

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR PUBLIKASI.....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
INTISARI.....	xvii
ABSTRACT.....	xix
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Rumusan Masalah	5
1.3.Tujuan Penelitian.....	6
1.4.Kebaruan Penelitian.....	7
1.5. Manfaat Penelitian.....	9
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1. Tamarillo.....	10
2.2. Ekstraksi.....	11
2.2.1. Metode Ekstraksi Maserasi.....	12
2.2.2. Metode Ekstraksi Sonikasi.....	14
2.3. Antosianin.....	16
2.4. Karotenoid.....	20
2.5. Identifikasi Antosianin dan Karotenoid.....	23
2.5.1. Identifikasi Antosianin Tamarillo	25
2.5.2. Identifikasi Karotenoid Tamarillo	27
2.6. Diabetes.....	28
2.6.1. Diabetes Tipe 2.....	28
2.6.2. Metabolisme pada Diabetes.....	29
2.6.3. Radikal Bebas, Antioksidan dan Stres Oksidatif pada Diabetes.....	34
2.6.4. Diet Terapi untuk Diabetes.....	38
2.6.5. Mekanisme Penurunan Gula Darah pada Diabetes.....	41
2.6.6. Pemodelan Pengujian Diabetes Tipe 2.....	49
2.7. Histopatologi.....	51
2.8. Landasan Teori.....	52
2.9. Hipotesis.....	55
BAB III. METODE	57
PENELITIAN.....	
3.1. Bahan Penelitian.....	57
3.2. Peralatan Penelitian.....	58
3.3. Tempat Penelitian.....	58

3.4. Tahapan Penelitian	59
3.4.1. Tahap I: Analisis Kimia dan Ekstraksi Buah.Tamarillo.....	60
3.4.2. Tahap II: Pengujian <i>In Vitro</i>	67
3.4.3. Tahap III.Pengujian <i>In Vivo</i>	71
3.5. Matrik Hubungan antara Rumusan Masalah, Tujuan, Hipotesis dan Pendekatan Metode Penelitian.....	78
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	80
4.1. Tahap I Komposisi Kimia dan Ekstraksi Buah Tamarillo.....	80
4.1.1. Komposisi Kimia Buah Tamarillo.....	80
4.1.2. Pengaruh Maserasi dan Sonikasi pada Rendemen Ekstrak Etanol dan Ekstrak Aseton Tamarillo	83
4.1.3. Pengaruh Maserasi dan Sonikasi pada Kadar Antosianin Ekstrak Etanol Tamarillo dan Kadar Karotenoid Ekstrak Aseton Tamarillo.....	85
4.1.4. Pengaruh Maserasi dan Sonikasi pada Kadar Fenolik Ekstrak Etanol.....	87
4.1.5. Pengaruh Maserasi dan Sonikasi pada <i>Radical Scavenging Activity</i> (DPPH) Ekstrak Etanol dan Ekstrak Aseton Tamarillo.....	88
4.1.6. Pengaruh Maserasi dan Sonikasi pada <i>Ferric Reducing Antioxidan Power</i> (FRAP) Ekstrak Etanol dan Ekstrak Aseton Tamarillo	90
4.1.7. Pengaruh Maserasi dan Sonikasi pada Jenis Antosianin Tamarillo	92
4.1.8. Pengaruh Maserasi dan Sonikasi pada Jenis Karotenoid Tamarillo	98
4.1.9. Mikrostruktur Permukaan Sel Bahan dan Residu Ekstraksi Maserasi dan Sonikasi	103
4.1.10 Kesimpulan Tahap I	105
4.2. Tahap II. Pengujian <i>In Vitro</i>	106
4.2.1 Persentase Penghambatan Enzim α -Glukosidase dan IC ₅₀ dari Ekstrak Etanol, Ekstrak Aseton Tamarillo dan Campurannya.....	106
4.2.2. Mode Penghambatan Enzim α -Glukosidase dari Ekstrak Etanol, Ekstrak Aseton Tamarillo dan Campurannya	109
4.2.3. Kesimpulan Tahap II	112
4.3. Tahap III. Pengujian <i>In Vivo</i>	112
4.3.1. Konsumsi Pakan, Perubahan Berat Badan dan Efisiensi Pakan Tikus <i>Sprague Dawley</i>	113
4.3.2. Kadar Gula Darah Tikus <i>Sprague Dawley</i>	116
4.3.3. Kadar Insulin, HOMA-IR dan HOMA- β Tikus <i>Sprague Dawley</i>	119
4.3.4. Kadar <i>Glucose Transpoter 4</i> (GLUT4) Tikus <i>Sprague Dawley</i>	124
4.3.5. Kadar Malondialdehid (MDA) Tikus <i>Sprague Dawley</i>	127

4.3.6. Kadar Superoksida Dismutase (SOD) Tikus <i>Sprague Dawley</i>	129
4.3.7. Histopatologi Pankreas Tikus <i>Sprague Dawley</i>	131
4.3.8. Dugaan Mekanisme Antosianin dari Ekstrak Etanol dan Karotenoid dari Ekstrak Aseton Tamarillo sebagai Penurun Gula Darah pada Tikus <i>Sprague Dawley</i> Diabetes Induksi STZ-NA.....	134
BAB V. KESIMPULAN.....	137
5.1. Kesimpulan.....	137
5.2. Saran.....	138
RINGKASAN.....	139
SUMMARY.....	149
DAFTAR PUSTAKA.....	158
LAMPIRAN.....	175

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 1.1.	Penelitian tamarillo sebelumnya dan kebaruan penelitian.	8
Tabel 2.1.	Komposisi kimia buah tamarillo dari peneliti sebelumnya	11
Tabel 3.1.	Formula pengujian penghambatan enzim α -glukosidase..	69
Tabel 3.2.	Kelompok tikus percobaan.....	72
Tabel 3.3.	Formula pakan standar AIN-93 M.....	74
Tabel 3.4.	Matrik hubungan perumusan masalah, tujuan, hipotesis dan pendekatan metode penelitian.....	78
Tabel 4.1.	Komposisi kimia buah tamarillo.....	80
Tabel 4.2.	Data m/z dan jenis antosianin tamarillo dari metode ekstraksi maserasi dan sonikasi.....	94
Tabel 4.3.	Data m/z dan jenis karotenoid tamarillo dari metode ekstraksi maserasi dan sonikasi.....	101
Tabel 4.4.	Persentase penghambatan α -glukosidase dan persentase . perbandingan penghambatan dengan acarbose oleh ekstrak etanol (EE), ekstrak aseton (EA) tamarillo dan campurannya (CEEA).....	106
Tabel 4.5.	Efisiensi pakan tikus <i>Sprague Dawley</i> setelah intervensi 28 hari.....	115
Tabel 4.6.	Kadar insulin tikus <i>Sprague Dawley</i> setelah intervensi 28 hari.....	120
Tabel 4.7.	HOMA-IR dan HOMA- β tikus <i>Sprague Dawley</i> setelah intervensi 28 hari.....	122
Tabel 4.8.	Kadar GLUT4 tikus <i>Sprague Dawley</i> setelah intervensi 28 hari.....	126
Tabel 4.9	Kadar MDA serum dan pankreas tikus <i>Sprague Dawley</i> setelah intervensi 28 hari.....	128
Tabel 4.10.	Kadar SOD serum dan pankreas tikus <i>Sprague Dawley</i> setelah intervensi 28 hari.....	130

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1. Buah tamarillo varietas merah dan bagian buah	10
Gambar 2.2. Fenomena sonikasi pada ekstraksi komponen bioaktif (Medina-torres <i>et al.</i> , 2017)	15
Gambar 2.3. Struktur kimia antosianin dan enam aglikonnya (antosianidin) (Sancho & Pastore, 2012).....	17
Gambar 2.4. Metabolisme, penyerapan, sirkulasi, dan sekresi antosianin (Fernandes <i>et al.</i> , 2014).....	20
Gambar 2.5. Struktur kimia karotenoid (Eldahshan <i>et al.</i> , 2013).....	22
Gambar 2.6. Struktur kimia: A) <i>delpinidin 3-rutinoside</i> ; B) <i>pelargonidin 3-rutinoside</i> ; C) <i>cyanidin 3-rutinoside</i> (www.chemspider).....	26
Gambar 2.7. Gangguan sintesis glikogen akibat gangguan GLUT4 dan enzim hexokinase II pada otot skeletal (Shulman, 2000)...	31
Gambar 2.8. Mekanisme resistensi insulin akibat akumulasi lemak yang menimbulkan gangguan GLUT4 (Shulman, 2000).....	32
Gambar 2.9. Gangguan insulin pada diabetes tipe 2 (Merentek, 2006)...	34
Gambar 2.10. Struktur kimia malondialdehid (MDA)	36
Gambar 2.11. Struktur kimia enzim superoksida dismutase (SOD).....	37
Gambar 2.12. Hubungan radikal bebas, stres oksidatif dan antioksidan pada kondisi hiperglikemia diabetes (Monroy & Fernandez, 2013).....	38
Gambar 2.13. <i>Lineweaver Burk</i> plot pada beberapa mode penghambatan enzim α -glukosidase: A) kompetitif inhibitor; B) nonkompetitif inhibitor; C) unkompetitif inhibitor; D) mixed inhibitor (Illanes, 2008).....	44
Gambar 2.14. Mekanisme penghambatan enzim α -glukosidase oleh acarbose (Bischoff, 1994).....	45
Gambar 2.15. Mekanisme sistem antioksidan dalam tubuh (Finosh & Jayabalan, 2013).....	47
Gambar 2.16. Kerangka berpikir penelitian potensi ekstrak etanol dan ekstrak aseton tamarillo sebagai penurun gula darah pada tikus <i>Sprague Dawley</i> diabetes induksi STZ-NA.....	55
Gambar 3.1. <i>Fishbone</i> diagram tahapan penelitian.....	60
Gambar 3.2. Diagram alir analisis komposisi kimia buah tamarillo.....	61
Gambar 3.3. Diagram alir ekstraksi metode maserasi dan sonikasi pada pelarut etanol.....	64
Gambar 3.4. Diagram alir ekstraksi metode maserasi dan sonikasi pada pelarut aseton	65
Gambar 3.5. Diagram alir pengujian penurunan gula darah oleh ekstrak tamarillo (EE, EA dan CEEA) dan kontrol pada tikus <i>Sprague Dawley</i>	77
Gambar 4.1. Rendemen ekstrak etanol (EE) dan ekstrak aseton (EA) metode ekstraksi maserasi dan sonikasi; huruf berbeda di	83

	belakang angka di atas diagram batang pada jenis ekstrak yang sama menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$).....	
Gambar 4.2.	Kadar antosianin ekstrak etanol (EE) dan kadar karotenoid ekstrak aseton (EA) metode ekstraksi maserasi dan sonikasi; huruf berbeda di atas diagram batang pada jenis ekstrak yang sama menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$) ...	86
Gambar 4.3.	Kadar total fenolik ekstrak etanol (EE) metode ekstraksi maserasi dan sonikasi; huruf berbeda di atas diagram batang menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$	87
Gambar 4.4.	Persentase <i>free radical scavenging activity</i> (RSA) ekstrak etanol (EE), ekstrak aseton (EA) metode ekstraksi maserasi dan sonikasi serta standar vitamin C dan Trolox; huruf berbeda di atas diagram batang pada jenis ekstrak yang sama menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$	88
Gambar 4.5.	<i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i> (FRAP) ekstrak etanol (EE) ekstrak aseton (EA) pada maserasi dan sonikasi; huruf berbeda di atas diagram batang pada jenis ekstrak yang sama menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$	91
Gambar 4.6.	Kromatogram UPLC ekstrak etanol tamarillo: (A) metode maserasi dan (B) metode sonikasi; lingkaran pada kromatogram merupakan kromatogram yang hanya dapat dideteksi pada sonikasi	93
Gambar 4.7	Kromatogram UPLC ekstrak aseton maserasi: A) puncak kromatogram; B) waktu retensi (RT), luas area (AA) dari m/z 537 C) waktu retensi, luas area dari m/z 601 D) waktu retensi, luas area dari m/z 585; E) waktu retensi, luas area dari m/z 553; F) waktu retensi, luas area dari m/z 569.....	99
Gambar 4.8.	Kromatogram UPLC ekstrak aseton sonikasi: A) puncak kromatogram; B) waktu retensi (RT), luas area (AA) dari m/z 537 C) waktu retensi, luas area dari m/z 601 D) waktu retensi, luas area dari m/z 585; E) waktu retensi, luas area dari m/z 553; F) waktu retensi, luas area dari m/z 569.....	100
Gambar 4.9.	Mikrostruktur permukaan sel 1000 x bahan kering tamarillo; A) bahan ekstraksi dengan pelarut etanol ; B) residu maserasi pelarut etanol; C) residu sonikasi pelarut etanol; D) bahan baku ekstraksi dengan pelarut aseton; E) residu maserasi pelarut aseton C) residu sonikasi pelarut aseton	104
Gambar 4.10.	Nilai IC_{50} penghambatan enzim α -glukosidase dari acarbose, ekstrak etanol (EE), ekstrak aseton (EA) tamarillo dan campurannya (CEEA); huruf yang berbeda di atas diagram batang menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)	109
Gambar 4.11.	Mode penghambatan enzim α -glukosidase berdasarkan <i>Lineweaver-Burk</i> antara tanpa inhibitor dengan : A)	110

	kontrol obat acarbose (KO); B) ekstrak etanol (EE); C) ekstrak aseton (EA); D) campurannya (CEEA).....	
Gambar 4.12.	Konsumsi pakan tikus <i>Sprague Dawley</i> (A); berat badan tikus <i>Sprague Dawley</i> (B) selama intervensi 28 hari pada kontrol sehat (KOS), kontrol negatif (KON), kontrol positif (KOP), diabetes, ekstrak etanol (DEE), diabetes, ekstrak aseton (DEA) dan diabetes, ekstrak campurannya (DCEEA).....	114
Gambar 4.13.	Kadar gula darah tikus <i>Sprague Dawley</i> pada kontrol sehat (KOS), kontrol negatif, diabetes (KON), kontrol positif, diabetes obat metformin (KOP), diabetes, ekstrak etanol (DEE), diabetes, ekstrak aseton (DEA) dan diabetes, ekstrak campurannya (DCEEA) pada akhir adaptasi, awal intervensi dan akhir intervensi: huruf berbeda pada setiap kelompok perlakuan dan diantara kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan signifikan ($p < 0,05$), $n=5$	117
Gambar 4.14.	Gambaran histopatologi pulau Langerhans pankreas tikus <i>Sprague Dawley</i> perbesaran 400 kali pada perlakuan: (A) kontrol sehat/KOS ; (B) Kontrol negatif/KON; (C) kontrol positif/KOP; (D) diabetes, ekstrak etanol/DEE; (E) diabetes, ekstrak aseton/DEA; (F) diabetes, ekstrak campurannya/DCEEA.....	132
Gambar 4.15.	Usulan mekanisme penurunan gula darah oleh antosianin EE atau karotenoid EA tamarillo pada tikus <i>Sprague Dawley</i> diabetes induksi STZ-NA: angka dalam kurung menunjukkan letak penjelasan pada sub bab penelitian (sebagai validasi).....	136

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Prosedur analisis parameter penelitian	175
Lampiran 1.1. Analisis kadar air (AOAC, 1995)	176
Lampiran 1.2. Analisis kadar abu (AOAC, 1995)	177
Lampiran 1.3. Analisis kadar lemak (AOAC, 1995).....	177
Lampiran 1.4. Analisis kadar protein (AOAC, 1995).....	178
Lampiran 1.5. Analisis kadar karbohidrat (<i>by difference</i>).....	178
Lampiran 1.6. Analisis serat pangan (Asp <i>et al.</i> 1983).....	179
Lampiran 1.7 Analisis vitamin C (AOAC, 1995).....	180
Lampiran 1.8. Penentuan rendemen (Annegowda <i>et al.</i> 2012).....	181
Lampiran 1.9. Analisis kadar antosianin (Giusti & Wrolstad, 2001).....	181
Lampiran 1.10. Analisis kadar karotenoid (Kurniawan <i>et al.</i> 2010).....	182
Lampiran 1.11. Analisis kadar fenolik (Singleton & Rossi 1985).....	182
Lampiran 1.12. Analisis aktivitas antioksidan (DPPH) dan IC ₅₀ (Blois, 1958)	183
Lampiran 1.13. Analisis aktivitas antioksidan (FRAP) (Benzie & Strain, 1996)	184
Lampiran 1.14. Identifikasi antosianin tamarillo (UPLC-MS) (Liao <i>et al.</i> 2013).....	185
Lampiran 1.15. Identifikasi karotenoid tamarillo (UPLC-MS) (Breemen <i>et al.</i> 1997)	185
Lampiran 1.16. Analisis morfologi struktur permukaan sel bahan dan residu dengan SEM (Altemimi <i>et al.</i> , 2016)	186
Lampiran 1.17. Pengukuran berat badan, konsumsi pakan dan efisiensi pakan tikus <i>Sprague Dawley</i>	187
Lampiran 1.18. Pengujian gula darah serum tikus <i>Sprague Dawley</i> (GOD-PAP kit)	188
Lampiran 1.19. Pengujian kadar insulin serum tikus <i>Sprague Dawley</i> (ELISA kit).....	188
Lampiran 1.20. Perhitungan HOMA-IR dan HOMA- β tikus <i>Sprague Dawley</i> (Onishi <i>et al.</i> , 2010)	190
Lampiran 1.21. Pengujian kadar <i>glucosa transporter 4</i> (GLUT4) tikus <i>Sprague Dawley</i> (ELISA kit).....	190
Lampiran 1.22. Pengujian kadar malondialdehid (MDA) serum dan pankreas tikus <i>Sprague Dawley</i> (ELISA kit).....	191
Lampiran 1.23. Pengujian kadar enzim superoksida dismutase (SOD) serum dan pankreas tikus <i>Sprague Dawley</i> (ELISA kit)	192
Lampiran 1.24. Pengujian histopatologi pankreas tikus <i>Sprague Dawley</i> (pewarnaan HE).....	193
Lampiran 2. Kode etik penelitian dengan hewan coba.....	195
Lampiran 3. Data hasil statistika dengan SPSS.....	196
Lampiran 3.1. Komposisi kimia buah tamarillo.....	196
Lampiran 3.2. Rendemen, kadar antosianin, total fenolik, %RSA (DPPH) dan FRAP ekstrak etanol tamarillo.....	196

Lampiran 3.3.	Rendemen, kadar karotenoid, %RSA (DPPH) dan FRAP ekstrak aseton tamarillo.....	197
Lampiran 3.4.	Hasil analisis <i>in vitro</i> : persentase penghambatan α -glukosidase dari ekstrak etanol, ekstrak aseton tamarillo dan campurannya	198
Lampiran 3.5.	Hasil analisis data tahap III (<i>in vivo</i>) pada konsumsi pakan, perubahan berat badan dan efisiensi pakan tikus <i>Sprague Dawley</i>	198
Lampiran 3.6.	Hasil analisis data tahap III (<i>in vivo</i>) pada gula darah masa adaptasi, awal intervensi dan akhir intervensi, kadar insulin, HOMA-IR, HOMA- β , kadar GLUT4, kadar MDA serum dan pankreas, kadar SOD serum dan pankreas akhir intervensi pada tikus <i>Sprague Dawley</i>	200
Lampiran 3.7.	Bahan, ekstrak dan residu dari ekstraksi dengan aseton dan etanol tamarillo	204

DAFTAR SINGKATAN

SD	: <i>Sprague Dawley</i>
STZ-NA	: <i>Streptozotocin–nicotinimide</i>
NIDDM	: <i>Non Insuline Dependent Diabetes Millitus</i>
EE	: Ekstrak Etanol
EA	: Ekstrak Aseton
CEEA	: Campuran Ekstrak Etanol Aseton
DPPH	: <i>1.1-diphenyl-2-picryl hydrazyl</i>
FRAP	: <i>Ferric Reducing Antioxidant Power</i>
UPLC-MS	: <i>Ultra Higih Performance Liquid Chormatography. Mass Spectrometer</i>
SEM	: <i>Scanning Electron Microscope</i>
PNPG	: <i>p-nitrophenyl α-D-glucopiranoze</i>
DMSO	: <i>Dimethyl sulfoxide</i>
ANOVA	: <i>Analysis of Variance</i>
DMRT	: <i>Duncan Multiple Range Test</i>
AAE	: Asam Askorbat Equivalen
KOS	: Kontrol Sehat
KON	: Kontrol Negatif
KOP	: Kontrol Positif
DEE	: Diabetes Ekstrak Etanol
DEA	: Diabetes Ekstrak Aseton
DCEEA	: Diabetes Campuran Ekstrak Etanol Aseton
BB	: Berat badan
BW	: <i>Body weight</i>
HOMA-IR	: <i>Homeostatic model assesment of insuline resistance</i>
HOMA- β	: <i>Homeostatic model assesment of β cell function</i>
GLUT4	: <i>Glucose Transpoter-4</i>
MDA	: Malondialdehid
SOD	: Suproksida Dismutase
GOD PAP	: <i>Glukosa Oksidase-Phenol Amino Peroksidase</i>
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>