

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Pankreas

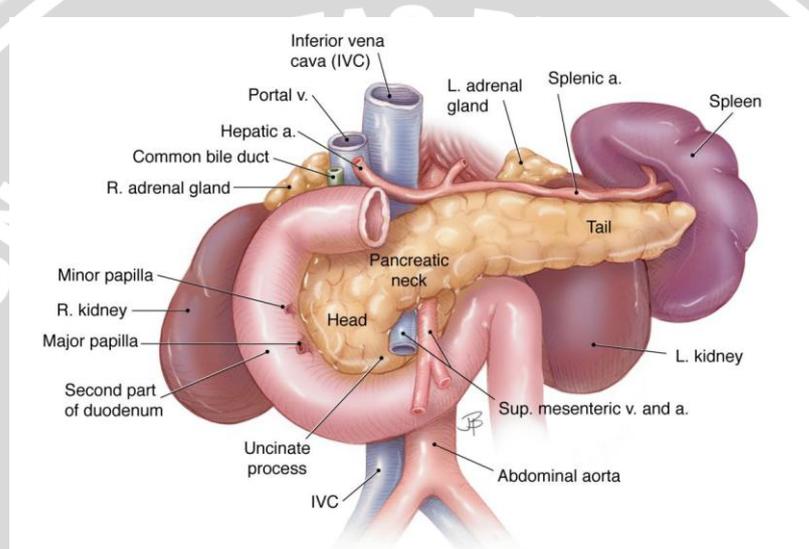
2.1.1. Anatomi Pankreas

Pankeas adalah kelenjar yang lunak, memajang dan memapar dengan panjang 12 – 20 cm. Pankreas orang dewasa memiliki berat berkisar antara 70 dan 110 gram. Kepala pankreas berada pada dinding abdomen posterior dai peritoneum dan memiliki struktur lobular . Pankreas dilindungi oleh jaringan penghubung yang baik tetapi tidak memiliki kapsul pelindung. Kepala pankreas terdapat di sisi kanan dan berada di lekukan duodenum. Leher , badan dan ekor pankreas memiliki posisi miring dalam abdomen posterior, dengan ekor memanjang hingga kepermukaan lambung (Huntsman Cancer Institute, 2010).

Pankreas adalah bagian dari sistem gastrointestinal yang membuat dan mensekresi enzim pencernaan, dan juga merupakan organ endokrin yang membuat dan mensekresi hormon masuk ke dalam darah untuk mengontrol metabolisme energi dan penyimpanan di seluruh tubuh (Longnecker, 2014). Terdapat 2 fungsi pankreas, yaitu:

1. Fungsi eksokrin, yaitu membentuk getah pankreas yang berisi enzim dan elektrolit.
2. Fungsi endokrin, yaitu sekelompok kecil atau pulau langerhans, yang bersama-sama membentuk organ endokrin yang mengeksresikan insulin.

Pulau langerhans tersiri atas: sel – sel alfa yang menghasikan glukagon, sel – sel beta yang menghasilkan insulin, glukagon dan insulin mengatur kadar gula darah. Selain itu, terdapat sel delta yang menghasilkan somastostatin yang menghambat pelepasan insulin dan glukagon. Lalu sel F yang menghasilkan polipertida dan pankreatik yang berperan mengatur fungsi eksokrin pankreas (Saraswati,2012).



Gambar 2.1 Anatomi Pankreas

(Longnecker, 2014).

2.1.2. Fisiologi Pankreas

Jumlah glukosa yang diambil dan dilepaskan oleh hati dan yang dipergunakan oleh jaringan perifer tergantung dari keseimbangan fisiologis beberapa hormon antara lain :

- a. Hormon yang dapat merendahkan kadar gula darah yaitu insulin. Kerja insulin yaitu merupakan hormon yang menurunkan glukosa darah dengan cara membantu glukosa darah masuk kedalam sel.
- b. Hormon yang meningkatkan kadar gula darah antara lain :
 - Glukagon yang disekresi oleh sel alfa pulau langerhans

- Epinefrin yang disekresi oleh medula adrenal dan jaringan kromafin
- Glukokortikoid yang disekresikan oleh korteks adrenal.
- *Growth hormone* yang disekresi oleh kelenjar hipofisis anterior.

Glukagon, epinefrin , glukokortikoid , dan *growth hormone* membentuk suatu mekanisme *counter-regulator* yang mencegah timbulnya hipoglikemia akibat pengaruh insulin (Longnecker, 2014)..

2.2. Diabetes Melitus

2.2.1. Definisi

Diabetes mellitus adalah sindrom kelainan metabolisme karbohidrat yang ditandai hiperglikemia kronik akibat defek pada sekresi insulin dan atau tidak adekuatnya fungsi insulin. Diabetes mellitus tipe II adalah kelompok DM akibat kurangnya sensitifitas jaringan sasaran (otot, jaringan adipose dan hepar) berespon terhadap insulin. Penurunan sensitifitas respon jaringan otot, jaringan adiposa dan hepar terhadap insulin ini, selanjutnya dikenal dengan resistensi insulin dengan atau tanpa hiperinsulinemia (Tjekyan,2007).

Berdasarkan WHO Diabetes Mellitus (DM) adalah penyakit kronis yang terjadi ketika pancreas tidak cukup memproduksi insulin , atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkan. Hal ini menyebabkan peningkatan konsentrasi glukosa dalam darah (Hyperglukemia) (WHO,2008).

2.2.2. Klasifikasi

Beberapa klasifikasi diabetes mellitus telah diperkenalkan, berdasarkan metode presentasi klinis, usia dan riwayat penyakit. *American Diabetes Association (ADA)* telah memperkenalkan klasifikasi dari diabetes

mellitus berdasarkan pengetahuan mutakhir mengenai pathogenesis sindrom diabetes. Klasifikasi ini telah di sah kan oleh *World Health Organization (WHO)*(Price and Wilson,2002).

Klasifikasi Etiologi Diabetes Melitus :

1. Diabetes Melitus tipe 1

(Destruksi sel beta, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut)

- a. Autoimun
- b. Idiopatik

2. Diabetes Melitus tipe 2

Bervariasi mulai yang dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relative sampai yang dominan defek sekresi insulin disertai resistensi insulin

3. Diabetes Melitus Kehamilan (GDM)

4. Diabetes Melitus tipe lain

1) Defek genetic fungsi sel beta

- Kromosom 12, HNF-1 α (dahulu MODY 3)
- Kromosom 7, glukokinase (dahulu MODY 2)
- Kromosom 13, *insulin promote factor-1* (IPF-1, dahulu MODY 4)
- Kromosom 17, HNF-1 β (dahulu MODY 5)

- DNA mitokondria

- lainnya

2) Defek genetic kerja insulin : resistensi insulin tipe A, Leprechaunism, sindrom Rabson Medenhall, diabetes lipoatrofik

3) Endokrinopati : Sindrom Cushing, Akromegali

4) Penyakit eksokrin pancreas

5) Obat atau di induksi secara kimia

Infeksi

(Price and Wilson,2002)

2.2.3. Gejala

Tanda dan gejala diabetes mellitus meliputi :

- a) Polyuria dan polydipsia yang disebabkan oleh osmolaritas serum yang tinggi akibat kadar glukosa serum yang tinggi
- b) Polifagia akibat kurangnya glukosa dalam sel menyebabkan sel kelaparan dan menstimulasi untuk sering makan.
- c) Penurunan berat badan (biasanya sebesar 10% hingga 30%) karena tidak terdapat metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein yang normal akibat fungsi insulin yang terganggu
- d) Sakit kepala, rasa cepat lelah, mengantuk, tenaga yang berkurang, semua ini disebabkan kadar glukosa intrasel yang rendah
- e) Kram otot, iritabilitas, dan emosi yang labil akibat ketidakseimbangan elektrolit
- f) Gangguan penglihatan, seperti penglihatan kabur, akibat pembengkakan yang disebabkan glukosa
- g) Paresthesia dan kesemutan akibat kerusakan jaringan saraf
- h) Gangguan rasa nyaman dan nyeri abdomen akibat neuropati otonom yang menimbulkan gastroparesis dan konstipasi
- i) Mual, diare, atau konstipasi akibat dehidrasi dan ketidakseimbangan elektrolit
- j) Infeksi atau luka pada kulit yang lambat sembuhnya; rasa gatal pada kulit (Kowalak, 2003).

2.2.4. Diagnosis

Diagnosis DM dapat ditegakkan melalui tiga cara:

1. Jika keluhan klasik ditemukan (polyuria, polydipsia, polifagia, dan penurunan berat badan), maka pemeriksaan glukosa plasma sewaktu >200 mg/dL sudah cukup untuk menegakkan diagnosis DM
2. Pemeriksaan glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dL dengan adanya keluhan klasik.
3. Tes toleransi glukosa oral (TTGO), dimana pasien dipuasakan 8 jam, kemudian diberi 75 gram glukosa yang dilarutkan dalam 250 ml air dan diminum dalam waktu 5 menit.

(Perkeni, 2011)

2.2.5. Etiologi dan Patofisiologi

Etiologi DM tipe 2 merupakan multifaktor yang belum sepenuhnya terungkap dengan jelas (Depkes RI, 2005). Namun ada beberapa faktor resiko terjadinya DM tipe 2:

- a. Obesitas terutama yang bersifat sentral (bentuk apel)
- b. Diet tinggi lemak dan karbohidrat serta rendah serat
- c. Kurang gerak badan (aktivitas fisik yang kurang)
- d. Factor keturunan (herediter)
- e. Usia lanjut (umumnya timbul setelah berumur 40 tahun)

Abnormalitas konsentrasi dan afinitas reseptor atau keduanya mempengaruhi kerja insulin. Down regulation adalah fenomena dimana jumlah reseptor insulin yang menurun pada saat meningkatnya kadar insulin di sirkulasi dalam jangka waktu yang lama, yang mungkin diakibatkan oleh meningkatnya degradasi intraselular. Kondisi yang

berkaitan dengan tingginya kadar insulin dan rendahnya jumlah reseptor tempat pengikatan insulin salah satunya adalah obesitas, intake karbohidrat yang tinggi dan overinsulin eksogen yang kronik. Sedangkan kondisi yang berkaitan dengan kadar insulin yang rendah dan peningkatan jumlah reseptor pengikat insulin diantaranya adalah puasa dan olahraga (Khardori,2011).

Disamping resistensi insulin, pada penderita DM Tipe 2 dapat juga timbulgangguan sekresi insulin dan produksi glukosa hepatic yang berlebihan.Namun demikian, tidak terjadi kerusakan sel-sel β Langerhans secara autoimun sebagaimana yang terjadi pada DM Tipe 1. Dengan demikian defisiensi fungsi insulin pada penderita DM Tipe 2 hanya bersifat relatif, tidak absolut. Oleh sebab itu dalam penanganannya umumnya tidak memerlukan terapi pemberian insulin (Depkes RI,2008).

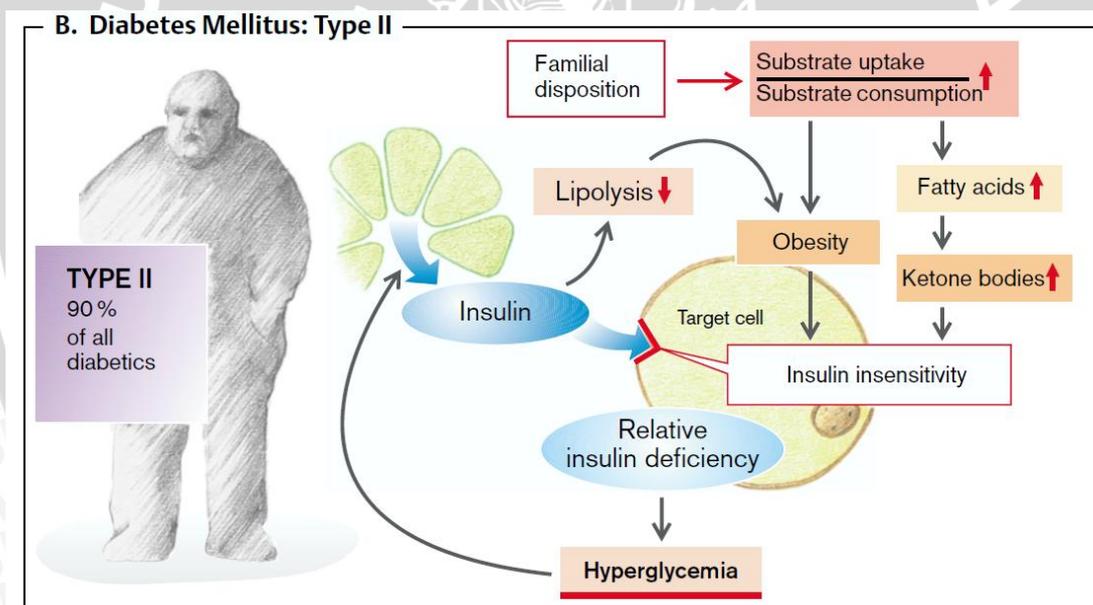
Sel-sel β kelenjar pankreas mensekresi insulin dalam dua fase. Fase pertama sekresi insulin terjadi segera setelah stimulus atau rangsangan glukosa yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah, sedangkan sekresi fase kedua terjadi sekitar 20 menit sesudahnya. Pada awal perkembangan DM Tipe 2, sel-sel β menunjukkan gangguan pada sekresi insulin fase pertama, artinya sekresi insulin gagal mengkompensasi resistensi insulin. Apabila tidak ditangani dengan baik, pada perkembangan penyakit selanjutnya penderita DM Tipe 2 akan mengalami kerusakan sel-sel β pankreas yang terjadi secara progresif, yang seringkali akan mengakibatkan defisiensi insulin, sehingga akhirnya penderita memerlukan insulin eksogen (Depkes RI,2008).

Resistensi insulin menyebabkan penurunan kemampuan insulin untuk bekerja pada target organ (khususnya otot, hati dan lemak), yang disebabkan oleh gangguan genetik, dan obesitas hal ini menyebabkan tidak masuknya glukosa kedalam organ dan peningkatan produksi glukosa hati yang menyebabkan peninggian glukosa dalam darah (Alvin C, 2008) .

Obesitas memberikan kontribusi dalam terjadinya DM tipe 2, peningkatan adipose menyebabkan peningkatan asam lemak bebas dan produk asam lemak lainnya, menyebabkan peningkatan produk biologis (asam lemak bebas yang tak tersesterifikasi, *retinol binding reseptor 4, TNF- α , adiponectin*) yang memodulasi sensitivitas insulin, yang menyebabkan gangguan masuknya glukosa kedalam otot dan peningkatan penghasilan glukosa hati dan mengganggu fungsi sel beta (Alvin C, 2008).

Lipotoxicity dapat berkontribusi terhadap resistensi insulin. *Lipotoxicity* mengacu kepada tingginya konsentrasi asam lemak bebas yang terjadi sebagai akibat tekanan hambatan *hormonesensitive lipase* (HSL). Normalnya insulin menghambat lipolisis dengan menghambat HSL, namun pada resistensi insulin tidak terjadi secara efisien. Hasil dari peningkatan lipolisis adalah peningkatan asam lemak bebas, dan inilah yang menyebabkan obesitas dan peningkatan adiposa. Asam lemak bebas menyebabkan resistensi insulin dengan mempromosikan fosforilasi serin pada reseptor insulin yang dapat mengurangi aktivitas *insulin signalling pathway*. Fosforilasi reseptor insulin pada asam amino tirosin penting untuk mengaktifkan *insulin signalling pathway*, jika tidak, maka GLUT-4 akan gagal untuk translocate, dan penyerapan glukosa ke jaringan akan berkurang, menyebabkan hiperglikemia (Moreira, 2010).

Pada individu non-diabetik sel beta mampu menangkal resistensi insulin dengan meningkatkan produksi dan sekresi insulin. Pada penderita DM apabila keadaan resistensi insulin bertambah berat disertai tingginya glukosa yang terus terjadi, sel beta pankreas dalam jangka waktu yang tidak lama tidak mampu mensekresikan insulin dalam jumlah cukup untuk menurunkan kadar gula darah, disertai dengan peningkatan glukosa hepatic dan penurunan penggunaan glukosa oleh otot dan lemak akan mempengaruhi kadar gula dara puasa dan postpandrial. Akhirnya sekresi insulin oleh sel beta pankreas akan menurun dan terjadi hiperglikemia berat (Ostenson, 2001).



Gambar 2.2 Patofisiologi T2DM (Silbernagl, 2000).

2.2.6. Faktor resiko

Faktor resiko, individu yang dapat terkena DM antara lain :

- Obesitas (BMI > 25 kg/m²)
- Penderita Hipertensi (TD >140/90)
- Memiliki HDL kolesterol <35 mg/dL dan/atau TG level >250 mg/dL

- Faktor genetic (riwayat keluarga)
 - Penyakit tertentu : hipertensi, hyperlipidemia, pankreatitis, penyakit endokrin (hipertiroidisme)
 - Stres hormone : kortisol
 - Pemakai Obat-obatan : diuretic, beta bloker, immunosupresan, antidepressan, antikosulvan, terapi radiasi
 - Peminum alkohol, dapat menyebabkan pankreatitis
- (Riaz, 2007)

2.2.7. Komplikasi

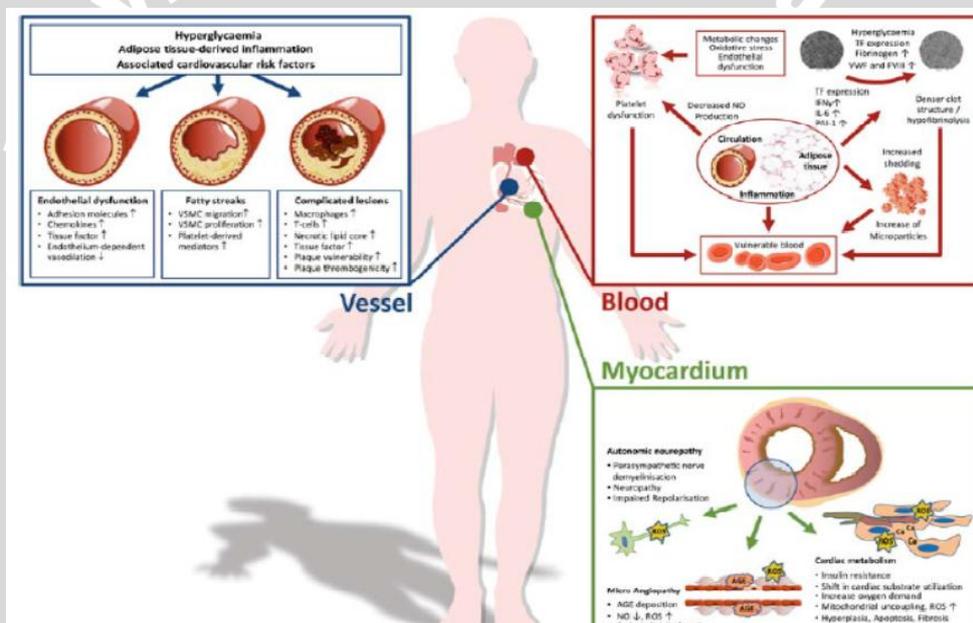
Komplikasi yang terjadi pada DM, dibagi menjadi 2, yaitu komplikasi akut dan komplikasi kronis. Komplikasi akut adalah hiperglikemia dengan ketoacidosis atau *nonketotic hyperosmolar syndrome*. Komplikasi kronis (*long-term*) terdiri dari mikrovaskular (retinopati dengan gangguan penglihatan sampai kebutaan, nefropati yang akan mengarah pada gagal ginjal, neuropati dengan resiko ulcer pada kaki dan amputasi, serta disfungsi seksual) dan makrovaskular (penyakit arteri coroner, CVD, arterosklerosis, dan penyakit cerebrovascular) (ADA, 2006). Pada mikrovaskular, terdapat 3 mekanisme utama terjadinya komplikasi, yaitu aktivitas glikosilasi enzimatis, *pathway polyol*, dan glikosilasi nonenzimatis. Penyebab dasar dari mekanisme kerusakan vascular adalah sifat unik dari jaringan vaskuler dan saraf, yaitu dapat memasukkan glukosa ke dalam sel tanpa bantuan insulin. Level glukosa di dalam endotel vaskuler dan sel saraf sama dengan level glukosa pada plasma. Level glukosa tinggi pada sel harus di buang, pembuangan ini dapat merusak pembuluh darah dan saraf dan akhirnya organ (Guthrie, 2004).

Aktivasi glikosilasi enzimatis terjadi karena adanya defisiensi insulin dan kelebihan glukosa. Dinamakan Glikosilasi enzimatis karena 2 enzim terbentuk dalam 1 proses. Glukosa yang masuk ke dalam sel akan mengalami siklus Krebs. Langkah pertama dari siklus Krebs adalah fosforilasi glukosa dari jumlah 6 karbon. Enzim hexokinase (memerlukan insulin untuk mengaktifkan enzim ini), katalis untuk membentuk glukosa-6-fosfat (G-6-P). Pada defisiensi insulin terjadi akumulasi dan kelebihan glukosa dan glukosa tidak dapat masuk ke dalam sel untuk diproses dalam siklus Krebs. Ketika glukosa tidak dimetabolisme menjadi G-6-P, enzim hexokinase yang lain (yang tidak bergantung pada insulin), diaktifkan dan membentuk glukosa-1-fosfat (G-1-P). Enzim glikosil transferase akan menyalurkan G-1-P ke asam amino pada rangkain protein dan membentuk *basement membrane cell* pada dinding pembuluh darah. Membrane ini dapat memasukkan molekul kecil seperti air, oksigen, glukosa, asam amino, dll melalui dinding pembuluh darah menuju jaringan, namun tidak bisa memasukkan molekul besar seperti serum albumin. Albumin akan terakumulasi dan keluar melalui urin, yang merupakan tanda adanya nefropati diabetes (Guthrie, 2004).

Mekanisme kedua terjadinya kerusakan sel di pembuluh darah dan saraf adalah *polyol pathway*. Akumulasi glukosa akan menghalangi proses metabolisme normal glukosa. Enzim aldose reductase akan merubah glukosa menjadi alkohol (sorbitol). Sorbitol memiliki struktur yang hampir sama dengan senyawa yang penting dalam sel, senyawa ini dinamakan mioinositol. Senyawa ini akan diabsorpsi ke dalam sel sebagai kofaktor *scavenger* dari radikal bebas. Akumulasi sorbitol dalam sel, mencegah

absorpsi dari mioinositol dari makanan (*competitive inhibitor*). Kekurangan mioinositol menghalangi kerja *scavenger* dari radikal bebas, sehingga terjadi oksidatif stress dan kerusakan sel (Guthrie, 2004).

Mekanisme ketiga adalah glikosilasi nonenzimatik, yang membentuk hemoglobin A1c (HbA1c) dan AGE (*Advanced Glycosylation End-product*), senyawa ini berhubungan dengan asam amino dan kolesterol di dinding pembuluh darah dan merupakan awal mula proses aterosklerosis.



Gambar 2.3 Komplikasi Diabetes Mellitus (Andy, 2012)

2.3. Insulin

2.3.1. Fisiologi Normal Insulin

Lemak dan Karbohidrat dari makanan, ada beberapa yang langsung digunakan untuk menghasilkan energy, namun beberapa disimpan untuk digunakan kemudian. Lemak disimpan di sel lemak dan karbohidrat disimpan sebagai glikogen dalam sel hati dan otot. Insulin dibutuhkan untuk mentransport glukosa ke dalam sel untuk digunakan

sebagai bahan bakar atau untuk disimpan. Insulin juga memfasilitasi pengambilan dan penyimpanan asam lemak oleh sel lemak dan pengambilan asam amino oleh semua sel (Guthrie, 2004).

Insulin diproduksi oleh sel β pancreas, pengeluaran insulin dipengaruhi oleh level glukosa darah. Pada level selular, insulin akan berinteraksi dengan protein di permukaan sel, yang bernama *insulin receptor*. Interaksi ini menstimulasi reaksi didalam sel dan memproduksi GLUT4 (*glucose transporter*). GLUT4 merupakan transporter untuk membawa glukosa dan protein dari permukaan sel ke dalam sel. Enzim utama dalam proses ini adalah PPAR- γ (*peroxisome proliferator-activated receptor- γ*), enzim ini di nucleus sel, dan bekerja untuk memproduksi RNAm (*RNA messenger*) yang akan membentuk GLUT1-5 (Guthrie, 2004).

Insulin juga berfungsi untuk menstimulasi enzim untuk memecah glikogen dan lemak. Tidak adanya insulin, hati akan memproduksi glukosa baru (*gluconeogenesis*) dari protein dan gliserol hasil pemecahan lemak. Glukosa hasil produksi hati merupakan salah proses penyebab hiperglikemia pada DM selain karena defisiensi insulin dan resistensi insulin (Guthrie, 2004).

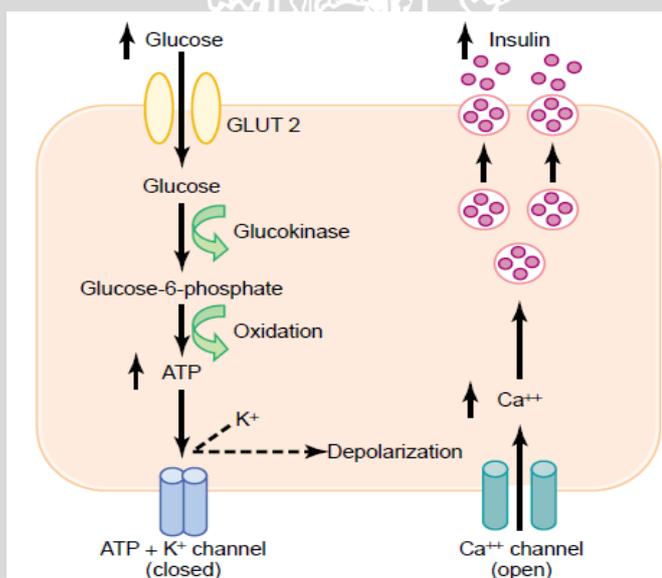
2.3.2. Resistensi Insulin

Resistensi insulin terjadi di sel perifer (terutama sel oto dan lemak) dan pada hati. Resistensi insulin timbul akibat sel beta meningkatkan produksi insulin untuk mengkompensasi dan memelihara level glukosa darah dalam keadaan normal, namun terjadi abnormalitas pada reseptor insulin, sehingga insulin tidak bekerja optimal pada sel (Guthrie, 2004).

2.3.3. Defisiensi Insulin

Defisiensi insulin terjadi akibat sel beta mengalami kelelahan karena terlalu sering memproduksi insulin dapat jumlah besar (*hyperscretion insulin*), toksisitas glukosa dan lipid pada sel beta, atau factor genetic. Lemak, terutama TG merupakan zat toksik bagi sel beta. Enzim lipase yang diaktifkan di sel lemak akan memecah lemak menjadi TG, FFA, dan gliserol. Akumulasi lemak intra-abdominal mengeluarkan TG menuju pancreas, TG ini akan menjadi toksik menyebabkan kerusakan, dan menghilangkan fungsi dari sel beta (Gutthrie, 2004).

2.3.4. Mekanisme Sekresi Insulin



Gambar 2.4 Mekanisme Sekresi Insulin (Guyton, 2011)

Sel beta memiliki banyak *glucose transporter* (GLUT-2). Di dalam sel, glukosa di fosforilasi menjadi glukosa-6-fosfat oleh glukokinase. G-6-P akan dioksidasi menjadi ATP, yang akan menghambat ATP-sensitive *potassium channels* sel. Penutupan ATP+K ini membuka Kalsium channel, yang akan memproduksi Kalsium yang menstimulasi insulin untuk dikeluarkan ke ekstrasel dengan eksositosis. Asam amino dapat

dimetabolisme oleh sel beta untuk meningkatkan ATP intrasel dan menstimulasi pengeluaran insulin, obat sulfonyleurea menstimulasi pengeluaran insulin dengan memblok aktivitas ATP+K channel, hormone gastrointestinal, glucagon, kortisol juga dapat menstimulasi pengeluaran insulin (Guyton, 2011).

2.4. Hiperglikemia

2.4.1. Definisi

Hiperglikemia menurut definisi berdasarkan kriteria diabetes melitus yang dikeluarkan oleh *International Society for Pediatrics and Adolescent Diabetes* (ISPAD) adalah KGD sewaktu ≥ 11.1 mmol/L (200 mg/dL) ditambah dengan gejala diabetes atau KGD puasa (tidak mendapatkan masukan kalori setidaknya dalam 8 jam sebelumnya) ≥ 7.0 mmol/L (126 mg/dL). Definisi lain hiperglikemia menurut *World Health Organization* (WHO) adalah KGD ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L), dimana KGD antara 100 dan 126 mg/dL (6,1 sampai 7.0 mmol/L) dikatakan suatu keadaan toleransi abnormal glukosa (Purwanto, 2007).

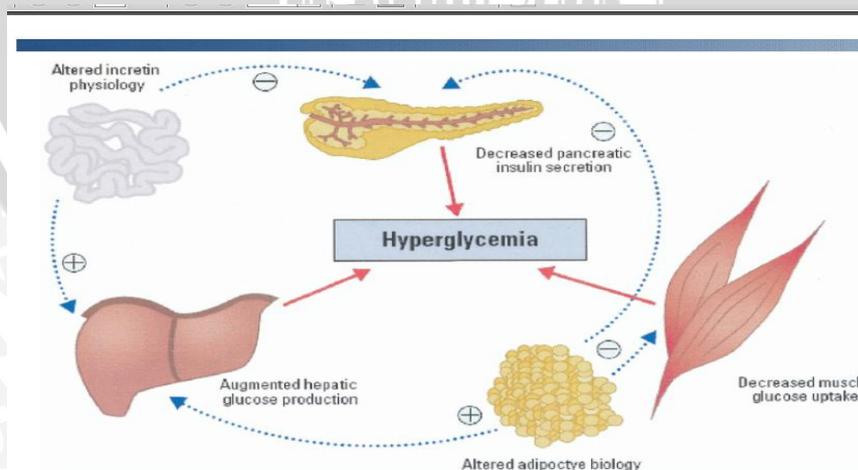


Figure 3. The complex interplay of the various pathophysiologic defects contributing to hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus.

Gambar 2.5 Patofisiologi pembentukan hiperglikemia pada DM tipe 2

(Purwanto, 2007)

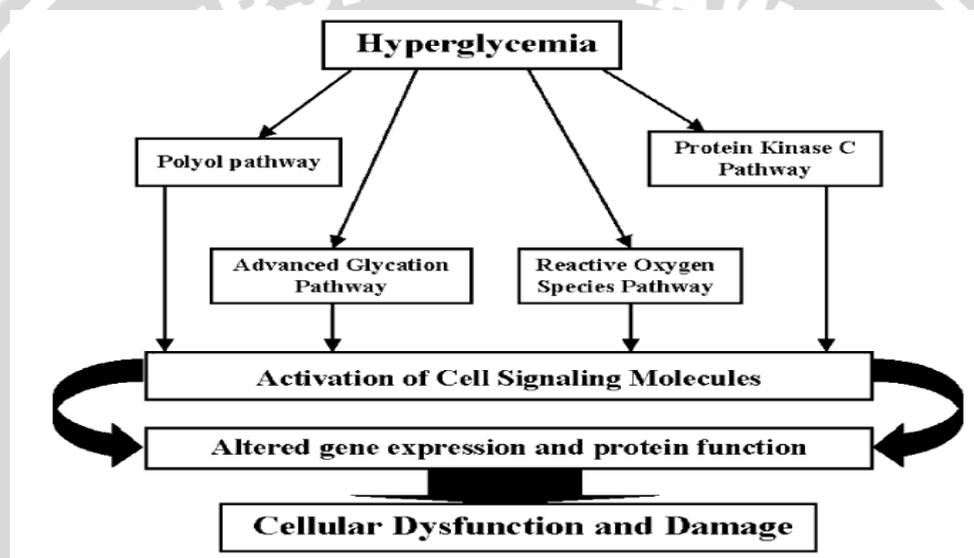
2.4.2. Efek Hiperglikemia

Mekanisme yang menyebabkan kerusakan sel akibat hiperglikemia adalah akibat penumpukan intraseluler dari spesimen oksigen reaktif (*Reactive Oxygen Specimen=ROS*). KGD yang tinggi meningkatkan perbedaan potensial akibat tingginya proton pada rantai respiratori mitokondria, yang mengakibatkan perpanjangan hidup dari *superoxide generating electron transport intermediates*, sehingga terjadilah penumpukan ROS. Saat terjadi penumpukan ini, terjadi 4 mekanisme yang menyebabkan kerusakan sel, yaitu:

1. Peningkatan aliran jalur *polyol*: hiperglikemia menyebabkan peningkatan konversi glukosa menjadi sorbitol polialkohol, bersamaan dengan penurunan *nicotineamid adenosine dinucleotide phosphate* (NADPH) dan glutation, meningkatkan sensitivitas sel terhadap stres oksidatif.
2. Peningkatan pembentukan *advance glycation end product* (AGE): pembentukan dari AGE bertentangan dengan integritas target sel dalam modifikasi fungsi protein atau dengan menginduksi produksi *receptor-mediated* dari *reactive oxygen species*, yang dapat menyebabkan perubahan pada ekspresi gen.
3. Aktivasi dari isoform protein kinase C (PKC): hiperglikemia menyebabkan peningkatan konversi glukosa menjadi sorbitol, yang dimetabolisir menjadi fruktosa oleh sorbitol dehidrogenase, meningkatkan rasio NADH/NAD⁺. Hal ini menyebabkan triose fosfat yang teroksidasi dan sintesis *de novo* dari *diacylglycerol* (DAG). Peningkatan DAG mengaktifkan PKC.

4. Peningkatan aliran jalur *hexosamine* :pada hiperglikemia, glukosa semakin banyak memasuki *hexosamine-pathway*. Produk akhir dari jalur ini, *UDP-N-acetylglucosamine*, adalah substansi yang diperlukan untuk faktor transkripsi intraseluler, yang mempengaruhi ekspresi dari banyak gen. Jalur ini berhubungan dengan disfungsi endotelial dan mikrovaskular.

(Purwanto, 2007)



Gambar 2.6 Mekanisme Kerusakan Sel akibat Hiperglikemia

(Purwanto, 2007)

2.5. Radikal Bebas

2.5.1. Definisi

Radikal bebas adalah atom atau molekul reaktif yang mengandung satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbital luarnya. Sedangkan oksidan adalah senyawa penerima elektron, yaitu senyawa yang dapat menarik elektron. Radikal bebas dan oksidan memiliki sifat yang sama yaitu kecenderungan menarik elektron. Maka radikal bebas tergolong oksidan, namun tidak semua oksidan adalah radikal bebas

karena radikal bebas memiliki reaktifitas tinggi dan kecenderungan membentuk radikal bebas baru (Arkhaesi, 2008).

Radikal bebas dapat mengganggu produksi DNA, lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, dan produksi prostaglandin. Radikal bebas juga dijumpai pada lingkungan, beberapa logam (misalnya besi, tembaga), asap rokok, polusi udara, obat, bahan beracun, makanan dalam kemasan, bahan aditif, dan sinar ultraviolet dari matahari maupun radiasi (Arief, 2006).

2.5.2. Pembentukan Radikal Bebas

Radikal bebas dapat terbentuk in-vivo dan in-vitro secara :

1. Pemecahan satu molekul normal secara homolitik menjadi dua. Proses ini jarang terjadi pada sistem biologi karena memerlukan tenaga yang tinggi dari sinar ultraviolet, panas, dan radiasi ion.
2. Kehilangan satu elektron dari molekul normal
3. Penambahan elektron pada molekul normal (Arief, 2006)

Pembentukan radikal bebas dibagi menjadi 3 tahap, yaitu :

- a) Tahap inisiasi, pada tahap ini radikal bebas dibentuk dari molekul yang stabil



- b) Reaksi Propagasi, pada tahap ini radikal bebas bereaksi dengan molekul yang stabil membentuk radikal bebas yang baru.



- c) Reaksi Terminasi, pada tahap ini, dua radikal bebas saling bereaksi membentuk molekul yang stabil.



2.5.3. Jenis-Jenis Radikal Bebas dalam Tubuh

Jenis radikal bebas yang berasal dari oksigen, digolongkan dalam *reactive oxygen species* (ROS). Tiap sel yang hidup dengan metabolisme aerobik membongkar molekul oksigen dan membentuk ROS. Pembentukan ROS utamanya akibat reaksi enzimatik. Golongan radikal ROS adalah superoxide anion radical (O_2^-), Hidroksil radikal (OH^\bullet), hydrogen peroksida (H_2O_2), Hidroperoksil radikal (HO_2^\bullet), radikal peroksida (ROO^\bullet), dan oksigen tunggal ($1O_2$). Anion superoksida dapat bereaksi dengan nitrit oksida (NO^\bullet) membentuk peroksinitrit ($ONOO^-$), juga dapat diubah menjadi H_2O_2 dikatalis oleh *superoxide dismutase* (SOD). H_2O_2 dapat bereaksi dengan metal Cl membentuk asam Hipoklorik (HOCl) sebagai biomarker untuk thrombosis coroner. H_2O_2 dengan Fe^{2+} (*ferrous iron*) membentuk Fe^{3+} (*ferric iron*) dan OH^\bullet . Nitrit oksida dan nitrogen dioksida (NO_2^\bullet) adalah radikal bebas yang kuat sebagai pencetus peroksidasi lemak (Ahmad, 2006).

Konsekuensi dari radikal bebas yang berupa kecenderungannya memperoleh elektron dari substansi lain menjadikan radikal bebas bersifat sangat reaktif. Jika oksigen di reduksi oleh enzim sitokrom oksidase menjadi air, akan diperoleh empat buah electron. Meskipun demikian, electron juga dapat diperoleh secara satu persatu melalui univalent yang mungkin bertanggung jawab ata 1-5% total konsumsi oksigen. Molekul-molekul individual didalam reduksi univalen bersifat sangat reaktif dan potensial merusak jaringan. Molekul tersebut adalah radikal bebas superoksida, hydrogenperoksida, dan radikal bebas hidroksil. Unsur yang disebut terakhir itu bersifat sangat toksik, tetapi memiliki masa hidup yang singkat. Oleh karena itu, radikal bebas hidroksil akan bekerja di dekat tapak

asal pembuatannya melalui reaksi Fenton dan Haber-Weiss yang dikatalisis Fe^{2+} . Sumber spesies reaktif lain adalah xantin oksidase, yang menghasilkan superoksida (misalnya, selama cedera reperfusi pada organ iskemik), dan siklooksigenase serta lipooksigenase, yang menghasilkan radikal hidroksil serta peroksil. Neutrophil yang terstimulasi menghasilkan superoksida, yang merupakan salah satu mekanisme bagi penghancuran bakteri. Superoksida juga dibentuk saat xenobiotik di metabolisme oleh sitokrom P450. Karena bersifat sangat reaktif, molekul ini bekerja insitu sangat dekat dengan tempatnya dihasilkan. Oleh karena itu, sebagian struktur sel bersifat sangat rentan, termasuk membrane, protein structural, enzim serta asam nukleat, yang dapat menyebabkan mutasi dan kematian sel (Favus, 2006).

Radikal bebas yang mengandung karbon ($CCL_3\cdot$) yang berasal dari oksidasi radikal molekul organik. Radikal yang mengandung hidrogen hasil dari penyerangan atom $H(H\cdot)$. Bentuk lain adalah radikal yang mengandung sulfur yang diproduksi pada oksidasi glutation menghasilkan radikal thiyl ($R-S\cdot$) (Arief, 2006).

2.5.4. Sumber Radikal Bebas

2.4.4.1 Sumber Endogen

1. Autoksidasi: Produk hasil metabolisme aerobik. Molekul yang mengalami autooksidasi antara lain hemoglobin, katekolamin, sitokrom C yang tereduksi. Superoksida merupakan bentuk awal radikal dari proses ini. Selain itu ion ferrous juga dapat kehilangan elektronnya melalui oksigen untuk menghasilkan superoksida.

2. Oksidasi Enzimatik: Beberapa enzim dapat menghasilkan radikal bebas, seperti xanthine oxidase, lipoxygenase, aldehyde oxidase, dan amino acid oxidase.
3. Respiratory Burst: Merupakan terminologi yang digunakan untuk menggambarkan proses dimana selfagositik menggunakan oksigen dalam jumlah yang besar selama fagositosis. Enzim membran sel seperti NADPH-oxidase keluar dalam bentuk inaktif. Paparan terhadap bakteri yang dapat mengaktifkan enzim NADPH-oxidase. Aktifasi tersebut mengawali respiratory pada membran sel untuk memproduksi superoksida (Arief, 2006).

2.4.4.2 Sumber Eksogen

1. Radiasi: Radiasi elektromagnetik (sinar X, sinar gamma) dan radiasi partikel (partikel elektron, photon, neutron, alfa, dan beta) menghasilkan radikal primer dengan cara memindahkan energinya pada komponen seluler seperti air. Radikal primer tersebut dapat mengalami reaksi sekunder bersama oksigen yang terurai atau bersama cairan seluler (Droge, 2002)
2. Asap Rokok: Diperkirakan bahwa tiap hisapan rokok mempunyai bahan oksidan dalam jumlah yang sangat besar, meliputi aldehida, epoksida, peroksida, dan radikal bebas lain yang mungkin cukup berumur panjang dan bertahan hingga menyebabkan kerusakan alveoli. Bahan lain seperti nitrit oksida, radikal peroksil, dan radikal yang mengandung karbon ada dalam fase gas. Juga mengandung radikal lain yang relatif stabil dalam fase tar. Contoh radikal dalam fase

tar meliputi *semiquinone moieties* dihasilkan dari bermacam-macam *quinone* dan *hydroquinone* (Arief, 2006).

2.5.5. Reaksi Perusakan oleh Radikal Bebas (Peroksidasi Lipid)

Definisi tekanan oksidatif (*oxidative stress*) adalah suatu keadaan dimana tingkat oksigenreaktif intermediate (ROI) yang toksik melebihi pertahanan anti-oksidan endogen. Keadaan ini mengakibatkan kelebihan radikal bebas, yang akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler, sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu. Lemak merupakan biomolekul yang rentan terhadap serangan radikal bebas (Arief, 2006).

Membran sel kaya akan sumber *poly unsaturated fatty acid* (PUFA), yang mudah dirusak oleh bahan-bahan pengoksidasi; proses tersebut dinamakan peroksidasi lemak. Reaksi tersebut dicetuskan oleh sebuah senyawa radikal bebas, yaitu radikal hidroksil (OH^\cdot) yang mengekstraksi satu hidrogen dari lemak tak jenuh ganda (PUFA) sehingga terbentuk radikal lipid. Radikal lipid yang terbentuk kemudian bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil. Akan terjadi reaksi rantai radikal, ketika radikal peroksil ini menarik atau mengeluarkan atom hidrogen dari molekul asam lemak yang lain.

1. Inisiasi



2. Propagasi





3. Terminasi



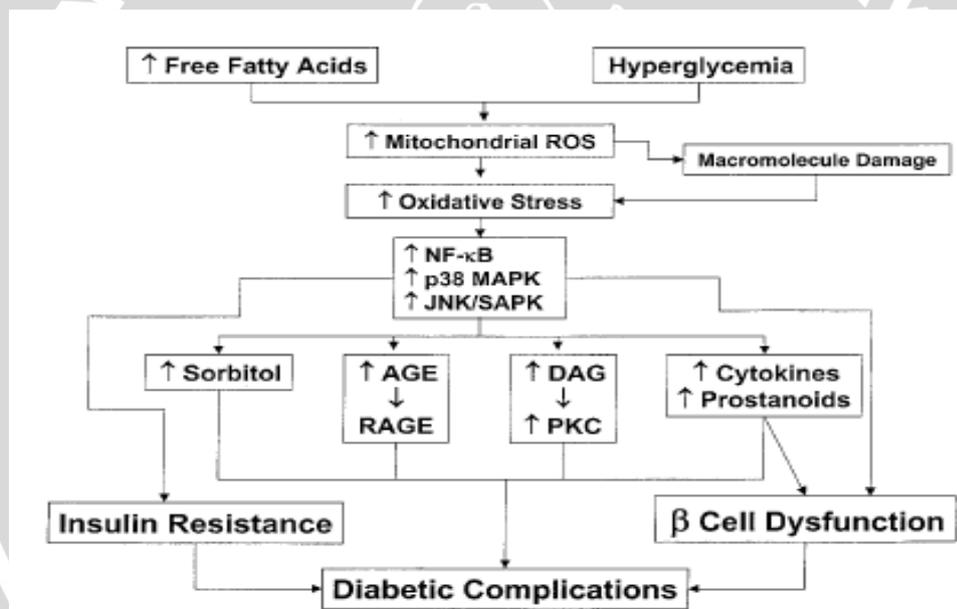
Sebagian besar dari fosfolipid LDL, lapisan lipidnya berupa asam lemak tidak jenuh ganda (PUFA) sehingga mudah teroksidasi dan berlanjut pada terjadinya peroksidasi lipid (Setyohadi, 2006).

2.5.6. Hubungan Antara Hiperglikemia, ROS dan Insulin

Hiperglikemia pada DM adalah penyebab utama pembentukan oksidatif stress. Tidak seimbangnya jumlah antara prooksidan dan antioksidan pada DM serta akibat peroksidasi lipid pada sel adalah akibat dari peningkatan oksidatif stress yang berperan pada terjadinya komplikasi pada DM (Kumawat, 2009). Diabetes mellitus merupakan salah satu penyakit radikal bebas yang menimbulkan komplikasi seiring dengan bertambahnya pembentukan radikal bebas. Radikal bebas diproduksi oleh berbagai macam mekanisme, seperti autooksidasi glukosa, glikosilasi protein, pembentukan AGE, dan aktivasi jalur poliol (Kalaivanam, 2010). Oksidatif stress meningkat pada DM akibat peningkatan produksi oksigen radikal (seperti super oksida, hydrogen peroksida, dan radikal hydroxide) dan menurunnya mekanisme pertahanan oleh antioksidan (Soliman, 2008).

Peningkatan ROS ini akan menyebabkan kerusakan sel endotel sehingga meningkatkan kadar sitokin dalam tubuh (Freitas, 2009). Menurut Evans (2002), peningkatan jumlah ROS mengarah pada terjadinya

kerusakan protein, lemak dan DNA. Sistem antioksidan endogen dalam tubuh yang terdapat pada sel akan berusaha menetralkan ROS dan mengatur fungsi sel. Jumlah ROS yang terlalu banyak tidak akan bisa dikompensasi oleh antioksidan tubuh, sehingga akan menyebabkan reaksi inflamasi. Inflamasi sistemik telah dihubungkan dengan kejadian resistensi insulin, tetapi peningkatan kadar sitokin berperan dalam kejadian disfungsi sel beta dengan memicu terjadinya apoptosis sel beta (Pittas, 2007). Kerusakan sel beta ini dapat menyebabkan penurunan produksi insulin (Enzler, 2007).



Gambar 2.7 Hubungan Hiperglikemia, FFA, ROS dan Insulin

2.6. Vitamin D

Vitamin D merupakan vitamin yang tergolong larut dalam lemak dengan struktur molekul steroid. Vitamin D ini cukup unik, karena bukan sebuah vitamin murni yang didapat dari makanan yang mengandung vitamin D namun dapat juga disintesis oleh tubuh melalui pajanan sinar matahari. Vitamin D, juga dikenal sebagai kalsiferol, terdiri dari kelompok larut dalam lemak seco-

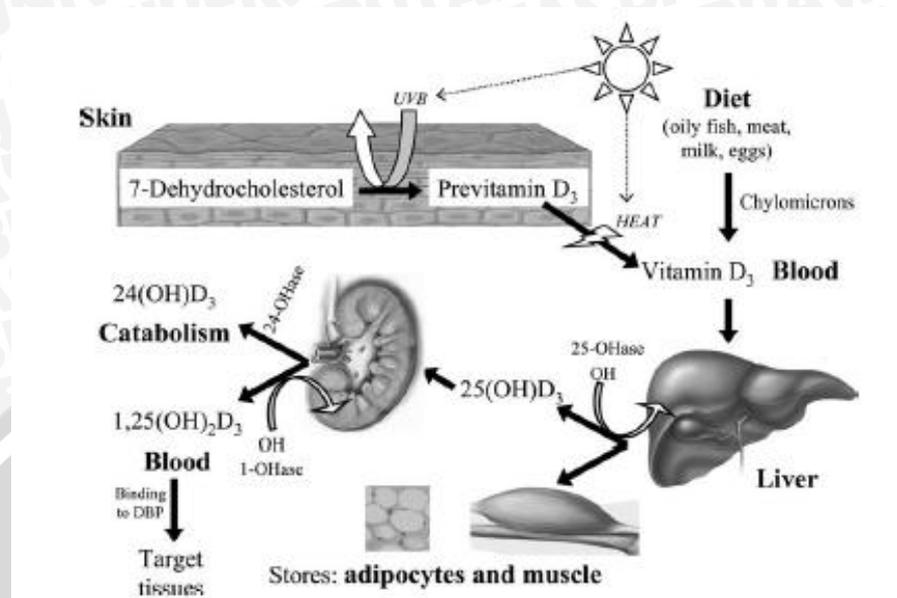
sterol. Vitamin D dibagi menjadi 2 kelompok besar yaitu vitamin D₂ (dibentuk oleh berbagai tanaman dan jamur) dan vitamin D₃ atau kolekalsiferol (dibentuk di kulit atas pengaruh radiasi UVB) (Bikle, 2009).

Vitamin D dimetabolisme di dalam tubuh menjadi metabolit hormon steroid: 1,25 – dihidroksivitamin D₃ [1,25 (OH)₂D₃] atau kalsitriol. Provitamin D terutama ditemukan pada makanan yang berasal dari hewan. Vitamin D dalam ditemukan pada minyak ikan, telur, mentega, hati, ikan makarel, salmon, sardine. Saat ini juga sudah banyak makanan yang disuplementasi dengan vitamin D, terutama hasil olahan susu, dan sereal. Makanan yang berasal dari tumbuhan biasanya mengandung kadar vitamin D yang lebih rendah (Ginanjar, 2007).

2.6.1. Sintesis dan Metabolisme Vitamin D

Vitamin D₃ disintesis di kulit manusia dalam bentuk 7-dehidrokolesterol yang berasal dari paparan sinar ultraviolet B (UVB) matahari. Tahapan sintesis tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti musim, pigmen kulit, garis lintang geografis, penggunaan matahari, pakaian, serta besarnya bagian kulit tubuh yang terpapar sinar matahari (Ross, 2011). Teori tersebut didukung oleh hasil penelitian Hirani (2010) yang menyebutkan bahwa kadar vitamin D serum subjek lebih rendah pada saat musim panas dan musim semi. Faktor risiko lain adalah pigmen kulit yang lebih gelap lebih berisiko mengalami hipovitaminosis D.

Sintesis dan metabolisme vitamin D dapat digambarkan pada bagian berikut ini:



Gambar 2.8 Bagan Metabolisme Vitamin D (Palomer, 2008)

2.6.2. Defisiensi Vitamin D

Klasifikasi penggolongan defisiensi vitamin D atau hypovitamin D dilihat dari rendahnya serum 25 (OH)D. Pengklasifikasian defisiensi vitamin D berdasarkan serum 25 (OH)D (Stroud, 2008) yaitu :

- Defisiensi ringan/insufisiensi: 50nmol/L (20ng/L)
- Defisiensi sedang: 37.5nmol/L (15ng/L)
- Defisiensi berat: 20nmol/L (8ng/L)

2.6.3. Fungsi Vitamin D

Fungsi vitamin D dibagi menjadi 2, yaitu fungsi klasik vitamin D dan fungsi non-klasik.

A. Klasik

Vitamin D sebagai sistem endokrin merupakan komponen penting dalam interaksi antara ginjal, tulang, hormon paratiroid, dan usus yang hasilnya untuk menjaga kadar kalsium ekstraseluler selalu

dalam batas normal sehingga dapat berguna dalam proses vital fisiologi dan integritas skeletal.

B. Non Klasik

- a. Supresi pertumbuhan sel
- b. Regulasi apoptosis
- c. Modulasi respon imun
- d. Regulasi fungsi dan diferensiasi kulit
- e. Regulasi sistem renin angiotensin
- f. Regulasi sekresi insulin
- g. Kontrol fungsi otot dan sistem saraf pusat

2.6.4. Sumber Vitamin D

Sumber makanan yang kaya akan vitamin D banyak didapatkan pada ikan salmon, sayuran hijau, *dairy product*, dan kacang-kacangan.

Tabel 2.1 Kandungan Vitamin D pada Berbagai Bahan Makanan

Sumber Makanan	Serving Size	Vitamin D (IU)
Minyak hati ikan cod	1 sendok makan	1360
Ikan salmon	3 ons	400-800
Catfish	3 ons	425
Ikan Tuna	3 ons	230-345
Susu, difortifikasi	1 cangkir	90-125
Kuning telur	-	24
Ikan sarden	1 ons	84
Hati, ayam dimasak	3 ons	44
Udang	1 ons	28

(Mahan, 2008)

- Susu

satu cangkir susu memiliki sekitar 30 persen dari kalsium yang dibutuhkan setiap hari. Selain itu susu komersil yang dijual sudah diperkaya dengan vitamin D, sehingga mempunyai dua khasiat sekaligus.

- Salmon

Ikan berlemak seperti salmon merupakan sumber vitamin D yang terbaik yang berasal dari alam. Satu porsi salmon saja akan memberikan semua vitamin D yang dibutuhkan dalam sehari. Selain itu tulang ikan salmon juga mengandung kalsium.

- Telur

Telur mengandung sejumlah vitamin D yang bagus, namun vitamin D ditemukan dalam kuning telur saja, jadi jika mengkonsumsi putih telur manfaat vitamin D kurang didapatkan.

(Media Inhealth ed. April 2013)

2.6.5. Fungsi Vitamin D dalam Diabetes Mellitus

Kerja vitamin D pada T2DM dibagi menjadi 2, yaitu secara langsung dan secara tidak langsung. Secara langsung vitamin D menstimulasi ekspresi dari insulin reseptor, dengan cara ini akan meningkatkan kemampuan reaksi insulin untuk mentranspor glukosa (Pittas, 2007). Secara tidak langsung vitamin D adalah dengan menjaga ketersediaan kalsium yang menentukan proses *insulin mediated intracellular* (Pittas, 2007). Vitamin D berperan dalam pengaturan kalsium ekstraseluler dan fluks kalsium, dimana sekresi insulin merupakan proses *Calcium-dependent*, sehingga perubahan dalam fluks kalsium dapat memberikan

efek berlawanan terhadap fungsi sekresi sel beta (Pittas, 2007) dan menurunkan aktivitas GLUT-4 (Cimbek, 2012).

Menurut penelitian Kadowaki (1984) menegemukakan bahwa Ca^{2+} memiliki peran yang kuat pada pengeluaran insulin dan peningkatan sel beta intrasel. Level kalsium intrasel dipengaruhi tidak hanya oleh influk Ca^{2+} dar ekstrasel menuju ke sel, tetapi juga dari *uptake* dan pengeluaran Ca^{2+} oleh organel intrasel sel beta. Vitamin D memfasilitasi kalsium untuk diabsorpsi pada usus, untuk menyediakan ketersediaan kalsium dalam beberapa sel, dengan demikian vitamin D dan Kalsium mungkin memiliki peran yang sinergis dalam mengurangi resiko T2DM.

Vitamin D juga mengaktifkan 1-alfa hidrosilase pada sel beta pancreas (Bland, 2004). Enzim ini meningkatkan sintesis dari $1,25(OH)_2D_3$ (Zehnder, 2001). Enzim ini merubah $25(OH)D_3$ menjadi bentuk aktif 1,25-dihidroksivitamin D_3 (Chiu, 2004). 1,25 Dihidroksivitamin D_3 berikatan dengan reseptor vitamin D pada sel beta pancreas dan meningkatkan ekspresi reseptor insulin yang menghasilkan peningkatan sensitivitas insulin (Kirii, 2009). $1,25(OH)_2D_3$ berguna untuk pengeluaran insulin dan homeostatis glukosa, dengan cara meningkatkan eksositis insulin dengan meningkatkan ekspresi dari calbindin-D28K di beta sel. Calbindin ini memiliki peran intuk meregulasi level kalsium intraseluler di beta sel, hal ini menyebabkan terjadinya pembentukan insulin (proses yang bergantung pada kalsium) (Moreira,2010).

Shanti (2012), menyatakan bahwa sekresi dan sensitivitas insulin dipengaruhi oleh sekresi vitamin D mediated intracellular calcium. Peningkatan kalsium intrasel akan meningkatkan pengikatan dari calcium

binding protein (calmodulin) pada IRS-1 (*Insulin receptor substrate 1*), hal ini akan menstimulasi fosforilase tirosin dan mengkativasi PI3 kinase yang akan meningkatkan sekresi insulin.

Menurut Wiseman (1993), bagian hidrofobik dari cholecalciferol, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (bentuk aktif vitamin D) dan 7-hidroksi D_3 mengganggu residu asam lemak yang dapat merusak viskositas membrane sel, dan dengan demikian dapat melindungi membrane sel dari peroksidasi lipid dan efek berbahaya dari radikal bebas. Keong (2006) menyatakan suplementasi vitamin D dapat menurunkan radikal bebas oksigen (O_2^-) dan meningkatkan status antioksidan. Namun mekanismenya masih belum diketahui, sehingga dari pernyataan tersebut, vitamin D memiliki kerja sebagai scavenger radikal bebas.

Keterkaitan peran vitamin D dengan kadar kalsium dalam darah juga memberikan efek yang signifikan jika dibandingkan dengan pemberian vitamin D tanpa kalsium pada Diabetes Mellitus Tipe 2. Moreira (2010) menyatakan bahwa $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ berperan esensial dalam eksositosis insulin, yaitu sebuah proses pengeluaran insulin dari dalam membran sel menuju ekstraseluler yang membutuhkan kalsium (*calcium-dependent*), yang diregulasi oleh calbindin-D28K yang terdapat pada sel Beta pankreas. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ berperan penting untuk meningkatkan ekspresi calbindin-D28K yang dapat menurunkan jumlah kematian sel Beta akibat sitokin dan menurunkan kerusakan mitokondrial yang dapat berakibat pada peningkatan produksi ROS dan apoptosis lebih lanjut (Moreira, 2010; Pittas, 2011). Hal ini juga membuktikan bahwa gabungan aksi dari kedua zat gizi tersebut menghasilkan data yang lebih signifikan dibandingkan

dengan pemberian vitamin D saja atau kalsium saja pada kondisi Diabetes Mellitus Tipe 2 (Kirii, 2009).

Menurut Dunlop (2005) vitamin D juga mengatur nuclear PPAR (Peroxisome Proliferative Activated Receptor) yang memiliki peran penting pada sensitivitas insulin terhadap glukosa. PPAR-Gamma juga sebagai factor transkripsi yang terlibat dalam mengatur metabolisme asam lemak dalam sel otot dan jaringan adipose (Cimbek, 2012).

Pada diabetes mellitus tipe 2, vitamin D memengaruhi sekresi insulin dan sensitivitas insulin melalui efeknya terhadap sel beta, mediator inflamasi dan hormone paratiroid (Alfonso, 2009). Pada DM tipe 2 ditemukan hubungan dengan peningkatan jumlah *tumor necrosis factor* – α dan β , *C reactive proteins*, interferon γ , *plasminogen activator inhibitor -1 (PAI-1)*, NF- κ B dan interleukin 6 (IL-6). Peningkatan jumlah mediator inflamasi ini diperkirakan menjadi factor penyebab terbentuknya diabetes mellitus tipe 2 (Danescu, 2008).

Vitamin D dapat menekan kapasitas antigen dalam pembentukan makrofag, mengatur pembentukan dari limfosit CD4 dan menghambat produksi dari interferon γ , TNF- α , IL-6, NF- κ B dan IL-2 (interleukin 2) dari beberapa sitokin yang lain (Talei, 2013). Dengan mengatur proses inflamasi dan system imun, Vitamin D juga dapat menurunkan resistensi insulin dan meningkatkan sekresi insulin pada DM tipe 2. Sel Islet pancreas dan vitamin D-*dependent calcium-binding protein (CaBP)* diperkirakan memiliki peran untuk vitamin d pada sekresi insulin. Vitamin D lebih memengaruhi fungsi kerja dari sel Beta dibandingkan dengan sel alfa. Efeknya terhadap sel beta adalah dengan meningkatkan respon insulin ke

stimulasi glukosa, tetapi tidak mempengaruhi sekresi insulin basalnya (Danescu,2008).

Vitamin D dapat berfungsi sebagai *immunomodulatory* dan antiinflamasi yang akan mengurangi reaksi inflamasi pada sel inslet pancreas dan terjadinya penurunan autoimmune peradangan insulin pada DM tipe 1 (Danescu, 2008) . Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pittas (2007), terdapat beberapa penelitian terdahulu terkait hubungan anantara vitamin D dan toleransi glukosa. Penelitian ini melihat beberapa perbandingan pemberian vitamin D dan kalsium pada manusia berdasarkan dosis dan durasi pemberiannya terhadap hasil yang didapatkan. Bebeapa penelitian tersebut terdapat daam tabel 2.2.



Tabel 2.2 Studi Kasus terkait Pemberian Suplementasi Vitamin D dan Kalsium pada Toleransi Glukosa

Penulis, Tahun	Sex	Usia	Partisipan Penelitian	Intervensi		Outcome Utama	Outcome lain
				Tipe dan Dosis	Durasi		
Nilas , 1984	P	45 – 54	Nondiabet N= 151	Vitamin D, 2000 IU/hr (n= 25) vs 1OHD ₃ 0,25 µ g/hr (n=23) vs Placebo (n=103), semua mendapat Ca 500 mg/hari	104 minggu	↔ FPG (berubah dari dasar (mg/dl): +2,2 vs -0,33 vs 0,1269)	
Inomata, 1986	P/L	36- 80	DMT2 N= 14	1OHD ₃ 2 µ g/hr (n=7) vs placebo (n=7)	3 minggu	↔ GLU _{AUC} (berubah dari awal (mg/2h/dl): - 21,2 vs -2,3)	↑, INS _{AUC}
Ljunghall, 1987	L	61 - 65	IGT/mild DMT2, n= 65	1OHD ₃ 0,75µ g/hr (n=33) vs placebo (n=32)	12 minggu	↔ FPG (awal hingga akhir penelitian mg/dl): 117 ke 117 vs 115 ke 117;	↔ IR _{IVGTT}
Orwoll, 1994	P/L	40-70	Non-insulin-treated DMT2, n= 20	1,25-OHD 1 µ g/hr (n=33) vs placebo (crossover trial, n=32)	4 hari	↔ FPG (awal hingga akhir penelitian mg/dl): 214 ke 209 vs 214 ke 198;	↔ IR _{FI} , ↔ INS _{AUC} 1 INS _{AUC} if diabetes of short duration
Fliser, 1997	L	26	Sehat , Non-diabetes, n=18	1,25-OHD 1,5 µ g/hr (n=9) vs placebo (n=9)	1 minggu	↔ FPG (awal hingga akhir penelitian mg/dl): 84 ke 86 vs 86 ke 88)	↔ IR _M
Barr, 2000	P/L	55-85	Non-diabetes, n=204	Skim/susu rendah lemak (3 porsi/hari) (n=101) vs diet biasa (n=100)	12 minggu	↔ FPG (awal hingga akhir penelitian mg/dl): 99 ke 102 vs 96 ke 93)	↔ IR _{FI}
Zemel, 2004	P/L	18-60	Nondiabet, obese, n=32	Susu tinggi Ca ²⁺ 1300 mg/hr)(n=11) vs tinggi Ca ²⁺ (ca = 1300 mg/hr) (n=11) atau rendah Ca ²⁺ (ca= 500 mg/hr)(n = 10) ; semua menerima pembatasan energi (-500 kkal)	24 minggu	↔ FPG (data NR); ↓GLU _{AUC} (berubah dari awal, [%] - 27 vs NR vs NR)	↔ INS _{AUC} , ↓IR _{FI} , bukan penurunan berat badan biasa.
Thompsn, 2005	P/L	25-70	Nondiabet, obese, n=90	Produk susu, 2 porsi /hr (n= 29) vs 4 porsi/hr (n=30); semua mendapatkan pembatasan energi (-500 kkal)	48 minggu	↔ FPG (berubah dari dasar (mg/dl): -1,4 vs -4,0; ↔ 2hPG (berubah dari awal [mg/dl]: 1,6 vs 5,4)	↔INS ₁₂₀ , IR _{FI}
Pittas , 2006	P/L	71	GDP normal, n= 222	D ₃ 700 IU/hr + Kalsium Sitrat 500 mg/hr (n= 108) vs plasebo (n = 114)	3 tahun	↔ FPG (berubah dari dasar (mg/dl): 2,7 vs 2,2	↔IR _{HOMA}
	P/L		Gangguan GDP, n=92	D ₃ 700 IU/hr + Kalsium Sitrat 500 mg/hr (n= 45) vs plasebo (n =47)	3 tahun	↔ FPG (berubah dari dasar (mg/dl): 0,4 vs 6,1	↓IR _{HOMA}

NR, Not reported; IGT, impaired glucose tolerance (berdasarkan FPG atau 2hPG); FPG, fasting plasma glucose; 2hPG, plasma glucose 2 h setelah diberi 75g gula;; GLU_{AUC}, glucose area-under-the-curve setelah diberi 75g gula; INS_{AUC}, insulin area-under-the-curve setelah diberi 75g gula;; INS₁₂₀, insulin value at 120 min setelah glukosa diberikan; IR, insulin resistance; 25-OHD: 25-hydroxyvitamin D; IR_{FI}, insulin resistance by fasting insulin; IR_{HOMA}, insulin resistance by homeostasis model assessment; IR_M, insulin resistance after euglycemic hyperinsulinemic clamp; IR_{IVGTT}, insulin resistance after iv glucose tolerance test;

(Pittas, 2007)

2.7. Susu Bubuk

Susu bubuk merupakan bentuk olahan dari susu segar yang dibuat dengan cara memanaskan susu pada suhu 80 °C selama 30 detik, kemudian dilakukan proses pengolahan dengan beberapa tahapan yaitu evaporasi, homogenisasi, dan pengeringan yang dilakukan dengan menggunakan *spray dryer* atau *roller dryer*. Produk ini mengandung 2-4% air (Nasution 2009).

Menurut data USDA (2010), konsumsi susu bubuk Indonesia meningkat 6.000 ton dari 106.000 ton menjadi 112.000 ton selama tahun 2009-2010. Data itu menunjukkan penerimaan masyarakat Indonesia akan susu bubuk cukup tinggi. Sedangkan untuk tingkat konsumsi susu pada penderita diabetes mellitus di Indonesia masih tergolong kurang, karena sebagian besar pasien DM tidak pernah mengonsumsi susu. Sementara mereka yang mengonsumsi susu, mengkonsumsinya dengan frekuensi jarang (Wulanti, 1999).

Tabel 2.3 Komposisi Zat Gizi Susu Sapi

Komposisi Zat Gizi Susu Sapi	
Kandungan	Jumlah per 100 gram bahan
Energi (Kkal)	61
Air (g)	88.3
Protein (g)	3.2
Lemak (g)	3.5
KH (g)	4.3
Abu (g)	0.7

(DKBM, 2002)

Tabel 2.4 Kandungan beberapa Vitamin dan mineral Susu Sapi

Jumlah Beberapa Vitamin dan Mineral Susu Sapi	
Vitamin	Jumlah dalam Setiap 1 Liter Susu
Vitamin A (IU)	400
Vitamin D (IU)	40
Vitamin E (IU)	1000
Vitamin B1 (µg)	450
Vitamin K (µg)	50
Vitamin B2 (µg)	1750
Vitamin B6 (µg)	500
Vitamin C (µg)	20
Mineral	Jumlah dalam setiap liter susu
Natrium (mg)	350 – 900
Kalium (mg)	1100 – 1700
Klorida (mg)	900 – 1100
Kalsium (mg)	1100 – 1300
Magnesium (mg)	90 – 140
Besi (µg)	300 – 600
Seng (µg)	2000 – 6000

(Legowo, 2002)

Selain dikonsumsi dengan cara direkonstitusi menjadi susu cair, susu bubuk juga banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku pada industri pengolahan pangan contohnya untuk pembuatan produk *bakery*, permen, dan saus. Susu bubuk digunakan untuk meningkatkan nilai gizi dan sifat fungsionalnya seperti penerimaan sensori dan tekstur. Susu bubuk sering diaplikasikan sebagai bahan baku maupun bahan tambahan pada industri

pangan. Hal ini karena komponen dalam susu bubuk dapat mudah berinteraksi dengan komponen lain ketika diformulasikan dan diproses menjadi suatu produk pangan. Selain itu, susu bubuk merupakan sumber nutrisi ekonomis bagi industri yang membutuhkan komponen gizi dari susu seperti lemak susu, mudah dalam transportasi dan penyimpanan, dan mudah direkonstitusi. Indonesia adalah negara beriklim tropis sehingga susu yang kaya nutrisi sangat rentan terhadap serangan mikroorganisme yang mempercepat kerusakannya. Oleh karena itu masyarakat lebih memilih susu dalam bentuk bubuk yang mana memiliki kadar air rendah serta lebih tahan lama sehingga dapat disimpan untuk jangka waktu lebih lama (Augustin dan Clarke, 2008).

Negara yang produksi susu terbatas seperti Indonesia, susu yang banyak beredar adalah susu rekombinasi. Susu rekombinasi adalah produk susu hasil pencampuran lemak susu dan padatan susu tanpa lemak dengan atau tanpa penambahan air. Pencampuran ini akan menghasilkan susu dengan komposisi lemak tertentu (Walstra 1982). Adapun komposisi yang terdapat pada susu bubuk dapat dilihat pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5 Komposisi (%w/w) pada Beberapa Susu Bubuk

Komponen	(%)
Kadar air	3,0
Kadar lemak	27,5
Kadar protein	26,4

Kadar laktosa	37,2
Kadar mineral	5,9

(Chandan, 1997)

Menurut BPOM (2006), komposisi lemak total pada susu bubuk maksimal 40% dan minimal 26% dengan kadar air maksimal 5%. Dalam susu bubuk dapat ditambahkan komposisi lain seperti vitamin, *carrier* vitamin, *emulsifier*, *stabilizer*, *anticaking*, antioksidan, dan juga *flavor*. Susu bubuk berasal baik dari susu segar dengan atau tanpa rekombinasi dengan zat lain seperti lemak atau protein yang kemudian dikeringkan.

Kandungan air yang tinggi pada susu segar menyebabkan perlu dilakukan pemekatan terlebih dahulu untuk menghasilkan susu dengan kadar air yang lebih rendah. Proses pemekatan awal ini melibatkan evaporasi sehingga terjadi perubahan kadar air menjadi 50% diikuti dengan pengeringan semprot sehingga dihasilkan susu bubuk dengan kadar air rendah, sekitar 3% (Widodo 2003).

Fennema (1985), memaparkan adanya hubungan yang erat antara kadar air dalam bahan pangan dengan umur simpannya. Pengurangan kadar air dengan pengeringan membantu memperpanjang umur simpan bahan pangan dengan cara mengurangi kerusakan mikrobiologis maupun kerusakan kimiawi. Umur simpan susu bubuk maksimal adalah dua tahun dengan penanganan yang baik dan benar. Susu bubuk dapat dikelompokkan menjadi tiga jenis yaitu susu bubuk berlemak (*full cream milk powder*), susu bubuk rendah lemak (*partly skim milk powder*), dan susu bubuk tanpa lemak (*skim milk powder*).

Susu bubuk berlemak (*full cream milk powder*) adalah susu yang telah diubah bentuknya menjadi bubuk. Susu bubuk rendah lemak (*partly skim milk powder*) adalah susu yang telah diambil sebagian lemaknya dan diubah bentuknya menjadi bubuk. Susu bubuk tanpa lemak (*skim milk powder*) adalah susu yang telah diambil lemaknya dan diubah menjadi bubuk (BSN, 2000).

Gizi yang tersedia dalam susu bubuk berupa protein, glukosida, lipida, garam-garam mineral dan vitamin sangat cocok untuk pertumbuhan dan penambahan jumlah sel tubuh anak-anak dan mamalia muda lainnya (Buckle *etal.* 1987). Komposisi kandungan gizi dari berbagai jenis susu bubuk dapat dilihat pada Tabel 2.6.

Tabel 2.6 Komposisi Kandungan Gizi Beberapa Jenis Susu Bubuk

Susu Bubuk	Air (%)	Protein (%)	Lemak (%)	Laktosa (%)	Mineral (%)
Susu Bubuk <i>Full Cream</i>	3,5	25,2	26,2	38,1	7,0
Susu Bubuk Skim	4,3	35,0	0,97	51,9	7,8
Susu Bubuk Krim	4,0	21,5	40,0	29,5	5
Susu Bubuk <i>Whey</i>	7,1	12,0	1,2	71,5	8,2
Susu Bubuk <i>Buttermilk</i>	3,1	33,4	2,28	54,7	6,5

(Sudarwanto, 1993)

2.8. Nuclear Factor Kappa Beta (NF- κ β)

2.8.1. Definisi

Nuclear Factor Kappa Beta (NF- κ β) adalah golongan protein yang berperan dalam faktor transkripsi yang ditemukan di semua tipe sel. NF- κ β juga terlibat dalam respon segera pada berbagai stimulus, seperti infeksi virus dan bakteri, stress oksidan dan lain – lain. Pada sebagian besar

pengaktifan NF- κ B akan mengawali regulasi terekspresinya sejumlah gen yang mengkode sitokin, *growth factor*, molekul modulasi imun, gen yang berhubungan dengan apoptosis dan lainnya (Putra, 2012).

Terdapat 5 sub unit produk gen yang berpartisipasi dalam fungsi NF- κ B : RelA/p65, cRel, RelB, p50 (dan prekursornya p105) dan p52 (dan prekursornya p100). NF- κ B ini terdiri atas homo- atau hetero-dimer dimana spesies predominannya berada di semua tipe sel, seperti sel β adalah heterodimer p65-p50.

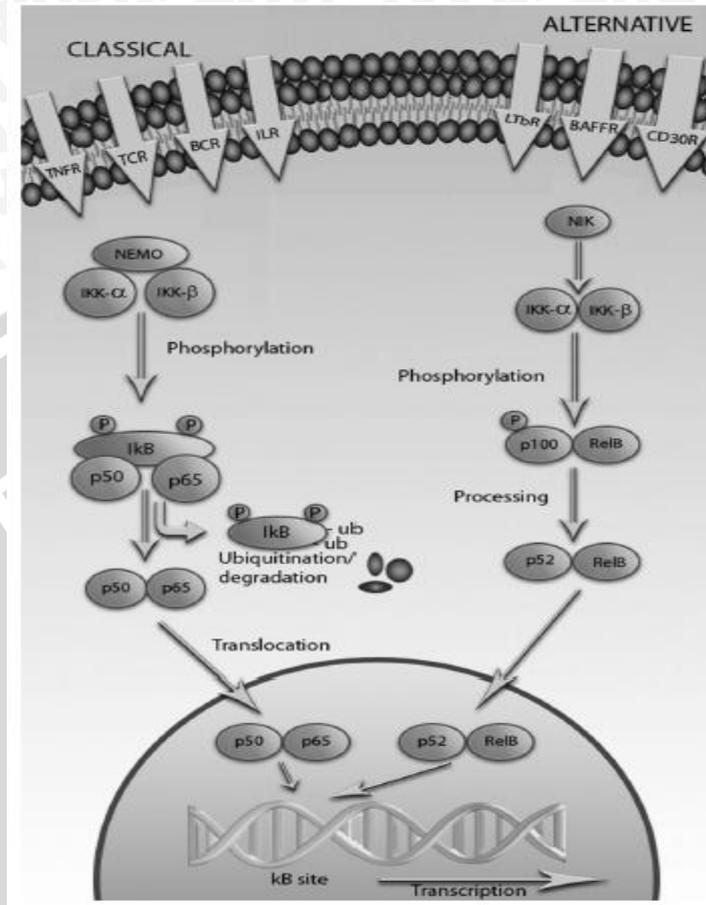
Pada sel yang tidak teraktivasi, NF- κ B berada di sitoplasma dalam bentuk tidak aktif yang tidak berikatan dengan DNA, yang berasosiasi dengan protein *inhibitor* κ B (I κ Bs). I κ B terdiri atas I κ B α , I κ B γ , I κ B ϵ , Bcl-3, prekursor p100 dan p105. Pada saat NF- κ B terstimulasi, protein I κ B secara cepat difosforilasi oleh kompleks I κ B kinase (IKK) yang menuju protein *inhibitor* untuk *ubiquitination* dan selanjutnya akan didegenerasi oleh jalur *ubiquitin-proteasome*. IKK terdiri atas dua subunit katalitik, IKK α dan IKK β , serta subunit *modifier* esensial NF- κ B atau biasa disebut IKK γ . Pelepasan dimer NF- κ B akan translokasi ke nukleus dan menyebabkan ekspresi berbagai macam gen (Santangelo *et al*, 2007).

2.8.2. Jalur NF- κ B

Jalur NF- κ B digolongkan menjadi 2 jalur utama yaitu jalur klasik (canonical) dan jalur alternatif (non canonical). Pada jalur klasik, sub unit utama yang berperan adalah Rel-A yang dapat membentuk dimer dengan p50 maupun p52. Jalur ini diaktivasi sangat cepat dan merupakan respon akut dari berbagai sinyal. Jalur ini diaktivasi oleh IKK α /IKK β yang akan memfosforilasi I κ B sehingga NF- κ B akan terlepas dari ikatannya dengan

I κ B. IKKa/IKKb sendiri akan diaktivasi akibat fosforilasi dan ubiquitinasi dari NEMO (IKKg) yang mengikat dimer IKK tersebut. sedangkan jalur alternatif melibatkan peran utama dari Rel-B dan p52. Aktivasi jalur ini memerlukan waktu yang lama karena p52 tersedia dalam bentuk prekursornya (p100) sehingga diperlukan proses transformasi p100 menjadi p52. Aktivasi jalur ini hanya melibatkan peran IKKa saja yang sebelumnya diaktivasi oleh NIK (Oeckinghaus and Ghosh, 2009; Sandip, 2009).

Jalur kanonik disebabkan oleh TNFa, IL-1, atau LPS dan menggunakan berbagai macam sinyal adapter untuk terlibat aktivitas IKK. Fosforilasi residu serin di wilayah sinyal pecific (SRR) dari I κ Bs klasik oleh IKKb, mengarahkan untuk ubiquitination I κ B dan degradasi proteosomal berikutnya. Hal ini menyebabkan pelepasan dari NF- κ B dimer, yang kemudian dapat mentranslokasi ke inti dan menginduksi transkripsi gen target. Jalur non-kanonik tergantung pada NIK (NF- κ B –inducing kinase) aktivasi diinduksi dari IKKa. IKK aphosphorylates yang p100 NF- κ B subunit, yang mengarah ke pengolahan proteosomal dari p100 ke p52. Hal ini menyebabkan aktivasi dari p52-RelB dimer, yang menargetkan elemen specific κ B (Oeckinghaus and Ghosh, 2009; Sandip, 2009)



Gambar 2.9 Jalur Signal NF- κ B

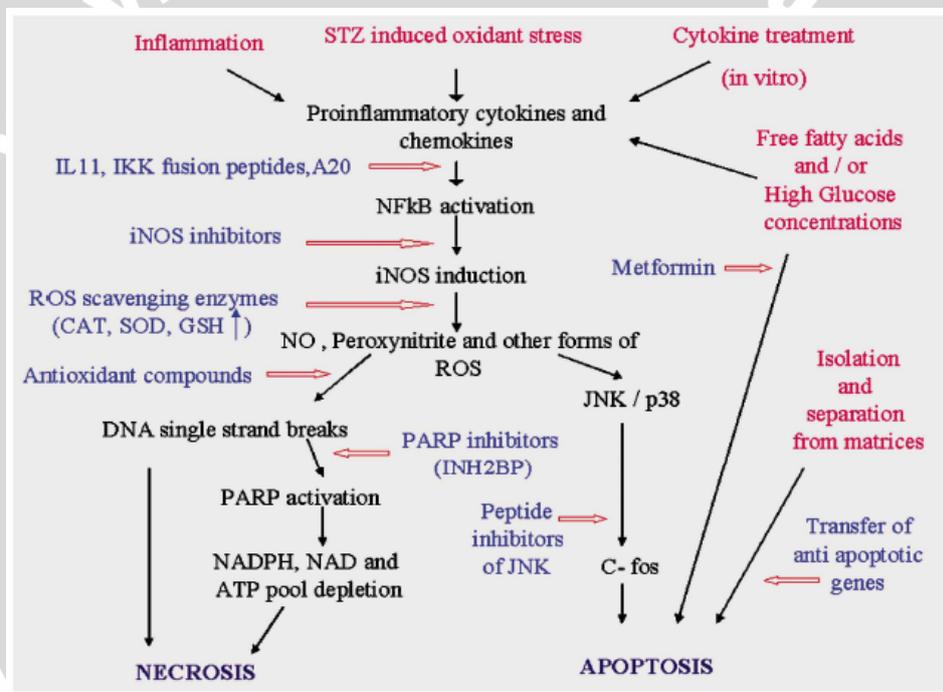
2.8.3. Efek NF- κ B terhadap Diabetes mellitus

Pada diabetes mellitus tipe 2, NF- κ B ditemukan memiliki peranan dalam pembentukan resistensi insulin pada diabetes mellitus tipe 2. Pada studi sebelumnya, IKK β merupakan kunci dalam pembentukan resistensi insulin. Bagaimanapun, antara IKK β atau target akitvasinya NF- κ B memainkan peranan penting dalam pembentukan resistensi insulin. Overekspresi dari IKK β pada hati dapat mengaktifkan NF- κ B yang menyebabkan inflamasi kronis hati yang biasanya dilihat pada diet tinggi lemak atau obesitas yang di induksi resistensi insulin (Sandip, 2009). Menurut Granic (2009), pada tikus dengan hiperglikemia dan resistensi

insulin yang secara selektif di ekspresikan IKK β pada hati terjadi penginduksian fenotip T2DM.

Peningkatan aktifitas NF- κ β pada DM terjadi melalui beberapa mekanisme, yaitu pengaktifan isoform PKC melalui glukosa, peningkatan formasi *glucose-derived advance glycation endproducts* (AGEs), jalur *Aldosereductase* (AR) dan peningkatan pembentukan *reactive oxygen species* (ROS) (Granic, 2009). Peningkatan aktifitas NF- κ β dapat menyebabkan terjadinya komplikasi yang terjadi pada T2DM. Faktor transkripsi ini dapat memodifikasi ratusan gen yang menuju pada disfungsi sel beta pankreas dan kematian karena apoptosis. Terdapat lebih dari 66 gen yang termodifikasi pada sel beta pankreas yang terpapar sitokin. Dari beberapa gen tersebut diduga merupakan target gen dari NF- κ β . Beberapa contoh sitokin yang sering diketahui dan merupakan target gen NF- κ β adalah TNF α , IL-1 β dan IFN- Gamma. Pengaktifasian NF- κ β dapat menjadi pemicu pada pro- atau anti-apoptosis, namun pada sel beta pankreas aksi ini lebih cenderung pada pro-apoptosis (Sandip, 2009). Ketiga sitokin ini menentukan *upregulation* dari ekspresi yang menginduksi NO sintase (iNOS) dan sintesis selanjutnya dari NO radikal yang sama fungsinya seperti radikal bebas yaitu *peroxynitrite* (ONOO-) dan *superoxide* (O²⁻) yang berkontribusi dalam kerusakan beta sel pankreas (Hui, 2004). Molekul toksik ini akan secara signifikan menyebabkan kematian sel islet dengan menginduksi kerusakan DNA. Kerusakan DNA pada sel beta pakreas menyebabkan aktifasi *poly* (ADP Ribose) *polymerase* (PARP) menyebabkan peningkatan konsumsi NAD, kehabisan produksi ATP di sel. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi kerusakan dan kematian sel pada

sel islet (Bhonde, 2007). Pada sel beta pankreas, IL1- β menyebabkan aktifasi dari salah satu member MPAK (*Mitogen-activated protein kinase*), yaitu p38, ERK (*Extracellulr-signal-regulated kinase*) dan JNK (*c-Jun N-terminal kinase*). Penghambatan p38 dan ERK secara signifikan menurunkan IL-1 β yang menginduksi produksi NO dan memproteksi sel beta pankreas dari apoptosis. JNK juga merupakan salah satu penginduksi paling penting dari apoptosis. IFN-gamma sendiri dapat mengaktifkan) yang merupakan NF- κ β *responsive genes* dalam apoptosis.



Gambar 2.10 Mekanisme Nekrosis dan Kematian Sel Beta Pankreas

(Bhonde, 2007)

2.8.4. Efek Vitamin D terhadap NF- κ β

Vitamin D dapat menekan aktifitas NF- κ β , dengan cara menginduksi dan menjaga kadar *TNFAIP3 (TNF α -induced protein 3)/ A20*

yang merupakan protein anti-apoptosis dalam jumlah yang tinggi (Bhonde, 2007; Baz-Hecht, 2010). Selain itu melalui jalur Calbindin-D28K yang merupakan protein pengikat kalsium sitosolik yang meningkat akibat ekspresi Vitamin D *response element* (VDRE) pada sel beta pankreas, dapat menurunkan aktifitas sitokin inflamasi pro-apoptosis yang merupakan target gen NF- κ B (Moriera, 2010).

2.9. Tikus Putih Sebagai Hewan Model

Hewan model DM adalah hewan laboratorium yang dalam hal tertentu secara natural maupun artifisial memiliki respon, serta mempunyai pathogenesis ataupun patofisiologi yang sebagian atau seluruhnya mirip z

2.9.1 Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

Ellerman, Missonne, Morris dan Simpson dalam Baker *et al.* (1979) mengklasifikasikan tikus sebagai berikut :

Tabel 2.7 Klasifikasi taksonomi tikus :

Class	: Mammalia
Subclass	: Theria
Infraclass	: Eutheria
Order	: Rodentia
Suborder	: Myomorpha
Superfamily	: Muroidea
Family	: Muridae
Subfamily	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>novergicus</i>

Pemakaian tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai model banyak dilakukan mengingat tikus ini mudah diperoleh karena lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih cepat berkembang biak. Menurut Hanim (1996) tikus mempunyai sifat respon biologik dan adaptasi mendekati manusia. Tikus telah diketahui sifat-sifatnya dengan sempurna, mudah dipelihara, merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai macam penelitian, sangat mudah ditangani, dapat ditinggal sendirian dalam kandang asal dapat mendengar suara tikus lain dan berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988 ; Malole, 1989).

Siklus hidup tikus putih (*Rattus norvegicus*) jarang lebih dari tiga tahun, berat badan pada umur empat minggu dapat mencapai 35-40 gram dan setelah dewasa rata-rata 200-250 gram, tetapi bervariasi tergantung pada galur. Tikus jantan tua dapat mencapai bobot badan 500 g, tetapi tikus betina jarang lebih dari 350 g (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Kebutuhan pakan bagi seekor tikus setiap harinya kurang lebih sebanyak 10% dari bobot tubuhnya jika pakan tersebut berupa pakan kering dan dapat ditingkatkan sampai 15% dari bobot tubuhnya jika pakan yang dikonsumsi berupa pakan basah. Kebutuhan minum seekor tikus setiap hari kira-kira 15-30 ml air. Jumlah ini dapat berkurang jika pakan yang dikonsumsi sudah banyak mengandung air (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Rata-rata pemberian pakan harian untuk tikus *Sprague-Dawley* selama periode pertumbuhan dan reproduksi mendekati 15-20 gram untuk jantan dan 10-15 gram untuk betina (National Research Council, 1978).

2.9.2 Pembuatan Hewan Model

Untuk membuat model DM dengan menggunakan tikus adabeberapa cara, yaitu dengan pankreatektomi, pemberian aloksan, streptozotisin (STZ) atau toksin lain yang dengan dosis sesuai akan secara selektif merusak sel-selB pulau langerhans, pemberian obat-obat yang menghambat sekresi insulindan dengan pemberian antibodi antiinsulin (Widyastuti 2000; Ganong 2003).

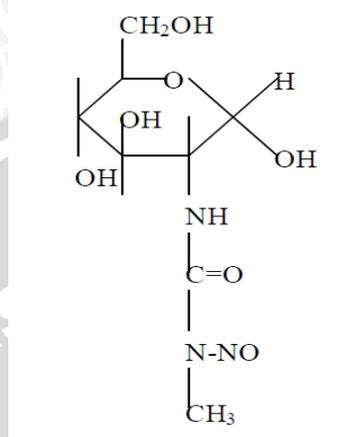
Penggunaan STZ lebih baik dalam mengurangi produk insulin karena dapatbekerja secara selektif merusak sel-sel B pulau langerhans, sehingga akan terjadipeningkatan kadar gula dalam darah (hiperglikemia) dan intoleransi glukosa yangmerupakan manifestasi dari defisiensi insulin (Meylina 2005).

2.9.3 Streptozotocin

Streptozotocin (STZ) atau 2-deoxy-2-(3-(metil-3-nitrosoureido)-D-glukopiranosida disintesis oleh *streptomyces achromogenes* dan digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 dan DM tipe 2 (Szkudeski, 2001). STZ digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan cobakarena secara selektif merusak sel B di pulau langerhans (Cooperstein *et al.* 1981;Ganong 2003). STZ terdiri dari 1-methyl-1-nitrosourea (Cooperstein 1981) berikatandengan C-2 dari D-glukosa dengan berat molekul 265 g/mol (Shalahuddin 2005).STZ memiliki struktur separuh glukosa, karena berisi campuran α dan β anomer(Cooperstein 1981).

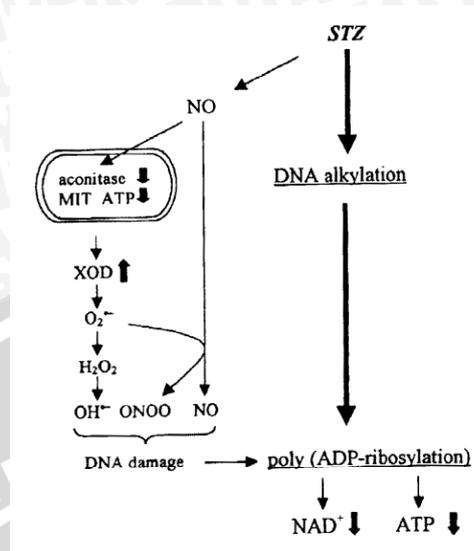
Berdasarkan strukturnya, STZ dapat merusak sel beta pancreas melalui dua cara yaitu alkilasi DNA melalui gugus alkilnya dan bekerja sebagai donor NO yang akan menambah jumlah NO dipankreas. NO yang

berlebih ini akan bereaksi dengan radikal superokso membentuk peroksinitrit yang toksik terhadap sel beta pancreas (Szkudelski, 2001).



Gambar 2.11 Struktur Streptozotocin (Szkudelski, 2001)

Aksi STZ pada sel beta pulau Langerhans diikuti dengan perubahan insulin dan glukosa darah. Hal ini disebabkan karena STZ dapat mengganggu oksidasi glukosa dan menurunkan biosintesis serta sekresi insulin. Aksi intraseluler dari STZ menyebabkan perubahan DNA pada sel beta pancreas (Gambar 2.11). aktivitas alkilasi STZ dihubungkan dengan bagian nitrosoureidonya. Menurut Shalahuddin (2005) STZ masuk ke dalam sel B pankreas melalui GLUT 2 (*Glucose Transport 2*) dan berikatan dengan C-2 dari D- glukosa, setelah berikatan dengan gugus separuh glukosa menghasilkan degradasi metabolit untuk melepaskan N-methylnitroso kemudian menembus sel B dan menimbulkan efek sitotoksik.



Gambar 2.12 Mekanisme STZ menginduksi rusaknya sel beta pancreas (Szkudelski, 2001)

Dua macam dosis STZ yang biasa digunakan untuk menghasilkan DM pada hewan coba, yakni dosis tinggi tunggal (>40 mg/kgBB) dan dosis rendah (<40 mg/kgBB) yang diberikan 5 hari berturut-turut (MLD-STZ, *multiple low dose Streptozotocin*). Pemberian dosis rendah STZ (10-30 mg/kgBB) secara multiple pada hewan memicu suatu proses autoimun yang mengarah pada kerusakan sel beta pankreas, yang diikuti dengan infiltrasi sel leukosit mononuclear dan adanya sitokin. Pada dosis tunggal akan menyebabkan rusaknya sel beta pancreas dan timbulnya hiperglikemia (Yu, 2004), sedangkan dosis rendah selama lima hari berturut-turut akan menimbulkan gejala diabetes setelah beberapa hari (Elias, 1994). Menurut Szkudelski (2001) dosis rendah secara multiple lebih dominan digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 (IDDM), sedangkan DM tipe 2 (NIDDM) akan lebih mudah diinduksi secara intravena atau intraperitoneal dengan dosis 100mg/kgBB STZ setelah tikus tersebut lahir (sekitar berumur 8-10 minggu).