

**EFEK PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)
TERHADAP KADAR GLUT-4 PADA TIKUS WISTAR MODEL DIABETES
MELITUS TIPE 2**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Oleh:
Marlina Qurratul Aini
NIM. 0910753038

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2013

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa*)
TERHADAP KADAR GLUT-4 PADA TIKUS WISTAR MODEL DIABETES
MELLITUS TIPE 2

Oleh :

Marlina Qurratul Aini
NIM : 0910753038

Telah diuji pada
Hari : Kamis
Tanggal : 11 Juli 2013
dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., M;Si.
NIP. 19540823 198103 2 001

Penguji II/Pembimbing I
III/Pembimbing II

Penguji

Efta Triastuti, M.Farm.Klin., Apt.
NIP. 810504 07 12 0046
201012 2 001

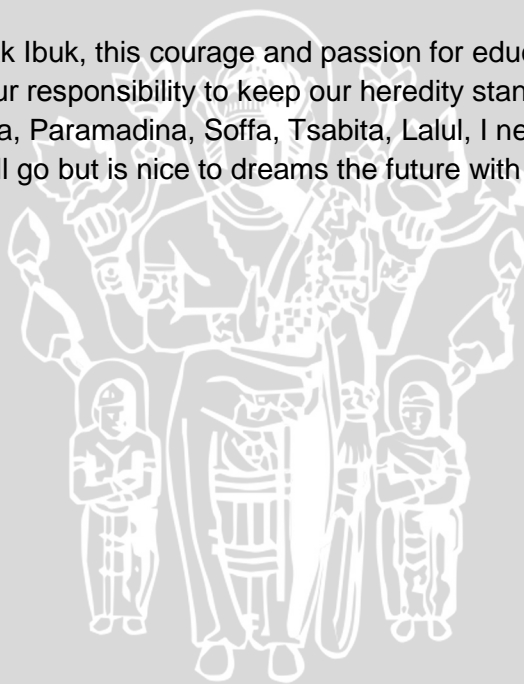
Valentina Yurina, M.Si
NIP. 19830209

Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi

Drs. Bambang Sidharta, MS., Apt.
NIP. 19481216 198002 1 001

HALAMAN PERUNTUKAN

Dedicate to Bapak Ibuk, this courage and passion for education is your hereditary. So it's your responsibility to keep our heredity stand, Adek. Also for the guys Shofwah, Rila, Paramadina, Soffa, Tsabita, Lalul, I never know how the future will go but is nice to dreams the future with you.



KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memudahkan segala rintangan sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Efek Pemberian Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Kadar GLUT4 pada Tikus Wistar Model Diabetes Melitus Tipe 2”.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Dr. Karyono Mintaroem, Sp. PA sebagai dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Drs. Bambang Sidharta, MS., Apt selaku ketua Program Studi Farmasi.
3. Efta Triastuti, M. Farm. Klin., Apt selaku pembimbing pertama, atas bimbingan dan bantuannya menghadapi berbagai macam hambatan selama penelitian.
4. Valentina Yurina, M. Si selaku pembimbing kedua, atas kesabarannya dalam membimbing.
5. Dr. Dra. Sri Winarsih, M. Si., Apt selaku penguji, atas saran dan masukan guna perbaikan naskah.
6. Tim pelaksana penelitian Meutia Tamimi, Wenny Nurpita, Saskia Rachmawati dan Fenny Kristanti atas kerjasama dan kerja keras selama penelitian berlangsung.
7. Seluruh staf Laboratorium Farmasi, Faal dan Biomedik.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir, yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Akhirnya semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 08 Juli 2013

Penulis

ABSTRAK

Aini, Marlina Qurratul. 2013. Efek Pemberian Ekstrak Biji Jintan Hitam (*Nigella sativa*) Terhadap Kadar GLUT-4 pada Tikus Wistar Model Diabetes Melitus Tipe 2. Tugas Akhir, Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Efta Triastuti, M. Farm. Klin., Apt. (2) Valentina Yurina, M. Si.

Latar Belakang: Jumlah penderita diabetes melitus tipe 2 (DM2) semakin meningkat dari waktu ke waktu. Kondisi DM2 ditandai dengan resistensi insulin yang terjadi karena penurunan kadar GLUT-4 di permukaan sel. Jintan hitam merupakan salah-satu tanaman yang digunakan dalam pengobatan DM2 secara tradisional. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa biji jintan hitam mampu menjaga kadar glukosa darah.

Tujuan: Mengetahui efek ekstrak biji jintan hitam terhadap kadar GLUT-4 di jaringan otot.

Metode: Desain penelitian yang digunakan adalah true eksperimental, dengan sampel tikus wistar jantan berjumlah 30 ekor. Sampel dibagi kedalam 6 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal (tanpa induksi DM), kontrol positif (induksi DM, terapi metformin), kontrol negatif (induksi DM, mendapat aquadest) dan 3 kelompok ekstrak biji jintan hitam dengan dosis yang berbeda-beda (induksi DM, terapi jintan hitam dosis 0.024 mg/gBB, 0.048 mg/gBB, 0.096 mg/gBB). Induksi DM dilakukan dengan diet tinggi fruktosa selama 6 minggu. Terapi dilakukan setelah induksi DM2, selama 30 hari.

Hasil: Tidak ada perbedaan kadar GLUT-4 yang signifikan pada masing-masing kelompok perlakuan (ANOVA, $p > 0,05$) dan tidak terdapat perbedaan rerata glukosa darah yang signifikan pada tikus wistar sebelum dan sesudah perlakuan (Wilcoxon, Asymp. $p > 0,05$). Perubahan glukosa darah pre dan post treatment (Δ glukosa darah) tidak berkorelasi dengan konsentrasi GLUT-4 pada jaringan otot (Korelasi, $p = 0,131$).

Kesimpulan: Dalam penelitian ini kesimpulan yang didapat adalah tidak ada perbedaan yang signifikan antara kadar GLUT-4 tikus masing-masing kelompok perlakuan, sehingga dosis optimum tidak dapat ditentukan.

Kata kunci: Diabetes melitus tipe 2 (DM2), biji jintan hitam, GLUT-4

ABSTRACT

Aini, Marlina Qurratul. 2013. Effect of Black Seed (*Nigella sativa*) Extract for GLUT-4 Level on Wistar Rat (*Rattus norvegicus*) as a Type 2 Diabetes Mellitus Model. Final Assignment, Pharmacy Program, Medical Faculty, Brawijaya University. Supervisors: (1) Efta Triastuti, M. Farm. Klin., Apt. (2) Valentina Yurina, M. Si.

Background: The prevalence of type 2 diabetes mellitus (DM2) is increasing over time. DM2 is characterized by insulin resistance that occurs because of decreasing GLUT4 translocation to cells membran. Black seed is used traditionally to treat DM2, previous studies shown that black seed able to control blood glucose level.

Objective: To examine the effect of black seed extract on GLUT-4 level.

Methods: True experimental design was conducted in this reseach, and the subjects were 30 male wistar rats that randomly assigned into 6 groups: normal group (without DM2 induction), positive control (DM2 induction, treated with metformin), negative control (DM2 induction, received aquadest), and three groups were treated with black seed extract in different doses (DM2 induction, 0.024 mg/gBB, 0.048 mg/gBB, 0.096 mg/gBB). High dose fructose diet for 6 weeks was used to induce DM2, and the treatment started over 30 days after the induction.

Results: There was no significant difference between GLUT4 level each group (ANOVA, $p > 0,05$) and there was no significant difference between blood glucose level mean pre and post treatment (Wilcoxon, Asymp. $P > 0,05$). Blood glucose level alteration (Δ blood glucose) has very poor correlation with GLUT4 level in muscle tissue (Corelation, $p = 0,131$).

Conclusions: This study conclude that the effect of black seed extract on GLUT-4 level was no significant difference, those optimum dose could not be determined.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus (DM2), black seed, GLUT-4

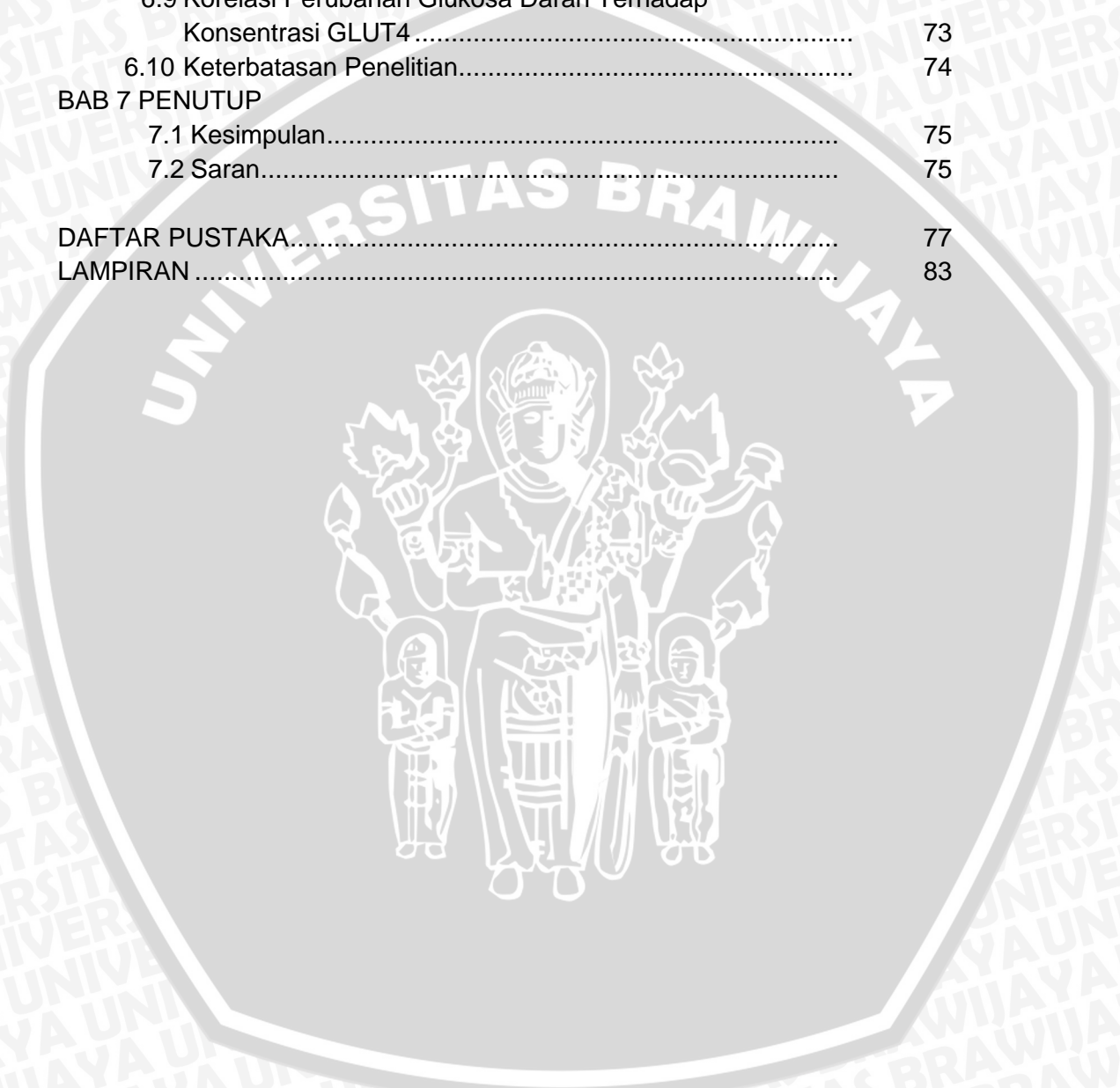
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERUNTUKAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	
1.3.1 Tujuan Umum.....	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaar Penelitian	
1.4.1 Manfaat Akademik.....	4
1.4.2 Manfaat Praktis.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Diabetes Mellitus.....	5
2.2 Signaling Insulin.....	6
2.3 <i>Glucose Transporter 4 (GLUT-4)</i>	8
2.4 Mekanisme Resistensi Insulin pada Diabetes Mellitus Tipe 2.....	9
2.5 Klasifikasi dan Morfologi Jintan Hitam.....	10
2.6 Penggunaan Jintan Hitam sebagai Obat Tradisional.....	11
2.7 Kandungan Kimia Jintan Hitam.....	12
2.8 Potensi Jintan Hitam sebagai Antidiabetes.....	14
2.9 Terapi Diabetes Mellitus Tipe 2.....	15
2.10 ELISA (<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>).....	19
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konseptual Penelitian.....	21
3.2 Hipotesis Penelitian.....	22
BAB 4 METODE PENELITIAN	
4.1 Rancangan Penelitian.....	23
4.2 Populasi dan Sampel.....	23



4.2.1	Besaran Sampel	23
4.2.2	Kelompok Perlakuan.....	24
4.2.3	Prosedur Pengambilan Sampel	24
4.2.4	Kriteria Subyek	25
4.3	Variabel Penelitian	
4.3.1	Variabel Bebas	26
4.3.2	Variabel Tergantung	26
4.4	Instrumen Analisis	26
4.5	Lokasi dan Waktu Penelitian	26
4.6	Instrumen Penelitian	
4.6.1	Bahan Penelitian	27
4.6.2	Alat Penelitian.....	29
4.7	Definisi Operasional	30
4.8	Prosedur Penelitian	
4.8.1	Penyiapan Ekstrak Biji Jintan Hitam	31
4.8.2	Uji Standarisasi Ekstrak.....	32
4.8.3	Uji Fitokimia Kualitatif	33
4.8.4	Pengkondisian Hewan Coba.....	34
4.8.5	Induksi Diabetes Mellirus tipe 2	35
4.8.6	Euthanasia Tikus	35
4.8.7	Pembuatan Homogenat Jaringan Otot.....	36
4.8.8	Penentuan Konsentrasi Protein dengan Metode Bradford	37
4.8.9	Pengukuran GLUT-4 menggunakan ELISA	38
4.8.10	Perlakuan pada Tikus	41
4.9	Alur Penelitian	43
4.10	Analisa Data.....	44
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA		
5.1	Hasil Uji Fitokimia	45
5.2	Hasil Pengukuran Glukosa darah	46
5.3	Hasil Pengukuran Kadar GLUT4 dalam Otot	50
5.4	Hasil Perubahan Glukosa Darah	52
BAB 6 PEMBAHASAN		
6.1	Ekstraksi Biji Jintan Hitam	54
6.2	Uji Fitokimia Ekstrak Biji Jintan Hitam.....	56
6.2.1	Uji Saponin.....	56
6.2.2	Uji Minyak Atsiri.....	57
6.2.3	Uji Alkaloid	58
6.2.4	Uji Protein.....	60
6.3	Induksi Diabetes Melitus	61
6.4	Euthanasia Hewan Coba	63
6.5	Pembuatan Homogenat.....	64
6.6	Pengukuran Kadar GLUT-4 Menggunakan ELISA.....	65

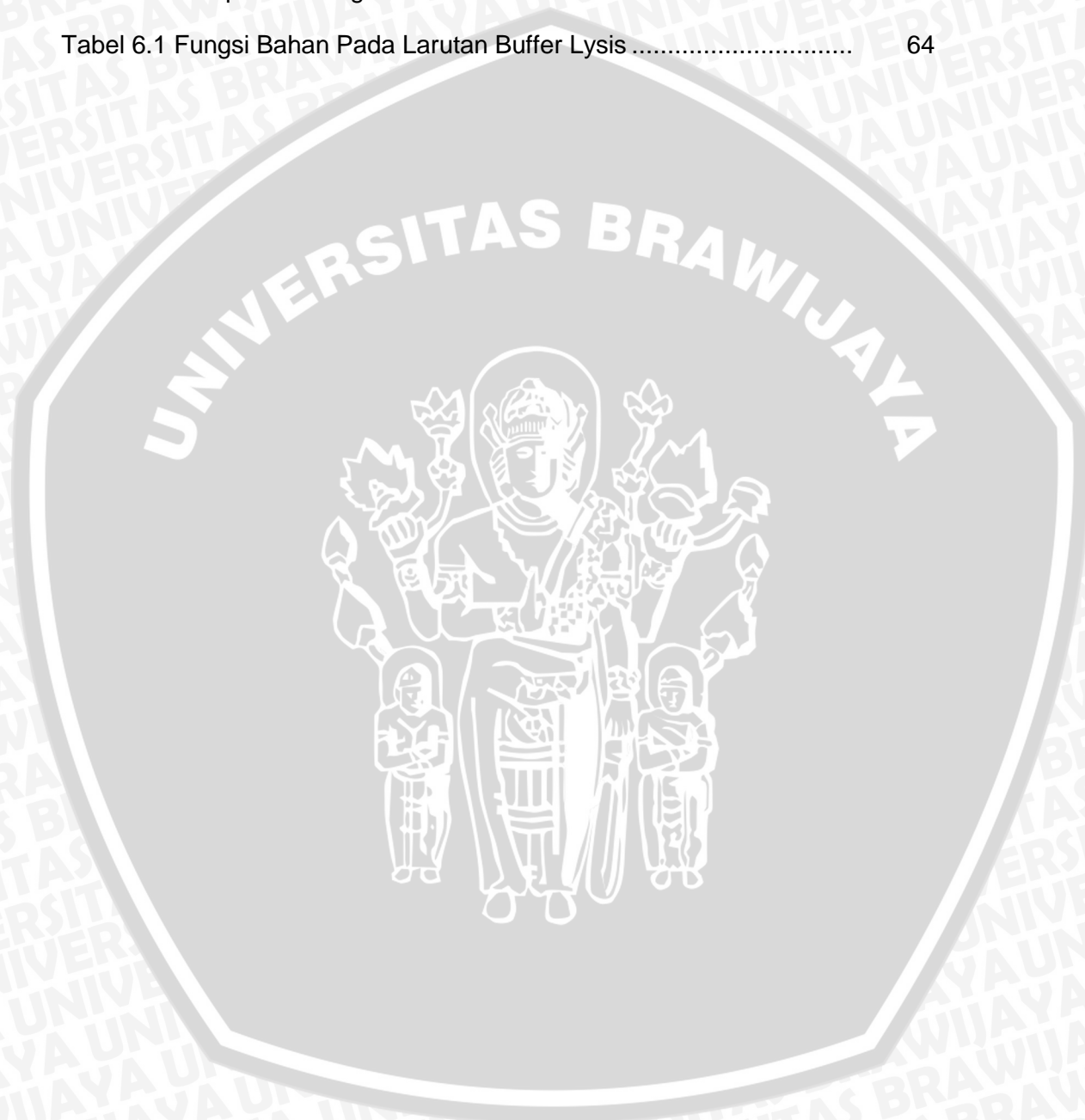
6.7 Efek Ekstrak Biji Jintan Hitam Terhadap Perbedaan Konsentrasi GLUT4 Antar Kelompok.....	67
6.8 Efek Pemberian Ekstrak Biji Jintan Hitam Terhadap Perbedaan Glukosa Darah Sebelum dan Sesudah Perlakuan	72
6.9 Korelasi Perubahan Glukosa Darah Terhadap Konsentrasi GLUT4.....	73
6.10 Keterbatasan Penelitian.....	74
BAB 7 PENUTUP	
7.1 Kesimpulan.....	75
7.2 Saran.....	75
DAFTAR PUSTAKA.....	77
LAMPIRAN	83



DAFTAR TABEL

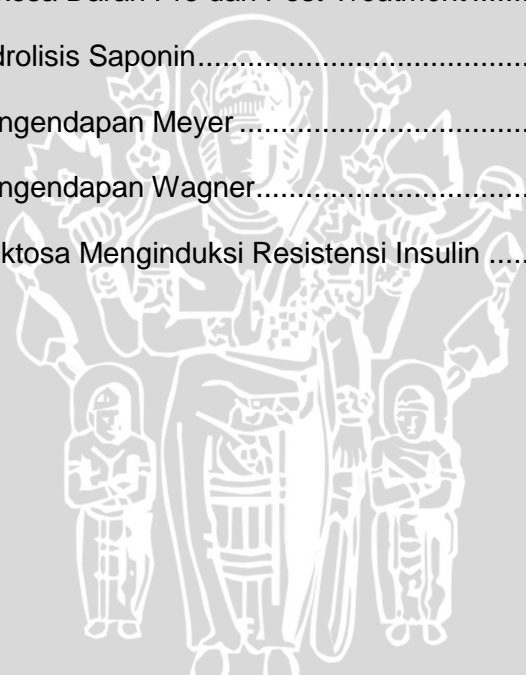
Halaman

Tabel 4.1 Komposisi Energi dan Zat Gizi Diet Tikus Normal	27
Tabel 6.1 Fungsi Bahan Pada Larutan Buffer Lysis	64



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Biji Jintan Hitam	11
Gambar 2.2 Struktur Thymoquinone	13
Gambar 2.4 Algoritma Terapi Diabetes tipe 2	16
Gambar 3.1 Kerangka Konseptual.....	21
Gambar 4.1 Skema Pembuatan Larutan Standar	39
Gambar 5.1 Grafik Glukosa Darah Pre dan Post <i>Treatment</i>	49
Gambar 6.1 Reaksi Hidrolisis Saponin.....	57
Gambar 6.2 Reaksi Pengendapan Meyer	59
Gambar 6.3 Reaksi Pengendapan Wagner.....	60
Gambar 6.2 Bagan Fruktosa Menginduksi Resistensi Insulin	82



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lamp. 1 Alokasi Waktu Penelitian.....	83
Lamp. 2 Sisa Pakan Tikus	84
Lamp. 3 Berat Badan Tikus dan Dosis Perlakuan.....	94
Lamp. 4 Prosedur Pengenceran Pelarut dan Ekstraksi.....	96
Lamp. 6 Prosedur Uji Fitokimia dan Foto Hasil	98
Lamp. 7 Perhitungan Dosis Insulin	101
Lamp. 8 Prosedur Pembuatan Homogenasi	102
Lamp. 9 Prosedur ELISA	103
Lamp. 10 Perhitungan Hasil Pengukuran ELISA.....	105
Lamp. 11 Hasil Uji Statistika	107
Lamp. 12 Pernyataan Keaslian Tulisan.....	114
Lamp. 13 Kelayakan Etik	115



DAFTAR SINGKATAN

ATP	<i>Adenosin Triphospat</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
BPOM	Badan Pengawasan Obat dan Makanan
C	<i>Celsius</i>
Ca	<i>Calsium</i>
DM	Diabetes Melitus
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DPP-4 Inhibitor	<i>Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
GC-MS	<i>Gas Chromatography–Mass Spectrometry</i>
GIP	<i>Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide</i>
GLP	<i>Glucagon-like Peptide</i>
GLUT	<i>Glucose Transporter</i>
HbA _{1c}	<i>Hemoglobin A1c</i>
HRP	<i>Horseradish Peroksidase</i>
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
IgG	<i>Immunoglobulin G</i>
IL	<i>Interleukin</i>
IR	<i>Insulin Receptor</i>
IRS	<i>Insulin Receptor Substrat</i>
IU	<i>Interational Unit</i>
K	<i>Kalium</i>
kkal	kilo kalori
nm	nanometer
USD	<i>United States Dolar</i>
PBS	<i>Phosphate Buffered Saline</i>
PBS-T	<i>Phosphate Buffered Saline-Tween</i>
PI3-kinase	<i>Phosphatidylinositol 3-kinase</i>
pH	<i>Potent of Hydrogen</i>
PKC	Protein Kinase C
PP	<i>Phosphat Protein</i>

PPAR γ	<i>Nuclear Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-γ</i>
ppm	<i>Part Per Million</i>
PTPs	<i>Protein Tyrosine Phosphorylation</i>
RAK	<i>Rancangan Acak Kelompok</i>
RNS	<i>Reactive Nitrogen Species</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
Spektrofotometer-vis	<i>Spektrofotometer-visibel</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SUR	<i>Sulfonylurea Receptor</i>
TMB	<i>Tetramethylbenzidine</i>
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor-α</i>

