

**Pengaruh Jus Buah *Carica pubescens* Terhadap  
Ekspresi *Adenosine Monophosphate-Activated Protein  
Kinase (AMPK)* pada Hepar Tikus Wistar  
Diabetes Melitus Tipe 2**

*Effect of Carica pubescens Juice on Adenosine Monophosphate-  
Activated Protein Kinase (AMPK) Expression in Type 2 Diabetes  
Mellitus Wistar Rats Liver*



**Tesis**

**“Untuk memenuhi persyaratan mencapai derajat Sarjana S-2 dan  
memperoleh keahlian dalam bidang Ilmu Biomedik”**

**Euis Purbasari  
22010119410012**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
SEMARANG  
2021**

## TESIS

**Pengaruh Jus Buah *Carica pubescens* Terhadap Ekspresi *Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase* (AMPK) pada Hepar Tikus Wistar Diabetes Melitus Tipe 2**

Diajukan oleh

Euis Purbasari, S.Si  
22010119410012

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
Pada 14 September 2021  
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

dr. Muflihatul Muniroh, M.Si. Med, PhD  
NIP. 198302182009122004

Dr. dr. Nyoman Suci W., M. Kes, Sp. PK(K)  
NIP. 197010231997022001

Penguji Ketua

Penguji Anggota

dr. Nani Maharani, M.Si. Med, PhD  
NIP. 198111122008122003

dr. Vega Karlowee, Sp. PA, M.Si. Med, PhD  
NIP. 198001302008122002

Mengetahui

Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko Sp.B(K).Onk, M. Kes  
NIP. 197501242008011006

## **PERNYATAAN KEASLIAN PENELITIAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan sebelumnya untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi atau lembaga pendidikan lainnya, serta tidak terdapat unsur-unsur yang tergolong plagiarisme sebagaimana yang dimaksud dalam Permendiknas No. 17 Tahun 2010. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum atau tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.

Semarang, 13 Oktober 2021

Euis Purbasari  
22010119410012

## **DAFTAR RIWAYAT HIDUP**

### **Identitas**

Nama : Euis Purbasari, A.Md.A.K., S.Si.  
NIM : 22010119410012  
Tempat/ Tanggal lahir : Bengkulu, 26 Maret 1997  
Agama : Islam  
Jenis Kelamin : Perempuan  
Status : Belum menikah  
Alamat : Jl. Sedap Malam No. 24, Kota Bengkulu, Provinsi  
Bengkulu

### **Riwayat Pendidikan**

1. SD Negeri 02 Kota Bengkulu : 2002-2008
2. SMP Negeri 02 Kota Bengkulu : 2008-2011
3. SMA Negeri 06 Kota Bengkulu : 2011-2014
4. D3 Analisis Kesehatan-Poltekkes Kemenkes Bengkulu : 2014-2017
5. S1 Biologi-Universitas Nasional : 2017-2019

## KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang. Segala puji bagi Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga Tesis yang berjudul *“Pengaruh Jus Buah Carica pubescens Terhadap Ekspresi Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase (AMPK) pada Hepar Tikus Wistar Diabetes Melitus Tipe 2”* ini dapat terselesaikan. Dalam penyusunan Tesis ini peneliti mendapat dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih kepada:

1. dr. Dwi Pudjonarko, M.Kes., Sp.S(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
2. Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko Sp.B(K).Onk, M.Kes selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik
3. dr. Muflihatul Muniroh, M.Si.Med, PhD selaku Pembimbing I yang berkontribusi sangat besar dalam memberi rekomendasi judul, masukan dan saran selama penulisan Tesis ini
4. Dr. dr. Nyoman Suci W., M.Kes, Sp.PK (K) selaku Pembimbing II yang juga turut berkontribusi dalam memberi masukan dan saran selama penulisan Tesis ini
5. dr. Nani Maharani, M.Si. Med., PhD selaku Penguji Ketua
6. dr. Vega Karlowee, Sp.PA, PhD selaku Penguji Anggota
7. Staf administrasi dan karyawan Magister Ilmu Biomedik Universitas Diponegoro yang selalu membantu dalam hal perizinan, persuratan dan lainnya
8. Kedua orang tua saya, Mama Hermi Yusti dan Papa Hendrawan, Kakak saya Muhamad Nugraha dan Muhamad Ramdan yang telah memberikan kasih sayang, dukungan dan do'a serta motivasi selama masa pendidikan hingga dapat menyelesaikan tesis ini
9. Oktadio Erikardo selaku partner selama penelitian dan penyusunan tesis yang telah memberikan masukan, saran dan motivasi

10. Teman-teman mahasiswa Magister Ilmu Biomedik angkatan 2019 yang selalu memberikan dukungan dan motivasi belajar, serta pihak lainnya yang turut membantu dalam melaksanakan penelitian dan penulisan tesis yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Peneliti menyadari bahwa dalam penyusunan tesis masih jauh dari kata sempurna. Kritik dan saran dari berbagai pihak diharapkan dapat membantu perbaikan penelitian selanjutnya. Peneliti berharap hasil penelitian ini bermanfaat bagi semua pihak. Aamiin

Semarang, 12 Juli 2021

Euis Purbasari  
22010119410012

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN KEASLIAN PENELITIAN .....	iii
DAFTAR RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR SINGKATAN .....	xii
ABSTRAK .....	xv
ABSTRACT.....	xvi
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	4
1.3 Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1 Tujuan Umum.....	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
1.5 Orisinalitas Penelitian .....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Pengaturan Keseimbangan Glukosa Darah .....	10
2.2 Diabetes Melitus (DM) .....	13
2.2.1 Definisi DM.....	13
2.2.2 Klasifikasi DM .....	13
2.2.3 Epidemiologi DM tipe 2.....	15
2.2.4 Gejala DM tipe 2 .....	15
2.2.5 Diagnosis DM tipe 2.....	16
2.2.6 Patogenesis DM tipe 2.....	16
2.2.7 Komplikasi DM tipe 2.....	18

2.2.8 Faktor Risiko DM tipe 2.....	18
2.3 Profil Lipid.....	19
2.3.1 Definisi.....	19
2.3.2 Metabolisme Lipid Pada DM tipe 2.....	20
2.4 <i>AMP-Activated Protein Kinase</i> (AMPK).....	21
2.4.1 Struktur AMPK.....	21
2.4.2 Regulasi AMPK.....	23
2.4.3 Fisiologi Peran AMPK.....	25
2.4.4 Aktivator AMPK.....	26
2.4.5 Pemeriksaan Ekspresi AMPK.....	29
2.5 Hubungan AMPK dan DM tipe 2.....	30
2.5.1 Peran AMPK Melawan Resistensi Insulin di Hepar dan Otot.....	31
2.5.2 Aksi AMPK di Hepar.....	32
2.5.3 Dampak Penurunan AMPK di Hepar.....	36
2.5.4 AMPK dan Kerusakan Hepar.....	37
2.6 <i>Carica pubescens</i> (CP).....	39
2.6.1 Klasifikasi CP.....	39
2.6.2 Morfologi dan Karakteristik CP.....	40
2.6.3 Kandungan Anti-hiperglikemia dan Anti-hiperlipidemia Pada CP.....	41
2.6.4 Faktor yang Mempengaruhi Kandungan CP.....	42
2.7 Kerangka Teori.....	44
2.8 Kerangka Konsep.....	45
2.9 Hipotesis.....	46
<b>BAB III METODE PENELITIAN.....</b>	<b>47</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian.....	47
3.2 Rancangan Penelitian.....	47
3.2.1 Bahan dan Alat Penelitian.....	48
3.2.2 Perlakuan Hewan Coba.....	48
3.2.3 Pembuatan Jus Buah CP.....	50
3.2.4 Penentuan Kandungan Rutin di Dalam Jus Buah CP.....	50
3.2.5 Pemeriksaan Kadar Glukosa Darah Metode GOD-PAP.....	51



3.2.6 Terminasi dan Pengambilan Organ Hepar Tikus .....	52
3.2.7 Pewarnaan Imunohistokimia .....	52
3.3 Populasi dan Sampel Penelitian .....	56
3.4 Variabel Penelitian .....	57
3.5 Definisi Operasional.....	57
3.6 Pengolahan dan Analisis Data.....	58
3.7 Alur Penelitian .....	59
3.8 Etika Penelitian .....	60
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	61
4.1 Gambaran Umum Penelitian .....	61
4.2 Ekspresi AMPK .....	62
4.3 Hubungan Ekspresi AMPK dengan Kadar SOD, HDL, dan TG pada Hewan Coba DM tipe 2 .....	71
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	78
5.1 Kesimpulan .....	78
5.2 Saran.....	78
BAB VI RINGKASAN.....	80
DAFTAR PUSTAKA .....	88
LAMPIRAN .....	100

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Orisinalitas Penelitian .....	7
Tabel 2. Klasifikasi DM .....	14
Tabel 3. Kadar Pemeriksaan Glukosa Plasma untuk Diagnosis Diabetes .....	16
Tabel 4. Perbandingan Ekspresi AMPK Setelah Pemberian Jus Buah CP dan Rutin Murni Pada Tikus Wistar DM tipe 2.....	67
Tabel 5. Rerata Ekspresi AMPK dengan Kadar SOD, HDL, dan TG .....	71
Tabel 6. Uji Korelasi <i>Kendall-Tau</i> antara Ekspresi AMPK dengan Kadar SOD, HDL, dan TG .....	74

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme Homeostasis Glukosa .....	11
Gambar 2. Regulasi AMPK .....	23
Gambar 3. Peran AMPK di Metabolisme .....	25
Gambar 4. Buah CP .....	40
Gambar 5. Kerangka Teori.....	44
Gambar 6. Kerangka Konsep .....	45
Gambar 7. Skema Rancangan Penelitian .....	55
Gambar 8. Alur Penelitian.....	59
Gambar 9. Hasil Pewarnaan Imunohistokimia Ekspresi AMPK- $\alpha$ 2 di Hepatosit Organ Hepar pada Tiap Kelompok.....	63
Gambar 10. Rerata Skor Ekspresi AMPK.....	65
Gambar 11. Grafik Ekspresi AMPK di Hepar dengan Kadar SOD, HDL, dan TG .....	72

## DAFTAR SINGKATAN

ACC	: <i>Acetyl-CoA Carboxylase</i>
ACE	: <i>Angiotensin I-Converting Enzyme</i>
ADA	: <i>American Diabetes Association</i>
ADP	: <i>Adenosine Diphosphate</i>
AICAR	: <i>5-aminoimidazole-4 carboxamide ribonucleotide</i>
ALT	: <i>Alanine aminotransferase</i>
AMP	: <i>Adenosine Monophosphate</i>
AMPK	: <i>Adenosin Monophosphate-Activated Protein Kinase</i>
AST	: <i>Aspartate aminotransferase</i>
ATP	: <i>Adenosine Triphosphate</i>
CaMKK	: <i>Ca<sup>2+</sup>/Calmodulin-Dependent Protein Kinase Kinase</i>
CBS	: <i>Cystathionine-<math>\beta</math>-Synthase</i>
CETP	: <i>Cholesterol Ester Transfer Protein</i>
COX-I	: <i>Cytochrome C Oxidase I</i>
CP	: <i>Carica pubescens</i>
CPT I	: <i>Carnitine Palmitoyltransferase</i>
CREB	: <i>Cyclic AMP Response Element Binding Protein</i>
CRTC2	: <i>CREB-Regulated Transcription Coactivator-2</i>
DAG	: <i>Diasilgliserol</i>
DAGT	: <i>Diasilgliserol Asiltransferase</i>
DM	: <i>Diabetes Melitus</i>
FAS	: <i>Fatty Acid Synthase</i>
FFA	: <i>Free Fatty Acid</i>
G6Pase	: <i>Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase</i>
GLUT-4	: <i>Glucose-Transporter Type 4</i>
GOD-PAP	: <i>Glucose Oxidase-Peroxidase Aminoantypirin</i>
GPAT	: <i>Glycerol-3-Phosphate Acyl Transferase</i>
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: <i>Hidrogen Peroksida</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>

HMGR	: <i>3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A Reductase</i>
HO-1	: <i>Heme Oxygenase-1</i>
IDF	: <i>International of Diabetic Federation</i>
IDL	: <i>Intermediate Density Lipoprotein</i>
IHK	: <i>Imunohistokimia</i>
IL-6	: <i>Interleukin-6</i>
IMT	: <i>Indeks Massa Tubuh</i>
IRS	: <i>Insulin-Receptor Substrate</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
LKB1	: <i>Liver Kinase B1</i>
MCP 1	: <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>
MO25	: <i>Mouse protein-25</i>
mTORC	: <i>mammalian Target Of Rapamycin Complex</i>
NA	: <i>Nicotinamide</i>
NaCl	: <i>Sodium Chloride</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NAFLD	: <i>Non-Alcoholic Fatty Liver Disease</i>
NBF	: <i>Neutral Buffer Saline</i>
NGSP	: <i>National Glycohaemoglobin Standarization Program</i>
NOS	: <i>Nitric Oxide Synthase</i>
NRF-2	: <i>Nuclear Factor Erythroid 2–Related Factor 2</i>
P38MAPK	: <i>p38 Mitogen-Activated Protien Kinase</i>
PBS	: <i>Phosphate Buffer Saline</i>
PEPCK	: <i>Phosphoenol Pyruvate Carboxy Kinase</i>
PGC-1 $\alpha$	: <i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Co-Activator 1-<math>\alpha</math></i>
PKC	: <i>Protein Kinase-C</i>
PPAR- $\gamma$	: <i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-<math>\gamma</math></i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RT-PCR	: <i>Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction</i>
SIRT6	: <i>Sirtuins</i>

SREBP-1c	: <i>Sterol Regulatory Element Binding Proteins-1c</i>
SREBP2	: <i>Sterol Regulatory Element Binding Proteins-2</i>
STRAD	: <i>Ste20-Related Adaptor Protein</i>
STZ	: <i>Streptozotocin</i>
TAB	: <i>TAK1-Binding Protein</i>
TAK1	: <i>TGF-<math>\beta</math>-Activated Kinase 1</i>
TG	: <i>Trigliserida</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor-Alpha</i>
TRAK2	: <i>Trafficking Protein Kinesin Binding 2</i>
TTGO	: <i>Test Toleransi Glukosa Oral</i>
TZD	: <i>Thiazolidinediones</i>
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
WHO	: <i>World Health Organization</i>

## ABSTRAK

**Latar belakang:** Resistensi insulin pada diabetes melitus tipe 2 (DM tipe 2) mengakibatkan penurunan ekspresi *Adenosine Monophosphate-Activated Protein Kinase* (AMPK), hal ini disebabkan karena glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel sehingga pembentukan energi menurun. Kondisi ini menyebabkan peningkatan produksi glukosa di hepar untuk mempertahankan kebutuhan glukosa di dalam tubuh, namun hal ini akan memperberat kondisi hiperglikemia. Selain itu, penurunan ekspresi AMPK dapat memperburuk resistensi insulin, menurunkan kapasitas antioksidan, serta gangguan homeostasis glukosa dan lipid, sehingga AMPK menjadi salah satu target penting untuk pencegahan dan pengobatan penyakit DM tipe 2. Kandungan senyawa flavonoid dalam buah *Carica pubescens* (CP) memiliki manfaat sebagai anti-hiperglikemia dan anti-hiperlipidemia yang berpotensi dapat meningkatkan ekspresi AMPK.

**Tujuan:** Menganalisis pengaruh jus buah CP terhadap ekspresi AMPK di hepar serta hubungannya dengan kadar *superoxide dismutase* (SOD), *high-density lipoprotein* (HDL), dan trigliserida (TG) pada tikus yang diinduksi *high fat diet-streptozotocin*.

**Metode:** Penelitian ini merupakan eksperimental dengan desain *post-test only control group*. Pemeriksaan ekspresi AMPK menggunakan metode imunohistokimia dilakukan pada 25 blok parafin organ hepar yang berasal dari 5 kelompok tikus wistar jantan, yaitu: K- = tikus sehat; K+ = tikus DM tipe 2; X1 dan X2 = tikus DM tipe 2 yang diberikan jus buah CP dengan dosis 4 mL/200 g BB/hari dan 8 mL/200 g BB/hari; X3 = tikus DM tipe 2 yang diberikan rutin murni 10 mg/200 g BB/hari. Perlakuan diberikan melalui sonde lambung selama 30 hari.

**Hasil:** Ekspresi AMPK meningkat secara signifikan pada kelompok perlakuan X1, X2, dan X3 dibandingkan dengan kelompok K+ ( $p < 0,05$ ). Selain itu, tidak ada perbedaan signifikan terhadap ekspresi AMPK antara kelompok X1, X2, dan X3 hal ini mengindikasikan bahwa kelompok X1 memiliki kemampuan yang setara dengan kelompok X2 dan X3. Ekspresi AMPK dan kadar TG menunjukkan hasil yang signifikan dengan arah hubungan negatif, sedangkan kadar SOD dan HDL tidak signifikan.

**Kesimpulan:** Jus buah CP dapat meningkatkan ekspresi AMPK di hepar tikus wistar DM tipe 2. Peningkatan ekspresi AMPK di hepar berhubungan signifikan dengan penurunan kadar TG, namun tidak berhubungan terhadap peningkatan kadar SOD dan HDL setelah pemberian jus buah CP atau rutin murni.

**Kata kunci:** AMPK, diabetes melitus tipe 2, HDL, jus buah CP, SOD, TG

## ABSTRACT

**Background:** Insulin resistance in type 2 diabetes mellitus (type 2 DM) results in a decrease in adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) expression. This occurs because glucose cannot enter the cells, resulting in decreased energy generation. This disorder causes an increase in glucose production in the liver in order to meet the body's glucose needs, but this exacerbates hyperglycemia. Additionally, decreasing AMPK expression can exacerbate insulin resistance, impair antioxidant capacity, and disturb glucose and lipid homeostasis, making AMPK a significant target for type 2 DM prevention and treatment. The flavonoid content of *Carica pubescens* (CP) fruit contains anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic properties, which may boost AMPK expression.

**Objective:** To determine the effect of CP fruit juice on AMPK expression in the liver and its relationship to superoxide dismutase (SOD), high-density lipoprotein (HDL), and triglyceride (TG) levels in rats treated with a high-fat diet and streptozotocin.

**Methods:** The present study has an experimental design with a single post-test control group. The immunohistochemical method was used to examine AMPK expression in 25 liver paraffin blocks from five groups of male wistar rats, namely: K- = healthy rats; K+ = type 2 DM rats; X1 and X2 = type 2 DM rats given CP fruit juice at a dose of 4 mL/200 g BW/day and 8 mL/200 g BW/day, respectively; X3 = type 2 DM rats given pure rutin 10 mg/200 g BW/day. For 30 days, the therapy was administered via a stomach probe.

**Results:** AMPK expression increased significantly in the X1, X2, and X3 treatment groups compared to the K+ group ( $p < 0.05$ ). Additionally, no significant variation in AMPK expression was seen between groups X1, X2, or X3, showing that group X1 possesses the same capabilities as groups X2 and X3. AMPK expression and TG levels showed significant results with the direction of the negative relationship, while SOD and HDL levels showed insignificant results.

**Conclusions:** CP fruit juice can increase AMPK expression in the liver of type 2 DM wistar rats. The increase in AMPK expression in the liver significantly correlated with decreased TG levels, but did not correlate with SOD and HDL levels after administration of CP fruit juice or pure rutin. This indicates CP fruit juice can act as a hepatoprotective to prevent liver damage due to type 2 DM.

**Kata kunci:** AMPK, fruit juice CP, HDL, SOD, TG, type 2 diabetes mellitus