

PENGARUH KOMBINASI DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* L.Merr) DAN RIMPANG BANGLE HITAM (*Zingiber Ottensii* Val.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KAJIAN PUSTAKA TERHADAP *SHORT CHAIN FATTY ACID* (SCFA) PADA TIKUS WISTAR JANTAN OBES

Laporan Tugas Akhir

**Emilda Nurfitriani
11161020**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2020**

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH KOMBINASI DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* L.Merr) DAN RIMPANG BANGLE HITAM (*Zingiber Ottensii* Val.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KAJIAN PUSTAKA TERHADAP *SHORT CHAIN FATTY ACID* (SCFA) PADA TIKUS WISTAR JANTAN OBES

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

Emilda Nurfitriani
11161020

Bandung, Agustus 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Dr. apt. Agus Sulaeman, M.Si.)

(apt. Ika Kurnia Sukmawati, M.Si.)

ABSTRAK

PENGARUH KOMBINASI DAUN KATUK (*Sauropus androgynus* L.Merr) DAN RIMPANG BANGLE HITAM (*Zingiber Ottensii* Val.) TERHADAP KADAR GLUKOSA DARAH DAN KAJIAN PUSTAKA TERHADAP *SHORT CHAIN FATTY ACID* (SCFA) PADA TIKUS WISTAR JANTAN OBES

Oleh :

Emilda Nurfitriani

11161020

Obesitas merupakan akumulasi lemak yang berlebihan atau abnormal yang berpotensi menyebabkan gangguan kesehatan seperti diabetes mellitus. Diabetes mellitus merupakan suatu penyakit kronis yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa darah yang disebabkan oleh kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr.) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) terhadap kadar glukosa darah dan profil SCFA pada tikus obes. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan *post test only control group design*. Tikus dibagi dalam 6 kelompok, kelompok normal diberi pakan normal, kelompok obes diberi pakan tinggi lemak & tinggi karbohidrat, kelompok pembanding diberi metformin dan pakan tinggi lemak & tinggi karbohidrat, kelompok uji diberi pakan tinggi lemak & tinggi karbohidrat yang dicampurkan kombinasi simplisia dengan dosis 5%, 10%, dan 15% selama 26 hari. Pemberian kombinasi rimpang bangle hitam dan daun katuk dosis 15% terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah sebesar 4%. Kombinasi rimpang bangle hitam dan daun katuk diduga dapat mempengaruhi konsentrasi *short chain fatty acid* (SCFA) dalam tubuh melalui pendekatan senyawa metabolit sekunder flavonoid.

Kata Kunci : Bangle Hitam, Daun Katuk, Glukosa, Obesitas, SCFA.

ABSTRACT

THE EFFECT OF COMBINATION OF KATUK LEAVES (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) AND BLACK BANGLE RHIZOMES (*Zingiber ottensi* Val.) ON LEVELS OF BLOOD GLUCOSE AND LITERATURE REVIEW OF SHORT CHAIN FATTY ACID (SCFA) IN OBESE MALE WISTAR RATS

By :

**Emilda Nurfitriani
11161020**

*Obesity is a fat accumulation of excessive or abnormal that could potentially lead to health problems such as diabetes mellitus. Diabetes mellitus is a chronic disease characterized by high blood glucose levels caused by a defect in insulin secretion, insulin action or both. The purpose of this study was to determine the effect of giving katuk leaves (*Sauropus androgynus* L.Merr.) and black bangle rhizome (*Zingiber ottensii* Val.) on blood glucose levels and SCFA profiles in obese rats. This research is laboratory experimental with post test only control group design. The rats were divided into 6 groups, the normal group was given normal feed, group of obese was given a high-fat & high-carbohydrate, the comparison group was given metformin and feed a diet high in fat & high in carbohydrates, the test group were with high-fat & high-carbohydrate mixed with a combination of black bangle dan katuk leaves dosage of 5%, 10%, and 15% to 26 days. Administration of a combination of black bangle rhizome and katuk leaves a dose of 15% has been shown to reduce blood glucose levels by 4%. The combination of rhizome bangle black and katuk leaves could be expected to affect the concentration of short chain fatty acid (SCFA) in the body through the role of secondary metabolite compounds flavonoids.*

Keywords: Black Bangle, Glucose, Katuk Leaves, Obesity, SCFA.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan tugas akhir yang berjudul “Pengaruh Kombinasi Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) Dan Rimpang Bangle Hitam (*Zingiber ottensii* Val.) Terhadap Kadar Glukosa Darah dan Kajian Pustaka Terhadap *Short Chain Fatty Acid* (SCFA) Pada Tikus Wistar Jantan Obes” dengan lancar dan tepat waktu. Tujuan penulisan laporan tugas akhir ini diajukan untuk memenuhi persyaratan Program Strata I Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana. Penulis juga menyadari bahwa selama berlangsungnya penulisan laporan tugas akhir ini tidak lepas dari dukungan serta bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu teriring do’a dan ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Dr. apt. Agus Sulaeman, M.Si. Ibu apt. Ika Kurnia Sukmawati, M.Si. selaku pembimbing atas segala saran, bimbingan dan nasehatnya selama penulisan laporan penelitian tugas akhir.
2. Ibu Dr. apt. Marita Kaniawati, M.Si. selaku dosen pendukung selama penelitian dan penulisan laporan tugas akhir
3. Para dosen pengajar dan staf akademik atas bantuan yang telah diberikan kepada penulis selama mengikuti perkuliahan di Universitas Bhakti Kencana, Orang tua, adik serta keluarga yang selalu mendukung dan memberikan semangat kepada penulis.
4. Team SCFA yang telah bekerja sama selama proses penelitian dan selalu hadir pada saat suka maupun duka.
5. Teman-teman angkatan 2016 telah melewati proses belajar bersama dan terima kasih atas bantuan kalian selama ini dalam melalui berbagai proses dalam menuntut ilmu di Universitas Bhakti Kencana.
6. Pada sahabat Andriana, Anisa, Dina, Mutiara, Nanda, Jelita, dan Utari yang selalu memberi dukungan dan motivasi, yang selalu mendengarkan keluh kesah. Dan terima kasih kepada semua orang yang tersayang.

Meski demikian, penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dan kekeliruan di dalam penulisan laporan tugas akhir ini. Sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun agar dalam penulisan selanjutnya dapat lebih baik lagi. Semoga penulisan laporan tugas akhir ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan bagi pembaca umumnya.

Bandung, Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	ix
BAB I. PENDAHULUAN	10
1.1 Latar belakang	10
1.2 . Rumusan masalah	12
1.3. Tujuan dan manfaat penelitian	12
1.4. Hipotesis penelitian	12
1.5. Tempat dan waktu Penelitian	13
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	14
2.1. Tinjauan penyakit obesitas	14
2.2. Short Chain Fatty Acid (SCFA)	19
2.3. Hubungan Glukosa Darah dengan Obesitas dan Hubungan Glukosa Darah dengan SCFA	19
2.4. Katuk (<i>Sauropus androgynus</i> L. Merr)	20
2.5. Bangle Hitam (<i>Zingiberr Ottensii</i> Val.)	22
2.6. Hewan percobaan	23
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	26
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	28
5.1. Pengambilan Bahan	28
5.2. Determinasi Tanaman	28
5.3. Pengolahan Bahan	28
5.4. Karakterisasi Simplisia	28
5.5. Skrining Fitokimia	30
5.6. Persiapan Bahan Uji	31
5.7. Penyiapan dan Perlakuan Hewan uji	32
5.8. Induksi Hewan uji	33
5.9. Prosedur Pengukuran Glukosa Darah	33
5.10. Pemeriksaan Short Chain Fatty Acid (SCFA)	34

5.11. Analisis Data.....	35
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
6.1. Determinasi Tanaman	36
6.2. Karakterisasi Simplisia	36
6.3. Skrining Fitokimia.....	38
6.4. Perlakuan Hewan Uji	39
6.5. Pengaruh Simplisia Kombinasi Daun Katuk dan Rimpang Bangle Hitam Terhadap Kadar Glukosa Darah	40
6.6. Hubungan <i>Short chain fatty acid</i> (SCFA) dengan kadar glukosa darah.....	41
6.7. Hubungan Kombinasi Daun Katuk Dan Rimpang Bangle Hitam Dengan <i>Short Chain Fatty Acid</i> (SCFA).....	45
BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN	47
7.1. Kesimpulan.....	47
7.2. Saran.....	47
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN	52

DAFTAR TABEL

Tabel II. 1 Klasifikasi Obesitas	16
Tabel II. 2 Agen Farmakologi untuk Menurunkan Berat Badan	18
Tabel II. 3 Klasifikasi Daun Katuk.....	20
Tabel II. 4 Klasifikasi Rimpang Bangle Hitam	22
Tabel VI. 1 Hasil Karakterisasi Simplisia	37
Tabel VI. 2 Hasil Skrining Fitokimia Simplisia Rimpang Bangle Hitam dan Daun Katuk	38
Tabel VI. 3 Hasil Rata-rata Kadar Glukosa Darah.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1. Daun katuk (<i>Sauropus androgynus</i> L. Merr)	20
Gambar II.2. Bangle hitam (<i>Zingiber ottensii</i> Val.)	Error! Bookmark not defined.
Gambar VI.1 Perkembangan Berat Badan Tikus pada Awal Induksi hingga Akhir Induksi	39
Gambar VI.2 Skema pengaruh SCFA terhadap metabolisme glukosa darah.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar VI.3 Konsentrasi Kadar Glukosa Darah Puasa Pada Tikus Yang Diberi Probiotik dan Kontrol.....	Error! Bookmark not defined.
Gambar VI.4 konsentrasi SCFA (asetat, propionate, dan butirrat) pada feses	Error! Bookmark not defined.
Gambar VI.5 Grafik Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Yang Diberi Asupan SCFA dan Tikus Kontrol.....	44
Gambar VI.6 Grafik Kadar Glukosa Darah Pada Tikus yang Diberi Asupan Propionat	Error! Bookmark not defined.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Lembar Kode Etik Penelitian.....	53
Lampiran 2 Komposisi Formulasi Pakan Tinggi Lemak Dan Tinggi Karbohidrat.....	54
Lampiran 3 Rerata Bobot Badan Tikus perminggu dan persentase kenaikan/ penurunan	Error! Bookmark not defined.
Lampiran 4 Persentase Kenaikan dan Penurunan Kadar Glukosa Darah.....	56
Lampiran 5 Alur Penelitian	57

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
SCFA	Short Chain Fatty Acid
GLP-1	Glucagon Like Peptide-1
FFAR2	Free Fatty Acid Receptor 2
WHO	World Health Organization
IMT	Indeks Masa Tubuh
Riskesdas	Riset Kesehatan Dasar
NPY	Neuro Peptide-Y
IDF	International Diabetes Federation
Depkes RI	Departemen Kesehatan Republik Indonesia
PYY	Peptida Plasma Postprandial YY
ASI	Air Susu Ibu
ATP	Adenosine Tri Phospate
G6PDH	Glucose-6-Fosfat Dehydrogenase
BALLITRO	Balai Penelitian Tanaman Rempah
LIPI	Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia
GC	Gas Chromatography
MSD	Mass Selective Detector
MMI	Materia Medika Indonesia
AMPK	Adenosine Mono Phospate Kinase
BBR	Berberine
HDF	High Flavonoids Diet

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Obesitas merupakan akumulasi lemak yang berlebihan atau abnormal yang berpotensi menyebabkan gangguan kesehatan (WHO.2018). *World Health Organization* menyatakan bahwa lebih dari 1,9 milyar orang dewasa usia >18 tahun mengalami kelebihan berat badan dan dari jumlah tersebut lebih dari 600 juta dinyatakan obesitas. Berdasarkan data tersebut, maka secara keseluruhan sekitar 39% orang dewasa usia >18 tahun dinyatakan kelebihan berat badan dan 13% dari jumlah tersebut dinyatakan obesitas (WHO,2016). Prevalensi obesitas pada orang dewasa di Indonesia usia >18 tahun pada periode 2007-2018 menunjukkan angka yang terus meningkat, pada tahun 2007 terjadi peningkatan sebesar 10.5%, pada tahun 2013 14,8%, dan pada tahun 2018 21,8%, hasil ini lebih tinggi dari prevalensi pada tahun 2007 (Kementerian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2018).

Obesitas secara klinis dinyatakan dalam bentuk IMT $> 25,0 \text{ kg/m}^2$, kelebihan berat badan dan obesitas merupakan faktor risiko terjadinya peningkatan penyakit degeneratif seperti diabetes mellitus tipe 2 (González-Muniesa et al., 2017). Obesitas menyebabkan sekitar 44% penyakit diabetes (Gibney, 2009).

Obesitas dapat menyebabkan sel tidak sensitif terhadap insulin atau resistensi insulin. Insulin memiliki peranan yang sangat penting dalam metabolisme glukosa, sehingga jika terjadi resistensi insulin maka kadar glukosa darah dapat mengalami peningkatan.

Hingga saat ini, banyak penelitian yang berfokus pada asal-usul obesitas berorientasi pada asupan makanan berlebih, kurangnya aktifitas fisik, dan konsumsi makanan yang tidak sehat, namun penelitian terbaru menyebutkan bahwa perubahan komposisi mikrobiota usus memiliki keterkaitan dengan berbagai penyakit, seperti obesitas, diabetes mellitus, hiperlipidemia, dan penyakit sindrom metabolik lainnya (Blaut, 2015).

Mikrobiota usus merupakan mikroorganisme kompleks lebih dari 100 triliun sel dan 400 spesies mikroorganisme yang hidup di usus inang (Kasubuchi, Hasegawa, Hiramatsu, Ichimura, & Kimura, 2015). Mikrobiota usus berperan penting dalam katabolisis serat-serat makanan yang tidak sepenuhnya dipecah oleh enzim di kolon, selain itu mikrobiota usus juga menghasilkan produk fermentasi yaitu asam lemak rantai pendek (*Short chain fatty acid / SCFA*) seperti asam asetat, propionat, dan butirat (Franceschini et al., 2013).

Menurut penelitian Kasubuchi *et. al.*, 2015 produk akhir fermentasi mikroba usus seperti asam asetat, propionat, dan butirat memiliki peran penting dalam obesitas yang disebabkan oleh diet. Kombinasi butirat dan propionat telah terbukti mampu meningkatkan sensitifitas insulin, dan meningkatkan pengeluaran energi pada tikus obesitas (Kasubuchi *et al.*, 2015).

Penanganan obesitas telah berkembang akhir-akhir ini. Banyak obat yang digunakan dalam menangani obesitas, salah satu obat yang telah diresepkan oleh dokter dan digunakan sebagai antiobesitas yaitu orlistat. Penggunaan orlistat dalam jangka waktu tertentu terbukti dapat menurunkan berat badan, namun efek samping yang terjadi akibat penggunaan obat tersebut masih menjadi masalah, sehingga banyak masyarakat lebih memilih herbal untuk menjaga kesehatan (Hasimun, Susilawati, & Riduan, 2017).

Indonesia merupakan salah satu Negara yang memiliki berbagai spesies tanaman yang berpotensi untuk diterapkan sebagai tanaman industri, tanaman buah, dan terutama tanaman obat seperti daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.). Daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) merupakan jenis tanaman yang telah banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia untuk pengobatan berbagai macam penyakit (Hasimun *et al.*, 2017).

Menurut penelitian Sulaeman *et.al.*, 2017 menyebutkan bahwa daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) memiliki kandungan senyawa aktif seperti flavonoid, tannin, saponin, steroid, dan triterpenoid, sedangkan pada rimpang bangle hitam terdapat (*Zingiber ottensii* Val.) senyawa aktif seperti flavonoid, tannin, saponin dan triterpenoid. Kandungan senyawa aktif tanaman tersebut terbukti dapat mencegah kenaikan berat badan pada tikus dengan diet tinggi lemak dan tinggi karbohidrat (Sulaeman & Negara, 2018). Namun, penelitian tentang efek pemberian kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) terhadap profil SCFA dan kadar glukosa darah pada tikus wistar jantan obes belum dilaporkan.

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) terhadap profil SCFA dan kadar glukosa darah pada tikus wistar jantan obes. Melalui penelitian ini, diharapkan konsumsi rimpang bangle hitam dan daun katuk dapat berpengaruh terhadap profil SCFA dan kadar glukosa darah pada tikus obes, sehingga

tidak menutup kemungkinan akan ditemukannya suatu terapi alternatif yang efektif dan terjangkau.

1.2 . Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan, maka rumusan masalah yang akan dikemukakan, yaitu :

1. Bagaimana pengaruh kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) terhadap SCFA.
2. Bagaimana pengaruh kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) terhadap kadar Glukosa.
3. Bagaimana hubungan SCFA dengan Glukosa darah.

1.3. Tujuan dan manfaat penelitian

Berikut tujuan penelitian, yaitu :

1. Untuk mengidentifikasi pengaruh kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) terhadap SCFA.
2. Untuk mengidentifikasi pengaruh kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) terhadap Glukosa darah.
3. Untuk mengetahui hubungan SCFA dengan Glukosa darah.

Dengan adanya penelitian ini semoga dapat menambah pengetahuan dan wawasan bagi penulis, baik dalam bentuk pengalaman maupun dari segi ilmu pengetahuan tentang pengaruh pemberian kombinasi daun katuk dan rimpang bangle hitam terhadap profil Short Chain Fatty Acid (SCFA) dan kadar glukosa darah pada tikus wistar jantan obes.

1.4. Hipotesis penelitian

Berikut hipotesis penelitian, yaitu :

1. Kombinasi kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) memiliki pengaruh terhadap profil SCFA.
2. Kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) memiliki pengaruh terhadap Glukosa darah.
3. Terdapat hubungan antara SCFA dengan kadar glukosa darah

1.5. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan selama satu bulan pada bulan Maret 2020 sampai dengan bulan April 2020. Tempat dilaksanakan penelitian di Laboratorium Farmakologi Universitas Bhakti Kencana.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan penyakit obesitas

2.1.1. Definisi Obesitas

Obesitas merupakan akumulasi lemak yang berlebihan atau abnormal yang dapat menyebabkan gangguan kesehatan karena pengaruh lingkungan, genetik dan endokrin (WHO). Seseorang dikatakan obesitas jika indeks masa tubuhnya (IMT) >30 . Indeks massa tubuh (IMT) adalah indeks sederhana yang biasanya digunakan untuk mengklasifikasikan kelebihan berat badan dan obesitas pada orang dewasa (González-Muniesa et al., 2017).

2.1.2. Epidemiologi

World Health Organization menyatakan bahwa lebih dari 1,9 milyar orang dewasa usia >18 tahun mengalami kelebihan berat badan dan dari jumlah tersebut lebih dari 600 juta dinyatakan obesitas. Berdasarkan data tersebut, maka secara keseluruhan sekitar 39% orang dewasa usia >18 tahun dinyatakan kelebihan berat badan dan 13% dari jumlah tersebut dinyatakan obesitas (WHO,2016).

Hasil Riskesdas menunjukkan bahwa Prevalensi obesitas pada orang dewasa di Indonesia usia > 18 tahun pada periode 2007-2018 menunjukkan angka yang terus meningkat, pada tahun 2007 terjadi peningkatan sebesar 10.5%, pada tahun 2013 14,8%, dan pada tahun 2018 21,8%, hasil ini lebih tinggi dari prevalensi pada tahun 2007 yaitu 18,8%. Hasil Riskesdas 2018 juga menunjukkan prevalensi obesitas sentral pada usia >15 tahun dalam periode tahun 2007-2018 menunjukkan pada tahun 2007 yaitu sebesar 18,8% , tahun 2013 26,6% dan pada tahun 2018 sebesar 31,0%. Berdasarkan penelitian pada tahun 2004 prevalensi obesitas sentral lebih tinggi daripada obesitas umum yaitu pada pria sebesar 41,2% dan pada wanita sebesar 53,3% (Kementerian Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, 2018).

2.1.3. Etiologi Obesitas

Obesitas pada setiap individu disebabkan oleh banyak faktor. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan obesitas diantaranya lingkungan, genetik, dan fisiologis setiap individu yang berbeda. Obesitas juga dapat disebabkan oleh status ekonomi yang dapat merubah gaya hidup, konsumsi minuman beralkohol, kebiasaan merokok, kurangnya aktivitas fisik, pasokan makanan yang berlebih, kebiasaan mengkonsumsi makanan olahan/ cepat

saji, kebiasaan, dan penurunan konsumsi sayur dan buah. Obesitas juga dapat disebabkan oleh kondisi patologi seseorang (Dipiro.J.Talbert.R.dkk., 2011).

2.1.4. Patofisiologi Obesitas

Obesitas terjadi karena adanya kelebihan energi yang disimpan dalam bentuk jaringan lemak. Gangguan keseimbangan energi ini dapat disebabkan oleh faktor eksogen (obesitas primer) sebagai akibat nutrisi (90%) dan faktor endogen (obesitas sekunder) akibat adanya kelainan hormonal, sindrom atau efek genetik (meliputi 10%). Pengaturan keseimbangan energi diperankan oleh hipotalamus melalui tiga proses fisiologis yaitu pengendalian rasa lapar dan kenyang, mempengaruhi laju pengeluaran energi dan regulasi sekresi hormon. Proses dalam pengaturan penyimpanan energi ini terjadi melalui sinyal-sinyal eferen (berpusat di hipotalamus) setelah mendapatkan sinyal eferen dari perifer (jaringan adipose, usus dan jaringan otot). Sinyal-sinyal tersebut bersifat anabolik (meningkatkan rasa lapar serta menurunkan pengeluaran energi) dan dapat juga bersifat katabolik (anoreksia, meningkatkan pengeluaran energi) dan dibagi menjadi dua kategori yaitu sinyal pendek dan sinyal panjang. Sinyal pendek mempengaruhi porsi makan dan waktu makan serta berhubungan dengan faktor distensi lambung dan peptide gastrointestinal, yang diperankan oleh kolesistokinin sebagai stimulator dalam peningkatan rasa lapar. Sinyal panjang diperankan oleh *fat-derived hormone* leptin dan insulin yang mengatur penyimpanan dan keseimbangan energi. Apabila asupan energi melebihi dari yang dibutuhkan maka jaringan adipose meningkat disertai dengan peningkatan kadar leptin dalam peredaran darah. Leptin kemudian merangsang *anorexigenic center* di hipotalamus agar menurunkan produksi *Neuro Peptide-Y* (NPY), sehingga terjadi penurunan nafsu makan. Demikian pula sebaliknya, bila kebutuhan energi lebih besar dari asupan energi maka jaringan adipose berkurang dan terjadi rangsangan pada *orexigenic center* di hipotalamus yang menyebabkan peningkatan nafsu makan. Pada sebagian besar penderita obesitas terjadi resistensi leptin sehingga tingginya kadar leptin tidak menyebabkan penurunan nafsu makan (Satoto dkk, 1998).

2.1.5. Diagnosis Obesitas

Ada beberapa cara untuk melihat adanya gejala atau tanda-tanda obesitas, seperti Indeks Massa Tubuh (IMT), pengukuran lingkar perut, komorbiditas, dan kesiapan menurunkan berat badan. Menurut *International Diabetes Federation* (IDF) seseorang dikatakan

obesitas ketika memiliki lingkar perut minimal 90 cm pada pria, dan setidaknya 80 cm pada wanita. Pengukuran obesitas dengan pengukuran antropometri lingkar perut ini secara klinis dianggap cukup praktis dan valid (Turcato et al., 2000).

2.1.6. Klasifikasi Obesitas

Istilah normal, *overweight*, dan *obese* dapat berbeda pada masing-masing Negara dan budaya, maka dari itu WHO menetapkan suatu pengukuran/ klasifikasi obesitas yang tidak bergantung pada masing- masing Negara dan budaya. Berikut merupakan klasifikasi Berat Badan berdasarkan IMT pada orang Eropa menurut WHO, orang Asia menurut WHO, dan Indonesia menurut Depkes RI.

Tabel II. 1 Klasifikasi Obesitas

Jenis Kelamin	Lingkar Perut	Status
Laki-laki	≥ 90 cm	Obesitas
Perempuan	≥ 80 cm	Obesitas

(Sumber:WHO/IOTF/DEKES RI,2000)

2.1.7. Penatalaksanaan Obesitas

2.1.7.1. Non farmakologi

a. Merubah gaya hidup

Merubah gaya hidup merupakan pilihan pertama untuk perawatan obesitas, yaitu dengan cara merubah pola makan, meningkatkan aktivitas fisik, dan meluangkan waktu untuk berolahraga secara teratur sehingga pengeluaran kalori meningkat dan jaringan lemak teroksidasi. Cara ini juga merupakan cara yang hemat biaya dan risiko komplikasi yang rendah (Steven B and Wadden 2017).

b. Terapi Diet

Terapi diet dapat dilakukan dengan mengatur asupan makanan agar tidak mengkonsumsi makanan dengan kalori lebih tinggi. Diet rendah karbohidrat dapat menurunkan berat badan lebih baik daripada diet rendah protein yang efeknya dapat terasa dalam jangka waktu 1 tahun. Diet rendah kalori merekomendasikan mulai dari 1000 – 2000 kkal/hari untuk wanita, dan 1200 – 1600 kkal/hari untuk pria, berdasarkan kebutuhan dan pemeliharaan berat badan atau tujuan penurunan berat badan (Dipiro.J.Talbert.R.dkk. 2008).

c. Terapi perilaku

Terapi perilaku merupakan terapi yang umum dilakukan terhadap pasien obesitas. Tujuan dari terapi ini yaitu membantu pasien obesitas dalam memilih gaya hidup untuk menurunkan berat badan yang aman dan berkelanjutan. Strategi yang spesifik untuk terapi ini yaitu pengawasan mandiri terhadap kebiasaan makan dan aktivitas, kontrol stimulus, dukungan sosial, dan *management stress* (Dipiro.J.Talbert.R.dkk. 2008).

d. Aktivitas fisik

Peningkatan aktivitas fisik merupakan komponen penting dari program penurunan berat badan, walaupun efeknya tidak terlalu terlihat. Penderita obesitas dapat memulai terapi ini secara perlahan dan intensitasnya ditingkatkan secara bertahap. Pasien obesitas dapat melakukan aktivitas fisik minimal 200 – 300 menit per minggu secara teratur (Steven B and Wadden 2017).

e. Pembedahan

Terapi bedah merupakan terapi yang paling efektif untuk pengobatan obesitas. Tindakan pembedahan merupakan tindakan terakhir untuk mengatasi obesitas. Terapi ini dilakukan hanya untuk penderita dengan IMT ≥ 40 atau ≥ 35 kg/m² dengan kondisi komorbid. Tujuan prosedur pembedahan ini yaitu mengurangi volume lambung dilengkapi dengan pengurangan daya serap. *Gastroplasti, banding vertical gastric*, dan *bypass gastric (Roux-en Y)* adalah suatu intervensi penurunan berat badan dengan risiko operasi yang rendah (Dipiro.J.Talbert.R.dkk. 2008).

2.1.7.2. Farmakologi

Pada obesitas saat ini dijumpai banyak pilihan obat dari golongan obat yang berbeda untuk menurunkan berat badan. Farmakoterapi obesitas secara umum bekerja pada daerah perifer yang mengatur keseimbangan energi manusia. Berikut merupakan daftar obat yang sering digunakan untuk menurunkan berat badan .

Tabel II. 2 Agen Farmakologi untuk Menurunkan Berat Badan

Jenis obat	Durasi penggunaan	Dosis terapi (mg)
<i>Gastrointestinal lipase inhibitor</i>		
orlistat	Jangka panjang	360
Kombinasi serotonergic/Agonis adrenergic		
Sibutramine	Jangka panjang	5-15
Agen		
Noradrenergik	Jangka pendek	70-105
Fendimetrazin	Jangka pendek	15-37.5
Fentermin	Jangka pendek	75
Dietilpropion		
Penghambat absorbs		
Acarbose	Jangka pendek	60-180

(Dipiro.J.Talbert.R.dkk. 2008)

Penggunaan obat- obat anoreksia dalam jangka pendek tidak terlalu efektif dalam menurunkan berat badan, tetapi akan lebih efektif jika dikombinasi dengan terapi perubahan pola hidup yang intensif (Dipiro.J.Talbert.R.dkk. 2008).

2.1.8. Risiko Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit yang dapat disebabkan oleh obesitas. Diabetes mellitus merupakan suatu kelompok penyakit sindrom metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang disebabkan karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Lebih dari 90% populasi diabetes adalah diabetes mellitus tipe 2 yang ditandai dengan berkurangnya sekresi insulin karena penurunan fungsi sel beta pankreas (Yuliani, Oenzil, & Iryani, 2014).

Diabetes mellitus lebih banyak diderita oleh pasien wanita, hal ini terjadi karena timbunan lemak pada wanita lebih tinggi dibandingkan dengan pria. Timbunan lemak

merupakan salah satu faktor yang dapat menurunkan sensitifitas insulin dan kerja insulin pada otot dan hati (Putri & TA, 2013).

2.2. Short Chain Fatty Acid (SCFA)

Asam lemak rantai pendek atau sering disebut SCFA merupakan asam lemak organik dengan 1-6 rantai karbon. SCFA yang paling penting untuk metabolisme manusia adalah asetat, propionat, dan butirat yang merupakan produk fermentasi bakteri di dalam usus (Franceschini et al., 2013). SCFA dapat diekskresikan melalui tinja atau diambil oleh epitel usus yang berpartisipasi dalam berbagai proses fisiologis. Penyerapan SCFA melibatkan protein pengangkut dan diekspresikan oleh epitel usus, yang tujuannya adalah untuk memaksimalkan jumlah SCFA yang diserap dari lumen (Stumpff, F.2018). Reseptor SCFA dapat menginduksi produksi berbagai jenis hormon dalam tubuh yang berpengaruh terhadap kerja organ, misalnya seperti meningkatkan sekresi insulin pada pankreas, mengurangi akumulasi lipid pada sel adiposa, menurunkan risiko asma pada paru-paru dan meningkatkan sistem imun pada pencernaan (Short et al., 2019)

2.3. Hubungan Glukosa Darah dengan Obesitas dan Hubungan Glukosa Darah dengan SCFA

Hasil penelitian Handayani *et al.* pada tahun 2018 menyatakan bahwa seseorang yang mengidap penyakit obesitas memiliki risiko 4 kali lipat mengalami Diabetes Mellitus tipe II dari yang tidak obesitas (Tri Handayani and Noerjoedianto 2018).

Indeks Masa Tubuh $>25 \text{ kg/m}^2$ berisiko mengalami peningkatan kadar glukosa darah. Obesitas merupakan kondisi kelebihan berat badan yang disebabkan oleh ketidakseimbangan energi yang masuk dan energi yang keluar melalui aktivitas fisik (Soegih, 2009).

Hasil penelitian Oba, *et al.* pada tahun 2013 yang dilakukan di Jepang menyebutkan bahwa terdapat hubungan positif antara IMT dengan *glycemic indeks* dan risiko diabetes (Oba et al., 2013).

Handayani *et al.*, 2018 menyimpulkan bahwa salahsatu faktor yang berkaitan erat dengan obesitas yang menyebabkan diabetes mellitus tipe II yaitu faktor usia. Pasien dengan usia >45 tahun 8 kali lebih berisiko diabetes mellitus tipe II dibandingkan dengan orang yang berusia <45 tahun.

Asupan serat makanan yang meningkat dapat mengurangi risiko terkena penyakit diabetes dan obesitas. Penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa SCFA mungkin

berperan dalam pencegahan dan pengobatan sindrom metabolik, gangguan usus dan kanker. Butirat dapat meningkatkan sensitivitas insulin dan meningkatkan pengeluaran energi pada tikus obes. Pada subjek obesitas, propionat secara signifikan meningkatkan pelepasan *peptida plasma postprandial* YY (PYY) dan *Glucagon like peptida-1* (GLP-1) dari sel kolon, dan mengurangi asupan energi. Beberapa penelitian telah memberikan bukti bahwa SCFA, yang merupakan produk akhir dari fermentasi serat makanan oleh mikrobiota usus anaerob, memiliki efek menguntungkan pada metabolisme energi inang dan respons inflamasi (Kasubuchi et al., 2015).

2.4. Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr)

2.4.1. Klasifikasi Tanaman



Gambar II.1. Daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr)

Sumber : koleksi pribadi

Tabel II. 3 Klasifikasi Daun Katuk

Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Divisi	Magnoliophyta
Kelas	Magnoliopsida
Subkelas	Rosidae
Family	Euphorbiales
Genus	<i>Sauropus</i> Blume
Spesies	<i>Sauropus androgynus</i> L.Merr

Sumber : plants.USDA, 2019.

2.4.2. Deskripsi tanaman

Daun katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) merupakan tanaman yang berasal dari keluarga Euphorbiaceae. Daun katuk berwarna hijau gelap karena memiliki kandungan klorofil yang tinggi (Selvi & Bhaskar, 2012). Katuk banyak tumbuh di Negara Asia

Selatan dan Asia Tenggara seperti Malaysia, Indonesia, Vietnam, dan India (Platel & Srinivasan, 2017). Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) dapat tumbuh di tanah dengan ketinggian 5-1300 mdpl dan memiliki tinggi sekitar 3,5 m dengan batang tegak berkayu. Tanaman katuk di Indonesia sendiri sering digunakan sebagai obat tradisional yaitu untuk memperbanyak ASI dan antioksidan (Hayati, Arumingtyas, Indriyani, & Hakim, 2016).

2.4.3. Kandungan kimia

Daun Katuk (*Sauropus androgynus* L. Merr) mengandung flavonoid yang telah dilaporkan memiliki efek antioksidan dan dapat meningkatkan sistem imun atau imunostimulan (Mohd Noor et al. 2019). Daun katuk juga memiliki kandungan senyawa lain seperti protein, alkaloid, papaverin (Selvi and Bhaskar 2012), steroid, saponin, karbohidrat, glikosida (Singh 2015), saponin, dan tannin yang diduga sebagai senyawa yang dapat menurunkan berat badan dan lemak tubuh (Laveena and Chandra 2018).

2.4.4. Efek Farmakologi

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui khasiat daun katuk. Ekstrak etanol daun katuk telah terbukti memiliki aktivitas antibakteri, antiinflamasi dengan dosis ekstrak 400 mg/kg BB dapat menghambat peradangan berkisar 66,67-100% (Desnita, Luliana, & Anastasia, 2018). Penelitian lain menyatakan bahwa pemberian daun katuk dapat menurunkan kadar kolesterol dalam daging ayam boiler Carcass (Syahrudin, Herawaty, & Ningrat, 2014). Efek farmakologi daun katuk banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai induksi aktivitas laktasi (Hayati et al., 2016). Ekstrak daun katuk dapat meningkatkan ekspresi gen prolaktin dan oxytocin.

2.5. Bangle Hitam (*Zingiberr Ottensii* Val.)

2.5.1. Klasifikasi tanaman Bangle Hitam (*Zingiberr Ottensii* Val.)



Gambar II.2. Bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.)

Sumber:

<https://www.google.com/search?safe=strict&source=univ&tbm=isch&q=gambar+rimpang+bangle+hitam>, diakses pada tanggal 2 agustus 2020

Tabel II. 4 Klasifikasi Rimpang Bangle Hitam

Kingdom	Plantae
Divisi	Plantanum
Kelas	Monocotyledonae
Family	Zingiberaceae
Genus	Zingiber
Spesies	<i>Zingiber ottensii</i> Val.

2.5.2. Deskripsi Tanaman

Meskipun melimpah dan terdistribusi luas di Indonesia, bangle hitam masih kurang dimanfaatkan sebagai obat tradisional atau sebagai rempah-rempah dalam kuliner Indonesia, hal itu disebabkan oleh bau yang tidak enak (Sinaga *et.al.*, 2013). Bangle hitam tumbuh di daerah Asia tropic dan ditanam ditempat yang cukup banyak memperoleh sinar matahari. Bangle hitam dapat ditemukan pada dataran rendah hingga dataran tinggi dengan ketinggian mencapai 1300 mdpl (Dalimartha, S. 2009).

Bangle hitam disebut juga bunglai hantu di daerah Melayu Deli atau panglai hideung di daerah Sunda. Rimpang bangle hitam berukuran besar, bagian luarnya berwarna kuning kecoklatan, sedangkan bagian dalamnya berwarna merah ungu kotor dan berbau khas (Sinaga *et.al.*, 2000).

2.5.3. Kandungan Kimia

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hasimun *et.al.* Bangle hitam memiliki kandungan senyawa flavonoid, triterpenoid, dan tannin (Hasimun, Adnyana, Valentina, & Lisnasari, 2016). Minyak atsiri dari daun bangle hitam mengandung beberapa komponen utama, diantaranya yaitu sebagai *trans-caryophyllene*, β -*elemene*, *zerumbone*, *1,5-cyclodecadiene*, (-) - *caryophyllene*, sedangkan minyak atsiri dari rimpang bangle hitam mengandung 64 komponen utama seperti *1-4-terpineol*, *zerumbone*, *sabinene*, *1,8-cineole*, dan γ -*terpinene* (Marliani et al., 2018).

2.5.4. Efek Farmakologi

Bangle hitam telah terbukti memiliki aktivitas menghambat enzim α -*glukosidase* (Hasimun et al., 2016). Tanaman bangle mengandung senyawa *trans-caryophyllene* yang memiliki aktivitas farmakologi seperti anti-inflamasi, antimikroba, dan analgesik, sementara *1-4-terpineol* pada tanaman bangle juga memiliki aktivitas anti-inflamasi dan antimikroba. Senyawa utama lainnya seperti *zerumbone* memiliki aktivitas antiproliferatif (Marliani et al., 2018).

2.6. Hewan percobaan

2.6.1. Membuat hewan obesitas

Dibawah ini terdapat beberapa cara yang dapat digunakan untuk membuat model hewan obesitas, diantaranya sebagai berikut :

1. Mutasi monogenik jalur leptin

Model hewan dibuat kekurangan produksi leptin atau yang tidak sensitive terhadap leptin karena mutasi reseptor leptin atau ekstrim resisten leptin. Mutasi bersifat spontan atau rekayasa genetika (Lutz *et al.*, 2012).

2. Induksi makanan

- a. *Cafeteria diet-induced obesity*

Obesitas akibat makanan *cafeteria* merupakan akibat utama dari *hyperphagia* yang sebagian dipengaruhi oleh peningkatan pengeluaran energi (Lutz *et al.*, 2012).

- b. *High fat diet-induced obesity*

Densitas kalori makanan tinggi lemak dan peningkatan total energi sangat berkontribusi terhadap obesitas, makanan tinggi lemak secara cepat dan spesifik dapat menurunkan peran insulin dan leptin (Clegg *et al.*, 2011). Efek ini terjadi secara cepat dan terjadi setelah beberapa hari pemberian makanan tinggi lemak. Makanan tinggi lemak berefek langsung pada jalur sinyal

intraseluler di hipotalamus, dengan mekanisme menyebabkan perubahan pada ekspresi neuropeptida yang mungkin juga terjadi pada daerah sekitar otak. Komposisi lemak memiliki peran utama dalam obesitas karena lemak jenuh (contoh asam palmitat) lebih berbahaya daripada lemak tidak jenuh (Lutz *et al.*, 2012).

2.6.2. Pemeriksaan Kadar Glukosa

Dibawah ini adalah metode pemeriksaan glukosa darah yang paling sering digunakan dalam melakukan pemeriksaan kadar glukosa darah.

1. Metode kimia

Pengukuran dengan metode kimia yang didasarkan atas kemampuan reduksi sudah jarang dipakai karena spesifitas pemeriksaan kurang tinggi. Metode ini juga memiliki beberapa kelemahan yaitu memerlukan langkah pemeriksaan yang panjang dengan pemanasan, sehingga kemungkinan terjadinya kesalahan sangat besar bila dibandingkan dengan metode enzimatik, reagen-reagen pada metode ini bersifat korosif pada alat laboratorium dan gula selain glukosa dapat terukur kadarnya sehingga menyebabkan hasil tinggi palsu (Depkes RI., 2005).

a. *Strip test*

Strip test merupakan alat pemeriksaan laboratorium sederhana yang dirancang hanya untuk pengguna sampel darah kapiler dan bukan untuk sampel serum atau plasma. Metode ini memiliki kelebihan yaitu hasil pemeriksaan dapat segera diketahui, hanya butuh sampel sedikit, tidak membutuhkan reagen khusus, praktis, mudah dipergunakan, dan dapat digunakan oleh siapa saja tanpa memerlukan tenaga khusus. Namun kekurangannya adalah akurasi belum diketahui, dan memiliki keterbatasan yang dipengaruhi oleh kadar hematokrit, interfensi zat lain (Vitamin C, lipid, dan hemoglobin), suhu, dan volume sampel yang kurang. Metode *strip test* bukan untuk menegakkan diagnosis klinis melainkan hanya untuk pemantauan kadar glukosa darah (Roche, 2004).

2. Metode enzimatik

Metode enzimatik pada pemeriksaan glukosa darah memberikan hasil dengan spesifitas tinggi, karena hanya glukosa yang terukur. Cara ini adalah cara yang digunakan untuk menentukan nilai batas. Ada 2 macam metode enzimatik yang biasa digunakan yaitu:

a. Metode *Glucose Oxidase*

Metode *glucose oxidase* merupakan metode yang paling banyak digunakan di laboratorium yang ada di Indonesia. Sekitar 85% dari peserta Program Nasional Pemantapan Mutu Eksternal bidang kimia Klinik (PNPME-K) memeriksa glukosa serum kontrol dengan metode ini (Depkes RI., 2005). Prinsip pemeriksaan pada metode ini adalah enzim *glucose oxidase* dan *hydrogen peroksida*. Hidrogen peroksida yang terbentuk bereaksi dengan *phenol* dan *4-amino phenazone* dengan bantuan enzim *peroksidase* menghasilkan *quinoneinime* yang berwarna merah muda dan dapat diukur dengan fotometer pada panjang gelombang 546nm. Intensitas warna yang terbentuk setara dengan kadar glukosa darah yang terdapat dalam sampel (Roche, 2004).

b. Metode *Hexokinase*

Metode *hexokinase* merupakan metode pengukuran kadar glukosa darah yang dianjurkan oleh WHO. Pada metode ini digunakan 2 macam enzim yang baik karena kedua enzim ini spesifik (Depkes RI, 2005). Metode ini memiliki akurasi dan presisi yang sangat baik dan merupakan metode referens, karena enzim yang digunakan spesifik untuk glukosa. Metode ini menghitung kadar glukosa melalui 2 reaksi. Prinsip pemeriksaan pada metode ini yaitu *hexokinase* (HK) mengkatalisis fosforilasi glukosa oleh ATP untuk membentuk *glucose-6-fosfat* dan ADP. Untuk mengikuti reaksi, selanjutnya enzim ke-2 *glucose-6-fosfat dehydrogenase* (G6PDH) digunakan untuk mengkatalisis oksidasi *glucose-6-fosfat* oleh NAD⁺ untuk membentuk NADH. Konsentrasi NADH yang terbentuk berbanding lurus dengan konsentrasi glukosa. Hal ini ditentukan dengan mengukur kenaikan absorbansi pada panjang gelombang 340nm (Roche,2004).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan selama 1 bulan pada bulan Maret sampai dengan bulan April 2020. Tempat dilaksanakannya penelitian yaitu di Laboratorium Farmakologi Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi pengaruh kombinasi daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) dan rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) terhadap kadar SCFA dan kadar glukosa darah. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium dengan *post test only control group design*. Simplisia rimpang bangle hitam dan daun katuk diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO), Bogor, Indonesia, kemudian dilakukan beberapa tahapan kerja meliputi pengumpulan bahan, determinasi bahan, pengolahan bahan, karakterisasi simplisia, skrining fitokimia, penyiapan hewan uji, pembuatan pakan tinggi lemak dan tinggi karbohidrat, pengujian potensi rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val. dan daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) terhadap kadar glukosa darah secara *in vivo*, kajian pustaka mengenai SCFA dan pengolahan data dengan analisa SPSS *one way anova*.

Pemeriksaan kadar SCFA belum sempat dilakukan karena terkendala pandemi covid – 19. Dengan demikian hubungan antara bahan alam, glukosa dan SCFA dianalisis berdasarkan penelitian yang sudah ada sebelumnya.

Prinsip pengujian:

Pengujian secara *in vivo* menggunakan tikus wistar jantan sebanyak 24 ekor, usia 2-3 bulan dengan bobot badan 200-250 gram. Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok, masing-masing kelompok terdiri 5 hewan uji. Kelompok normal (-) diberi pakan normal + Na CMC 0,5%, kelompok obes (+) diberi pakan tinggi lemak dan karbohidrat + Na CMC 0,5%, kelompok pembanding diberi pakan tinggi lemak dan karbohidrat + metformin 45mg/ Kg BB, kelompok uji 1 diberi pakan tinggi lemak dan karbohidrat + kombinasi daun katuk dan rimpang bangle hitam 5% per 100gram pakan, kelompok uji 2 diberi pakan tinggi lemak dan karbohidrat + kombinasi daun katuk dan rimpang bangle hitam 10% per 100gram pakan, kelompok uji 3 diberi pakan tinggi lemak dan karbohidrat + kombinasi daun katuk dan rimpang bangle hitam 15% per 100gram pakan dengan durasi pemberian selama 26 hari. Pengambilan darah dan pengukuran kadar glukosa dilakukan pada hari ke-0 dan hari ke-27 dengan metode enzimatis menggunakan instrumen

microlab 300. Pemeriksaan SCFA dilakukan dengan cara mengumpulkan jurnal ilmiah yang bertaraf nasional maupun internasional, kemudian dilakukan review jurnal.

Data yang diperoleh dilakukan analisis secara statistik dengan menggunakan metode *one way ANOVA* untuk melihat apakah kombinasi simplisia daun katuk dan rimpang bangle hitam yang diberikan memberikan pengaruh terhadap profil SCFA dan kadar glukosa darah pada tikus wistar jantan obes.

BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN

5.1. Pengambilan Bahan

Rimpang bangle hitam (*Zingiber ottensii* Val.) dan Daun katuk (*Sauropus androgynus* L.Merr) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITTRO), Bogor, Indonesia.

5.2. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan guna menjamin ketepatan jenis bahan uji yang digunakan dalam penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di LIPI Bogor, Jawa Barat.

5.3. Pengolahan Bahan

Daun katuk dan rimpang bangle hitam yang diperoleh dipilih dalam keadaan tidak rusak dan selanjutnya dicuci bersih, dirajang tipis-tipis dan dikeringkan serta dihaluskan dengan *blender*.

5.4. Karakterisasi Simplisia

5.4.1. Penetapan Kadar Air

Dilakukan dengan destilasi ditahap penjuhan toluen. Tabung penerima dan kondensor dibersihkan secara seksama dan dibilas dengan air lalu dikeringkan di dalam lemari pengering. Toluene sebanyak 200 mL dan 2 mL air dimasukkan ke dalam labu destilasi. Labu dipanaskan hingga larutan mendidih selama 2 jam, kemudian didinginkan selama 30 menit, volume air dibaca pada skala ketelitian 0,05 mL. Hasil yang diperoleh disebut volume destilasi pertama. Sejumlah zat uji yang diperkirakan mengandung 2-3 mL air ditimbang seksama dan dimasukkan dalam labu destilasi. Masukkan beberapa batu didih lalu panaskan perlahan selama 15 menit. Ketika larutan mulai mendidih penyuligan dimulai dengan kecepatan 2 tetes/detik hingga sebagian besar air tersuling, lalu naikan kecepatan menjadi 4 tetes/detik. Setelah air tersuling seluruhnya bagian dalam kondensor dibilas dengan toluene jenuh air, destilasi dilanjutkan selama ± 5 menit, hentikan pemanasan. Tabung penerima didinginkan pada suhu kamar. Air yang masih menempel di dinding tabung penerima diketuk-ketuk agar terlepas dari tabung. Biarkan lapisan toluene dan air memisah dan volume yang terbaca disebut dengan volume destilasi ke dua (Depkes RI., 1989).

Kadar air dinyatakan dalam persen menurut rumus :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{volume air akhir} - \text{volume air awal}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

5.4.2. Penetapan Kadar Sari Larut Etanol

5 gram sampel dilarutkan dalam 100 mL pelarut etanol 96% selama 24 jam, kemudian diaduk hingga 6 jam lalu didiamkan. Saring dengan cepat, sebanyak 20 mL filtrat kemudia ring, panaskan sisa pada suhu 105°C sampai bobot konstan. Kadar dalam persen dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI., 1989).

Kadar sari larut etanol dinyatakan dalam persen menurut rumus :

$$\begin{aligned} \text{Kadar sari larut etanol} &= \\ &= \frac{(\text{bobot cawan} + \text{sari etanol}) - \text{bobot cawan kosong}}{\text{bobot simplisia}} \times \frac{\text{vol pelarut}}{\text{vol filtrat}} \times 100 \end{aligned}$$

5.4.3. Penetapan Kadar Abu Total

Sampel ditimbang sebanyak 2-3 gram kemudian dimasukkan ke dalam cawan krus silika yang telah dipijar dan ditara. Kemudian pijarkan perlahan, diatur dengan suhu >400°C sampai arangnya habis, kemudian didinginkan dan ditimbang. Jika dengan cara ini arang tidak habis tambahkan air panas, aduk, saring dengan kertas saring bebas abu. Pijarkan kertas saring dengan sisa penyaringan dalam krus yang sama, masukan filtrat ke dalam krus, uapkan dan pijarkan hingga bobot konstan. Kadar abu total dihitung terhadap bahan uji, dinyatakan dalam % b/b (Depkes RI., 1989).

Kadar abu total dinyatakan persen menurut rumus :

$$\text{Kadar abu total} = \frac{(\text{bobot krus} + \text{abu total}) - \text{bobot krus kosong}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

5.4.4. Penetapan Kadar Sari Larut Air

5 gram ekstrak ditambahkan 100 mL campuran air : kloroform (1000:2) dilakukan beberapa kali pengadukan sampai 6 jam dan kemudian didiamkan. Saring dengan cepat 20 mL filtrat diuapkan di dalam cawan uap (yang telah ditara) di atas penangas air hingga kering, panaskan pada suhu 105°C sampai bobot konstan. Kadar dalam persen (%) dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara (Depkes RI., 1989).

Kadar sari larut air dinyatakan dalam persen menurut rumus :

$$\begin{aligned} \text{Kadar sari larut air} &= \\ &= \frac{(\text{bobot cawan} + \text{sari air}) - \text{bobot cawan kosong}}{\text{bobot simplisia}} \times \frac{\text{vol pelarut}}{\text{vol filtrat}} \times 100\% \end{aligned}$$

5.5. Skrining Fitokimia

Ekstrak yang diperoleh selanjutnya diuji secara kualitatif untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat di dalam ekstrak. Pengujiannya meliputi uji senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tannin dan triterenoid/steroid (Depkes RI.,1996).

5.5.1. Identifikasi Senyawa Alkaloid

Ditambahkan sampel sebanyak 5gram dengan 5ml amoniak 25% kemudian digerus, ditambahkan kloroform kemudian digerus kembali. Lalu disaring, dipisahkan filtrat berupa larutan organik sebanyak 10 mL (sebagai larutan A) diekstraksi dengan larutan HCl 1:10 dengan pengocokan di dalam tabung reaksi, diambil larutan bagian atasnya (sebagai larutan B). Larutan A ditetesi beberapa tetes pada kertas saring lalu ditetesi dengan pereaksi Dragendorff, jika terbentuk warna merah atau jingga pada kertas saring maka dapat disimpulkan bahwa sampel mengandung senyawa alkaloid.

Larutan B dibagi dlam 2 tabung reaksi, ditambahkan pereaksi dragendorff pada tabung reaksi 1, jika terbentuk endapan merah bata menunjukkan adanya senyawa alkaloid. Pada tabung lainnya ditambahkan pereaksi mayer, jika terbentuk endapan putih menunjukkan adanya senyawa alkaloid (Depkes RI.,1996).

5.5.2. Identifikasi Flavonoid

Serbuk simplisia sebanyak 10 gram ditambahkan air panas sebanyak 100mL, didihkan selama 5 menit kemudian disaring dan diambil filtratnya. Kemudian larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 5mL, tambahkan serbuk magnesium (secukupnya), HCl pekat 1mL, amil alkohol 2 mL, dikocok dengan kuat dan dibiarkan hingga memisah. Jika terbentuk warna dalam larutan amil alkohol maka dapat disimpulkan bahwa sampel mengandung senyawa flavonoid (Depkes RI.,1996).

5.5.3. Identifikasi Saponin

Dimasukkan serbuk sampel ke dalam tabung reaksi, ditambahkan air panas sebanyak 10 mL, didinginkan kemudian kocok dengan kuat secara vertikal selama 10 kali kocokan. Jika terbentuk busa stabil dalam tabung reaksi maka dapat disimpulkan bahwa sampel

mengandung senyawa saponin, jika ditambahkan HCl 1% sebanyak 1 tetes busa tetap stabil (Depkes RI.,1996).

5.4.4. Identifikasi Tannin

Dimasukkan serbuk sampel ke dalam tabung reaksi, ditambahkan air sebanyak 10mL, dididihkan selama 10 menit di atas *hot plate* (kompor listrik), kemudian disaring. Diambil filtratnya, kemudian ditambahkan larutan FeCl₃ 1% secukupnya, jika terbentuk warna biru tua atau hijau atau hitam dapat disimpulkan bahwa sampel mengandung senyawa golongan tannin (Depkes RI.,1996).

5.5.5. Identifikasi Triterpenoid/Steroid

Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi dengan eter sebanyak 20mL, selama 2 jam dalam wadah tertutup rapat, kemudian disaring dan diambil filtratnya. Filtrat diuapkan pada cawan penguap samai kering hingga diperoleh residu. Ditambahkan pereaksi Lieberman- Bouchard ke dalam residu, jika terbentuk warna hijau atau merah maka dapat disimpulkan bahwa sampel mengandung senyawa golongan steroid dan triterpenoid (Depkes RI.,1996).

5.5.6. Identifikasi Kuinon

Sebanyak 1 gram sampel dalam 100 ml air panas dididihkan selama 5 menit dan disaring.5 ml filtrat ditambahkan beberapa tetes larutan natrium hidroksida 1 N. Terbentuknya warna merah menunjukkan adanya kuinon. Namun dapat terjadi reaksi positif palsu dengan tanin.Maka pemeriksaan dilanjutkan dengan penambahan gelatin kemudian endapannya disaring dan filtratnya ditambahkan natrium hidroksida 1 N bila tetap terbentuk warna merah maka menunjukkan adanya kuinon (Depkes RI.,1996).

5.6. Persiapan Bahan Uji

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kombinasi simplisia rimpang bangle hitam dan daun katuk, larutan obat pembanding dan pakan tinggi lemak dan karbohidrat untuk hewan uji.

5.6.1. Pembuatan Larutan Obat Pembanding

Obat pembanding yang digunakan yaitu metformin. Larutan obat pembanding dibuat dengan cara mensuspensikan obat pembanding ke dalam larutan CMC 0,5%. Dosis metformin yang diberikan yaitu 45 mg/kg BB yang diperoleh dari hasil konversi dosis

metformin untuk manusia yaitu 500 mg ke dosis untuk hewan uji tikus dengan bobot 200 gram.

5.7. Penyiapan dan Perlakuan Hewan uji

Hewan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus wistar jantan yang berusia 2-3 bulan dengan bobot 200-250 gram Hewan uji dibagi menjadi 6 kelompok, yaitu sebagai berikut :

Tabel V. 1 Perlakuan Hewan Uji

Kelompok	Perlakuan
kontrol negatif	Hewan uji diberikan pakan standar sebagai kontrol normal.
Kontrol positif	Hewan uji diinduksi makanan tinggi lemak dan karbohidrat serta diberi suspensi CMC Na 0,5% tetapi tidak diberikan sediaan uji
Kelompok pembanding (Metformin)	Hewan uji diinduksi makanan tinggi lemak dan karbohidrat dan diberikan sediaan uji metformin dengan dosis 45 mg/kg BB dalam suspensi CMC Na 0,5%.
Kelompok uji I 5%/100g pakan	Hewan uji diinduksi makanan tinggi lemak dan karbohidrat dan diberi kombinasi bangle hitam dan daun katuk 5% dari 100g pakan.
Kelompok uji II 10%/100g pakan	Hewan uji diinduksi makanan tinggi lemak dan karbohidrat dan diberi kombinasi bangle hitam dan daun katuk 10% dari 100g pakan.
Kelompok uji III 15%/100g pakan	Hewan uji diinduksi makanan tinggi lemak dan karbohidrat dan diberi kombinasi bangle hitam dan daun katuk 15% dari 100g pakan.

Tikus yang digunakan diaklimatisasi terlebih dahulu selama 7 hari di laboratorium farmakologi Universitas Bhaktikencana Bandung, aklimatisasi bertujuan untuk adaptasi

tikus dengan lingkungan baru dan meminimalisasi efek stress pada tikus dengan memberikan makanan, minuman, suhu/ventilasi yang sesuai. Setelah diaklimatisasi, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah masing-masing sebagai waktu T0 pada tikus dimana tikus belum diinduksi pakan tinggi lemak dan karbohidrat ataupun zat uji. kemudian tikus diinduksi dengan pemberian pakan tinggi lemak dan karbohidrat dan diberikan zat uji untuk pencegahan obesitas selama 3-5 minggu atau sampai bobot badan kontrol positif $\geq 20\%$ dari bobot awal, kecuali kelompok 1 yang mendapat pakan standar (normal).

5.8. Induksi Hewan uji

Hewan uji akan diinduksi makanan tinggi lemak dan karbohidrat. Dibuat makanan untuk menginduksi hewan uji menjadi obesitas dengan komposisi (%) sebagai berikut :

Tabel V. 2Formulasi pakan tinggi lemak dan karbohidrat modifikasi dari (Sukandar dkk, 2016)

Komposisi	Normal (g/kg)	Diet Modifikasi (g/kg)	Diet
Tepung terigu	337	172	
Tepung beras	0	189	
Tepung jagung	251,5	204	
Tepung Ikan	160.5	130	
Tepung Kacang Hijau	140,4	114	
Lemak Sapi	50,5	195	
Minyak sayur	20	0	

5.9. Prosedur Pengukuran Glukosa Darah

Pengambilan darah tikus dilakukan pada hari ke-0 dan ke-26. Darah tikus diambil sebanyak 1,5 mL lalu disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 3000rpm, kemudian diukur kadar gula dengan metode Glukosa Hexokinase menggunakan alat mikrolab 300 pada panjang gelombang 340nm.

Pengukuran glukosa dilakukan dengan metode Glukosa Hexokinase dengan prosedur sebagai berikut:

- 10 μL serum ditambahkan 1000 μL reagen Hexokinase
- inkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit.
- Setelah 10 menit, diukur dengan menggunakan microlab 300 pada panjang gelombang 340 nm.
- Untuk kontrol (*Trulab-N control*) dan kalibrator (*Trucal-U calibrator*) digunakan 10 μL .
- Hasil pengukuran dicatat dan dilakukan uji statistik dengan uji *one away* ANOVA

5.10. Pemeriksaan Short Chain Fatty Acid (SCFA)

a. Persiapan Sampel

Disiapkan feses hewan uji sebanyak 200 mg dalam 1 mL aquabidest. Kemudian suspensi feses dihomogenkan dengan alat vortex dan sonikasi selama 20 menit, kemudian suspensi feses disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 5 menit dan pisahkan bagian supernatant ke tabung lainnya untuk dianalisis lebih lanjut.

b. Persiapan standar kurva kalibrasi SCFA dan Instrumentasi

Persiapan kurva kalibrasi SCFA dengan melakukan pengenceran sediaan stok 10 mmol/L terhadap campuran asam volatile bebas dengan pelarut yang mengandung Isopropanol dan Asam hidroklorat 1,5 N. Sediaan standar SCFA terdiri dari Propionat, Butirat, Asetat, Format, Isobutirat, Isolvalerat, Valerat, Isocaproat, Caproat, dan Heptanoik.

Sediaan stok standar SCFA diencerkan secara seri pada kisaran 8 – 0,0625 mmol/L yang terdiri dari 9 level kalibrasi dan kemudian dipindahkan ke botol GC. Langkah selanjutnya 2,2-Dimethyl butyric acid digunakan sebagai standar internal dan ditambahkan ke setiap tingkat standar kalibrasi.

300 mikroliter air murni yang mengandung standar internal ditambahkan ke 100 mikroliter supernatan feses homogen. 100 mikroliter campuran kemudian ditambahkan dengan pelarut yang mengandung Isopropanol sebanyak 600 μL dan 1,5 N Asam Hidroklorat dan dipindahkan ke dalam botol GC.

Standar dan sampel disuntikkan ke sistem Gas Chromatography (GC) bersamaan dengan sistem Mass Selective Detector (MSD) dengan sumber Dampak Elektron (EI). SCFA dipisahkan melalui kolom Nukol (30 mm x 0,25 mm x 0,25 mm