

**LAPORAN AKHIR
PENELITIAN DASAR UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**

**KAJIAN AKTIVITAS ANTI-DIABETIK EKSTRAK ETANOL BUAH PARE
(MOMORDICA CHARANTIA L) DAN POTENSI SEBAGAI OBAT HERBAL
UNTUK DIABETES MELLITUS**



OLEH

Dr. Roni Yuliwar, S. Kep, Ns, M. Ked

NIDN. 4011077001

Dr. Heny Astutik, S. Kep, Ns, M.Kes

NIDN. 4021066901

Apt Nurma Sabila S.Farm, M.S.Farm

NIDN. 4011109101

**KEMENTERIAN KESEHATAN RI
POLTEKKES KEMENKES MALANG
2024**

**HALAMAN PENGESAHAN
PENELITIAN PDUPT**

Judul : Kajian Aktivitas Anti-Diabetik Ekstrak Etanol Buah Pare (Momordica Charantia L) dan Potensi Sebagai Obat Herbal Untuk Diabetes Mellitus

Kode>Nama Rumpun Ilmu : Biomedik

Peneliti :

a. Nama Lengkap : Dr. Roni Yuliwar, S, Kep, Ns, M. Ked
b. NIDN : 4011077001
c. Jabatan Fungsional : Lektor
d. Program Studi : D III Teknologi Bank Darah
e. Nomor HP : 089680812676
f. Alamat email : r.yuliwar@gmail.com

Anggota Peneliti (1) :

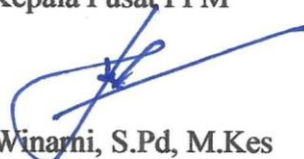
a. Nama Lengkap : Dr. Heny Astutik, S.Kep., Ns, M.Kes
b. NIDN : 4021066901
c. Program Studi : Sarjana Terapan Kebidanan Malang
d. Perguruan Tinggi : Poltekkes Kemenkes Malang

Anggota Peneliti (2) :


a. Nama Lengkap : Apt. Nurma Sabila S.Farm, M.S.Farm
b. NIDN : 4021066901
c. Program Studi : D III Anafarma
d. Perguruan Tinggi : Poltekkes Kemenkes Malang

Lama Penelitian Keseluruhan : Dua (2) tahun
Usulan Penelitian Tahun ke- : Satu (1)
Biaya Penelitian Keseluruhan : Rp. 80.000.000,-
Biaya Penelitian :
- Diusulkan ke Poltekkes : Rp. 80.000.000,-
- Dana institusi lain : -

Mengetahui,
Kepala Pusat PPM


Sri Winarni, S.Pd, M.Kes
NIP.196410161986032002

Malang, November 2024
Ketua,


Dr. Roni Yuliwar, S.Kep.Ns, M.Ked
NIP.197007111994031002

Mengesahkan,
Direktur Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang



Dr. Moh Wildan, A.Per.Pen, M.Pd
NIP.196804211988031001

RINGKASAN

Kasus DM di Indonesia terus meningkat, perlu pengembangan penemuan kandidat obat DM dari herbal secara terus menerus. Buah pare (*Momordica charantia* L), merupakan salah satu buah tanaman herbal, mempunyai potensi sebagai antidiabetes, termasuk dalam tanaman keluarga cucurbitaceae (5). Buah Pare merupakan buah yang tidak asing dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia dalam nutrisi sehari-hari, dan mempunyai potensi sebagai agent untuk menurunkan glukosa darah pada kondisi hiperglikemik dan sudah ada pengalaman empiris yang dirasakan oleh masyarakat terkait potensi anti hiperglikemik tersebut. Namun perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas biomolekuler buah pare dalam menurunkan glukosa darah sehingga diperoleh konsep mekanisme yang jelas terhadap penurunan glukosa darah tersebut.

Tujuan penelitian adalah menganalisis aktivitas anti-diabetik ekstrak etanol 96% buah pare dalam bentuk peningkatan sensitifitas reseptor insulin pada sel otot hewan coba secara insilico dan invivo.

Penelitian ini direncanakan dilaksanakan dalam jangka waktu 2 (dua) tahun yaitu: 1) Tahun I (Th 2024): Studi in silico docking dan networking fitokimia buah pare (MC) dan analisis ekspresi GLP-1R, IRS-1 dan GLUT4 (melalui metode imunohistokimia (IHC)) di dalam sel otot serta analisis Glukosa Darah Puasa dan kadar insulin plasma darah hewan coba diabetes mellitus setelah pemberian ekstrak etanol 96% buah pare (secara in vivo).

Pengambilan data in vivo dilakukan dengan pemeriksaan histopatologi sel otot tikus putih dan pemeriksaan imunohistokimia untuk menghitung jumlah ekspresi reseptor GLP-1R, IRS-1 dan GLUT4 yang berperan dalam meningkatkan uptake glukosa dalam kondisi resistensi insulin. Data diolah dan dianalisis dengan uji statistik dan secara komputasi.

Luaran penelitian ini adalah diperolehnya hasil penelitian yang akan diseminarkan dalam kegiatan konferensi internasional dan dipublikasikan dalam prosiding internasional ber ISBN. Hasil penelitian diharapkan dapat memperkuat hasil penelitian sebelumnya yang bahan perlakuannya adalah buah pare dalam bentuk isolasi senyawa bioaktif, sedangkan dalam proposal penelitian ini menggunakan bahan buah pare dalam bentuk ekstrak etanol yang mempunyai fitokimia yang lengkap.

Pada penelitian tahun ke I ini, target TKT yang diusulkan adalah TKT III, dimana pada tahap pertama direncanakan mencapai TKT 2 sehingga hasil penelitian ini diharapkan terus dikembangkan hingga diperolehnya suatu produk bahan baku obat Diabetes Mellitus.

Berdasarkan hasil uji in-silico didapatkan hasil: (1) Hasil uji LCMS ditemukan 82 senyawa aktif fitokimia buah pare, Dimana dari 82 senyawa tersebut ditemukan 24 senyawa (29%) yang tidak bisa diserap ke dalam tubuh manusia berdasarkan uji Lipinski dan 28 senyawa (34%) yang bersifat toksik; (2) Berdasarkan penelusuran menggunakan database terdapat 302 protein yang berasosiasi dengan T2DM, dan 412 protein yang diprediksi dapat ditarget oleh MC ditemukan 22 protein yang dapat ditarget oleh fitokimia buah pare (MC) dan terlibat dalam patogenesis DM tipe 2 (T2DM); (3) Vanilic acid, caffeic acid, dan ferulic acid adalah top 3 senyawa yang mampu berinteraksi dengan interactor protein interest; (4) Target MC yaitu STAT1, NFE2L2, TERT, JUN, EP300, CDC42, STAT3, ESR1, PIK3R1, IKBKG, RHOA, HIF1A, NR4A1, FGF2, HSPA5, CREB1, RAF1, MYC, dan GADPH dapat berinteraksi dengan AKT1; (5) Target MC yaitu ESR1, PIK3R1, IKBKG, FYN, PTPN11, EGFR, dan PTPN1 dapat berinteraksi dengan IRS1; (6) SLC5A2, PTPRC, dan IGF2R target MC memfasilitasi interaksi dengan DPP4; (7) GNB1, SLC5A2, dan GNG2 memfasilitasi interaksi dengan GLP1R; (8) AKT1 adalah protein yang paling banyak berinteraksi dengan target MC, disusul dengan IRS1, dan GLP1R & DPP4. AKT1 memiliki nilai degree (20), closeness centrality (0.85), dan closeness centrality (0.90).

Berdasarkan uji in-vivo, (1) Rerata berat badan tikus hari ke 28 setelah pemberian diit tinggi lemak pada kelompok P1 s/d P3 terlihat semua mengalami peningkatan rata-rata berat badan yang signifikan; (2) Rerata GDP post STZ pada hari ke 9 pada kelompok P1 s/d P3 terlihat semua tikus hewan coba mengalami diabetes dengan GDP > 200 mg/dl. (3) Rerata kadar insulin darah tikus pada kelompok P2 s/d P3 meningkat (berbeda bermakna) dengan kelompok P1 (tikus sakit); (4) GDP tikus setelah 28 hari perlakuan pada kelompok P2 lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok P1 (tikus sakit) namun penurunan GDP tersebut belum mencapai angka < 200 mg/dl dan tidak berbeda signifikan secara statistik dari angka GDP pada tikus kelompok P1.

Kata kunci: *Momordica charantia* L.; GLP-1R; IRS-1; GLUT4, GDP

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena atas rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan laporan Penelitian Dasar Unggulan Perguruan Tinggi (PDUPT) ini dengan baik. Laporan ini disusun sebagai bukti telah selesainya penelitian yang telah dilakukan.

Dalam kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih atas bantuan dan arahan yang telah diberikan kepada kami sehingga dapat terselesaikannya laporan penelitian ini, terutama kepada :

1. Pihak Kementerian Kesehatan RI di Jakarta karena melalui Program Penelitian Simlitabkes telah menyediakan dana dalam pelaksanaan penelitian ini.
2. Dr. Moh Wildan, A.Per.Pen, M.Pd selaku Direktur Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Malang
3. Sri Winarni, S.Pd.,M.Kes selaku Kanit Litmas Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang,
4. Tanto Hariyanto, S.Kep, Ns, M.Biomed selaku Ketua Jurusan Anafarma Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Malang.
5. Semua pihak yang telah memberikan dorongan dan bantuan selama penyusunan laporan ini.

Penulis berharap semoga laporan penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan masukan atau referensi bagi Institusi Pendidikan Kesehatan dalam rangka pengembangan ilmu pengetahuan. Penulis menyadari kekurangan laporan ini untuk itu saran dan kritik diperlukan untuk perbaikan laporan penelitian ini.

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Sampul Depan	i
Halaman Pengesahan.....	ii
RINGKASAN.....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	1
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	2
BAB 3 TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN.....	5
BAB 4 METODE PENELITIAN.....	6
4.1 Studi Insilico.....	6
4.2.Studi Invivo.....	8
BAB 5 HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI.....	11
5.1 Hasil Uji In-Silico.....	11
5.2.Hasil Uji In-Vivo.....	15
5.3 Luaran yang Dicapai.....	19
BAB 6 RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA.....	20
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN.....	21
Daftar Pustaka.....	22
Lampiran.....	23

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 5.1 Hasil Uji LCMS ekstrak etanol 96% buah pare.....	11
Gambar 5.2. Diagaram Venn Asosiasi target Momordica Charantia L (MC) dan DM tipe 2 (T2DM).....	12
Gambar 5.3 Protein interaction target MC, compounds MC dengan T2DM.....	13
Gambar 5.4. Protein protein interaction MC dengan T2DM.....	13
Gambar 5.5. Bubble plot functional enrichment target MC	15

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 5.1 Analisis Centralitas PPI Network interaction MC dengan T2DM	14
Tabel 5.2 Data analisis Berat Badan tikus post adaptasi pada kelompok P0 s/d P3.....	16
Tabel 5.3 Data analisis Berat Badan tikus post diit tinggi lemak pada kelompok P1 s/d P3.....	16
Tabel 5.4 Data analisis GDP non dan post STZ hari ke 9 pada kelompok P0 s/d P3.....	17
Tabel 5.5 Data analisis Kadar Insulin darah Tikus pada kelompok P0 s/d P3.....	18
Tabel 5.6 Data analisis GDP tikus setelah 28 hari perlakuan pada kelompok P0 s/d P3.....	18

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Hasil Uji LCMS ekstrak etanol 96% buah pare.....	25
Lampiran 2. Hasil uji prediksi fitokimia buah pare yang tidak bisa diserap tubuh.....	29
Lampiran 3 Hasil uji prediksi fitokimia buah Pare yang bersifat toksik.....	30
Lampiran 4. Data BB post adaptasi.....	31
Lampiran 5. Data BB post diit tinggi lemak.....	33
Lampiran 6. Data GDP non STZ dan post STZ hari ke 9	35
Lampiran 7. Data kadar insulin setelah 28 hari perlakuan	38
Lampiran 8. Data GDP non STZ dan post STZ hari ke 28	41
Lampiran 9. LOA Artikel untuk oral presentasi dan preeceding	44
Lampiran 10. Dokumentasi penelitian.....	46

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Laporan dari International Diabetes Federation (IDF) tahun 2021 menjelaskan negara Indonesia me-nempati urutan ke 5 dari 10 besar negara terbanyak penderita DM di dunia. Indonesia mempunyai jumlah penderita DM pada usia 20- 79 tahun yaitu 19,465,100 orang (10,8%) dengan jumlah penduduk pada tahun 2021 tersebut adalah 273.879.750 jiwa (1). Diabetes Mellitus (DM) merupakan penyakit metabolik dengan karakteristik utama hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya (2). Kondisi hiperglikemia dapat diturunkan dengan memperbaiki produksi insulin (pada DM tipe 1) atau memperbaiki resistensi insulin (pada DM tipe 2).

Pemberian obat-obatan farmakologis untuk penderita DM telah berkembang pesat namun masih menimbulkan efek samping pada penderita terutama yang mengkonsumsi obat oral diabet dalam waktu yang lama (3). Secara empiris masyarakat Indonesia telah lama mengkonsumsi buah pare sebagai terapi alternatif penurun glukosa darah (4). Buah pare (*Momordica charantia* L), merupakan salah satu buah tanaman herbal, mempunyai potensi sebagai antidiabetes, termasuk dalam tanaman keluarga cucurbitaceae (5). Namun perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas biomolekuler buah pare dalam menurunkan glukosa darah sehingga diperoleh konsep mekanisme yang jelas terhadap penurunan glukosa darah tersebut.

Penelitian sebelumnya terbukti buah pare dalam bentuk ekstrak etanol mampu meningkatkan ekspresi glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R) sel β pankreas, meningkatkan ekspresi jumlah sel β pankreas dan menurunkan glukosa darah puasa (GDP) secara signifikan, namun tidak terbukti meningkatkan sekresi insulin dalam darah, sehingga diduga mekanisme penurunan glukosa darah dari pemberian ekstrak etanol buah pare melalui peningkatan sensitifitas reseptor insulin di sel tubuh (6).

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah penelitian: Apakah ekstrak etanol 96% buah pare mempunyai aktivitas anti-diabetik dalam bentuk peningkatan sensitifitas reseptor insulin pada sel otot hewan coba?

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman pare (peria) dengan nama latinnya yaitu *Momordica charantia* L (MC), yang juga dikenal sebagai bitter melon (BM) atau bitter gourd (BG), labu pahit, balsam pir, dan karela termasuk anggota keluarga cucurbitaceae. Nama *Momordica* yang melekat pada nama binomial-nya berarti "gigitan" yang mengacu pada daun tanaman yang bergerigi menyerupai bekas gigitan. Buah pare merupakan salah satu buah yang biasanya dikonsumsi sebagai sayuran di wilayah Asia, India, Afrika Timur, dan Amerika Selatan (7). Tanaman ini merupakan tanaman asli dari India Timur dan banyak ditanam dan dimakan di daerah tropis, subtropis, dan daerah bersuhu sedang. Buah pare berwarna hijau muda dengan bentuk kerucut panjang; rasanya pahit tetapi populer karena berbagai manfaatnya (8).

Buah pare (MC) mengandung bermacam zat nutrisi seperti protein, karbohidrat, fenolik acid, minyak esensial, vitamin A dan C, zat besi, kalsium, magnesium, alkaloid, quinine, asam amino, asam lemak, dan bahan bioaktif lainnya (9). Ada banyak nutrisi dalam tanaman ini, penelitian tentang MC, ditemukan banyak fitokimia antara lain saponin, polisakarida, triterpen, flavonoid, asam askorbat, dan steroid (10). Selain itu, beberapa karakteristik biologis juga telah dikonfirmasi, seperti antioksidan, hipoglikemik, antitumor, dan antibakteri (11). Berdasarkan analisis fitokimia dengan metode LCMS diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol 96% buah pare yang berasal dari Desa Belung Poncokusumo Kab Malang Jawa Timur mengandung 82 macam senyawa bioaktif. Komposisi keseluruhan kandungan zat-zat aktif adalah sebagai berikut: senyawa terpenoid-triterpenoid 81,78%, phenolic 14,44%, golongan saponin 9,847%, flavonoid 3,95%, sterol 2,47%, alkaloid 0,46%, fatty 0,94% dan lainnya 3,63%. Selanjutnya pada golongan senyawa saponin ditemukan adanya charantin dan goyasaponin, pada golongan senyawa terpenoid ditemukan adanya senyawa cucurbitacin A, cucurbitacin B, kuguacin, charantoside, karavilagenin dan momordicoside selanjutnya pada golongan senyawa phenolic ditemukan adanya senyawa gallic acid, caffeic acid dan catechin, sedangkan pada golongan senyawa flavonoid ditemukan adanya senyawa kaempferol dan quercetin (6).

Charantin yang termasuk senyawa saponin dan kelompok senyawa triterpenoid: cucurbitacin, momordicosides D dan kuguacin H, berpotensi meningkatkan ekspresi dan sekresi hormon Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1). Charantin berikatan dengan enzim

Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) sebagai inhibitor di dalam sel L mukosa usus sehingga GLP-1 tidak cepat terurai. Cucurbitacine langsung menembus sel mukosa usus untuk berikatan dengan Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) karena mempunyai nilai ikatan H dan interaksi hidropobic yang tertinggi sehingga GLP-1 menjadi meningkat ekspresinya sedangkan momordicosides D dan kuguacin H berfungsi sebagai molekul ligan yang berikatan dengan Takeda-G-Protein-Receptor-5 (TGR-5) dimana senyawa TGR5 ini diaktifkan fungsinya oleh asam empedu yang berfungsi meningkatkan sekresi hormon GLP-1 (12).

GLP-1 merupakan hormon peptida-terdiri dari 31 asam amino-yang dihasilkan oleh sel L mukosa usus halus bila ada makanan yang masuk ke dalam saluran pencernaan terutama makanan jenis karbohidrat dan lemak (13). Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) adalah hormon incretin yang berperan mengontrol sekresi insulin, glukagon, dan somatostatin untuk memfasilitasi pengolahan glukosa dalam sel dan juga meningkatkan proliferasi dan survival sel β pankreas pada hewan coba (14). Peningkatan ekspresi dan sekresi GLP-1 menyebabkan jumlah GLP-1 yang berikatan dengan GLP-1R juga menjadi meningkat. GLP-1R secara luas tereksresi di berbagai jaringan seperti islet pankreas, saluran pankreas, ginjal, paru, jantung, kulit, otot, sel imun, sistem saraf sentral dan perifer, hipotalamus, hippocampus, dan korteks (15).

GLP-1 berikatan dengan GLP-1R, yang berbentuk tujuh-transmembran guanine nucleotide-binding protein-coupled receptor (GPCR), GLP-1R mempunyai gugus α dan β . GLP-1R gugus β mengaktivasi pensinyalan fosforilasi enzim phosphatidylinositol-3-kinase, phosphoinositide 3-kinase (PI3K) yang selanjutnya akan mengaktivasi pyruvate dehydrogenase kinase (PDK1) (15 dan 16). Aktivasi (PDK1) selanjutnya mengaktifkan protein kinase B/serine/threonine kinase (PKB/Akt) (17). PKB/Akt akan mengaktivasi GLUT4 untuk translokasi ke membran plasma untuk terjadinya pengambilan glukosa dari luar sel agar masuk ke dalam sel (18).

GLP-1 juga telah menunjukkan fungsi dalam peningkatan sensitifitas reseptor insulin (IR) pada jaringan yang responsif insulin terutama jaringan adiposa pada hewan dan manusia yang obesitas dan diabetes (19). Reseptor insulin (IR), selanjutnya akan mempromosi autophosphorilasi dan aktivasi subsequent insulin receptor substrate 1 (IRS1) dan PI3 kinase (PI3K). PI3K akan merubah phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate (PIP2) pada membran plasma menjadi phosphatidylinositol 3,4,5-triphosphate (PIP3), yang selanjutnya menginduksi perubahan konfirmasi dalam PKB/Akt dimana menjadi PKB/Akt phosphorylasi dan subsequent phosphorylation menghambat protein tre-2/USP6, BUB2,

cdc16 domain family member 4 (TBC1D4) dimana fungsi dari TBC1D4 adalah menghambat RabGAP. Akibatnya promosi GTP dan aktivasi Rabs akan melepaskan glucose transporter GLUT4 dari intracellular menuju ke membran plasma untuk uptake glukosa (18).

Di sisi lain, hasil penelitian sebelumnya menemukan hasil bahwa MC mampu menghambat ekspresi SOCS-3 dan JNK, mengaktifkan jalur IRS-1/PI3K/Akt-PKB secara langsung atau tidak langsung, dan mempromosikan biogenesis dan translokasi GLUT4 dan menekan GSK-3, dengan pemberian ekstrak etanol buah pare dengan konsentrasi etanol 70% dan pengukuran SOCS-3, JNK, Akt-PKB dan GLUT4 melalui metode western blot (20). Penelitian lain telah menemukan ekstrak pare dapat menurunkan glukosa darah tanpa melalui mekanisme GLP1, karena senyawa bioaktif charantin buah pare mampu meningkatkan translokasi glucose transporter 4 (GLUT4). Charantin menurunkan kadar gula darah dengan meningkatkan penyerapan glukosa dan sintesis glikogen di hati, otot, dan sel-sel lemak (21; 22). Selanjutnya pemberian senyawa bioaktif triterpenoid yang diisolasi dari buah pare juga ditemukan meningkatkan translokasi GLUT4 ke membran sel melalui aktivasi AMPK (23;24).

Penelitian sebelumnya terbukti buah pare dalam bentuk ekstrak etanol mampu meningkatkan ekspresi glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R) sel β pankreas, meningkatkan ekspresi jumlah sel β pankreas dan menurunkan glukosa darah puasa (GDP) secara signifikan, namun tidak terbukti meningkatkan sekresi insulin dalam darah, sehingga diduga mekanisme penurunan glukosa darah dari pemberian ekstrak etanol buah pare melalui peningkatan sensitifitas reseptor insulin di sel tubuh (6). Berdasarkan hasil-hasil penelitian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan buah pare dalam bentuk ekstrak etanol etanol 96% untuk melihat aktivitas peningkatan sensitifitas reseptor insulin (melalui metode imunohistokimia (IHC)) pada sel otot hewan coba sehingga uptake glukosa darah tetap terjadi dalam kondisi resistensi insulin.

BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

Tujuan Umum:

Menganalisis aktivitas anti-diabetik ekstrak etanol 96% buah pare dalam bentuk peningkatan sensitifitas reseptor insulin pada sel otot hewan coba dengan tujuan khusus:

Tujuan khusus Tahun I:

1. Menganalisis docking dan networking bahan bioaktif buah pare dengan DPP-4, GLP-1R, IRS-1 dan AMPK secara insilico
2. Menganalisis ekspresi IRS-1 dan GLUT4 (melalui metode imunohistokimia (IHC)) di dalam sel otot serta analisis kadar Glukosa Darah Puasa dan kadar insulin plasma darah hewan coba diabetes mellitus setelah pemberian ekstrak etanol 96% buah pare (secara in vivo)

3.2. Manfaat Penelitian

3.2.1 Manfaat Teoritis

Informasi dari hasil penelitian dapat digunakan melengkapi teori-teori dari pengaruh buah Pare (*Momordica charantia* L) sebagai bahan herbal antihiperqlikemik pada kasus Diabetes Mellitus

3.2.2. Manfaat Praktis

Kasus DM di Indonesia terus meningkat, perlu pengembangan penemuan kandidat obat DM dari herbal secara terus menerus. Buah Pare merupakan buah yang tidak asing dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia dalam nutrisi sehari-hari, dan mempunyai potensi sebagai agent untuk menurunkan glukosa darah pada kondisi hiperqlikemik dan sudah ada pengalaman empiris yang dirasakan oleh masyarakat terkait potensi anti hiperqlikemik tersebut. Namun sebagai kandidat obat herbal perlu kejelasan aktivitas antidiabetik dari buah pare ini sebagai konsep awal yang dilanjutkan dengan penelitian dasar untuk menghasilkan protokol dalam membuat formulasi obat herbal DM.

BAB 4

METODE PENELITIAN

3.1. Studi In-silico

Pada penelitian ini dilakukan beberapa tahapan eksperimen secara komputasi in-silico untuk memprediksi potensi fitokimia buah pare (MC) sebagai anti-diabetik agent. Tahapan tersebut adalah:

1. Tahapan 1: Mengidentifikasi fitokimia dalam buah pare

Jenis uji yang dilakukan adalah uji *Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy (LCMS)*. Metode LCMS adalah teknik analitik kimia yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik kromatografi cair (atau HPLC) dengan kemampuan analisis massa dari spektrometri massa (MS).

Prosedur LCMS yang digunakan untuk uji fitokimia buah pare (*Momordica charantia L.*) dalam penelitian ini yaitu 100 - 250 g *Momordica charantia L.* yang telah halus, dilarutkan dengan etanol 96% dengan perbandingan 1 : 5 dengan cara maserasi dan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 20 menit untuk diambil supernatan. Supernatan yang diperoleh diproses lebih lanjut untuk dilakukan pemurnian ekstrak atau purifikasi sebelum dilakukan uji LCMS dengan program komputer LCMS *Solution for Windows* kemudian dilakukan prosesing data menggunakan LCMS *PostRun*. Hasil uji digunakan untuk menentukan senyawa-senyawa dalam buah pare (*Momordica charantia L.*) yang akan digunakan untuk menilai aktifitas antidiabetik menggunakan uji *in silico*.

Selanjutnya dilakukan Koleksi Simplified Molecular Input Line Entry System (SMILE) Bioactive hasil LCMS beserta kode CID yang didapatkan dari database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

2. Tahapan 2: Mempelajari prediksi toksisitas senyawa buah pare

Prediksi toksisitas senyawa buah pare dilakukan berdasarkan Database ADMETLab (<https://admetmesh.scbdd.com/>) (31). Uji ini digunakan untuk memprediksikan toksisitas senyawa, dan potensi senyawa dapat diserap berdasarkan parameter Lipinski rule of five (*Rule of five/ RO5/ Druglikeness*). Lipinski rule of five digunakan untuk memprediksikan sifat fisikokimia dari suatu senyawa ketika diberikan secara oral. Parameter RO5 antara lain adalah sebagai berikut: (1) Molecular weight tidak boleh

lebih dari 500 Da, (2) Hydrogen bond donor tidak boleh lebih dari 5, (3) Hydrogen bond acceptor tidak boleh lebih dari 10 dan (4) koefisien log P tidak boleh lebih dari 5

3. Tahapan 3: Memprediksi protein target yang bisa dipengaruhi oleh fitokimia buah pare dimana protein target tersebut bisa sebagai reseptor atau non reseptor.

Analisis prediksi target dari bioactive didapatkan dari database Comperative Similarity ensemble approach (<https://sea.bkslab.org/>) (prediction score > 0.3; p value < 0.05) (computer based). Target yang berkaitan dengan type 2 diabetes mellitus didapatkan dari database The Human Gene Database Genecards (<https://www.genecards.org/>) (29), & Disgenet (<https://disgenet.com/>) (27) & Open Target (<https://www.opentargets.org/>) Target yang berkaitan dengan disease, dan target herbal kemudian dipetakan menggunakan diagram venn untuk mengetahui intersection target. Tools JVenn (<https://jvenn.toulouse.inra.fr/>) (25) digunakan untuk memvisualisasikan data dalam bentuk diagram venn.

4. Tahapan 4: Menganalisis networking senyawa fitokimia buah pare dengan protein target (*Analisis Pharmacology Network*)

Prediksi target protein dari bioactive pare pada tahapan 3 kemudian dilakukan analisa protein-protein interaction menggunakan database STRING DB V.12 (<https://string-db.org/>) (30) dengan parameter Organism: *Homo sapiens*, Network type: full STRING network, Score: confidence interaction confidence (0.9). Format tsv dari output STRING kemudian diolah lebih lanjut menggunakan Cytoscape V.10.2. Program Cytoscape digunakan untuk memvisualisasikan data interaksi dan juga melakukan network analysis dengan pendekatan centrality analysis. Protein yang masuk pada top centrality terpadat maka dapat dikatakan bahwa protein tersebut terhubung dengan banyak protein lainnya dalam network, sehingga jika protein tersebut ditarget maka dapat mempengaruhi protein lainnya atau bisa dikatakan sebagai hub protein.

5. Tahapan 5: Functional Annotation.

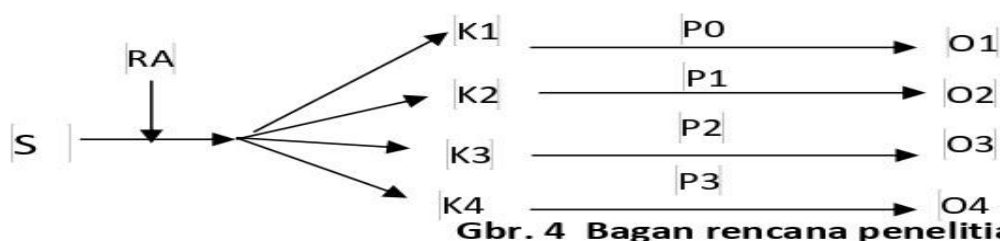
Database for Annotation, Visualization, and Intergated Discovery (DAVID) (<https://david.ncifcrf.gov/>) (28) digunakan untuk mengetahui fungsi dari gene yang sudah ditemukan pada intersection diagram venn. Terminology yang memiliki nilai False Discovery Rate < 0.05 akan dibahas lebih lanjut. Anotasi yang digunakan mengacu pada Gene Ontology (<https://geneontology.org/>).

3.2. Studi In-vivo

1. Rancangan penelitian:

Rancangan penelitian adalah true experimental laboratory dengan jenis rancangan Randomized Post test only control grup design dengan kelompok kontrol dan perlakuan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai objek penelitian

Skematis rancangan penelitian sebagai berikut:



Gbr. 4 Bagan rencana penelitian

Keterangan :

S = Sampel penelitian RA = Randomisasi/ Random alokasi

K1 = Kelompok normal/sehat (diberi aquadest 1 ml/hari selama 28 hari per sonde)

K2 = Kelompok kontrol negatif: tikus model diabetes mellitus type 2 + induksi STZ 25 mg/kg BB, selanjutnya diberi perlakuan P1 (diberi CMC Na 0,5% 1 ml/hari selama 28 hari per sonde)

K3 & K4 = Kelompok tikus model diabetes mellitus type 2 + induksi STZ 25 mg/kg BB selanjutnya diberi perlakuan P2 (ekstrak etanol 96% buah pare dengan dosis 200 mg/kg BB/hr dan 400 mg/kg BB/hr selama 28 hari per sonde)

P0 = Tanpa perlakuan ekstrak, hanya diberi aquadest

P1 = Tanpa perlakuan ekstrak, hanya diberi CMC Na 0,5%

P2-P3 = Perlakuan ekstrak etanol buah pare 2 macam dosis

O = Observasi/pengamatan

2. Unit eksperimen dan replikasi

Unit eksperimen penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar jantan dewasa yang diperoleh dari Malang Murine Farm Singosari – Malang dengan kriteria inklusi umur 10 – 12 minggu, berat badan 180- 220 g (rata-rata 200 g), dalam keadaan sehat. Unit eksperimen dibagi dalam empat kelompok secara random alokasi , yaitu satu kelompok sehat, satu kelompok kontrol negatif dan dua kelompok perlakuan. Besar sampel unit eksperimen mengacu kepada penelitian sebelumnya (20) yaitu 8 ekor/kelompok sehingga jumlah keseluruhan unit eksperimen adalah 32 ekor.

3. Bahan dan Instrumen Penelitian

Bahan yang digunakan buah pare yang diperoleh dari supermarket kota Malang, selanjutnya dilakukan proses pengolahan menjadi serbuk dan proses ekstraksi maserasi sehingga diperoleh ekstrak etanol 96% buah pare.

Bahan yang digunakan untuk membuat tikus model DM type 2 adalah diet tinggi lemak dengan komposisi (diet standar;gula;lemak babi;kuning telur = 60;17;20;3) mengacu kepada penelitian sebelumnya (20). Selanjutnya bahan kimia antara lain: etanol 96%, aquadestilata, buffer formalin 10%, STZ, IHC Kit IRS-1, dan GLUT-4.

Instrumen penelitian seperti: peralatan untuk pembuatan ekstraksi, perawatan dan perlakuan hewan coba, peralatan untuk uji jaringan, dan imunohistokima, dan pengukur GDP dengan glucometer.

4. Lokasi /tempat penelitian

- a. Lembaga Materia Medica Batu,
- b. Lembaga Inbio Indonesia,
- c. Laboratorium Bio Science Universitas Brawijaya dan
- d. Laboratorium Patologi Anatomi dan Faal FK Universitas Brawijaya.

5. Pembagian tugas tim peneliti

No.	Kedudukan peneliti	Uraian tugas
1.	Ketua peneliti	- Menyusun proposal dan RAB penelitian - Berkoordinasi dengan lahan tempat penelitian - Melaksanakan penelitian, mengolah data dan membuat laporan penelitian - Melaksanakan seminar hasil dan publikasi penelitian
2.	Anggota 1	- Mengurus perijinan dan etical clearence - Melaksanakan penelitian dan mengambil data - Membantu ketua dalam mengolah data, membuat laporan kemajuan penelitian dan SPJ keuangan penelitian
3.	Anggota 2	- Membantu ketua dalam melakukan penelitian - Membantu tim peneliti mendokumentasikan kegiatan penelitian dan membuat loogbook penelitian, bukti data dukung peelaporan spj keuangan dan laporan penelitian
4.	Pembantu peneliti	- Melaksanakan kegiatan penelitian di laboratorium mulai dari proses perawatan, perlakuan dan terminasi hewan coba

6. Analisa Data

- a. Analisis deskriptif : rerata, standart deviasi, median, nilai minimal dan maksimal variabel pada masing-masing kelompok dengan Uji normalitas distribusi Shapiro Wilk dan Uji homogenitas variansi Levene test.
- b. Analisis Inferensial menggunakan uji parametrik jika distribusi data normal dan homogen yaitu uji oneway Anova dengan taraf signifikansi (α) 0,05 untuk menganalisis kadar insulin darah, variabel kadar ekspresi IRS-1 dan GLUT4 pada masing-masing kelompok, selanjutnya dilakukan uji LSD Post Hoc Test untuk mengetahui perbedaan antar pasangan perlakuan pada tiap kelompok.

BAB 5

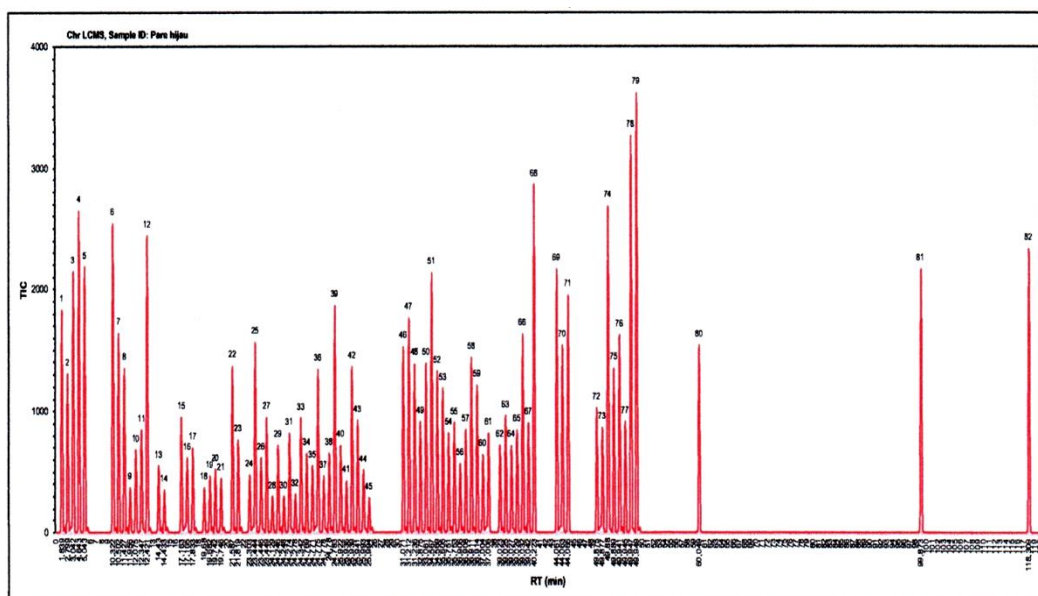
HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1 Hasil Uji In-Silico

5.1.1 Fitokimia dalam buah pare dengan uji LCMS

Berdasarkan analisis fitokimia dengan metode LCMS diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol 96% buah pare mengandung 82 macam senyawa bioaktif (Lampiran 1). Komposisi keseluruhan kandungan zat-zat aktif adalah sebagai berikut: senyawa terpenoid-triterpenoid 81,78%, phenolic 14,44%, golongan saponin 9,847%, flavonoid 3,95%, sterol 2,47%, alkaloid 0,46%, fatty 0,94% dan lainnya 3,63%.

Selanjutnya pada golongan senyawa saponin ditemukan adanya *charantin* dan *goyasapponin*, pada golongan senyawa terpenoid ditemukan adanya senyawa *cucurbitacin A*, *cucurbitacin B*, *kuguacin*, *charantoside*, *karavilagenin* dan *momordicoside* selanjutnya pada golongan senyawa *phenolic* ditemukan adanya senyawa *gallic acid*, *caffeic acid* dan *catechin*, sedangkan pada golongan senyawa flavonoid ditemukan adanya senyawa *kaempferol* dan *quercetin*. Hasil uji LCMS dapat dilihat pada gambar 5.1.berikut :



Gambar 5.1. Hasil Uji LCMS ekstrak etanol 96% buah pare, tampak bahwa jumlah senyawa dalam buah pare hijau adalah 82 senyawa.

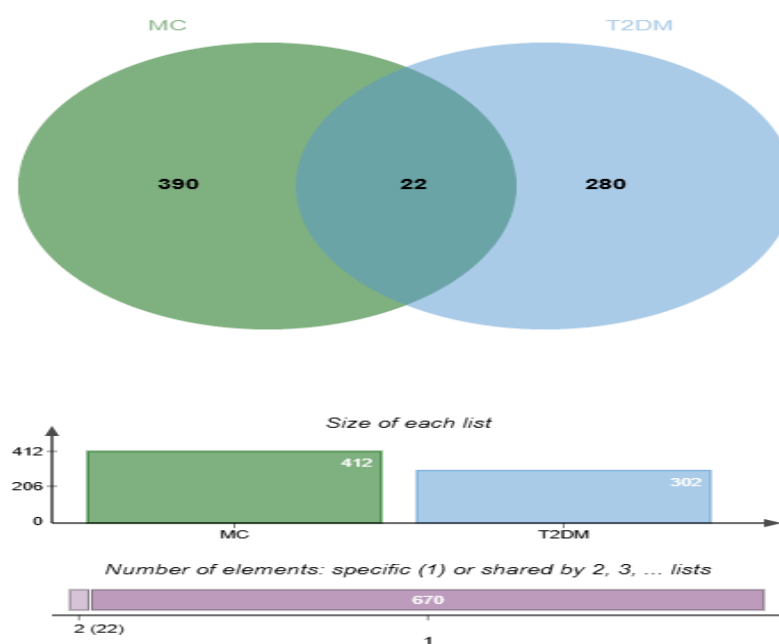
5.1.2 Hasil prediksi toksisitas senyawa buah pare

Berdasarkan hasil uji LCMS ditemukan 82 senyawa aktif fitokimia buah pare, Dimana dari 82 senyawa tersebut ditemukan 24 senyawa (29%) yang tidak bisa diserap ke dalam tubuh manusia berdasarkan uji Lipinski dan 28 senyawa (34%) yang bersifat toksik (Lampiran 2 dan 3).

Namun harus menjadi catatan bahwa, prediksi ini adalah prediksi untuk single molecule. Pendekatan herbal biasanya menggunakan multi component yang bisa saja toksisitas menjadi minimal atau penyerapannya bisa dimaksimalkan dengan cara berinteraksi dengan komponen lainnya. Toksisitas dinilai dari DILI (*Drug induce liver injury*), H-HT (*Human Hepatotoxicity*), dan ROA (*Rat oral acute toxicity*) dengan parameter nilai prediksi sebagai berikut: (1) 0-0.3: excellent (green/aman); 0.3-0.7: medium (blue/hati-hati); dan 0.7-1.0(++): poor (red/bahaya)

5.1.3 Analisis Asosiasi Target & Prediksi Protein Target

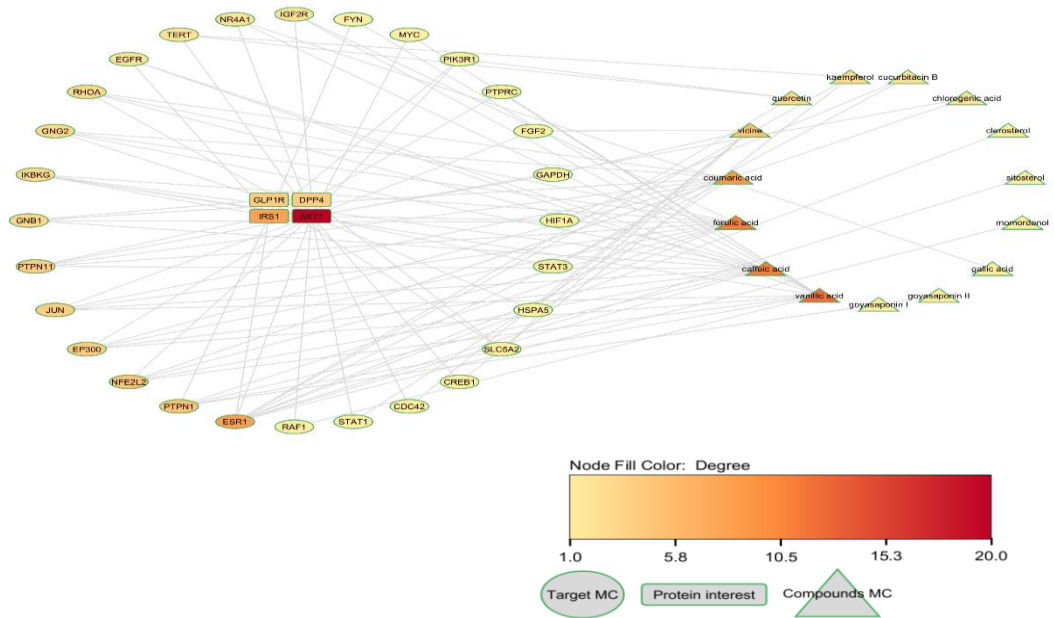
Berdasarkan penelusuran menggunakan database terdapat 302 protein yang berasosiasi dengan T2DM, dan 412 protein yang diprediksi dapat ditarget oleh MC (Prediction score > 0.3) (Gambar 5.2), dan ditemukan 22 protein yang dapat ditarget oleh fitokimia buah pare (MC) dan terlibat dalam patogenesis DM tipe 2 (T2DM) yaitu: PAM, AMY2A, CYP1A1, CPT1A, FTO, G6PD, HNF4A, IL6, MYC, NPC1L1, PDE4D, PTGS1, PTGS2, ACP1, RAC1, SLC22A3, SLC5A1, SLC5A2, ST6GAL1, TRPV1, VDR, XDH. Sayangnya belum ditemukan interaksi langsung dengan AKT1, DPP4, GLP1R, dan IRS1.



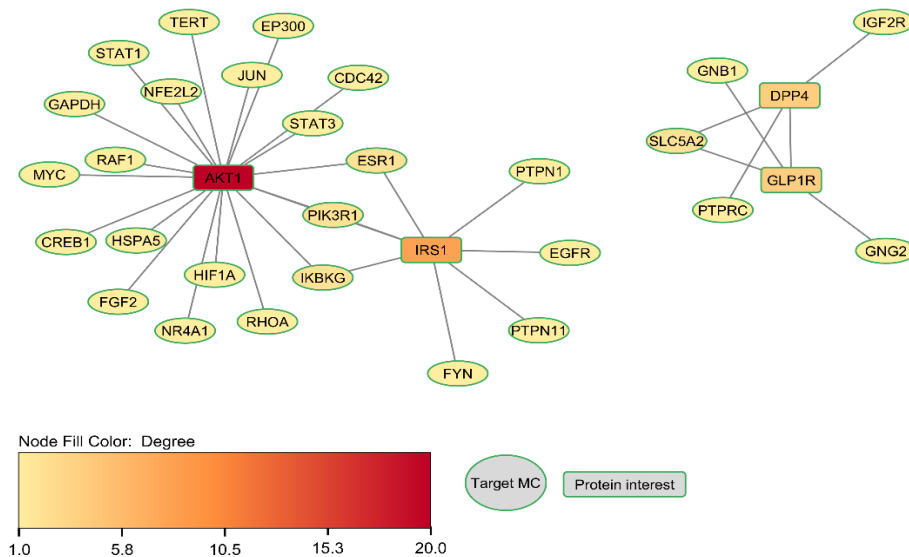
Gambar 5.2. Diagram Venn Asosiasi target *Momordica Charantia L* (MC) dan DM tipe 2 (T2DM)

5.1.4 Hasil Analisis *Pharmacology Network*

Analisis menggunakan PPI network menunjukkan jika protein interest bukanlah protein direct dari MC, namun fitokimia (bioactive compmpound) MC dapat berinteraksi dengan protein yang berinteraksi dengan protein interest (Gambar 2, Gambar 3).



Gambar 5.3. Protein protein interaction target MC, compounds MC dengan T2DM. (Semakin gelap warna nodes maka semakin besar nilai degree sehingga semakin banyak protein yang berinteraksi dengan node tersebut)



Gambar 5.4. Protein protein interaction MC dengan T2DM. (Semakin gelap warna nodes maka semakin besar nilai degree sehingga semakin banyak protein yang berinteraksi dengan node tersebut)

Vanilic acid, caffeic acid, dan ferulic acid adalah top 3 senyawa yang mampu berinteraksi dengan interactor protein interest.

- Target MC yaitu STAT1, NFE2L2, TERT, JUN, EP300, CDC42, STAT3, ESR1, PIK3R1, IKBKG, RHOA, HIF1A, NR4A1, FGF2, HSPA5, CREB1, RAF1, MYC, dan GADPH dapat berinteraksi dengan AKT1.
- Target MC yaitu ESR1, PIK3R1, IKBKG, FYN, PTPN11, EGFR, dan PTPN1 dapat berinteraksi dengan IRS1.
- SLC5A2, PTPRC, dan IGF2R target MC memfasilitasi interaksi dengan DPP4.
- GNB1, SLC5A2, dan GNG2 memfasilitasi interaksi dengan GLP1R (Gambar 5.4).

AKT1 adalah protein yang paling banyak berinteraksi dengan target MC, disusul dengan IRS1, dan GLP1R & DPP4 (Tabel 1). AKT1 memiliki nilai degree (20), closeness centrality (0.85), dan closeness centrality (0.90).

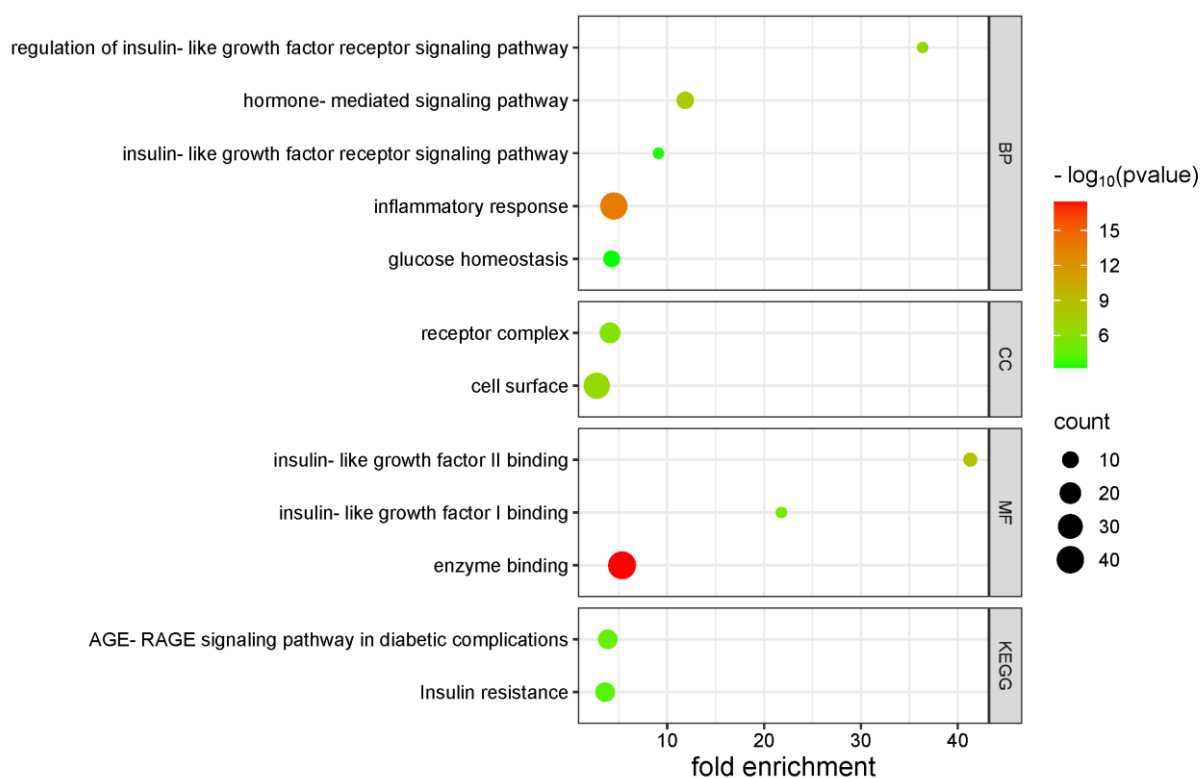
Tabel 5.1 Analisis Centralitas PPI Network interaction MC dengan T2DM

Nama Protein	Degree Centrality	Closeness Centrality	Betweenness Centrality
AKT1	20	0.857143	0.903986
ESR1	8	0.44	0.420323
IRS1	8	0.6	0.317029
NFE2L2	5	0.44	0.091414
PTPN1	5	0.428571	0.14727
DPP4	4	0.75	0.6
JUN	4	0.428571	0.052941
GLP1R	4	0.75	0.6
EP300	4	0.428571	0.052941
PTPN11	4	0.370787	0.024725

Nilai degree dapat digunakan untuk melihat protein mana yang banyak berinteraksi dengan protein lainnya. Sedangkan nilai closeness centrality digunakan untuk melihat seberapa cepat informasi dapat mengalir melalui node tertentu ke semua node lain dalam jaringan, yang pada dasarnya mencerminkan efisiensi komunikasi antar protein (Evans et al., 2022). Betweenness centrality adalah node dari jalur terpendek yang melewati simpul tertentu dalam jaringan, yang menggambarkan peran node dalam komunikator (Nithya et al., 2023).

5.1.5 Functional Annotation

Berdasarkan penelusuran functional target MC, menunjukkan bahwa target MC berperan pada regulation of insulin like growth factor receptor signalling pathway (6 gen protein), insulin like growth factor receptor signalling pathway (6 gen protein), inflammatory response (39 gen protein), hormone mediated signalling pathway (11 gen protein), glucose homeostasis (10 gen protein) berdasarkan biological process gene ontology, dan terlibat **dalam insulin resistance** (15 gen protein: PTPN1, CPT1A, NR1H2, STAT3, SLC2A1, NR1H3, PTPN11, PYGL, PIK3R1, CPT1B, RELA, NFKB1, TNFRSF1A, IL6, CREB1), dan AGE-RAGE signaling pathway in diabetic complications (15 gen protein). MC paling banyak berperan pada inflammatory response, dan ditemukan pula peran MC pada komplikasi diabetes (Gambar 5.5)



Gambar 5.5. Bubble plot functional enrichment target MC dengan p value < 0.05

5.2 Hasil Uji In-Vivo

5.2.1 Berat badan (BB)

1. BB post adaptasi

Hasil analisis deskriptif dan inferensial untuk data berat badan (BB) tikus pada hari ke 7 adaptasi pada satu kelompok normal/sehat (P0), satu kelompok kontrol negatif yaitu tikus model diabetes mellitus dengan pemberian CMC 0,5% (P1) dan dua

kelompok perlakuan yaitu tikus model diabetes mellitus dengan pemberian ekstrak etanol buah pare per sonde dengan dosis masing-masing yaitu 200 mg/kgBB (P2) dan 400 g BB (P3), dapat dilihat pada tabel 5.2. berikut

Tabel 5.2 Data analisis Berat Badan tikus post adaptasi pada kelompok P0 s/d P3

Perlakuan	Berat badan tikus (g) post adaptasi (N= 8/klp)				
	Rerata (\bar{X})	SD	Min-maks	p Shapiro-Wilk	p Levene
P0	282,88	±11,78	265 – 300	0,819	0,430
P1	205,63	±7,48	192 – 212	0,026	
P2	227,13	±7,84	216 – 239	0,790	
P3	250,25	±14,83	218 – 264	0,079	

Berdasarkan tabel 5.2. diatas, rerata berat badan tikus hari ke 7 adaptasi pada semua kelompok sesuai dengan kriteria inklusi penelitian yaitu $200 \text{ g} \pm 20 \text{ g}$, semua data berat badan tikus post adaptasi pada tiap kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$) kecuali data pada kelompok P1 tidak berdistribusi normal

2. BB setelah pemberian diit tinggi lemak selama 28 hari.

Hasil analisis deskriptif dan inferensial untuk data berat badan (BB) tikus setelah pemberian diit tinggi lemak selama 28 hari pada satu kelompok kontrol negatif yaitu tikus model diabetes mellitus dengan pemberian CMC 0,5% (P1) dan dua kelompok perlakuan yaitu tikus model diabetes mellitus dengan pemberian ekstrak etanol buah pare per sonde dengan dosis masing-masing yaitu 200 mg/kgBB (P2) dan 400 g BB (P3), dapat dilihat pada tabel 5.3. berikut

Tabel 5.3 Data analisis Berat Badan tikus post diit tinggi lemak pada kelompok P1 s/d P3

Perlakuan	Berat badan tikus (g) post diit tinggi lemak (N= 8/klp)				
	Rerata (\bar{X})	SD	Min-maks	p Shapiro-Wilk	p Levene
P1	244,38	±14,38	222 – 265	0,894	0,160
P2	267,25	±14,09	246 – 292	0,899	
P3	296,75	±36,55	222 – 338	0,353	

Berdasarkan tabel 5.3. diatas, rerata berat badan tikus hari ke 28 setelah pemberian diit tinggi lemak pada kelompok P1 s/d P3 terlihat semua mengalami peningkatan

rata-rata berat badan, semua data berat badan pada tiap kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$).

5.2.2 Glukosa Darah Puasa (GDP) tikus non STZ dan post STZ hari ke 9

Hasil analisis deskriptif dan inferensial untuk data GDP non STZ dan post STZ hari ke 9 pada satu kelompok normal/sehat (P0), satu kelompok kontrol negatif yaitu tikus model diabetes mellitus dengan pemberian CMC 0,5% (P1) dan dua kelompok perlakuan yaitu tikus model diabetes mellitus dengan pemberian ekstrak etanol buah pare per sonde dengan dosis masing-masing yaitu 200 mg/kgBB (P2) dan 400 g BB (P3), dapat dilihat pada tabel 5.4 berikut.

Tabel 5.4 Data analisis GDP non dan post STZ hari ke 9 pada kelompok P0 s/d P3

Kelompok Perlakuan	GDP tikus non dan post STZ (N= 8/klp)					
	Rerata (\bar{X})	SD	Min-maks	p Shapiro-Wilk	p Levene	p Anova
P0	97,63	$\pm 8,15^a$	80 – 105	0,043		
P1	394,88	$\pm 56,19^b$	308– 472	0,569		
P2	454,38	$\pm 105,39^b$	310 – 572	0,139	0,000	0,000*
P3	483,00	$\pm 71,10^c$	365 – 571	0,780		

Keterangan : * signifikan pada $\alpha=0,05$ (*Oneway Anova*)
^{a,b} superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok (*multiple comparisons LSD*)

Berdasarkan tabel 5.4. diatas, rerata GDP post STZ pada hari ke 9 pada kelompok P1 s/d P3 terlihat semua tikus hewan coba mengalami diabetes dengan GDP > 200 mg/dl, semua data GDP pada tiap kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$) namun tidak homogen ($p < 0,05$) dan berbeda signifikan dengan kadar GDP pada tikus kelompok P0 (kelompok sehat).

5.2.3 Kadar insulin darah tikus

Hasil analisis deskriptif dan inferensial untuk data kadar insulin darah tikus pada satu kelompok normal/sehat (P0), satu kelompok kontrol negatif yaitu tikus model diabetes mellitus dengan pemberian CMC 0,5% (P1) dan dua kelompok perlakuan yaitu tikus model diabetes mellitus dengan pemberian ekstrak etanol buah pare per sonde dengan dosis

masing-masing yaitu 200 mg/kgBB (P2) dan 400 g BB (P3), dapat dilihat pada tabel 5.5 berikut.

Tabel 5.5 Data analisis Kadar Insulin darah Tikus pada kelompok P0 s/d P3

Kelompok Perlakuan	Kadar insulin darah tikus (N= 8/klp)					
	Rerata (\bar{X})	SD	Min-maks	p Shapiro-Wilk	p Levene	p Anova
P0	99,91	$\pm 13,32^a$	84 – 122	0,319		
P1	22,39	$\pm 14,84^b$	11– 58	0,001		
P2	45,00	$\pm 7,91^b$	35 – 54	0,186	0,337	0,000*
P3	98,16	$\pm 21,37^a$	69 – 133	0,942		

Keterangan : * signifikan pada $\alpha=0,05$ (*Oneway Anova*)
^{a,b}, superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok (*multiple comparisons LSD*)

Berdasarkan tabel 5.5. diatas, rerata kadar insulin darah tikus pada kelompok P2 s/d P3 meningkat berbeda bermakna dengan kelompok P1 (tikus sakit), semua data GDP pada tiap kelompok berdistribusi normal ($p > 0,05$) dan homogen ($p > 0,05$) kecuali data kadar insulin pada kelompok P1 tidak berdistribusi normal.

5.2.4 Kadar glukosa darah puasa (GDP) tikus setelah 28 hari perlakuan

Hasil analisis deskriptif dan inferensial untuk data GDP setelah 28 hari perlakuan pada satu kelompok normal/sehat (P0), satu kelompok kontrol negatif yaitu tikus model diabetes mellitus dengan pemberian CMC 0,5% (P1) dan dua kelompok perlakuan yaitu tikus model diabetes mellitus dengan pemberian ekstrak etanol buah pare per sonde dengan dosis masing-masing yaitu 200 mg/kgBB (P2) dan 400 g BB (P3), dapat dilihat pada tabel 5.6 berikut.

Tabel 5.6 Data analisis GDP tikus setelah 28 hari perlakuan pada kelompok P0 s/d P3

Kelompok Perlakuan	GDP tikus non dan post STZ (N= 8/klp)					
	Rerata (\bar{X})	SD	Min-maks	p Shapiro-Wilk	p Levene	p Anova
P0	87,38	$\pm 9,56^a$	75 – 102	0,790		
P1	384,38	$\pm 92,71^b$	281– 533	0,454		
P2	340,88	$\pm 104,87^b$	121 – 433	0,068	0,004	0,000*
P3	451,00	$\pm 46,08^b$	399 – 508	0,074		

Keterangan : * signifikan pada $\alpha=0,05$ (*Oneway Anova*)
^{a,b}, superscript yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan antar kelompok (*multiple comparisons LSD*)

Berdasarkan tabel 5.6. diatas, GDP tikus setelah 28 hari perlakuan secara signifikan kelompok P2 lebih rendah dibandingkan dengan kelompok P1 (tikus sakit). Pemberian ekstrak buah pare dosis 200 mg/kg BB menurunkan GDP sebesar 113,5 mg/dl pada tikus P2. Namun penurunan GDP tersebut belum mencapai angka GDP < 200 mg/dl. Angka GDP pada kelompok P2 adalah 340,88 mg/dl. Adapun sebaran data berdistribusi normal ($p > 0,05$) namun tidak homogen ($p < 0,05$).

5.2.5 Ekspresi IRS-1 dan GLUT4 (melalui metode imunohistokimia (IHC))

Untuk hasil ekspresi IRS-1 dan GLUT4, sampai saat ini masih dalam proses pembacaan oleh pakar di Lab Faal Unibraw.

5.3 Luaran Penelitian

Peneliti telah membuat artikel penelitian untuk publikasi proceeding yang dimasukkan pada 7th International Conference and Workshop of Health (ICWH) Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang yang diselenggarakan pada tanggal 19-20 November 2024.

BAB 6
RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

1. Melakukan monitoring tentang hasil pembacaan ekspresi IRS-1 dan GLUT-4 sehingga bisa segera diperoleh.
2. Monitoring proses penerbitan abstrak penelitian dalam proceeding oleh panitia 7th International Conference and Workshop of Health (ICWH) Politeknik Kesehatan Kemenkes Malang tahun 2024

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

Hasil uji LCMS ditemukan 82 senyawa aktif fitokimia buah pare, diimana dari 82 senyawa tersebut ditemukan 24 senyawa (29%) yang tidak bisa diserap ke dalam tubuh manusia berdasarkan uji Lipinski dan 28 senyawa (34%) yang bersifat toksik.

Berdasarkan penelusuran menggunakan database terdapat 302 protein yang berasosiasi dengan T2DM, dan 412 protein yang diprediksi dapat ditarget oleh MC ditemukan 22 protein yang dapat ditarget oleh fitokimia buah pare (MC) dan terlibat dalam patogenesis DM tipe 2 (T2DM);

Vanilic acid, caffeic acid, dan ferulic acid adalah top 3 senyawa yang mampu berinteraksi dengan interactor protein interest. Target MC yaitu STAT1, NFE2L2, TERT, JUN, EP300, CDC42, STAT3, ESR1, PIK3R1, IKBKG, RHOA, HIF1A, NR4A1, FGF2, HSPA5, CREB1, RAF1, MYC, dan GADPH dapat berinteraksi dengan AKT1; (5) Target MC yaitu ESR1, PIK3R1, IKBKG, FYN, PTPN11, EGFR, dan PTPN1 dapat berinteraksi dengan IRS1; (6) SLC5A2, PTPRC, dan IGF2R target MC memfasilitasi interaksi dengan DPP4; (7) GNB1, SLC5A2, dan GNG2 memfasilitasi interaksi dengan GLP1R;

AKT1 adalah protein yang paling banyak berinteraksi dengan target MC, disusul dengan IRS1, dan GLP1R & DPP4.

Rerata berat badan tikus hari ke 28 setelah pemberian diit tinggi lemak pada kelompok P1 s/d P3 terlihat semua mengalami peningkatan rata-rata berat badan yang signifikan; Rerata GDP post STZ pada hari ke 9 pada kelompok P1 s/d P3 terlihat semua tikus hewan coba mengalami diabetes dengan GDP > 200 mg/dl. Rerata kadar insulin darah tikus pada kelompok P2 s/d P3 meningkat (berbeda bermakna) dengan kelompok P1 (tikus sakit); GDP tikus setelah 28 hari perlakuan pada kelompok P2 lebih rendah jika dibandingkan dengan kelompok P1 (tikus sakit) namun penurunan GDP tersebut belum mencapai angka < 200 mg/dl dan tidak berbeda signifikan secara statistik dari angka GDP pada tikus kelompok P1.

Disarankan pada penelitian tahun depan (2025) untuk mengevaluasi dosis ekstrak yang diberikan pada tikus kelompok P2.

DAFTAR PUSTAKA

1. Magliano D, Boyko E, Beverley B, Barengo N, Basit A & Elizabeth B et al., 2021. IDF Diabetes Atlas 2021, International Diabetes Federation, diunduh 7 Mei 2022, pp. 1-141, <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.10.013>, https://diabetesatlas.org/idfawp/resourcefiles/2021/07/IDF_Atlas_10th_Edition_2021.pdf
2. Petersmann A, Nauck M, Müller-Wieland D, Kerner W, Müller U & Landgraf R et al., 2018. Definition, classification and diagnostics of diabetes mellitus, *Journal of Laboratory Medicine*, vol. 42, no. 3, pp. 73–79. <https://doi.org/10.1515/labmed-2018-0016>.
3. Ghadge AA & Kuvalekar AA, 2016. Controversy of oral hypoglycemic agents in type 2 diabetes mellitus: Novel move towards combination therapies. *Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews*, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2016.08.009>.
4. Kim YH, Nhiem NX, Kiem PV, Minh CV, Ban NK & Cuong NX et al., 2010. Cucurbitane-type triterpene glycosides from the fruits of *Momordica charantia*, *Magnetic Resonance in Chemistry*, vol. 48, no. 5, pp. 392–396, <https://doi.org/10.1002/mrc.2582>.
5. Saad B, Zaid H, Shanak S & Kadan S, 2017. Anti-diabetes and anti-obesity medicinal plants and phytochemicals: safety, efficacy, and action mechanisms, Springer International Publishing, Switzerland, pp. 1-261, <https://doi.org/10.1007/978-3-319-54102-0>.
6. Yuliwar, R, 2022, Mekanisme penurunan glukosa darah pada tikus model diabetes mellitus setelah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) melalui analisis ekspresi SOD1, MDA, GLP-1R, PKB, PKA, mTORC1, dan jumlah sel β pankreas, Laporan Disertasi, FK Unair, tidak dipublikasikan
7. Lucas EA, Dumancas GG, Smith BJ, Clarke SL & Arjmandi BH, 2010. Health benefits of Bitter Melon (*Momordica charantia*). *Bioactive Foods in Promoting Health* (First Edit). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374628-3.00035-9>.
8. Palamthodi, S., & Lele, S. S. 2014. Nutraceutical applications of gourd family vegetables: *Benincasa hispida*, *Lagenaria siceraria* and *Momordica charantia*. *Biomedicine and Preventive Nutrition*, 4(1), 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.bionut.2013.03.004>.
9. Wang S, Li Z, Yang G, Ho C & Li S, 2017. *Momordica charantia*: A popular health-promoting vegetable with multifunctionality, *Food an Function*, vol. 7, no. 1, pp. 1–15. <https://doi.org/10.1039/c6fo01812b>.
10. Jia, S., Shen, M., Zhang, F., & Xie, J. 2017. Recent advances in *momordica charantia*: Functional components and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(12). <https://doi.org/10.3390/ijms18122555>.
11. Hsiao, P. C., Liaw, C. C., Hwang, S. Y., Cheng, H. L., Zhang, L. J., Shen, C. C., Hsu, F. L., & Kuo, Y. H. 2013. Antiproliferative and hypoglycemic cucurbitane-type glycosides

- from the fruits of *Momordica charantia*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(12), 2979–2986. <https://doi.org/10.1021/jf3041116>.
12. Elekofehinti OO, Ariyo EO, Akinjiyan MO, Olayeriju OS, Lawal AO & Adanlawo IG et al., 2018. Potential use of bitter melon (*Momordica charantia*) derived compounds as antidiabetics: In silico and in vivo studies. *Pathophysiology*, vol. 25, no. 4, pp. 327–333. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2018.05.003>.
 13. Park MK, 2016. Glucagon-Like Peptide-1. *Handbook of Hormones*, vol. 1, Elsevier Inc, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801028-0.00305-6>.
 14. Drucker DJ, 2013. Incretin action in the pancreas: Potential promise, possible perils, and pathological pitfalls, *Diabetes*, vol. 62, no. 10, pp. 3316–3323. <https://doi.org/10.2337/db13-0822>.
 15. Campbell JE & Drucker DJ, 2013. Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action, *Cell Metabolism*, vol. 17, no. 6, pp. 819–837, <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2013.04.008>.
 16. Watanabe S, Matsumoto T, Oda M, Yamada K, Takagi J & Taguch K et al., 2016. Insulin augments serotonin-induced contraction via activation of the IR/PI3K/PDK1 pathway in the rat carotid artery, *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, vol. 468, no. 4, pp. 667–677. <https://doi.org/10.1007/s00424-015-1759-4>.
 17. Manning, B. D., & Toker, A. 2017. AKT/PKB Signaling: Navigating the Network. *Cell*, 169(3), 381–405. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.04.001>
 18. O'Neill, HM, 2013. AMPK and exercise: Glucose uptake and insulin sensitivity, *Diabetes and Metabolism Journal*, vol. 37, no. 1, pp. 1–21. <https://doi.org/10.4093/dmj.2013.37.1.1>.
 19. Gastaldelli A, Gaggini M, Daniele G, Ciociaro D, Cersosimo E & Tripathy D et al., 2016. Exenatide improves both hepatic and adipose tissue insulin resistance: A dynamic positron emission tomography study, *Hepatology*, vol. 64, no. 6, pp. 2028–2037 <https://doi.org/10.1002/hep.28827>.
 20. Ma, C., Yu, H., Xiao, Y., & Wang, H. (2017). *Momordica charantia* extracts ameliorate insulin resistance by regulating the expression of SOCS-3 and JNK in type 2 diabetes mellitus rats. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 2170–2177. <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1396350>.
 21. Wang, H. Y., Kan, W. C., Cheng, T. J., Yu, S. H., Chang, L. H., & Chuu, J. J. (2014). Differential anti-diabetic effects and mechanism of action of charantin-rich extract of Taiwanese *Momordica charantia* between type 1 and type 2 diabetic mice. *Food and Chemical Toxicology*, 69, 347–356. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.04.008>.
 22. Nagappan K, Anoop K, Kowmudi G, & Sailaja M, 2018. Charantin: a neglected antidiabetic compound from *Momordica charantia* L, *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, vol. 51, no. 7, pp. 35–40.
 23. Iseli TJ, Turner N, Zeng XY, Cooney GJ, Kraegen EW & Yao S et al., 2013. Activation of AMPK by Bitter Melon Triterpenoids Involves CaMKK β . *Plos One*, vol. 8, no. 4, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062309>.
 24. Jiang, B., Ji, M., Liu, W. E. I., Chen, L., Cai, Z., Zhao, Y., & Bi, X. (2016). Antidiabetic activities of a cucurbitane - type triterpenoid compound from *Momordica charantia* in

- alloxan - induced diabetic mice. *Molecular Medicine Reports*, 4865–4872. <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5800>.
25. Bardou, P., Mariette, J., Escudié, F., Djemiel, C., & Klopp, C. (2014). jvenn: an interactive Venn diagram viewer. *BMC bioinformatics*, 15, 1-7.
 26. Evans, T. S., & Chen, B. (2022). Linking the network centrality measures closeness and degree. *Communications Physics*, 5(1), 172.
 27. Piñero, J., Ramírez-Anguita, J. M., Saüch-Pitarch, J., Ronzano, F., Centeno, E., Sanz, F., & Furlong, L. I. (2020). The DisGeNET knowledge platform for disease genomics: 2019 update. *Nucleic acids research*, 48(D1), D845-D855.
 28. Sherman, B. T., Hao, M., Qiu, J., Jiao, X., Baseler, M. W., Lane, H. C., ... & Chang, W. (2022). DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update). *Nucleic acids research*, 50(W1), W216-W221.
 29. Stelzer, G., Rosen, N., Plaschkes, I., Zimmerman, S., Twik, M., Fishilevich, S., ... & Lancet, D. (2016). The GeneCards suite: from gene data mining to disease genome sequence analyses. *Current protocols in bioinformatics*, 54(1), 1-30.
 30. Szklarczyk, D., Kirsch, R., Koutrouli, M., Nastou, K., Mehryary, F., Hachilif, R., ... & Von Mering, C. (2023). The STRING database in 2023: protein–protein association networks and functional enrichment analyses for any sequenced genome of interest. *Nucleic acids research*, 51(D1), D638-D646.
 31. Xiong, G., Wu, Z., Yi, J., Fu, L., Yang, Z., Hsieh, C., ... & Cao, D. (2021). ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties. *Nucleic acids research*, 49(W1), W5-W14.
 32. Nithya, C., Kiran, M., & Nagarajaram, H. A. (2023). Dissection of hubs and bottlenecks in a protein-protein interaction network. *Computational Biology and Chemistry*, 102, 107802.

Lampiran 1

Lampiran Surat No. 25/LK-B/III/2020

Hasil Analisis LCMS Sampel Ekstrak Pare Hijau

LCMS CHROMATOGRAM RESULT, SAMPLE ID: PARE HIJAU

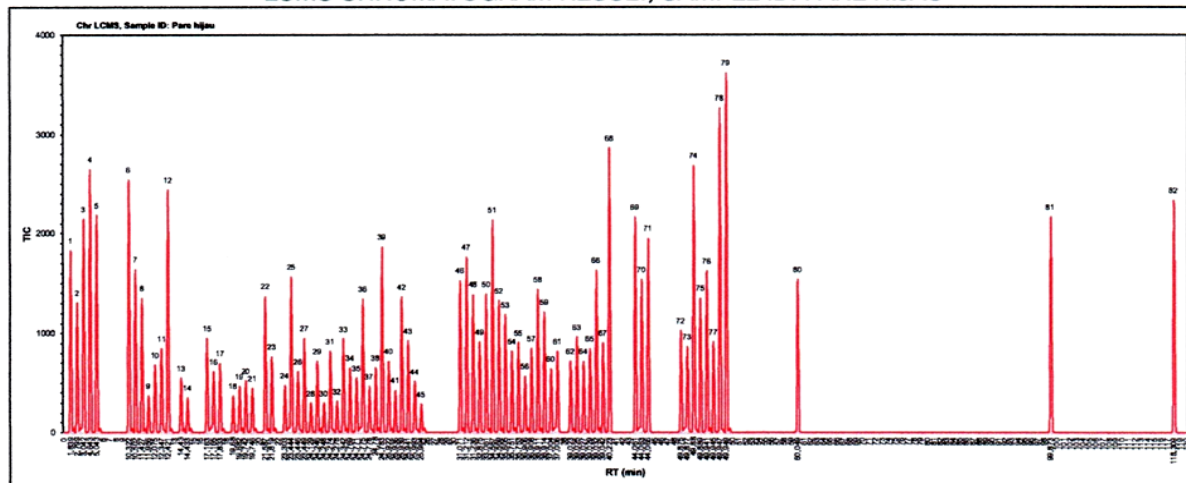


Table 1. Chromatogram Library Resume Report

Peak number	RT (min)	SI (%)	Composition (%)	Coumpound
1	1,839	92	1,86217	p-coumaric acid
2	2,799	92	1,33179	vanillic acid
3	3,042	92	2,18676	gallic acid
4	4,643	92	2,69068	caffeic acid
5	5,043	92	2,22239	ferulic acid
6	10,322	92	2,58440	kaempferol
7	10,502	92	1,66833	catechin
8	11,427	92	1,37208	quercetin
9	11,956	92	0,46046	vicine
10	12,075	92	0,85031	mycose
11	12,347	92	1,05544	kuguacin M
12	12,421	92	2,48259	chlorogenic acid
13	14,43	92	0,68561	kuguacin L
14	14,433	92	0,43424	clerosterol
15	17,163	92	1,18012	β -sitosterol
16	17,165	92	0,76573	kuguacin C
17	17,833	92	0,86335	momordenol
18	19,68	92	0,46079	kuguacin D

Lampiran Surat No. 25 /LK-B/III/2020

Peak number	RT (min)	SI (%)	Composition (%)	Compound
19	19,682	92	0,57725	kuguacin P
20	19,742	92	0,64754	kuguacin E
21	19,746	92	0,55202	kuguacin K
22	21,587	92	1,70365	momordicinin
23	21,819	92	0,94941	momordol
24	23,303	92	0,58603	kuguacin J
25	23,444	92	1,94959	5,19-epoxycucurbita-6,23-diene-3,25-diol
26	23,446	92	0,76744	kuguacin B
27	23,449	92	1,18015	karavilagenin E
28	24,129	92	0,36939	kuguacin O
29	24,246	92	0,89351	karavilagenin D
30	24,248	92	0,36939	kuguacin N
31	24,274	92	1,01824	(19R,23E)-5 β ,19-epoxy-19-methoxycucurbita-6,23,25-trien-3 β -ol
32	24,278	92	0,39170	kuguacin S
33	24,342	92	1,17648	kuguacin A
34	24,769	92	0,80831	karavilagenin B
35	24,771	92	0,68538	karavilagenin C
36	24,775	92	1,67496	momordicine I
37	24,778	92	0,57807	kuguacin Q
38	24,78	92	0,81032	kuguacin R
39	24,783	92	2,32398	charantin
40	25,922	92	0,89017	kuguacin F
41	25,936	92	0,52359	kuguacin H
42	25,939	92	1,69908	19(R)-methoxy-5 β ,19-epoxycucurbita-6,23-dien-3 β ,25-diol
43	25,941	92	1,15138	karavilagenin A
44	25,993	92	0,64008	(19R,23E)-5 β ,19-epoxy-19,25-dimethoxycucurbita-6,23-dien-3 β -ol
45	25,994	92	0,35508	kuguacin G
46	31,071	92	1,90349	lycopene
47	31,212	92	2,19926	momordicilin
48	31,236	92	1,72651	phytofluene

Lampiran Surat No. 25 /LK-B/III/2020

Peak number	RT (min)	SI (%)	Composition (%)	Coumpound
49	32,875	92	1,13897	cucurbitacin B
50	33,061	92	1,73417	cucurbitacin A
51	34,567	92	2,66327	charantoside III
52	34,569	92	1,65455	charantoside IV
53	35,605	92	1,47953	charantoside VII
54	35,751	92	1,01792	momordicoside F2
55	35,753	92	1,12909	momordicoside I
56	36,906	92	0,70243	momordicoside F1
57	36,908	92	1,05529	momordicoside G
58	36,911	92	1,79230	charantoside V
59	36,914	92	1,50702	charantoside VI
60	37,004	92	0,79722	karaviloside III
61	37,006	92	1,01784	momordicoside L
62	39,023	92	0,89315	goyaglycoside-b
63	39,025	92	1,19876	karaviloside I
64	39,027	92	0,88978	karaviloside II
65	39,029	92	1,04905	momordicoside K
66	39,032	92	2,03086	goyaglycoside-a
67	39,042	92	1,12293	karaviloside IV
68	40,223	92	3,56872	momorcharaside B
69	44,061	92	2,69830	goyaglycoside-c
70	44,063	92	1,91985	goyaglycoside-d
71	44,066	92	2,43094	charantoside VIII
72	49,875	92	1,27963	goyaglycoside e
73	49,877	92	1,07578	goyaglycoside f
74	49,88	92	3,34429	momordicoside C
75	49,889	92	1,68271	goyaglycoside g
76	49,941	92	2,02555	karaviloside V
77	49,945	92	1,13956	goyaglycoside h
78	49,947	92	4,06909	momorcharaside A
79	49,949	92	4,51027	momordicoside A

Lampiran Surat No. 25 /LK-B/III/2020

Peak number	RT (min)	SI (%)	Composition (%)	Compound
80	60,049	92	1,91629	goyasaponin III
81	99,873	92	2,69907	goyasaponin I
82	118,309	92	2,90832	goyasaponin II

Table 2 Chromatogram Quantitation Result

Sample ID	Sample volume (µl)	RT (min)	Sample curve area	Result (µg/ml)	Compound	Peak number
Pare hijau	1	3,042	2148,46362	2,68327	gallic acid	1
	1	10,322	2539,14858	3,08668	kaempferol	2
	1	11,427	1348,05296	1,64289	catechin	3
	1	11,427	1348,05296	1,60031	quercetin	4
	1	11,956	369,14825	0,04480	vicine	5
	1	24,783	1863,13252	2,22118	charantin	6
	1	32,875	913,11362	1,11113	cucurbitacin B	7
	1	33,061	1390,28163	1,68012	cucurbitacin A	8
	1	49,949	3615,88157	4,34746	momordicoside A	9

Lampiran 2

**HASIL UJI PREDIKSI FITOKIMIA BUAH PARE YANG TIDAK BISA
DISERAP TUBUH**

No	Category	CompoundName	CID	Molecule Weight	LogP	Hydrogen Acceptor	Hydrogen Donor	Lipinski
1	terpenoid	momordicilin	102066427	540,45	7,473	3	1	Rejected
2	terpenoid	charantoside IV	23626170	600,4	5,3	7	4	Rejected
3	terpenoid	momordicoside F1	44445566	632,43	5,211	8	4	Rejected
4	terpenoid	momordicoside G	91895422	632,43	5,409	8	4	Rejected
5	terpenoid	charantoside V	23626171	632,43	5,385	8	4	Rejected
6	terpenoid	charantoside VI	23626323	632,43	5,781	8	4	Rejected
7	terpenoid	momordicoside L	101743788	634,41	3,377	9	6	Rejected
8	terpenoid	karaviloside I	44445582	648,46	6,633	8	4	Rejected
9	terpenoid	karaviloside II	16093694	648,46	6,522	8	4	Rejected
10	terpenoid	momorcharaside B	131828	654,43	3,285	10	8	Rejected
11	terpenoid	goyaglycoside d	101077715	662,44	5,201	9	4	Rejected
12	terpenoid	goyaglycoside e	131752164	780,47	2,578	13	8	Rejected
13	terpenoid	goyaglycoside f	85237911	780,47	2,82	13	8	Rejected
14	terpenoid	momordicoside C	71717037	800,49	3,134	14	10	Rejected
15	terpenoid	goyaglycoside g	131752341	810,48	2,496	14	8	Rejected
16	terpenoid	karaviloside V	56776211	812,49	3,148	14	9	Rejected
17	terpenoid	goyaglycoside h	85203191	814,47	1,604	15	10	Rejected
18	terpenoid	momorcharaside A	131861	816,49	2,373	15	11	Rejected
19	terpenoid	momordicoside A	71717038	816,49	2,625	15	11	Rejected
20	saponin	goyasaponin I	85221492	1378,6	-1,096	31	16	Rejected
21	saponin	goyasaponin II	85279625	1510,7	-1,883	35	18	Rejected
22	alkaloid	vicine	135413566	304,1	-2,859	11	9	Rejected
23	other	lycopene	446925	536,44	6,95	0	0	Rejected
24	other	phytofluene	6436722	542,49	9,746	0	0	Rejected

Lampiran 3

HASIL UJI PREDIKSI FITOKIMIA BUAH PARE YANG BERSIFAT TOKSIK

No	Category	CompoundName	CID	H-HT	DILI	ROA
1	phenolics	p-coumaric acid	637542	0,673	0,2	0,796
2	phenolics	vanillic acid	8468	0,224	0,857	0,053
3	phenolics	gallic acid	370	0,433	0,852	0,03
4	phenolics	caffeic acid	689043	0,73	0,365	0,833
5	phenolics	ferulic acid	445858	0,345	0,511	0,733
6	flavonoid	kaempferol	5280863	0,098	0,979	0,156
7	flavonoid	quercetin	5280343	0,1	0,98	0,065
8	terpenoid	kuguacin M	49768549	0,165	0,051	0,701
9	terpenoid	kuguacin C	24814304	0,287	0,071	0,865
10	terpenoid	kuguacin E	24814301	0,312	0,195	0,93
11	terpenoid	kuguacin K	49768547	0,153	0,588	0,909
12	terpenoid	kuguacin B	24814303	0,201	0,031	0,804
13	terpenoid	karavilagenin D	57330179	0,467	0,051	0,921
14	terpenoid	kuguacin N	25243361	0,149	0,048	0,938
15	terpenoid	karavilagenin B	16079962	0,203	0,167	0,913
16	terpenoid	karavilagenin C	46182790	0,202	0,235	0,874
17	terpenoid	momordicine I	101293615	0,118	0,043	0,93
18	terpenoid	kuguacin Q	49768553	0,306	0,337	0,73
19	terpenoid	kuguacin R	101701144	0,243	0,023	0,862
20	terpenoid	kuguacin F	25243283	0,188	0,226	0,88
21	terpenoid	karavilagenin A	16079963	0,191	0,251	0,892
22	terpenoid	kuguacin G	25243284	0,155	0,306	0,959
23	terpenoid	cucurbitacin B	5281316	0,095	0,367	0,93
24	terpenoid	cucurbitacin A	5281315	0,084	0,395	0,943
25	terpenoid	goyaglycoside h	85203191	0,173	0,147	0,929
26	alkaloid	vicine	135413566	0,98	0,982	0,176
27	other	lycopene	446925	0,764	0,019	0,009
28	other	phytofluene	6436722	0,798	0,003	0

Lampiran 4

DATA BERAT BADAN POST ADAPTASI

Tests of Normality

Kelompok tikus		Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BB Post adaptasi	Tikus sehat	,168	8	,200(*)	,961	8	,819
	Tikus sakit	,323	8	,014	,796	8	,026
	Tikus pare 1	,200	8	,200(*)	,958	8	,790
	Tikus pare 2	,212	8	,200(*)	,842	8	,079

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

BB Post adaptasi

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,950	3	28	,430

Descriptives

Kelompok tikus			Statistic	Std. Error	
BB Post adaptasi	Tikus sehat	Mean	282,88	4,168	
		95% Confidence Interval for Mean	273,02		
		Lower Bound	292,73		
		Upper Bound	292,73		
		5% Trimmed Mean	282,92		
		Median	285,00		
		Variance	138,982		
		Std. Deviation	11,789		
		Minimum	265		
		Maximum	300		
		Range	35		
		Interquartile Range	20		
		Skewness	-,284		,752
		Kurtosis	-,758		1,481
	Tikus sakit	Mean	205,63	2,645	
	95% Confidence Interval for Mean	199,37			
Lower Bound	211,88				
Upper Bound	211,88				
5% Trimmed Mean	206,03				
Median	208,00				
Variance	55,982				
Std. Deviation	7,482				
Minimum	192				
Maximum	212				

	Range		20	
	Interquartile Range		12	
	Skewness		-1,277	,752
	Kurtosis		,187	1,481
Tikus pare 1	Mean		227,13	2,774
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	220,57	
		Upper Bound	233,68	
	Mean		227,08	
	5% Trimmed Mean		226,50	
	Median		61,554	
	Variance		7,846	
	Std. Deviation		216	
	Minimum		239	
	Maximum		23	
	Range		13	
	Interquartile Range		,171	,752
	Skewness		-1,124	1,481
	Kurtosis			
Tikus pare 2	Mean		250,25	5,243
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	237,85	
		Upper Bound	262,65	
	Mean		251,28	
	5% Trimmed Mean		253,50	
	Median		219,929	
	Variance		14,830	
	Std. Deviation		218	
	Minimum		264	
	Maximum		46	
	Range		17	
	Interquartile Range		-1,659	,752
	Skewness		3,263	1,481
	Kurtosis			

Lampiran 5

DATA BERAT BADAN POST DIIT TINGGI LEMAK

Tests of Normality

Kelompok tikus		Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
BB post diit tinggi lemak	Tikus sehat	,119	8	,200(*)	,994	8	,999
	Tikus sakit	,177	8	,200(*)	,970	8	,894
	Tikus pare 1	,173	8	,200(*)	,970	8	,899
	Tikus pare 2	,187	8	,200(*)	,910	8	,353

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

Test of Homogeneity of Variances

BB post diit tinggi lemak

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,855	3	28	,160

ANOVA

BB post diit tinggi lemak

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	11148,125	3	3716,042	5,702	,004
Within Groups	18247,750	28	651,705		
Total	29395,875	31			

Descriptives

Kelompok tikus		Statistic	Std. Error
BB post diit tinggi lemak	Tikus sehat	Mean	273,88
		95% Confidence Interval for Mean	249,28
		Lower Bound	298,47
		Upper Bound	273,97
		5% Trimmed Mean	272,00
		Median	865,268
		Variance	29,415
		Std. Deviation	226
		Minimum	320
		Maximum	94
		Range	43
		Interquartile Range	-,076
		Skewness	,752
		Kurtosis	1,481

Tikus sakit	Mean		244,38	5,085
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	232,35	
		Upper Bound	256,40	
	Mean		244,47	
	5% Trimmed Mean		246,00	
	Median		206,839	
	Variance		14,382	
	Std. Deviation		222	
	Minimum		265	
	Maximum		43	
	Range		23	
	Interquartile Range		- ,221	
	Skewness		,752	
	Kurtosis		- ,888	
Tikus pare 1	Mean		267,25	4,985
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	255,46	
		Upper Bound	279,04	
	Mean		267,06	
	5% Trimmed Mean		266,00	
	Median		198,786	
	Variance		14,099	
	Std. Deviation		246	
	Minimum		292	
	Maximum		46	
	Range		19	
	Interquartile Range		,439	
	Skewness		,752	
	Kurtosis		,438	
Tikus pare 2	Mean		296,75	12,923
	95% Confidence Interval for	Lower Bound	266,19	
		Upper Bound	327,31	
	Mean		298,61	
	5% Trimmed Mean		301,50	
	Median		1335,92	
	Variance		9	
	Std. Deviation		36,550	
	Minimum		222	
	Maximum		338	
	Range		116	
	Interquartile Range		48	
	Skewness		-1,208	
	Kurtosis		,752	
		2,008		
		1,481		

Lampiran 6

DATA GDP NON STZ DAN POST STZ HARI KE 9

Test of Homogeneity of Variances

GDP POST STZ MULTI DOSE

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
13,568	3	28	,000

ANOVA

GDP POST STZ MULTI DOSE

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	752535,344	3	250845,115	51,756	,000
Within Groups	135706,625	28	4846,665		
Total	888241,969	31			

Tests of Normality

Kelompok tikus	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GDP POST Tikus sehat	,268	8	,093	,817	8	,043
STZ MULTI Tikus sakit	,204	8	,200(*)	,936	8	,569
DOSE Tikus pare 1	,252	8	,145	,866	8	,139
Tikus pare 2	,147	8	,200(*)	,957	8	,780

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

Descriptives

Kelompok tikus	Statistic	Std. Error	
GDP POST STZ MULTI DOSE Tikus sehat	Mean	97,63	
	95% Confidence Interval for Mean	2,884	
	Lower Bound	90,80	
	Upper Bound	104,45	
	5% Trimmed Mean	98,19	
	Median	100,50	
	Variance	66,554	
	Std. Deviation	8,158	
	Minimum	80	
	Maximum	105	
	Range	25	
	Interquartile Range	10	
	Skewness	-1,720	,752
	Kurtosis	3,026	1,481
Tikus sakit	Mean	394,88	
		19,867	

	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	347,90	
		Upper Bound	441,85	
	5% Trimmed Mean		395,42	
	Median		405,00	
	Variance		3157,55	
			4	
	Std. Deviation		56,192	
	Minimum		308	
	Maximum		472	
	Range		164	
	Interquartile Range		93	
	Skewness		-,449	,752
	Kurtosis		-,754	1,481
Tikus pare 1	Mean		454,38	37,261
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	366,27	
		Upper Bound	542,48	
	5% Trimmed Mean		455,86	
	Median		465,00	
	Variance		11107,1	
			25	
	Std. Deviation		105,390	
	Minimum		310	
	Maximum		572	
	Range		262	
	Interquartile Range		195	
	Skewness		-,190	,752
	Kurtosis		-2,141	1,481
Tikus pare 2	Mean		483,00	25,138
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	423,56	
		Upper Bound	542,44	
	5% Trimmed Mean		484,67	
	Median		489,50	
	Variance		5055,42	
			9	
	Std. Deviation		71,102	
	Minimum		365	
	Maximum		571	
	Range		206	
	Interquartile Range		124	
	Skewness		-,518	,752
	Kurtosis		-,731	1,481

Multiple Comparisons

Dependent Variable: GDP POST STZ MULTI DOSE

LSD

(I) Kelompok tikus	(J) Kelompok tikus	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Upper Bound	Lower Bound
Tikus sehat	Tikus sakit	-297,250(*)	34,809	,000	-368,55	-225,95
	Tikus pare 1	-356,750(*)	34,809	,000	-428,05	-285,45
	Tikus pare 2	-385,375(*)	34,809	,000	-456,68	-314,07
Tikus sakit	Tikus sehat	297,250(*)	34,809	,000	225,95	368,55
	Tikus pare 1	-59,500	34,809	,098	-130,80	11,80
	Tikus pare 2	-88,125(*)	34,809	,017	-159,43	-16,82
Tikus pare 1	Tikus sehat	356,750(*)	34,809	,000	285,45	428,05
	Tikus sakit	59,500	34,809	,098	-11,80	130,80
	Tikus pare 2	-28,625	34,809	,418	-99,93	42,68
Tikus pare 2	Tikus sehat	385,375(*)	34,809	,000	314,07	456,68
	Tikus sakit	88,125(*)	34,809	,017	16,82	159,43
	Tikus pare 1	28,625	34,809	,418	-42,68	99,93

* The mean difference is significant at the .05 level.

Lampiran 7

DATA KADAR INSULIN SETELAH 28 HARI PERLAKUAN

Test of Homogeneity of Variances

KADAR INSULIN SETLH 28 HARI

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,177	3	27	,337

ANOVA

KADAR INSULIN SETLH 28 HARI

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	35162,959	3	11720,986	53,068	,000
Within Groups	5963,433	27	220,868		
Total	41126,392	30			

Tests of Normality

	Kelompok tikus	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
KADAR	Tikus sehat	,223	8	,200(*)	,905	8	,319
INSULIN	Tikus sakit	,381	8	,001	,659	8	,001
SETLH 28	Tikus pare 1	,226	8	,200(*)	,879	8	,186
HARI	Tikus pare 2	,192	7	,200(*)	,977	7	,942

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

Descriptives

Kelompok tikus		Statistic	Std. Error
KADAR INSULIN SETLH 28 HARI	Tikus sehat	Mean	99.91
		95% Confidence Interval for Mean	88.77
		Lower Bound	111.05
		Upper Bound	
		5% Trimmed Mean	99.55
		Median	99.67
		Variance	177,513
	Tikus sakit	Std. Deviation	13.323
		Minimum	84
		Maximum	122
		Range	37
		Interquartile Range	21
		Skewness	,379
		Kurtosis	-1,193
	Mean	22.39	
	Lower Bound	9.98	

		95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	34.80	
		5% Trimmed Mean		21.05	
		Median		17.96	
		Variance		220,282	
		Std. Deviation		14.842	
		Minimum		11	
		Maximum		58	
		Range		47	
		Interquartile Range		7	
		Skewness		2,486	,752
		Kurtosis		6,607	1,481
	Tikus pare 1	Mean		45.00	2.798
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	38.39	
			Upper Bound	51.62	
		5% Trimmed Mean		45.06	
		Median		43.82	
		Variance		62,608	
		Std. Deviation		7,913	
		Minimum		35	
		Maximum		54	
		Range		19	
		Interquartile Range		17	
		Skewness		-,027	,752
		Kurtosis		-1,697	1,481
	Tikus pare 2	Mean		98.16	8.078
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	78.39	
			Upper Bound	117.92	
		5% Trimmed Mean		97.85	
		Median		98.11	
		Variance		456,768	
		Std. Deviation		21.372	
		Minimum		69	
		Maximum		133	
		Range		65	
		Interquartile Range		34	
		Skewness		,386	,794
		Kurtosis		,174	1,587

Dependent Variable: KADAR INSULIN SETLH 28 HARI
LSD

(I) Kelompok tikus	(J) Kelompok tikus	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Upper Bound	Lower Bound
Tikus sehat	Tikus sakit	77.515(*)	7.431	,000	62.27	92.76
	Tikus pare 1	54.905(*)	7.431	,000	39.66	70.15
	Tikus pare 2	1.750	7.692	,822	-14.03	17.53
Tikus sakit	Tikus sehat	-77.515(*)	7.431	,000	-92.76	-62.27
	Tikus pare 1	-22.611(*)	7.431	,005	-37.86	-7.36
	Tikus pare 2	-75.765(*)	7.692	,000	-91.55	-59.98
Tikus pare 1	Tikus sehat	-54.905(*)	7.431	,000	-70.15	-39.66
	Tikus sakit	22.611(*)	7.431	,005	7.36	37.86
	Tikus pare 2	-53.154(*)	7.692	,000	-68.94	-37.37
Tikus pare 2	Tikus sehat	-1.750	7.692	,822	-17.53	14.03
	Tikus sakit	75.765(*)	7.692	,000	59.98	91.55
	Tikus pare 1	53.154(*)	7.692	,000	37.37	68.94

* The mean difference is significant at the .05 level.

Test of Homogeneity of Variances
GDP POST 28 HARI PERLAKUAN

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5,587	3	27	,004

ANOVA
GDP POST 28 HARI PERLAKUAN

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	587467,052	3	195822,351	35,122	,000
Within Groups	150536,625	27	5575,431		
Total	738003,677	30			

Tests of Normality

	Kelompok tikus	Kolmogorov-Smirnov(a)			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
GDP POST 28 HARI PERLAKUAN	Tikus sehat	,141	8	,200(*)	,958	8	,790
	Tikus sakit	,170	8	,200(*)	,923	8	,454
	Tikus pare 1	,250	8	,149	,836	8	,068
	Tikus pare 2	,285	7	,089	,826	7	,074

* This is a lower bound of the true significance.

a Lilliefors Significance Correction

Descriptives

	Kelompok tikus		Statistic	Std. Error
GDP POST 28 HARI PERLAKUAN	Tikus sehat	Mean	87,38	3,380
		95% Confidence Interval for Mean	79,38	
		Lower Bound		
		Upper Bound	95,37	
		5% Trimmed Mean	87,25	
		Median	85,50	
		Variance	91,411	
		Std. Deviation	9,561	
	Tikus sakit	Mean	384,38	32,778
		95% Confidence Interval for Mean	306,87	
		Lower Bound		
		Upper Bound		
		5% Trimmed Mean		
		Median		
		Variance		
		Std. Deviation		

	95% Confidence Interval for Mean	Upper Bound	461,88	
	5% Trimmed Mean		381,86	
	Median		387,00	
	Variance		8595,125	
	Std. Deviation		92,710	
	Minimum		281	
	Maximum		533	
	Range		252	
	Interquartile Range		167	
	Skewness		,320	,752
	Kurtosis		-1,223	1,481
Tikus pare 1	Mean		340,88	37,078
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	253,20	
		Upper Bound	428,55	
	5% Trimmed Mean		347,97	
	Median		374,50	
	Variance		10998,125	
	Std. Deviation		104,872	
	Minimum		121	
	Maximum		433	
	Range		312	
	Interquartile Range		142	
	Skewness		-1,563	,752
	Kurtosis		2,271	1,481
Tikus pare 2	Mean		451,00	17,419
	95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	408,38	
		Upper Bound	493,62	
	5% Trimmed Mean		450,72	
	Median		477,00	
	Variance		2124,000	
	Std. Deviation		46,087	
	Minimum		399	
	Maximum		508	
	Range		109	
	Interquartile Range		81	
	Skewness		-,186	,794
	Kurtosis		-2,373	1,587

Multiple Comparisons

Dependent Variable: GDP POST 28 HARI PERLAKUAN

LSD

(I) Kelompok tikus	(J) Kelompok tikus	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Upper Bound	Lower Bound
Tikus sehat	Tikus sakit	-297,000(*)	37,334	,000	-373,60	-220,40
	Tikus pare 1	-253,500(*)	37,334	,000	-330,10	-176,90
	Tikus pare 2	-363,625(*)	38,645	,000	-442,92	-284,33
Tikus sakit	Tikus sehat	297,000(*)	37,334	,000	220,40	373,60
	Tikus pare 1	43,500	37,334	,254	-33,10	120,10
	Tikus pare 2	-66,625	38,645	,096	-145,92	12,67
Tikus pare 1	Tikus sehat	253,500(*)	37,334	,000	176,90	330,10
	Tikus sakit	-43,500	37,334	,254	-120,10	33,10
	Tikus pare 2	-110,125(*)	38,645	,008	-189,42	-30,83
Tikus pare 2	Tikus sehat	363,625(*)	38,645	,000	284,33	442,92
	Tikus sakit	66,625	38,645	,096	-12,67	145,92
	Tikus pare 1	110,125(*)	38,645	,008	30,83	189,42

* The mean difference is significant at the .05 level.

Mechanism of Bitter Melon as an Antidiabetic Agent in Type 2 Diabetes Mellitus: An In-silico Study

Roni Yuliwar¹⁾, Heny Astutik²⁾, and Nurma Sabila

¹⁾ Poltekkes Kemenkes Malang

²⁾ Poltekkes Kemenkes Malang

³⁾ Poltekkes Kemenkes Malang

E - mail : r.yuliwar@email.com

Abstract: *Bitter melon (Momordica charantia L), an herb from the Cucurbitaceae family, has shown potential as an agent for lowering blood glucose in hyperglycemic conditions. However, further research is required to understand the biomolecular mechanisms by which bitter melon reduces blood glucose in type 2 diabetes mellitus (DM). This study aims to identify the biomolecular mechanisms of bitter melon on insulin receptor substrate 1 (IRS-1) in type 2 DM conditions. The research was conducted using an in silico approach, specifically through pharmacology network analysis using the STRING DB V.12 database with the Homo sapiens parameter and a full STRING network. The data were then processed using Cytoscape V.10.2. The pharmacology network analysis results showed that bitter melon bioactive compounds initially interact with 8 proteins—ESR1, PIK3R1, IKBKG, FYN, PTPN11, EGFR, and PTPN1. These proteins subsequently activate IRS-1 indirectly. Bitter melon has the potential to enhance IRS-1 activation indirectly. Its bioactive compounds interact with specific proteins, which then interact with IRS-1, thus contributing to glucose regulation.*

Keywords: *Bitter melon, in silico study, type 2 DM*

DOKUMENTASI PENELITIAN



