

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetes Mellitus

2.1.1. Definisi

Diabetes mellitus (DM) didefinisikan sebagai suatu penyakit atau gangguan metabolisme kronis dengan multi-etologi yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah, disertai dengan gangguan metabolisme karbohidrat, lipid, dan protein sebagai akibat insufisiensi fungsi insulin. Insufisiensi fungsi insulin dapat disebabkan oleh gangguan atau defisiensi produksi insulin oleh sel-sel beta langerhans kelenjar pankreas, atau disebabkan oleh kurang responsifnya sel-sel tubuh terhadap insulin (WHO, 2006).

2.1.2. Klasifikasi

Berikut merupakan klasifikasi diabetes mellitus :

a. Diabetes Mellitus tipe 1

Diabetes Mellitus tipe 1 disebabkan idiopatik atau dapat melalui proses imunologik yang menyebabkan terjadinya destruksi sel beta pankreas, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut. Karena penyebab DM tipe 1 adalah autoimun, maka penyebaran umum penderita DM tipe 1 cukup beragam, kebanyakan pada usia muda, namun juga dapat terjadi pada usia tua (Dipiro *et al.*, 2008).

b. Diabetes Mellitus tipe 2

Diabetes Mellitus tipe 2 merupakan gangguan metabolik kronik yang diakibatkan predominan resistensi insulin yang ditandai dengan hiperinsulinemia disertai penurunan

fungsi ginjal sampai yang predominan gangguan sekresi insulin bersama resistensi insulin. Kebanyakan penderita DM tipe 2 mengalami obesitas sebagai faktor predeposisinya. Kondisi obesitas juga menjadi penyebab abnormalitas fungsi insulin (Kahn *et al.*, 2000; Shealson *et al.*, 2007).

c. Diabetes Tipe Lain

Penyebab lain dari diabetes, sebanyak kurang dari 5 % dari kasus, seperti pankreas rusak (misalnya pankreatitis), hambatan sekresi insulin (misalnya cacat genetik sel beta), penginduksi resistensi insulin (misalnya obat anti HIV protease inhibitor), atau meningkatnya hormon *counter regulatory* (misalnya sindrom Cushing) (McPhee dan William, 2005).

d. Diabetes Mellitus Gestasional

Intoleransi glukosa yang terjadi atau pertama kali ditemukan saat hamil diklasifikasikan sebagai diabetes gestasional. Selama kehamilan dapat terjadi intoleransi glukosa dan resistensi insulin yang diakibatkan oleh perubahan metabolisme pada akhir kehamilan dan kebutuhan insulin yang meningkat (Fauci *et al.*, 2008).

2.1.3. Diagnosa Diabetes Mellitus Tipe 2

Berdasarkan *IDF Global Guideline for Diabetes Type 2* tahun 2012, seseorang dikatakan terdiagnosa DM ketika kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L), kadar glukosa darah 2 jam setelah konsumsi glukosa ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L), kadar glukosa darah acak ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L), dan hemoglobin terglikasi $HbA_{1c} \geq 6,5\%$ (48 mmol/mol). Secara umum diabetes mellitus ditandai dengan adanya poliuria, pilodipsi, polifagia, penurunan berat badan, kesemutan, mata kabur (Dipiro *et al.*, 2008).

2.1.4. Patofisiologi

Diabetes mellitus tipe 2 ditandai dengan gangguan sekresi insulin, resistensi insulin, produksi glukosa hepar yang berlebihan, dan metabolisme lemak yang abnormal. Obesitas, khususnya bagian visceral atau central, umumnya terjadi pada pasien diabetes mellitus tipe 2. Pada tahap awal dari penyakit ini, nilai toleransi glukosa mendekati normal meskipun terjadi resistensi insulin karena sel beta pankreas mengkompensasi dengan meningkatkan sekresi insulin. Pada saat resistensi insulin dan selama kompensasi hiperinsulinemia, sel pankreas pada individu tertentu sulit untuk mempertahankan status hiperinsulinemia. Selanjutnya pada sekresi insulin yang menurun dan peningkatan produksi glukosa hepar menyebabkan diabetes yang jelas dengan hiperglikemia dan akhirnya kerusakan sel beta pancreas akan terjadi (Stumvoll, 2008).

2.1.5. Terapi Diabetes Mellitus Tipe 2

Tujuan terapi pada penderita diabetes mellitus antara lain mengurangi komplikasi mikrovaskular dan makrovaskular dalam jangka panjang, mencegah terjadinya komplikasi akut dari peningkatan kadar glukosa darah, meminimalisasi episode hipoglikemik, menjaga dan meningkatkan kualitas hidup pasien (Dipiro et al, 2008). Adapun agen terapi farmakologi penderita diabetes sebagai berikut :

- a. Biguanida (metformin) merupakan antidiabetes yang bekerja dengan cara menurunkan glukoneogenesis hepatic dan meningkatkan penyerapan *insulin-stimulated glucose* oleh otot dan jaringan adipose (Koda-Kimbel et al.,2009)
- b. *Nonsulfonylurea Insulin Secreagogues* (Repaglinide dan nateglinide) merupakan agen antidiabetes yang bekerja dengan cara menutup channel dari

ATP-sensitive potassium yang mana akan menyebabkan depolarisasi sel membrane, terjadi influx dari Ca^{2+} , dan sekresi insulin(Koda-Kimbel *et al.*,2009)

- c. Sulfonilurea (glipizide, gliburida, glimepirid, dan lain lain) merupakan agen diabetes yang bekerja dengan cara menstimulasi pelepasan insulin dari sel beta pancreas dan meningkatkan sensitivitas sel β pancreas terhadap insulin. Sulfonilurea menghambat *channel* dari kalium di sel beta pankreas, selanjutnya memblokir *efflux* dari kalium dan menurunkan potensial membrane yang menyebabkan terjadinya polarisasi (Koda-Kimbel *et al.*,2009)
- d. Thiazolidinediones (Rosiglitazone dan pioglitazon), bekerja dengan cara mengikat dan mengaktifkan reseptor nuklear (PPAR γ) yang mana terekspresi pada banyak jaringan sensitif insulin seperti adiposa, otot, dan hepar. PPAR- γ meregulasi transkripsi gen yang berpengaruh terhadap metabolisme lipid dan glukosa (Koda-Kimbel *et al.*, 2009)
- e. *Glucosidase Inhibitor* (Acarbose dan miglitol), bekerja dengan menghambat enzim glukosidase yang ada pada mukosa pada usus halus, yang mana enzim glukosidase berperan sebagai pembongkaran polisakarida dan sakarida menjadi glukosa (Koda-Kimbel *et al.*, 2009)
- f. *Glucagonlike Peptide-1 Receptor Agonists* (GLP-1 Mimetics/Analog) (exenitide), merupakan satu dari dua enzim yang disekresikan dari usus untuk meningkatkan sekresi insulin saat terjadi konsumsi glukosa. GLP-1 dapat menurunkan sekresi glukagon, memperlambat pengosongan lambung dan menurunkan nafsu makan (Bruton *et al.*, 2008).

g. Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor (DPP-4 Inhibitor), bekerja dengan menghambat enzim DPP-4 dalam menginaktivasi GLP-1, sehingga masa hidup GLP-1 dapat lebih panjang (Dipiro *et al.*, 2008). Oleh karena itu, dapat menurunkan glukosa *postprandial* atau setelah makan (Bruton *et al.*, 2008).

h. Hormon Insulin

Pada tahap akhir terapi diabetes tipe 2, pemberian hormon insulin endogen dilakukan sehingga jumlah insulin dalam tubuh cukup. Insulin memiliki peran penting dalam metabolisme karbohidrat dan lemak (Dipiro *et al.*, 2008; Bruton *et al.*, 2008).

2.2. Insulin

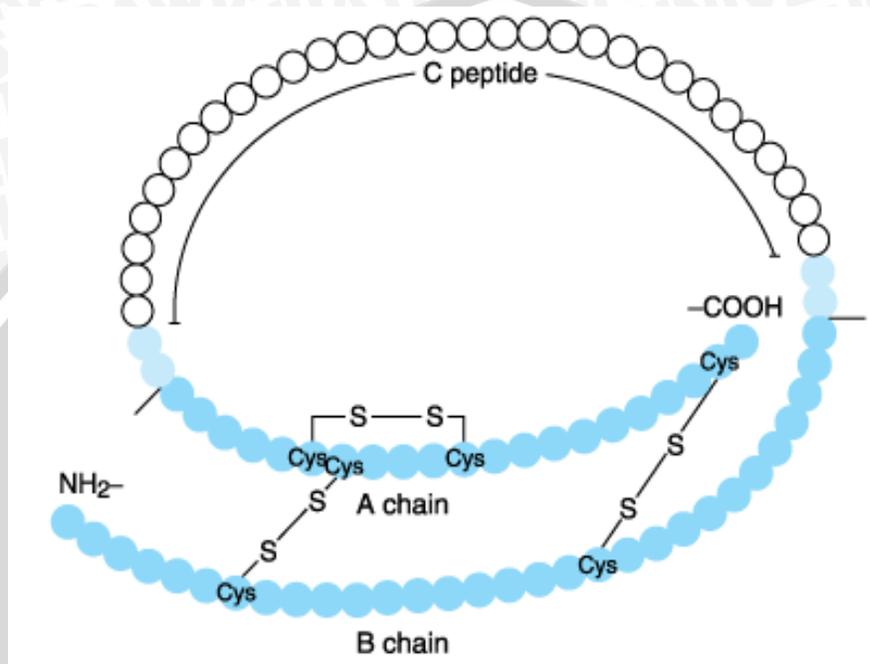
2.2.1. Definisi

Insulin adalah hormon yang dihasilkan oleh sel beta pankreas yang berfungsi sebagai isyarat hormonal pada keadaan makan. Insulin diekskresi sebagai respon terhadap peningkatan kadar glukosa dalam darah. Insulin meningkatkan pemasukan glukosa, protein dan lipolisis. Sekresinya juga dipengaruhi oleh hormon pencernaan dan aktivitas autonom (Dorland, 2006).

2.2.2. Struktur

Insulin merupakan polipeptida yang terdiri atas dua rantai, yaitu rantai A dan B, yang saling dihubungkan oleh dua jembatan disulfide antar rantai yang menghubungkan A7 ke B7 dan A20 ke B19, seperti pada gambar 2.1. Jembatan Disulfida intra rantai yang ketiga menghubungkan residu 6 dan 11 pada rantai A. Lokasi ketiga jembatan disulfidan ini

selalu tetap dan rantai A serta B masing – masing mempunyai 21 dan 30 asam amino pada sebagian besar spesies. Massa molekul insulin adalah 5,734 kDa (Murray, 2006)



Gambar 2.1. Struktur Insulin (McFee, 2006).

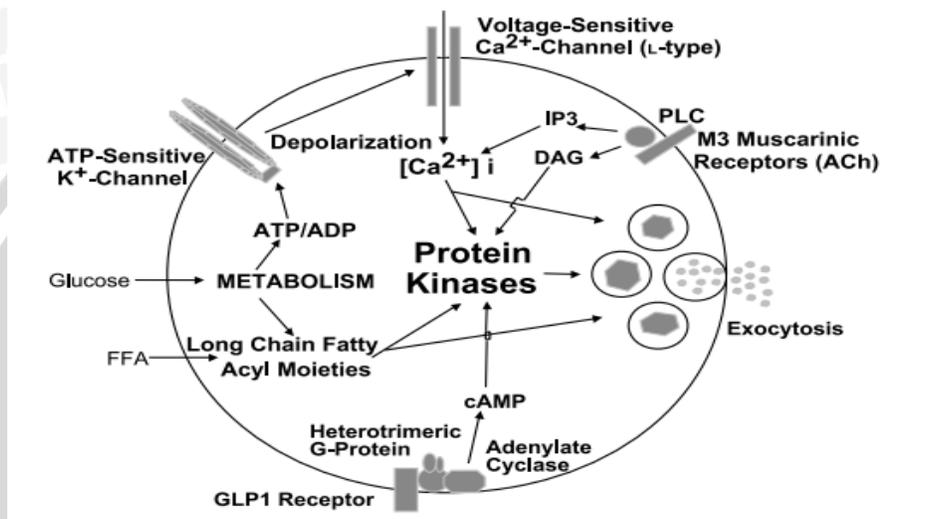
2.2.3. Sintesis Insulin

Insulin dihasilkan kelenjar sel beta pankreas. Dalam keadaan normal, bila ada rangsangan glukosa pada sel beta, insulin disintesis dan selanjutnya diekskresikan ke dalam darah sesuai kebutuhan tubuh dalam regulasi glukosa darah (Greenspan dan Baxter, 2000).

Sintesis insulin dimulai dalam bentuk preproinsulin (*precursor hormone insulin*) pada retikulum endoplasma sel beta. Dengan bantuan enzim peptidase, preproinsulin mengalami pemecahan sehingga terbentuk proinsulin, yang kemudian dihimpun dalam gelembung – gelembung peptidase, proinsulin diurai menjadi insulin dan peptide-C (*C-peptide*) yang keduanya telah siap untuk diekskresikan secara bersamaan melalui

membrane sel. Mekanisme secara fisiologis diperlukan bagi berlangsungnya proses metabolisme glukosa, sehubungan dengan fungsi insulin dalam proses pembentukan glukosa dalam tubuh (Greenspan dan Baxter, 2000).

2.2.4. Sekresi Insulin



Gambar 2.2. Regulasi Sekresi Insulin (Rhodes dan White, 2010)

Gambar di atas menjelaskan bagaimana regulasi sekresi insulin. Glukosa adalah kunci dari regulasi sekresi insulin. Regulasi terjadi melalui proses dari *stimulus-secretion coupling*. Paparan glukosa akan meningkatkan rasio ATP : ADP dan menyebabkan penutupan *ATP-sensitive K⁺ channel*. Peningkatan rasio ATP : ADP akan menyebabkan depolarisasi dan menstimulasi pembukaan *voltage-dependent Ca²⁺*. Resultan influx *Ca²⁺* menyebabkan peningkatan konsentrasi *Ca²⁺* sitosolik dan mempromosi eksositosis yang merupakan efek mediasi dari protein Kinase C atau *direct stimulation* dari granul sekretori (Rhodes dan White, 2002). Walaupun glukosa merupakan stimulus primer, beberapa molekul lain seperti FFA, asam amino dan asam keto juga mempengaruhi *stimulus-secretion coupling*. Selain itu, sejumlah hormone dan neuromodulator menstimulasi

sekresi insulin, termasuk *glucagon-like polypeptide-1* (GLP-1) yang dapat meningkatkan level cAMP dan mengaktivasi protein kinase C melewati reseptor *G-protein-coupled*. Jalur lainnya beraksi melalui pengikatan agen kolinergik pada reseptor muskarinik yang menstimulasi produksi dari inositol trifosfat (IP3), diasilgliserol (DAG) dan selanjutnya meningkatkan konsentrasi kalsium intraseluler dan mempromosi aktivitas protein kinase C. Namun, mekanisme pasti yang menghubungkan antara Ca^{2+} dan hubungannya dengan protein kinase C menginduksi transpor dari granul sekretori masih belum jelas (Rhodes dan White, 2002). Pada kondisi Diabetes Mellitus terjadi penurunan sekresi insulin dan kerusakan sel beta langerhans, sehingga menyebabkan meningkatnya glukosa darah (Donnath *et al.*, 2003).

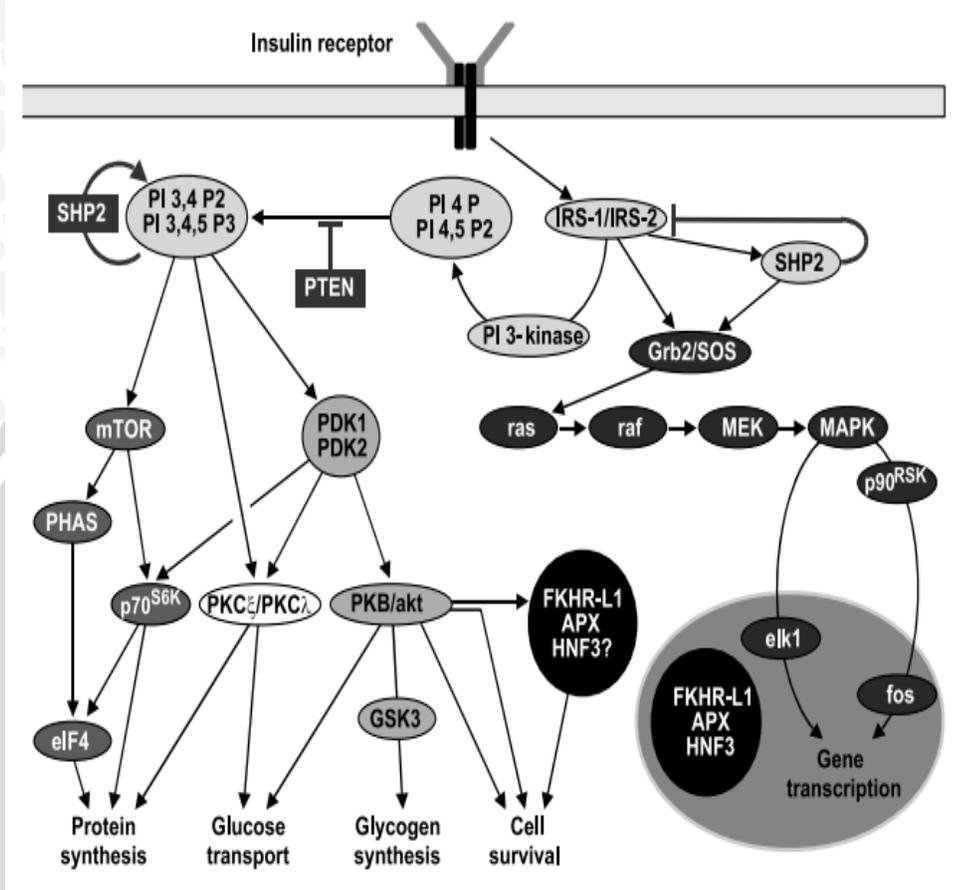
2.2.5. Signalling Insulin

Insulin diproduksi oleh sel β -langerhans di pankreas yang berfungsi mengatur keseimbangan glukosa darah, dalam kondisi basal (tidak ada makanan) maupun *postprandial* (setelah makan). Makanan yang masuk ke dalam saluran cerna selanjutnya akan dimetabolisme menjadi bentuk yang lebih sederhana yaitu glukosa agar mudah diserap oleh sel tubuh. Tingginya kadar glukosa dalam darah akan menstimulasi sel β -langerhans pankreas untuk memproduksi insulin (Thorrel *et al.*, 1999; Pessin *et al.*, 2000). Insulin disekresikan oleh pankreas ke aliran darah untuk dibawa ke target organ. Pada target organ terdapat *Insulin Receptor Substrate* (IRS) yang akan berikatan dengan hormon insulin. IRS memiliki 2 bagian utama, yakni subunit α yang berada di ekstraseluler berfungsi untuk berikatan dengan hormon insulin dan subunit β yang berada di intraseluler yang merupakan lokasi dari tirosin kinase (Pessin *et al.*, 2000; Taha *et al.*, 1999). Ketika hormon insulin berikatan dengan subunit α di ekstraseluler, sinyal akan diteruskan ke

tirosin kinase yang berada di subunit β dan mengaktivasi tirosin kinase (Rhodes dan White, 2002).

Aktivasi pada tirosin kinase merupakan awal dari transduksi sinyal insulin yang berpengaruh pada kerja insulin. Tirosin kinase yang teraktivasi akan mengalami autofosforilasi atau penambahan gugus fosfat (Tahaet *al.*, 1999; Thorell *et al.*, 1999; Rhodes *et al.*, 2002; Pessin *et al.*, 2000). Fosforilasi tirosin kinase terjadi melalui pendonoran gugus fosfat oleh ATP (*adenosin triphosphat*), sehingga ATP mengalami defosforilasi. Hasil kerja insulin tergantung pada sel yang teraktivasi dari transmisi sinyal. Pada jaringan otot dan lemak, insulin menstimulasi jalur *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI 3-kinase) yang meregulasi lokalisasi *glucose transporter* (GLUT-4) dan merangsang penyimpanan glukosa sebagai glikogen di otot atau sebagai trigliserida di jaringan adiposa. Pada sel β langerhans di pankreas, PI 3-kinase berfungsi untuk pertumbuhan dan metabolisme sel sehingga tidak mengalami kematian (Rhodes dan White., 2002).

Saat jalur PI 3-kinase teraktivasi maka PP (Phosphat Protein) menstimulasi GLUT-4 untuk berpindah ke permukaan sel (Pessin *et al.*, 2000; Rhodes dan White., 2002). GLUT-4 sebagai pembawamasuknya glukosa ke dalam sel. Pemasukan glukosa ke dalam sel mengakibatkan kadar glukosa di dalam darah menurun sehingga stimulasi untuk memproduksi insulin ke sel β langerhans berhenti (Pessin *et al.*, 2000). Gambar di bawah ini menjelaskan bagaimana terjadinya *signalling* insulin :



Gambar 2.3. Jalur Signalling Insulin (Rhodes dan White, 2002)

2.2.6. Resistensi Insulin pada Diabetes Mellitus Tipe II

Keadaan hiperglikemia menyebabkan peningkatan ROS. *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau *Reactive Nitrogen Species* (RNS) dan berbagai isoform dari Protein Kinase C (PKC) dapat memicu aktivasi mediator proinflamasi (Sulistyoningrum, 2010)

Resistensi insulin diinduksi oleh sintesis beberapa sitokin proinflamatori diantaranya TNF- α , IL-1 α/β , IL-6 (Shoelson *et al.*, 2007; Tilg *et al.*, 2007). Menurut Tigl *et al* (2007) menyebutkan bahwa pada kondisi obesitas terdapat penumpukan

jaringan adiposa yang meningkatkan ekspresi TNF- α , akibatnya terjadi hambatan fosforilasi di IRS-1.

IL-1 β merupakan sitokin yang memiliki efek inflamasi besar dan memiliki fungsi yang berbeda dalam regulasi insulin. IL-1 β meningkatkan resistensi insulin (Shoelson *et al.*, 2007). IL-1 β menurunkan ekspresi IRS-1 sehingga berkontribusi terhadap resistensi insulin, secara sinergis IL-1 β dan IL-6 meningkatkan resiko diabetes tipe 2 (Tilg *et al.*, 2007).

IL-6 diproduksi di jaringan adiposa abdominal tiga kali lebih banyak dibandingkan dengan jaringan adiposa subkutan. Sehingga, pada kondisi obesitas terdapat peningkatan produksi IL-6. Penurunan konsentrasi IL-6 di sirkulasi darah menyebabkan peningkatan sensitivitas insulin, khususnya di hepar. Begitu juga sebaliknya, tingginya konsentrasi IL-6 dalam sirkulasi darah secara terus menerus dapat menghambat autofosforilasi di IRS dan *downstream signaling* insulin (Shoelson *et al.*, 2007).

Peningkatan sirkulasi pada level konsentrasi asam lemak menyebabkan penurunan ikatan insulin dan reseptor di jaringan otot dan lemak, sehingga mengakibatkan penurunan fosforilasi dan aktivitas tirosin kinase. Penurunan ekspresi IR mengakibatkan penurunan fungsi PI3K, akibat penurunan PI3K maka translokasi GLUT-4 ke permukaan sel menurun. Kurangnya translokasi GLUT-4 ke permukaan sel berakibat pada penurunan pemasukan glukosa ke dalam sel (Rhode *et al.*, 2012).

2.3. Binahong (*Anredera cordifolia*)

2.3.1. Definisi dan Klasifikasi

Binahong mempunyai nama ilmiah *Anredera cordifolia* merupakan tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai penyakit. Binahong berasal dari dataran Cina dengan nama *Dhen shan chi* (Karouw dan Rindengan, 2009). Selain itu, mempunyai nama lain *Boussingaultia gracilis* Miers, *Boussingaultia cordifolia*, dan *Boussingaultia basselloides*. Di Spanyol, Binahong disebut dengan *enredadera del mosquito*, *lamb's tails*, *mignonette vine*, *Parra de Madeira*; di United Kingdom dikenal sebagai *filikafa*, *Gulf madeiravine*, *heartleaf madeiravine*, dan *Madeira vine* (Sumartiningsih, 2011). Di Indonesia, tanaman ini dikenal sebagai gendola yang sering digunakan sebagai gapura yang melingkar sebagai jalan taman. Berikut adalah klasifikasi Binahong (Karouw dan Barlina, 2009) :



Gambar 2.4. Daun Binahong
Anredera cordifolia (Ten.) Steenis
(Karouw dan Barlina, 2009)

Kingdom : Plantae

Subkingdom : Tracheobionta (berpembuluh)

Superdivisio : Spermatophyta (menghasilkan biji)

Divisio	: Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Subkelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Familia	: Basellaceae
Genus	: Anredera
Species	: <i>Anredera cordifolia</i> (Tenore) Steenis

2.3.2. Morfologi

Habitat berupa tumbuhan menjalar, berumur panjang, bisa mencapai panjang lebih dari 6 m. Batang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Daun tunggal, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung, panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, permukaan licin, bisa dimakan. Bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5-1 cm, berbau harum. Akar berbentuk rimpang, berdaging lunak (BPOM RI, 2008).

2.3.3. Kandungan

Tanaman binahong mengandung saponin, alkaloid, polifenol, flavonoid dan monosakarida yang terdiri atas L-arabinosa, D-galaktosa, L-rhamnosa, dan D-glukosa. Sedangkan dalam bentuk ekstrak etanol binahong terbukti mengandung alkaloid,

flavonoid, tanin, dan saponin (Rahmawati *et al.*,2012). Selain itu, Binahong juga mengandung asam linoleat, acordin, steroid (Astuti *et al.*, 2011)

Pengujian terhadap kadar saponin dalam binahong per satu gram materi kering diketahui pada daun $28,14 \pm 0,22$ mg ; batang $3,65 \pm 0,11$ mg ; akar umbi $43,15 \pm 0,10$ mg (Astuti *et al.*, 2011). Uji total flavonoid daun binahong yang dilakukan oleh Selawa *et al* (2013) diketahui bahwa flavonoid yang terkandung pada ekstrak daun binahong dari sampel segar dan kering adalah 7,81 mg/kg dan 11,23 mg/kg. Selain itu, uji terhadap kapasitas sebagai antioksidan pada sampel kering sebesar 3,68 mmol/100 gram dan pada sampel segar sebesar 4,25 mmol/100 gram. Penelitian Djamil *et al* (2013) menunjukkan bahwa daun binahong mengandung 8-Glucopyranosyl-4,5,7-trihydroxyflavone yang memiliki aktivitas antioksidan sebesar 68,07 μ g/ml. Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan oleh Ekaviantiwi *et al* (2013) diketahui bahwa pada ekstrak etanol dan isolat B (asam p-kumarat) menunjukkan nilai IC50 masing-masing sebesar 866,8983 mg/L dan 1263,3333 mg/L.

2.3.4. Manfaat dan Khasiat

Binahong merupakan tanaman yang telah terkenal sebagai obat selama ratusan tahun di Cina, Korea, dan Taiwan. Di Taiwan dan Vietnam, binahong merupakan sayuran yang dapat dijadikan makanan. Sementara itu, di Indonesia khususnya di Jawa, binahong dipercaya sebagai tanaman yang mampu mengobati penyakit yang serius. Masyarakat jawa mengakui bahwa binahong dapat mengobati diabetes mellitus, hipertensi, wasir, tuberkulosis, rheumatik, asam urat, asma, dan penyembuh luka setelah khitan, serta itu juga dapat menyembuhkan diare, maag, bahkan kanker. Berbagai manfaat ini mungkin merupakan kontribusi dari saponin yang terkandung di dalamnya (Astuti *et al.*, 2011). Di

masyarakat Indonesia penggunaan binahong sebagai penyembuhan pembengkakan jantung, pembengkakan hati, kencing manis, kerusakan ginjal, dan radang usus besar dilakukan dengan cara merebus umbi binahong ditambah daun sirih dan temulawak dengan perbandingan 7:9:13 (Karouw dan Rindengan, 2009). Masyarakat Jawa Barat juga menggunakan binahong sebagai pengobatan untuk diabetes mellitus (Sukandar *et al.*, 2011).

Binahong memiliki aktivitas farmakologis di antaranya adalah antibakteri (Tshikalange, 2005), antiobesitas dan antihipoglikemik (Wang *et al.*, 2011), sitotoksik dan *antimutagenic* (Yen *et al.*, 2001), antivirus (Chiang *et al.*, 2003 ; Li *et al.*, 2006), antidiabetes (Anh *et al.*, 2005), anti ulkus (Lin *et al.*, 1997) dan antiinflamasi (Lin *et al.*, 1994) Penelitian Sukandar *et al.* (2011) menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong dosis 50, 100, dan 150 mg/kg mampu memperbaiki fungsi ginjal yang terinduksi aloksan. Selain itu ekstrak daun binahong juga mampu menyembuhkan luka eksisi pada marmot (Miladiyah dan Bayu, 2012).

2.3.5. Potensi Binahong Sebagai Antidiabetes

Binahong terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah secara *in vivo*. Penelitian yang dilakukan oleh Wirasuasti *et al.* (2013) menyatakan bahwa ekstrak etanol binahong dengan dosis 1,8 gram/kgbb mampu menurunkan kadar glukosa darah *post prandial* pada tikus model diabetes yang diinduksi dengan sukrosa. Penurunan kadar glukosa *post prandial* tersebut merupakan efek dari kandungan saponin sebagai inhibitor enzim alfa glukosidase.

Kerusakan pankreas merupakan salah satu penyebab diabetes mellitus, sebab di dalam pankreas terdapat sel beta yang berfungsi untuk memproduksi dan mensekresi

insulin. Penelitian Sukandar *et al* (2011) membuktikan bahwa pemberian ekstrak metanol daun binahong dosis 50, 100, dan 200 mg/kg dapat menurunkan glukosa darah. Penurunan kadar glukosa darah yang berbeda bermakna dibandingkan dengan kontrol positif ($p < 0,05$) terjadi pada dosis 50 dan 200 mg/kgbb mencit dan pada dosis tersebut terjadi perbaikan sel – sel beta pankreas yang rusak.

2.4. Streptozotocin

2.4.1. Definisi

Streptozotocin (STZ, 2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose) disintesis oleh *Streptomyces achromogenes* dan digunakan untuk menginduksi insulin dependen dan insulin non dependen diabetes mellitus (Szkudelski, 2001).

2.4.2. Penggunaan

STZ bekerja pada sel beta pankreas dengan cara merusak DNA (DNA Alkylating) yang ditandai dengan perubahan pada insulin darah dan konsentrasi glukosa. Adapun mekanismenya yaitu STZ dikenali oleh sel beta pancreas via glucose transporter GLUT2. Selanjutnya STZ menahan ekspresi GLUT2 (Szkudelski, 2001).

Rentang dosis STZ tidak sesempit rentang dosis aloksan. Dosis yang sering digunakan pada pemberian dosis tunggal intravena pada tikus dewasa untuk menginduksi IDDM (Insulin dependen) antara 40 – 60 mg/kgBB (Szkudelski, 2001). Menurut penelitian Zhang (2008), Streptozotocin banyak digunakan untuk menginduksi terjadinya diabetes mellitus 1 atau diabetes mellitus tipe 2 pada hewan coba. STZ dosis tinggi menyebabkan gangguan yang berat pada sekresi insulin sehingga terjadi diabetes mellitus tipe 1,

sedangkan suntikan STZ dosis rendah (35 mg/kgBB) menyebabkan gangguan ringan pada sekresi insulin sehingga terjadi kelelahan sel beta pankreas.

2.5. Diet Tinggi Lemak (High Fat Diet)

Diet tinggi lemak terdiri dari 32-60% kalori dari lemak. Pada perspektif nutrisi, makanan sejumlah 60 kcal % lemak sudah dapat menginduksi obesitas pada tikus akibat kenaikan berat badan yang lebih cepat (Gadja, 2008).

Tipe dari lemak harus dipertimbangkan ketika memilih diet tinggi lemak untuk hewan coba. Banyak diet tinggi lemak yang mengandung lemak jenuh, seperti lemak babi, daging, dan minyak kelapa. Makanan tersebut sudah cukup untuk menginduksi obesitas pada strain yang rentan. Asam lemak dapat mempengaruhi fenotipe melalui berbagai macam mekanisme (ekspresi gen, produksi eicosanoid, fungsi reseptor membran), tipe dan level dari diet tinggi lemak sangat penting diketahui untuk membandingkan data – data yang akan didapatkan selama penelitian (Gadja, 2008).

Komposisi diet tinggi lemak mengandung karbohidrat, protein (tepung terigu), lemak (kolesterol, minyak babi), air, dan asam cholate. Asam kolat merupakan *ionic detergent* yang digunakan untuk persiapan liposome dan isolasi lipid. Asam cholate larut dalam air, digunakan untuk lisis sel oleh bile-acid, persiapan liposom, isolasi dari membran protein dan lipid, mencegah terjadinya ikatan nonspesifik pada afinitas kromatografi, dan media sel kultur (Zhang, 2008).

Kombinasi diet tinggi lemak sering digunakan untuk pembuatan model hewan coba DM tipe 2 dikombinasi dengan Streptozotocin (STZ). Menurut Shridar et al (2008), diet tinggi lemak terbukti dapat menurunkan sensitivitas insulin yang ditandai dengan meningkatnya jumlah insulin serum. Pada penelitian Lian, J, et al (2007) juga

menyebutkan bahwa diet tinggi lemak dapat menginduksi resistensi insulin, dan gangguan sekresi insulin.

2.6. ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*)

ELISA adalah teknik yang digunakan untuk menentukan analit yang sudah diketahuiseperti alergen pada makanan, pestisida, residu obat pada hewan, dan sebagainya. Prinsip dasar deteksi ELISA adalah terbentuknya ikatan antara analit (antigen) dengan antibodi spesifik yang diproduksi oleh sistem imun tubuh (Thompson, 2010).

Immunoassay dalam ELISA menggunakan pelabelan enzim seperti *alkalin-fosfatase*, *horseradish* peroksidase, dan β -galaktosidase yang dapat menghasilkan reaksi warna setelah bereaksi dengan kromogen sebagai substrat dari enzim tersebut. Adapun parameter ELISA antara lain :

1. Reaktan yang melekat pada fase padat, yang biasanya berupa lempeng mikrotiter plastik dengan format 8 x 12 sumur.
2. Pemisahan antara reagen yang bebas dan terikat pada reaktan yang sudah dilekatkan pada fase padat dengan teknik pencucian sederhana.
3. Pembacaan hasil didapat melalui terbentuknya warna tertentu.

Ketiga parameter ini digunakan dalam berbagai jenis metode ELISA dasar, yang terdiri atas *direct*, *indirect*, dan *sandwich*. (Wibudi, 2008).

Metode *sandwich* ELISA digolongkan menjadi 2 sistem, yaitu *direct* dan *indirect*. Awalnya sampel yang akan diuji dimasukan terlebih dahulu ke dalam lempeng yang telah dilapisi dengan antigen-spesifik antibodi. Jika dalam sampel terdapat antigen yang spesifik, maka akan terbentuk ikatan antigen dan antibodi. Antigen sampel yang tidak

terikat dihilangkan dengan teknik pencucian, kemudian antibodi spesifik kedua ditambahkan. Pada metode *direct sandwich* enzim ELISA akan berikatan dengan antibodi spesifik kedua, sedangkan pada *indirect sandwich* enzim ELISA tidak berikatan dengan antibodi kedua. Selanjutnya pada *indirect* ditambahkan lagi antibodi ketiga untuk membentuk ikatan dengan antibodi kedua yang akan membentuk warna setelah ditambahkan substrat tertentu. Metode ini disebut *sandwich* karena terdapat dua buah antibodi-spesifik antigen yang berikatan dengan antigen di sampel (Koivunen *et al.*, 2006)

