

Effect of Papaya Seed Extract (*Carica Papaya* Linn.) on Glucose Transporter 4 (GLUT 4) Expression of Skeletal Muscle Tissue in Diabetic Mouse Induced by High Fructose Diet

Pengaruh Pemberian Ekstrak Biji Pepaya (*Carica Papaya* Linn.) terhadap Ekspresi *Glucose Transporter* 4 (GLUT 4) pada Jaringan Otot Rangka Tikus Model Diabetes Melitus Tipe II yang Diinduksi Diet Tinggi Fruktosa

Devyani Diah Wulansari*, Achmad Basori, Suhartati
Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

ABSTRACT

Ethnobotany surveys show that papaya seeds are widely used as herbs for the management of some diseases such as abdominal discomfort, pain, malaria, diabetes, obesity, and infection. This research was conducted to analyze the effect of papaya seed extract on GLUT4 expression on skeletal muscle tissue of DM type II model induced by high fructose diet. This study used 24 animals, divided into 4 groups of negative control group, treated with papaya seed extract 100 mg / kgBB, 200 mg / kgBW and 300 mg / kgBW, was adapted for 14 days then induced by fructose solution 20% Orally with a dose of 1.86 grams / kgBB for 56 days. The treatment group was given papaya seed extract in accordance with the dose of each group for 14 days. GDP levels was measured using a spectrophotometer. Skeletal muscle tissue is used on the gastrocnemius part. GLUT4 expression was measured through a Immunoreactive Score (IRS) method with immunohistochemical staining using GLUT4 polyclonal antibodies. Comparative test results showed that there were significant differences between groups ($p < 0.05$) in final GDP variables and GLUT4 expression. Pearson correlation test results show that the value $p = 0.001$, meaning there is a significant relationship between GLUT4 expression with final GDP levels. The result of simple linear regression analysis showed that $p = 0,000 (<0,05)$, meaning that dose of papaya seed extract had a significant influence on GLUT4 expression.
Keywords : Papaya seed extract, GLUT4, fructos, Skeletal muscle tissue cell

ABSTRAK

Survey etnobotani menunjukkan bahwa biji pepaya secara luas digunakan sebagai herbal untuk manajemen beberapa penyakit seperti tidak nyaman pada perut, nyeri, malaria, diabetes, obesitas, dan infeksi. Penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh pemberian ekstrak biji pepaya terhadap ekspresi GLUT4 pada jaringan otot rangka tikus model DM tipe II yang diinduksi diet tinggi fruktosa. Penelitian ini menggunakan 24 ekor hewan coba, dibagi dalam 4 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pepaya 100 mg/kgBB, 200 mg/kgBB dan 300 mg/kgBB, diadaptasikan selama 14 hari kemudian diinduksi dengan larutan fruktosa 20% per oral dengan dosis 1,86 gram/kgBB selama 56 hari. Kelompok perlakuan diberikan ekstrak biji pepaya sesuai dengan dosis tiap kelompok selama 14 hari. Pemeriksaan kadar GDP menggunakan spektrofotometer. Pengambilan jaringan otot rangka dilakukan pada bagian gastroknemius. Ekspresi GLUT4 diukur melalui metode semikuantitatif Immunoreactive score (IRS), dengan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi poliklonal GLUT4. Hasil uji komparasi menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok ($p < 0,05$) pada variabel GDP akhir dan ekspresi GLUT4. Hasil uji korelasi pearson menunjukkan bahwa nilai $p = 0,001$, artinya terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi GLUT4 dengan kadar GDP akhir. Hasil analisis uji regresi linier sederhana menunjukkan bahwa nilai $p = 0,000 (<0,05)$, artinya pemberian dosis ekstrak biji pepaya memiliki pengaruh yang bermakna terhadap ekspresi GLUT4.

Kata Kunci : Ekstrak biji pepaya, GLUT4, fruktosa, kadar glukosa darah, sel otot rangka

Correspondence author: Devyani Diah Wulansari
Email: devyanidiah88@gmail.com

PENDAHULUAN

Penggunaan obat tradisional di Indonesia merupakan bagian dari budaya bangsa dan telah dimanfaatkan oleh masyarakat sejak berabad-abad yang lalu. Di Indonesia, penggunaan obat tradisional berkaitan dengan pemanfaatan kekayaan alam, yaitu untuk pemeliharaan kesehatan dan pengobatan penyakit. cukup (Katno, 2006).

Pepaya (*Carica papaya* L.) merupakan tanaman yang cukup banyak dibudidayakan di Indonesia dan merupakan jenis tanaman yang bernilai ekonomis. Berdasarkan pada beberapa penelitian terdahulu, biji pepaya yang dianggap sebagai limbah, memiliki beberapa manfaat untuk kesehatan. Kajian fitokimia pada biji pepaya membuktikan bahwa biji pepaya kaya akan kandungan polisakarida, vitamins, mineral, enzim, protein, alkaloid, glycosida, minyak, lektin, saponin, steroid, alkaloid, α -carpaine, β -D-glucosides, β -sitosterol, papain, kolin, karoten, riboflavin, vitamin C, phenylethyl- β -D-glucosides, serta senyawa fenolik yang dipercaya sebagai antioksidan yang potensial (Johnson, et al., 2015; Ang, Yee Kwang, et al., 2012). Survey etnobotani menunjukkan bahwa biji pepaya secara luas digunakan sebagai herbal untuk manajemen beberapa penyakit seperti tidak nyaman pada perut, nyeri, malaria, diabetes, obesitas, dan infeksi (Adeneye, 2009). Biji pepaya kaya kandungan polifenol berupa asam fenolat dan flavonoid, sehingga biji pepaya memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan Aktivitas antihiperglikemia ekstrak biji pepaya diduga melalui efek menurunkan laju absorpsi glukosa di intestinal, meningkatkan penggunaan glukosa di perifer, menstimulasi kemampuan sel β pankreas untuk memproduksi insulin atau memperbaiki sel β pankreas (Venkateshwarlu, et al., 2013). melalui penelitian ini diharapkan dapat memberikan penjelasan ilmiah tentang mekanisme antioksidan dan antihiperglikemia pada biji pepaya dalam menurunkan kadar glukosa darah pada tikus diabetik.

METODOLOGI

Alat dan bahan

Secara umum, instrumen yang digunakan sesuai standar peralatan laboratorium, yaitu meliputi disposable spuit 3 ml, sonde, labu ukur 50 ml, neraca analitik, pipet tetes, pipet ukur, pipet volume, beaker glass, botol, neraca analitik, blender/ alat penggiling, timbangan digital, dua buah toples, batang pengaduk, corong, stirer, gelas ukur, erlenmeyer, tissue, kain flanel, kertas saring, cawan porselen, rotari evaporator / waterbath dan oven, spektrofotometer dan glukometer,

mikrotom, object glass, cover glass, mikroskop cahaya, peralatan untuk pembuatan dan pengamatan sediaan histopatologi dan imunohistokimia.

Bahan yang digunakan adalah 500 gram serbuk kering biji pepaya dan 8 liter aqua demineralisata fruktosa dibuat dalam larutan dengan konsentrasi 20% b/v, aquades, antibodi poliklonal GLUT4 bioworld, dietil Ether.

Aklimatisasi Hewan Coba

Aklimatisasi bertujuan untuk memberikan waktu pada hewan coba untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan sekitarnya setelah ditempatkan pada Laboratorium Hewan Coba selama 14 hari. Kesehatan fisik hewan coba dapat dilihat dari ciri-ciri : memiliki BB remaja 175-200 gram, bermata jernih, bulu mengkilat, gerakan aktif/lincah, feses baik dan tidak lembek, nafsu makan baik, BB tidak turun selama proses aklimatisasi, dan memiliki kadar GDP normal pada akhir aklimatisasi.

Pembuatan Ekstrak Biji Pepaya

Buah pepaya yang masak, dipotong menjadi 2 bagian, kemudian diambil bijinya. Biji pepaya yang masih basah tersebut dicuci dengan air sebanyak dua kali. Kemudian biji pepaya dikeringkan/ dianginkan pada suhu ruang selama 4 minggu dan diperkecil ukurannya dengan menggunakan blender. Sebanyak 500 gram serbuk biji pepaya di maserasi dengan larutan alkohol 70% selama kurang lebih 3 hari, kemudian difiltrasi / disaring menggunakan kain katun putih yang bersih dan menggunakan corong buchner. Filtrat kemudian dievaporasi sampai pada kekeringan yang optimal pada suhu 40°C sehingga menghasilkan ekstrak kental berbau manis dan berwarna coklat berupa padatan 24.0% (w/w). Proses ekstraksi diulang empat kali dan serbuk padat yang dihasilkan ditimbang setelah proses ekstraksi, disimpan pada wadah kedap udara dan air, kemudian dimasukkan dalam lemari es pada suhu 4°C.

Tahap Induksi Mencit Diabetik

Tikus dibuat dalam kondisi diabetik dengan diinduksi pemberian larutan fruktosa 20% per oral dengan dosis 1,86 g/kg BB selama 56 hari yang diharapkan dapat menginduksi DM tipe II. Setelah 56 hari pemberian larutan fruktosa 20% per oral dengan dosis 1,86 g/kg BB, tikus dipuasakan semalaman kemudian kadar glukosa darah tikus diukur terlebih dahulu, kemudian diukur kembali kadar glukosa darah tikus. Tikus dengan kadar glukosa darah lebih dari 150 mg/dl digunakan untuk penelitian pada kelompok perlakuan dan kontrol diabetik.

Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba 24 ekor yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi, dibagi dalam 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol positif (diabetik), kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pepaya 100 mg/kg BB, kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pepaya 200 mg/kg BB dan kelompok perlakuan yang diberi ekstrak biji pepaya 300 mg/kg BB, kemudian diadaptasikan selama 14 hari. Selama proses aklimatisasi, diberikan pakan dan minum normal. Kemudian pada hari ke 15, hewan coba diinduksi dengan pemberian larutan fruktosa 20% per oral dengan dosis 1,86 gram/kg BB selama 56 hari. Hiperglikemia terjadi pada hari ke-55 setelah induksi diet tinggi fruktosa. Selanjutnya kelompok perlakuan diberikan ekstrak biji pepaya sesuai dengan dosis tiap kelompok selama 14 hari. Pemeriksaan kadar glukosa darah puasa berikutnya dilakukan pada hari ke 77 bertujuan untuk mengetahui profil penurunan glukosa darah pada tikus setelah pemberian ekstrak biji pepaya melalui metode enzimatik menggunakan spektrofotometer. Pengambilan jaringan otot rangka dilakukan pada bagian gastrocnemius pada masing-masing kelompok tikus pada akhir penelitian dan dilakukan pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan antibody poliklonal GLUT4.

Analisis Data

Data di analisis secara statistik dengan menggunakan SPSS 20.0 for windows. Sebelum diuji dengan *Oneway ANOVA* ($\alpha=0.05$), data terlebih dahulu diuji dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui data terdistribusi normal atau tidak. Jika terdapat perbedaan yang bermakna, maka untuk mengetahui beda antar perlakuan digunakan uji *LSD (Least Significant Difference)* atau Uji Beda Nyata Terkecil. Untuk mengetahui korelasi translokasi protein GLUT4 dengan kadar glukosa darah dilakukan korelasi *pearson*. Untuk mengetahui hubungan dosis respon dilakukan dengan uji regresi linier sederhana.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris yang dilakukan untuk menjelaskan efek pemberian ekstrak biji pepaya terhadap ekspresi *Glucose Transporter 4 (GLUT4)* di membran plasma sel otot rangka (*gastrocnemius*) dan kadar glukosa darah puasa tikus model DM tipe II hasil induksi diet tinggi fruktosa. Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih strain *wistar* karena pemeliharaannya mudah, relatif sehat, memiliki sistem faal yang

mirip dengan manusia, dan sering digunakan pada penelitian penyakit metabolik karena tikus jenis ini lebih aktif dan memiliki laju metabolik yg tinggi dibandingkan galur *Sprague-Dawley* sehingga tidak terjadi perubahan metabolik seperti hipertensi dan hipertrigliserida selama induksi diet tinggi fruktosa (Mamikutty, *et al*, 2014)

Penimbangan BB selanjutnya dilakukan pada hari ke-47 (pengamatan ke II), ke-70 (pengamatan ke III, yaitu akhir masa induksi fruktosa dan sebelum diberikan terapi ekstrak biji pepaya) dan ke-84 (pengamatan ke IV setelah selesai pemberian terapi ekstrak biji pepaya dan sebelum hewan coba dikorbankan).

Pemeriksaan GDP juga dipantau pada hari ke-47 yang bertujuan untuk melihat perkembangan kenaikan GDP setelah 33 hari pemberian induksi diet tinggi fruktosa. Pada pengamatan kadar GDP ke II ini masih belum menunjukkan peningkatan kadar GDP yang signifikan, yang berarti bahwa hewan coba masih belum mengalami hiperglikemia. Pemeriksaan GDP selanjutnya dilakukan pada hari ke-70 untuk memantau adanya kenaikan kadar GDP pada hewan coba. Berdasarkan hasil penelitian, pemeriksaan GDP pada hari ke-70 menunjukkan bahwa terdapat kenaikan kadar GDP yang cukup signifikan setelah diberikan induksi diet tinggi fruktosa selama 54 hari, dibandingkan dengan kadar GDP pada awal penelitian. Setelah tikus mengalami hiperglikemia pada hari ke-70, maka dilanjutkan dengan pemberian ekstrak biji pepaya pada kelompok K1, K2 dan K3 selama 14 hari.

Pemeriksaan GDP juga dipantau pada hari ke-47 yang bertujuan untuk melihat perkembangan kenaikan GDP setelah 33 hari pemberian induksi diet tinggi fruktosa. Pada pengamatan kadar GDP ke II ini masih belum menunjukkan peningkatan kadar GDP yang signifikan, yang berarti bahwa hewan coba masih belum mengalami hiperglikemia. Pemeriksaan GDP selanjutnya dilakukan pada hari ke-70 untuk memantau adanya kenaikan kadar GDP pada hewan coba. Berdasarkan hasil penelitian, pemeriksaan GDP pada hari ke-70 menunjukkan bahwa terdapat kenaikan kadar GDP yang cukup signifikan setelah diberikan induksi diet tinggi fruktosa selama 54 hari, dibandingkan dengan kadar GDP pada awal penelitian. Setelah tikus mengalami hiperglikemia pada hari ke-70, maka dilanjutkan dengan pemberian ekstrak biji pepaya pada kelompok K1, K2 dan K3. Setelah pemberian ekstrak biji pepaya selama 14 hari, kadar GDP diperiksa kembali pada hari ke-84 untuk memantau efek hipoglikemia yang diberikan oleh ekstrak biji pepaya. Berdasarkan hasil uji *Oneway*

Tabel I. Data Rerata Berat Badan dan Perubahan Berat Badan

Kelompok	n	BB awal (X±SD)	BB tengah (X±SD)	BB akhir (X±SD)	Δ BB awal (X±SD)	Δ BB akhir (X±SD)
KD	6	192,00±20,58	277,83±16,89	303,17±38,04	85,83±32,97	25,33±22,16
K1	6	179,33±12,93	269,50±28,37	276,67±31,89	74,50±34,30	7,17±5,85
K2	6	181,50±15,95	260,83±51,74	269,50±51,64	79,67±47,47	8,67±5,82
K3	6	196,33±13,02	286,67±34,08	301,33±35,10	90,33±43,87	14,67±21,11

Tabel II. Data Rerata Kadar Glukosa Darah Puasa (mg/dl)

Kelompok	n	GDP awal (X±SD)	GDP tengah (X±SD)	GDP akhir (X±SD)
KD	6	109,50±20,07	168,67±29,45	223,50±87,80
K1	6	104,50±7,36	174,50±20,16	147,50±21,44
K2	6	101,00±6,36	196,00±20,03	152,83±28,49
K3	6	105,67±22,35	167,50±13,01	140,00±24,15

Annova, menunjukkan bahwa variabel kadar GDP akhir memiliki perbedaan bermakna antar kelompok dengan hasil uji *Post Hoc* yang menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antara kelompok KD dengan K1, KD dengan K2, dan KD dengan K3. Pada kelompok K1, K2, dan K3, menunjukkan penurunan kadar GDP setelah pemberian terapi ekstrak biji pepaya. Namun pada kelompok KD yang hanya diberikan plasebo, tidak menunjukkan adanya penurunan kadar GDP. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat kenaikan kadar GDP pada kelompok KD setelah pemberian plasebo selama 14 hari. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa pemberian induksi diet tinggi fruktosa 20% secara *ad libitum* memicu pembentukan jaringan adiposa di abdominal dan kenaikan berat badan. Kenaikan asupan kalori yang berasal fruktosa menyebabkan energi yang berlebihan yang disimpan dalam bentuk trigliserida (TG) didalam jaringan adiposa dan digunakan sebagai cadangan energi. Pembentukan jaringan adiposa di abdominal merupakan komponen penting dalam perkembangan dislipidemia, hiperglikemia dan hipertensi. Pembentukan TG yang berlebihan dapat menurunkan sensitivitas insulin. Hal ini menyebabkan penurunan ambilan glukosa oleh jaringan yang sensitif insulin. Keadaan ini memicu proses lipolisis sehingga asam lemak bebas dan gliserol yang dihasilkan akan lebih banyak. Asam lemak bebas dan gliserol masuk kedalam jaringan adiposa dalam bentuk TG. Siklus ini akan terus terulang sehingga akan semakin banyak TG yang terbentuk. Oleh karena fruktosa berbeda dengan glukosa, fruktosa tidak menstimulasi sekresi insulin dari sel β pankreas. Namun penurunan sensitivitas insulin berkaitan dengan keadaan hipertrigliserida yang memicu terjadinya

hiperglikemia (Mamikutty, *et al*, 2014). Pada penelitian ini, hewan coba dibuat model DM tipe II dengan diberikan diet tinggi fruktosa melalui rute per oral dosis tunggal 1,86 gram/kgBB. Seluruh kelompok hewan coba mengalami hiperglikemia pada hari ke-56 setelah induksi diet tinggi fruktosa, dengan kadar glukosa darah puasa berkisar antara 147-225 mg/dl. Pemilihan diet tinggi fruktosa sebagai metode untuk pembuatan hewan coba model DM tipe II didasarkan pada pertimbangan bahwa fruktosa dapat menginduksi terjadinya resistensi insulin (Kimber, *et al.*, 2009; Livesey, 2009; Tappy, *et al*, 2012). Fruktosa dapat menginduksi terjadinya resistensi insulin melalui 4 jalur utama yaitu mekanisme aksi produk lipid terhadap sel otot (*Muscle lipototoxicity*), mekanisme aksi asam urat terhadap NO pada disfungsi endotel, mekanisme aksi ROS, dan mekanisme aksi inflamasi yang dapat mengaktifasi jalur NF κ B. Konsumsi tinggi fruktosa akan mengakibatkan akumulasi senyawa pada jalur tersebut sehingga dapat menegaskan bahwa fruktosa memiliki peran yang besar dalam memicu terjadinya resistensi insulin (Tappy, 2012). Hal ini sesuai dengan penelitian yang menunjukkan bahwa pemberian diet tinggi fruktosa selama 56 hari berturut-turut dapat menginduksi terjadinya hiperglikemia dan kondisi hiperglikemia ini dapat bertahan hingga hari ke 77. Fruktosa memiliki ciri metabolik yang unik yaitu dimetabolisme oleh organ splanik dengan mekanisme tidak bergantung insulin. Fruktosa dapat masuk kedalam sel melalui proses yang tidak bergantung Natrium yaitu melalui karier membran GLUT5 yang terdapat pada enterosit. Sejumlah kecil fruktosa dimetabolisme didalam enterosit usus namun sebagian besar akan diabsorpsi melalui usus menuju vena porta.

Fruktosa masuk ke dalam hepatosit melalui GLUT2. Didalam hepatosit, fruktosa secara cepat akan diubah menjadi fruktosa-1 fosfat oleh enzim fruktokinase dan kemudian menjadi triose fosfat oleh enzim aldolase B. Kedua enzim yang berperan pada perubahan fruktosa dan fruktosa-1 fosfat ini tidak dipengaruhi baik oleh insulin maupun status energi pada sel. Akumulasi triose fosfat di hepatosit akan memicu 1) laju konsumsi ATP hepatic yang tinggi pada awal fosforilasi fruktosa, sehingga ketika intake fruktosa tinggi memicu deplesi ATP, pembentukan AMO dan degradasi adenosin menjadi asam urat 2) Akumulasi triose fosfat akan diubah menjadi laktat atau glukosa yang akan dilepas ke sirkulasi (glukoneogenesis) 3) Stimulasi sintesis glikogen 4) Stimulasi sintesis asam lemak dari karbon pada fruktosa melalui jalur metabolik yang dikenal dengan istilah *de novo* lipogenesis (Tappy and Anne Le, 2006).

Peningkatan sintesis asam lemak akibat proses *de novo* lipogenesis menyebabkan akumulasi jaringan adiposa sehingga pada penelitian menunjukkan pertambahan berat badan tikus yang cukup signifikan di akhir penelitian dibandingkan pada awal penelitian. Pelepasan glukosa yang dihasilkan dari proses glukoneogenesis di hati ke sirkulasi darah menyebabkan tikus mengalami hiperglikemia dan memicu terjadinya peningkatan konsentrasi insulin. Kondisi hiperglikemia yang berkepanjangan akan menyebabkan terjadinya desensitisasi dan *down* regulasi reseptor insulin. Hal ini merupakan bentuk pertahanan tubuh untuk melindungi sel dari stimulasi hormon yang berlebihan. Oleh karena GLUT4 berada dalam vesikel kecil di sitoplasma dan dapat distimulasi oleh adanya insulin dan kontraksi otot, maka adanya desensitisasi dan *down* regulasi reseptor insulin ini dapat mengganggu translokasi GLUT4 intraselular menuju membran plasma. Gangguan translokasi GLUT4 ini dapat dikatakan sebagai resisten insulin.

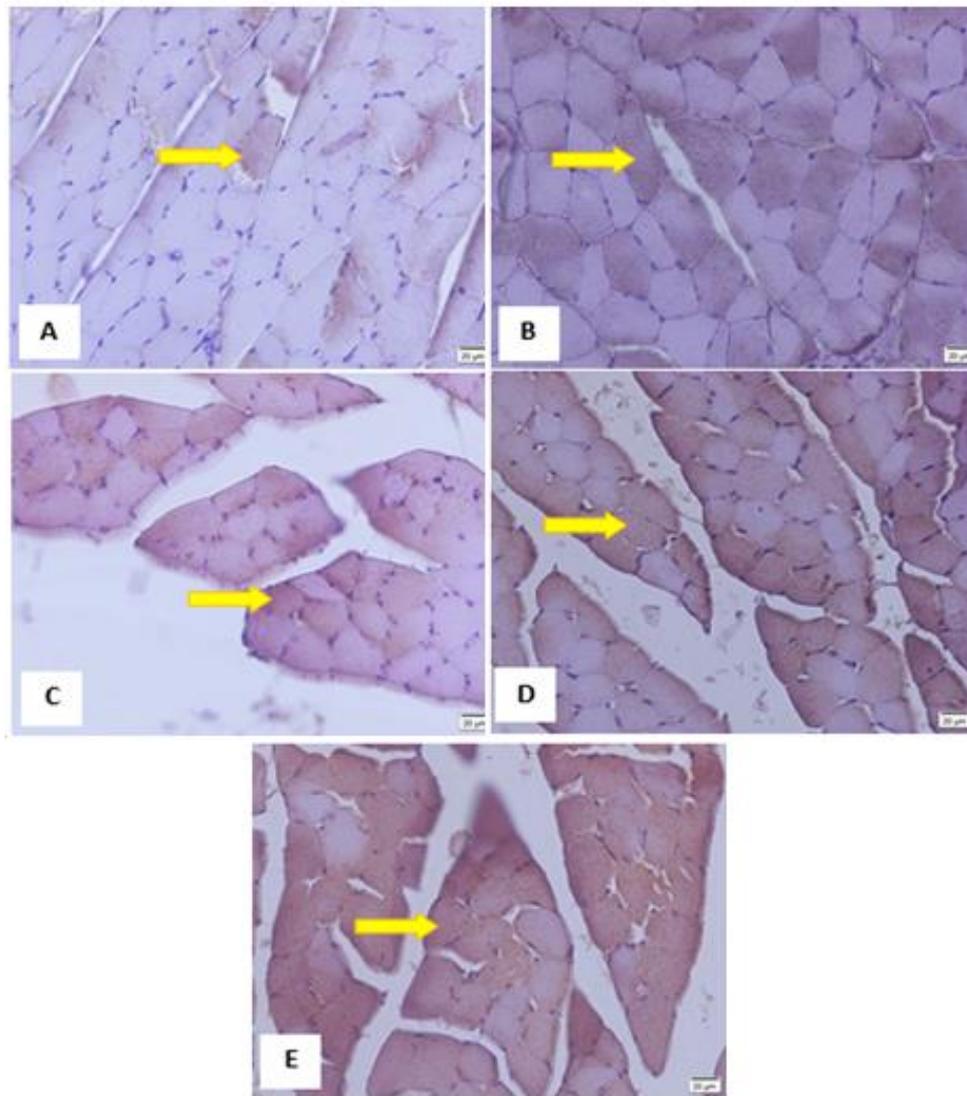
Gambaran imunohistokimia GLUT4 dari jaringan otot rangka tikus menunjukkan bahwa ekspresi GLUT4 pada tikus hiperglikemia (kontrol diabetes) lebih lemah dibandingkan dengan ekspresi GLUT4 pada tikus normal, tikus hiperglikemia yang diberikan terapi ekstrak biji pepaya pada dosis 100 mg, 200 mg dan 300 mg. Pada penelitian ini membuktikan bahwa pemberian induksi fruktosa dalam jangka panjang dapat menyebabkan desensitisasi dan *down* regulasi reseptor insulin ini dapat mengganggu translokasi GLUT4 intraselular menuju membran plasma sel otot rangka sehingga menyebabkan kondisi hiperglikemia. Ekspresi protein GLUT4 di

membran sel otot rangka dapat diketahui melalui pemeriksaan imunohistokimia dengan menggunakan antibodi poliklonal anti GLUT4. Namun sebelumnya sampel di preparasi secara histokimia menggunakan pewarna *hematoxylin-eosin* (HE) untuk mengetahui morfologi jaringan otot gastroknemius tikus. Gambar 1. merupakan foto mikroskopi jaringan otot, tampak seluruh sel otot mengekspresikan protein GLUT4 di membran plasma. Teknik imunohistokimia yang dipakai adalah metode *indirect* dengan prinsip pembentukan ikatan antigen-antibodi. Antigen yang dimaksud adalah protein GLUT4 yang terdapat didalam sel otot gastroknemius, sedangkan antibodi primernya adalah antibodi poliklonal anti GLUT4 dan antibodi sekundernya adalah biotinylated yang sudah diberi label sehingga ikatan antigen-antibodinya dapat dilihat. Hasil positif ditandai dengan bercak coklat pada sitoplasma.

Dari hasil uji komparasi pada penelitian ini dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan bermakna antar kelompok ($p < 0,05$) pada variabel GDP akhir dan ekspresi GLUT4. Hal ini membuktikan bahwa pemberian terapi ekstrak biji pepaya dapat meningkatkan ekspresi GLUT4 pada sel otot rangka sehingga dapat meningkatkan ambilan glukosa masuk ke dalam sel dan menurunkan kadar glukosa darah.

Ekstrak biji pepaya kaya akan kandungan flavonoid dan asam fenolat. Flavonoid dilaporkan dapat meningkatkan ekspresi GLUT4 di otot rangka. Senyawa polifenol terutama asam fenolat dan prosianidin digunakan secara luas sebagai suplemen tambahan pada pasien diabetes. Kaempferitrin meningkatkan ambilan glukosa pada otot soleus tikus. Epigallocatechin-gallate memicu translokasi GLUT4 pada otot rangka secara *in vitro* dan telah diteliti dapat menstimulasi ambilan glukosa melalui jalur yang diperantarai PI3K pada sel otot rangka tikus. Myricetin meningkatkan laju ambilan glukosa tanpa mempengaruhi autofosforilasi reseptor insulin maupun aktivitas tirosin kinase pada reseptor atau translokasi transporter glukosa ke membran plasma. Pemberian myricetin pada tikus diabetik secara terus menerus dapat meningkatkan kadar mRNA GLUT4 dan ekspresi gen GLUT4 pada otot soleus tikus (Unnikrishnan, *et al*, 2014).

Pada penelitian ini, ekspresi GLUT4 dapat diukur melalui metode semikuantitatif *Immunoreactive score* (IRS), yang penentuannya dilakukan dengan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi poliklonal GLUT4, namun metode ini belum sepenuhnya menentukan kuantifikasi ekspresi GLUT4 (Konrad, *et al*. 2002).



Gambar 1. Gambaran imunohistokimia ekspresi GLUT4 pada sel otot rangka dengan perbesaran 400x (A) otot rangka tikus kontrol diabetes/ KD (B) Otot rangka tikus normal/sehat (C) Dosis I (D) Dosis II (E) Dosis III

Berdasarkan uraian tersebut, untuk menentukan ekspresi GLUT4 dapat dilakukan korelasi dengan efek yang dihasilkan dari peningkatan ekspresi GLUT4 yaitu penurunan kadar glukosa darah puasa. Pada penelitian ini dilakukan uji korelasi pearson antara ekspresi GLUT4 dengan kadar glukosa darah puasa akhir. Hasil uji korelasi pearson menunjukkan bahwa nilai $p = 0,001$, artinya terdapat hubungan yang bermakna antara ekspresi GLUT4 dengan kadar GDP akhir. Hasil analisis data ini menunjukkan bahwa protein GLUT4 yang terekspresi pada pewarnaan imunohistokimia merupakan protein GLUT4 yang bertranslokasi ke membran plasma sel otot

rangka sehingga terjadi penurunan kadar glukosa darah pada tikus hiperglikemia hasil induksi diet tinggi fruktosa. Nilai $r = -0,613$ menunjukkan bahwa hubungan antar variabel ekspresi GLUT4 dan kadar GDP akhir cukup kuat dengan arah korelasi negatif. Artinya bahwa semakin tinggi ekspresi GLUT4 maka kadar GDP akhir semakin menurun. Oleh karena itu penelitian ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak biji pepaya dapat meningkatkan ekspresi GLUT4 di sel otot rangka. Untuk mengetahui hubungan pemberian berbagai dosis ekstrak biji pepaya dengan ekspresi GLUT4 dan penurunan kadar GDP, dilakukan uji analisis regresi linier

sederhana. Hasil analisis uji regresi linier sederhana yang disajikan pada tabel 5.11 menunjukkan bahwa nilai p dari pengaruh dosis ekstrak biji pepaya terhadap ekspresi GLUT4 adalah 0,000 (<0,05), artinya pemberian dosis ekstrak biji pepaya memiliki pengaruh yang bermakna terhadap ekspresi GLUT4 dengan arah korelasi positif, yang menunjukkan semakin tinggi dosis ekstrak biji pepaya yang diberikan akan semakin tinggi pula ekspresi GLUT4 yang dihasilkan. Hasil analisis uji regresi linier sederhana yang disajikan pada tabel 5.12 menunjukkan bahwa nilai p dari pengaruh dosis ekstrak biji pepaya terhadap penurunan kadar GDP adalah 0,002 (<0,05), hal ini menunjukkan bahwa dosis ekstrak biji pepaya juga memiliki pengaruh yang bermakna terhadap penurunan kadar GDP dengan arah korelasi positif yang menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis ekstrak biji pepaya yang diberikan akan semakin tinggi pula penurunan kadar GDP yang dihasilkan.

Peran ekstrak biji pepaya dalam meningkatkan ekspresi GLUT4 di sel otot rangka diduga melalui mekanisme aktivitas flavonoid pada respon inflamasi yang meliputi penghambatan pada mediator inflamasi seperti *reactive oxygen species* (ROS) dan *nitric oxide* (NO); meregulasi aktivitas enzim inflamatori meliputi *cyclooxygenases* (COXs) dan *inducible nitric oxide synthase* (iNOS); Menurunkan produksi dan ekspresi pada beberapa sitokin dan memodulasi faktor transkripsi seperti *κ-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF-κB) dan aktivasi protein-1 (AP-1). Respon inflamasi mengakibatkan peningkatan konsentrasi sitokin inflamatori terutama Interleukin 6 (IL-6) (Leyva-Lopez, *et al.*, 2016). IL-6 merupakan sitokin proinflamasi utama yang diproduksi oleh berbagai jaringan meliputi leukosit teraktivasi, adiposit, dan sel endotel. Perubahan konsentrasi IL-6 dapat menggambarkan perubahan pada fungsi adiposit dan merupakan penanda / marker inflamasi sistemik yang sensitif serta dapat dipercaya dan digunakan sebagai identifikasi awal pada pasien obesitas atau non obesitas yang berisiko tinggi terjadi peningkatan insiden DM tipe 2 (Manson, *et al.*, 2001). Penurunan ekspresi IL-6 juga dapat dikorelasikan / dihubungkan dengan adanya perbaikan pada stres oksidatif, yakni perbaikan pada aktivitas SOD dan konsentrasi MDA pada pasien diabetes (Victor, *et al.*, 2014). IL-6 dapat mengaktivasi *Januskinase-signal transducer and Activator of Transcription* (JAK-STAT) dan memicu peningkatan ekspresi *suppressor of cytokine signaling3* (SOCS3) yang dapat mengakibatkan

menurunnya ekspresi GLUT-4 dan IRS-1 di jaringan target yang sensitif terhadap insulin dan memicu resistensi insulin (Chen, Li, *et al.*, 2015).

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak biji pepaya dapat meningkatkan ekspresi GLUT 4 di sel otot rangka tikus model DM tipe II serta terdapat perbedaan pemberian berbagai dosis ekstrak biji pepaya terhadap peningkatan ekspresi GLUT 4 di dalam jaringan otot rangka tikus model DM tipe II

DAFTAR PUSTAKA

- Adeneyea, and Olagunjub. 2009. Preliminary hypoglycemic and hypolipidemic activities of the aqueous seed extract of Carica papaya Linn. in Wistar rats. Nigeria : Biology and Medicine, Vol. 1 (1): 1-10, 2009
- Ang, Yee Kwang, *et al.*, 2012. Antioxidant Potential of Carica Papaya Peel and Seed
- Johnson-Delaney, C., 1996 - Exotic Animal Companion Medicine Handbook for Veterinarians, Zoological Education Network.
- Katzung and Trevor, 2011. Basic & Clinical Pharmacology Thirteenth Edition. San Francisco: McGraw-Hill Education
- Katzung and Trevor, 2015. Basic & Clinical Pharmacology Thirteenth Edition. San Francisco: McGraw-Hill Education
- Mamikutty, N., Thent, Z. C., Sapri, S. R., Sahrudin, N. N., Rafizul, M., Yusof, M., & Suhaimi, F. H. (2014). The Establishment of Metabolic Syndrome Model by Induction of Fructose Drinking Water in Male Wistar Rats, 2014.
- Bioavailability Enhancement. Canada. www.mdpi.com/journal/nutrient
- Unnikrishnan, *et al.*, Antidiabetic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effects of the Flavonoids. India : Elsevier Inc.
- Unnikrishnan, M. K., Veerapur, V., Nayak, Y., & Paul, P. (2013). Chapter 13. Antidiabetic, Antihyperlipidemic and Antioxidant Effects of the Flavonoids. Polyphenols in Human Health and Disease. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398456-2.00013-X>
- Venkateshwarlu, *et al.*, 2013. Evaluation Of Anti Diabetic Activity Of Carica Papaya Seeds On Streptozotocin- Induced Type-II Diabetic Rats. India : Journal of Advanced Scientific Research

Leyva-López, N., Gutierrez-Grijalva, E. P., Ambriz-Perez, D. L., & Basilio Heredia, J. (2016). Flavonoids as cytokine modulators: A possible therapy for inflammation-related diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6). doi:10.3390/ijms17060921

Chen, Li., et al, 2015.Mechanisms Linking Inflammation to Insulin Resistance.China. Hindawi Publishing Corporation International Journal of Endocrinology Volume 2015, Article ID 508409, 9 pages