

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes melitus

2.1.1 Definisi

Diabetes mellitus (DM) adalah istilah umum untuk gangguan metabolisme heterogen dengan hiperglikemia kronis. Penyebabnya adalah gangguan sekresi insulin atau gangguan fungsi insulin atau keduanya (Kemer *et al.*, 2014). Diabetes Mellitus (DM) atau penyakit kencing manis merupakan penyakit yang ditandai dengan peningkatan kadar gula dalam darah sebagai akibat adanya gangguan sistem metabolisme dalam tubuh, dimana organ pankreas tidak mampu memproduksi hormon insulin sesuai kebutuhan tubuh. DM diketahui sebagai penyakit akibat gangguan pada sistem metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein dalam tubuh. Gangguan metabolisme disebabkan berkurangnya produksi atau resistensi sel-sel tubuh terhadap insulin. Peranan insulin dalam proses metabolisme adalah mengubah gula menjadi energi serta sintesis lemak. Keadaan insulin tubuh yang rendah mengakibatkan terjadinya kelebihan gula dalam darah yang disebut hiperglikemia (Makalalag *et al.*, 2013). Hiperglikemia yang parah dalam waktu jangka pendek dapat menyebabkan dehidrasi dan keadaan koma pada pasien. Hiperglikemia dalam waktu jangka panjang dapat merusak pembuluh darah sehingga mengalami penebalan dinding dan penyempitan pembuluh darah maka aliran darah ke organ tubuh menjadi

berkurang dan terjadi kerusakan permanen pada jaringan, terutama pada retina dan ginjal. Peningkatan kadar glukosa darah dapat mempengaruhi kerusakan pada saraf (Michael *et al.*, 2014).

Hormon insulin bertanggung jawab untuk menjaga kadar glukosa darah. Pengobatan secara oral dapat digunakan untuk meningkatkan sekresi hormon insulin seperti *secretagogues* yang digunakan untuk diri sendiri. Penyebab diabetes yang lain seperti gangguan respon metabolik terhadap kerja insulin resistensi insulin. Terapi yang dapat diberikan pada pasien yaitu olahraga, penurunan berat badan atau membutuhkan pengobatan seperti insulin *sensitizers* (Michael *et al.*, 2014).

2.2 Klasifikasi Diabetes

Diabetes mellitus diklasifikasikan dalam diabetes melitus tipe 1 yang disebabkan oleh defisiensi insulin dan diabetes melitus tipe 2 yang disebabkan oleh resistensi insulin dengan kompensasi yang tidak adekuat pada sekresi insulin. Wanita hamil yang mengalami diabetes melitus diklasifikasikan sebagai diabetes gestasional. Beberapa tipe diabetes yang jarang disebabkan oleh infeksi, obat-obatan, endokrinopati, kerusakan pankreas, dan cacat genetik yang diklasifikasikan secara terpisah (Triplitt *et al.*, 2008).

2.2.1 Diabetes Mellitus tipe 1

Diabetes yang disebabkan adanya kerusakan autoimun dari sel beta pankreas. Penanda kerusakan imun dari sel beta pankreas dapat diketahui dari diagnosa individu. Diabetes mellitus tipe 1 biasanya terjadi pada anak-anak,

remaja dan juga dapat terjadi pada semua umur. Individu yang lebih muda biasanya terjadi kerusakan sel beta pankreas dan dengan ketoasidosis (Triplitt *et al.*, 2008). Adanya diabetes mellitus tipe 1 dapat diidentifikasi dengan ditemukannya antibodi anti *glutamic acid dehydrogenase*, sel islet autoantibody, atau autoantibody insulin di dalam darah. Penderita diabetes mellitus tipe 1 memerlukan insulin untuk mencegah timbulnya ketosis spontan agar tetap dapat bertahan hidup (Dannis *et al.*, 2005).

2.2.2 Diabetes Mellitus tipe 2

Dalam DM Tipe 2, pankreas dapat menghasilkan insulin dengan jumlah yang cukup untuk metabolisme glukosa, tetapi tubuh tidak mampu untuk memanfaatkan secara efisien. Seiring waktu, penurunan produksi insulin dan kadar glukosa darah meningkat (Adhi, 2011). DM tipe 2 sering tidak terdiagnosis dalam jangka waktu yang lama karena hiperglikemia masih dapat ditoleransi. Namun demikian, terjadi peningkatan risiko dalam pengembangan komplikasi makrovaskuler dan mikrovaskuler (WHO, 1999). Faktor yang diduga menyebabkan terjadinya resistensi insulin dan hiperinsulinemia ini adalah adanya kombinasi antara kelainan genetik, obesitas, inaktivitas, faktor lingkungan dan faktor makanan (Tjekyan, 2007).

2.2.3 Diabetes Gestational

Diabetes gestational didefinisikan sebagai Intoleransi glukosa yang berkembang selama kehamilan. Resistensi insulin yang terjadi terkait dengan perubahan metabolisme pada akhir kehamilan, dan kebutuhan insulin yang

meningkat dapat menyebabkan diabetes (Longo *et al.*, 2012). Diabetes gestational biasanya terjadi pada trimester kedua dalam kehamilan yang dipicu oleh semakin tingginya hormon yang berhubungan seperti *somatomammotropin chorionic*, progesteron, kortisol, dan prolaktin yang memiliki efek *anti-insulin counterregulatory* (McPhee & William, 2005). Deteksi klinis yang paling penting, sebagai terapi yang akan mengurangi morbiditas dan mortalitas perinatal (Triplitt *et al.*, 2008).

2.2.4 Diabetes tipe lain

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

2.3 Diabetes melitus tipe 2

2.3.1 Definisi

Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2 merupakan penyakit hiperglikemia akibat sel yang tidak sensitif terhadap insulin. Kadar insulin yang sedikit menurun atau berada dalam rentang normal. Hormon insulin tetap dihasilkan oleh sel beta pankreas pada diabetes mellitus tipe II yang dianggap sebagai *Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM) (Corwin, 2001).

2.3.2 Etiologi

Diabetes mellitus yang disebabkan kelainan sekresi insulin yang progresif dan resistensi insulin. Diabetes mellitus yang tidak tergantung pada insulin (NIDDM) mempunyai pola familial yang kuat. *Noninsulin-Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM) ditandai dengan adanya kelainan dalam sekresi insulin maupun dalam kerja insulin. Pada awalnya terjadi resistensi dari sel-sel target terhadap kerja insulin. Awalnya insulin mengikat dirinya sendiri terhadap reseptor-reseptor dipermukaan sel tertentu. Kemudian terjadi reaksi intraselular yang meningkatkan transport glukosa untuk menembus membran sel. Pasien-pasien dengan NIDDM terdapat kelainan dalam pengikatan insulin dengan reseptor yang disebabkan oleh berkurangnya jumlah tempat reseptor yang responsif insulin pada membran sel.

Sehingga terjadi penggabungan yang tidak sesuai antara kompleks reseptor insulin dengan sistem transport glukosa. Keadaan kadar glukosa yang normal dapat dipertahankan dalam waktu yang cukup lama dengan meningkatkan sekresi insulin, tetapi pada akhirnya sekresi insulin menurun, dan jumlah insulin yang dibutuhkan tidak sesuai dalam mempertahankan keadaan euglikemia. Sekitar 80% pasien NIDDM mengalami obesitas. Obesitas berkaitan dengan resistensi insulin, sehingga kemungkinan besar gangguan toleransi glukosa dan diabetes mellitus yang terjadi pada pasien-pasien NIDDM diakibatkan obesitas. Pengurangan berat badan sering kali dikaitkan dengan perbaikan dalam sensitivitas insulin dan pemilihan toleransi glukosa (Rakhmadany, 2010).

2.3.3 Patofisiologi

DM tipe 2 ditandai dengan ketidakpekaan insulin yaitu resistensi insulin, menurunnya produksi insulin, dan akhirnya terjadi kegagalan sel-beta pankreas. Hal ini menyebabkan penurunan transpor glukosa ke dalam hati, sel-sel otot, dan sel-sel lemak. Selanjutnya terjadi pemecahan lemak yang meningkat dalam keadaan hiperglikemia yang melibatkan gangguan fungsi sel alfa yang baru-baru ini telah diakui berperan dalam patofisiologi DM tipe 2. Sebagai hasil dari disfungsi insulin yaitu kadar glukagon dan glukosa hepatik meningkat. Kadar insulin yang rendah dan peningkatan resistensi insulin akan menjadikan hiperglikemia (Olokaba *et al.*, 2012).

Pada kondisi DM tipe 2, insulin masih dapat digunakan untuk mencegah terjadinya ketosis sehingga jarang dijumpai ketosis. DM tipe 2 biasanya terjadi pada individu dengan usia lanjut dan biasanya didahului oleh keadaan sakit atau stres yang membutuhkan kadar insulin tinggi. Secara patofisiologi, DM tipe 2 disebabkan karena dua hal yaitu (1) resistensi insulin yaitu penurunan respon jaringan perifer terhadap insulin, dan (2) penurunan kemampuan sel beta pankreas untuk mensekresi insulin sebagai respon terhadap peningkatan glukosa darah. Sebagian besar DM tipe 2 diawali dengan kegemukan. Sebagai timbal balik, sel beta pankreas merespon dengan mensekresi insulin lebih banyak sehingga kadar insulin meningkat (hiperinsulinemia). Konsentrasi insulin yang tinggi mengakibatkan reseptor insulin berupaya melakukan pengaturan sendiri dengan menurunkan jumlah reseptornya. Dampak yang muncul pada penurunan respon reseptornya serta lebih lanjut dapat mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Di lain pihak, kondisi hiperinsulinemia juga dapat mengakibatkan desensitisasi reseptor insulin pada tahap postreseptor, yaitu penurunan aktivasi kinase reseptor,

translokasi *glucose transporter* dan aktivasi *glycogen synthase*. Kejadian ini mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Dua kejadian tersebut terjadi pada permulaan proses terjadinya DM tipe 2. Pada penderita DM tipe 2, pemberian obat-obat oral antidiabetes sulfonilurea masih dapat merangsang kemampuan sel beta pankreas untuk mensekresi insulin (Nugroho, 2006).

2.3.4 Faktor risiko

Faktor risiko untuk DM tipe 2 meliputi (Cook *et.al.* dalam Chisholm-Burns *et al.*, 2008; Triplitt *et al.* dalam Dipiro *et.al.*, 2008):

- Riwayat keluarga DM
- Kegemukan atau obesitas ($\geq 20\%$ dari berat badan ideal, atau indeks massa tubuh [BMI] $\geq 25 \text{ kg/m}^2$).
- Kebiasaan aktivitas fisik. Makin kurang gerak badan, makin mudah seseorang terkena diabetes mellitus tipe 2 sehingga dianjurkan untuk olahraga atau aktivitas fisik membantu untuk mengontrol berat badan. Saat berolahraga, glukosa darah dibakar menjadi energi. Sel-sel tubuh menjadi lebih sensitif terhadap insulin. Peredaran darah menjadi lebih baik dan risiko terjadinya DM tipe 2 akan turun sampai 50 persen (Wulandari, 2011).
- Ras atau etnis. Beberapa ras tertentu, seperti suku indian di Amerika, `Hispanik dan orang Amerika di Afrika, mempunyai resiko lebih besar terkena DM tipe 2 (Wulandari, 2011).
- Pre-diabetes (yaitu, yang sebelumnya pernah diidentifikasi gangguan toleransi glukosa atau gangguan glukosa puasa).
- Hipertensi (dengan tekanan darah $\geq 140/90 \text{ mmHg}$).

- Kadar *High-density lipoprotein* (HDL) < 35 mg/dL (0,91 mmol/L) dan/atau kadar trigliserida > 250 mg/dL (2,83 mmol/L).
- Riwayat diabetes gestational atau bayi lahir dengan berat badan > 9 pon (4,09 kg).
- Riwayat penyakit vaskular.
- Kondisi-kondisi lain yang berhubungan dengan resistensi insulin (misalnya, *acanthosis nigricans*).

2.3.5 Manifestasi klinis

Berdasarkan Triplitt *et al.*, 2006 manifestasi klinik antara diabetes melitus tipe 1 dan diabetes melitus tipe 2 memiliki perbedaan dalam berbagai hal, yaitu sebagai berikut:

Tabel 2.1 Karakteristik DM tipe 1 dan DM tipe 2 (Triplitt *et al.*, 2006)

Karakteristik	Diabetes Mellitus Tipe 1	Diabetes Mellitus Tipe 2
Umur	≤ 30 tahun	≥ 30 tahun
Onset	Tiba-tiba	Berlahan-lahan
Resisten insulin	Tidak ada	Ada
Keton	Ada diagnosa	Tidak ada
Komplikasi Akut	Diabetes ketoasidosis	State hiperglikemik hiperosmolar
Komplikasi Mikrovaskular	Tidak ada diagnosa	Ada diagnosa
Komplikasi Makrovaskular	Jarang muncul kecuali dengan diagnosa dokter	Ada setelah atau sebelum diagnosis
Keadaan Tubuh	Kurus	
Terapi Insulin	Dibutuhkan	Dibutuhkan beberapa tahun setelah diagnosis
Gejala Akut	Poliuria, nokturia, polidipsi, polifagia dan terjadi penurunan berat badan.	Gejala sering tidak diketahui

2.3.6 Skrining dan diagnosa

Uji yang digunakan untuk mendeteksi DM tipe 2 dan menilai risiko diabetes di masa depan pada pasien yang asimtomatik harus mempertimbangkan pasien yang kelebihan berat badan atau obesitas dan yang memiliki satu atau faktor risiko yang lebih atau tambahan untuk diabetes (Micheal *et al.*, 2014):

- Aktivitas fisik.
- Keadaan yang berhubungan dengan diabetes.
- Ras / etnis yang berisiko tinggi (misalnya, Afrika Amerika, Latino, penduduk asli Amerika, Asian Amerika, Kepulauan Pasifik).
- Wanita yang melahirkan bayi dengan berat $\geq 4,5$ kg atau didiagnosa diabetes gestasional
- Hipertensi (140/90 mmHg atau lebih tinggi atau menerima terapi untuk hipertensi).
- Kadar HDL ≤ 35 mg / dl dan / atau kadar trigliserida ≥ 250 mg/dl.
- Wanita dengan sindrom ovarium polikistik.
- A1C $\leq 5,7\%$, gangguan toleransi glukosa (IGT), atau gangguan glukosa puasa (IFG) pada pengujian sebelumnya.
- Kondisi klinis lain yang terkait dengan resistensi insulin (misalnya, obesitas berat, acanthosis nigricans, sindrom metabolik).
- Riwayat penyakit kardiovaskular (CVD).

Dengan tidak muncul beberapa faktor risiko di atas, pemeriksaan untuk diabetes harus dimulai pada usia 45 tahun. Jika hasilnya normal, pemeriksaan harus diulang setidaknya pada interval tiga tahun. Pemeriksaan lebih sering harus dipertimbangkan tergantung pada hasil awal dan status risiko.

2.3.7 Pengobatan

Tujuan utama pada penatalaksanaan DM adalah menormalkan aktivitas insulin dan kadar glukosa darah dalam upaya untuk mengurangi terjadinya komplikasi vaskular serta neuropatik. Pengobatan primer dari diabetes tipe I adalah insulin, sedangkan untuk pengobatan utama diabetes mellitus tipe II adalah penurunan berat badan. Dengan modifikasi gaya hidup dan diet menunjukkan bahwa adanya penurunan yang signifikan dalam kejadian diabetes melitus tipe 2 dengan menjaga indeks massa tubuh 25 kg/m^2 , makan tinggi serat dan lemak tak jenuh, olahraga teratur, menghindari merokok dan konsumsi alkohol. Pasien dengan diabetes melitus tipe 2 harus menerima pengobatan yang sesuai dengan kemampuan fisik dan fungsional. Macam-macam pengobatan farmakologi pada pasien DM tipe 2 adalah sebagai berikut:

a. Biguanida

Golongan biguanida yang paling umum digunakan adalah metformin, karena kerjanya menekan produksi glukosa hepatic, meningkatkan sensitivitas insulin, meningkatkan glukosa dengan fosforilasi faktor *glucose transporters* (GLUT), meningkatkan oksidasi asam lemak, dan mengurangi penyerapan glukosa dari saluran pencernaan (Olokoba *et al.*, 2012). Golongan biguanida (metformin) meningkatkan kepekaan reseptor insulin dan menghambat pembentukan glukosa hepatic (Sukandar *et al.*, 2011).

b. Sulfonilurea

Golongan sulfonilurea umumnya ditoleransi dengan baik, tetapi karena merangsang sekresi insulin endogen sehingga menyebabkan risiko hipoglikemia. Beberapa faktor risiko untuk hipoglikemia adalah gangguan fungsi ginjal yang berkaitan dengan usia, penggunaan simultan dari insulin atau *insulin sensitizer*,

usia yang lebih dari 60 tahun, penyalahgunaan alkohol, pembatasan kalori, obat yang mempotensiasi tindakan sulfonilurea (Olokoba *et al.*, 2012).

c. Non-sulfonilurea secretagogues

Repaglinide, meglitinide dan nateglinide adalah *non-sulfonilurea secretagogues* yang bertindak atas *ATP-dependent K-channel* di sel-sel beta pankreas sehingga merangsang pelepasan insulin, mirip dengan sulfonilurea, meskipun situs pengikatan berbeda. Meglitinide memiliki onset cepat dan durasi singkat tindakan (4-6 jam) dan risiko hipoglikemia lebih rendah. Meglitinide diberikan sebelum makan untuk mengontrol glukosa darah postprandial (Olokoba *et al.*, 2012).

d. Thiazolidinedione

Thiazolidinedione adalah *insulin sensitizer*, obat pertama untuk mengatasi masalah resistensi insulin pada pasien DM tipe 2, salah satunya yaitu pioglitazone setelah penggunaan rosiglitazone dibatasi oleh *Food and Drug Administration* (FDA) baru-baru ini karena peningkatan kejadian kardiovaskular. Pioglitazone harus dihindari pada usia lanjut pasien dengan gagal jantung (Olokoba *et al.*, 2012). Thiazolidindion (pioglitazon) meningkatkan kepekaan reseptor insulin pada sel otot skelet, hati dan sel adipose (Sukandar *et al.*, 2011).

e. Glukosidase Inhibitor

Bekerja dengan menghambat enzim glukosidase yang ada pada mukosa pada usus halus, yang mana enzim glukosidase berperan sebagai pembongkaran polisakarida dan sakarida menjadi glukosa (Koda-Kimbel *et al.*, 2009). Acarbose, voglibose dan miglitol belum banyak digunakan untuk mengobati DM tipe 2 tetapi cenderung aman dan efektif. Agen-agen ini yang paling efektif untuk hiperglikemia postprandial dan harus dihindari pada pasien dengan

gangguan ginjal yang signifikan. Penggunaannya terbatas karena tingginya efek samping seperti diare dan perut kembung (Olokoba *et al.*, 2012).

f. *Glucagonlike Peptide-1 Receptor Agonists (GLP-1 Mimetics / Analogs)*

Terapi berbasis incretin dari target sebelumnya. Satu dari dua enzim yang disekresikan dari usus untuk meningkatkan sekresi insulin saat terjadi konsumsi glukosa. Golongan ini tersedia monoterapi, sebagai tambahan yaitu diet dan olah raga atau kombinasi dengan agen oral hipoglikemik. Contohnya Exenatide dan Liraglutide. Tidak ada risiko hipoglikemia dalam penggunaan GLP-1 (kecuali dikombinasikan dengan *insulin secretagogues*) (Olokoba *et al.*, 2012).

g. *Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor (DPP-4 Inhibitor)*

Menghambat dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4), enzim yang menginaktivasi GLP-1 dan GIP, meningkatkan fungsi pankreas dan mengontrol glikemik pada DM tipe 2. DPP-4 inhibitor efektif sebagai monoterapi pada pasien yang tidak cukup terkontrol dengan diet dan olahraga dan sebagai terapi kombinasi dengan metformin, thiazolidinedione, dan insulin. DPP-4 inhibitor ditoleransi dengan baik, memiliki risiko hipoglikemia yang rendah, namun relatif mahal (Olokoba *et al.*, 2012).

h. Hormon Insulin

Insulin bisa digunakan tunggal atau kombinasi dengan agen oral hipoglikemik. Penggantian insulin basal-bolus diperlukan jika terjadi kelelahan sel beta. Terapi penggantian diperlukan dalam kasus toksisitas glukosa yang harus meniru rilis normal insulin oleh sel beta pankreas. Insulin tersedia dalam bentuk injeksi *rapid acting* (Lispro), *short acting* (Humulin R), *intermediate acting* (NPH,

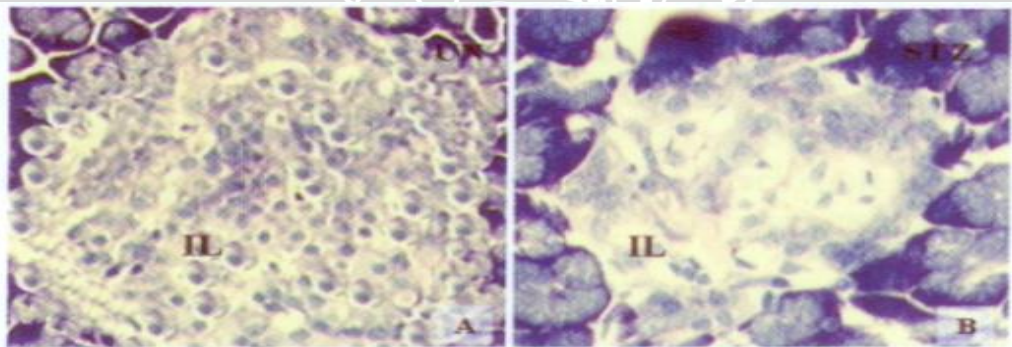
Lente) dan *long acting* (Ultralente). Sediaan *long acting* cenderung menyebabkan hipoglikemia dibandingkan *short acting* (Olokoba *et. al.*, 2012).

2.4 Pankreas

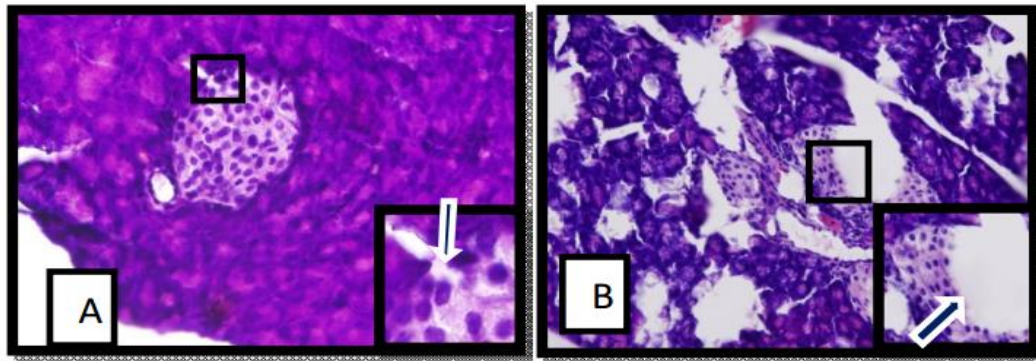
Pankreas terletak di perut bagian atas di belakang perut. Pankreas merupakan bagian dari sistem pencernaan yang membuat dan mengeluarkan enzim pencernaan ke dalam usus, dan juga organ endokrin yang membuat dan mengeluarkan hormon ke dalam darah untuk mengontrol metabolisme energi dan penyimpanan seluruh tubuh (Longnecker, 2014). Pankreas memiliki dua fungsi yaitu fungsi endokrin dan fungsi eksokrin. Fungsi endokrin pankreas adalah menghasilkan hormon. Paling sedikit terdapat empat peptida yang mempunyai aktivitas hormonal yang disekresi oleh pulau Langerhans pankreas (insulin, glukagon, somatostatin dan *pancreatic polypeptide*) (Robertson *et al.*, 2003). Endokrin pankreas tersusun dari sekumpulan sel yang disebut dengan kepulauan langerhans yang terdistribusi pada eksokrin pankreas. Ada 4 tipe sel yang memproduksi sekret yang berbeda-beda dalam kepulauan langerhans yaitu sebagai berikut menurut McPhee *et al* (2005) :

- Sel beta memproduksi insulin, yang terletak dibagian tengah pulau langerhans dan merupakan sel yang paling dominan (80%)
- Sel alfa memproduksi glukagon, terletak dibagian perifer dengan jumlah sekitar 20% dari keseluruhannya.
- Sel delta yang memproduksi somatostatin, terletak diantara sel alfa dan sel beta.
- Sel PP atau sel F, terletak dikepala pankreas bagian lobus posterior.

Pulau Langerhans merupakan kumpulan sel ovoid berukuran $76 \times 0,2 \mu\text{m}$ yang tersebar di seluruh pankreas dan berbentuk seperti pulau. Fungsi eksokrin pankreas adalah mensekresi cairan yang mengandung enzim-enzim pencernaan dan elektrolit ke dalam lumen usus. Pada keadaan hiperglikemia kronis, glukosa mengalami beberapa jalur metabolisme seperti fosforilasi oksidatif, autooksidasi glukosa, metabolisme, heksosamin, metabolisme sorbitol, dan pembentukan alfa ketoaldehid. Semua jalur metabolisme ini dapat menghasilkan ROS yang mengakibatkan stres oksidatif dan menyebabkan kapasitas enzim intraseluler pankreas menurun. Kondisi ini menyebabkan ROS bereaksi dengan komponen penyusun membran sel beta menimbulkan penyakit diabetes mellitus yang dikarakterisasi dengan kondisi hiperglikemia. Kondisi hiperglikemia kronis dan jalur biokimia metabolisme glukosa sampai menghasilkan ROS dan menyebabkan disfungsi sel beta (Robertson *et al.*, 2003). Beberapa gambar yang menunjukkan histologi pankreas yaitu sebagai berikut;



Gambar 2.1 Preparasi histologi pankreas pada tikus yang tidak diberikan streptozotocin (A) dan diberikan streptozotocin (B) menunjukkan adanya pengurangan pulau langerhans (IL) (Sposato *et al.*, 2007).



Gambar 2.2 Histologi pankreas normal (A) dan pankreas diabetes (B) (Al Farabi et al., 2010)

Adanya kerusakan pulau Langerhans dapat di lihat dari morfologi pulau Langerhans di bawah mikroskop. Kondisi normal pulau Langerhans berbentuk bundar atau lonjong, tetapi saat terjadi kerusakan, maka bentuk bundar ini akan berubah menjadi tidak beraturan dan dilihat dari inti sel beta pun akan terlihat bahwa bentuk sel beta pankreas yang rusak memiliki ukuran yang lebih kecil daripada ukuran normal.



Gambar 2.3 (A) Hasil histologi pankreas tikus normal dengan pengamatan imunohistokimia. (B) Hasil histologi pankreas tikus yang diberikan ekstrak binahong dengan dosis ekstrak binahong 50 mg/kgBB dan (C) Hasil histologi pankreas tikus yang diberikan ekstrak binahong dengan dosis ekstrak binahong 200 mg/kgBB yang secara perlahan sel beta pankreas (tanda anak panah sel beta pankreas) terbentuk kembali (Sukandar et al., 2011).

Pada pengamatan imunohistokimia sel beta pankreas rusak dan mengecil. Terjadinya kerusakan sel beta pankreas sejalan dengan adanya peningkatan kadar glukosa darah. Pada pemberian ekstrak binahong dengan dosis tersebut terjadi peningkatan jumlah sel beta pankreas dan sel beta perlahan – lahan akan menjadi normal (Sukandar *et al.*, 2013).

2.5 Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia*)

Tumbuhan binahong telah ribuan tahun dikenal dan dikonsumsi oleh bangsa Tiongkok, Korea, Taiwan dll. Tanaman binahong berasal dari Cina dan menyebar ke Asia Tenggara. Di negara Eropa maupun Amerika, tanaman ini cukup dikenal (Ariani, 2013). Tanaman binahong memiliki nama lain yaitu *Boussingaultia gracilis* Miers.; *Boussingaultia cordifolia*; *Boussingaultia basselloides*. Klasifikasi tanaman binahong meliputi termasuk dalam divisi: spermatophyta dengan Subdivisi: angiospermae, kelas: dicotyledoneae, bangsa: caryophyllales, suku: basellaceae, marga: anredere, jenis : *Anredera cordifolia*.



Gambar 2.4 Daun binahong (BPOM, 2008)

Habitus berupa tumbuhan menjalar, berumur panjang, bisa mencapai panjang lebih dari 6 meter. Batang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar.

Daun tunggal, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung, panjang 5-10 cm, lebar 3-7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, permukaan licin, bisa dimakan. Bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5-1 cm, berbau harum. Akar berbentuk rimpang, berdaging lunak (BPOM, 2008).

Manfaat tanaman Binahong menurut beberapa orang di Jawa Indonesia, antara lain dapat mengobati diabetes mellitus, tipus, hipertensi, wasir, TBC, rematik, asam urat, asma, diuretik, pemulihan pasca melahirkan, penyembuhan luka, kolitis, diare, gastritis dan kanker (Astuti *et al.*, 2011). Pada proses skrining fitokimia daun binahong diketahui mengandung flavonoid, saponin, steroid /triterpenoid dan kumarin (Djamil *et al.*, 2012). Hampir semua bagian tanaman binahong ini dapat dimanfaatkan mulai dari batang, akar, bunga, dan daun. Tetapi yang paling sering dimanfaatkan untuk kesehatan atau sebagai obat herbal adalah daunnya (Manoi, 2009). Tanaman Binahong diketahui mengandung minyak atsiri. Ekstrak etil asetat dari batang binahong mengandung polifenol, flavonoid, dan saponin (Wardhani, 2012).

Tanaman ini juga memiliki kandungan yaitu 3-hidroksi-30-horoleana-12, 18-dien-29-oat, larragenin, etil ester, asam ursolat (Sukandar *et al.*, 2011). Salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk diabetes mellitus adalah Binahong (Makalalag *et al.*, 2013). Binahong (*Anredera cordifolia*) dikenal sebagai tanaman multiguna karena hampir seluruh bagian tanaman mulai dari akar hingga daun, bermanfaat bagi manusia. Secara empiris, masyarakat memanfaatkannya untuk membantu proses penyembuhan beragam

penyakit. Bagian daun tanaman Binahong digunakan sebagai pengobatan alternatif untuk penyakit diabetes mellitus dengan mengambil 11 helai (50 g) daun binahong (Makalalag *et al.*, 2013).

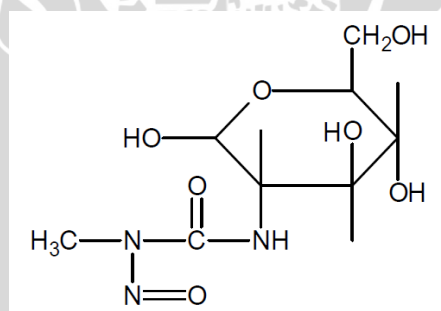
Dari beberapa penelitian dilaboratorium. Ekstrak etanol daun binahong dapat menurunkan kreatinin dan ureum dalam darah serta memperbaiki sel ginjal yang rusak (Sukandar *et al.*, 2010). Ekstrak metanol daun binahong menunjukkan efek antiinflamasi (Nurlestari, 2009) dan ekstrak etanol binahong memiliki efek antioksidan dan memiliki aktivitas hepatoprotektor (Handayani, 2009). Di samping itu ekstrak etanol binahong menunjukkan dapat menurunkan kolesterol pada tikus Wistar (Laela, 2009). Ekstrak air binahong aktif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif pada konsentrasi 50 mg/ml (Thsikalange *et al.*, 2005), senyawa *acordin* (protein) dari akar menunjukkan aktivitas terhadap pelepasan nitrit oksidase yang dapat melebarkan pembuluh darah dan menurunkan tekanan darah dan diduga flavoid aktif untuk berbagai penyakit (Chuang *et al.*, 2007). Ekstrak metanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) dosis 50, 100 dan 200 mg/kg bb dapat menurunkan glukosa darah.

Pada dosis 50 dan 200 mg/kg berat badan mencit terjadi perbaikan sel-sel beta pankreas yang rusak (Sukandar *et al.*, 2011). Pada penelitian yang diketahui juga ternyata ekstrak etanol binahong dapat meningkatkan jumlah sel beta pankreas, meningkatkan berat organ pankreas, dan dapat memperbaiki kerusakan pulau langerhans secara histologi tikus diabetes melitus tipe 2 (Aderial, 2014). Binahong adalah tanaman ajaib yang dapat mengobati beberapa penyakit dan membuat kesehatan tubuh, tetapi Binahong tidak terdokumentasi dengan baik, dan bukti ilmiah terbatas pada menetapkan sebagai obat herbal (Astuti *et al.*, 2011). Dan secara empiris daun binahong dimanfaatkan untuk mengobati rasa

nyeri, maag, sariawan, memberi stamina ekstra, melancarkan peredaran darah, dan asam urat. Selain itu, mengonsumsi binahong mampu meningkatkan vitalitas pria, mengatasi pembengkakan dan pembekuan darah, memulihkan kondisi lemah, menyembuhkan luka, mengobati diabetes mellitus dan menurunkan kolesterol (Shabella, 2012).

2.6 Streptozotocin

Streptozotosin (STZ) atau 2-deoksi-2-[3-(metil-3-nitrosoureido)-D-gluko piranose] diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* dapat digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 maupun tipe 2 pada hewan uji. Dosis yang digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 secara intravena adalah 40-60 mg/kg, dan juga dapat memberikan efek secara intraperitoneal dengan dosis lebih dari 40 mg/kg BB (Nugroho, 2006).



Gambar 2.5 Struktur kimia streptozotosin (Nugroho, 2006)

Streptozotocin dapat menembus sel beta Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Kerja dari streptozotocin yaitu mengubah DNA sel beta pankreas. Adanya alkilasi DNA oleh streptozotocin melalui gugus nitrosourea mengakibatkan terjadinya kerusakan pada sel beta pankreas. Streptozotocin dapat memberikan nitrit oksidase (NO) yang kontribusi terhadap kerusakan sel beta melalui peningkatan aktivitas guanilil siklase dan pembentukan cGMP. Nitrit oksidase dihasilkan pada saat streptozotocin mengalami metabolisme di dalam sel.

Streptozotocin juga dapat menimbulkan oksigen reaktif yang berperan dalam kerusakan sel beta pancreas. Aksi streptozotocin di dalam mitokondria akan membentuk anion superoksida dan meningkatkan aktivitas xantin oksidase. Dalam hal ini, streptozotocin menghambat siklus krebs dan menurunkan penggunaan oksigen pada mitokondria. Produksi ATP mitokondria yang terbatas dapat mengakibatkan pengurangan secara langsung nukleotida sel beta pankreas (Nugroho, 2006).

Secara umum toksisitas streptozotocin tergantung pada aktivitas alkilasi DNA dari metilnitrosourea. Perpindahan kelompok metil dari streptozotocin ke molekul DNA dapat menyebabkan kerusakan sel beta pankreas. Protein glikosilasi juga menjadi salah satu faktor tambahan yang menyebabkan kerusakan sel beta pankreas. Terjadinya metilasi DNA pada streptozotocin bertanggung jawab atas kematian sel beta pankreas. Efek pemberian streptozotocin pada glukosa dan homeostasis insulin ditunjukkan dengan munculnya kelainan fungsi sel beta akibat adanya induksi toksin (Lensen, 2008).

2.7 Diet Tinggi Lemak (*High Fat Diet*)

Diet tinggi lemak yang digunakan dalam penelitian laboratorium biasanya mengandung sekitar 32-60% kalori dari lemak. Dari perspektif nutrisi, diet manusia 60 % kkal lemak akan dianggap ekstrim. Diet dengan 60 % kkal lemak biasanya digunakan untuk menginduksi obesitas pada tikus karena hewan cenderung mendapatkan berat badan lebih cepat dengan waktu yang lebih singkat (Gajda, 2004). Sebagian besar hewan (dewasa atau neonatus) membutuhkan dosis streptozotocin yang relatif tinggi (Streptozotocin > 50 mg kg⁻¹) untuk menginduksi terjadinya diabetes mellitus. Perkembangan hiperglikemia pada tikus setelah

diinjeksi streptozotocin yaitu terjadi kerusakan sel beta pankreas secara langsung dan mengakibatkan kekurangan insulin daripada resistensi insulin. Dalam mencapai pola penyakit diabetes mellitus dapat dilakukan dengan cara menggabungkan makanan diet tinggi lemak yang menghasilkan resistensi insulin dan menggunakan dosis rendah streptozotocin yang menyebabkan disfungsi sel beta pankreas yang menyebabkan hiperglikemia. Pengembangan makanan diet tinggi lemak dan tikus diabetes tipe 2 yang diinduksi dengan streptozotocin yaitu tikus diberi makan diet tinggi lemak (58% lemak, 25% protein dan 17% karbohidrat, sebagai persentase dari total kkal) ditambahkan libitum, masing-masing, untuk periode komposisi awal dua minggu dan persiapan HFD seperti yang dijelaskan di tempat lain. Injeksi secara intraperitoneal (ip) dengan dosis rendah STZ (35 mg kg⁻¹) (Srinivasan *et al.*, 2005).

Tabel 2.2 Komposisi High Fat Diet (Srinivasan *et al.*, 2005)

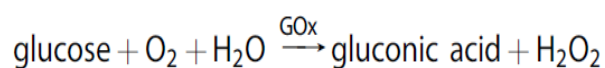
Komponen	Berat komponen (g/kg)
Serbuk NPD	365
Lemak babi	310
Kasein	250
Koletsterol	10
Campuran vitamin dan mineral	60
DL-Methionine	0,3
Serbuk jamur	0,1
Sodium klorida	0,1

2.8 Mikrogel

Perawatan untuk pasien diabetes mellitus tipe 1 dan tipe 2 biasanya membutuhkan pemantauan yang konsisten pada kadar glukosa darah dan adanya pemberian insulin untuk mencapai keadaan normoglikemia. Namun, seperti *self-administrasi*, dikenal sebagai sistem hantar insulin *open loop* yang dapat menyakitkan dan mengakibatkan penurunan kepatuhan pasien dan penurunan dalam mengontrol glukosa. Pemantauan kadar glukosa darah yang tidak

konsisten dapat menyebabkan komplikasi diabetes yang lebih kronis seperti amputasi anggota tubuh, kebutaan, dan gagal ginjal, sedangkan hasil hipoglikemia seperti risiko kejang, tidak sadar, kerusakan otak, atau kematian. Upaya yang signifikan difokuskan pada pengembangan sistem *close loop* yang mampu melepaskan insulin untuk menurunkan kadar glukosa secara *in vivo*. Salah satu strategi untuk mengintegrasikan keduanya dalam satu sistem yaitu *glucose sensing* dan sensor pelepasan elemen insulin. Sistem penghantaran insulin *close loop* semi otomatis dibuat dengan menggunakan sensor pemantauan glukosa yang berlanjut dengan pompa infus insulin eksternal.

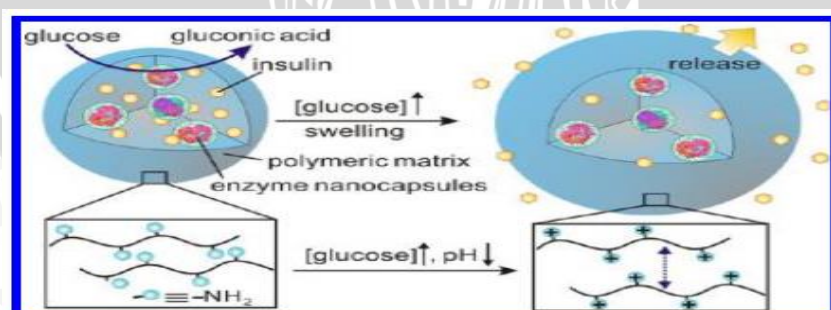
Pengembangan polimer biomaterial untuk mencapai penghantaran insulin *close loop* yang dikontrol secara kimia. GOx (enzim glukosa oksidase) adalah enzim yang mengkatalisis konversi glukosa menjadi asam glukonat dengan adanya oksigen ditunjukkan pada persamaan reaksi berikut:



Sebelumnya sistem glukosa responsif menggunakan GOx (enzim glukosa oksidase) dapat menangkap atau melumpuhkan enzim dalam biomaterial, menyebabkan penurunan pH lokal dengan peningkatan konsentrasi glukosa. Akibatnya, bahan dapat dirancang untuk beradaptasi dengan perubahan pH yang secara perlahan mengubah sifat material dari sistem dan memungkinkan untuk mengeluarkan insulin dalam merespon peningkatan konsentrasi glukosa darah (Gu *et al.*, 2013).

Pankreas buatan yang menggunakan sistem penghantaran insulin *close loop* yang berkelanjutan dan memiliki kemampuan yang baik dalam merespon pelepasan insulin untuk mengubah kadar glukosa darah dan memperbaiki kualitas

hidup pasien diabetes. Salah satu strategi yang digunakan untuk mencapai sistem *close loop* adalah mengintegrasikan monitoring glukosa dan sensor pencetus pelepasan insulin dalam satu sistem. Sistem penghantar insulin semi otomatis dapat mengintegrasikan sensor monitoring glukosa yang berkelanjutan dengan pompa infus insulin eksternal. Namun demikian, penggunaan sistem ini yang dikombinasi *glucose-sensing* yang berkelanjutan dan pengeluaran yang disesuaikan dengan melawan regulasinya sendiri. Selain itu, terdapat platform yang dikontrol untuk penghantaran *close loop* yang tereksplorasi secara kimia, terdiri dari hidrogel polimer yang dapat mengembang atau menyusut sesuai kecepatan pelepasan insulin berdasarkan kadar glukosa. Salah satu pendekatannya yaitu enzim glukosa oksidase spesifik (GOx) yang mengkatalisis glukosa menjadi asam glukonik. Seperti sistem tersebut, GOx yang masuk dalam matrik pH sensitif dan dapat meningkatkan kadar glukosa yang menyebabkan penurunan pH pada lingkungan yang kecil. Akibatnya, perubahan volume pada pH sensitif matrik dan meningkatkan kecepatan pengeluaran insulin. Namun, sistem basis gel yang lambat dalam merespon perubahan kecepatan konsentrasi glukosa dapat menunda pengeluaran insulin.



Gambar 2.6 Skema dari mikrogel yang dienkapsulasi insulin dan enzim nanokapsul. Enzim glukosa spesifik dienkapsulasi yang mengkatalisis glukosa menjadi asam glukonat. Protonasi rantai polimer dengan gugus kaya amina dapat meningkatkan isi pada matrik gel, sehingga pengembangan pada mikrogel dan pengeluaran insulin (Gu et al., 2013).

Seperti ditunjukkan gambar 2.5, masing-masing mikrogel terdiri dari tiga komponen: (1) matrik polimerik *cross-linked* responsif pH; (2) Enzim nanokapsul yang mengandung enzim Glukosa Oksidase (GOx) dan katalase (CAT); dan (3) insulin rekombinan manusia. Enzim glukosa oksidase (GOx) dapat merubah pH dalam merespon glukosa; penambahan katalase (CAT) digunakan untuk menghasilkan oksigen (O_2) kembali yang dapat digunakan dalam mengkatalisis glukosa (GOx) dengan menggunakan hidrogen peroksida (H_2O_2) yang bersifat toksik bagi tubuh. Kedua enzim kovalen dimasukkan dalam kapsul berbasis nanogel agar dapat meningkatkan stabilitas enzimatik, menghindari terjadinya denaturasi, perlindungan imunogenisitas, dan meminimalkan difusi dari enzim polimer matrik. Pengembangan yang berkelanjutan menyebabkan ekspansi dan disosiasi jaringan polimer yang memicu pelepasan insulin. Selain itu, lingkungan yang asam meningkatkan kelarutan insulin, meningkatkan kecepatan pelepasan insulin. Sistem ini yang paling terpenting adalah reversible dan kondisi dibawah normoglikemik, penyusutan mikrogel dan penghentian pelepasan insulin (Gu *et al.*, 2013).

Pengembangan mikrogel yang mengandung enzim nanokapsul digunakan untuk penghantaran insulin responsif glukosa. Konversi enzimatik dari glukosa menjadi asam glukonat di polimer matrik *cross-linked* non kovalen yang mengurangi pH lingkungan yang kecil, menghasilkan pengembangan dan peruraian mikrogel, peningkatan kecepatan pelepasan insulin. Studi *in vivo* menunjukkan bahwa penggabungan enzim dalam mikrogel akan memfasilitasi pelepasan insulin dan mengontrol kadar glukosa darah. Dengan keadaan aksesibilitas yang sama, stabilitas enzim meningkat dan kemampuan merespon secara terkontrol, pendekatan ini memiliki potensi untuk menghasilkan sistem

penghantaran insulin responsif-glukosa (Gu *et al.*, 2013). Pembuatan mikrogel dengan enzim nanokapsul menggunakan metode *electrospraying*. Mikrogel dengan basis chitosan disiapkan dengan menggunakan *electrospraying* yang bertegangan tinggi untuk mendapatkan partikel monodispersi (Gu *et al.*, 2013). Dan perlu diketahui ada beberapa macam sistem nanoparticulate non-lipid yang tersedia sebagai pembawa yang ideal untuk enkapsulasi obat dan pelepasan terkontrol seperti hidrogel, dendrimer, chitosan berbasis nanopartikel sakarida, protein berbasis gelatin atau nanopartikel albumin dan laktida yang berbasis polimer nanopartikel biodegradable yang sangat umum (Sridhar & Ramakrishna, 2013).

2.9 Bahan-bahan

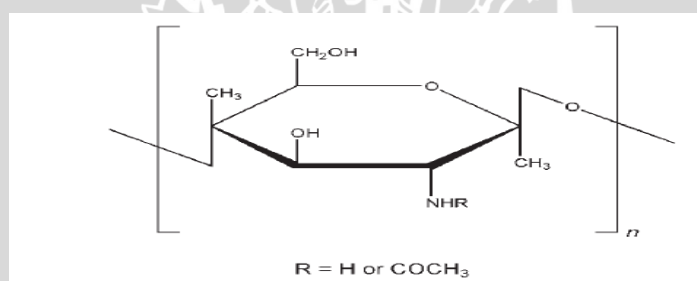
Bahan-bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

- a. Glukosa Oksidase (GOx) merupakan enzim glukosa spesifik yang mengkatalisis glukosa menjadi asam glukonat (Gu *et al.*, 2013). Glukosa Oksidase yang dibuat dari *Aspergillus niger* adalah dimer terdiri dari dua subunit yang sama dengan massa molekul masing-masing 80 kDa. Setiap subunit mengandung satu bagian flavin adenin dinucleotide dan satu besi. Enzim ini juga berisi tiga residu sistein dan delapan tempat yang potensial untuk N-linked glikosilasi. Glukosa oksidase mampu mengoksidasi D-aldoheksosa, monodeoxy-D-glukosa, dan metil-D-glukosa pada tingkat yang berbeda-beda. PH optimum untuk glukosa oksidase yaitu 5,5, sementara itu memiliki berbagai aktivitas pH 4 sampai 7. Glukosa oksidase tidak memerlukan aktivator, tetapi dihambat oleh Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} , asetat phenylmercuric, dan p-

chloromercuribenzoate. Hal ini tidak dihambat oleh SH reagen non-logam: N-ethylmaleimide, iodoacetate, dan Iodoacetamide (Sigmaaldrich, 2015).

- b. Katalase (CAT) berasal dari bovine liver adalah tetramer. Terdiri dari empat subunit yang sama dengan berat molekul masing-masing 60 kDa. Masing-masing subunit ini mengandung zat besi yang terikat dengan kelompok IX protoheme. Enzim ini juga akan mengikat kuat ke NADP, di mana NADP dan kelompok heme berada dalam 13,7 angstrom (Sigmaaldrich, 2015).
- c. *Chitosan* adalah tidak berbau, putih atau serpihan krem-putih bubuk emas. Pembentukan fiber selama pengendapan dan *chitosan* terlihat *cottonlike*. *Chitosan* berfungsi sebagai agen pelapis; disintegrant; agen *film-forming*; mukoadesive; pengikat tablet; agen meningkatkan viskositas. *Chitosan* secara luas digunakan untuk eksipien dalam formulasi farmasi oral dan lainnya. Hal ini juga digunakan dalam kosmetik. *Chitosan* biokompatibel dengan kulit sehat dan terinfeksi. *Chitosan* telah terbukti *biodegradable*. *Chitosan* tidak sesuai dengan agen oksidator kuat (Rowe *et al.*, 2009). *Chitosan* merupakan basis dari mikrogel yang penggunaannya baik dalam pengobatan, biokompatibilitas, dan mudah mengalami protonasi (pK: 6,2-6,8). Molekul *chitosan* merupakan kopolimer dari N-asetil-D-glukosamin dan D-glukosamin dan diperoleh dengan deasetilasi alkaline dari *chitin*. *Chitin* adalah polisakarida yang berlimpah kedua di alam setelah selulosa. *Chitosan* memiliki struktur kristal kaku dan ikatan molekul dalam hidrogen (Arya *et al.*, 2008). Produksi *chitosan* dari sumber yang tidak mahal dan mudah diperoleh. Biasanya digunakan untuk hantaran oral insulin. *Chitosan* dimetabolisme oleh enzim tertentu, khususnya lisosim dan yang dianggap *biodegradable*. *Chitosan* juga memiliki sifat biokompatibel, *non-imunogenic*, *non-carsinogen*,

non toxic dan polimer mukoadesif, yang dapat membuat aplikasi biomedikal yang sesuai, seperti pengaturan luka, jaringan mesin dan penghantaran obat. *Chitosan* juga menunjukkan peningkatan permeasi dan peningkatan penyerapan rute paraseluler, yang penting untuk transpor dari komponen hidrofilik seperti peptide terapeutik dan antisense oligonukleotida yang melewati membran. *Chitosan* umumnya sebagian besar penting untuk material bioadhesive. *Chitosan* yang bersifat mukoadesif ditunjukkan dengan kemampuannya dalam mengikuti mukosa porsin lambung *in vitro*, sehingga dapat berguna untuk menghantarkan obat pada tempat yang spesifik (Suresh *et al.*, 2011)



Gambar 2.7 Struktur Kimia *Chitosan* (Rowe et al., 2009)

- d. Sodium tripolyphosphate (TPP) adalah alkali fosfat yang memberikan aktivitas detergensi besar dalam kombinasi dengan sifat penyerapan, dispersi & kemampuan *buffering*. Digunakan dalam pembersih industri, pelunakan air, deterjen, emulsifier minyak dan lemak, agen peptisasi, agen *deflocculating in oil well*, penyerap pada kapas mendidih (Ebay, 2015). Sodium tripolyphosphate (TPP) digunakan untuk membentuk tautan silang pada matrik chitosan melalui interaksi elektrostatis (Gu *et al.*, 2013)
- e. N,N-methylenebisacrylamide merupakan agen *cross linking* yang berpolimerasi dengan akrilamida dan membentuk tautan silang dengan gel poliakrilamida. Hal

tersebut dapat membentuk jaringan yang membantu dalam pembuatan gel.

N,N-methylenebisacrylamide digunakan untuk pembuatan gel (Sigmaaldrich, 2015).

- f. Acrylamide (AAM) memiliki bentuk kimia yaitu kristal putih. Merupakan suatu larutan kristal padat tidak berwarna. Kurang padat dibandingkan air. Uap lebih berat dari udara. Toksik oksida dari produksi nitrogen selama proses pembakaran. Digunakan untuk pengolahan limbah, dibuat untuk pewarnaan dan perekat. Kegunaannya sebagai bahan kimia penengah pada produksi poliakrilamid, untuk elektroforesis protein, sintesis dari pewarnaan dan kopolimer untuk lensa mata. Mudah larut dalam air dan pelarut yang tidak larut dalam air.

