

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Diabetes Mellitus

##### 2.1.1 Definisi Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) berasal dari bahasa Yunani “*diab*” yang berarti mengalir (menggambarkan kencing yang berlebihan) dan bahasa Latin “*mellitus*” yang berarti manis seperti madu (menggambarkan adanya gula dalam urin) (Patel et al., 2012). DM merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya. Hiperglikemia yang kronis pada DM berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi, dan kegagalan dalam berbagai organ, khususnya mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (ADA, 2011). Peningkatan rasa haus, peningkatan produksi urin, ketonemia, dan ketonuria adalah gejala yang umum pada DM, yang terjadi karena adanya gangguan pada metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein (Patel et al., 2012).

##### 2.1.2 Epidemiologi Diabetes Mellitus

Menurut *International Diabetes Federation* (IDF), pada tahun 2015 jumlah penduduk dunia usia 20-79 tahun yang menderita DM diperkirakan sudah mencapai 415 juta jiwa dan pada tahun 2040 diperkirakan jumlah penderita DM akan meningkat mencapai jumlah 642 juta jiwa (IDF, 2015).

Di Indonesia sendiri, prevalensi DM pada penduduk umur  $\geq 15$  tahun berdasarkan anamnesis yang terdiagnosis oleh dokter sebesar 1,5% dan DM yang terdiagnosis berdasarkan gejala sebesar 2,1%. Angka prevalensi DM tersebut meningkat apabila dibandingkan dengan prevalensi DM berdasarkan Riskesdas

tahun 2007 yang hanya sebesar 1.1%. Di Jawa Timur, prevalensi DM tahun 2013 berdasarkan anamnesis yang terdiagnosis oleh dokter sebesar 2,1% dan berdasarkan gejala sebesar 2,5% (Risikesdas, 2013).

Prevalensi DM berdasarkan diagnosis dokter dan gejala meningkat sesuai dengan bertambahnya umur, namun mulai umur  $\geq 65$  tahun cenderung menurun. Prevalensi DM cenderung lebih tinggi pada masyarakat dengan tingkat pendidikan tinggi, cenderung lebih tinggi pada perempuan daripada laki-laki, dan cenderung lebih tinggi di perkotaan daripada pedesaan (Risikesdas, 2013).

### **2.1.3 Klasifikasi Diabetes Mellitus**

#### **2.1.3.1 Diabetes Mellitus Tipe 1**

DM tipe 1 terjadi pada 5-10% pasien dengan DM dan terjadi karena destruksi autoimun sel-sel beta pankreas melalui respons inflamasi yang dimediasi oleh sel T (insulitis) dan juga sel B. Adanya autoantibodi terhadap sel-sel pulau Langerhans merupakan karakteristik DM tipe 1, meskipun peran dari antibodi dalam patogenesisnya masih belum diketahui secara jelas. Autoantibodi yang terdapat pada DM tipe 1 ini meliputi autoantibodi sel-sel pulau Langerhans, dan autoantibodi terhadap insulin (IAA), *glutamic acid decarboxylase* (GAD, GAD65), *protein tyrosine phosphatase* (IA2 dan IA2 $\beta$ ) dan *zinc transporter protein* (ZnT8A). Autoantibodi ini dapat dideteksi pada serum pasien beberapa bulan atau beberapa tahun sebelum onset penyakit (Kharroubi dan Darwish, 2015).

#### **2.1.3.2 Diabetes Mellitus Tipe 2**

DM tipe 2 terjadi pada 90-95% pasien dengan DM dan lebih sering terjadi pada dewasa dan lanjut usia, terjadi karena resistensi insulin atau sekresi insulin yang abnormal (Patel *et al.*, 2012). Mayoritas pasien DM tipe 2 ini menderita obesitas, dan obesitas itu sendiri yang menyebabkan terjadinya resistensi insulin

(ADA, 2011). Resistensi insulin merupakan suatu kondisi yang berhubungan dengan kegagalan organ target yang secara normal merespon aktivitas hormon insulin (Sulistiyoningrum, 2010). Resistensi insulin pada DM tipe 2 meningkatkan kebutuhan insulin pada jaringan target insulin. Peningkatan kebutuhan insulin tidak dapat dipenuhi oleh sel sel-sel beta pankreas karena terjadi defek pada fungsi sel tersebut (Kharroubi dan Darwish, 2015).

### 2.1.3.3 Diabetes Mellitus Tipe Lain

Tipe lain DM yaitu Diabetes Gestational yang berhubungan dengan kehamilan. Diabetes Mellitus Neonatal juga termasuk tipe DM yang membutuhkan insulin untuk memelihara kadar glukosa normal pada tiga bulan pertama setelah lahir. Diabetes Mitokondrial terjadi karena mutasi pada DNA mitokondria dan umumnya berhubungan dengan tuli sensorineural dan dikarakteristikan dengan kegagalan sel beta non-autoimun yang progresif (Patel *et al.*, 2012; Kharroubi dan Darwish, 2015).

Berikut merupakan klasifikasi etiologis DM menurut Perkeni tahun 2015.

**Tabel 2.1 Klasifikasi Etiologis DM (PERKENI, 2015)**

|                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| DM tipe 1                     | Destruksi sel beta, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut <ul style="list-style-type: none"> <li>• Autoimun</li> <li>• Idiopatik</li> </ul>                                                                                                                                                                                             |
| DM tipe 2                     | Bervariasi, mulai yang dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang dominan defek sekresi insulin disertai resistensi insulin                                                                                                                                                                                      |
| DM tipe lain                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Defek genetik fungsi sel beta</li> <li>• Defek genetik kerja insulin</li> <li>• Penyakit eksokrin pankreas</li> <li>• Endokrinopati</li> <li>• Karena obat atau zat kimia</li> <li>• Infeksi</li> <li>• Sebab imunologi yang jarang</li> <li>• Sindrom genetik lain yang berkaitan dengan DM</li> </ul> |
| Diabetes Mellitus gestasional | -                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

#### 2.1.4 Faktor Risiko Diabetes Mellitus

Faktor risiko DM bisa dikelompokkan menjadi faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi dan yang dapat dimodifikasi. Faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi adalah ras dan etnik, umur, jenis kelamin, riwayat keluarga dengan DM, riwayat melahirkan bayi dengan berat badan lebih dari 4000 gram, dan riwayat lahir dengan berat badan lahir rendah (kurang dari 2500 gram). Sedangkan faktor risiko yang dapat dimodifikasi erat kaitannya dengan perilaku hidup yang kurang sehat, yaitu berat badan lebih, obesitas abdominal/sentral, kurangnya aktivitas fisik, hipertensi, dislipidemia, diet tidak sehat atau tidak seimbang, riwayat Toleransi Glukosa Terganggu (TGT) atau Glukosa Darah Puasa Terganggu (GDPT), dan merokok (Kemenkes RI, 2014).

#### 2.1.5 Patofisiologi Diabetes Mellitus Tipe 2

DM tipe 2 ditandai dengan kelainan fisiologis pada sekresi insulin yang berhubungan dengan resistensi insulin, dan berakhir dengan kerusakan sel beta. Resistensi insulin terjadi karena adanya defek pada *insulin signalling pathway* pada jaringan target. Resistensi insulin ini berhubungan dengan gen dan risikonya semakin besar pada orang dengan obesitas. Obesitas berhubungan dengan akumulasi lipid ke dalam sel adiposit dan menyebabkan ekspansi jaringan adiposa. Adiposit yang mengalami hipertrofi akan memproduksi sitokin-sitokin seperti TNF- $\alpha$ , interleukin-6 (IL-6), resistin, *monocyte chemoattractant protein-1* (MCP-1), dan *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1). Sitokin-sitokin ini merupakan stimulus pro inflamasi yang kemudian akan mengaktifkan jalur *Nuclear Factor  $\kappa$ B* (NF- $\kappa$ B) dan jalur *c-Jun N-terminal protein kinase* (JNK) dan menyebabkan defek pada *insulin-signalling pathway*. Pelepasan asam lemak bebas pada jaringan adiposa juga menyebabkan akumulasi metabolit lipid seperti *acyl-CoA* dan

diasilgliserol intrasel pada otot skelet dan hepar. Akumulasi metabolit lipid ini kemudian akan menstimulasi Protein Kinase C (PKC) dan menyebabkan fosforilasi *Insulin Receptor Substrate* (IRS) pada gugus serin. Fosforilasi pada gugus serin ini akan menyebabkan penurunan *insulin-signalling pathway*. Hal ini mengakibatkan stimulasi transportasi glukosa menurun sehingga glukosa tetap berada di ekstrasel. Resistensi insulin dikarakterisasikan dengan adanya produksi glukosa yang berlebihan oleh hepar, mengakibatkan terjadinya hiperglikemia. Hal ini disebabkan oleh peningkatan glukoneogenesis hepatic (Virally *et al.*, 2007; Shoelson *et al.*, 2007).

Sel beta pankreas pada awalnya akan melakukan kompensasi untuk merespon keadaan hiperglikemia dengan memproduksi insulin dalam jumlah banyak dan kondisi ini menyebabkan keadaan hiperinsulinemia. Kegagalan sel beta dalam merespon kadar glukosa darah yang tinggi, akan menyebabkan abnormalitas jalur transduksi sinyal insulin pada sel beta dan terjadi resistensi insulin. Resistensi insulin pada sel beta pankreas menyebabkan aktivasi jalur caspase dan peningkatan kadar *ceramide* yang menginduksi apoptosis sel beta. Hal ini akan diikuti dengan menurunnya massa sel beta di pankreas. Penurunan massa sel beta pankreas ini akan menyebabkan sintesis insulin berkurang dan menyebabkan DM tipe 2 (Sulistyoningrum, 2010).

#### **2.1.6 Manifestasi Klinis Diabetes Mellitus**

DM tipe 2 dikarakterisasikan dengan adanya gejala yaitu poliuria, polifagia, polidipsi, dan kehilangan berat badan. Pada DM, dikarenakan adanya absen ataupun resistensi insulin, glukosa tidak mampu masuk ke dalam sel sehingga terjadi *glucose starvation*. Tanda dari DM adalah hiperglikemia yang menyebabkan hiperosmolaritas darah. Pada normalnya konsentrasi plasma glukosa adalah 70-

100 mg/dl. Kemudian, pada saat filtrasi ginjal, glukosa seharusnya diabsorpsi lagi dan tidak diekskresikan melalui sistem urologi. Namun pada DM, glukosa diekskresikan pada urin (Okon, et al, 2012).

### 2.1.7 Kriteria Diagnosis Diabetes Mellitus

Kriteria diagnosis yang diperlukan untuk menegakkan seseorang menderita DM atau tidak dapat dilihat dari keluhan dan gejala yang khas pada pasien yaitu gejala klasik (banyak kencing, banyak minum, banyak makan, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya) disertai kadar glukosa darah sewaktu  $\geq 200$  g/dl (11.1 mmol/l). Kadar glukosa darah sewaktu dapat diukur kapan saja tanpa memperhitungkan waktu makan terakhir. Pada hasil pemeriksaan, individu dikatakan menderita DM apabila hasil pemeriksaan kadar glukosa darah puasa  $\geq 126$  mg/dl (7.0 mmol/l) dengan puasa dilakukan selama 8 jam dan kadar glukosa darah 2 jam  $\geq 200$  g/dl (11.1 mmol/l) menggunakan OGTT (*Oral Glucose Tolerance Test*) berdasarkan WHO digunakan larutan anhidrat 75 gram yang dilarutkan dalam air (ADA, 2014).

*International Expert Committee* akhir-akhir ini menambahkan A1C (Hemoglobin A1C) sebagai opsi untuk mendiagnosis DM. A1C adalah marker yang digunakan secara luas untuk glikemia kronis, dimana hasilnya merefleksikan level glukosa darah rata-rata selama 2-3 bulan periode waktu. Hasil pemeriksaan A1C  $\geq 6.5\%$  diperlukan untuk menegakkan diagnosis DM. Pemeriksaan A1C sebaiknya dilakukan dengan metode yang tersertifikasi oleh *National Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP) (ADA, 2014).

**Tabel 2.2 Kriteria Diagnosis DM (ADA, 2014)**

| Kriteria Diagnosis Diabetes Mellitus                                                                                                                                                          |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| Kadar A1C $\geq 6.5\%$ . Pemeriksaan ini sebaiknya dilakukan dengan metode yang tersertifikasi oleh NGSP                                                                                      | atau |
| Kadar glukosa darah puasa $\geq 126$ mg/dl (7.0 mmol/l) dengan puasa dilakukan selama 8 jam                                                                                                   | atau |
| Kadar glukosa darah 2 jam $\geq 200$ mg/dl (11.1 mmol/l) menggunakan OGTT ( <i>Oral Glucose Tolerance Test</i> ) berdasarkan WHO digunakan larutan anhidrat 75 gram yang dilarutkan dalam air | atau |
| Pasien dengan gejala klasik hiperglikemia atau krisis hiperglikemia disertai kadar glukosa darah sewaktu $\geq 200$ mg/dl (11.1 mmol/l)                                                       |      |

**Keterangan Tabel 2.2:**

NGSP : *National Glycohemoglobin Standardization Program*

OGTT : *Oral Glucose Tolerance Test*

WHO : *World Health Organization*

### 2.1.8 Pengobatan Diabetes Mellitus

Pengobatan DM dianggap sebagai masalah global utama dan pengobatan yang benar-benar sukses masih belum ditemukan. Meskipun terapi insulin dan obat hipoglikemik oral merupakan lini pertama dari pengobatan DM, mereka memiliki beberapa efek samping dan gagal untuk merubah arah komplikasi DM secara signifikan (Patel *et al.*, 2012).

Manajemen pasien dengan DM tipe 2 sebaiknya berisi *behaviour modification strategies* untuk mengubah gaya hidup seperti mengurangi makanan tinggi lemak dan tinggi kalori dan meningkatkan aktivitas fisik. Kontrol berat badan sangat penting untuk mencapai tujuan pengobatan (Reinehr, 2013).

#### 2.1.8.1 Terapi Insulin

Insulin merupakan polipeptida dengan berat molekul sekitar 6000 Da, terdiri dari dua rantai asam amino A dan B yang berikatan dengan ikatan disulfida (-S-S-). Insulin tidak cocok untuk administrasi oral karena akan diinaktivasi oleh enzim pencernaan. Dosis insulin yang dibutuhkan untuk mengontrol DM bervariasi

dari satu pasien dengan pasien yang lain dan dari waktu ke waktu dengan pasien yang sama (Patel *et al.*, 2012).

#### 2.1.8.2 Obat hipoglikemik oral

Terapi oral untuk pengobatan DM saat ini adalah sulfonilurea, biguanid, inhibitor alpha glukosidase, dan glinid, yang dapat digunakan sebagai monoterapi atau kombinasi untuk memberikan efek yang lebih baik. Obat-obatan oral ini memiliki beberapa efek samping yang cukup serius, sehingga manajemen DM tanpa efek samping masih merupakan tantangan hingga saat ini (Patel *et al.*, 2012).

**Tabel 2.3 Profil Golongan Obat Anti Diabetes (PERKENI, 2015)**

| Golongan Obat                                     | Cara Kerja Utama                                                         | Efek Samping Utama                    | Penurunan HbA1C |
|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|-----------------|
| <b>Sulfonilurea</b>                               | Meningkatkan sekresi insulin                                             | Berat badan naik<br>Hipoglikemia      | 1,0-2,0%        |
| <b>Glinid</b>                                     | Meningkatkan sekresi insulin                                             | BB naik<br>Hipoglikemia               | 0,5-1,5%        |
| <b>Metformin</b>                                  | Menekan produksi glukosa hati dan menambah sensitifitas terhadap insulin | Dispepsia<br>Diare<br>Asidosis laktat | 1,0-2,0%        |
| <b>Penghambat <math>\alpha</math>-Glukosidase</b> | Menghambat absorpsi glukosa                                              | Flatulen<br>Tinja lembek              | 0,5-0,8%        |
| <b>Tiazolidindion</b>                             | Menambah sensitifitas terhadap insulin                                   | Edema                                 | 0,5-1,4%        |
| <b>Penghambat DPP-IV</b>                          | Meningkatkan sekresi insulin, menghambat sekresi glukagon                | Sebuh<br>Muntah                       | 0,5-0,8%        |
| <b>Penghambat SGLT-2</b>                          | Menghambat penyerapan kembali glukosa di tubuli distal ginjal            | Dehidrasi<br>Infeksi saluran kemih    | 0,8-1,0%        |
| <b>Insulin</b>                                    | Menekan produksi glukosa hati, menstimulasi pemanfaatan glukosa          | Hipoglikemia<br>Berat badan naik      | 1,5-3,5%        |

**Keterangan Tabel 2.3:**

HbA1C : Hemoglobin glikosilat  
 DPP-IV : *Dipeptidyl peptidase IV*  
 SGLT-2 : *Sodium-glucose Cotransporter-2*

### 2.1.9 Komplikasi Diabetes Mellitus

Komplikasi dari DM yang kronis dapat berupa penyakit makrovaskular seperti perkembangan penyakit kardiovaskular yang berujung pada stroke dan infark miokard, serta penyakit mikrovaskular seperti retinopati, nefropati, dan neuropati yang berujung pada penyakit ginjal tahap akhir, penurunan tajam penglihatan, dan amputasi ekstremitas. Komplikasi-komplikasi ini ikut berkontribusi pada peningkatan morbiditas dan mortalitas pada individu dengan DM (Reinehr, 2013). DM dan kondisi hiperglikemia juga dapat menyebabkan terjadinya disfungsi endotel, peningkatan inflamasi dan peroksidasi lipid. Semua ini dapat meningkatkan pembentukan sel-sel busa makrofag menyebabkan kaku pembuluh darah dan berkembang menjadi aterosklerosis (Kaplan *et al.*, 2012).

Disfungsi dan kerusakan sel endotel merupakan *initial trigger* dari perkembangan aterosklerosis dan peningkatan progresivitas penyakit kardiovaskular. Rusaknya sel endotel dapat menyebabkan lepasnya sel tersebut dari dinding pembuluh darah sehingga terjadi denudasi vaskular dan memicu terjadinya proses aterosklerosis (Lampka *et al.*, 2010; Avogaro *et al.*, 2011)

### 2.1.10 Radikal Bebas pada Diabetes Mellitus

Pada sel eukariotik, *Reactive Oxygen Species* (ROS) diproduksi sebagai konsekuensi dari metabolisme fisiologis aerob yang normal. Normalnya, metabolisme oksigen selalu memproduksi radikal bebas seperti superoksida  $O_2^-$ , hidroksil  $OH^-$ , alkoksil  $RO^-$ , peroksil  $RO_2^-$ , peroksinitrit  $ONOO^-$ , hidrogen peroksida  $H_2O_2$ , asam hipoklorus  $HOCl$ , dan asam hipobromus  $HOBr$ . Radikal-radikal bebas ini merupakan faktor penting terjadinya stres oksidatif yang dimediasi oleh kerusakan seluler. Pada keadaan fisiologis, netralisasi produksi ROS dilakukan oleh mekanisme pertahanan antioksidan seluler. Ketidakseimbangan dari produksi

ROS dan sistem pertahanan antioksidan menyebabkan terjadinya stres oksidatif dan memicu gangguan dan kerusakan fungsi seluler (Tangvarasittichai, 2015).

Stres oksidatif memiliki peran sangat penting dalam perkembangan komplikasi dari DM, baik mikrovaskular maupun makrovaskular. Abnormalitas metabolik yang terjadi pada DM menyebabkan peningkatan produksi superoksida mitokondria di sel endotel pada pembuluh darah kecil maupun besar. Kondisi hiperglikemia dapat menginduksi terjadinya stres oksidatif melalui beberapa mekanisme yaitu autooksidasi glukosa, jalur poliol, pembentukan AGEs, aktivasi PKC, dan peningkatan jalur heksosamin (Giacco dan Brownlee, 2010; Tangvarasittichai, 2015).

1. Autooksidasi glukosa

Keadaan hiperglikemia akan meningkatkan metabolisme glukosa dan menyebabkan produksi yang berlebihan dari *nicotinamide adenine dinucleotide* (NADH) dan *flavine adenine dinucleotide* (FADH<sub>2</sub>), yang digunakan untuk rantai transpor elektron mitokondria untuk menghasilkan adenosina trifosfat (ATP). Overproduksi NADH ini akan menyebabkan tingginya produksi gradien proton di mitokondria dan elektron akan ditransfer menuju oksigen, menghasilkan superoksida (Tangvarasittichai, 2015).

2. Jalur poliol

Jalur poliol (sorbitol) berperan dalam mengubah glukosa menjadi fruktosa dan aktivitasnya meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi glukosa di jaringan-jaringan yang tidak peka-insulin (Bender dan Mayes, 2006). Jalur ini dapat merusak fungsi endotel, karena sorbitol yang dihasilkan tidak dapat didifusi menuju sel

membran dengan mudah dan akan terakumulasi menyebabkan kerusakan osmotis (Mohora *et al.*, 2007).

ROS dihasilkan oleh dua enzim dalam jalur poliol: (1) Aldosa reduktase dalam reaksi yang menggunakan *nikotinamida adenin dinukleotida fosfat* (NADPH) untuk mengubah glukosa menjadi sorbitol. Pada DM, terjadi overproduksi sorbitol karena 30-35% glukosa pada individu DM dimetabolisme melalui jalur poliol. Pada kondisi overproduksi sorbitol, avabilitas NADPH berkurang menyebabkan penurunan aktivitas NOS sintase dan penurunan regenerasi glutathione sebagai antioksidan sehingga terjadi peningkatan stres oksidatif, dan (2) Sorbitol dehidrogenase mengoksidasi sorbitol menjadi fruktosa beriringan dengan overproduksi NADH. Peningkatan NADH ini menyebabkan peningkatan produksi superoksida (Tangvarasittichai, 2015).

### 3. Peningkatan pembentukan AGEs

*Advanced glycation end products* (AGEs) dibentuk dari reaksi non-enzimatis antara glukosa dengan gugus-gugus amino protein. Glikasi terjadi lebih cepat pada keadaan hiperglikemia, sehingga pada DM jumlah AGEs ditemukan meningkat pada matriks ekstraseluler. AGEs banyak ditemukan pada berbagai jaringan, seperti hati, ginjal, dan eritrosit adalah jaringan yang paling mudah mengalami pembentukan AGEs daripada jaringan yang lain pada DM. AGEs yang terbentuk akan berikatan dengan *receptor for advanced glycation end products* (RAGE) pada permukaan sel endotel, sel mesangial, dan makrofag, menghasilkan pembentukan ROS intrasel dan aktivasi

ekspresi gen. Sel endotel yang terpapar AGEs akan mengaktifasi NF- $\kappa$ B, meningkatkan produksi molekul adesi, dan akan mengurangi kemampuan glutathion (GSH). ROS intrasel akan mentranslokasikan NF- $\kappa$ B kedalam nukleus dan akan menginduksi ekspresi gen dan juga menyebabkan peningkatan stres oksidatif. RAGE juga akan meningkatkan permeabilitas vaskular melalui induksi dari *vascular endothelial growth factor* (VEGF) (Mohora *et al.*, 2007; Giacco dan Brownlee, 2010).

#### 4. Aktivasi *Protein Kinase C* (PKC)

Hiperglikemia dapat mengaktifasi PKC secara langsung melalui beberapa mekanisme seperti sintesis diasilgliserol (DAG) secara *de novo*, aktivasi fosfolipase C, dan penghambatan DAG kinase. PKC juga dapat diaktifasi secara tidak langsung melalui ligasi dari reseptor AGEs atau peningkatan aktivitas jalur poliol. PKC kemudian akan mengaktifasi NADPH oksidase melalui beberapa mekanisme dan meningkatkan produksi ROS. Pada penelitian sebelumnya, aktivitas yang berlebihan dari PKC diketahui dapat menurunkan produksi NO di sel otot polos, menghambat ekspresi dari *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) pada kultur sel endotel, dan mengaktifasi NF- $\kappa$ B pada kultur sel endotel dan sel otot polos vaskular (Mohora *et al.*, 2007; Giacco dan Brownlee, 2010)

#### 5. Peningkatan jalur heksosamin

Kadar glukosa darah yang tinggi akan meningkatkan jalur heksosamin (*hexosamine pathway*) yang diperantarai oleh enzim *glutamine: fructose-6-phosphate aminotransferase* (GFAT). GFAT

mengubah fruktosa-6-fosfat menjadi glukosamin-6-fosfat, dimana substrat ini akan menghambat aktivitas dari glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD) yang merupakan enzim yang digunakan pada jalur pentosa fosfat. Pada aktivitas enzim G6PD ini akan terjadi reduksi  $\text{NADP}^+$  menjadi NADPH, sehingga dengan teraktivasinya jalur heksosamin maka rasio  $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$  akan berkurang. Penurunan rasio  $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$  ini akan meningkatkan stres oksidatif dengan dua mekanisme. Mekanisme pertama dengan menurunkan regenerasi glutathione (GSH) dari glutathione teroksidasi *glutathione disulfide* (GSSG) sebagai antioksidan non-enzimatik sel. Mekanisme kedua adalah dengan menurunkan aktivitas dari katalase yang berfungsi sebagai antioksidan enzimatik (Mohora *et al.*, 2007; Hariawan dan Suastika, 2008; Giacco dan Brownlee, 2010).

## 2.2 Streptozotocin

Streptozotocin (STZ, 2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose) merupakan antibiotik yang disintesa oleh *Streptomyces achromogenes*. STZ bersifat toksik terhadap sel-sel beta pankreas dan digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 dan tipe 2 (Szkudelski, 2001; Deeds *et al.*, 2011).

STZ dapat menembus sel beta pankreas melalui membran transporter glukosa GLUT2. Aksi intraseluler dari STZ menyebabkan alkilasi *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan pada akhirnya akan menyebabkan kematian sel-sel beta pankreas. STZ menghasilkan *nitric oxide* (NO) saat dimetabolisme dalam sel dan NO diketahui dapat menyebabkan kerusakan sel-sel pulau Langerhans karena meningkatkan aktivitas guanilil siklase dan peningkatan pembentukan *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP). Aksi STZ dalam mitokondria dan peningkatan

aktivitas xantin oksidase diketahui dapat menghasilkan ROS. ROS ternyata memiliki peran dalam perkembangan resistensi insulin, disfungsi sel beta, gangguan toleransi glukosa, dan DM tipe 2. STZ juga dapat menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen oleh mitokondria. Hal tersebut membatasi produksi ATP mitokondria dan mengakibatkan deplesi nukleotida pada sel-sel beta. Karena STZ memasuki sel melalui GLUT2, efek toksiknya tidak spesifik pada sel-sel beta saja tetapi juga dapat merusak jaringan lain seperti hepar dan ginjal (Szkudelski, 2001; Rahman, 2007; Deeds et al., 2011).

Pemberian dosis rendah STZ secara multipel secara umum digunakan dalam percobaan untuk menirukan insulinitis autoimun dan cenderung menimbulkan DM tipe 1 yang ringan. Dosis sedang STZ dengan sekali pemberian digunakan untuk menginduksi hiperglikemia dengan progres yang lambat, mengindikasikan terjadinya DM tipe 2 karena peningkatan resistensi insulin. Dosis tinggi STZ dalam sekali pemberian dapat menyebabkan DM tipe 1 yang parah karena adanya destruksi total sel-sel beta. STZ umumnya diberikan melalui intraperitoneal (IP) ataupun intravena (IV) (Deeds et al., 2011).

## **2.3 Sel Endotel**

### **2.3.1 Struktur Sel Endotel**

Satu lapisan sel endotel pembuluh darah mengelilingi seluruh sistem pembuluh darah, dari jantung hingga kapiler terkecil. Struktur dan integritas fungsional sel endotel sangat penting dalam mempertahankan fungsi sirkulasi dan dinding pembuluh darah. Endotelium bersifat semipermeabel dan mengatur transpor molekul-molekul kecil dan besar. Sel endotel memiliki sifat yang dinamis dan memiliki fungsi metabolik serta sintetik (Galley dan Webster, 2004).

Menurut Arjita, sel endotel normal memiliki karakteristik bentuk sel pada bagian tengah tampak jelas dan bulat. Bentuk selnya pipih, jarak antar sel teratur dan permukaan sel mulus ditandai dengan kejelasan inti sel, membran plasma, sitoplasma, dan matriks ekstraseluler (Rastini *et al.*, 2010). Sitoplasma dari sel endotel kurang begitu jelas pada pewarnaan Hematoksilin Eosin (HE) menggunakan mikroskop cahaya. Secara khas, hanya inti selnya yang tampak pada perbatasan antara lumen dengan dinding pembuluh darah. Pada hubungan antar sel endotel terdapat bagian yang *overlapping* yang membantu perlekatan dengan pembuluh darah (Wirawan, 2010).

### 2.3.2 Fungsi dan Peran Sel Endotel

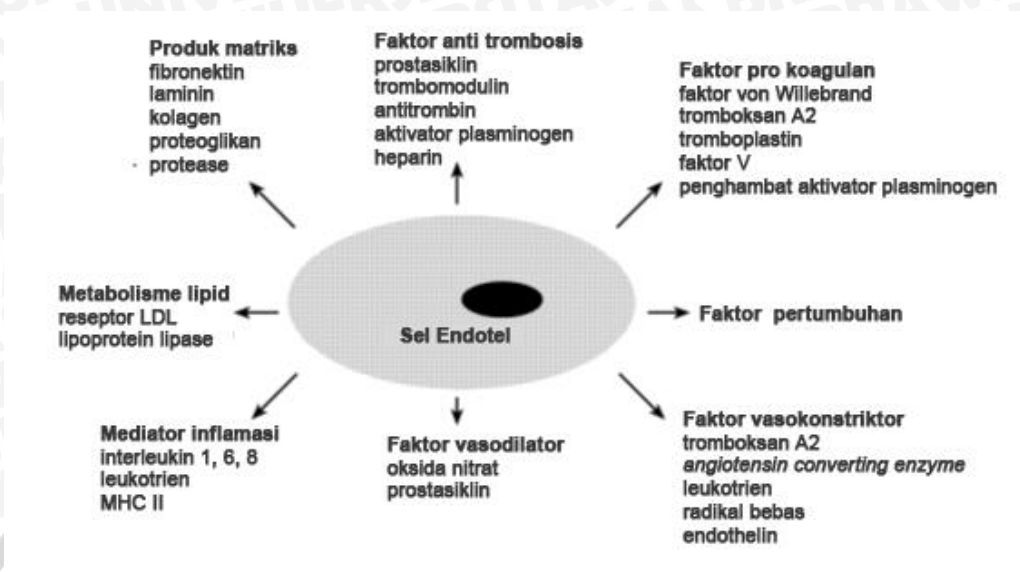
Endotelium merupakan *barrier* yang penting untuk jalannya molekul dan sel dari darah ke jaringan intersisial. Sel endotel memiliki peran penting dalam meregulasi tonus pembuluh darah, melalui produksi beberapa vasodilator seperti NO, prostasiklin, dan bradikinin serta produksi vasokonstriktor seperti endothelin, ROS, prostaglandin, tromboksan A<sub>2</sub>, dan angiotensin II. Sel endotel juga berperan sebagai pemain kunci dalam pertahanan host dan inflamasi. Sel endotel memproduksi dan bereaksi terhadap berbagai sitokin (kemokin, interleukin, *growth factors*, dan interferon) dan mediator-mediator lainnya. Mediator-mediator ini merupakan protein dengan berat molekul rendah yang mengatur jarak dan lama waktu respon imun dan inflamasi (Galley dan Webster, 2004; Xu dan Zou, 2009).

Endotelium memainkan peran yang penting dalam menyediakan keseimbangan hemostasis yang tepat. Fungsi endotel lebih jauh adalah mencegah terjadinya trombosis dan menyediakan lapisan dalam dinding pembuluh darah yang non-trombogenik untuk mempertahankan darah dalam kondisi cair, mengontrol sistem pembekuan darah dengan meregulasi ekspresi dari reseptor

faktor antikoagulan dan prokoagulan di permukaan sel. Sel endotel meregulasi pergerakan leukosit dari dalam pembuluh darah ke jaringan melalui proses yang melibatkan molekul-molekul adhesi untuk memediasi perlekatan leukosit pada endotelium dengan cara berikatan pada ligan yang spesifik pada leukosit. Molekul-molekul adhesi yang diekspresikan oleh sel endotel antara lain adalah *E-selectin*, *P-selectin*, *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1) dan *vascular cell adhesion molecule* (VCAM) (Galley dan Webster, 2004; Kumar *et al.*, 2005; Rajendran *et al.*, 2013).

Endotelium juga memiliki peran dalam proliferasi sel dan pembentukan pembuluh darah baru. VEGF merupakan contoh dari *growth factor* spesifik yang diproduksi oleh berbagai macam sel, termasuk sel endotel, dengan reseptor spesifik pada endotelium. VEGF merupakan mediator dalam pembentukan pembuluh darah baru atau angiogenesis dari endotelium (Galley dan Webster, 2004; Rajendran *et al.*, 2013).

Endotelium memainkan peran kunci dalam homeostasis vaskular, oleh karena itu, kerusakan sel yang terjadi pada lapisan endotel akan mengganggu keseimbangan antara vasokonstriksi dan vasodilatasi, menyebabkan terjadinya proses yang mendukung terjadinya aterosklerosis, seperti peningkatan permeabilitas endotel, agregasi platelet, adhesi leukosit, dan produksi sitokin (Xu dan Zou, 2009).



**Gambar 2.1** Sel-sel endotel memiliki berbagai fungsi baik secara metabolik maupun sintetik (diterjemahkan dan diadaptasi dari Galley dan Webster, 2004)

### 2.3.3 Disfungsi Sel Endotel

Disfungsi endotel merupakan ketidakseimbangan kemampuan endotelium dalam menjaga homeostasis vaskular dengan tepat. Kondisi disfungsi endotel juga dapat didefinisikan sebagai ketidakseimbangan antara zat vasodilator dan vasokonstriktor yang diproduksi oleh sel endotel. Disfungsi endotel terutama disebabkan karena adanya penurunan bioavailabilitas dari NO. Karakteristik lain dari disfungsi endotel adalah adanya gangguan pada fungsi endotelium sebagai *barrier* pada dinding vaskular, terganggunya regulasi dari inflamasi, peningkatan produksi dari vasokonstriktor, peningkatan agregasi platelet, peningkatan ekspresi dari molekul adhesi, peningkatan ekspresi dari kemokin dan sitokin, dan peningkatan produksi ROS dari endotelium (Tabit *et al.*, 2010; Kolluru *et al.*, 2012).

Disfungsi endotel berkontribusi pada patogenesis dari *atherosclerotic vascular disease* dengan menyebabkan inflamasi, trombosis, kekakuan arteri, dan gangguan regulasi tonus dan aliran arteri. Saat endotel mengalami disfungsi, tidak ada yang menyeimbangkan efek dari vasokonstriktor dan tonus arteri pun

meningkat. Kondisi patologis ini juga berhubungan dengan peningkatan produksi dari endothelin-1 dan vasokonstriktor lainnya yang menyebabkan vasospasme dan peningkatan kekakuan arteri (Tabit *et al.*, 2010).

Bahan reaktif dari radikal bebas mampu memicu terbentuknya reaksi berantai yang dapat menyebar ke seluruh sel tubuh, termasuk sel endotel, dan mengakibatkan timbulnya kerusakan komponen protein, lipid, karbohidrat, serta asam basa amino nukleotida yang berada dalam sel endotel maupun matriks ekstraseluler (Halliwell dan Gutteridge, 2007). Rusaknya sel endotel dapat menginduksi terjadinya apoptosis. Apoptosis merupakan proses kematian sel yang terprogram oleh sel itu sendiri. Apoptosis dapat terjadi sebagai respon dari berbagai macam keadaan dan stimulus. Pada keadaan normal, apoptosis merupakan mekanisme proteksi untuk mengeliminasi sel-sel yang sudah tua atau rusak (Oever *et al.*, 2010).

ROS, TNF-alfa, dan glukosa yang berlebih akan meningkatkan produksi protein pro-apoptosis Bax melalui aktivasi faktor transkripsi NF- $\kappa$ B, sedangkan pada jumlah protein anti-apoptosis Bcl-2 tidak terjadi peningkatan. Oleh karena terjadi peningkatan rasio Bax/Bcl-2, protein Bax kemudian akan bertranslokasi dari sitoplasma menuju membran mitokondria. Hal ini akan menyebabkan pelepasan sitokrom C dari mitokondria ke sitoplasma. Sitokrom C ini akan berikatan dengan *Apoptotic Protease Activating Factor* (APAF)-1 yang kemudian akan mengaktivasi *caspase cascade* 3 dan 9 dan memicu apoptosis pada sel endotel (Oever *et al.*, 2010; Kageyama *et al.*, 2011).

Kadar glukosa yang tinggi juga dapat mengaktivasi NF- $\kappa$ B melalui aktivasi *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K) *signaling pathway*. NF- $\kappa$ B akan meningkatkan produksi prostaglandin  $E_2$  ( $PGE_2$ ) melalui upregulasi ekspresi protein

*cyclooxygenase-2* (COX-2). Produksi PGE<sub>2</sub> ini berhubungan dengan induksi kematian pada sel melalui aktivasi *caspase* 3 dan akan memicu apoptosis pada sel endotel (Sheu *et al.*, 2006).

NO memiliki kemampuan untuk menghambat apoptosis pada beberapa jenis sel, termasuk sel endotel. Namun, radikal bebas superoksida (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) dapat bereaksi dengan NO secara cepat dan menonaktifkannya. Superoksida akan berikatan dengan NO dan menghasilkan *peroxynitrite* (ONOO<sup>-</sup>). Peroksinitrit merupakan oksidan yang poten dan bersifat sitotoksik pada sel endotel karena dapat mengoksidasi gugus sulfhidril pada protein, menyebabkan peroksidasi lipid dan asam amino nitrat, yang mana akan mempengaruhi jalur transduksi sinyal (Xu dan Zou, 2009; Oever *et al.*, 2010).

Kematian akibat apoptosis yang terjadi pada sel endotel dapat memicu lepasnya sel tersebut dari dinding pembuluh darah dan menyebabkan denudasi endotel (Lampka *et al.*, 2010; Avogaro *et al.*, 2011).

## 2.4 Kemiri

### 2.4.1 Sistematika Umum

|            |                         |
|------------|-------------------------|
| Kingdom    | : <i>Plantae</i>        |
| Divisi     | : <i>Magnoliophyta</i>  |
| Sub Divisi | : <i>Angiospermae</i>   |
| Kelas      | : <i>Magnoliopsida</i>  |
| Ordo       | : <i>Malpighiales</i>   |
| Famili     | : <i>Eurphorbiaceae</i> |
| Subfamili  | : <i>Crotonoideae</i>   |
| Genus      | : <i>Aleurites</i>      |
| Spesies    | : <i>A. moluccana</i>   |

#### 2.4.2 Karakteristik dan Manfaat Kemiri

Kemiri (*Aleurites moluccana*) merupakan tanaman yang berasal dari daerah Indo-Malaysia, termasuk Brunei, Kamboja, Cina, Indonesia, Laos, Malaysia, Myanmar, Papua Nugini, Filipina, Thailand, dan Vietnam. Menurut Martawijaya, kemiri yang termasuk ke dalam famili *Euphorbiaceae* dan subfamili *Crotonoideae* ini memiliki beberapa nama lokal yaitu: buwa kare, kembiri, kemili, kemiling, kereh, matang ijo, tanoan (Sumatra); kamere, kemiri, komere, midi, miri, muncang, pidekan (Java); keminting, kemiri (Kalimantan); berau, bontalo dudulaa, boyau, lana, saketa, wiau (Sulawesi); kemiri, kemwiri, kumiri, mi, nena, nyenga (Maluku); tenu (Nusa Tenggara); anoi (Papua). Kemiri merupakan spesies yang sangat mudah untuk tumbuh dan telah menyebar luas hampir ke seluruh pulau-pulau di Indonesia. Area perkebunan utama kemiri di Indonesia dapat ditemukan di provinsi Sumatra Utara, Sumatra Barat, Sumatra Selatan, Bengkulu, Lampung, Jawa Barat, Kalimantan Barat, Kalimantan Selatan, Kalimantan Timur, Bali, Sulawesi Selatan, Maluku, dan Nusa Tenggara Timur (Krisnawati *et al.*, 2011).

Tanaman kemiri adalah tanaman yang dapat tumbuh dalam berbagai tipe tanah dan iklim seperti tanah kapur, latosol, podsolik yang subur maupun kurang subur, bahkan dapat tumbuh pada tanah berpasir. Tanaman ini tumbuh pada daerah dengan suhu 21-27° C dengan curah hujan 1100-2400 mm dan kelembaban rata-rata 75%. Tanaman ini tumbuh baik pada ketinggian 0-1200 m diatas permukaan laut (Bramasto dan Putri, 2004).

Kemiri merupakan pohon berukuran sedang yang dapat mencapai tinggi 20 meter dan diameter 0.9 meter. Kulit pohonnya berwarna abu-abu kecoklatan dan memiliki garis-garis vertikal yang halus. Daunnya memiliki margin yang bergelombang, tulang rusuk daunnya memiliki panjang 10-20 cm dengan terdapat

2 kelenjar di persimpangan antara dasar daun dan tangkai daun yang mengeluarkan getah manis (Krisnawati *et al.*, 2011).

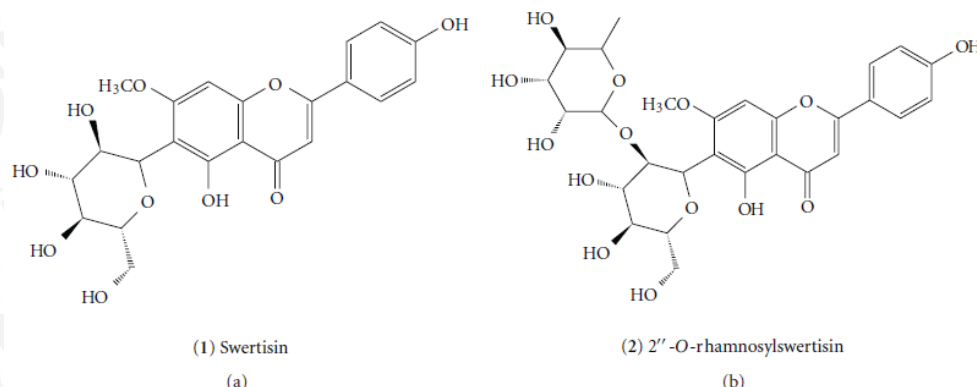


**Gambar 2.2** Daun bergelombang *Aleurites moluccana* (Krisnawati *et al.*, 2011)

Kemiri sering digunakan oleh masyarakat sebagai obat untuk demam, inflamasi, asma, hepatitis, sakit kepala, dan ulkus lambung. Biji kemiri dapat digunakan sebagai obat anti rematik dan juga sebagai pupuk alami. Ekstrak metanol dari daun tanaman ini memperlihatkan adanya efek hipolipidemik (Quintão *et al.*, 2011).

#### **2.4.2 Kandungan Ekstrak Daun Kemiri**

Pada uji fitokimia diketahui bahwa ekstrak metanol daun kemiri memiliki kandungan alkaloid, flavonoid, tanin, swertisin, rhamnosylswertisin, sterol,  $\alpha,\beta$ -amyrenone, asam amino dan karbohidrat (Niazi *et al.*, 2010; Quintão *et al.*, 2011). Kandungan alkaloid, sterol, dan flavonoid dari daun kemiri diduga dapat menghambat sintesis histamin, serotonin, atau prostaglandin di hipotalamus sehingga memberikan efek anti inflamasi dan anti piretik (Niazi *et al.*, 2010).



**Gambar 2.3 Struktur kimia dari (a) swertisin dan (b) rhamnosylswertisin (Quintão et al., 2011)**

Swertisin dan rhamnosylswertisin merupakan flavonoid C-glikosida yang ditemukan dalam ekstrak metanol daun kemiri (Quintão et al., 2011). Berdasarkan studi eksperimental, swertisin dan rhamnosylswertisin dapat menurunkan kadar glukosa darah *postprandial* dengan cara menghambat aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase. Enzim  $\alpha$ -glukosidase merupakan enzim kunci pada pencernaan karbohidrat. Enzim ini mengkatalisa hidrolisis karbohidrat kompleks menjadi glukosa pada usus halus dan meningkatkan kadar glukosa darah *postprandial*. Penghambatan pada enzim ini akan menurunkan absorpsi glukosa usus karena karbohidrat tidak dapat dipecah menjadi glukosa, sehingga akan menurunkan kadar glukosa darah setelah makan (Wu et al., 2012; Nair et al., 2013).

Swertisin memiliki potensi dalam regenerasi sel beta pankreas. Swertisin dapat memfasilitasi *islet neogenesis* dari sel induk/progenitor pankreas melalui jalur p38 *mitogen-activated protein kinase* (MAPK). *Islet neogenesis* merupakan proliferasi dan diferensiasi sel induk/progenitor pankreas sehingga menghasilkan sel-sel beta pankreas. Dengan adanya generasi sel-sel beta pankreas yang baru, maka produksi insulin juga dapat meningkat (Dadheech et al., 2013; Dadheech et al., 2015).

Swertisin dan rhamnosylswertisin sebagai senyawa flavonoid mengandung senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan merupakan suatu bahan atau zat yang dapat mencegah atau mengeliminasi kerusakan oksidatif pada suatu molekul target. Peran fisiologis dari senyawa fenolik ini adalah untuk mencegah kerusakan komponen seluler sebagai akibat dari reaksi kimia yang melibatkan radikal bebas. Flavonoid dapat mengeliminasi radikal bebas secara langsung melalui donasi atom hidrogen. Aktivitas antioksidan dari flavonoid ini bergantung pada letak susunan dan jumlah dari gugus hidroksil (-OH) pada struktur inti. Peningkatan derajat hidroksilasi akan meningkatkan aktivitas antioksidan pada senyawa flavonoid. Dengan adanya aktivitas antioksidan dari swertisin dan rhamnosylswertisin, maka akan terjadi penurunan jumlah radikal bebas dan menurunkan kejadian stres oksidatif (Balasundram *et al.*, 2006; Rahman, 2007; Prochazkova *et al.*, 2011).

