

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Salah satu faktor risiko yang menyebabkan atherosklerosis dan penyakit kardiovaskuler adalah Diabetes Mellitus (DM) tipe 2. Berikut ini adalah tinjauan mengenai DM tipe 2 yang mencakup etiologi, faktor risiko, faktor predisposisi, patofisiologi, manifestasi klinis, terapi, dan prognosisnya.

2.1 Diabetes Mellitus (DM) tipe II

2.1.1 Etiologi, Faktor Risiko, Faktor Predisposisi

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu penyakit degeneratif yang merupakan gabungan dari serangkaian penyakit metabolik yang mengganggu fungsi fisiologis tubuh. DM tipe 2 merupakan gangguan fisiologis sistemik yang saat ini umum dikenal masyarakat sebagai penyakit kencing manis atau penyakit diabetes pada umumnya. Diabetes Mellitus (DM) tipe 2 itu sendiri merupakan salah satu dari penyakit-penyakit yang tergabung dan nantinya akan membentuk sindroma metabolik yang secara sistemik dan kompleks mengganggu kemampuan tubuh untuk berfungsi normal baik secara hormonal maupun imunologis (Thaman dan Arora, 2013). Menurut *International Diabetes Federation* (IDF) (2006), penyakit-penyakit lainnya yang menjadi penyusun terbentuknya sindroma metabolik, yaitu obesitas, dislipidemia, dan hipertensi juga memiliki keterkaitan dengan patofisiologi dari DM tipe 2 dengan asal mulanya dari resistensi hormon insulin yang disekresikan sel β pankreas (Alberti, *et al.*, 2006).

Penyebab Diabetes Mellitus (DM) tipe 2 adalah insensivitas insulin oleh jaringan dan ketidakmampuan atau kegagalan pankreas dalam proses

sekresi hormon insulin (Mant *et al.*, 2008). Kondisi hiperglikemia dalam tubuh yang dapat memicu terjadinya resistensi insulin dapat disebabkan karena obesitas yang menurut studi yang dilaksanakan oleh Khitan dan Dong Hyun Kim (2013) dikarenakan oleh pola makan tinggi fruktosa dan sukrosa yang saat ini semakin banyak diadaptasi masyarakat modern. Tingginya konsumsi fruktosa dinyatakan dapat berpengaruh secara signifikan dalam proses terjadinya hipertensi, peningkatan *fasting insulin level*, dan diferensiasi abnormal dari adiposit karenanya tingginya *Reactive Oxygen Species* (ROS).

Faktor etiologis lainnya yang berpengaruh pada proses terjadinya DM tipe 2 adalah kurangnya aktivitas fisik (olahraga) yang diakibatkan oleh gaya hidup *sedentary* masyarakat sekarang. Tingginya intensitas olahraga (*exercise*) yang dilakukan seseorang akan bermanfaat dalam penurunan ROS yang sintesisnya semakin meningkat dalam kondisi hiperglikemia. Olahraga juga bermanfaat secara imunologis dengan proteksi terhadap kerusakan jaringan akibat proses inflamasi yang diakibatkan meningkatnya level TNF- α yang diinduksi oleh resistensi insulin. Dengan semakin sedikitnya intensitas olahraga yang dilakukan seseorang, terutama seseorang dengan kondisi obesitas dan hipertensi, risiko untuk terjadinya resistensi insulin, hipertensi, dan abnormalitas metabolisme lipid yang berisiko besar memicu terjadinya DM tipe 2 (Golbidi, Mesdaghinia, dan Laher, 2012).

DM tipe 2 berisiko besar untuk terjadi pada orang-orang dengan kadar glukosa darah yang melebihi ambang normal, termasuk di antaranya gula darah acak (GDA) di atas 200 mg/dL (Patel dan Macerollo, 2010).

Gula darah puasa atau *Fasting Plasma Glucose* (FPG) yang lebih besar atau sama dengan 126 mg/dL dan gula darah 2 jam setelah makan lebih besar atau sama dengan 200 mg.dL juga dapat memastikan seseorang menderita DM tipe 2. Faktor risiko lainnya untuk penyakit DM tipe 2 yaitu orang dengan obesitas abdominal, dislipidemia aterogenik, hipertensi, dan peningkatan glukosa plasma yang secara keseluruhan tergabung dalam sindroma metabolik (Amod, *et al.*, 2012).

Faktor predisposisi dari DM tipe 2 antara lain yaitu kontrol insulin plasma yang tidak teratur sehingga dapat menyebabkan komplikasi yang mengancam nyawa seperti ketoasidosis diabetik/*diabetic ketoacidosis* (DKA) dan status hiperglikemik hiperosmolar/*hyperglycaemic hyperosmolar state* (HHK). Selain itu, komplikasi kardiovaskuler yang terjadi bersamaan dengan DM tipe 2 juga ikut memperburuk kondisi tubuh. Kondisi seperti infark miokardium, hipertensi, dislipidemia, dan aterosklerosis sangat berpengaruh pada terjadinya kerusakan vaskuler dan miokardium yang dapat jatuh pada kondisi gagal jantung atau *heart failure* (HF) (Mulnier, 2012). Kebiasaan-kebiasaan hidup seperti merokok, minum minuman beralkohol, diet tinggi karbohidrat dan lemak, serta kurangnya olahraga juga menyebabkan kondisi DM tipe 2 memburuk (Stringhini, *et al.*, 2012).

2.1.2 Patogenesis dan Patofisiologi.

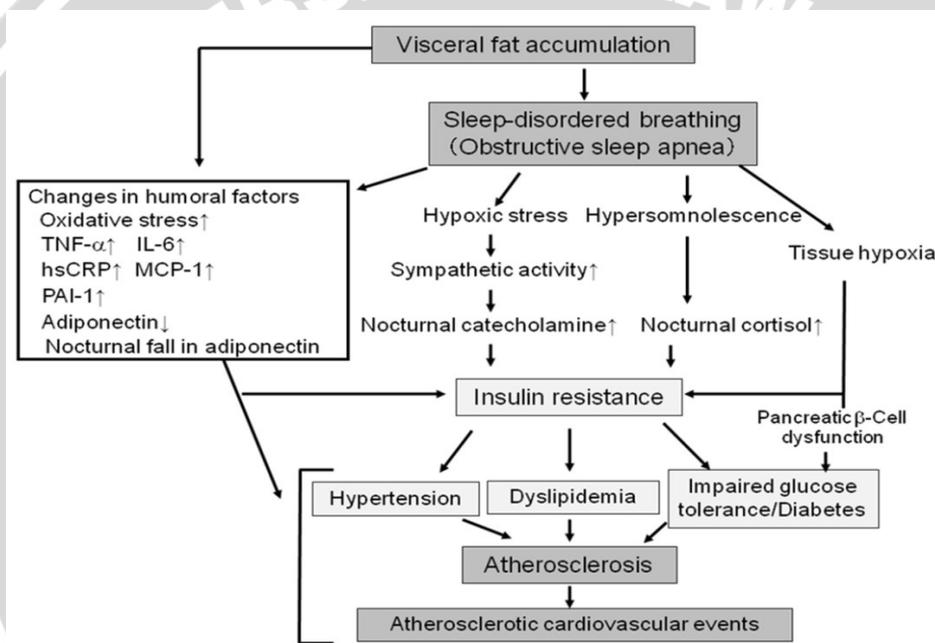
Diabetes Mellitus (DM) tipe 2 diawali dengan kegagalan dari sel β dalam sekresi hormon insulin untuk meregulasi konsentrasi glukosa yang tinggi dalam tubuh. Sifat DM tipe 2 yang progresif terjadi karena status prediabetes dan diabetes itu sendiri belum akan terjadi apabila kondisi resistensi insulin perifer belum terjadi. Jumlah sel β , kapasitas sekretorik

sel β , dan faktor lingkungan adalah beberapa penyebab dari kegagalan sel tersebut untuk mensekresi insulin yang memiliki konsentrasi signifikan terhadap level glukosa tubuh. Kegagalan sel β itu sendiri dikarenakan adanya kebutuhan yang terus-menerus terhadap pankreas untuk melakukan sekresi insulin karena kondisi hiperglikemia yang berkepanjangan. Resistensi insulin yang terjadi menyebabkan kerusakan dan kegagalan dari sel β dalam mensekresi insulin (D'adamo dan Caprio, 2011).

Resistensi insulin yang terjadi menyebabkan terjadinya peningkatan sekresi hormon insulin yang menyebabkan tingginya hormon insulin dalam darah; tekanan darah yang tinggi (hipertensi); peningkatan *low density lipoprotein* (LDL), trigliserida (TG), dan kolesterol; dan rendahnya level *high density lipoprotein* (HDL). Hiperinsulinemia memiliki beberapa efek yang nantinya akan berpengaruh pada komplikasi makrovaskuler dari DM tipe 2. Hiperinsulinemia memicu terjadinya peningkatan retensi natrium (Na^+) dan noradrenalin / norepinefrin (NE) yang memicu hipertensi, gangguan sintesis nitrogen monoksida (NO) yang menyebabkan disfungsi endotel, dan menstimulasi vasokonstriksi pembuluh darah yang memudahkan terjadinya hipertensi dan atherosklerosis melalui endotelin-1. Dengan demikian terjadi runtutan peristiwa fisiologis yang menghubungkan DM tipe 2 dengan terjadinya komplikasi kardiovaskuler yang dapat berakibat fatal pada penderita DM tipe 2 (Mendizábal, Llorens, dan Nava, 2013).

Selain itu, faktor gaya hidup yang berpengaruh pada terjadinya kondisi dislipidemia dan penumpukan atau deposisi lemak pada DM tipe 2 adalah dengan adanya diet atau konsumsi tinggi lemak (diet atherogenik).

Konsumsi yang tinggi akan lemak jenuh (*unsaturated fat*) dan lemak trans (*trans fat*) yang bersumber dari lemak hewani menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan komposisi lemak dalam tubuh. Metabolisme lemak yang terganggu akan menyebabkan peningkatan LDL dan penurunan HDL yang nantinya akan bersumber pada dislipidemia dan jatuh pada kondisi DM tipe 2 (Hu, 2013).



Gambar 1. Patofisiologi Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2 (Kishida, 2011)

2.1.3 Klasifikasi dan Manifestasi Klinis

2.1.3.1 Klasifikasi

Diabetes Mellitus (DM) sesungguhnya dapat digolongkan menjadi beberapa kategori. Menurut panduan dari *Society of Endocrinology, Metabolism, and Diabetes of South Africa* (SEMSDA) tahun 2012, dari manifestasi klinisnya, penderita DM dapat digolongkan berdasarkan kadar glukosa dalam darah, yaitu normoglikemia (kadar glukosa darah normal),

kadar glukosa darah puasa terganggu/ *impaired fasting glucose* (IFT), kadar toleransi glukosa terganggu/ *impaired glucose tolerance* (IGT), dan diabetes. Kondisi seseorang dinyatakan sebagai prediabetes apabila ia termasuk dalam kategori IFG dan IGT yang keduanya tergabung sebagai *intermediate hyperglycemia* (Amod, et al., 2012).

Sementara, diabetes itu sendiri tidak hanya terdiri dari sekumpulan gejala klinis yang mengarah pada Diabetes Mellitus (DM) tipe 2. Terdapat berbagai faktor etiologis yang menyebabkan kelainan hormone insulin dengan gejala klinis yang dapat digolongkan sebagai diabetes. Menurut *American Diabetes Association* (ADA) (2013), beberapa kategori diabetes adalah sebagai berikut:

1. Diabetes Mellitus (DM) tipe 1: terjadi karena proses autoimunitas seluler dalam tubuh seseorang yang menyebabkan destruksi dari jaringan sendiri, termasuk diantaranya sel β pankreas.
2. Diabetes Idiopatik: terjadi tanpa sebab yang jelas, penderita menderita insulinopenia permanen dan ketoasidosis episodik.
3. Diabetes Mellitus (DM) tipe 2: ditandai dengan resistensi dan defisiensi insulin, penderita tidak tergantung sepenuhnya pada terapi insulin untuk bertahan hidup.
4. Kelainan genetik: bisa terjadi pada sel β pankreas, aktivitas insulin, kelainan hormonal (*Cushing's syndrome*, akromegali), diabetes karena zat kimia atau obat (*drug/chemical induced diabetes*), infeksi, dan berbagai sindroma lainnya yang diderita seseorang (Sindrom Down, Sindrom Klinefelter, Sindrom Turner)
5. Diabetes Mellitus Gestasional: intoleransi glukosa dengan onset atau

pertama kali disafari terjadi saat kehamilan. Pada umumnya kelainan glukosa tersebut berakhir seiring dengan akhir dari kehamilan.

Terdapat klasifikasi etiologis dari diabetes berdasarkan *American Diabetes Association* (ADA) (2013) (**Gambar 2, terlampir**).

2.1.3.2 Manifestasi Klinis

Tanda-tanda klinis yang dapat diamati dari penderita DM tipe 2 adalah jumlah urin yang diekskresikan keluar tubuh meningkat (poliuria), rasa haus, konsumsi cairan yang meningkat (polidipsi), berat badan menurun, dan kelelahan. Gejala klinis tersebut terdapat pada seseorang dengan hiperglikemia yang belum memperoleh terapi pengobatan DM tipe 2. Selain itu, terdapat juga tekanan darah yang tinggi (hipertensi), dislipidemia dengan kadar LDL yang tinggi dan kadar HDL yang rendah dalam darah, dan gangguan psikologis (depresi) (Mant, *et al.*, 2008). Komplikasi mikrovaskuler seperti retinopati diabetik, nefropati, dan neuropati juga menyebabkan gejala-gejala seperti penglihatan kabur, gagal ginjal, dan hilangnya kemampuan sensoris di bagian perifer tubuh (ujung jari kaki dan tangan) (*Diabetes Australia dan Juvenile Diabetes Research Foundation*, 2012). Didapatkan pula gangguan tidur pada penderita DM tipe 2, seperti kesulitan memulai tidur, kesulitan menjaga kondisi tidur yang optimal, dan mengantuk berat di siang hari. Selain itu, terdapat asosiasi antara *Obstructive Sleep Apnea* (OSA) dengan DM tipe 2 yang keduanya berefek pada kualitas tidur penderita (Iyer, 2011).

2.1.4 Diagnosis

Diagnosis Diabetes Mellitus (DM) tipe 2 dapat ditegakkan pada

seseorang yang memiliki gejala-gejala klinis yang mengarah pada DM tipe 2 dengan beberapa pemeriksaan penunjang, seperti tes glukosa darah acak, 2 jam setelah makan (2 hour post prandial), dan glukosa darah puasa dan tes kadar HbA1c. Berikut ini perbandingan standarisasi diagnosis DM tipe 2 berdasarkan pedoman WHO dan ADA (Rydén, *et al.*, 2013):

Table 3 Comparison of 2006 World Health Organization (WHO) and 2003/2011 and 2012 American Diabetes Association (ADA) diagnostic criteria

Diagnose/ measurement	WHO 2006 ³ /2011 ⁷	ADA 2003 and 2012 ^{5,6}
Diabetes		
HbA _{1c}	Can be used If measured $\geq 6.5\%$ (48 mmol/mol) Recommended	Recommended $\geq 6.5\%$ (48 mmol/mol)
FPG	≥ 7.0 mmol/L (≥ 126 mg/dL)	≥ 7.0 mmol/L (≥ 126 mg/dL)
2hPG	or ≥ 11.1 mmol/L (≥ 200 mg/dL)	or ≥ 11.1 mmol/L (≥ 200 mg/dL)
IGT		
FPG	< 7.0 mmol/L (< 126 mg/dL)	< 7.0 mmol/L (< 126 mg/dL)
2hPG	≥ 7.8 – < 11.1 mmol/L (≥ 140 – < 200 mg/dL)	Not required If measured 7.8–11.0 mmol/L (140–198 mg/dL)
IFG		
FPG	6.1–6.9 mmol/L (110–125 mg/dL) If measured	5.6–6.9 mmol/L (100–125 mg/dL)
2hPG	< 7.8 mmol/L (< 140 mg/dL)	--

FPG = fasting plasma glucose; IGT = impaired glucose tolerance; IFG = impaired fasting glucose; 2hPG = 2-h post-load plasma glucose.

Gambar 3. Perbandingan Standarisasi Diagnosis Diabetes Mellitus (DM) tipe 2 menurut WHO dan ADA (Rydén, *et al.*, 2013).

Selain itu, pemeriksaan lain yang dapat dilakukan yaitu elektrolit plasma, kreatinin, osmolalitas, konsentrasi keton pada urin dan serum, keseimbangan cairan (*fluid balance*), tingkat kesadaran, dan asam betahidroksibutirat (*beta-hydroxybutyric acid*/beta-OHB) yang dapat membantu dalam penatalaksanaan kasus kegawatdaruratan seperti ketoasidosis diabetik (DKA) dan status hiperosmotik hiperglikemik (HHS). Untuk mengetahui kompensasi respirasi dari pasien dengan

kwgawatdaruratan di atas, *Arterial Blood Gas* (ABG) juga dapat diterapkan pada pasien dengan kondisi yang memburuk (Goguen dan Gilbert, 2013).

Tes keton juga dapat dilakukan pada pasien diabetes tipe 1 dengan gejala ketoasidosis seperti mual dan muntah (Berard, *et al.*, 2013).

2.1.5 Manajemen Terapi

2.1.5.1 Terapi Non Farmakologi

Obesitas memiliki pengaruh yang besar untuk menyebabkan terjadinya DM tipe 2 pada seseorang. Risiko DM tipe 2 dinyatakan menjadi dua hingga delapan kali lipat pada orang dengan Indeks Massa Tubuh atau *Body Mass Index* (IMT/BMI) 25kg/m^2 , sepuluh hingga empat puluh kali lipat pada BMI lebih besar dari 30, dan 40 kali lipat pada BMI lebih besar dari 35. Risiko di atas bergantung pada umur, jenis kelamin, persebaran dari cadangan lemak tubuh, dan ras (Day dan Bailey, 2011). Oleh sebab itu, pengaturan dan perubahan pola makan sangat diperlukan bagi penderita DM tipe 2. Menurut studi yang dilakukan oleh Post *et al.* (2013), diet tinggi serat secara signifikan membantu pada penurunan HbA1c dan glukosa darah puasa. Selain pengaturan pola makan dengan pengurangan asupan karbohidrat dan peningkatan serat dalam diet sehari-hari, penurunan berat badan juga dianjurkan bagi penderita DM tipe 2 dengan target sebesar 5-10% persen berat seseorang (Inzucchi, *et al.*, 2013).

Faktor inaktivitas fisik yang ikut memberikan sumbangsih pada perkembangan DM tipe 2 juga perlu ditindaklanjuti. Inzucchi, *et al.* (2013) menyebutkan bahwa olahraga dengan jangka waktu minimal 150 menit per minggu dengan intensitas moderat (aerobik, latihan ketahanan, latihan

fleksibilitas) merupakan bentuk aktivitas fisik yang disarankan pada penderita DM. Olahraga atau aktivitas fisik moderat hingga berat dengan periode 60 menit per hari disarankan untuk menurunkan BMI dan melakukan kontrol intensif pada glukosa darah penderita. Periode 60 menit dalam setiap kali latihan tersebut tidak harus ditempuh dalam satu sesi berolahraga, tetapi dapat ditempuh dengan aktivitas sebanyak 10-15 menit yang rutin hingga tercapai periode yang disarankan. Selain itu pengurangan waktu untuk berinteraksi dengan komputer, televisi, dan alat elektronik hingga maksimal dua jam per hari juga menjadi bagian dari usaha peningkatan aktivitas fisik penderita (Copeland, *et al.*, 2012).

Kebiasaan hidup penderita juga perlu ditata untuk dapat mengarah ke pola hidup sehat untuk mencegah penderita jatuh ke kondisi yang lebih buruk. Edukasi kesehatan tentang DM tipe 2, faktor risiko, penyebab, mekanisme terapi, dan hal-hal yang berkaitan perlu diberitahukan kepada penderita. Semua pihak yang berdekatan dengan penderita, seperti keluarga, teman, dan petugas medis yang merawat perlu dilibatkan dalam kegiatan kognitif maupun sosial yang sifatnya mendukung penderita untuk lebih termotivasi menjalani terapi (Jones, *et al.*, 2013).

Perlu diajarkan pula teknik *Self Monitoring Blood Glucose* (SMBG) atau monitor glukosa darah yang dilakukan sendiri oleh pasien. Tujuan dari tindakan ini adalah untuk memonitor level glukosa darah pasien secara teratur dan menciptakan suatu metode pencatatan yang baik untuk dapat dimanfaatkan tenaga kesehatan untuk menentukan terapi selanjutnya (Berard, *et al.*, 2013). Kebiasaan-kebiasaan seperti merokok dan minum minuman beralkohol juga perlu dihentikan untuk menghindari komplikasi

lebih lanjut, seperti komplikasi kardiovaskuler (Dworatzek, *et al.*, 2013).

2.1.5.2 Terapi Farmakologi

Obat-obatan yang digunakan dalam terapi diabetes antara lain adalah sebagai berikut (Olokoba, Obateru, dan Olokoba, 2012):

1. Biguanid: membatasi dan mengurangi produksi glukosa hepar, meningkatkan sensitivitas insulin di jaringan, serta menurunkan absorbs glukosa di saluran pencernaan/*Gastrointestinal Tract* (GI Tract). Contoh: Metformin.
2. Sulfonilurea: merangsang sekresi insulin endogen, berisiko menyebabkan hipoglikemia pada orang-orang dengan gangguan ginjal, usia di atas 60 tahun, konsumsi alkohol berlebih, dan penggunaan insulin atau insulin *sensitizer*. Contoh: Glyburide, Glybenclamid.
3. Meglitinid: bekerja pada kanal K dependen ATP sel β pancreas untuk merangsang keluarnya insulin (*non sulfonilurea sekretagogue*). Contoh: Repaglinid, Nateglinid
4. Inhibitor Alfa Glukosidase: efektif untuk hiperglikemia sesudah makan (*postprandial hyperglycemia*) dan tidak disarankan untuk penderita DM tipe 2 dengan gangguan ginjal. Contoh: Acarbose, Voglibose
5. Thiazolidinedion: berfungsi untuk sensitisasi insulin di jaringan dan tidak menyebabkan hipoglikemia tetapi berisiko menyebabkan retensi jaringan yang berkembang menjadi edema perifer. Contoh: Pioglitazone.
6. Inhibitor Dipeptidil Peptidase IV (DPP IV): meningkatkan konsentrasi aktif enzim-enzim *Glucagon-like Peptide-1* (GLP-1) dan *Gastric Inhibitory Polypeptide* (GIP) dengan menghambat enzim Dipeptidil Peptidase IV

(DPP IV). Berfungsi fungsi pulau-pulau pankreas dan kontrol glukosa darah.

7. Bromokriptin: Bromokriptin berperan dalam penurunan HbA1c pada penderita DM tipe 2 setelah mengikuti 24 minggu terapi. Mekanisme kerja masih belum jelas.
8. Analog Insulin: dibuat untuk mengatasi kelemahan-kelemahan terapi menggunakan insulin jangka menengah dan jangka panjang (*intermediate* dan *long acting insulin*). Contoh: insulin lispro, insulin aspart, insulin glargin.
9. Insulin: digunakan sebagai monoterapi atau bersamaan dengan obat-obatan hipoglikemik oral. Insulin yang digunakan saat ini diadministrasikan dengan injeksi dengan masa kerja yang bervariasi (*rapid, short, intermediate, long acting*).

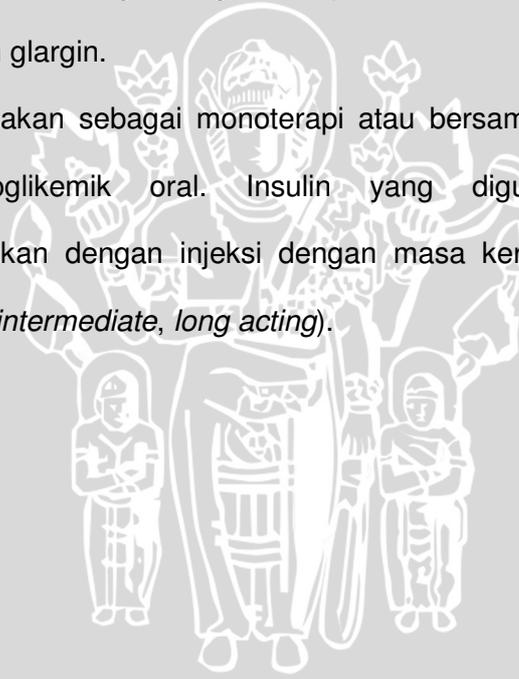


Table 8 Pharmacological treatment options for T2DM

Drug class	Effect	Weight change	Hypoglycaemia (monotherapy)	Comments
Metformin	Insulin sensitizer	Neutral/loss	No	Gastrointestinal side-effects, lactic acidosis, B12 deficiency. Contraindications, low eGFR, hypoxia, dehydration
Sulphonylurea	Insulin provider	Increase	Yes	Allergy Risk for hypoglycaemia and weight gain
Meglitinides	Insulin provider	Increase	Yes	Frequent dosing Risk for hypoglycaemia
Alfa-glucosidase inhibitor	Glucose absorption inhibitor	Neutral	No	Gastrointestinal side-effects Frequent dosing
Roglitazone	Insulin sensitizer	Increase	No	Heart failure, oedema, fractures, urinary bladder cancer(?)
GLP-1 agonist	Insulin provider	Decrease	No	Gastrointestinal side-effects Pancreatitis Injectable
DPP-4 inhibitor	Insulin provider	Neutral	No	Pancreatitis
Insulin	Insulin provider	Increase	Yes	Injectable Risk for hypoglycaemia and weight gain
SGLT2 inhibitors	Blocks renal glucose absorption in the proximal tubuli	Decrease	No	Urinary tract infections

eGFR = estimated glomerular filtration rate; GLP-1 = glucagon-like peptide-1; DPP = Diabetes Prevention Program; SGLT2 = sodium glucose co-transporter 2.

Gambar 4. Terapi Farmakologi Menurut European Society of Cardiology 2013 (Rydén, *et al.*, 2013)

Obat-obatan lain yang digunakan untuk penatalaksanaan DM tipe 2 antara lain adalah obat-obatan anti hipertensi yang membantu dalam penurunan tekanan darah penderita sehingga mencegah terjadinya komplikasi kardiovaskuler. *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACEI) memiliki pengaruh yang signifikan dalam menghambat sistem renin-angiotensin-aldosteron/*renin-angiotensin-aldosterone system* (RAAS). *Angiotensin Receptor Blocker* (ARB) juga turut membantu dalam menurunkan retensi cairan dalam tubuh dengan melakukan blok pada system RAAS (Rydén, *et al.*, 2013). Selain itu, aspirin juga diberikan bagi penderita DM tipe 2 dengan risiko penyakit kardiovaskuler sebesar 10 tahun. Obat-obatan seperti gabapentin, asam valproat, amitriptilin, dan

tramadol dapat menjadi pilihan terapi yang efektif bagi *painful peripheral neuropathy* yang sering terjadi pada penderita DM tipe 2 (Amod, *et al.*, 2013).

2.1.6 Prognosis

Penyebab kematian tertinggi ke-tujuh di Amerika Serikat dinyatakan sebagai Diabetes Mellitus (DM) tipe 2. Hampir 27 persen dari penduduk Amerika berusia 65 tahun menderita diabetes yang menyebabkan morbiditas tertinggi melalui komplikasi mikrovaskuler (retinopati, neuropati, nefropati) dan makrovaskuler (komplikasi kardiovaskuler) (Qaseem, *et al.*, 2012). DM tipe 2 dinyatakan untuk meningkatkan angka kematian atau mortalitas sebanyak dua kali lipat dan melalui komplikasi kardiovaskuler meningkat menjadi dua hingga tiga kali lipat (Post, *et al.*, 2011). Sebanyak 7 juta orang dari penderita DM tipe 2 tersebut merupakan penderita yang tidak terdiagnosis sehingga tidak dilakukan prevensi sekunder (*secondary prevention*) untuk mencegah timbulnya komplikasi yang lebih parah dan bahkan kematian. Komplikasi yang ada pada penderita DM tipe 2 semakin memperburuk kualitas hidup pasien, seperti adanya stroke, kebutaan karena retinopati, gagal ginjal karena nefropati, neuropati, dan amputasi.

2.2 Sel Busa (*Foam Cell*) pada Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2

Untuk memahami mengenai sel busa (*foam cell*) diperlukan pengetahuan yang mendalam mengenai etiologi, patofisiologi, dan penghitungan dari sel busa tersebut.

2.1.1 Definisi dan Etiologi

Sel busa atau dikenal sebagai *foam cell* merupakan suatu

bentukan dari makrofag yang melakukan proses fagositosis pada LDL yang teroksidasi. LDL dapat teroksidasi karena adanya radikal bebas (ROS) yang dapat menimbulkan stres oksidatif yang memicu perlekatan LDL pada endotel pembuluh darah dan terjadinya proses inflamasi (Rios, *et al.*, 2013). Pembentukan sel busa diawali dengan berubahnya monosit menjadi makrofag pada saat monosit tersebut bermigrasi pada daerah subendotel pembuluh darah yang mengalami inflamasi. Ada beberapa gen yang berperan dalam pembentukan sel busa dan perekrutan LDL teroksidasi ke area yang mengalami inflamasi, seperti CD36, MSRA, CD68, reseptor fagosit (reseptor fosfatidil serin, Fcy, SRB1, *ATP-binding cassette transporter 1* [ABCA1]), reseptor *uptake* LDL (OxLDL), eikosanoid (leukotrien, asam hidroksieikosatetraenoik), dan reseptor nuklear (*Peroxisome Proliferator-Activated Receptor* [PPAR]) (Das, *et al.*, 2013).

Sel busa terbentuk karena meningkatnya LDL teroksidasi dalam tubuh yang terjadi akibat kondisi dislipidemia dan metabolisme lipid yang mengalami gangguan pada saat seseorang mengalami Diabetes Mellitus (DM) tipe 2. Diet kaya lemak jenuh dan fruktosa merupakan sumber dari konsentrasi LDL yang meningkat dalam darah karena pada kondisi DM tipe 2, resistensi insulin yang terjadi mengakibatkan gangguan dari absorpsi glukosa ke dalam jaringan dan menyebabkan pemecahan lemak sebagai sumber energi untuk menggantikan glukosa (Mendizábal, Llorens, dan Nava, 2013). Sel busa yang terbentuk dari oksidasi LDL yang terfagositosis dapat dibedakan menjadi dua tipe, sel busa dari makrofag dan sel busa dari otot polos tunika intima pembuluh darah. Pada saat terjadi proses fagositosis LDL oleh makrofag pada endotel juga diiringi migrasi proliferasi

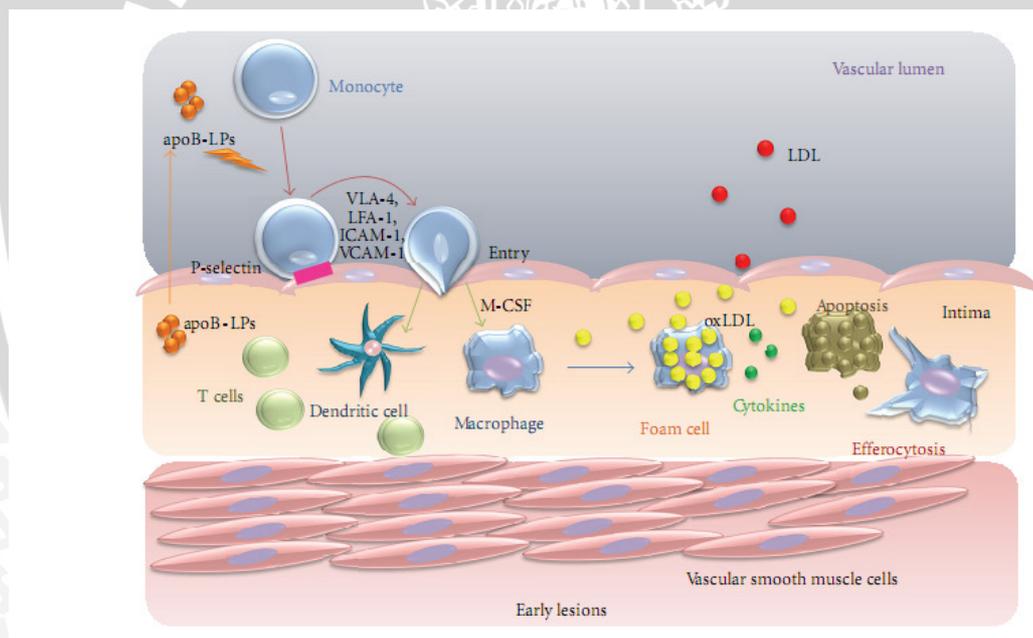
dari otot polos pada tunika intima pembuluh darah. Otot polos yang bermigrasi tersebut dapat melakukan uptake LDL teroksidasi dan berubah menjadi sel busa yang juga berperan dalam pembentukan plak ateromatous (Allahverdian, Pannu, dan Francis, 2012).

2.2.1 Patogenesis dan Patofisiologi

Pembentukan sel busa dapat diawali dengan meningkatnya LDL yang berasal dari diet atherogenik. Peningkatan LDL merangsang infiltrasi monosit ke dalam lapisan subendotel pembuluh darah karena akumulasi dari lipoprotein yang mengandung apoB, dalam hal ini LDL. Monosit berikatan dengan endotel melalui ligan *monocyte P-selectin glycoprotein ligand-1* (PSGL-1) dan selektin pada endotel. Monosit menggunakan beberapa mediator inflamasi untuk memperkuat perlekatannya dengan endotel, diantaranya adalah *lymphocyte function-associated antigen-1* (LFA-1), *very late antigen-4* (VLA-4) dan ligannya, dan juga *vascular cell adhesion molecule* (VCAM-1) dan *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1). Monosit kemudian mengaktifkan berbagai mediator inflamasi seperti IFN- γ , IL-2, IL-23, IL-6, IL-1, dan TNF- α yang mengakibatkan diferensiasinya menjadi makrofag yang mampu memfagositosis LDL teroksidasi (Gui, *et al.*, 2012).

Meningkatnya *Reactive Oxygen Species* (ROS) akibat kondisi hiperglikemia pada DM tipe 2 dapat terjadi karena berbagai proses, yaitu *direct glucose autooxidation*, *uncoupling* dari eNOS, *AGE-dependent NADPH oxidase*, dan produksi superoksida oleh mitokondria. ROS yang meningkat memudahkan LDL untuk menjadi teroksidasi dan menempel sesuai dengan reseptornya pada pembuluh darah. Perlekatan LDL

teroksidasi pada endotel pembuluh darah mengakibatkan infiltrasi makrofag dan proses pembentukan sel busa dari fagositosis LDL seperti yang telah dijelaskan di atas. Akumulasi dari LDL teroksidasi pada endotel pembuluh darah pada akhirnya dapat menyebabkan pembentukan plak ateromatous yang menyebabkan sumbatan pembuluh darah yang berakibat fatal (gagal jantung). Selain itu, ROS juga menyebabkan disfungsi endotel melalui penurunan produksi NO yang mengaktifasi *nuclear factor kappa B* (NF- κ B) yang selanjutnya menstimulasi gen protrombotik dan proinflamasi (Funk, Yurdagul, dan Orr, 2011).



Gambar 5. Patogenesis Sel Busa (*Foam Cell*), (Gui, *et al.*, 2012)

2.2.3 Penghitungan Sel Busa (*Foam Cell*)

Sel busa (*foam cell*) dapat ditemukan pada arteri besar (aorta, arteri elastik, dan arteri muskularis) yang kemudian akan berkembang mejadi plak ateromatous seiring dengan perkembangan waktu dan periode inflamasi endotel yang berkepanjangan (Dan Ye, *et al.*, 2011). Sel busa

dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 400 kali dengan menggunakan pewarnaan yang sesuai yaitu Oil Red O (Xu, *et al.*, 2010). Pewarnaan lain yang dapat digunakan untuk mengamati sel busa adalah pewarnaan Hematoksilin Eosin (Juraszek, *et al.*, 2013).

2.2.3.1 Pewarnaan Oil Red O

Pewarnaan Oil Red O merupakan metode yang sering digunakan untuk mengetahui sidik jari (*fingerprint*) karena sifatnya yang dapat mengenali lemak dan minyak yang tertinggal pada kertas. Oil Red O merupakan tinta yang larut lemak (*lipid soluble dye*) yang mampu mewarnai asam lemak (Guigui dan Beaudoin, 2007). Saat ini, kegunaan Oil Red O telah dimanfaatkan untuk mengamati dan menghitung *droplet* lemak pada berbagai jaringan, seperti yang telah dilaksanakan pada penelitian oleh Mehlem, *et al.* (2013). Pewarnaan sel busa (*foam cell*) dengan Oil Red O juga telah dilaksanakan oleh Xu, *et al.* (2010) dengan teknik sebagai berikut:

1. 0,5 gram Oil Red O powder (Sigma) dilarutkan dalam larutan isopropanal dengan konsentrasi 100% dan volume 80 mL dengan suhu 56°C semalam..
2. Larutan yang terbentuk disesuaikan menjadi sebanyak 100 mL dan diaduk secara perlahan.
3. Untuk melakukan pewarnaan, larutan Oil Red O harus dipanaskan terlebih dahulu dalam temperatur 60°C dan disaring dengan kertas saring nomor 1.
4. Larutan Oil Red O yang akan digunakan untuk pewarnaan disiapkan 2

jam sebelumnya dan dilarutkan dengan air yang telah diionisasi dengan perbandingan 6:4.

5. Larutan didiamkan selama 10 menit dalam suhu ruang dan disaring dengan Milipore 22 μm .
6. Sediaan jaringan yang akan diamati diletakkan pada *24-well*
7. *tissue culture plates* (Costar) dengan kepadatan sebanyak 1×10^5 sel/mL.
8. Makrofag diinkubasi dengan oxLDL (50 $\mu\text{g/mL}$) selama 24 jam dan kemudian dilakukan pencucian sel dan aspirasi medium.
9. Fiksasi sel dilakukan dengan formalin dengan *buffer* fosfat 10% selama 10 menit dan dibilas dengan PBS sekali selama 1 menit.
10. Sediaan sel dibilas lagi dengan isopropanol 60 % selama 15 detik untuk memastikan pewarnaan lemak netral. the staining of neutral lipids.
11. Sediaan diwarnai dengan larutan Oil Red O yang telah disaring dengan suhu 37°C selama 1 menit dalam ruang gelap.
12. Untuk menghilangkan pewarna, dilakukan pembilasan sediaan dengan isopropanol 60% selama 15 detik.
13. Sediaan dibilas dengan PBS selama 3 menit yang diulang sebanyak 3 kali.
14. Sel yang teramati berwarna merah adalah sel busa (*foam cell*)

2.2.3.2 Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE)

Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) berasal dari zat yang diperoleh dari tanaman *Haematoxylon campechianum*. Pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) merupakan pewarnaan yang penting dan digunakan untuk mengidentifikasi berbagai struktur jaringan pada umumnya, sel ganas dan

jinak (*malignant* dan *benign*), dan substansi intaseluler dan ekstraseluler yang bermanfaat untuk mendiagnosis penyakit. Pewarnaan HE juga digunakan untuk mewarnai tekstil walaupun penggunaannya terbatas (Awwiuro, 2011).

Penggunaan HE sebagai zat pewarna membutuhkan preparasi, yaitu oksidasi terlebih dahulu untuk menghasilkan zat aktif hematin. Kemudian hematin yang terbentuk harus digabungkan dengan *mordant* (garam metalik) yang berfungsi sebagai penstabil antara jaringan dan pewarna. *Mordant* harus dikombinasikan dengan hematin sehingga pewarnaan HE dapat terjadi. Berikut ini metode pengecatan jaringan dengan menggunakan pewarnaan HE (pewarnaan untuk jaringan secara umum) menurut Awwiuro (2011):

1. Larutan yang dibutuhkan antara lain *Erhlich's haematoxylin*, HCl 1% dalam larutan alkohol 70%, dan eosin 1%.
2. Lilin (*wax*) dihilangkan dari jaringan dan dilakukan hidrasi selama 15 menit.
3. Pembilasan dengan air dilakukan pada sediaan.
4. Dilanjutkan dengan diferensiasi menggunakan HCl 1% dalam larutan alkohol 70% selama 1 menit dan dibilas dengan air.
5. Dilakukan pembuatan warna biru pada jaringan (*blueing*) dengan membilas sediaan dengan air mengalir selama 10 menit atau dengan *Scott's tap water* selama 2 menit.
6. Pemberian warna pembanding (*counterstain*) dilakukan dengan eosin 1%.
7. Pewarnaan berakhir dengan pembilasan sediaan dengan air dan

pengeringannya untuk dapat diamati.

Pewarnaan HE memiliki kelebihan dibandingkan dengan pewarnaan Oil Red O karena pewarnaan HE memungkinkan pengamatan dan pengidentifikasian yang luas dari berbagai sel dan jaringan. Sedangkan pewarnaan Oil Red O hanya memungkinkan pewarnaan terhadap lemak yang memiliki sifat hidrofobik terkuat, seperti trigliserida dan kolesterol ester (Kumar dan Gill, 2010). Pewarnaan HE memungkinkan pengamatan jaringan non lemak, seperti jaringan ikat, jaringan saraf, karbohidrat, struktur intraseluler, dan bahkan parasit yang bersarang dalam tubuh sehingga memungkinkan diagnosis yang lebih jelas dari suatu penyakit (Avwioro, 2011).

2.2.3.3 Fiksasi Blok Parafin dan *Frozen Section*

Sebelum dilakukan pewarnaan, perlu dilakukan fiksasi pada sediaan jaringan yang akan diamati. Terdapat dua metode fiksasi, antara lain fiksasi dengan blok parafin maupun metode *frozen section*. Fiksasi dengan blok parafin dilakukan dengan meletakkan sediaan jaringan yang akan diamati ke dalam suatu blok lilin (parafin) yang kemudian dapat dipotong-potong dengan ketebalan yang sesuai untuk dapat mengamati sel yang diinginkan. Metode blok parafin merupakan metode yang sesuai untuk mengamati jaringan atau sel yang membutuhkan pencitraan berresolusi tinggi, misalnya *marker* sinaptik dan protein intraseluler. Selain itu, diperlukan juga penyesuaian terhadap pemotongan jaringan untuk sediaan yang akan diamati. Apabila fiksasi dilakukan dengan blok parafin, maka jaringan harus dipotong dengan ketebalan 5-20 μm untuk mendapatkan resolusi yang tinggi dalam pengamatan jaringan tersebut (*Queensland*

Brain Institute, The University of Queensland Australia, 2011).

Metode *frozen section* dilakukan dengan pendinginan pada jaringan, baik dengan campuran kriogen yang didinginkan dengan es kering (*dry ice*) maupun dengan diletakkan pada lapisan tipis *cryocompound* yang disimpan dengan lemari pendingin. Tujuan utama *frozen section* adalah untuk mendinginkan spesimen secepat mungkin untuk menghindari terbentuknya kristal es. Kemudian baru dilakukan pemotongan spesimen dengan mikrotom dengan ketebalan yang ideal untuk pengamatan jaringan. Yang perlu diperhatikan untuk metode *frozen section* adalah cara pemotongan yang benar dan fiksasi dari spesimen *frozen section* (segera sesudah pemotongan jaringan) (Peters, 2010).

Keuntungan dari penggunaan fiksasi blok parafin antara lain adalah efek permanen dari sediaan yang dihasilkan melalui proses ini. Fiksasi blok parafin merupakan metode fiksasi yang sesuai dengan pengawetan sediaan berbahan formalin dan dapat digunakan untuk menciptakan sediaan yang dapat diamati dalam waktu lama. Selain itu, terdapat juga keuntungan dari pembuatan sediaan dengan fiksasi blok parafin jika dibandingkan dengan metode *frozen section*. Fiksasi dengan blok parafin memungkinkan sediaan jaringan dari hewan coba untuk dilakukan pemotongan dengan ketipisan 3 hingga 10 μm . Dengan batas ketipisan yang sedemikian kecil, fiksasi jaringan dengan metode blok parafin memungkinkan peneliti untuk membuat sediaan yang dapat diamati dengan resolusi yang lebih baik di bawah mikroskop. Sediaan tipis yang dihasilkan dari pemotongan metode blok parafin juga mempermudah dilaksanakannya teknik pewarnaan / *staining* yang lebih baik terhadap

jaringan yang ingin diamati di bawah mikroskop (*Queensland Brain Institute, The University of Queensland Australia, 2011*).

2.3 Perlindungan Antioksidan terhadap Stres Oksidatif

2.3.1 Stres Oksidatif pada Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2

Radikal bebas sesungguhnya diproduksi oleh makhluk hidup melalui aktivitas metabolisme yang normal setiap saat. Radikal bebas merupakan molekul-molekul yang memiliki struktur khusus yang dapat berikatan dengan molekul lainnya. Sebagai contoh yaitu anion superoksida (OH^-) dan radikal hidroksil. Molekul radikal bebas tersebut dapat berikatan dan memodifikasi struktur yang terdapat dari sel, antara lain asam nukleat, protein, karbohidrat, dan lemak tak jenuh / *polyunsaturated lipid*). Terdapat beberapa macam spesies reaktif dari radikal bebas, di antaranya yaitu radikal bebas yang berasal dari oksigen (*Reactive Oxygen Species / ROS*) dan radikal bebas yang berasal dari nitrogen (*Reactive Nitrogen Species / RNS*). ROS merupakan penyebab dari kerusakan oksidatif dari DNA, degradasi dari asam lemak dan kolesterol ester, kerusakan membran sel, dan juga kerusakan oksidatif pada lipoprotein, termasuk LDL (Rizzo, *et al.*, 2010).

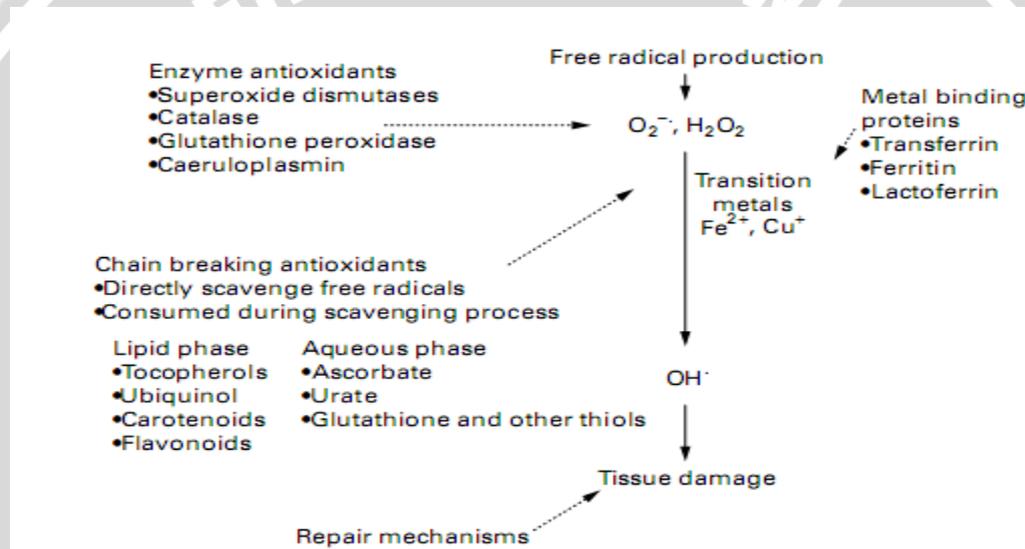
Stres oksidatif merupakan kondisi dimana terjadi ketidakseimbangan dari jumlah radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dengan mekanisme tubuh untuk mengikat molekul radikal bebas tersebut atau memperbaiki kerusakan yang disebabkan radikal bebas. Stres oksidatif dapat terjadi dengan meningkatnya ROS dalam tubuh tanpa adanya molekul atau substansi lain yang dapat berfungsi sebagai pengikat ROS dan melindungi dari komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler

yang disebabkan ROS. ROS yang diproduksi dalam kondisi berlebihan dalam kondisi sindroma metabolik dapat menyebabkan meningkatnya stress oksidatif dan berkembangnya sindroma metabolik menjadi penyakit kardiovaskuler (Hutcheson dan Rochic, 2012). Pada kondisi Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2, terjadi peningkatan stres oksidatif dengan peningkatan ROS yang memudahkan LDL yang saat itu memiliki konsentrasi tinggi dalam tubuh menjadi lebih mudah teroksidasi. LDL teroksidasi akan menyebabkan pembentukan sel busa (*foam cell*) yang nantinya akan berujung pada kerusakan dan disfungsi dari endotel. Untuk mempertahankan dinding pembuluh darah dari kerusakan yang terjadi pada proses DM tipe 2, diperlukan suatu antioksidan yang memiliki mekanisme dan kegunaan sebagai berikut.

2.3.2 Peran Antioksidan dalam Menurunkan Stres Oksidatif

Antioksidan merupakan molekul yang dapat menghambat maupun menunda kerusakan seluler yang disebabkan oleh radikal bebas, serta mengatasi terjadinya kondisi stres oksidatif tersebut. Antioksidan memiliki beberapa mekanisme pertahanan terhadap keberadaan radikal bebas, yaitu enzim antioksidan, antioksidan yang bekerja memutuskan rantai radikal bebas (*chain breaking antioxidant*), dan antioksidan yang bekerja sebagai protein pengikat logam (*metal binding protein*). Enzim antioksidan bekerja dengan mengubah molekul radikal bebas menjadi molekul yang tidak dapat berikatan dengan struktur sel sehingga mencegah kerusakan sel. Misalnya H_2O_2 yang diubah menjadi air dan oksigen oleh enzim katalase yang merupakan antioksidan. *Chain breaking antioxidant* bekerja dengan menerima dan memberikan elektron kepada molekul radikal bebas.

Melalui mekanisme ini, molekul radikal bebas tersebut tidak dapat melaksanakan transfer elektron dengan struktur sel maupun dengan molekul radikal bebas lain. Kerja radikal bebas sebagai *metal binding protein* yaitu dengan memodifikasi ion logam, seperti besi (Fe) dan tembaga (Cu) untuk menjadi bentuk yang tidak reaktif dan tidak bereaksi dengan radikal bebas (Young dan Woodside, 2001).



Gambar 6. Mekanisme Kerja Antioksidan terhadap Radikal Bebas (Young dan Woodside, 2001).

Dengan adanya antioksidan yang dikonsumsi dalam tubuh; misalnya vitamin C, vitamin E, β -karoten, dan zat-zat lain yang berpotensi untuk menghambat kerusakan sel; kerja radikal bebas dalam menyebabkan kerusakan sel dan penuaan dapat dihambat (Feng dan Wang, 2012). Salah satu zat yang memiliki potensi untuk menghambat kerusakan sel dalam konteks Diabetes Mellitus (DM) tipe 2 adalah Peptida Polisakarida (PsP) dari jamur *Ganoderma lucidum*. *Ganoderma lucidum* diperkirakan memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang dapat

mencegah terjadinya kerusakan endotel dalam kondisi stres oksidatif pada DM Tipe 2.

2.4 Peptida Polisakarida (PsP) dari jamur *Ganoderma lucidum*

2.4.1 *Ganoderma lucidum*

Klasifikasi Jamur *Ganoderma lucidum* (Park, Y. J., et al., 2012)

Kingdom	: <i>Fungi</i>
Phylum	: <i>Basidiomycota</i>
Classis	: <i>Agaricomycetes</i>
Ordo	: <i>Polyporales</i>
Famili	: <i>Ganodermataceae</i>
Genus	: <i>Ganoderma</i>
Spesies	: <i>Ganoderma lucidum</i>



Gambar 7. Jamur *Ganoderma lucidum* (Shilin Chen, et al., 2012)

Jamur *Ganoderma lucidum* telah dimanfaatkan dalam pengobatan berbagai macam penyakit. Sejak sekitar 4000 tahun yang lalu, masyarakat Jepang dan China telah mengenal potensi jamur tersebut dalam bidang

kesehatan. Jamur *Ganoderma lucidum* dikenal dengan nama lokal sebagai *Reishi* di Jepang dan *Ling Chu* atau *Ling Zhi* di China dan Korea. *Ganoderma lucidum* dalam pengobatan tradisional telah digunakan secara luas dalam pengobatan hepatopati, hepatitis kronis, nefritis, hipertensi, arthritis, insomnia, bronkitis, asma, dan berbagai penyakit lainnya. Dalam penelitian-penelitian selanjutnya, *Ganoderma lucidum* menunjukkan efek anti trombolitik dan mampu menurunkan tekanan darah, level kolesterol, dan level gula darah dalam tubuh hewan coba (Ajith dan Janardhanan, 2006).

2.4.2 Peptida Polisakarida (PsP) *Ganoderma lucidum*

Peptida polisakarida (PsP) adalah protein yang terikat polisakarida (*protein-bound polysaccharide*) yang dapat diisolasi dari beberapa spesies tumbuhan dan jamur, salah satunya yaitu isolat PsP yang berasal dari spesies jamur *Coriolus versicolor* strain COV-1 dalam terapi suportif kanker gaster. Efek dari PsP isolat *Coriolus versicolor* yang dilaporkan yaitu menurunkan efek samping negatif dari radioterapi dan kemoterapi (keringat di malam hari, mual dan muntah, rasa kering di tenggorokan) yang disebabkan 5-fluorourasil. Selain itu, dilaporkan juga efek positif dari PsP yang diisolasi dari jamur tersebut terhadap aktivitas immunosupresi yang diinduksi siklofosamid (cyclophosphamide) (Chan dan Yeung, 2006).

Terdapat beberapa substansi bioaktif yang dapat diidentifikasi dan diisolasi dari jamur *Ganoderma lucidum* seperti triterpenoid, polisakarida, nukleosida, sterol, dan alkaloid yang menunjukkan fungsi dan peranan sebagai anti inflamasi, anti tumor antioksidan, imunomodulasi radioproteksi

pada penelitian sebelumnya (Xu *et al.*, 2011). Peptida polisakarida (PsP) dari jamur *Ganoderma lucidum* terutama berasal dari cabang (1→3)-β-D-glucans dan aktifitasnya melalui komponen reseptor tipe 3 (CR3 receptor) yang berikatan dengan polisakarida (1→3)-β-D-glucans. β-D-glucans merupakan komponen utama dari miselium jamur *Ganoderma lucidum* (Sliva, 2003).

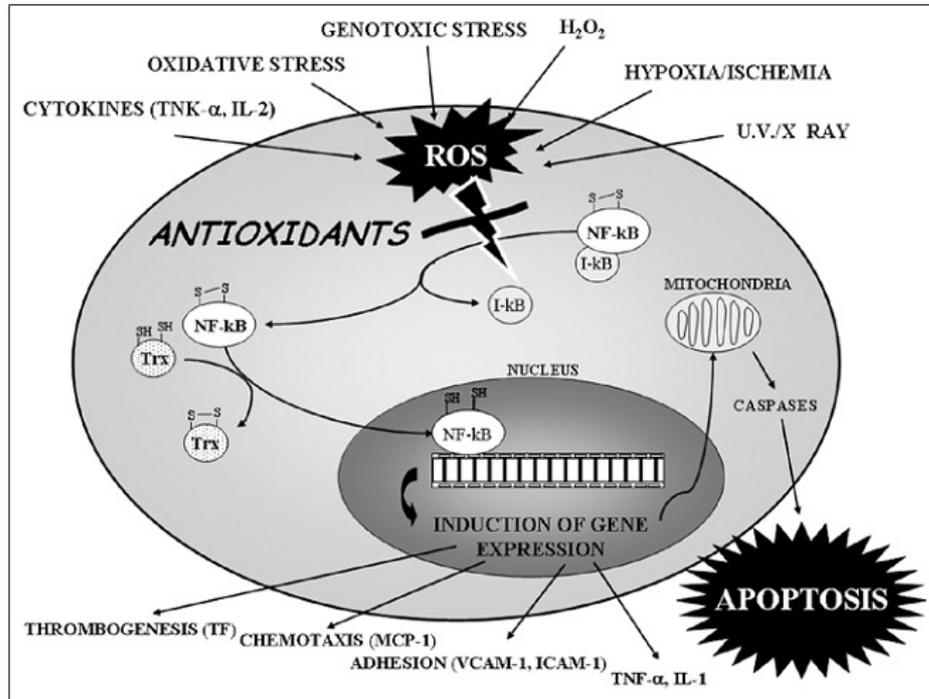
2.4.3 Manfaat Peptida Polisakarida (PsP) jamur *Ganoderma lucidum* sebagai antioksidan pada proses pembentukan sel busa pada Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2

PsP diketahui dari beberapa penelitian yang telah dilaksanakan untuk memiliki manfaat dalam terapi Diabetes Mellitus (DM) tipe 2, antara lain potensi PsP dari jamur *Ganoderma lucidum* (PsP-β-D-glukan) terhadap DM tipe 2 yang berguna dalam mengatasi hipoglikemia dan tingginya kolesterol yang terjadi akibat dislipidemia yang terjadi pada saat DM tipe 2. PsP dinyatakan sebagai modulator dari dua enzim penting hepar, fosfoenolpiruvat karboksikinase (*phosphoenolpyruvate carboxykinase/PEPCK*) yang berperan dalam glukoneogenesis, dan enzim 3-hidoksi-3-metil-glutaril koenzim A reduktase (*3-hydroxy-3-methyl-glutaryl coenzyme A/ HMG CoA*) yang meregulasi sintesis kolesterol endogen di hepar dan usus halus. Dilaporkan terdapat penurunan glukosa plasma, ekspresi gen PEPCK, dan berat badan dari tikus subjek penelitian (reduksi dari lemak tubuh, terutama lemak abdomen) sebagai manfaat dari PsP dalam terapi terhadap DM tipe 2 (Seto, *et al.*, 2006).

PsP juga dilaporkan memiliki aktivitas *scavenger* terhadap radikal bebas walaupun masih 100 kali lipat kurang poten dibandingkan dengan

asam askorbat (Vitamin C) (Seto, *et al.*, 2006). Pada penelitian lain yang dilaksanakan oleh Ning Li *et al.* (2012), PsP yang berasal dari jamur abalon (*Pleurotus abalones*), LB-1b, memiliki efek antioksidan yang setara dengan protein antioksidan lainnya, yaitu hidroperoksida reduktase, tioredoksin peroksidase, dan thiol peroksidase. Selain itu, terdapat aktivitas antiproliferasi dari PsP *Pleurotus abalones* (LB-1b) sel tumor, sel HepG2 (sel karsinoma hepatoseluler), dan sel MCF7 (sel karsinoma mammae).

Dengan adanya kerja antioksidan dan antiinflamasi dari Peptida Polisakarida (PsP), pembentukan sel busa (*foam cell*) bisa dihambat dengan pengikatan radikal bebas yang menginduksi berbagai mediator inflamasi, diantaranya stres oksidatif seperti *Reactive Oxygen Species* (ROS). Mekanisme PsP terhadap penghambatan pembentukan sel busa (*foam cell*) antara lain sama dengan antioksidan pada umumnya, yaitu dengan mengikat stres oksidatif yang terbentuk selama kondisi metabolisme diabetes mellitus (DM) sehingga tidak menyebabkan kerusakan sel endotel pembuluh darah dan akhirnya memicu pembentukan sel busa (*foam cell*) (*second line defense*) (Lobo, *et al.*, 2010). Berikut ini proses antioksidan yang dimiliki PsP dalam menghambat kerusakan endotel yang disebabkan meningkatnya konsentrasi ROS dalam tubuh.



Gambar 6. Aktivitas Antioksidan dalam Siklus Inflamasi yang Diinduksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan Radikal Bebas Lainnya (Rizzo, *et al.*, 2010).

2.5 Pembuatan Model *In Vivo* Diabetes Mellitus (DM) tipe 2

2.5.1 Penggunaan Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) sebagai Model Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2

Subjek penelitian yang digunakan adalah tikus galur Wistar (*Rattus norvegicus*) dengan usia 6-8 minggu dan berat 150-200 gram. Terdapat beberapa spesies hewan coba yang dapat digunakan sebagai model Diabetes Mellitus (DM) tipe 2 dalam penelitian. Hewan coba tersebut antara lain kera, kucing, tikus, dan mencit. Kucing dan kera secara spontan mengembangkan DM tipe 2 dalam tubuhnya, hanya saja jumlah subjek penelitian yang sungguh-sungguh mengembangkan DM tipe 2 sangat sedikit dan tidak dapat diprediksi sehingga tidak efisien dari segi waktu dan biaya penelitian (Matveyenko dan Butler, 2006).

Hewan coba lainnya yang digunakan dalam penelitian yaitu golongan hewan pengerat (*rodent*). Beberapa hewan pengerat yang telah digunakan sebagai model DM tipe 2 yaitu tikus dan mencit. Terdapat beberapa galur tikus dan mencit yang digunakan dalam penelitian mengenai DM tipe 2, di antaranya mencit yang secara spontan menderita DM tipe 2 (ob/ob, db/db, KuoKuondo (KK), TallyHo, NSY), *rodent* yang dimodifikasi menjadi DM tipe 2 (tikus Zucker fa/fa, mencit KK, tikus Wistar-Kyoto diabetik), dan beberapa spesies hewan pengerat lainnya, seperti *Psammomys obesus* (*sand rats*, gerbil), *Cricetulus griseus* (*guinea pig*), dan *Acromys cahirinus* (*spiny mice*) (Lukačínová, *et al.*, 2013). Tikus yang digunakan pada beberapa penelitian DM tipe 2 antara lain tikus Sprague Dawley, Wistar, dan Lewis (Kern *et al.*, 2010).

Terdapat beberapa kelemahan pada beberapa spesies hewan coba yang digunakan sebagai model DM tipe 2. Pada mencit db/db, tikus ZDF, *Psammomys obesus*, dan beberapa spesies lainnya, kematian terjadi dengan cepat pada kondisi DM tipe 2 karena adanya ketosis sehingga membutuhkan terapi insulin. Pada mencit db/db, mencit ob/ob, dan Zucker *fatty rat* terjadi abnormalitas genetik hanya pada jalur leptin, sedangkan DM tipe 2 pada manusia terjadi karena polimorfisme dari berbagai gen. Selain itu, terdapat kesulitan untuk menyesuaikan kondisi obesitas pada tikus dan manusia, seperti yang terjadi pada tikus Goto-Kakizaki yang tetap kurus walaupun telah menderita obesitas (Mansor, *et al.*, 2013).

Tikus Wistar digunakan sebagai subjek penelitian karena sensitivitasnya pada Streptozotocin (STZ) dan *High Fat Diet* (HFD). Beberapa penelitian berikut menunjukkan hasil yang signifikan dari

penggunaan tikus Wistar sebagai model DM tipe 2. Pada penelitian Mansor, et al. (2013), digunakan tikus galur Wistar dengan induksi STZ dan pemberian HFD dengan hasil yang signifikan terhadap kadar glukosa, trigliserida, insulin, dan kolesterol antara kontrol negatif dan kontrol positif. Terdapat juga perbedaan peningkatan berat badan setelah pemberian HFD dan penurunan berat badan setelah injeksi STZ yang signifikan pada tikus Wistar yang digunakan oleh Mansor, et al. (2013). Penelitian Wang, et al. (2012) juga menggunakan tikus galur Wistar untuk mengetahui efek dari simvastatin terhadap glukosa darah puasa (GDP) tikus yang diinduksi STZ. Terdapat juga peningkatan kolesterol total dan trigliserida dan penurunan HDL yang signifikan ($p < 0,05$) pada tikus Wistar yang diinduksi STZ dari hasil penelitian Wang, et al. (2012).

Pada penelitian Kern et al. (2010), didapatkan bahwa pada tikus Sprague Dawley dan Wistar, kadar hemoglobin terglisosilasi lebih tinggi dibandingkan dengan tikus Lewis. Selain itu, pada tikus Wistar dan Lewis didapatkan pula tanda-tanda degenerasi kapiler yang tidak didapatkan pada tikus Sprague Dawley. Tikus Sprague Dawley yang diinjeksi dengan Streptozotocin (STZ) sebanyak 50 mg/kgBB menunjukkan depresi nafsu makan dan lebih sulit untuk mengamati efektivitas zat percobaan karena adanya hipoglikemia jika dibandingkan dengan tikus Wistar (Pinheiro, et al., 2010). Hal-hal di atas inilah yang mendasari penelitian ini untuk menggunakan tikus Wistar sebagai hewan coba. Selain itu, penulis mempertimbangkan visibilitas dalam melaksanakan penelitian yang lebih terakomodasi dengan penggunaan tikus Wistar dibandingkan dengan spesies tikus lainnya.

2.5.2 Penggunaan *High Fat Diet* (HFD) dan Streptozotocin (STZ) *Low Dose* Penginduksi Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2

Pembuatan tikus model Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2 dilakukan dengan diet aterogenik (*High Fat Diet*) selama 8 minggu dan injeksi Streptozotocin (STZ). *High Fat Diet* yang digunakan memiliki komposisi pakan ayam/ ParS 57.3%, tepung terigu 31.8%), kolesterol 1.9%, asam kolat 0,1% dan minyak babi 8.9% (Mawarti dan Ratnawati, 2012). *High Fat Diet* (HFD) merupakan pakan yang mengandung lemak hewani dan kolesterol yang berpotensi meningkatkan simpanan lemak dan trigliserida yang terdapat dalam tubuh tikus model DM tipe 2. Peningkatan simpanan lemak tubuh menyebabkan kontrol pelepasan lemak dan kelanjutan siklus lemak oleh hormon insulin menurun. Aktivitas anti-lipolisis dari insulin menjadi terhambat dan mengurangi penggunaan glukosa sebagai sumber energi. Asam lemak terlepas lebih banyak dan lebih mudah teroksidasi, salah satunya yaitu oksidasi LDL menjadi oxLDL. Stimulasi transpor glukosa ke dalam otot oleh hormon insulin juga terganggu yang menyebabkan terjadinya kondisi yang disebut resistensi insulin. Resistensi insulin menyebabkan terjadinya kondisi hiperglikemia yang berkepanjangan yang merupakan proses awal dari penyakit DM tipe 2 (Day dan Bailey, 2011).

Streptozotocin (STZ) yang digunakan adalah suatu substansi yang memiliki efek toksisitas terhadap sel β pankreas yang memproduksi insulin. Streptozotocin diambil dari *Streptomyces achromogenes* yang memiliki substansi glukosamin nitrosoarea. STZ digunakan secara klinis dalam kemoterapi sel kanker sel β pankreas. STZ bekerja dengan cara memasuki

sel β pankreas melalui reseptor transportasi glukosa GLUT-2 karena kesamaan strukturnya dengan glukosa. STZ bekerja berdasarkan dosis yang diberikan, apabila dosis STZ besar, maka akan terjadi proses alkilasi dari substansi nitrosourea yang sitotoksik. Efek dari STZ dosis rendah adalah stimulasi dari respons imunitas yang menyebabkan autoantigen untuk asam glutamat dekarboksilase. Efek utama dari STZ dalam menginduksi DM tipe 2 yaitu hipoinsulinemia dan hiperglikemia (Graham, *et al.*, 2011). Dalam penelitian ini, STZ digunakan sebagai stimulan terjadinya DM tipe 2. Resistensi insulin karena proses hiperglikemia yang terjadi pada tikus model DM tipe 2 lebih diakibatkan oleh konsumsi HFD oleh tikus model DM tipe 2 selama penelitian berlangsung.

