

Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap GLUT 4 di Jaringan Adiposa dan Kadar Gula Darah Puasa pada Tikus Putih Jantan

Rima Zanaria¹, M.T. Kamaluddin², Theodorus²

¹Program Studi Magister Ilmu Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang

²Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Palembang

Diabetes Mellitus merupakan penyakit epidemik global, cenderung meningkat dengan berbagai kondisi patologis yang menyertainya, sehingga membutuhkan preparat baru yang poten, tidak toksik, efektif dalam pemberian dan harga terjangkau untuk mengevaluasi efektivitas ekstrak etanol dalam daun salam (*Eugenia polyantha*) terhadap GLUT 4 di jaringan adiposa dan kadar gula darah puasa tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi diet tinggi lemak (HFD-dexamethasone). Desain penelitian ini adalah ekperimental, rancangan pre dan post test dengan kelompok kontrol dilakukan di Animal house Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. Tiga puluh enam ekor tikus dengan berat antara 150 - 200 gram secara acak dibagi menjadi 6 kelompok. Setelah di aklimatisasi selama 7 hari dan diinduksi dengan high fat diet 5 ml per oral serta dexamethasone 250 µg/kgbb intraperitoneal selama 35 hari. Kelompok kontrol (-) diberi larutan aquades sebanyak 2 ml, kelompok pertama diberi ekstrak ethanol daun salam dosis 62,5 per kilogram berat badan, kelompok kedua diberi ekstrak ethanol daun salam dosis 125 mg per kilogram berat badan, kelompok ketiga diberi ekstrak etanol daun salam dosis 250 mg per kilogram berat badan, kontrol (+) diberi Pioglitazone dosis 0,02 gram per kilogram berat badan. Semua perlakuan diberikan selama 14 hari. Data diperoleh dengan analisis ANOVA dan post hoc test spss versi 18. Induksi HFD /dexamethasone pada tikus selama 35 hari menunjukan peningkatan kadar glukosa darah secara signifikan lalu tikus dieutanasia dengan ketamin 70 mg/kgbb intraperitoneal lalu dilakukan autopsi dan diambil jaringan adiposa. Intervensi ekstrak ethanol daun salam selama 14 hari pada tikus diabetes mellitus efektif meningkatkan kadar GLUT 4 di jaringan adiposa ($p < 0,05$) dibanding kontrol negatif dan Pioglitazone, Ekstrak etanol daun salam dosis 125 mg per kilogram berat badan tikus merupakan dosis paling efektif dalam meningkatkan GLUT 4 di jaringan adiposa, sedangkan dalam menurunkan kadar gula darah puasa dosis 62,5 mg/kgbb tikus, 125 mg/kgbb tikus, 250 mg/kgbb tikus sama efektifnya dengan kontrol positif obat pioglitazone. Ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) berpotensi meningkatkan kadar GLUT 4 di jaringan adiposa tikus dan menurunkan kadar gula darah puasa pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar yang diinduksi HFD/dexametasone. Kata kunci : Ekstrak Etanol daun salam, HFD/Dexamethasone, GLUT 4 di jaringan adiposa, *in Vivo*

ABSTRACT

Diabetes Mellitus a global epidemic disease, is tending to increase with the various pathological conditions that follow it, so we need to find new object which is requiring potent, non-toxic, effective in use and affordable price to evaluate the effectiveness of ethanol extract in salam leaf (Eugenia polyantha) to GLUT 4 in adipose tissue and blood glucose preprandial levels of male white rats wistar strains (Rattus norvegicus) induced high-fat diets (HFD) – dexamethasone. The research design is experimental, pre and post test design with control group was done in Animal house at Medical Faculty of Sriwijaya University. Thirty six rats with body weight between 150 - 200 gram were randomly divided into 6 groups. After 7 days of acclimatization and induced with HFD 5 ml orally and GC 250 µg per kg of body weight intraperitoneal for 35 days. The negative control group was given 2 ml aquades solution, the first group was given ethanol extract of salam leaf with dose 62,5 per kilogram of body weight, the second group was given extract ethanol salam leaf with dose 125 mg per kilogram of body weight, the third group was given ethanol extract of salam leaf with dose 250 mg per kilogram of body weight, positive control was given Pioglitazone with dose 0.02 gram per kilogram of body weight. All

treatment was given for 14 days. Data was obtained by ANOVA analysis and post hoc test spss version 18. Induced HFD / Dexamethasone in rats for 35 days showed a significant increase in blood glucose levels than the rats did to euthanasia with ketamine 70 mg/kg body weight intraperitoneal than did to autopsy and for taken adipose tissue. The intervention ethanol extract of salam leaf in rats diabetes mellitus effectively increased levels of GLUT 4 in adipose tissue ($p < 0.05$) compared with negative control and Pioglitazone, Ethanol extract of salam leaf 125 mg per kilogram body weight of rat dose most effective to increased levels of GLUT 4 in rat adipose tissue, while to decreased blood glucose preparandial levels dose 62,5 mg/kg body weight, dose 125 mg/kg body weight, and dose 250 mg/kg body weight same effective with control positive pioglitazone. The ethanol extract of salam leaf potentially increased levels of GLUT 4 in rat adipose tissue and decreased blood glucose preprandial levels in male white rats Wistar strain (*Rattus norvegicus*) was induced by HFD/Dexamethasone.

Keywords: Ethanol extract of salam leaf, HFD / Dexamethasone, GLUT 4 in adipose tissue, in Vivo

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan penyebab ketiga kematian pada penduduk usia 30-70 tahun setelah kanker dan penyakit kardiovaskuler¹. Diabetes melitus tipe 2 merupakan bentuk yang paling banyak terjadi yaitu 90-95% dari semua kasus diabetes². Indonesia masuk dalam kategori 10 negara dengan jumlah penderita diabetes melitus terbesar di dunia, menduduki peringkat keempat setelah Amerika Serikat. Jumlah penderita diabetes melitus diperkirakan akan meningkat menjadi dua kali lipat dari 8,4 juta padatahun 2000 menjadi 21,3 juta orang pada tahun 2030.³ Faktor-faktor risiko yang dapat meningkatkan terjadinya diabetes melitus diantaranya adalah kegemukan atau obesitas, faktor genetik atau keturunan, aktivitas atau olahraga yang kurang teratur, pola hidup yang tidak sehat diantaranya meliputi pola makan tinggi energi karbohidrat ditambah gaya hidup dengan stres dan kecemasan yang tinggi merupakan faktor yang berperan terjadinya resistensi insulin⁴. GLUT 4 merupakan transporter glukosa ke jaringan otot dan jaringan adiposa, jika tidak tersedia insulin maka GLUT 4 tidak akan bergerak dan mengalami translokasi ke permukaan sel dan tetap berada didalam sitoplasma akibatnya glukosa tidak dapat masuk kedalam jaringan otot dan jaringan adiposa sehingga terjadilah peningkatan kadar gula dalam darah⁵.

Pengobatan diabetes dalam jangka waktu yang panjang menghabiskan biaya yang cukup banyak, oleh karena itu perlu preparat

baru dengan potensi dan mekanisme kerja yang mendekati proses fisiologis tubuh sebagai antidiabetik yang mampu menurunkan kadar gula dalam darah yang tinggi, memperbaiki pemanfaatan glukosa diseluruh tubuh, membantu menurunkan onset dan progresifitas diabetes melitus, tidak toksik, efektif pada pemberian oral, tersedia dengan harga yang terjangkau. Pengobatan secara tradisional menggunakan tanaman obat telah dipraktekkan selama berabad-abad tetapi pendekatan ilmiahnya masih terbatas⁶. Tanaman pohon salam (*Eugenia polyantha*) telah banyak dikenal oleh masyarakat Indonesia dengan sebutan daun salam. Tanaman ini tumbuh di berbagai daerah baik di pegunungan maupun dataran rendah dan banyak dikenal dengan nama pohon salam. Daun salam banyak di konsumsi sebagai makanan atau pengobatan oleh masyarakat di Indonesia khususnya daerah Sumatera, Jawa, Bali dan bisa digunakan sebagai pengobatan beberapa penyakit seperti diabetes, diare dan darah tinggi⁷.

Kandungan zat aktif yang terdapat pada daun salam adalah tannin, flavonoid, minyak atsiri, sitral, eugenol, triterphenoid, steroid, lakton, saponin, dan karbohidrat. Selain itu daun salam (*Eugenia polyantha*) juga mengandung beberapa vitamin diantaranya vitamin C, Vitamin A, thiamin, riboflavin, niaciri, vit B6, vit B12, dan folat, selenium. Diketahui bahwa senyawa eugenol, tannin, dan flavonoid dalam daun salam bisa digunakan

untuk menurunkan kadar gula darah⁸. Flavonoid dapat menangkap radikal hidroksi serta memiliki khasiat antidiabetes dan antiinflamasi⁹. Flavonoid dapat berperan sebagai insulin secretagogus/ insulin mimetic melalui mekanisme piotropik untuk mengurangi komplikasi diabetes melitus¹⁰.

Flavonoid dapat meningkatkan glukogen otot dan hati, glukokinase dan sintesis glikogen meningkatkan ekspresi mRNA GLUT 4 dan protein GLUT 4 pada otot lurik¹¹. Flavonoid yang merupakan senyawa polifenol dapat memberikan aroma khas dan juga mempunyai sifat sebagai antioksidan, dimana flavonoid diyakini dapat menurunkan kadar glukosa darah seseorang¹².

Flavonoid dapat mencegah komplikasi atau progresivitas diabetes melitus dengan cara membersihkan radikal bebas yang berlebihan, memutuskan rantai reaksi radikal bebas, mengikat ion logam (chelating) dan memblokir jalur poliol dengan menghambat enzim aldose¹³. Flavonoid juga memiliki efek penghambatan terhadap enzim alfa glukosidase melalui ikatan hidrosilasi dan substitusi pada cincin β . Tanin yang dapat terhidrolisis dibagi menjadi 2 yaitu ellagitanin dan gallotanin. Ellagitanin memiliki beberapa turunan yaitu lagerstroemi, flosin B dan reginin A. Dan memiliki sifat yang mirip dengan hormon insulin (insulin-like compound). Tiga senyawa ini mampu meningkatkan aktivitas transport glukosa ke dalam sel adiposa secara *in vitro*. Gallotanin dapat meningkatkan fungsi penyerapan glukosa sekaligus dapat menghambat adipogenesis¹⁴. Tanin diketahui dapat memacu metabolisme glukosa dan lemak sehingga timbunan kedua sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari. Tanin mempunyai aktivitas antioksidan dan aktivitas hipoglikemik yaitu dengan meningkatkan glikogenesis. Selain itu, tanin juga berfungsi sebagai pengkhat (*astringent*) yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makan dan sebagai akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah tidak terlalu tinggi.¹³

Eugenol yang terkandung dalam daun salam merupakan senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan yang mirip dengan α -

tocopherol yang mampu melindungi membran sel dari proses lipid peroksidasi. Senyawa antioksidan yang dimiliki oleh daun salam inilah yang dapat membantu

memperbaiki kerusakan sel β pankreas serta memberikan perlindungan pada sel yang masih sehat, sehingga dapat menormalkan kembali produksi insulin. Perbaikan produksi insulin inilah yang pada akhirnya akan membuat kadar glukosa darah kembali normal¹³.

Ekstrak daun salam (*Eugenia polyantha*) sudah terbukti mempunyai efek antihiperlikemia, diduga dengan cara meningkatkan kadar GLUT 4 di jaringan adiposa, oleh karena itu penelitian ini bermaksud untuk membuktikan teori tersebut.

METODE

Tikus percobaan di timbang berat badannya, kemudian dilakukan induksi HFD-dexametason selama 35 hari lalu dilakukan pengukuran kadar gula darah puasa pada hari ke-36. Tikus dengan kadar gula darah puasa ≥ 200 mg/kgbb termasuk kategori inklusi dilanjutkan dengan perlakuan selama 14 hari, hari ke-15 dilakukan pemeriksaan kadar gula darah puasa dan pengambilan jaringan Adiposa tikus untuk di periksa Kadar GLUT 4 dengan ELISA. Tikus 36 ekor di aklimatisasi selama satu minggu, dan dibagi secara acak kedalam enam kelompok perlakuan. Pada hari ke-7 tikus diukur berat badannya. Kelompok kontrol (K) hanya mendapatkan makanan standar dan diberikan makan dan minum *ad libitum*. Kelompok kontrol negatif (K-), P1, P2, P3, dan kontrol positif (K+) diinduksi diberikan HFD secara oral dengan sonde ± 5 ml dan disuntikkan dexamethasone secara intraperitoneal dengan dosis 250 μ g/kgbb tikus selama 35 hari. Pada hari ke-36 dilakukan pemeriksaan kadar gula darah puasa dengan stik *Easy touch* tikus yang kadar gula darah puasa ≥ 200 mg/kgbb termasuk kategori diabetes melitus lalu diberikan ekstrak etanol dengan dosis kecil 62,5 mg/kgbb, 125 mg/kgbb dan dosis 250 mg/kgbb, kontrol (-) diberikan larutan aquadest sebanyak 2ml, kontrol (+) diberikan obat pioglitazone dosis 0,02 gram/kgbb tikus. Setelah 14 hari tikus kembali diperiksa kadar gula darah puasa pada

hari ke-15 setelah itu dilakukan eutanasia dengan ketamin dosis 70 mg/kgbb tikus secara intraperitoneal lalu di lakukan autopsi dan di **HASIL**

Penelitian ini dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui berat badan tikus sebelum perlakuan memiliki homogenitas data yang sama. Hasil uji statistik dengan menggunakan uji statistik *levene test* didapatkan berat badan tikus nilai $p = 0,348$ ($p > \alpha$), hal ini menunjukkan

ambil jaringan adiposa untuk dilakukan pemeriksaan kadar GLUT 4 dengan ELISA.

bahwa tidak terdapat perbedaan rerata berat badan tikus sebelum perlakuan antar kelompok perlakuan sehingga dapat disimpulkan bahwa berat badan tikus memiliki varian data yang homogen, sehingga persyaratan eksperimental terpenuhi.

Tabel 1. Uji Homogenitas Berat Badan Tikus

Kelompok Perlakuan	N	$\bar{x} \pm SD$ Berat Badan Tikus	<i>p</i> value
Dosis 62,5 mg/kgbb	6	207,00 \pm 9,69	0,348
Dosis 125 mg/kgbb	6	205,00 \pm 12,71	
Dosis 250 mg/kgbb	6	205,66 \pm 7,06	
Kontrol Positif	6	198,16 \pm 7,49	
Kontrol Negatif	6	207,16 \pm 6,49	

Shapiro wilk p = 0,05; Uji Levene Test p = 0,05

Uji Normalitas Kadar Glukosa Darah Puasadan Kadar GLUT 4 Sebelum Perlakuan

Hasil uji normalitas kadar glukosa darah puasa dan kadar GLUT 4 sebelum dengan menggunakan uji *shapiro wilk* didapatkan kadar glukosa darah puasa pre pada masing-masing perlakuan terdistribusi normal ($p > \alpha$ artinya $p > 0,05$) begitu juga dengan kadar GLUT 4 sebelum perlakuan terdistribusi normal ($p > \alpha$ artinya $p > 0,05$).

Tabel. 2. Uji Normalitas Kadar Gula Darah Puasa dan Kadar GLUT 4 Sebelum Perlakuan

Variabel	Kelompok Perlakuan
Glukosa darah puasa	Dosis 62,5 mg/kgbb
	Dosis 125 mg/kgbb
	Dosis 250 mg/kgbb
	Kontrol Positif
	Kontrol Negatif
GLUT 4	Dosis 62,5 mg/kgbb
	Dosis 125 mg/kgbb
	Dosis 250 mg/kgbb
	Kontrol Positif
	Kontrol Negatif

Uji Shapiro Wilk p = 0,05

Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa

Perlakuan	n	GLUT 4 pre $\bar{x} \pm SD$	GLUT 4 post $\bar{x} \pm SD$	<i>p</i> value
Dosis 62,5 mg/kgbb	6	21,83 \pm 1,81	30,02 \pm 1,25	0,000
		21,83 \pm 1,81	40,65 \pm 1,23	0,000
Dosis 125 mg/kgbb	6	21,83 \pm 1,81	25,80 \pm 2,00	0,028 *
		21,83 \pm 1,81	31,26 \pm 2,13	0,028 *
Dosis 250 mg/kgbb	6	21,83 \pm 1,81	17,45 \pm 0,73	0,003
		21,83 \pm 1,81		

Pada penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas ekstrak etanol daun salam terhadap kadar gula darah puasa. Semua kelompok memiliki probabilitas ($< 0,05$), hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun salam efektif dalam menurunkan kadar gula darah puasa setelah perlakuan selama 14 hari dengan pemberian dosis 62,5 mg/kgbb, 125 mg/kgbb, 250 mg/kgbb dan juga kelompok yang diberikan kontrol positif pioglitazone. Kecuali pada kontrol negatif yang hanya diberikan larutan aquadest tidak terjadi penurunan kadar gula darah puasa.

Tabel. 3. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap Kadar Glukosa Darah Puasa Sebelum dan Setelah Perlakuan

Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap GLUT 4.

Tabel. 4. Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Salam terhadap GLUT 4 sebelum dan sesudah perlakuan.

*Paired t test, * wilcoxon p=0,05*

Hasil penelitian tabel. 4. diatas menunjukkan pada kelompok pemberian kontrol positif yaitu pioglitazone menunjukkan terjadinya peningkatan kadar GLUT 4 post test dengan mean \pm SD 31,26 \pm 2,13, sedangkan pada kelompok pemberian ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) menunjukkan peningkatan kadar GLUT 4 yang paling efektif yaitu pada dosis 125 mg/kgbb tikus

Perlakuan	N	Glukosa pre $\bar{x} \pm SD$	Glukosa post $\bar{x} \pm SD$	p value
Dosis 62,5 mg/kgbb	6	270,00 \pm 42,00	104,50 \pm 9,39681	0,00
Dosis 125 mg/kgbb	6	286,83 \pm 28,99	105,83 \pm 10,16694	0,00
Dosis 250 mg/kgbb	6	276,66 \pm 37,15	98,33 \pm 7,84007	0,00
Kontrol Positif	6	268,50 \pm 44,56	105,16 \pm 13,39278	0,00
Kontrol Negatif	6	231,16 \pm 12,05	236,00 \pm 11,15347	0,00

dengan mean \pm SD 40,65 \pm 1,23.

PEMBAHASAN

Tanaman pohon salam (*Eugenia polyantha*) telah banyak dikenal oleh masyarakat Indonesia dengan sebutan daun

salam. Tanaman ini tumbuh di berbagai daerah baik di pegunungan maupun dataran rendah dan banyak dikenal dengan nama pohon salam. Daun salam banyak dikonsumsi sebagai makanan yaitu sebagai bahan bumbu masakan dan pengobatan tradisional oleh masyarakat Indonesia khususnya daerah Sumatera, Jawa, Bali, biasa digunakan sebagai pengobatan alternatif berbagai penyakit seperti diabetes, diare, dan darah tinggi⁷.

Dari hasil penelitian ini melaporkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) selama 14 hari dengan dosis rendah yaitu 62,5 mg/kgbb tikus dibandingkan dengan kontrol negatif mampu menurunkan kadar gula darah puasa pada tikus jantan galur wistar, artinya semakin tinggi dosis semakin cepat menurunkan kadar gula darah puasa pada tikus putih jantan galur wistar. Namun jika dibandingkan dengan kontrol positif yaitu obat pioglitazone pemberian ekstrak etanol daun salam dengan dosis 62,5 mg/kgbb, 125 mg/kgbb dan 250 mg/kgbb tikus tidak terdapat perbedaan rerata artinya efektivitas ekstrak daun salam dalam menurunkan kadar gula darah puasa masih sama efektifnya dengan obat pioglitazone.

Menurut penelitian Dewi LI, 2013 melaporkan bahwa pemberian ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) dengan dosis 312,5 mg/kgbb dan 625 mg/kgbb dan 1250 mg/kgbb dapat menurunkan kadar glukosa darah terhadap tikus galur wistar yang diinduksi aloksan, hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun salam dapat menurunkankan kadar glukosa darah.¹⁵ Dosis 312,5 mg/kg BB dapat menurunkan sampai kadar rata-rata 77 \pm 9,92, sedangkan dosis 625 mg/kg BB adalah 64,4 \pm 4,15 dan dosis 1250 mg/kg BB adalah 71,2 \pm 17,71 mg/dL. Selain itu penelitian lain melaporkan bahwa pemberian infusa daun salam (*Eugenia*

polyantha) sebesar 825 mg/150 gr pada tikus yang diinduksi dengan aloksan dapat menurunkan kadar gula darah mulai hari ke-7 dan pada hari ke-14 kadar gula darah telah menjadi normal⁸.

Dari hasil penelitian ini melaporkan bahwa efektivitas pemberian ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) terhadap peningkatan kadar GLUT 4 pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar didapatkan terdapat perbedaan peningkatan rerata kadar GLUT 4 antar kelompok perlakuan (p value = 0,000). Artinya pada tiap perlakuan dimulai dari dosis kecil yaitu 62,5 mg/kgbb tikus, dosis sedang 125mg/kgbb tikus, dan dosis besar 250 mg/kgbb tikus menunjukkan peningkatan kadar GLUT 4.

Hasil uji kesesuaian dosis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan rerata kadar GLUT 4 antara kontrol negatif dibandingkan dengan perlakuan dosis 62,5, dosis 125, dosis 250 mg/kgbb dan kontrol positif. Sedangkan ekstrak etanol daun salam dosis 62,5 mg/kgbb dibandingkan dengan kontrol positif menunjukkan tidak ada perbedaan rerata kadar GLUT 4 artinya ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) dosis 62,5 mg/kgbb dengan kontrol positif memiliki efektivitas yang sama dalam meningkatkan kadar GLUT 4, sebaliknya pemberian dosis tinggi 250 mg/kgbb menyebabkan penurunan kadar GLUT 4 di jaringan adiposa tikus putih jantan, sedangkan pemberian dosis sedang 125 mg/kgbb merupakan dosis yang paling efektif dalam meningkatkan kadar GLUT 4.

GLUT 4 adalah transporter glukosa utama yang terletak pada sel otot dan sel lemak, jika tidak tersedia insulin maka GLUT 4 tidak akan bergerak dan mengalami translokasi ke permukaan sel dan tetap berada di dalam sitoplasma akibatnya glukosa tidak dapat masuk ke dalam jaringan otot dan jaringan adiposa sehingga

terjadilah peningkatan kadar gula dalam darah.⁵ Pentingnya GLUT 4 dalam homeostasis glukosa ditunjukkan melalui penelitian pada tikus dimana satu alel dari GLUT 4 gen diganggu, tikus-tikus ini mengalami pengurangan 50 persen konsentrasi GLUT 4 pada otot rangka, jantung, dan sel lemak dan mereka mengalami resistensi insulin berat dan terjadilah diabetes dari setengah sampel tikus jantan¹⁶.

Hasil penelitian ini sejalan dengan teori bahwa pemberian ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) mempunyai efektivitas dalam meningkatkan kadar GLUT 4 di jaringan adiposa dan menurunkan kadar gula darah puasa pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar karena memiliki kandungan senyawa aktif, berdasarkan hasil uji fitokimia yaitu flavonoid (+), tanin (+), flavonoid dapat meningkatkan glukogen otot dan hati meningkatkan ekspresi MRNA GLUT 4 di otot lurik¹¹. Flavonoid memiliki efek penghambatan enzim alfa glukosidase sehingga menghambat absorpsi glukosa serta menghambat metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa¹³. Flavonoid menghambat enzim aldose reduktase membersihkan radikal bebas sehingga mencegah terjadinya komplikasi atau progresifitas diabetes melitus. Senyawa flavonoid menurut Kumar and Pandey (2013) merupakan sekelompok besar senyawa polifenol yang terdapat pada tumbuhan dan banyak terdapat pada makanan, secara umum berperan untuk memberi warna, rasa, mencegah oksidasi fat dan melindungi vitamin serta enzim.¹⁷ Senyawa ini memiliki struktur *benzopyroned* dengan memiliki berbagai aktivitas farmakologi dan potensinya ditentukan dari derajat kelarutan flavonoid. Secara umum senyawa ini terdapat dalam bentuk *aglycans* (bersifat semipolar yang mudah diserap pada usus halus), *glycoside* (sangat

larut dalam air dan sedikit larut dalam etil asetat serta etanol) dan dalam bentuk metilasi (bersifat nonpolar, mudah larut dalam n-hexan). Aktivitas biologi dari flavonoid yang berhubungan dengan diabetes melitus diantaranya sebagai antioksidan salah satunya dengan melindungi lipid dari pengaruh oksidasi dengan berbagai mekanisme. Sifat antioksidan flavonoid *glycoside* lebih lemah dari *aglycans*. Selain itu flavonoid juga bersifat hepatoprotektif dengan meningkatkan ekspresi Gclc (*glutamate-cysteine ligase catalytic subunit*) yang dapat menurunkan kadar reactive oxygen species (ROS). Menurut penelitian Zhang *et al* (2010) flavonoid 7-O- methylaromadendrin (7- O-MA) yang diisolasi dari tumbuhan *Inula viscosa* dengan struktur menyerupai sakuranetrin dapat meningkatkan ambilan glukosa melalui ekspresi PPAR γ 2 sel 3T3- L1 (tetapi tidak menunjukkan aktivitas sebagai ligand PPAR γ) serta mengaktifkan signaling Akt dan AMPK yang responsif insulin pada sel hepatosit Hep G2. AMPK merupakan sensor utama energi selular dan signaling IR/IRS-1/PI3K/Akt yang merupakan jalur utama translokasi GLUT 4 ke membran sel¹⁸. Penelitian Claussnitzer *et al.*, (2011) menyatakan bahwa flavonoid pada jaringan adiposa dapat meningkatkan ambilan glukosa dengan meningkatkan translokasi GLUT 4 ke membran sel baik pada kondisi basal maupun kondisi terstimulasi insulin. Flavonoid dapat memodulasi jalur signaling insulin melalui interaksi molekular¹⁹.

Penelitian Liu *et al* (2005) senyawa tanin menginduksi fosforilasi insulin receptor (IR) dan Akt menyebabkan translokasi GLUT 4, menurut penelitian Nankar and Doble (2013) senyawa tanin ini juga berperan sebagai *non-peptidyl insulinmimetik*, dalam arti memiliki aksi menyerupai insulin melalui pengaktifan *insulin receptor tyrosine kinase* (IRTK) sehingga mengaktifasi jalur PI3K pada

cascade signaling insulin. Tanin terhidrolisis menjadi ellagitanin dan gallotanin, ellagitanin memiliki beberapa turunan yaitu lagerstroemi, flosin B, dan reginin A dan sifat yang mirip dengan hormon insulin. Tiga senyawa ini mampu meningkatkan aktivitas transport glukosa ke dalam sel adiposa secara *in vitro*²⁰. Gallotanin dapat meningkatkan fungsi penyerapan glukosa. Tanin memacu metabolisme glukosa dan lemak sehingga timbunan kedua sumber kalori ini dalam darah dapat dihindari. Tanin mempunyai aktivitas antioksidan dan aktivitas hipoglikemik dengan meningkatkan glikogenesis, dan berfungsi sebagai pengkhelat (*astringent*) yang dapat mengerutkan membran epitel usus halus sehingga mengurangi penyerapan sari makanan dan sebagai akibatnya menghambat asupan gula dan laju peningkatan gula darah menjadi stabil¹³.

Pada penelitian ini kedua senyawa aktif yaitu flavonoid dan tanin dari ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) terbukti dapat meningkatkan kadar GLUT 4 di jaringan adiposa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar karena diduga dari kedua senyawa ini memiliki efek bersinergi dalam meningkatkan ambilan glukosa (*glucosa reabsorbtion*) melalui peningkatan kadar GLUT 4. Namun peningkatan kadar GLUT 4 ini dipengaruhi pada dosis-dosis tertentu (*dose dependent pattern*), pada pemberian dosis kecil yaitu 62,5 mg/kgbb tikus dan dosis sedang 125 mg/kgbb tikus terjadi peningkatan kadar GLUT 4 dibandingkan dengan kontrol positif, namun pada pemberian ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) dosis besar yaitu 250 mg/kgbb tikus menunjukkan reaksi sebaliknya yaitu terjadi penurunan kadar GLUT 4 di jaringan adiposa tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar, hal ini diduga pada pemberian dosis besar terjadi reaksi antagonistik antara flavonoid dan tanin.

Berdasarkan hasil analisis data diatas dapat disimpulkan bahwa pada penelitian ini hipotesis yang diajukan (H_0) ditolak, Sedangkan (H_1) diterima, yakni terdapat perbedaan efektivitas yang bermakna antara ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) dengan pioglitazone dalam meningkatkan kadar GLUT 4 di jaringan adiposa dan menurunkan kadar gula darah puasa pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) galur wistar.

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun salam (*Eugenia polyantha*) mempunyai efek dalam meningkatkan kadar GLUT 4 di jaringan adiposa pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) tergantung dosis tertentu (*dose dependent patern*) yaitu pada dosis 62,5 mg/kg bb dan 125 mg/kgbb. Ekstrak etanol daun salam efektif dalam menurunkan kadar gula darah puasa pada dosis 62,5 mg/kgbb (SD 104,5±9,39), 125 mg/kgbb (SD 105,83±10,16), 250 mg/kgbb tikus (SD 98,33±7,84) (tidak tergantung dosis) dan dosis tersebut sama efektifnya dengan obat pioglitazone (SD 105,16±13,39). Dosis ekstrak etanol daun salam yang sesuai dengan obat pioglitazone dosis 4 mg/kgbb tikus dalam meningkatkan kadar GLUT 4 di Jaringan adiposa tikus adalah dosis 125 mg/kgbb. **DAFTAR PUSTAKA**

1. WHO. 2012. Definition diagnosis and classification of diabetes melitus and its complication. reported WHO consultations
2. Qaseem, A, Humprey, L.L, Sweet, D. E, Starke, M, and Shekelle, p. 2012. Oral Pharmacologic treatment of type 2 diabetes melitus: a clinical practice guideline from the American College of Physicians, Ann Intern med 156(3): 281-31.
3. Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R. And King, H., 2004. Global prevalence of diabetes. Diabetes Care, 24, 1047-1053.
4. Sakoda, H., Ogihara, T, Anai, M., kikuchi, M., oka, y., and Asano, T. 2000. Dexametasone induced resiteance in 3T3-Li adipocytes is due to inhibition of glukose transport rather than insulin signal transduction. Diabetes, 49 (10):1700-1708. available in <http://diabetes.diabetesjournal.org/content/49/10/1700.long>
5. Guyton, A.,C., dan Hall, J.E. 2008. Buku ajar Fisiologi Kedokteran. Edisi 11. Jakarta: EGC.
6. Hannan, J.M.A., Ojo,O.O., Ali,L., Rokeya,B., Khaleque,J., Akhter, M., Flatt, P. R and Wahab, H.A.A. 2015. Actions underlying antidiabetic effects of ocimum sanctum leaf extracts in Animal models of type 1 and type 2 Diabetes EJMP, 5(1):1-12.
7. Othman A., Mukhtar Nj., Ismail Ns., Chang sk.,. 2004. Phenolics, Flavonoids content and antioxidant activities of 4 Malaysian herbal plants. IFRJ. 21(2): 66-759.
8. Putri Desak, K .S.C., Hermanto, B.dan Wardani, T. 2014. Pengaruh pemberian infusum daun salam (*Eugenia polyantha*) terhadap kadar glukosa darah tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi alloksan. Veteria Medika 7 (1)
9. Ojewole. J.A.O.2005. Antinocicepture, antiniflammatory and antidiabetic effect of *Bryophyllum Pinnatum* (crassulaceae) leaf Aqulous Extract. Journal of Ethanopharmacology. 99(1) :13-19.

10. Brahmajari. G. 2011. Bio flavonoid with promising antidiabetic potential a critical survey. Opportunity, Challenge and scope of Natural product in Medicinal Chemistry 187-212.
11. Daisy, P., Balasubrahmanian, K., Rajalakshmi, M., Eliza, J., and Selvaraj. 2009. Insulin mimetic impact of catechin isolated from Cassia Fistula on the glucose oxidation and molecular mechanisms of glucose uptake streptozotocin induced diabetic wistar rats. *Phytomedicine*, 17: 28-36.
12. Setiawan B, Suhartono E, .2005. Stres oksidatif dan peran antioksidan pada diabetes melitus. *Majalah kedokteran indonesia*. 55(2):86-91.
13. Ridwan A, Astrian RT, Barlian A, 2012. Pengukuran efek antidiabetes polifenol (polyphenon 60) berdasarkan kadar glukosa darah dan histologi pankreas mencit (*mus musculus l.*) s.w. jantan yang dikondisikan diabetes mellitus. *Jurnal Matematika dan Sains*.17(2):78-82.
14. Hernawan UE, Sutarno, Setyawan AD. 2008. Aktifitas hipoglikemik dan hipolipidemik ekstrak air daun bungur (*lagerstroemia speciosa [l.] Pers.*) terhadap tikus diabetik. *Biofarmasi*. 2(1):15-23.
15. Dwi LI., Sutrisna EM, Azizah tanti. 2013. Uji aktivitas antidiabetes ekstrak etanol daun Salam (*Eugenia polyantha*) terhadap tikus galur wistar yang diinduksi aloksan. Naskah Publikasi. Universitas Muhammadiyah : SURAKARTA.
16. Sheperd PR, Kahn BB, 1999. Glucose transporter and insulin action. *The New England Journal of Medicine*; diakses tanggal 30 oktober 2017
17. Kumar, S and Pandey, A. K. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The scientific world Journal*, vol. 2013. Available in <http://www.Hindawi.com/journals/tswj/2013/162750/>
18. Zhang, W.Y., Lee, J.J., Kim, I.S., Kim, Y., Park, J. S., and Myng, C.S.2010. 7-O-Methylaromadendrin Stimulates Glucose Uptake and Improve Insulin Resistance in Vitro. *Biol. Pharma. Bull*, 33 (9) : 1494-1499.
19. Cazarolli, L. H., Zanata, L., Alberton, E.H., Figuereido, M.S., Folador, P., Damazio, R.G., Pizzolatti, M.G., and Silva, F. R. 2008. *Medical Chemistry*, 8: 1032-1038
20. Liu, X., Kim, J. K., Li, Y., Li, J., Liu, F., and Chen, X. 2005. Tannic Acid Stimulates Glucose Transport and Inhibits Adipocyte Differentiation in 3T3-L1 Cells. *The Journal of Nutrition*. 165-171.