ditandai dengan ketidakmampuan organ target seperti hepar, otot dan sel lemak merespons efek insulin, sehingga organ target gagal mengambil glukosa dalam darah menyebabkan terjadinya hiperglikemia (Sakinah, 2017).

DM adalah kelompok gangguan metabolisme yang ditandai oleh hiperglikemia. Hiperglikemia terjadi akibat cacat pada sekresi insulin, aksi insulin atau keduanya. Diabetes komplikasi kronis spesifik mengakibatkan kerusakan atau kegagalan berbagai organ, terutama mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah (Scobie, 2006).

Diabetes Melitus (DM) merupakan kelainan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia yang berhubungan dengan kelainan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein dan disebabkan oleh penurunan sekresi insulin, sensitivitas insulin atau keduanya. Hiperglikemia dapat menyebabkan peningkatan peroksidasi lipid, produksi superoksida, glikasi lipoprotein, kerusakan DNA oksidatif, agregasi dan aktivasi trombosit, dan penurunan produksi prostasiklin. (Sholikah *et al*, 2020).

Diabetes melitus ditandai dengan hiperglikemia akibat kerusakan sel β pankreas sehingga menyebabkan ketidakmampuan untuk memproduksi insulin atau karena insulin yang terganggu sensitivitas di jaringan perifer

dengan demikian menghambat sel untuk memanfaatkan glukosa dengan baik. Hiperglikemia pada penderita DM akan mengganggu proses oksidatif.

Penelitian tentang diabetes melitus dengan melibatkan hewan percobaan sebagai model dilakukan secara ekstensif. Paling umum senyawa yang digunakan untuk menyiapkan model hewan diabetes mellitus termasuk streptozotocin (STZ) dan nikotinamid (NA) diberikan melalui injeksi intraperitoneal. Induksi oleh STZ akan meningkatkan stres oksidatif pada pankreas sel β, mengakibatkan kerusakan pada sel-sel ini dan kegagalan memproduksi insulin. Model ini yang paling cocok untuk aktivitas antidiabetik untuk pengobatan diabetes mellitus tipe-2 (Sholikah *et al*., 2020).

Prevalensi diabetes mellitus (DM) tipe 2 bervariasi lebih dari sepuluh kali lipat antara resiko tinggi dan rendah. Resistensi insulin umum terjadi pada semua populasi beresiko tinggi diabetes, gangguan metabolisme lipid dan pola lemak tubuh yang menyertai resistensi insulin bervariasi antara populasi (Reavan dan Laws, 1999).

Prevalensi diabetes mellitus (DM) di dunia meningkat dengan cepat, tahun 2013 penduduk dunia menderita DM sebanyak 221 juta jiwa, tahun 2015 sebanyak 415 juta jiwa, tahun 2019 sebanyak 463 juta jiwa dan diperkirakan pada tahun 2030 jumlah penderitanya akan melonjak 54 %, sebanyak 578 juta jiwa (Herman, 2017).

Diabetes mellitus tipe 2 (T2DM) menyumbang 90-95 % dari semua kasus diabetes. Diperkirakan pada tahun 2040, jumlah orang dewasa dengan diabetes diproyeksikan meningkat menjadi 642 juta, dan pada tahun 2045 sebanyak 700 juta jiwa dengan peningkatan tercepat terjadi di negara berkembang (Dagogo-Jack, 2017). Diabetes melitus (DM) termasuk penyakit kronis penyakit dengan prevalensi tinggi. Di Indonesia, prevalensinya terus meningkat dibandingkan tahun 2017 Indonesia berada di peringkat keenam negara dengan angka diabetes tertinggi di seluruh dunia, mencapai sekitar 10,3 juta pasien DM berusia 20 - 79 tahun (Sholikah *et al*., 2020).

Percobaan penelitian mengenai DM dengan menggunakan hewan model didasarkan pada patogenesis penyakit tersebut pada manusia yang bersifat kronis atau berlangsung menahun. Pada saat ini telah dilakukan penelitian menggunakan hewan model yang secara patologis dibuat menderita DM. Kondisi patologis pada hewan model dibuat untuk melakukan pencegahan, mengetahui patogenesis penyakit, menetapkan diagnosis, dan terapi yang digunakan dalam penanganan penyakit DM. Meskipun demikian, kondisi patologis hewan model tersebut tidak sepenuhnya menggambarkan kondisi patologis secara nyata pada manusia.

Pada hewan model, DM sering disebabkan akibat pemberian aloksan maupun streptozotocin (STZ) yang dapat mengakibatkan kerusakan pada sel beta langerhans pankreas (Rina Yulinta dan Pasek Gelgel, 2013). Berbeda

halnya dengan aloksan, senyawa streptozotocin memiliki waktu paruh yang cukup lama dan tidak mudah teroksidasi. Streptozotocin bekerja dengan cara membentuk radikal bebas sangat reaktif yang dapat menimbulkan kerusakan pada membran sel, protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA), sehingga menyebabkan gangguan produksi insulin oleh sel beta langerhans pankreas (Wilson *et al*., 1988). Selanjutnya (Szkudelski, 2001) menyatakan bahwa streptozotocin memasuki sel beta langerhans pankreas melalui *glucose transporter* 2 (GLUT 2) dan menyebabkan alkilasi. Hal ini didahului oleh pembatasan pembentukan adenosin trifosfat pada mitokondria akibat pembentukan radikal bebas, peningkatan enzim *xanthine oxidase* dan penghambatan siklus Krebs. Terdapat dua tipe diabetes mellitus akibat induksi streptozotocin (STZ), yaitu diabetes mellitus tipe 1 dan diabetes mellitus tipe 2 (Yaturu, 2011). Penelitian ini dimaksudkan untuk membuat kondisi diabetik eksperimental pada hewan coba tikus putih *(Rattus norvegicus)* jantan dengan penggunaan agen diabetagonik streptozotocin.

Lenzen dalam penelitiannya telah menunjukkan bahwa induksi dengan STZ lebih baik daripada induksi alloksan (Lenzen, 2008). Streptozotocin memiliki batas keamanan yang lebih baik daripada alloksan karena rentang dosisnya yang lebar dan lebih jarang terjadi keadaan ketosis dibandingkan alloksan. Szkudelski juga menyatakan induksi STZ lebih baik digunakan

dalam membuat hewan model diabetes, karena mampu mempertahankan hiperglikemia dalam waktu yang lama sehingga memudahkan pengamatan terhadap patofisiologi dan komplikasi diabetes (Szkudelski, 2001)

Induksi streptozotocin dapat memicu terjadi DM tipe 1 maupun DM tipe 2 tergantung dosis dan perlakuan terhadap hewan model (Mordes & Bortell, 2004). Penyuntikan STZ pada tikus dewasa sebanyak 35-65 mg/Kg secara intraperitoneal mampu menginduksi tikus model DM tipe 2 (Shaw *et al*., 2010 Pemberian dosis tinggi dilaporkan banyak menimbulkan kematian pada minggu pertama pasca induksi karena kerusakan yang menyeluruh pada sel beta pankreas menimbulkan peningkatan kadar glukosa darah yang tidak terkendali. Sedangkan pada dosis kecil, kerusakan parsial sel beta pankreas yang terjadi memungkinkan hewan model bertahan lebih lama, sehingga memudahkan pengamatan terhadap kelainan kronis yang terjadi (Li *et al*., 2013)

Persentase peningkatan ini mencapai 69% pada masyarakat di negara berkembang dan 20% di negara maju (Shaw *et al.*, 2010). Indonesia menempati peringkat ke-6 jumlah penderita diabetes terbanyak setelah India, Cina dan Amerika Serikat. Jumlahnya 8,4 juta pada tahun 2000 dan diperkirakan meningkat menjadi 21,3 juta pada tahun 2030 (Wild *et al*., 2004)

Pengobatan diabetes mellitus dinegara berkembang menggunakan berbagai pilihan obat yang membuat munculnya beragam komplikasi. Seperti hasil penelitian (Omotayo O. Erejuwa *et al*., 2012) penggunaan simvastatin berpengaruh dalam kenaikan kadar GDP pasien, statin dapat menyebabkan hiperglikemia dengan meningkatkan konsentrasi kalsium dalam sel islet yang menyebabkan penurunan pelepasan insulin. Selain itu statin dapat mengganggu uptake glukosa oleh sel dengan menginduksi perubahan human glucose transporter 1 (GLUT1). Banyak obat antidiabetes oral yang tersedia untuk pengobatan dan pengendalian DM tipe II, seperti agen sulfonylurea, biguanides (metformin), thiazolidinedione (TZD), inhibitor α-glukosidase, dan glucagon-like peptide-1 (GLP-1) inhibitor namun menurut (fadillah,2014) obat-obat ini dapat menyebabakan efek samping yang serius, diantaranya hipoglikemia, toksisitas hati, peningkatan berat badan, physconia (pembesaran perut), dan asidosis laktat. Karena itu upaya mencari obat-obat alternatif berbahan herbal terus dilakukan sebagai pengganti obat kimiawi. WHO merekomendasikan pula pengggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit, terutama penyakit kronis, penyakit degenerative dan kanker. Penggunaan obat tradisional secara umum dinilai lebih aman daripada obat kimia modern. Hal ini disebabkan obat tradisional memiliki efek samping yang relative lebih sedikit dari pada obat modern (Rizkika, 2015).

Berdasarkan hasil penelitian (Omotayo O. Erejuwa *et al*., 2012) di mana obat anti-diabetes memiliki manfaat dalam perbaikan mekanisme kerusakan jaringan / seluler yang diinduksi hiperglikemia. sehingga banyak orang yang menggunakan metode herbal untuk mengobati berbagai macam penyakit, tidak hanya sebagai efek pengobatan tapi juga pencegahan dan terapi untuk meningkatkan gaya hidup lebih sehat.

Pendekatan alternatif untuk terapi diabetes termasuk penggunaan sediaan herbal, komponen makanan atau suplemen dan terapi produk alami lannya seperti madu. Madu adalah zat alami yang dihasilkan oleh lebah dari nektar. Madu telah digunakan sebagai agen terapi alami tradisional untuk meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan mencegah berbagai macam penyakit. Madu menurunkan GDP (4,2%) dan CRP (3,2%) dan meningkatkan kolesterol HDL (3,3%) (Mushtaq *et al*., 2011)

Madu Trigona dari Sulawesi selatan teridentifikasi memiliki 27 senyawa volatile yang terbagi menjadi beberapa kelompok yakni hidrokarbon (46.06%), imina (21.83%), keton (19.22%), asam (7.06%), amina (2.37 %), fenolik (1.53%), alcohol (0.83%), oxime (0.72%), dan aldehid (0.38%), dimana terdapat senyawa yang memiliki potensi sebagai antihiperglikemik.

Berdasarkan hasil penelitian (Syam *et al*., 2016) didapatkan komposisi kimia madu Trigona. Madu Trigona menunjukkan kandungan fenol 106,0 mg/100g,

flavonoid (kuersetin) sebesar 58,8%, kandungan vitamin A (4.49 ug/g), vitamin E (59.36 ug/g), vitamin C madu (302.85 ug/g). Kandungan total fenol pada beberapa jenis madu. Madu trigona memiliki kandungan total fenol lebih tinggi (106.0/100 g) dibandingkan dengan madu tualang malaysia (83.96 mg/100g), Madu Thailand (73.4 mg/100g) dan juga madu carbonaria dari Australia (55.74 mg/100 g madu) (Syam *et al*., 2016). Madu ini membuktikan bahwa kandungan total fenol yang terdapat pada madu trigona sangat tinggi.

Madu Trigona merupakan jenis madu hutan yang banyak diproduksi di hutan Indonesia dengan kandungan kadar antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan madu terna. Madu Trigona kaya akan senyawa fenolik karena merupakan makanan yang dikumpulkan oleh lebah dari tanaman. Kandungan fenolik total dalam madu sangat berkorelasi dengan aktivitas antioksidan (Kek *et al*., 2014). Dari penelitian yang dilakukan oleh Oddo pada tahun 2008, madu Trigona memiliki nilai pH yang lebih rendah, mengurangi gula dan aktivitas enzimatik (diastase dan invertase) sedangkan nilai yang lebih tinggi dari kelembaban, aktivitas air, konduktivitas listrik dan keasaman bebas. Hal tersebut juga ditunjukkan dalam penelitian (Syamsul dan Natzir, 2020). Bahwa Madu Trigona memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi dengan nilai 104,25 mg/l(ppm).

Hasil Penelitian O.O. Erejuwa (2010), mengemukakan bahwa pemberian madu tualang dengan dosis 1,0 g/KgBB, dapat mengurangi

hiperglikemia dan memperbaiki stress oksidatif pada ginjal tikus diabetes yang diinduksi STZ, selain itu suplementasi madu Tualang menunjukkan efek protektif pada pankreas terhadap stress oksidatif diabetes yang diinduksi STZ ini terbukti dengan berkurangnya tingkat penanda peroksidasi lipid, MDA. Pemberian madu tualang juga memulihkan aktivitas SOD dan katalase pankreas, sementara aktivitas GPx tetap diregulasi.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Omotayo O. Erejuwa., (2012) menyatakan bahwa suplementasi madu pada pasien dengan diabetes tipe 2 selama 8 minggu menunjukkan bahwa suplementasi madu dapat memperbaiki kelainan lipid pada diabetes mellitus baik pada hewan maupun pada manusia. Hasil penelitian (O.O. Erejuwa *et al*., 2010) mengemukakan bahwa suplementasi madu pada tikus diabetes dapat mengurangi konsentrasi serum gukosa dan fruktosamin pada tikus diabetes selain itu dapat meningkatkan kontrol glikemik juga memperbaiki beberapa gangguan metabolik yang biasa terjadi pada diabetes, termasuk dalam mengurangi tingkat transaminase hati, trigliserida dan hemoglobin glikosilasi (HbA1c) serta peningkatan kolesterol HDL serta memperbaiki stress oksidatif seluler.

Mengingat potensi dan tingginya kandungan senyawa polifenol pada lebah trigona, perlu penelitian untuk mengembangkan madu trigona menjadi sebuah produk *medicinal honey* local yang bisa digunakan secara luas. Maka akan dilakukan penelitian untuk mengembangkan madu trigona menjadi

herbal terstandar yang berefek sebagai antioksidan, dikaji berdasarkan ekspresi insulin reseptor substrat-1 (IRS-1), kadar insulin plasma, dan kadar glukosa darah pada mencit BALB-C.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan Di atas maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut yaitu :

1. Apakah madu trigona dengan dosis 0,2 ml dan dosis 0,4 ml mempunyai efek perubahan kadar glukosa darah yang sama dengan pemberian metformin pada mencit (BALB-C) yang diinduksi dengan streptozotocin?
2. Apakah madu trigona dengan dosis 0,2 ml dan dosis 0,4 ml mempunyai efek perubahan kadar insulin plasma yang sama dengan pemberian metformin pada mencit (BALB-C) yang diinduksi dengan streptozotocin?
3. Apakah madu trigona dengan dosis 0,2 ml dan dosis 0,4 ml mempunyai efek perubahan indeks HOMA IR yang sama dengan pemberian metformin pada mencit (BALB-C) yang diinduksi dengan streptozotocin?
4. Apakah madu trigona dengan dosis 0,2 ml dan dosis 0,4 ml mempunyai efek perubahan ekspresi mRNA gen IRS-1 yang sama dengan pemberian metformin pada mencit (BALB-C) yang diinduksi dengan streptozotocin?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk menguji efek madu trigona (*Tetragonula sp*) sebagai herbal untuk pengobatan Diabetes mellitus tipe 2 pada Mencit BALB-C

1.3.2 Tujuan Khusus

a. Menilai besar perbedaan perubahan kadar glukosa sebelum dan setelah intervensi pada kelompok tikus yang menerima metformin, madu dosis 0,2 ml/KgBB, madu dosis 0,4 ml/KgBB, dan control negatif
b. Menilai besar perbedaan perubahan kadar insulin sebelum dan setelah intervensi pada kelompok tikus yang menerima metformin, madu dosis 0,2 ml/KgBB, madu dosis 0,4 ml/KgBB, dan control negatif
c. Menilai besar perbedaan perubahan Indeks HOMA IR sebelum dan setelah intervensi pada kelompok tikus yang menerima metformin, madu dosis 0,2 ml/KgBB, madu dosis 0,4 ml/KgBB, dan control negatif
d. Menilai besar perbedaan perubahan ekspresi mRNA gen IRS-1 sebelum dan setelah intervensi pada kelompok tikus yang menerima metformin, madu dosis 0,2 ml/KgBB, madu dosis 0,4 ml/KgBB, dan control negatif

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Bidang Ilmu

a. Memberi informasi ilmiah mengenai manfaat madu sebagai antioksidan dan mekanisme kerja melalui ekspresi pada gen IRS-1 pada mencit BALB-C.
b. Sebagai data yang bisa dijadikan dasar untuk penelitian lanjutan madu sebagai anti hiperglikemik pada mencit BALB-C.

1.4.2 Manfaat Praktis

a. Diharapkan dapat memperkaya batang tubuh kelimuan (body of knowledge) keperawatan dan menambah sumbangsih dalam literature keperawatan khususnya tentang intervensi terapi komplementer dengan pemberian madu pada pasien dengan masalah Diabetes mellitus tipe II.
b. Hasil penelitian ini diharapkan menjadi lebih menguatkan keyakinan pada masyarakat yang selama ini telah mengkonsumsi madu, dan dapat memberikan kontribusi pada unsur pemerintah khususnya Balai Pengobatan Obat Tradisional Depkes sebagai data empiris penggunaan madu, dalam hal ini lembaga pemerintah ini adalah sebagai lembaga yang menaungi masyarakat terhadap penggunaan obat-obat tradisional sebagai obat herbal.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gambaran umum Lebah Trigona (*Tetragonula Sp*)

2.1.1 Lebah Trigona

Lebah madu adalah serangga sosial yang termasuk dalam *Kingdom Animalia, Phylum Artropoda, Sub Phylum Mandibulata, Kelas Insecta (Hexapoda), Ordo Hymenoptera dan Family Apidae* yaitu serangga yang dapat menghasilkan ; *madu, royal jelly, bee propolis, bee pollen, bee wax, bee bread dan bee venom Sub family Apocrita, Genus Trigona, Spesies Tetragonula sp* (Rizkika, 2015).

2.1.2 Makroskopik Lebah Trigona

Salah satu spesies lebah madu tanpa sengat yakni Trigona sp. Spesies Trigona sp. atau klanceng banyak ditemukan hidup di daerah tropis dan sub tropis, seperti Australia, Afrika, Asia Tenggara serta sebagian Meksiko dan BraziL. Lebah Trigona sp dikenal sebagai Lebah Klanceng Trigona, Lebah Kelulut, Klanceng, Lonceng, teuweul (Sunda), gala-gala (lilin lebah). Lebah trigona diseluruh dunia ada sekitar 150 jenis, di Indonesia sekitar 31 jenis yang tersebar di berbagai pulau.

Lebah *Trigona* merupakan salah satu serangga sosial yang hidup berkelompok membentuk koloni. Satu koloni lebah ini berjumlah 300 sampai 80.000 lebah. Lebah trigona memiliki lebah pekerja berwarna hitam, kepala besar, dan rahang tajam juga memiliki lebah ratu berwarna kecoklatan, berperut besar, berukuran 3-4 kali lebah pekerja,memiliki sayap pendek. Jenis lebah ini menghasilkan lebih banyak bee propolis jika dibandingkan dengan jenis lebah madu lain (Pribadi, 2013)

Lebah trigona merupakan lebah penghasil propolis, menghasilkan sedikit madu namun berkhasiat tinggi, aman untuk diternak karena hanya menggigit tidak menyengat, juga pemeliharaan dan pengembangannya tidak sulit karena nektar yang dibutuhkan tidak sebanyak lebah apis yang bertubuh besar. Sumber pakan dan makanan segala jenis tumbuhan berbunga *(multiflora*), getah pohon, resin dan *bee pollen*. Produktivitas madu rata-rata 100-250 ml/3 bulan (tergantung vegetasi), rasa madu ada manis, asam juga pahit.

Kelebihan lebah *Trigona* adalah tidak mempunyai sengat *(Stinglees bee).* Kompensasi tidak adanya sengat pada lebah Trigona sehingga koloni tersebut memproduksi propolis lebih banyak sebagai mekanisme pertahanan diri yang berfungsi mensterilkan sarang dari organisme pengganggu seperti bakteri, cendawan dan virus. Ukuran tubuhnya amat mungil sehingga mampu

mengambil nektar di bunga yang relatif kecil. Dengan demikan lebah Trigona mempunyai variasi makanan yang lebih banyak dibanding lebah jenis Apis sehingga sangat memungkinkan diternak secara menetap tanpa harus digembala. Sedikitnya volume madu yang dihasilkan oleh koloni lebah *Trigona* spp. dibandingkan dengan madu yang dihasilkan oleh lebah genus *Apis* merupakan salah satu penyebab lebah *Trigona* spp. lebih banyak dibudidayakan. Ketersediaan pakan di lingkungan sekitar berpengaruh terhadap produksi madu yang dihasilkan lebah, pertumbuhan koloni dan produksi anakan (Halim & Suharno, 2001)

Produksi madu lebah *Trigona* spp. dipengaruhi oleh besarnya koloni, karena produksi madu maupun produk yang lain tergantung dari jumlah lebah strata pekerja dalam koloni yang mencari dan mengambil pakan (Angraini, 2006). Disamping perbedaan spesies, besarnya koloni juga dapat dipengaruhi oleh bentuk sarangnya (Hiduari Ade Putu *et al*., 2018)

2.1.3 Data Ekologi Madu Trigona

Lebah trigona banyak di Sulawesi selatan baik didataran tinggi dan didataran rendah. Lebah Trigona beraktivitas pada suhu 18^0C sampai 35^0C. Aktivitas lebah akan menurun apabila suhu lingkungan dibawah 18^0C dan diatas 35^0C. Lebah *Trigona spp* yang hidup menggunakan media bambu dapat memproduksi madu dengan kisaran antara 5,1 – 27,9 gr selama 111

hari. Umumnya, lebah Trigona menyukai daerah dengan suhu 26-34°C, baik suhu di luar maupun suhu didalam ruangan. Pada suhu di bawah 10°C, lebah tidak bisa terbang. Sebaliknya, pada suhu lebih tinggi, lebah merasa tidak nyaman sehingga lebih agresif (Pribadi, 2013)

Lebah trigona menghasilkan panas dari dalam tubuhnya. Saat musim bunga, jumlah koloni akan meningkat. Koloni yang besar akan meningkatkan suhu dalam rongga bambu. Kondisi yang terlalu panas mengakibatkan aktivitas lebah trigona akan menurun. Lebah trigona menjaga panas dengan cara membentuk gerombolan. Saat suhu terlalu dingin lebah *trigona spp* disibukkan untuk menjaga suhu tubuhnya, sehingga membuat aktivitasnya berkurang. Diameter bambu kecil mempunyai ruang yang sempit. Ruang yang sempit akan membuat suhu didalamnya meningkat. Diameter bambu kecil mampu menjaga suhu didalamnya tetap hangat.(Rizkika, 2015)

Sarang lebah Trigona banyak ditemukan di antara akar atau di tunggul pohon, dekat permukaan tanah yang tidak seperti sarang lebah normal yang ditemukan di pohon (O.O. Erejuwa *et al*., 2010). Lebah trigona, yang di dalam sarangnya dapat ditemukan lebah ratu, pekerja, drone, telur, pot madu dan propolis.. Kebanyakan lebah Trigona spp, hidup berkelompok membentuk koloni secara liar dialam bebas dengan mengisi ruang kosong di lubang pohon-pohon, rongga kayu dan pohon yang berlubang serta ditemukan pada celah dinding rumah (Hiduari Ade Putu *et al*., 2018)

2.1.4 Kegunaan Madu Trigona

Madu lebah tanpa sengat memiliki karakteristik yang berbeda dibandingkan dengan madu lebah madu dalam hal warna, rasa, viskositas, kadar air dan gula. Menurut Biluca, dkk. (2014), membuktikan bahwa madu lebah tanpa sengat memiliki rasa dan aroma yang berbeda, tekstur lebih cair dan mengalami kristalisasi lambat. Umumnya, madu Trigona berwarna lebih gelap dan memiliki sedikit rasa asam (Garedew & Schmolz, 2003) Rasanya berasal dari resin tanaman di mana lebah membangun sarang dan pot madu, dan juga bervariasi dari satu sama lain tergantung pada bunga dan pohon yang lebah trigona kunjungi (K *et al*., 2012)

Lebah *Trigona* spp*.* diketahui dapat menghasilkan madu yang mempunyai kandungan vitamin C yang berfungsi sebagai *antibiotik, antitoksin, antioksidan* serta untuk meningkatkan sistem imun atau kekebalan tubuh. Selain itu, lebah Trigona dapat menghasilkan propolis melalui pencampuran saliva dengan zat makanan seperti serbuk sari, kulit kayu, tunas pohon dan bunga. Propolis baik untuk kesehatan karena mengandung *asam amino, glukosa*, vitamin A, B, C, D dan E, *bioflavonoid* dan mineral (Ngoi, 2016) Karena lebah Trigona lebih kecil dari lebah madu biasa. Lebah trigona dapat mengumpulkan nektar bunga dari daerah bunga yang paling dalam. Hasilnya, madu Trigona mengandung nilai gizi yang lebih tinggi (Ngoi, 2016).

2.2 Kandungan Kimia Madu Trigona

Madu Trigona Spp memiliki aktifitas antioksidan yang tinggi sebesar 48.03 ppm yang termasuk kategori antioksidan kuat dan kadar flavonoidnya sebesar 10.52 mg (Ferreira *et al*., 2009) dan madu trigona masamba menghasilkan fenol sebesar 106,0 mg (Asam Gelat per 100 g madu) ini membuktikan bahwa kandungan antioksidan madu sangat kuat. melaporkan bahwa aktivitas antioksidan dalam madu terutama disebabkan oleh kedua senyawa ini karena terdapat korelasi yang kuat antara aktivitas antioksidan dengan senyawa fenolik dan flavonoid.

Menurut (Ferreira *et al*., 2009), dalam madu lebih dari 150 senyawa *polifenol* mengandung *flavonoid, asam fenolik, katekin,* dan turunan *asam sinamik* yang merupakan senyawa senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan. Adapun senyawa flavonoid merupakan golongan terbesar dalam senyawa fenolik. *Flavono*id dan berbagai senyawa *fenolik* dalam madu merupakan senyawa yang paling penting secara farmakologi. Senyawa tersebut telah terbukti mampu menangkal radikal bebas, melindungi lipid dan senyawa lain (vitamin C) yang mudah teroksidasi oksidasi. Antioksidan tersebut dapat melindungi *serum lipoprotein* dari oksidasi. Khasiat antioksidan tersebut dihasilkan dari aktivitas anti radikal (radikal alkoksi dan menekan perluasannya, *superoxide*) dan menghambat efek ion tembaga (*cuprous ion*) yang merupakan inisiator oksidasi pada lipoprotein berdensitas rendah (Pribadi, 2013).

Flavonoid turunan *1,3-difenilpropan*, merupakan sekelompok produk alami yang luas dan tersebar dalam madu. *Flavonoid* merupakan senyawa berwarna kuning terdapat pada madu, daun, bunga dan buah. *Flavonoid* terbanyak pada jenis ini adalah *kuersetin*. *Flavonoid* merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes yang mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan *nDNA* dan *mtDNA* yang disebabkan oleh *oksigen reaktif (ROS*) (Ciz *et al*., 2010)

Kandungan *flavonoid* pada madu memiliki konsentrasi yang berkisar antara 0.015-3.4 mg (H, 2007) Kandungan *flavonoid* dapat menghambat terjadinya *stress oksidatif*. *Stress oksidatif* dapat menyebabkan kerusakan *sel beta pancreas* dan penurunan reseptor insulin yang menginduksi *hiperglikemi*. Melalui penghambatan tersebut, maka kerusakan sel beta pankreas dapat dicegah dan penurunan sensistivitas reseptor insulin dihambat pula sehingga akan menurunkan kadar gula darah dan glukosa darah postprandial juga akan lebih terjaga.

Polifenol mengandung senyawa antioksidan yang mampu mengurangi *stress oksidatif* dengan cara mencegah terjadinya rantai perubahan *superoksida* (O_2) menjadi *hydrogen peroksida* (H_2 O_2) melalui *reaksi habe wells dan Fentor* akan membentuk *radikal hidroksi (OH). Polifenol* mendonorkan *atom hydrogen* dari kelompok *aromatic hidroksil (-OH)* untuk mengikat radikal bebas dan membuangnya dari dalam tubuh melalui *system*

ekskresi (Eliasson *et al*., 2008) Secara umum, penurunan *stress oksidatif* dapat mengurangi resistensi insulin, menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid yang berperan dalam proses produksi MDA, menghambat kerusakan *sel β pancreas, nDNA* dan *mtDNA.*

Selain senyawa *fenolik* dan *flavonoid*, madu juga mengandung vitamin C sebagai senyawa antioksidan. Vitamin C merupakan antioksidan utama dalam plasma terhadap serangan radikal bebas (ROS) dan juga berperan dalam sel. Sebagai zat penyapu radikal bebas, vitamin C dapat langsung bereaksi dengan *superoksida* dan *anion hidroksil*, serta berbagai *hidroperoksida* lemak. Sedangkan sebagai antioksidan pemutus reaksi berantai, memungkinkan untuk melakukan regenerasi bentuk vitamin E tereduksi.

Kandungan antioksidan pada madu terdiri dari antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis pada madu yaitu *katalase, glukosa oksidase, dan peroksidase,* sedangkan antioksidan non enzimatis yaitu *asam askorbat, flavonoid,* asamamino, dan protein. Antioksidan berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh terhadap serangan radikal bebas, dimana reaksi radikal bebas ini terhadap sel-sel tubuh berpotensi dalam menghasilkan kerusakan oksidatif lipid, protein, enzim dan asam nukleat yang selanjutnya menuju pada kerusakan tingkat selular, jaringan dan organ.

Keadaan ini menyebabkan timbulnya berbagai gejala penyakit seperti kenker, katarak, dan penyakit degeneratif yang banyak menyerang manusia.

Berdasarkan hasil penelitian (Syam *et al*., 2016) didapatkan komposisi kimia madu Trigona. Madu Trigona menunjukkan kandungan fenol 106,0 mg/100g, flavonoid (kuersetin) sebesar 58,8%,. Hasil penelitian Yuliana (2015) menunjukkan bahwa kandungan Vitamin A 0.50 ug/g, Vitamin E 9.95 ug/g) tetapi vitamin C madu (302.85 ug/g). Kandungan protein madu trigona (0.03%). Kadar air madu trigona (22%) begitupun kadar karbohidrat madu trigona (49.68 %). Madu mengandung kandungan mineral *magnesium (Mg)* dan gizi mikro yaitu *seng (Zn)*. Kandungan magnesium madu trigona (162.05 ppm) begitupun juga dengan kandungan seng madu trigona (0.27 ppm).

Tabel 2.1 Kandungan Madu Trigona Masamba

Parameter	**Madu Trigona Masamba**	**Madu Trigona Bone**
Vitamin C	302.85 ug/g	0,15 %
Protein	0.03 %	1,32 %
Kadar air	22 %	33.75 %
Kalsium (Ca)	217.2 ppm	273,23 ppm
Magnesium (Mg)	162.05 ppm	338,94 ppm
Karbohidrat	49.68%	64,12 %

(Syam *et al*., 2016)

Pada tabel 2.2 dibawah ini akan diperlihatkan perbandingan kandungan fenol dari berbagai jenis madu.

Tabel 2.2 Kandungan Fenol Pada beberapa Jenis Madu

Jenis Madu	**Negara Penghasil**	**Total Fenol (mg Asam Gelat per 100 g madu**
Madu Tualang	Malaysia	83.96
Madu Gelam	Malaysia	74.12
Madu Hutan India	India	45.63
Madu Thailand	Thailand	73.4
Madu Trigona Carbonaria	Australia	55.74
Madu Trigona Masamba	Indonesia	106.0
Madu Trigona Bone	Indonesia	133.52

(Syam et al., 2016; Syamsul & Natzir, 2020).

Madu trigona bone memiliki kandungan total fenol yang lebih tinggi 133.52 g dibandingkan dengan madu trigona masamba 106 g, madu tualang malaysia 83.96 g, madu Thailand 73,4 g, Madu gelam 74,12 g, madu carbonaria dari Australia 55.74 g dan Madu hutan India 45,63 (Syam *et al*., 2016).

2.3 Efek farmakologis Madu

2.3.1 Efek Madu terhadap sekresi insulin dan sensitivitas Insulin

Al Waili menemukan bahwa madu alami juga meningkatkan *profil lipid*, menurunkan *protein C-reaktif* normal dan meningkatkan (CRP), menurunkan *homocysteine*, dan menurunkan *triacylglycerole* pada pasien dengan *hypertriglyceridemia*. Kemampuan madu untuk memodulasi *kolesterol total, low density lipoprotein cholesterol (LDL-C0, high density lipoprotein kolesterol (HDL-C), triacylglyserol, homocysteine* dan *CRP* membawa peran potensial menggunakan madu untuk mengurangi faktor resiko kardiovaskuler

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian madu selama 4 minggu pada orang dewasa yang sehat dapat meningkatkan sensitivitas insulin. Peningkatan signifikan dalam kapasitas sekresi insulin berhubungan dengan penurunan sirkulasi leptin, kolesterol total, dan LDL Hasil penelitian (Majid *et al*., 2013) mengemukakan bahwa pemberian madu alami selama 4 minggu pada siswa di Pakistan dapat mengurangi glukosa, kolesterol total, TG, LDL dan meningkatkan HDL pada orang dewasa yang sehat muda. Madu mengubah kadar plasma dengan berbagai mekanisme biokimia. Madu telah terbukti menurunkan kadar glukosa darah. Madu telah mendapat efek stimulasi pada sekresi insulin dan juga meningkatkan sensitivitas insulin dengan demikian dapat mengurangi kadar glukosa. Madu menghasilkan

hydrogen peroksida yang memiliki efek seperti insulin. Madu memiliki *nitrat oksida me*tabolit dan dapat merangsang *NO sintase* dan meningkatkan produksi NO. *Nitrik oksida* bersifat stimulasi terhadap pelepasan insulin. Madu telah ditemukan dapat menurunkan plasma dan kemih di tingkat beberapa prostaglandin seperti PGE2, PGF2 dan TXB. Prostaglandin adalah penghambat sekresi insulin. *Seng* dan tembaga adalah konstituen normal madu. Jadi pemberian madu meningkatkan serum zinc dan tingkat tembaga yang dapat memainkan peran penting dalam metabolisme insulin dan glukosa. Fruktosa madu dapat menurunkan respon hiperglikemik kandungan glukosa madu. Telah ditemukan bahwa dosis rendah fruktosa yang diberikan dengan glukosa menurun respon glikemik terhadap beban glukosa sehat individu dan tipe 2 pasien diabetes.

Ini mengindikasikan bahwa fruktosa bertindak dengan merangsang *translokasi glukokinase*. Jadi madu merangsang *glukokinase* untuk mengambil glukosa ke hati. Madu dapat menurunkan Trigliserida, kolesterol total dan LDL. Madu dapat merangsang pelepasan insulin. Insulin adalah stimulasi lipase lipoprotein yang menyebabkan kerusakan trigliserida hadir dalam lipoprotein plasma asam lemak bebas dan gliserol yang diangkut dan dimetabolisme. Sejumlah besar fruktosa dapat meningkatkan trigliserida, kolesterol total dan LDL. Pemberian dosis rendah fruktosa bersama dengan

glukosa menyebabkan efek sebaliknya yakni menurunkan Trigliserida, kolesterol total dan LDL.

Efek yang sama telah dicapai dengan madu juga ditemukan bahwa fruktosa dalam konsentrasi yang lebih kecil menurunkan sintesis kolesterol hati dengan menurunkan aktivitas hati *3-hidrokdi-3-methylglutarylcoenzyme A* (HMG-CoA) *reduktase*. *Niasin* adalah konstituen madu yang normal meskipun hadir dalam jumlah yang lebih rendah. Lipolisis pada jaringan adiposa menghasilkan terutama meningkatkan tingkat sirkulasi asam lemak bebas dalam darah yang diambil oleh hati dan digunakan dalam sintesis TG. *Niasin* sangat menghambat lipolisis di jaringan adiposa yang menghasilkan penurunan sintesis TGs hati, kolestreol total dan LDL.

2.3.2 Efek Madu sebagai antiinflamasi

Aktivitas anti inflamasi Marginona margarona adalah spesies lebah tanpa sengat yang terancam punah dari Brasil. Ini menghasilkan madu dengan sifat fisikokimia yang unik dan rasa yang khas. Dalam sebuah penelitian, madu yang diekstrak dari M.Marginata menunjukkan efek antiinflamasi ketika diterapkan pada kulit. Kemanjuran madu manuka dan komponennya sebagai agen anti inflamasi juga telah dilaporkan. Produksi berbagai sitokin inflamasi telah dinilai dengan mengekspos monosit manusia ke madu manuka. Hasil dari penelitian ini mengungkapkan bahwa madu

merangsang produksi sitokin inflamasi interleuikin-1 (IL-1) dan IL-6 juga sebagai *tumor necrosis faktor* (TNF-) melalui *reseptor toll-like 4* (TLR4) jalur tergantung. Secara khusus, salah satu komponen utama madu manuka, protein dengan berat molekul 5,8 kDa, dilaporkan bertanggung jawab untuk stimulasi berbagai jenis sitokin dalam monosit manusia jalur TLR4. Sehingga terjadi peningkatan *fosforilasi serin/threonine* dari IRS yang dapat menurunkan jalur pensinyalan insulin.

2.3.3 Efek Madu sebagai antioksidan

Kegiatan antioksidan Dua jenis lebah tanpa sengat *(T. angustula dan Plebeiawittmanni)* telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Hasil penelitian yang dilakukan di Brasil Timur Laut mengungkapkan bahwa madu lebah tanpa sting dari *Melipona (Michmelia)* seminigra merrillae memiliki potensi antioksidan (dasilva et al., 2013). Selanjutnya, *T. carbonaria, Melipona fasciculate, Melipona subnitida* dan *Melipona aff. Fuscopilosa honeys* menunjukkan aktivitas antioksidan yang signifikan dalam vitro.

Di antara semua lebah madu tanpa lebah, *T. carbonaria* memiliki aktivitas antioksidan terbaik, yang menunjukkan bahwa potensi antioksidan madu bervariasi berdasarkan jenisnya. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa lebah madu dari berbagai wilayah geografis memiliki cukup antioksidan yang bersifat variabel. Dalam sebuah studi oleh

(Moniruzzaman *et al*., 2014) dilaporkan bahwa aktivitas pembilasan radikal dari lebah madu Tualang tinggi, dan madu Tualang memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan di antara jenis-jenis madu lainnya.

Madu Tualang yang dikumpulkan dari hutan di Malaysia menunjukkan aktivitas antioksidan yang besar, seperti yang ditunjukkan oleh beberapa tes termasuk uji *1,1-difenil-2-pikrilhidrazil* (DPPH) dan FRAP (O.O. Erejuwa et al., 2010) ORAC *assay* (*The Oxygen Radical Kapasitas absorbansi*), ABTS *[2,2-azinobis (asam 3-ehtylbenzothiazoline-6-sulfonic) assay garam diammonium*, TEAC (kapasitas antioksidan setara Trolox) *assay* dan *assorbicacid content assay* (Moniruzzaman *et al*., 2014). Madu di Aljazair dan Bangladesh juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang baik *Flavonoid* dan *polifenol* yang ditemukan pada madu juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan.(International Diabetes Federation, 2003).

2.4 Tinjauan Diabetes Mellitus

2.4.1 Defenisi Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus merupakan gangguan metabolisme yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin sehingga terjadi

kondisi hiperglikemia (International Diabetes Federation, 2003). Diabetes melitus adalah penyakit kronis serius yang terjadi baik saat pankreas tidak menghasilkan insulin yang cukup atau bila tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya (WHO, 1994).

Berdasarkan penyebab, DM diklasifikasikan sebagai berikut: Tipe I (*diabetes insulin-dependent, juvenile or childhood-onset*) yang dicirikan dengan kekurangan produksi insulin oleh tubuh (WHO, 1994). Penyebabnya belum diketahui dan tidak bisa dicegah. Gejala yang terlihat adalah banyak menghasilkan urin dan sering haus, sering lapar, penurunan berat badan, penglihatan terganggu dan cepat lelah. Gangguan produksi insulin pada DM tipe 1 umumnya terjadi kerusakan sel-sel *β Langerhans* karena reaksi otoimun. Namun ada pula yang disebabkan oleh virus, seperti virus *Cocksakie, Rubella, CMVirus, Herpes*, dan lain sebagainya (Depkes, 2005). DM Tipe II (*diabetes non-insulin dependent or adult-onset*) disebabkan penggunaan insulin yang tidak efektif oleh tubuh. Gejala mirip dengan tipe I tetapi seringkali gejala ini tidak terlihat. Akibatnya, penyakit ini tidak terdiagnosis selama beberapa tahun, sampai komplikasi sudah terjadi (WHO, 1994). Penyebab DM tipe II multifaktor yang belum sepenuhnya terungkap dengan jelas. Faktor genetik dan pengaruh lingkungan cukup besar dalam menyebabkan terjadinya DM tipe II, antara lain obesitas, diet tinggi lemak dan rendah serat, serta kurang aktifitas (Depkes, 2005). Pada penderita DM Tipe

II, awalnya disebabkan sel-sel sasaran insulin tidak mampu merespon insulin secara normal atau disebut resistensi insulin. Resistensi insulin ditahap lanjut mengganggu ambilan glukosa di jaringan perifer dan mengakibatkan produksi glukosa yang berlebihan oleh hati. Hal ini berpengaruh pada terjadinya hiperglikemia pada penderita diabetes (Tjandrawinata, n.d.) Disamping itu dapat juga timbul gangguan sekresi insulin dan produksi glukosa hepatik yang berlebihan. Penelitian mutakhir menunjukkan bahwa pada penderita DM Tipe II umumnya ditemukan kedua faktor tersebut, yaitu resistensi insulin dan defisiensi insulin (Depkes, 2005).

2.4.2 Patofisiologi

Dalam patofisiologi DM tipe II terdapat beberapa keadaan yang berperan yaitu Resistensi insulin dan disfungsi sel B pankreas. Diabetes melitus tipe II disebabkan oleh karena sel sel sasaran insulin gagal atau tidak mampu merespon insulin secara normal. Keadaan ini lazim disebut sebagai “resistensi insulin”. Resistensi insulin banyak terjadi akibat dari obesitas dan kurangnya aktivitas fisik serta penuaan. Selain itu, dapat juga terjadi produksi glukosa hepatik yang berlebihan namun tidak terjadi pengrusakan sel-sel B langerhans secara autoimun seperti diabetes melitus tipe II. (Fatimah, 2015)

Pada awal perkembangan diabetes melitus tipe II, sel β menunjukan gangguan pada sekresi insulin fase pertama, sekresi insulin gagal mengkompensasi resistensi insulin. Apabila tidak ditangani dengan baik,

pada perkembangan selanjutnya akan terjadi kerusakan sel-sel β pankreas. Kerusakan sel-sel β pankreas akan terjadi secara progresif seringkali akan menyebabkan defisiensi insulin, sehingga akhirnya penderita memerlukan insulin eksogen.

2.4.3 Manifestasi Klinis

Diabetes seringkali muncul tanpa gejala. Namun demikian ada beberapa gejala yang harus diwaspadai sebagai isyarat kemungkinan diabetes. Penderita yang mengalami defisiensi insulin tidak dapat mempertahankan kadar glukosa plasma puasa yang normal, atau toleransi glukosa terhadap karbohidrat. Jika kadar glukosa melebihi ambang ginjal, maka timbul glukosuria. Glukosuria ini akan mengakibatkan *diuresis osmosis* yang meningkatkan eksresi urin yang menyebabkan penderita diabetes mengalami *poliuria*, dan timbul rasa haus yang berlebihan sehingga muncul gejala *polidipsia*, karena glukosa dieksresikan sehingga menyebabkan berat badan berkurang. Rasa lapar akan timbul sebagai akibat kehilangan kalori dan dapat menyebabkan *polifagia*. Selain itu sering pula muncul keluhan penglihatan kabur, koordinasi gerak anggota tubuh terganggu, kesemutan pada tangan atau kaki, timbul gatal-gatal yang seringkali sangat mengganggu (pruritus), dan berat badan menurun tanpa sebab yang jelas. (Depkes, 2005).

2.4.4 Diagnosa

(American Diabetes Association, 2012; Triplitt, 2012) Individu dapat didiagnosa terkena diabetes mellitus bila memenuhi sekurang-kurangnya salah satu dari kriteria diagnostik berikut (B & P.N, 2013)

1) Glukosa darah sewaktu > 200 mg/dl disertai dengan gejala diabetes yang meliputi *polyuria, polidipsi*, dan penurunan berat badan tanpa sebab yang jelas
2) Glukosa darah puasa > 126 mg/dl. Puasa didefinisikan sebagai tidak adanya asupan kalori selama minimal 8 jam
3) Glukosa darah 2 jam > 200 mg/dl selama tes toleransi glukosa oral (TTGO). Asupan glukosa yang direkomendasikan pada tes ini adalah 75 gram atau yang sebanding
4) HbA1c > 6,5%. Tes tersebut dilakukan di laboratorium yang menggunakan metode yang disertifikasi oleh NGSP (*National Glycohemoglobin Standardization Program)* dan distandarisasi oleh DCCT *(Diabetes Control and Complications Trial)* (American Diabetes Association, 2012; Triplitt, 2012).

2.4.5 Komplikasi Diabetes Melitus

Komplikasi *vaskuler* pada diabetes terjadi baik pada pembuluh *mikrovaskuler* maupun *makrovaskuler*. Komplikasi *mikrovaskuker* meliputi *retinopati, nefropati dan neuropati*. Komplikasi *makrovaskuler* meliputi penyakit *vaskuler peripheral* dan komplikasi kardiovaskuler seperti penyakit jantung iskemik dan hipertensi. Seluruh penyakit kronis ini memerlukan waktu 10-20 tahun untuk bermanisfestasi. Salah satu faktor yang paling penting pada patogenesa komplikasi diabetes adalah keadaan metabolik pasien diabetik, faktor kausatif utama adalah *hiperglikemia*. Keparahan komplikasi tersebut dipengaruhi oleh faktor genetik, dimana beberapa pasien diabetes tidak mengalami komplikasi meskipun kontrol glikemiknya tidak optimal (American Diabetes Association, 2012; Westerbacka *et al*., 2008)

2.5 Tinjauan Resistensi Insulin

2.5.1 Defenisi

Resistensi insulin merupakan faktor kunci terjadinya gangguan metabolik dan pemicu timbulnya diabetes mellitus tipe 2 (DMT2) (Westerbacka *et al*., 2008). Resistensi insulin adalah suatu keadaan terjadinya gangguan respon metabolik terhadap kerja insulin, akibatnya kadar glukosa plasma tertentu dibutuhkan kadar insulin yang lebih banyak dari pada normal untuk mempertahankan *normoglikemi (euglikemi)*.

Resistensi insulin dapat disebabkan oleh gangguan pre reseptor, reseptor dan post reseptor. Gangguan pre reseptor dapat disebabkan oleh antibodi insulin dan gangguan pada insulin. Gangguan reseptor dapat disebabkan oleh jumlah reseptor yang kurang atau kepekaan reseptor menurun. Sedangkan gangguan post reseptor disebabkan oleh gangguan pada proses fosforilasi pada signal transduksi didalam sel otot, daerah utama terjadinya resistensi insulin adalah pada post reseptor sel target di jaringan otot rangka dan sel hati. Kerusakan post reseptor ini menyebabkan kompensasi peningkatan sekresi insulin oleh sel β pancreas, sehingga terjadi hiperinsulinemia pada keadaan puasa maupun post prandial (Cheng, 2005).

2.5.2 Patofisiologi

Gen insulin manusia terletak pada lengan pendek dari kromosom 11. Molekul precursor yaitu praproinsulin, suatu peptide rantai panjang dengan BM 11.500 dihasilkan oleh sintesis yang diarahkan oleh DNA/RNA dalam reticulum endoplasmic dari sel-sel beta pancreas. Molekul dibelah oleh enzim-enzim microsomal menjadi proinsulin, kemudian diangkut ke badan golgi dimana terjadi pengemasan menjadi granul-granul sekretorik berlapis klatrin yang selanjutnya disebut insulin (Lanzerstorfer *et al*., 2015).

Insulin adalah hormon pankreas yang dihasilkan oleh sel beta Langerhans yang berfungsi menurunkan kadar gula darah dengan menekan

pengeluaran hepatik glukosa melalui penurunan gluconeogenesis dan glikogenolisis dan menurunkan kadar gula darah dengan merangsang penyimpanan terutama ke otot dan jaringan lemak melalui Glucose Transporter-4 (GLUT-4) (Rao et al., 2016) Pada resistensi insulin terjadi kerusakan pensinyalan pada Insulin reseptor substrate (IRS) maupun phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) yang menyebabkan gagalnya translokasi suatu molekul transmembran GLUT-4 ke membrane sel sehingga glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel dan digunakan oleh sel tersebut sebagai sumber energy. Glukosa yang tidak terpakai ini akan menyebabkan kadar glukosa darah meningkat yang secara klinis akan memberikan gambaran hiperglikemik. Peran gen apabila terjadi resistensi insulin pada sindroma metabolic ini ditemukan adanya mutasi pada kedua alel reseptor insulin.

Resistensi insulin sebagai denominator utama terjadinya sindrom metabolik. Mekanisme terjadinya resistensi insulin oleh beberapa jalur. Pertama melalui induksi resistensi insulin karena faktor inflamasi. Hubungan antara inflamasi dan resistensi insulin dimana sitokin proinflamatorik TNF-α (Tumor necrosis Factor-α) dapat menginduksi resistensi insulin. Akumulasi jaringan lemak pada obesitas akan meningkatkan produksi berbagai macam sitokin seperti TNF-α, lL-6 (Interleukin-6), resistin, leptin, adiponektin, MCP-1 (Moncyte Chemoattractant Protein-1, PA-1 (plasminogen activator inhibitor-1.

Ketika intake kalori berlebihan dibandingkan pengeluaran energy, hal ini dapat menginduksi meningkatknya mitokondria NADH (mNADH) dan reactive oxygen species (ROS) pada siklus asam sitrat. Jika ROS diproduksi terlalu berlebihan akan menurunkan aktivitas sel β pancreas, dan sel lainnya, pada saat yang bersamaan hiperglikemia akan menginduksi signal ROS yang akan menstimulasi sekresi insulin atau glucose induced insulin secretion (GIIS) (Pitocco *et al*., 2013)

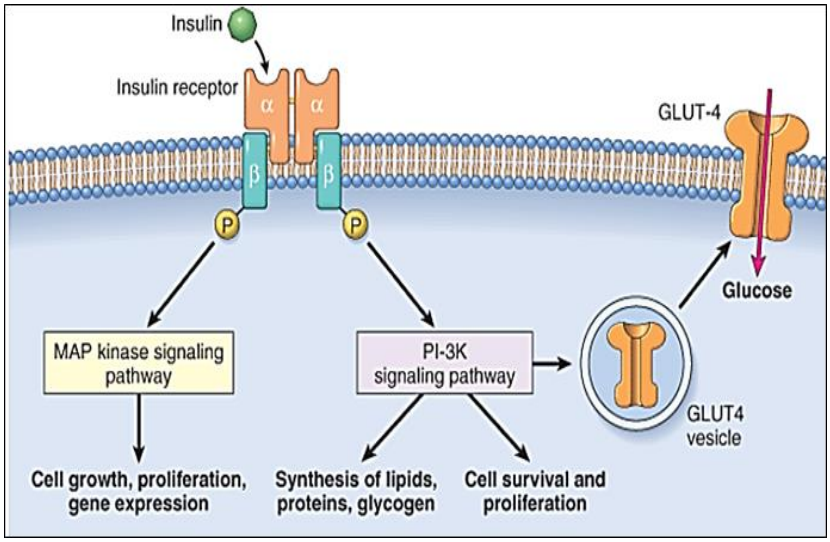
2.6 Kerja dan Jalur sinyal Insulin

Insulin adalah hormon *anabolic* terkuat yang diketahui, dengan banyak efek pada sintesis. Fungsi metabolik utamanya adalah meningkatkan laju transport glukosa ke dalam sel tertentu di tubuh. Sel-sel ini adalah sel otot rangka (termasuk sel miokardium) dan dengan tingkat yang lebih rendah, *adiposity* yang secara kolektif membentuk sekitar dua pertiga dari berat tubuh total. Penyerapan glukosa di jaringan perifer lain, terutama otak tidak bergantung pada insulin. Di sel otot, glukosa kemudian disimpan sebagai glikogen atau dioksidasi untuk menghasikkan ATP. Di jaringan lemak, glukosa terutama disimpan sebagai lemak. Selain mendorong sintesis lemak, insulin juga menghambat pemecahan lemak di adiposity.

Demikian juga, insulin mendorong penyerapan asam amino dan sintesis protein, sekaligus menghambat penguraian protein. Efek anabolic insulin menyebabkan peningkatan sintesis dan penurunan penguraian glikogen, lemak, dan protein. Selain itu, insulin memiliki beberapa fungsi mitogenik, termasuk inisiasi sintesis DNA di sel tertentu dan stimulus pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel tersebut (Kumar *et al.*, 2010). Terikatnya insulin ke dalam reseptornya memicu kaskade sinyal yang kompleks berupa fosforilasi dan defosforilasi protein terutama pada efek metabolik dan mitogenik.

Molekul insulin yang telah disekresi ke dalam sirkulasi darah terikat dengan reseptor. Ikatan insulin dan reseptornya membutuhkan GLUT4 *glucose transporter* untuk dapat masuk ke dalam sel otot dan jaringan lemak (sel sasaran) serta penyerapan glukosa dengan efisien, yang akhirnya menurunkan kadar glukosa dalam plasma (Eliasson *et al*., 2008). Insulin dalam memberikan efeknya harus berikatan dengan reseptor insulin. Reseptor insulin memiliki struktur *heterotetramer* yang terdiri dari *subunit glikoprotein 2 α* dan *2 β*, yang dihubungkan dengan ikatan disulfida dan berlokasi di membrane sel. Subunit α mengandung domain pengikat insulin, sedangkan subunit β transmembran berfungsi sebagai *kinase spesifik Tyr (kinase reseptor insulin*). Pensinyalan insulin memanfaatkan aktivitas *Tyr*

kinase dari reseptor untuk memfosforilasi protein pada beberapa *residu Tyr* dan melanjutkan aksi insulin (Paz *et al*., 1999).



Gambar 3 kerja insulin pada sel sasaran (Kumar *et al*., 2010)

Reseptor insulin adalah suatu protein tetramerik yang terdiri dari dua subunit α dan dua subunit β. Domain sitosolik subunit β memiliki aktivitas *tirosin kinase*. Pengikatan insulin ke domain ekstrasel subunit α mengaktifkan *tirosin kinase* subunit β menyebabkan *autofosforilasi reseptor* dan *fosforilasi elemen-elemen* penyalur sinyal dibagian hilir, jalur sinyal terbagi menjadi dua kategori utama yaitu :

a. *Jalur sinyal mitogen-activated protein kinase* (MAPK)) berperan dalam faktor pertanaman, mendorong proliferasi sel dan ekspresi gen.

b. *Jalur sinyal fosfatidilinositol-3-kinase* (PI-3K) berperan dalam sintesis lemak, protein, glikogen dan proliferasi sel

2.7 Insulin Reseptor Substrat 1 (IRS - 1)

Insulin reseptor susbtrat -1 (IRS-1) adalah elemen penting dalam jalur pensinyalan insulin, dan mutasi pada gen IRS-1 telah dilaporkan memiliki peran dalam menentukan kerentanan terhadap sifat-sifat yang berhubungan dengan diabetes tipe 2. IRS-1 adalah protein adaptor sinyal intraseluler yang mengintegrasikan dan mengkoordinasikan sejumlah sinyal ekstraseluler kunci biologis didalam sel. Pertama diidentifikasi sebagai perantara dari reseptor insulin (IR), jadi jelas bahwa IRS-1 adalah susbtrat utama dari reseptor faktor 1 yang mengandung insulin (IGF1R). IRS-1 mengandung beberapa situs fosforilasi tirosin, yang selama stimulasi insulin terfosforilasi dan bertindak sebagai situs *docking* untuk beberapa protein yang mengandung SH2 termasuk PI3K (Machado Neto, *et al.*, 2013).

IRS-1 terdapat diseluruh jaringan yang sensitif insulin atau IGF-1 sensitif, Diperkirakan bertindakan sebagai *multisite "Docking"* protein yang mengikat protein sinyal dan menghubungkan reseptor kinase ke berbagai fungsi seluler yang diatur oleh insulin. Gen IRS-1 (terletak pada kromosom 2q) adalah gen kandidat untuk NIDDM (Wild *et al*., 2004)

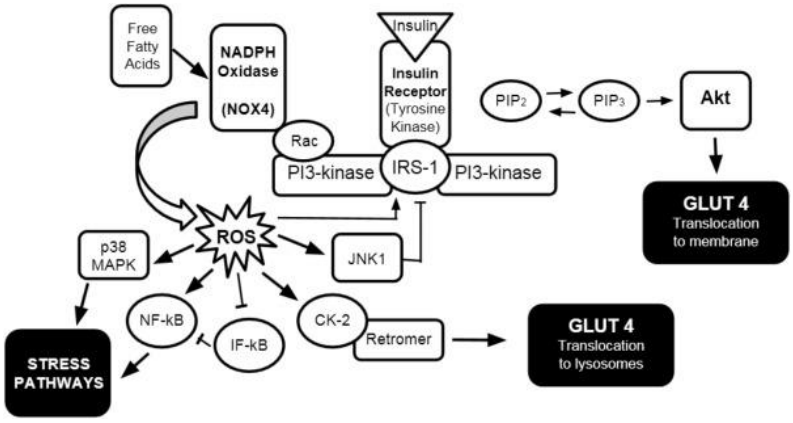
Gen reseptor insulin insulin substrat-1 (IRS-1) adalah gen resistensi insulin di NIDDM. Setelah insulin berikatan dengan subunit didalamnya reseptor insulin, *tirosin kinase* dari sub unit mengalami autofosforilasi. Ini pada gilirannya memfosforilasi substrat protein endogen lainnya. Substrat pertama langsung untuk reseptor insulin kinase adalah IRS-1 yang merupakan hidrofilik fosprotein yang mengandung 20 potensi fosforilasi tirosin situs. IRS-1 mengalami fosforilasi tirosin setelah stimulasi insulin dan mengikat dengan beberapa kinase termasuk *phosphatidylinositosol 3'-kinase* (P1 3' kinase). PI 3' kinase memainkan peran penting dalam pengaturan pertumbuhan sel dan terdiri dari dua sub unit- sub unit katalitik 110 kDa dan 85 kDa regulatory subunit yang berisi domain SH2 yang memediasi interaksi protein-protein oleh mengikat residu *phosphotyrosine* dalam berbagai protein. Kinase PI 3' diaktifkan ketika SH2 domain dari subunit peraturan mengikat ke terfosforilasi motif Tyr-Met-X-Met di IRS-1 yang mengikat kompleks kinase IRS-1/ P1 3 ke reseptor insulin dapat memainkan peran penting dalam transmisi sinyal insulin (Hitman, 1995)

Terdapat 4 jenis protein IRS. IRS 1 merupakan IRS terbesar diotot rangka. IRS 2 merupakan IRS penting di liver, yang berfungsi dalam aktivitas perifer dari insulin dan pertumbuhan dari sel β pankreas. IRS 3 ditemukan

hanya pada jaringan adiposa, sel β, dan liver. Sedangkan IRS 4 ditemukan di timus, otak dan ginjal. IRS yang telah terfosforilasi akan mengikat *src-homology-2 domain protein* (SH2) yang spesifik, yang meliputi enzim penting seperti *phosphatidylinositol-3-kinase* (PI 3-kinase) dan *phosphotyrosine phosphatase* SHPTP2 (atau Syp), dan protein lain yang bukan enzim tapi dapat menghubungkan IRS-1 dengan system sinyal interseluler yang lain *(rat sarcoma protein)* (Gisela, 2005).

Fungsi dari substrat reseptor insulin 1 (IRS1) memainkan peran kunci dalam transmisi sinyal dari insulin dan reseptor faktor pertumbuhan-1 (IGF-1) seperti insulin ke jalur intraseluler PI3K/Akt dan jalur Erk MAP Kinase. Fosforilasi tirosin IRS-1 oleh resptor insulin (IR) memperkenalkan beberapa situs pengikatan untuk protein yang memiliki domain homologi SH2 seperti PI3K. fosforilasi tirosin reseptor insulin atau reseptor IGF-1, pada pengikatan *ligand ektsraseluler*, menginduksi pengikatan sitoplasma IRS-1 ke reseptor ini, melalui domain PTB.

Beberapa residu tirosin dari IRS1 kemudian terfosforilasi oleh reseptor-reseptor ini yang memungkinkan IRS1 untuk mengaktifkan beberapa jalur pensinyalan, termasuk jalur PI3K dan jalur MAP Kinase. IRS-1 memainkan fungsi biologis yang penting untuk jalur metabolisme dan mitogenik. (Lanzerstorfer *et al*., 2015)



Gambar 2.4 jalur sinyal reseptor Insulin termasuk pengaruh (Hurrle & Hsu, 2017)

Jalur normal dimulai dengan insulin yang mengikat reseptor tirosin kinase insulin. Reseptor insulin memfosforilasi *reseptor insulin substrat-1* (IRS-1) yang pada gilirannya memfosforilasi *PI3-kinase*. *PI3-kinase* kemudian memfosforilasi PIP2 yang kemudian mengaktifkan Akt, akhirnya mengarah ke *translokasi glukosa transporter* 4 (GLUT4) ke membran plasma sel otot skelet dan adiposit, sehingga memungkinkan sel untuk menyerap *glukosa ekstraseluler*, menurunkan kadar glukosa interstisial dan dengan demikian konsentrasi glukosa plasma (Hurrle & Hsu, 2017).

Resistensi insulin merupakan faktor resiko utama untuk mengembangkan diabetes tipe 2, dan berkontribusi terhadap morbiditas

obesitas. Tindakan insulin melibatkan serangkaian dari *sinyal kaskade* yang diprakarsai oleh insulin yang mengikat pada reseptornya, memunculkan *autofosforilasi reseptor* dan aktivasi *reseptor tirosin kinase*, menghasilkan *fosfoforilasi tirosin substrat reseptor insulin* (IRS). *Fosforilasi IRS* menyebabkan aktivasi *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K) dan, selanjutnya untuk aktivasi Akt dan mediator downstream AS160, yang semuanya merupakan langkah penting untuk menstimulasi glukosa transportasi yang disebabkan oleh insulin. Meskipun mekanisme yang mendasari resistensi insulin tidak sepenuhnya dipahami dalam otot skeletal, diduga menghasilkan, namun setidaknya sebagian dari PI3K yang tergantung aktivasi insulin dan pensinyalan (Kangduk Choi & Bum kim, 2010).

2.8 Metformin

Metformin merupakan agen antidiabetik oral yang paling sering diresepkan bagi orang dewasa dengan diabetes tipe 2. Metformin secara signifikan meningkatkan glikemik kontrol. Berarti HbA1c (hemoglobin glikosilasi, ukuran kadar glukosa darah di atas nilai waktu). Metformin, biguanide dapat digunakan sendiri atau dalam bersama dengan sulfonilurea atau insulin dalam pengobatan yang tidak tergantung insulin diabetes mellitus (NIDDM). Biguanides mengurangi hiperglikemia dengan meningkatkan insulin

sensitivitas, mengurangi penyerapan glukosa, dan menghambat glukoneogenesis hati.

Manfaat metformin diantaranya dapat mencapai kontrol glikemik tanpa memperburuk kenaikan berat badan atau hiperinsulinemia dan mempengaruhi kolesterol serum konsentrasi. Metformin bertindak untuk menurunkan glikemia terutama dengan menghambat produksi glukosa hati dan juga dengan meningkatkan penyerapan glukosa perifer. Mekanismenya bekerja terutama dengan mencegah hati memproduksi glukosa berlebih dan mengurangi jumlah lemak dan kolesterol yang diproduksi oleh hati (Swales *et al*., 2010)

2.9 Hiperglikemia

Hiperglikemia adalah istilah teknis untuk glukosa darah yang tinggi. Glukosa darah tinggi terjadi ketika tubuh memiliki insulin yang terlalu sedikit atau ketika tubuh tidak dapat menggunakan insulin dengan benar (ADA, 2010). Penyebabnya tidak diketahui dengan pasti tapi umumnya diketahui kekurangan insulin adalah penyebab utama dan faktor herediter yang memegang peranan penting, sedangkan yang lainnya adalah akibat pengangkatan pankreas, pengrusakan secara kimiawi faktor obesitas, faktor imunologi misal pada penderita hiperglikemia khususnya diabetes mellitus terdapat bukti adanya suatu respon autoimun. Respon ini merupakan respon

abnormal di mana antibodi terarah pada jaringan normal tubuh dengan cara bereaksi terhadap jaringan tersebut yang dianggap sebagai jaringan asing. Hiperglikemia biasanya merupakan tanda pertama diabetes mellitus (American Diabetes Association, 2012).

2.10 Induksi Streptozotocin pada Mencit

Percobaan penelitian mengenai DM dengan menggunakan hewan model didasarkan pada patogenesis penyakit tersebut pada manusia yang bersifat kronis atau berlangsung menahun. Pada saat ini telah banyak penelitian menggunakan hewan model yang secara patologis dibuat menderita DM. Kondisi patologis pada hewan model dibuat bertujuan melakukan pencegahan, mengetahui patogenesis penyakit, menetapkan diagnosis, dan terapi yang digunakan dalam penanganan penyakit DM. Pada hewan model DM sering disebabkan akibat pemberian *streptozotocin* dapat mengakibatkan kerusakan pada *sel beta Langerhans pankreas (*Etriwati *et al*., 2016)

Untuk membuat model DM dengan menggunakan hewan mencit dengan beberapa cara, yaitu dengan *induksi streptozotocin* yang secara selektif dapat merusak *sel β pankreas*, pemberian obat-obat yang menghambat sekresi insulin dan dengan pemberian antibodi anti insulin (W.F, 1992; Widiastuti, 2003). Penggunaan STZ lebih baik dalam mengurangi

produk insulin karena dapat bekerja secara selektif dengan merusak *sel β pankreas*, sehingga akan terjadi peningkatan kadar gula dalam darah (*hiperglikemia*) dan *intoleransi glukosa* yang merupakan manifestasi dari defisiensi insulin (Garvey, 1992)

Streptozotocin atau Izostazin atau zanosar (STZ) adalah nitrosoureido glucopyranose sintetis turunan yang diisolasi dari fermentasi. Streptomyces achromogenes yang secara klasik merupakan sebuah Antibiotik anti tumor dan secara kimiawi berhubungan dengan lainnya nitrosureas digunakan dalam kemoterapi kanker. Streptozotocin mencegah sintesis DNA sel mamalia dan bakteri. Di sel bakteri, itu membuat reaksi khusus dengan gugus sitosin, mengakibatkan degenerasi dan kerusakan DNA. Reaksi STZ terhadap sel pancreas disertai dengan perubahan karakteristik pada insulin darah dan konsentrasi glukosa yang menyebabkan hiperglikemia dan menurunnya level insulin dalam darah.

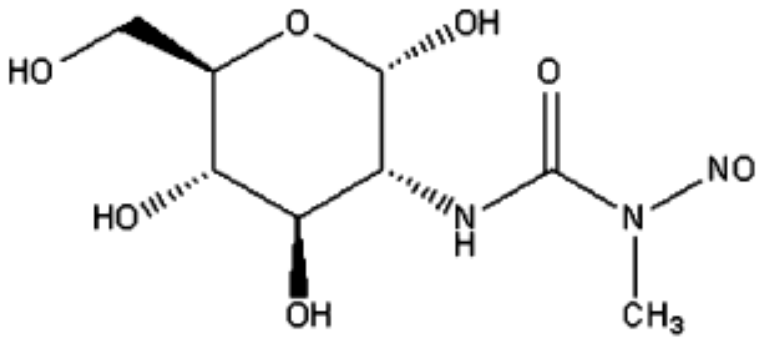
STZ mempengaruhi oksidasi glukosa dan menurunkan biosintesis dan sekresi insulin. STZ masuk ke sel-β pankreas melalui transporter glukosa GLUT2 menyebabkan menurunnya ekspresi dari GLUT2.16 Hal ini mengakibatkan penurunnya sensitifitas reseptor insulin perifer sehingga berdampak pada meningkatnya resistensi insulin dan meningkatkan kadar glukosa darah. STZ mampu mempengaruhi glukosa darah melalui 3 mekanisme yakni antara lain : 1) Penumpulan atau hilangnya respon insulin

tahap pertama, sehingga sekresi insulin terlambat dan gagal mengembalikan lonjakan gula darah prandial dalam waktu yang normal, 2) Penurunan sensitifitas insulin sebagai respon terhadap glukosa sedemikian hingga menyebabkan hiperglikemia, 3) Gagal memberikan stimulasi terhadap respon insulin yang wajar (Garvey, 1992). Mekanisme biokimia menghasilkan mamalia kematian sel. Streotozotocin mencegah seluler reproduksi dengan dosis yang jauh lebih kecil dari dosis diperlukan untuk menghambat koneksi media ke DNA atau penghambat banyak enzim yang terlibat didalamnya sintesis DNA (Furman, 2015)

Induksi diabetes mellitus dengan STZ membutuhkan waktu beberapa waktu, dan percobaan dilakukan di tempat yang sesuai interval waktu setelah administrasi agen akan memberikan informasi tambahan ke dalam mekanisme aksi dari senyawa yang diuji. digunakan: tikus 150 mg / kg; tikus 80 mg / kg, diberikan secara intraperitoneal. Diabetes berkembang secara bertahap dan dapat dinilai setelah beberapa hari, biasanya empat hari untuk tikus dan tujuh hari untuk tikus. Biasanya kadar glukosa serum sekitar 180 – 500 mg / dl menunjukkan induksi diabetes mellitus (Lenzen, 2008).

*Streptozotocin (*STZ) merupakan *derivate nitrosourea* yang diisolasi dari *Streptomyces achromogenes*, mempunyai aktivitas anti-neoplasma dan antibiotik spectrum luas. *Streptozotocin* dapat secara langsung merusak masa kritis *sel β pancreas*. *Streptozotocin* (STZ) atau *2-deoksi-2-[3-(metil-3-*

nitrosoureido)-Dgluko piranose] diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* yang dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 maupun tipe 2 pada hewan uji



Gambar 2.5 Struktur kimia streptozotocin (Lenzen, 2008)

Senyawa *streptozotocin* memiliki waktu paruh yang cukup lama dan tidak mudah teroksidasi. *Streptozotocin* bekerja dengan cara membentuk radikal bebas sangat reaktif yang dapat menimbulkan kerusakan pada membrane sel, protein, dan *deoxyribonucleic acid* (DNA), sehingga menyebabkan gangguan produksi insulin oleh *sel beta langerhans pankreas* (Szkudelski, 2001; Wilson *et al*., 1988) menyatakan bahwa *streptozotocin* masuk ke *sel β pankreas* melalui *glucose transporter* (GLUT-2) dan akan menyebabkan *alkilasi deoxyribonucleic acid* (DNA) sehingga terjadi kerusakan DNA. Kerusakan DNA tersebut nantinya akan mengaktifkan *poly adenosine diphosphate (ADP)-ribosylation*. Proses ini akan mengakibatkan penghabisan *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD+) seluler, lebih lanjut

akan terjadi pengurangan *adenosine triphosphate* (ATP) dan akhirnya akan menghambat sekresi dan sintesis insulin (Szkudelski, 2001)

Streptozotocin (STZ) adalah bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan percobaan. Senyawa ini memberikan efek sitotoksik akut pada sel dan molekul, terutama terhadap sel β pankreas. Sel β pankreas yang rusak menyebabkan penurunan insulin dan menyebabkan hiperglikemia (Szkudelski, 2001). STZ menghasilkan radikal bebas seperti radikal superoksida O2-, H2O2 dan OH- termasuk oksida nitrat yang menyebabkan kerusakan DNA [Skudelski; 2001). STZ menghasilkan radikal bebas seperti radikal superoksida O2-, H2O]. Gugus hidroksil (OH-) merupakan senyawa pengoksidasi yang sangat kuat yang dapat bereaksi dengan DNA, protein, lipid, asam amino dan glukosa [Kohen,2002].

Kerusakan DNA menyebabkan sel β pankreas tidak mampu memproduksi insulin sehingga glukosa darah meningkat (hiperglikemia). Menurut (Szkudelski, 2001) Robertson, 2003 kondisi hiperglikemik dapat mengakibatkan pembentukan ROS (spesies oksigen reaktif) seperti O2- dan peroksida. Pembentukan radikal bebas dirangsang oleh H2O2 dalam sel β pankreas ROS yang berlebihan dapat menyebabkan stres oksidatif dan dapat memperburuk kerusakan sel β pankreas. Stres oksidatif dapat menurunkan jumlah sel β penghasil insulin di pankreas (Szkudelski, 2001). Pada tikus diabetes yang diinduksi STZ, diabetes berkembang sebagai akibat dari

kerusakan sel β pankreas ireversibel yang menyebabkan degranulasi dan penurunan sekresi insulin.

Peningkatan defosforilasi ATP sebagai bentuk kompensasi terjadinya pengurangan ATP akan memacu peningkatan substrat untuk enzim *xantin oksidase* (sel β pankreas mempunyai aktivitas tinggi terhadap enzim ini). *Xantin oksidase* mengkatalisis reaksi pembentukan *anion superoksida aktif* dalam mitokondria sehingga menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Produksi ATP mitokondria yang terbatas selanjutnya mengakibatkan pengurangan secara drastis nukleotida sel β pankreas. Terdapat dua tipe diabetes mellitus akibat induksi *streptozotocin* (STZ), yaitu diabetes mellitus tipe 1 dan dibetes mellitus tipe 2 (Yaturu, 2011).

Selain itu, *streptozotocin* merupakan *donor nitric oxide* (NO) yang juga mempunyai kontribusi terhadap kerusakan *sel β pankreas* melalui peningkatan aktivitas *guanilil siklase dan pembentukan cyclic guanosine monophosphate* (cGMP). *Nitric oxide* dihasilkan sewaktu *streptozotoci*n mengalami metabolisme dalam sel (Lenzen, 2008).

Pemberian STZ dengan dosis rendah berulang dapat menginduksi *apoptosis* dan menyebabkan *nekrosis sel beta Langerhans pankreas* (Szkudelski, 2001). Mekanisme *apoptosis sel beta Langerhans pankreas*

berhubungan dengan sintesis insulin secara lokal di otak dan distribusi insulin melalui pembuluh darah ke otak. Pada kondisi DM jumlah insulin yang beredar di dalam darah menuju ke otak akan berkurang, sedangkan kadar glukosa darah meningkat. Insulin berperan penting dalam metabolisme glukosa di saraf, seperti *aktivasi sinaps*, pelepasan *neurotransmitter*, pelepasan *kalsium/Ca2+ intraseluler*, dan *neuropeptida*.

Lenzen dalam penelitiannya telah menunjukkan bahwa induksi dengan STZ lebih baik daripada induksi alloksan. Streptozotocin memiliki batas keamanan yang lebih baik daripada aloksan karena rentang dosisnya yang lebar dan lebih jarang terjadi keadaan ketosis dibandingkan alloksan. Szkudelski juga menyatakan induksi STZ lebih baik digunakan dalam membuat hewan model diabetes, karena mampu mempertahankan hiperglikemia dalam waktu yang lama sehingga memudahkan pengamatan terhadap patofisiologi dan komplikasi diabetes.

2.11 Kandungan Senyawa antioksidan

2.11.1 Vitamin C

Vitamin C, yang dikenal juga dengan nama asam askorbat, merupakan vitamin yang larut dalam air. Sesuai dengan sifatnya, vitamin C membasmi radikal bebas yang berada dalam lingkungan berair, seperti di dalam sel tubuh manusia. Vitamin C merupakan suplemen vitamin yang paling banyak digunakan, karena sifat antioksidannya yang kuat dan juga

memperkuat sistem pertahanan tubuh. Sebagai antioksidan, vitamin C dapat membantu melawan penyakit kardiovaskular dengan melindungi pembuluh darah arteri dari oksidasi berlebihan. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa vitamin C dapat membantu pencegahan penyakit kanker, serta mampu melindungi tubuh dari efek merokok dan polusi udara.

2.11.2 Beta karoten

Beta karoten, lutein dan likopen termasuk dalam jenis antioksidan ini. Karotenoid banyak ditemukan dalam buah-buahan dan sayuran seperti wortel, labu, bayam, tomat, dan anggur merah. Dari penelitian yang dilakukan, ditemukan bahwa karotenoid mengurangi resiko penyakit jantung dan beberapa jenis kanker, serta memperkuat sistem pertahanan tubuh.

2.11.3 Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa fenol yang terdapat pada seluruh tumbuhan, di bagian daun, akar, kayu, kulit, bunga, buah dan biji. Flavonoid berupa senyawa yang terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang terdapat dalam suatu tumbuhan sebagai campuran. Flavonoid merupakan senyawa polar seperti etanol, butanol, methanol, aseton, air dan lain-lain. Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air (Padmawinata, 1988). Senyawa isoflavon merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak disintesis

oleh tanaman. Namun, tidak seperti senyawa metabolit sekunder lain, senyawa ini tidak disintesis oleh mikroorganisme (Andersen & Markham, 2006)

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang paling umum, karena tersebar luas di jaringan tanaman, dan bersama karotenoid dan klorofil bertanggung jawab memberikan warna seperti biru, ungu, kuning, oranye dan merah pada tanaman. Flavonoid meliputi flavon, flavonol, isoflavonol, antosianin, antosianidin, proantosianidin dan katekin. Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia yaitu dua cincin aromatik benzena yang dihubungkan oleh 3 atom karbon (C6-C3-C6) (winarsi, 2007)

Flavonoid mempunyai banyak efek yang baik terhadap kesehatan tubuh manusia. Para peneliti menemukan flavonoid bermanfaat sebagai antioksidan yang berperan sebagai antiinflamasi dengan memutus efek jalur metabolisme asam arakidonat, mempengaruhi produksi prostaglandin dan pelepasan histamin, mempunyai aktivitas antitumor dengan memutus aktivitas promotor tumor, dan antivirus diperkirakan memutus sintesis asam nukleat (winarsi, 2007); (Andersen & Markham, 2006).

2.11.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder terbanyak atom nitrogen yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan hewan.pada tanaman dapat ditemukan pada bunga, biji, daun akar, ranting dan kulit batang. Mekanisme alkaloid didalam sel, alkaloid merupakan senyawa yang memiliki kemampuan meregenerasi sel β pancreas yang telah rusak. Alkaloid dapat menurunkan kadar glukosa dengan cara menstimulasi dan menghambat sintesis glukosa dengan cara menghambat enzim glukosa 6- fosfatase, fruktosa, 1, 6-biofosfatase, serta dapat meningkatkan oksidasi glikogen glukosa melalui glukosa 6- fosfat dehydrogenase. glukosa 6- fosfatase dan fruktosa 1,6- bifosfatase merupakan enzim yang dapat menurunkan pembentukan glukosa dari substrat (Wild *et al*., 2004).

2.11.5 Asam fenolik/ Polifenol

Polifenol dapat diartikan suatu senyawa kimia yang umumnya terdapat pada bahan alam dimana struktur dasarnya memiliki gugus aromatic yang terikat satu atau lebih gugus OH. Manfaat polifenol bagi kesehatan yaitu untuk mencegah atau mengobati penyakit degenerative yang kronik seperti diabetes, kanker, penyumbatan pembuluh darah dan penyakit degenerative. Selain itu, polifenol dengan kapasitas antioksidannya dimana sifat antioksidan senyawa ini berkaitan dengan keberadaan gugus fenolik yang dapat mendonorkan atom hydrogen pada suatu radikal bebas sehingga

radikal bebas tidak reaktif. Senyawa fenol merupakan kelas utama antioksidan yang berada dalam tumbuhtumbuhan. Fenol (C6H6OH) merupakan senyawa organik yang mempunyai gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena (winarsi, 2007).

2.12 Senyawa antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menyerap atau menetralisir radikal bebas sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskuler, karsinogenesis, dan penyakit lainnya. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralisir radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (R.K, 2009).

Dalam melawan bahaya radikal bebas baik radikal bebas eksogen maupun endogen, tubuh manusia telah mempersiapkan penangkal berupa sistem antioksidan yang terdiri dari 3 golongan yaitu : (winarsi, 2007). 1. Antioksidan Primer yaitu antioksidan yang berfungsi mencegah pembentukan radikal bebas selanjutnya (propagasi), antioksidan tersebut adalah transferin, feritin, albumin. 2. Antioksidan Sekunder yaitu antioksidan yang berfungsi

menangkap radikal bebas dan menghentikan pembentukan radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Superoxide Dismutase (SOD), Glutathion Peroxidase (GPx) dan katalase. 3. Antioksidan Tersier atau repair enzyme yaitu antioksidan yang berfungsi memperbaiki jaringan tubuh yang rusak oleh radikal bebas, antioksidan tersebut adalah Metionin sulfosida reduktase, Metionin sulfosida reduktase, DNA repair enzymes, protease, transferase dan lipase.

Berdasarkan sumbernya antioksidan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia dikelompokkan menjadi tiga yaitu : 1. Antioksidan yang sudah diproduksi di dalam tubuh manusia yang dikenal dengan antioksidan endogen atau enzim antioksidan (enzim Superoksida Dismutase (SOD), Glutation Peroksidase (GPx), dan Katalase (CAT). 2. Antioksidan sintetis yang banyak digunakan pada produk pangan seperti Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), propil galat dan Tert-Butil Hidroksi Quinon (TBHQ).

Antioksidan alami yang diperoleh dari bagian-bagian tanaman seperti kayu, kulit kayu, akar, daun, buah, bunga, biji dan serbuk sari seperti vitamin A, vitamin C, vitamin E dan senyawa fenolik (flavonoid). Antioksidan sintetis sudah banyak digunakan di masyarakat baik pada minuman maupun makanan kemasan yang dijual di pasaran seperti Butil *Hidroksi Anisol* (BHA),

Butil Hidroksi Toluen (BHT), *Propil Galat* (PG) dan *Tert-Butil Hidrosi Quinon* (TBHQ).

Menurut hasil penelitian Amarowicz et al. (2000) menyatakan bahwa penggunaan bahan sintetis ini dapat meningkatkan risiko penyakit kanker. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa adanya peningkatan konsumsi antioksidan alami yang terdapat dalam buah, sayur, bunga dan bagianbagain lain dari tumbuhan dapat mencegah penyakit-penyakit akibat stress oksidatif seperti kanker, jantung, peradangan ginjal dan hati. Mikronutrien yang terkandung dalam tumbuhan seperti vitamin A, C, E, asam folat, karotenoid, antosianin, dan polifenol memiliki kemampuan menangkap radikal bebas sehingga dapat dijadikan pengganti konsumsi antioksidan sintetis (M.I, n.d.). Adanya gugus –OH pada tokoferol (Vit.E) dan senyawa fenol lainnya serta ikatan rangkap (>C=C>) pada β-karoten dapat menghambat dan menetralisir reaksi radikal bebas (R.K, 2009).

Senyawa antioksidan alami pada umumnya berupa vitamin C, vitamin E, karotenoid, senyawa fenolik, dan polifenolik yang dapat berupa golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kuomarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, katekin, flavonol, dan kalkon. Turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat, dan lain-lain. Hal ini disebabkan karena gugus -OH dan ikatan rangkap dua

(>C=C<) Mikronutrien yang terkandung dalam tumbuhan seperti vitamin A, C, E, asam folat, karotenoid, antosianin, dan polifenol memiliki kemampuan menangkap radikal bebas sehingga dapat dijadikan pengganti konsumsi antioksidan sintetis (M.I, n.d.).

2.12 Hubungan Diabetes mellitus, Madu Trigona Tetragonula Biroi dan Gen IRS-1

Diabetes Mellitus merupakan gangguan metabolisme yang berhubungan dengan abnormalitas metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang disebabkan oleh penurunan sekresi insulin sehingga terjadi kondisi hiperglikemia (International Diabetes Federation, 2003).

Diabetes melitus tipe II disebabkan oleh karena sel sel sasaran insulin gagal atau tidak mampu merespon insulin secara normal. Keadaan ini lazim disebut sebagai “resistensi insulin”(Cheng, 2005)(Fatimah, 2015). Pada awal perkembangan diabetes melitus tipe II, sel β menunjukan gangguan pada sekresi insulin fase pertama, sekresi insulin gagal mengkompensasi resistensi insulin. Apabila tidak ditangani dengan baik, pada perkembangan selanjutnya akan terjadi kerusakan sel-sel β pankreas. Kerusakan sel-sel β pankreas akan terjadi secara progresif seringkali akan menyebabkan defisiensi insulin, sehingga akhirnya penderita memerlukan insulin eksogen.

Resistensi insulin adalah suatu keadaan terjadinya gangguan respon metabolik terhadap kerja insulin, akibatnya kadar glukosa plasma tertentu dibutuhkan kadar insulin yang lebih banyak dari pada normal untuk mempertahankan *normoglikemi (euglikemi)*. Resistensi insulin dapat disebabkan oleh gangguan pre reseptor, reseptor dan post reseptor. Gangguan pre reseptor dapat disebbakan oleh antibodi insulin dan gangguan pada insulin. Gangguan reseptor dapat disebabkan oleh jumlah reseptor yang kurang atau kepekaan reseptor menurun. Sedangkan gangguan post reseptor disebabkan oleh gangguan pada proses fosforilasi pada signal transduksi didalam sel otot, daerah utama terjadinya resistensi insulin adalah pada post reseptor sel target di jaringan otot rangka dan sel hati. Kerusakan post reseptor ini menyebabkan kompenasi peningkatan sekresi insulin oleh sel β pancreas, sehingga terjadi hiperinsulinemia pada keadaan puasa maupun post prandial (Cheng, 2005).

Gen insulin manusia terletak pada lengan pendek dari kromosom 11. Molekul precursor yaitu praproinsulin, suatu peptide rantai panjang dengan BM 11.500 dihasilkan oleh sintesis yang diarahkan oleh DNA/RNA dalam reticulum endoplasmic dari sel-sel beta pancreas. Molekul dibelah oleh enzim-enzim microsomal menjadi proinsulin, kemudian diangkut ke badan golgi dimana terjadi pengemasan menjadi granul-granul sekretorik berlapis

klatrin yang selanjutnya disebut insulin (Rao *et al*., 2016). Insulin adalah hormone pancreas yang dihasilkan oleh sel beta Langerhans yang berfungsi menurunkan kadar gula darah dengan menekan pengeluaran hepatic glucose melalui penurunan gluconeogenesis dan glikogenolisis dan menurunkan kadar gula darah dengan merangsang penyimpanan terutama ke otot dan jaringan lemak melalui *Glucose Transporter-4* (GLUT-4) (Rao *et al*., 2016).

Pada resistensi insulin terjadi kerusakan pensinyalan pada Insulin reseptor substrate (IRS) maupun *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K) yang menyebabkan gagalnya translokasi suatu molekul transmembran GLUT-4 ke membrane sel sehingga glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel dan digunakan oleh sel tersebut sebagai sumber energy. Glukosa yang tidak terpakai ini akan menyebabkan kadar glukosa darah meningkat yang secara klinis akan memberikan gambaran hiperglikemik (Immanuel, 2013). Peran gen apabila terjadi resistensi insulin pada sindroma metabolic ini ditemukan adanya mutasi pada kedua alel reseptor insulin (Simanjuntak, 2013).Gen reseptor insulin insulin substrat-1 (IRS-1) adalah gen resistensi insulin di NIDDM (Hitman, 1995).

Madu lebah tanpa sengat memiliki karakteristik yang berbeda dibandingkan dengan madu lebah madu dalam hal warna, rasa, viskositas, kadar air dan gula. Menurut (Ngoi, 2016), membuktikan bahwa madu lebah tanpa sengat memiliki rasa dan aroma yang berbeda, tekstur lebih cair dan

mengalami kristalisasi lambat. Umumnya, madu Trigona berwarna lebih gelap dan memiliki sedikit rasa asam (Garedew & Schmolz, 2003)

Lebah *Trigona* spp*.* diketahui dapat menghasilkan madu yang mempunyai kandungan vitamin C yang berfungsi sebagai antibiotik, antitoksin, antioksidan serta untuk meningkatkan sistem imun atau kekebalan tubuh (Ferreira *et al*., 2009). Karena lebah Trigona lebih kecil dari lebah madu biasa. Lebah trigona dapat mengumpulkan nektar bunga dari daerah bunga yang paling dalam, hasilnya, madu Trigona mengandung nilai gizi yang lebih tinggi (Ngoi, 2016).

Menurut (Ferreira *et al*., 2009)., dalam madu lebih dari 150 senyawa *polifenol* mengandung *flavonoid, asam fenolik, katekin,* dan turunan *asam sinamik* yang merupakan senyawa senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan. Adapun senyawa flavonoid merupakan golongan terbesar dalam senyawa fenolik. Kandungan zat aktif dari madu trigona (tetragonula biroi) mempunyai sifat antioksidan. Zat yang bersifat antioksidan mempunyai kemampuan konfigurasi dalam mendesak kemampuan untuk menangkap senyawa oksidatif dan mencegah terbentuknya reaksi-reaksi berantai (Eliasson *et al*., 2008). Konfigurasi dan kemampuannya dalam mendonorkan atom hydrogen juga mempengaruhi aktivitas dalam meredam radikal bebas. Aktivitas antioksidan dari senyawa alami yang berasal dari tanaman seperti

fenolik dan flavonoid disebabkan adanya gugus hidroksil bebas pada struktur moleklunya(Guyton & Hall, 2008).

Aktivitas antioksidan dalam Madu Trigona (*Tetragonula Biroi)* terdapat senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan polifenol. Flavonoid merupakan senyawa yang erat kaitannya sebagai zat yang mempunyai kapasitas antioksidan bagi tubuh. Flavonoid dengan gugus hidroksil bebas mempunyai aktivitas penangkap radikal dan adanya gugus hidroksil gugus orto-katekol pada cincin B menjadi factor penentu dari kapasitas antioksidan yang tinggi (Eliasson *et al*., 2008). Jadi aktivitas antioksidan .

*Flavono*id dan berbagai senyawa *fenolik* dalam madu merupakan senyawa yang paling penting secara farmakologi. Senyawa tersebut telah terbukti mampu menangkal radikal bebas, melindungi lipid dan senyawa lain (vitamin C) yang mudah teroksidasi oksidasi. Antioksidan tersebut dapat melindungi *serum lipoprotein* dari oksidasi. Khasiat antioksidan tersebut dihasilkan dari aktivitas anti radikal (radikal alkoksi dan menekan perluasannya, *superoxide*) dan menghambat efek ion tembaga (*cuprous ion*) yang merupakan inisiator oksidasi pada lipoprotein berdensitas rendah (Pribadi, 2013).

Flavonoid turunan *1,3-difenilpropan*, merupakan sekelompok produk alami yang luas dan tersebar dalam madu. *Flavonoid* merupakan senyawa berwarna kuning terdapat pada madu, daun, bunga dan buah. *Flavonoid* terbanyak pada jenis ini adalah *kuersetin*. *Flavonoid* merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes yang mampu melindungi tubuh terhadap kerusakan *nDNA* dan *mtDNA* yang disebabkan oleh *oksigen reaktif (ROS*) (Ciz *et al*., 2010).

Kandungan *flavonoid* pada madu memiliki konsentrasi yang berkisar antara 0.015-3. Kandungan *flavonoid* dapat menghambat terjadinya *stress oksidatif*. *Stress oksidatif* dapat menyebabkan kerusakan *sel beta pancreas* dan penurunan reseptor insulin yang menginduksi *hiperglikemi*. Melalui penghambatan tersebut, maka kerusakan sel beta pankreas dapat dicegah dan penurunan sensistivitas reseptor insulin dihambat pula sehingga akan menurunkan kadar gula darah dan glukosa darah postprandial juga akan lebih terjaga (Edelman, 1998, Hu *et al.*, 2001, Patil *et al.*, 2011).

Polifenol mengandung senyawa antioksidan yang mampu mengurangi *stress oksidatif* dengan cara mencegah terjadinya rantai perubahan *superoksida* (O_2) menjadi *hydrogen peroksida* ($H_2 O_2$) melalui *reaksi habe wells dan Fentor* akan membentuk *radikal hidroksi (OH). Polifenol* mendonorkan *atom hydrogen* dari kelompok *aromatic hidroksil (-OH)* untuk

mengikat radikal bebas dan membuangnya dari dalam tubuh melalui *system ekskresi* (Eliasson *et al*., 2008). Secara umum, penurunan *stress oksidatif* dapat mengurangi resistensi insulin, menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid yang berperan dalam proses produksi MDA, menghambat kerusakan *sel β pancreas, nDNA* dan *mtDNA.*

Mekanisme kerja Triterpenoid, sebagai antibakteri bekerja dengan bereaksi terhadap porin (protein trans membrane) pada membrane luar dinding sel bakteri , membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Aktivitas antioksidan dalam Madu Trigona berdasarkan hasil penelitian terhitung besar yaitu 343 ppm termasuk kategori antioksidan kuat. Antioksidan dalam Madu Trigona berperan dalam menurunkan kadar glukosa darah dengan cara mencegah terjadinya oksidasi yang berlebihan sehingga kerusakan pada sel β pankreas dapat dicegah dan menjaga kandungan insulin didalamnya (Gil *et al*., 2002).

Madu mengubah kadar plasma dengan berbagai mekanisme biokimia. Madu telah terbukti menurunkan kadar glukosa darah. Madu telah mendapat efek stimulasi pada sekresi insulin dan juga meningkatkan sensitivitas insulin dengan demikian dapat mengurangi kadar glukosa. Madu menghasilkan *hydrogen peroksida* yang memiliki efek seperti insulin. Madu memiliki *nitrat oksida me*tabolit dan dapat merangsang *NO sintase* dan meningkatkan produksi NO. *Nitrik oksida* bersifat stimulasi terhadap pelepasan insulin.

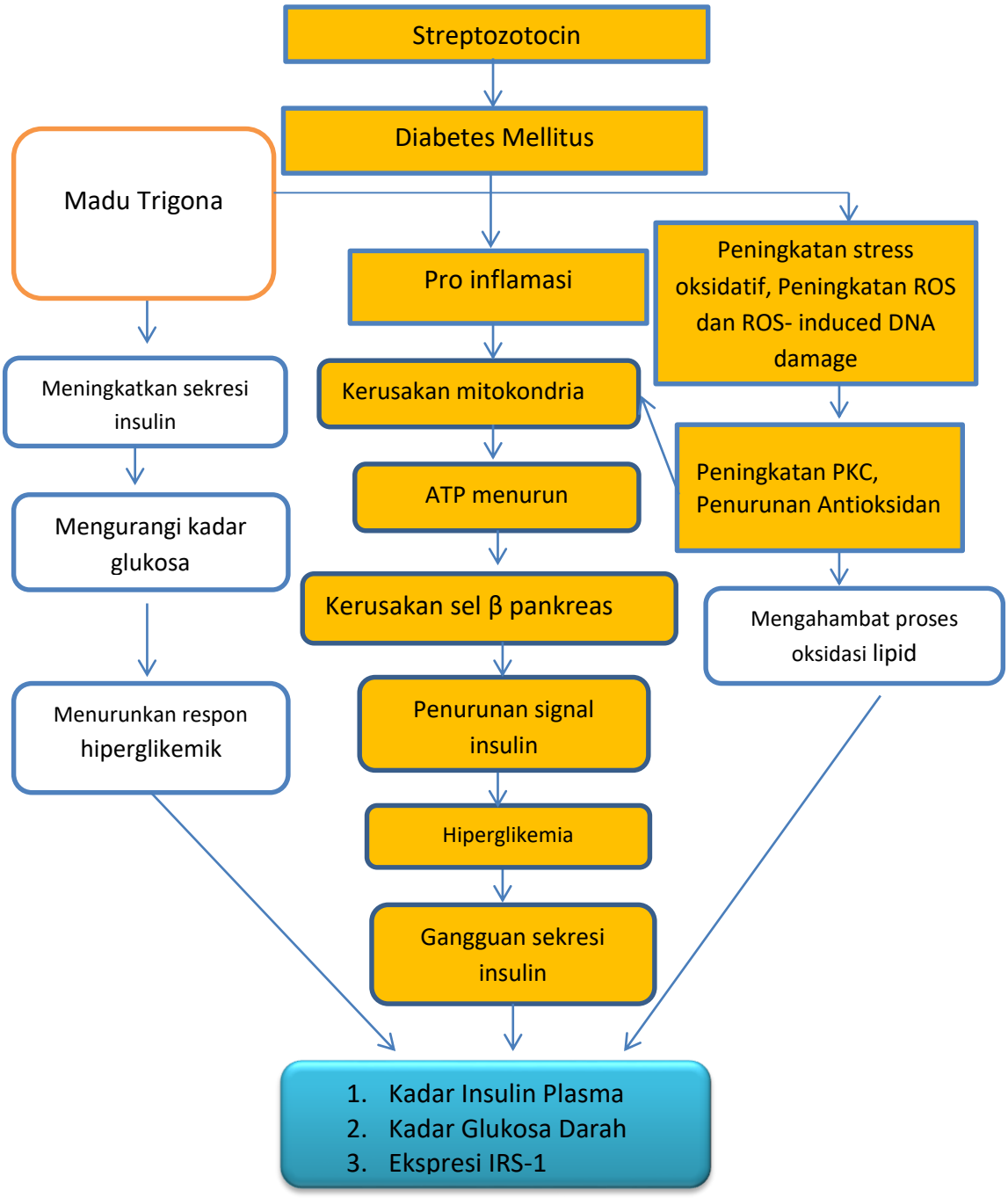
Madu telah ditemukan dapat menurunkan plasma dan kemih di tingkat beberapa prostaglandin seperti PGE2, PGF2 dan TXB. Prostaglandin adalah penghambat sekresi insulin. *Seng* dan tembaga adalah konstituen normal madu. Jadi pemberian madu meningkatkan serum zinc dan tingkat tembaga yang dapat memainkan peran penting dalam metabolisme insulin dan glukosa. Fruktosa madu dapat menurunkan respon hiperglikemik kandungan glukosa madu. Telah ditemukan bahwa dosis rendah fruktosa yang diberikan dengan glukosa menurun respon glikemik terhadap beban glukosa sehat individu dan tipe 2 pasien diabetes.Ini mengindikasikan bahwa fruktosa bertindak dengan merangsang *translokasi glukokinase*. Jadi madu merangsang *glukokinase* untuk mengambil glukosa ke hati (Majid *et al*., 2013).

Selain senyawa *fenolik* dan *flavonoid*, madu juga mengandung vitamin C sebagai senyawa antioksidan. Vitamin C merupakan antioksidan utama dalam plasma terhadap serangan radikal bebas (ROS) dan juga berperan dalam sel. Sebagai zat penyapu radikal bebas, vitamin C dapat langsung bereaksi dengan *superoksida* dan *anion hidroksil*, serta berbagai *hidroperoksida* lemak. Sedangkan sebagai antioksidan pemutus reaksi berantai, memungkinkan untuk melakukan regenerasi bentuk vitamin E tereduksi. Kandungan antioksidan pada madu terdiri dari antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis pada madu yaitu

katalase, glukosa oksidase, dan peroksidase, sedangkan antioksidan non enzimatis yaitu *asam askorbat, flavonoid,* asamamino, dan protein (Gil *et al*., 2002).

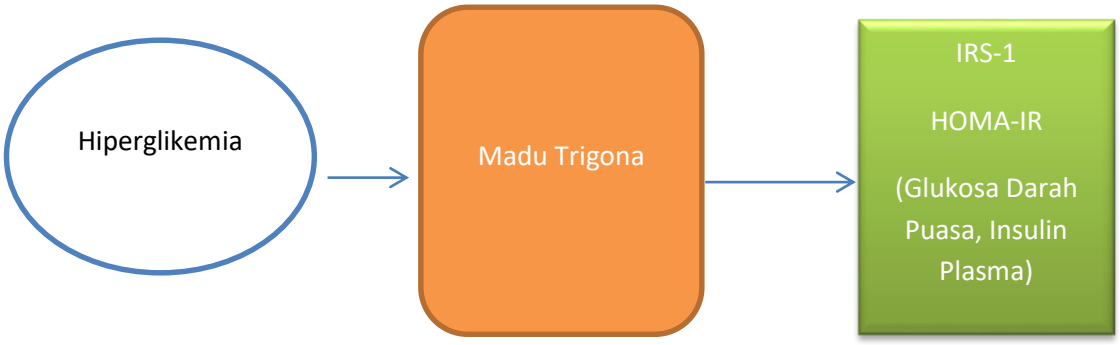
Antioksidan berperan penting dalam sistem pertahanan tubuh terhadap serangan radikal bebas, dimana reaksi radikal bebas ini terhadap sel-sel tubuh berpotensi dalam menghasilkan kerusakan oksidatif lipid, protein, enzim dan asam nukleat yang selanjutnya menuju pada kerusakan tingkat selular, jaringan dan organ. (winarsi, 2007)

2.13 Kerangka Teori



Gambar . 3.6 Bagan Kerangka Teori

2.14 Kerangka Konsep



Gambar 2.8. Bagan Kerangka Konsep

Keterangan :

Variabel Independen : Madu Trigona

Variabel Dependen : IRS-1, HOMA IR, Insulin Plasma, Glukosa Darah Puasa

2.15 Defenisi Operasional dan Kriteria Obyektif

1. Pemberian Madu adalah pemberian madu Trigona (Tetragonula Biroi) setelah induksi streptozotocin pada mencit BALB-C diberikan secara per oral dengan sonde lambung dalam 2 dosis

Dosis I : 0,2 ml/20grBB mencit/hari yang diencerkan hingga 0,2 cc diberikan pada mencit kelompok PIII, selama 21 hari berturut-turut.

Dosis II : 0,4 ml/20grBB mencit/hari yang diencerkan hingga 0,4 cc diberikan pada kelompok PIV, selama 21 hari berturut-turut

2. Kadar Glukosa adalah pengambilan darah pada vena lateralis ekor dengan menggunakan glucometer
3. Kadar insulin plasma adalah pengambilan darah pada vena lateralis ekor dengan menggunakan metode ELISA.
4. Indeks HOMA IR merupakan perubahan indeks HOMA-IR mulai hari ke-5 dan ke -26
5. Ekspresi gen Insulin Reseptor Substrat-1 adalah protein IRS-1 yang diukur dalam serum darah dengan menggunakan real time PCR.

2.16 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah dan tujuan penelitian, maka beberapa hipotesis yang diajukan sebagai berikut :

1. Ada perbedaan efek antara madu trigona 0,2 ml, 0,4 ml dan metformin terhadap perubahan kadar glukosa darah pada mencit (BALB-C) yang diinduksi dengan streptozotocin

2. Ada perbedaan efek antara madu trigona 0,2 ml, 0,4 ml dan metformin terhadap perubahan kadar insulin plasma pada mencit (BALB-C) yang diinduksi dengan streptozotocin
3. Ada perbedaan efek antara madu trigona 0,2 ml, 0,4 ml dan metformin terhadap perubahan indeks HOMA IR pada mencit (BALB-C) yang diinduksi dengan streptozotocin
4. Ada perbedaan efek antara madu trigona 0,2 ml, 0,4 ml dan metformin terhadap perubahan ekspresi mRNA gen IRS-1 pada mencit (BALB-C) yang diinduksi dengan streptozotocin.