

## BAB 2

### KAJIAN PUSTAKA

#### 2.1. Diabetes Melitus Tipe 2

##### 2.1.1. Definisi

Diabetes adalah sindrom kronis yang ditandai oleh tingginya kadar glukosa darah dan menurunnya jumlah atau aktivitas insulin. Klasifikasi penyakit diabetes dibagi menjadi diabetes melitus tipe 1 dan 2. Salah satu tipe diabetes melitus (DM), terutama DM tipe 2 adalah penyakit metabolik yang disebabkan oleh gagalnya fungsi reseptor insulin dalam tubuh atau tidak adanya respon insulin, atau dapat disebut dengan resistensi insulin. Resistensi insulin disebabkan oleh obesitas, kurangnya aktivitas fisik, dan faktor usia (Setiawan, 2005; Fatimah, 2014).

##### 2.1.2. Epidemiologi

Melalui hasil estimasi *International Diabetes Federation* (IDF) secara global, angka kejadian diabetes melitus di dunia pada tahun 2012 adalah sebanyak 371 juta jiwa, dimana 95% di antaranya merupakan diabetes melitus tipe 2. Dari hasil survei terakhir pada tahun 2013, terdapat 382 juta orang yang terkena diabetes, dimana pada tahun 2035 diperkirakan jumlah tersebut akan meningkat menjadi 592 juta orang. Hasil wawancara perhitungan proporsi diabetes melitus di Indonesia melalui Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) pada tahun 2007 dan 2013 menunjukkan bahwa proporsi diabetes melitus pada 2013 meningkat hampir dua kali lipat dari tahun 2007 (Fatimah, 2014).

### 2.1.3. Etiologi

Perkembangan diabetes melitus tipe 2 dipengaruhi oleh beberapa faktor yang tidak dapat diubah dan dapat diubah. Menurut *American Diabetes Association* (ADA) tahun 2016, faktor yang tidak dapat diubah antara lain: usia  $\geq 45$  tahun, etnis, riwayat melahirkan bayi dengan berat badan lahir bayi  $> 4000$  gram atau riwayat menderita diabetes melitus gestasional dan riwayat berat badan lahir rendah yaitu  $< 2,5$  kg. Sedangkan faktor resiko yang dapat diubah antara lain: obesitas berdasarkan IMT  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup> atau lingkar perut  $\geq 80$  cm pada wanita dan  $\geq 90$  cm pada laki-laki, kurangnya aktivitas fisik, adanya riwayat hipertensi, dislipidemi, dan konsumsi diet tinggi lemak (ADA, 2016; Fatimah, 2014).

Faktor-faktor ini sangat berpengaruh terhadap perkembangan diabetes melitus tipe 2. Adanya riwayat keluarga yang terkena diabetes melitus dapat meningkatkan kemungkinan diabetes lebih tinggi. Derajat kegemukan IMT  $> 23$  kg/m<sup>2</sup> dapat menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah melebihi 200 mg/dL. Tingginya tekanan darah dapat mengakibatkan peningkatan tekanan sirkulasi pembuluh darah perifer. Kadar trigliserida yang tinggi dalam darah ( $> 250$ mg/dL) dan rendahnya kadar HDL dapat menurunkan kadar plasma insulin dalam darah. Gaya hidup yang kurang sehat juga dapat berpengaruh seperti mengonsumsi alkohol. Alkohol dapat mengganggu metabolisme gula darah, mempersulit regulasi gula darah, dan meningkatkan tekanan darah. Konsumsi makanan yang tidak seimbang dan aktivitas fisik yang kurang juga dapat mempengaruhi terjadinya dan semakin memperberat diabetes melitus (Fatimah, 2014).

#### 2.1.4. Patogenesis

Gaya hidup dan faktor genetik sangat berperan dalam perkembangan diabetes melitus tipe 2. Insiden pada orang yang obesitas dan memiliki keluarga dengan riwayat diabetes dapat meningkatkan resiko terjadinya penyakit ini hingga sepuluh kali lipat. Pada penelitian epidemiologi ditemukan bahwa terjadi defek genetik yang juga dipengaruhi oleh lingkungan. Penyakit diabetes melitus tipe 2 didasari oleh kurangnya insulin secara relatif ataupun absolut dan resistensi insulin. Menurunnya kadar insulin ini disebabkan oleh gangguan sekresi pada sel  $\beta$  pankreas. Diabetes tipe 2 pada awalnya memiliki kadar insulin normal atau meningkat karena kompensasi resistensi insulin di dalam tubuh. Pola sekresi insulin yang lenyap secara mendadak, menyebabkan sekresi insulin yang dipicu oleh glukosa pun menurun. Hal ini menandakan adanya gangguan sekresi insulin dan bukan defisiensi sintesis insulin (Fatimah, 2014; Robbins *et.al.*, 2007).

Selanjutnya terjadi defisiensi absolut insulin yang disebabkan oleh kegagalan kompensasi resistensi insulin melalui peningkatan kompensatorik sel  $\beta$  dan produksi insulinnya. Terjadi kerusakan sel  $\beta$  yang selanjutnya menjadi gangguan respon kadar glukosa oleh sel  $\beta$ . Hal ini kemungkinan disebabkan oleh protein mitokondria yang disebut sebagai *uncoupling protein 2* (UCP 2) yang diekspresikan oleh sel  $\beta$ . Kadar UCP intrasel yang tinggi dapat menyebabkan penurunan respon insulin. Oleh karena itu, peningkatan kadar UCP 2 pada penderita diabetes melitus tipe 2 menyebabkan menurunnya respon insulin terhadap glukosa (Robbins *et.al.*, 2007).

Terdapat mekanisme lain yaitu adanya pengendapan amiloid di *islet* Langerhans. Sel  $\beta$  pankreas dalam keadaan normal akan mengsekresikan

amillin, komponen amiloid yang mengendap, dan insulin sebagai respon peningkatan glukosa. Hiperinsulinemia akibat kompensasi resistensi insulin pada awal diabetes melitus tipe 2 menyebabkan peningkatan produksi amilin. Amilin mengendap dan mengelilingi sel  $\beta$  pankreas. Zat ini mengendap, mengganggu respon sel  $\beta$  dalam menerima sinyal dari glukosa. Amillin juga bersifat toksik sehingga menyebabkan kerusakan sel  $\beta$  pada diabetes tipe 2 (Robbins *et.al.*, 2007).

Kegemukan dan kehamilan menyebabkan sensitivitas insulin pada organ jaringan akan menurun, oleh karena itu kadar insulin akan meningkat untuk mengkompensasi hal tersebut. Oleh sebab itu, kegemukan yang berkelanjutan dapat menyebabkan resistensi insulin dan peningkatan produksi insulin untuk mengkompensasi. Obesitas meningkatkan resistensi insulin tanpa diabetes. Oleh sebab itu, penurunan berat badan dan olahraga dapat mengembalikan resistensi insulin dan gangguan toleransi glukosa jika belum terjadi gangguan produksi insulin (Robbins *et.al.*, 2007).

Obesitas mempengaruhi resistensi insulin melalui efek endokrin dari lemak yang tertimbun. Sel adiposa mensekresi faktor nekrosis tumor (TNF), asam lemak, leptin, dan faktor resistin. Keadaan obesitas akan mengakibatkan TNF- $\alpha$  diekskresi secara berlebihan, menyebabkan resistensi insulin dan gangguan sinyal pascareseptor. Asam lemak bebas meningkatkan resistensi insulin melalui mekanisme yang belum diketahui. Leptin adalah hormon adiposit yang menyebabkan obesitas berat dan resistensi insulin pada hewan pengerat yang tidak memiliki gennya (Robbins *et.al.*, 2007).

Diabetes melitus tipe 2 memiliki dua faktor dasar yaitu resistensi insulin yang akan berkembang menjadi defisiensi insulin juga. Saat fase awal diabetes melitus tipe 2, terjadi kegagalan sekresi insulin dalam mengkompensasi resistensi insulin. Apabila kondisi ini tidak tertangani dengan baik, hal ini akan mengakibatkan "kelelahan" pada sel-sel  $\beta$  pankreas. Kerusakan sel-sel  $\beta$  pankreas terjadi secara progresif dan menyebabkan defisiensi insulin. Hal ini mengakibatkan tubuh memerlukan insulin dari luar tubuh (Fatimah, 2014).

#### **2.1.5. Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 2**

Diabetes melitus tipe 2 merupakan penyakit yang disebabkan oleh beberapa faktor. Resistensi insulin yang terjadi ada pasien diabetes tipe 2 adalah secara bertahap. Hal ini menyebabkan terjadinya hiperglikemia yang pada awalnya tidak menunjukkan gejala klasik DM. Stadium normoglikemia, tubuh mempertahankan kadar glukosa agar tetap normal. Dalam keadaan stadium hiperglikemia, tubuh tidak dapat mempertahankan dan menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah. Stadium prediabetes meliputi toleransi glukosa terganggu (TGT) dan glukosa darah puasa terganggu (GDPT). Saat pasien terdiagnosis diabetes melitus, kemungkinan pasien sudah mengalami kerusakan 50% masa sel  $\beta$  pankreas. Kerusakan menyebabkan ketidak seimbangan sekresi insulin dan resistensi insulin (Tanto et.al., 2014).

#### **2.1.6. Manifestasi Klinis**

Penderita diabetes melitus ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah sewaktu  $>200$  mg/dl atau glukosa darah puasa  $>126$  mg/dl. Diabetes melitus memiliki gejala – gejala khusus yang dibedakan menjadi gejala akut dan kronis. Gejala awal dari penyakit ini adalah polifagia atau meningkatkan nafsu makan, polidipsia, rasa haus yang abnormal, poliuria atau meningkatnya buang

air kecil terutama pada malam hari, penyembuhan luka yang lama dan penurunan berat badan diikuti dengan nafsu makan yang meningkat. Sedangkan gejala kronis dari penyakit ini adalah neuropati, mudah lelah dan mengantuk, impotensi, dan keguguran. Neuropati ini ditandai dengan rasa kesemutan, kulit terasa tertusuk jarum, rasa kebas di kulit, dan kram (Fatimah, 2014).

### 2.1.7. Komplikasi

Penyakit diabetes melitus yang tidak terkontrol dengan baik dalam waktu lama akan menyebabkan kerusakan berupa penyakit vaskular sistemik, penyakit jantung, penyakit miovaskular pada mata, katarak, kerusakan ginjal, dan kerusakan saraf tepi. Luasnya komplikasi berhubungan dengan tingginya kadar gula darah, yang diduga sebagai penyebab utama kerusakan jaringan. Kerusakan jaringan ini disebabkan oleh modifikasi oksidatif akibat hiperglikemia yang berpengaruh dalam terjadinya stres oksidatif (Setiawan, 2005).

Terdapat beberapa mekanisme yang menghubungkan antara hiperglikemia dengan komplikasi jangka panjang diabetes. Diantaranya adalah jalur pembentukan *irreversible advanced glycosilation end product* (AGE), peningkatan ekspresi *receptor for advanced glycation end products* (RAGE), jalur polioliol, aktivasi protein kinase C (PKC), dan jalur heksosamin. Melalui beberapa jalur ini, akan terjadi peningkatan senyawa oksigen reaktif (ROS) (Memon *et.al.*, 2014; Setiawan, 2005).

Superoksida adalah radikal bebas oksigen inisial yang dibentuk oleh mitokondria, yang selanjutnya akan dikonversikan menjadi spesies yang lebih reaktif yang dapat merusak sel. Dalam keadaan hiperglikemia intraseluler, terjadi peningkatan kinerja membran mitokondria yang penting dalam pembentukan

superoksida, yang selanjutnya akan meningkatkan produksi ROS. Peningkatan kadar ROS di intraseluler menyebabkan defek angiogenesis dalam merespon iskemi, aktivasi, jalur proinflamasi, dan ekspresi persisten dari gen proinflamasi. Pada diabetes tipe 2 terjadi peningkatan produksi ROS oleh mitokondria dari asam lemak bebas dan inaktivasi enzim anti atherosklerosis (Giacco dan Brownlee, 2011).

Hiperglikemia menyebabkan peningkatan glukosa intrasel. Glukosa ini kemudian dimetabolisme oleh aldosa reduktase menjadi sorbitol menggunakan NADPH sebagai kofaktor. Sorbitol akan diubah menjadi fruktosa oleh sorbitol dehidrogenase, dengan  $\text{NAD}^+$  sebagai kofaktornya. Pada pasien diabetes, jalur sorbitol meningkatkan aktivitas di jaringan seperti retina, ginjal, syaraf perifer, dan pembuluh darah dimana insulin tidak dibutuhkan untuk *uptake* glukosa seluler. Sorbitol tidak mudah untuk berdifusi melalui membran sel, oleh sebab itu terjadi akumulasi dan terjadi kerusakan osmotik (Safi S. Z. et.al., 2014). Pada mata, air akan masuk secara osmotik ke lensa dan menyebabkan pembengkakan dan opasitas lensa. Penumpukan sorbitol akan mengganggu pompa ion dan merusak sel Schwann dan perisit kapiler retina. Kerusakan ini lama – kelamaan akan menjadi neuropati perifer dan mikroaneurisma retina (Robbins et.al., 2007).

#### **2.1.8. Diagnosis Diabetes Melitus Tipe 2**

Diagnosis diabetes melitus dapat ditentukan dari kriteria diagnosis. Kriteria diagnosis adalah adanya gejala klasik DM dengan glukosa plasma sewaktu  $> 200$  mg/dL atau gejala klasuk DM dengan kadar glukosa plasma puasa  $> 126$  mg/dL atau kadar glukosa plasma 2 jam pada TTGO  $> 200$  mg/dL.

Gejala klasik DM berupa poliuri, polifagia, polidipsia, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya. Keluhan lain atau nonklasik antara lain badan terasa lemah, kesemutan, gatal, mata kabur, nyeri pada ekstermitas yang tidak diketahui penyebabnya, luka yang sulit sembuh, disfungsi ereksi pada pria, dan pruritus vulva pada perempuan. Glukosa plasma sewaktu adalah hasil pemeriksaan sesaat pada waktu tanpa memperhitungkan waktu makan terakhir. Glukosa darah puasa adalah tidak adanya asupan kalori selama 8 jam. TTGO adalah tes toleransi glukosa oral. Menurut ADA 2012 pemeriksaan HbA1c dengan hasil  $\geq 6,5\%$  dimasukkan dalam salah satu kriteria diagnosis DM (Tanto et.al., 2014).

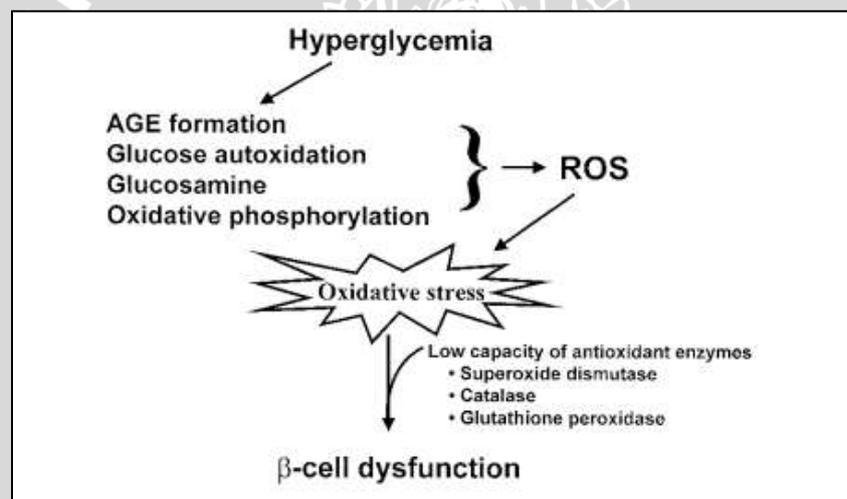
#### **2.1.9. Tatalaksana Diabetes Melitus**

Terapi diabetes melitus bertujuan untuk menghilangkan keluhan, mempertahankan atau mencapai target glukosa darah, serta mencegah progresivitas komplikasi mikroangiopati, makroangiopati, dan neuropati. Hal ini dapat dilakukan dengan upaya pengendalian glukosa darah, tekanan darah, berat badan, dan profil lipid. Pengelolaan nutrisi sangatlah penting, keseimbangan kebutuhan kalori dan zat gizi perlu ditekankan. Kebutuhan kalori dihitung dengan kebutuhan kalori basal. Pada laki – laki sebesar 30 kalori/kgBB dan perempuan 25 kalori/kgBB. Kalori basal ditambah dan dikurangi dengan beberapa faktor seperti jenis kelamin, aktivitas, berat badan, dll. Kegiatan fisik dianjurkan dalam intensitas sedang minimal 150 menit/minggu atau aerobik 75 menit/minggu(Tanto et.al. , 2014).

Terapi farmakologis DM diterapkan bersamaan dengan pengelolaan nutrisi serta aktivitas fisik. Terapi diabetes ini dapat berupa obat antidiabetik oral (ADO) atau insulin. Terdapat ADO dengan tujuan meningkatkan sekresi insulin

(Sulfonylurea) , peningkatan sensitivitas terhadap insulin (Metformin), dan penghambat absorpsi glukosa (glukosidase alfa). Selain ADO terdapat terapi lain yaitu insulin. Terapi ini diindikasikan jika: DM tipe I, adanya penurunan berat badan yang cepat, hiperglikemia berat disertai ketosis, ketoasidosis diabetik, hiperglikemia hiperosmolar non ketotik, hiperglikemia dengan asidosis laktat, gagal terapi ADO dosis optimal. Gagal terapi ini dapat diakibatkan oleh adanya stres berat (infeksi sistemik, operasi besar, infark miokard), kehamilan dengan DM, dan kontraindikasi ADO (Tanto et.al. , 2014).

#### 2.1.10. Stres Oksidatif



**Gambar 2.1 Proses Hiperglikemia Menyebabkan Stres Oksidatif dan Disfungsi Sel Beta Pankreas (Robertson et. al., 2003).**

Hiperglikemia menyebabkan pembentukan senyawa oksigen reaktif (ROS) melalui proses autooksidasi glukosa, glikasi protein, dan aktivasi jalur pembentukan AGE. Senyawa oksigen reaktif (ROS) dapat mengakibatkan modifikasi lipid, DNA, dan protein di jaringan. Hal ini mengakibatkan

ketidakseimbangan antara kadar antioksidan dan radikal bebas dalam tubuh (Memon *et.al.*, 2014).

Glikosilasi nonenzimatik adalah proses perlekatan glukosa ke gugus amino bebas protein tanpa bantuan enzim. Produksi intraseluler dari AGE dapat menyebabkan kerusakan sel melalui tiga mekanisme yaitu disfungsi protein intraseluler, disfungsi ligan matriks ekstraseluler, dan berikatan dengan reseptor berbagai sel, seperti endotel, monosit, limfosit, dan makrofag. Ikatan RAGE atau reseptor AGE menyebabkan produksi ROS, yang dapat mengaktifasi *pleiotropic transcription factor, nuclear factor kappa B (NFkB)*, yang mengakibatkan perubahan ekspresi gen. Produk glikosilasi dalam jaringan dan dinding pembuluh darah akan mengalami beberapa proses kimiawi untuk membentuk *irreversible advanced glycosylation end products (AGE)*, yang akan menumpuk di dinding pembuluh darah. Pembentukan AGE pada kolagen dapat menyebabkan terperangkapnya protein interstisium. Terperangkapnya lipoprotein densitas rendah atau LDL menyebabkan terdorongnya pengendapan kolesterol di intima yang akan mempercepat terjadinya atherogenesis. AGE dapat berikatan dengan reseptor sel. Pengikatan ini dapat menyebabkan berbagai proses biologis antara lain agregasi monosit, pengeluaran sitokin, faktor pertumbuhan makrofag, peningkatan permeabilitas endotel, dan peningkatan proliferasi fibroblas. Proses ini berpotensi menyebabkan komplikasi dari diabetes (Giacco dan Brownlee, 2011).

Autooksidasi glukosa merupakan salah satu fase proses glikasi non enzimatik pada protein yang bersifat reversible, yang memiliki katalisator berupa senyawa logam seperti zinc dan besi. Proses ini mengakibatkan produksi ROS

meningkat dan glikasi enzim SOD yang menyebabkan enzim menjadi inaktif. (Purboyo, 2009; Sen *et.al.*, 2000)

Kondisi hiperglikemi dan resistensi insulin menyebabkan peningkatan oksidasi dari asam lemak yang nantinya akan berkontribusi dalam komplikasi diabetes akibat dari peningkatan jalur hexosamine. GFAT merubah fruktosa 6-phosphate menjadi glucosamine 6-phosphate, yang selanjutnya akan terkonversi menjadi UDP-N-Acetylglucosamine. Hiperglikemi juga meningkatkan aktivitas GFAT pada sel otot polos pembuluh darah. Meningkatnya O-GlcNacylation yang dapat modifikasi pada beberapa protein pada sel tersebut, yang pada akhirnya meningkatkan kerusakan pada siklus kalsium pada sel otot jantung (Robertson *et.al.*, 2003; Giacco dan Brownlee, 2011).

Kadar glukosa yang tinggi menyebabkan ketidak stabilan gradien elektron dan proton pada membrane mitokondria. Proton pada mitokondria berlebih dikarenakan donor elektron yang berlimpah akibat siklus asam trikarboksilat. Ketidak seimbangan ini menyebabkan produksi superoksida di mitokondria semakin banyak. Produksi ROS yang meningkat ini dapat dihambat oleh enzim MnSOD dan UCP-1 melalui terhambatnya kerusakan gradien mitokondria dan reaksi oksidan-antioksidan (Giacco dan Brownlee, 2011; Purboyo, 2009)

Islet pankreas memiliki enzim antioksidan CuZn-SOD, Mn-SOD, katalase, dan glutathion peroksidase yang relatif sedikit. Hal ini menyebabkan sel  $\beta$  pankreas sensitif terhadap peroksida karena aktivitas enzim GPx yang rendah. Sel  $\beta$  pankreas memiliki resiko yang lebih tinggi dibandingkan dengan jaringan tubuh lain yang memiliki kadar perlindungan antioksidan yang tinggi. Tingginya konsentrasi glukosa dapat menyebabkan peningkatan preoksida intraseluler

dalam islet Langerhans yang menyebabkan peningkatan stres oksidatif dalam islet. Hal ini menyebabkan semakin terganggunya aktivitas sel  $\beta$  pankreas. Salah satu radikal bebas yang paling berbahaya adalah radikal hidroksil. Radikal ini dapat melewati membran nukleus dari sel dan bereaksi kuat dengan DNA, yang salah satunya dapat mengganggu ekspresi gen insulin (Robertson *et. al.*, 2003).

Tubuh menghadapi stres oksidatif dengan sistem pertahanan berupa enzim antioksidan endogen yang bertujuan untuk mereduksi atau mempercepat degradasi radikal bebas. Sistem meliputi pertahanan preventif oleh enzim dan pemutusan reaksi radikal. Enzim pertahanan ini antara lain: enzim SOD, katalase, dan glutathion peroksidase. Vitamin A, C, dan E, serta isoflavon memiliki efek memutus reaksi radikal bebas (Memon *et.al.*, 2014).

## **2.2. Antioksidan**

### **2.2.1. Definisi**

Antioksidan adalah zat yang dapat menghambat atau memperlambat oksidasi dari molekul lain. Antioksidan dapat melindungi tubuh dengan menangkap radikal bebas, menghambat reaksi dengan ROS, dan mempertahankannya dalam keadaan redoks untuk mengurangi oksigen molekuler (Flora, 2009).

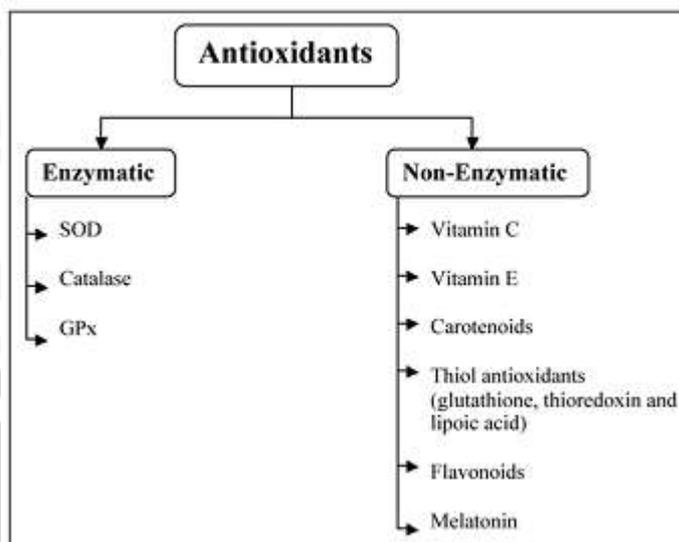
### **2.2.2. Kimia dan Biokimia Radikal Bebas**

Radikal bebas adalah molekul atau pecahan molekular yang mengandung satu atau lebih elektron berpasangan. Karena kurangnya pasangan elektron ini, radikal bebas sangatlah bersifat reaktif. Senyawa oksigen reaktif

atau radikal bebas dapat dibentuk melalui jalur enzimatis dan metabolik. Kaskade dari asam arakidonat menjadi prostaglandin, yang dibantu oleh enzim lipoksigenase, siklooksigenase, oksidase, yang nantinya akan menghasilkan radikal anion superoksida atau hidroperoksida. Radikal superoksida yang berlebih akan bereaksi dengan nitrit oksida dan menghasilkan radikal peroksinitrit. Peroksinitrit akan mengganggu vasodilatasi pembuluh darah oleh nitrit oksida (Giacco dan Brownlee, 2011; Setiawan dan Suhartono, 2005)

Reaksi oksidasi dapat menyebabkan kerusakan atau kematian sel. Hal ini disebabkan oleh senyawa radikal bebas mengoksidasi dan menyerang komponen lipid membran sel. Reaksi ini juga dapat menyerang komponen penyusun sel lain seperti protein, lipoprotein, dan DNA. Radikal bebas dapat menyerang tiga yang berguna untuk mempertahankan integritas sel, antara lain : asam lemak, DNA, dan protein. Asam lemak adalah komponen fosfolipid penyusun membrane sel. DNA merupakan pembawa informasi genetik sel. Protein sebagai enzim, reseptor, antibodi, dan penyusun matriks sitoskeleton (Winarsi, 2007).

### 2.2.3. Klasifikasi Antioksidan



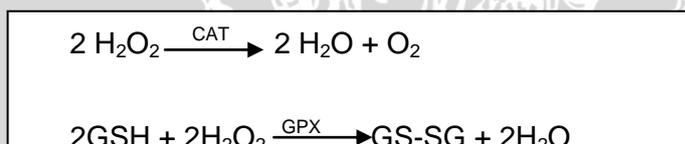
**Gambar 2.2** Klasifikasi antioksidan enzimatik dan non enzimatik (Flora, 2009)

Antoksidan endogen atau yang biasa disebut dengan antioksidan enzimatik dalam tubuh meliputi superoksida dismutase, katalase, dan glutathion peroksidase. Senyawa ini memberikan atom hydrogen secara cepat pada radikal bebas, merubah radikal bebas menjadi lebih stabil. Antioksidan primer ini bekerja dengan mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi kurang reaktif dan mencegah pembentukan radikal bebas baru. Enzim tersebut menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutus rantai polimerisasi yang kemudian mengubah produk menjadi lebih stabil. Kelompok antioksidan ini disebut juga *chain-breaking-antioxidant* (Flora, 2009; Winarsi, 2007).

Terdapat antioksidan yang berasal dari luar atau yang disebut dengan antioksidan eksogenus atau non-enzimatis. Senyawa ini dapat berasal dari komponen non – nutrisi dan komponen nutrisi dari sayur maupun buah. Antioksidan nonenzimatis bekerja dengan cara memotong reaksi oksidasi dari

pembentukan radikal bebas atau dengan menangkapnya. Hal ini menghambat terjadinya reaksi radikal bebas dengan komponen seluler tubuh. Antioksidan sekunder antara lain vitamin E, vitamin C, karoten, flavonoid, asam urat, bilirubin, dan albumin (Winarsi, 2007).

Katalase adalah enzim yang ada di tumbuh – tumbuhan, hewan, dan bakteri anaerob. Katalase berada di dalam organ sel peroksisom. Enzim ini sangat efisien dalam mengkonversi hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen molekular. Metabolisme Glutathion adalah yang paling penting dalam mekanisme pertahanan oksidatif. Enzim GPx (Glutathione Peroksidase) dengan adanya tripeptide glutathione (GSH) menambahkan dua elektron untuk mereduksi peroksidase. GPx mendekomposisi peroksidase menjadi air dan mengoksidasi GSH (Memon, 2014; Lü, 2010).



**Gambar 2.3 Reaksi kimia MnSOD dan Molekul Superoksida (Lü, 2010)**

### 2.3. Superoksida Dismutase (SOD)

Superoksida dismutase merupakan antioksidan enzimatik dalam sel yang paling efektif, mengkatalisa radikal bebas atau senyawa oksigen reaktif (ROS) melalui proses katalisa radikal bebas anion superoksida ( $\text{O}_2^-$ ) menjadi hidrogen peroksida dan oksigen yang tidak berbahaya bagi tubuh. SOD memiliki struktur metaloenzim yang dibentuk oleh empat jenis logam sebagai pusat enzim, yaitu tembaga (Cu), seng (Zn), mangan (Mn), dan besi (Fe) (Memon, 2014). Terdapat

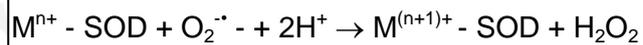
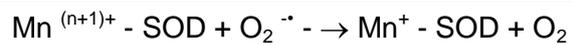
tiga bentuk SOD dalam tubuh manusia, antara lain sitosolik Cu, Zn-SOD, mitokondria SOD Mn-SOD, dan ekstraseluler SOD, sedangkan Fe-SOD ditemukan pada prokariotik. Cu, Zn-SOD yang berada pada sitosol berfungsi sebagai faktor pertahanan utama melindungi sel dari radikal superoksida, sedangkan Mn-SOD berperan menghadapi stres etanol (Ariadini, 2007).

SOD bekerja bersama dengan katalase dan glutathion peroksidase (GPx) merubah  $O_2^-$  menjadi  $H_2O_2$  dan oksigen, katalase berguna mengubah hidrogen peroksida yang menjadi air dan oksigen. Enzim ini berguna memutus reaksi rantai radikal bebas dan mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil. SOD melindungi sel dan mencegah reaksi peradangan akibat radikal bebas.

Menurut Akalin et al. (2008) terjadi peningkatan aktivitas SOD pada gingiva tikus DM, peningkatan ini disebabkan oleh adanya adaptasi enzim terhadap adanya stress oksidatif. Dalam keadaan awal hiperglikemi terjadi penurunan aktivitas SOD, yang nantinya akan meningkat untuk menghadapi stress oksidatif pada ginjal tikus diabetes. DM menginduksi pembentukan dan overproduksi  $O_2^-$  yang merupakan mekanisme utama terjadinya kerusakan vaskuler akibat hiperglikemia. Meningkatnya aktivitas SOD menghambat terjadinya berbagai kerusakan yang dapat mengakibatkan komplikasi DM. Menurut penelitian Alkalin et al. pada gingiva tikus DM, dinyatakan bahwa meningkatnya aktivitas SOD merupakan hasil dari mekanisme adaptasi dan proteksi, serta dapat menjadi indikator meningkatnya pembentukan  $O_2^-$  pada DM (Akalin et al., 2008).

Aktivitas SOD dihitung menggunakan berbagai cara, penelitian ini menggunakan cara tidak langsung yaitu melalui reduksi nitrobluetetrazolim

(NBT) oleh anion  $O_2^-$  yang diproduksi xanthine oxidase. Formazan dibentuk oleh transfer elektron oleh xantin oxidase ditentukan secara spektrofotometri dengan 560 nm. Satu unit SOD diartikan sebagai protein yang menghambat 50% dari reduksi NBT (Akalin *et al.*, 2008).



**Gambar 2.4** Reaksi kimia MnSOD dan Molekul Superoksida (Lü, 2010)

## 2.4. Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

### 2.4.1. Klasifikasi Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Klasifikasi Tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Phylum	: <i>Chordata</i>
Subphylum	: <i>Vertebrata</i>
Class	: <i>Mammalia</i>
Order	: <i>Rodentia</i>
Family	: <i>Muridae</i>
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>norvegicus</i>

### 2.4.2. Biologis Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih merupakan mamalia yang amat dekat dengan manusia. Oleh sebab itu, anatomi dan fisiologi dari tubuh tikus tidak terlalu berbeda dengan

manusia. Tikus *Rattus norvegicus* merupakan tikus yang umum digunakan dalam melakukan penelitian. Tikus ini memiliki waktu pendewasaan yang pendek yaitu selama 7 minggu. Kemampuan hidup tikus ini hanya berkisar 2,5-3,5 tahun dan waktu reproduksi selama 1 tahun (Koolhaas, 2010; University Animal Care Committee, 2009).

Tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar dikembangkan di Wistar Institute pada tahun 1906. Tikus galur ini mudah ditangani dan perilaku agresif jantan muncul relatif lebih lambat dari galur lainnya. Galur ini dikembang biakkan dan berjumlah besar di seluruh dunia. Tikus putih ini adalah hewan percobaan yang ideal karena beberapa alasan, antara lain: banyaknya literatur lain yang menggunakannya, kemudahan penanganan, tingkat kesuburan yang tinggi, periode kehamilan pendek, pemeliharaan yang mudah dan dapat menjadi model untuk berbagai gangguan dan penyakit manusia. Tikus betina tidak digunakan karena tikus betina terjadi reproduksi yang melibatkan hormon estrogen yang berperan dalam metabolisme glukosa, sekresi insulin dan ketahanan sel  $\beta$  (Koolhaas, 2010).

## 2.5. **High Fat Diet (HFD)**

Pemberian *High Fat Diet* (HFD) beserta injeksi STZ pada tikus model diabetes bertujuan mengkondisikan tikus agar terjadi hiperinsulinemia, resistensi insulin, dan atau intoleransi glukosa yang menyerupai patofisiologi DM tipe 2. Perlebaran jaringan adipose menyebabkan kadar leptin meningkat dan adiponektin menurun, yang menandakan adanya disfungsi dari adiposit. Disfungsi adiposit menyebabkan akumulasi lemak pada jaringan non adipose, seperti otot, hati, dan sel beta. Akumulasi intramioselular ini berhubungan

dengan terjadinya resistensi insulin, pada hati, terjadi penurunan sintesis glikogen dan peningkatan glukoneogenesis (Skovso, 2014; Srinivasan *et.al.*, 2005).

## 2.6. Streptozotocin

Streptozocin (STZ) adalah antibiotik spektrum luas yang didapatkan dari isolasi *Streptomyces achromagenes*. Antibiotik ini juga berfungsi sebagai agen antineoplastik, antitumor, karsinogen, dan agen diabetogenik yang pada umumnya digunakan untuk menginduksi diabetes dalam percobaan. Zat ini termasuk senyawa yang dikenal sebagai nitrosoureas yang mengandung gugus metil nitrosourea. STZ berikatan langsung dengan DNA dan mengubah DNA. Setelah itu, terjadi ketidakstabilan kromosom dimana akan terlihat kerusakan ikatan tunggal dan ganda. Salah satu mekanisme yang menyebabkan toksisitas STZ adalah induksi radikal bebas seperti hidroksi radikal dan superoksida, dan juga nitrat hidroksil yang berasal dari hasil metabolisme (Szkudelski, 2001).

Streptozocin digunakan pada model binatang untuk menginduksi diabetes melitus suatu kondisi yang juga dikenal sebagai hiperglikemia. Hal ini diduga menyebabkan untai DNA rusak dalam sel  $\beta$  pankreas. Kerusakan sel ini mengurangi kadar *Nicotinamide Adenine Dinukleotide* (DNA) dalam sel. Penipisan DNA menghambat sintesis proinsulin dan menginduksi diabetes (Buettner, 2003). Menurut Etuk (2010), diabetes melitus tipe 2 atau *non-insulin-dependent* diabetes melitus dapat diinduksi melalui intraperitoneal dengan sekali pemberian STZ dengan dosis 60mg/kgBB. Kadar glukosa darah puasa tikus wistar diabetes melitus  $\geq 140$  mg/dL (Desak *et. al.*, 2014, Zhang *et. al.*, 2008 ).

## 2.7. Buah Tomat (*Solanum lycopersicum*)

### 2.7.1. Klasifikasi Tomat

Klasifikasi tanaman tomat menurut Bhowmik (2012) :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Devisio	: <i>Spermatophyta</i>
Sub devisio	: <i>Angiospermae</i>
	: <i>Eudicotyledonae</i>
	: <i>Asterid</i>
Ordo	: <i>Solanales</i>
Famili	: <i>Solanaceae</i>
Genus	: <i>Solanum</i>
Species	: <i>S. lycopersicum</i>

### 2.7.2. Kandungan Tomat

Tomat merupakan tanaman yang banyak ditemukan di daerah tropis seperti Indonesia. Buah ini mengandung solanin, saponon, asam folat, asam malat, asam sitrat, likopen, alfa dan  $\beta$  karoten, protein, lemak, vitamin, mineral, dan histamin (Canene-Adam et al., 2005). Tomat merupakan buah yang kaya likopen, zat pigmen yang berfungsi sebagai antioksidan tubuh. Kadar likopen yang ada di buah tomat berkisar dari 70 – 130 mg/kg dan tergantung pada varietas, lokasi geografik, teknik kultivasi, dan derajat kematangan buah tomat (Rath et al., 2009).

Ekstrak likopen dari tomat biasanya digunakan sebagai pewarna makanan. Zat ini memberikan warna mulai dari kuning ke merah. Ekstrak likopen dari tomat juga digunakan sebagai makanan / suplemen makanan (misalnya,

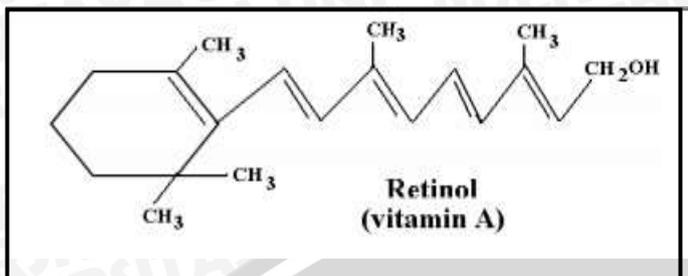
antioksidan atau manfaat kesehatan lainnya). Hasil ekstrak ini juga dapat digunakan sebagai antioksidan dalam makanan (Rath et al, 2009).

Kulit tomat memiliki konsentrasi karotenoid yang tinggi. Jumlah karotenoid yang diabsorpsi di dalam usus jauh lebih banyak pada pasta tomat dengan kulit tomat dibandingkan tanpa kulit tomat. Kulit tomat juga mengandung flavonol, salah satu fitokimia termasuk kuersetin dan kaempferol (Bhowmik et. al., 2012).

**Tabel 2.1. Kandungan nilai gizi dan kalori dalam tomat per 100 g bahan makanan.**

No	Jenis Zat	Sari Air Tomat	Tomat Muda	Tomat Masak
1.	Kalori (kal)	15	23	20
2.	Protein (g)	1	2	1
3.	Lemak (g)	0,2	0,7	0,3
4.	Karbohidrat (g)	3,5	2,3	4,2
5.	Vitamin A (SI)	600	320	1.500
6.	Vitamin B (mg)	0,5	0,07	0,6
7.	Vitamin C (mg)	10	30	40
8.	Kalsium (mg)	7	5	5
9.	Fosfor (mg)	15	27	26
10.	Besi (mg)	0,4	0,5	0,5
11.	Air (g)	94	93	94

### 2.7.3. Vitamin A



Gambar 2.5 Struktur Vitamin A (Chutani, 2008)

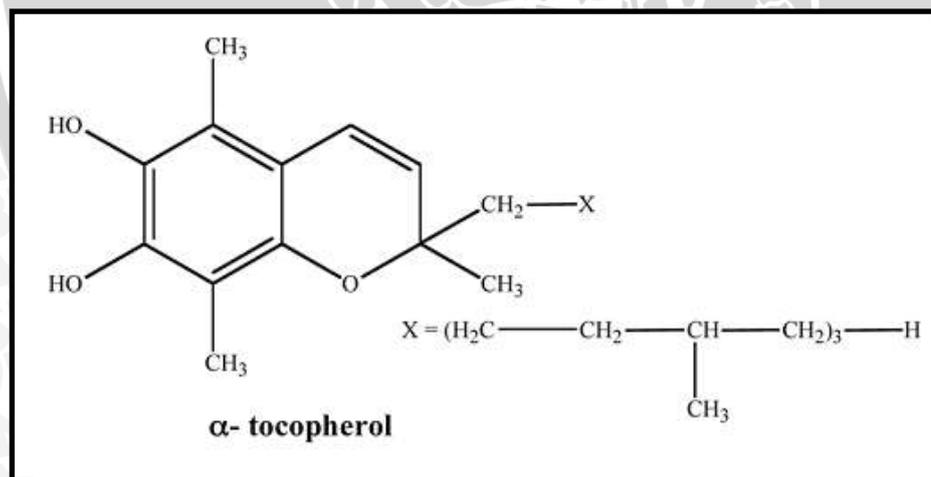
Vitamin A adalah turunan dari  $\beta$  ionon yang memiliki aktivitas biologis dari *all-trans retinol*. Retinol, retinal, dan asam retinoid merupakan vitamin A yang paling sering digunakan. Vitamin A memiliki rantai tetraene yang terdiri dari dua unit isoprene, oleh sebab itu vitamin A termasuk dalam golongan lipid poliprenoid (isoprenoid/ terpin)(Koner B. C., 2006).

Tumbuhan memproduksi karotenoid yang nantinya sebagai precursor vitamin A dalam tubuh manusia. Menurut Raiola (2014), zat karotenoid merupakan komposisi nutrisi yang amat penting dalam tomat, oleh sebab itu antioksidan tertinggi berasal dari zat ini. Karotenoid adalah tetrapene yang termasuk dalam pigmen yang larut lemak. Di dalamnya termasuk karotenoid provitamin A, seperti  $\beta$  karoten dan  $\beta$  kriptoxantin, dan karotenoid non-provitamin A seperti lutein dan likopen.  $\beta$  karoten, selain sebagai pro-vitamin A memiliki sifat antioksidan. Zat ini bereaksi dengan radikal bebas dan membentuk resonansi radikal yang berpusat karbon stabil pada bagian alifatik dengan ikatan ganda alternatif(Koner B. C., 2006; Raiola, 2014).

### 2.7.4. Vitamin C

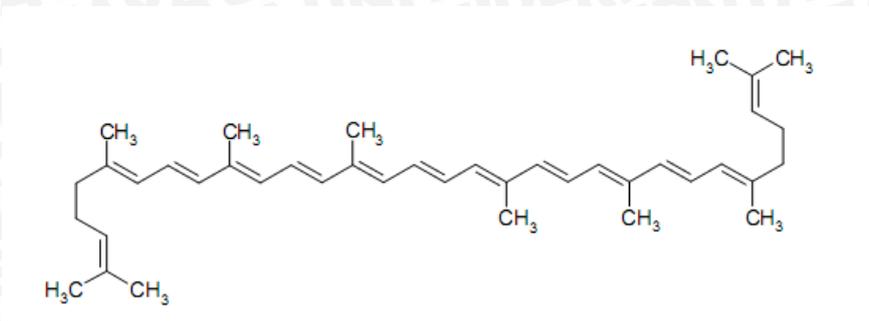
Vitamin C atau asam askorbat adalah antioksidan yang larut air. Vitamin C bekerja sama dengan vitamin E untuk meregenerasi alfa tokoferol dari radikal

alfa tokoferol di membran dan lipoprotein. Asam askorbat sebagai asam vinyl karboksil menyalurkan pasangan elektron antara hidroksil dan karbonil. ROS mengoksidasi askorbat menjadi monodehidroaskorbat dan menjadi dehidroaskorbat. ROS tereduksi menjadi air sedangkan bentuk oksidasi dari askorbat relatif stabil dan tidak reaktif, sehingga tidak terjadi kerusakan seluler. Asam askorbat dalam diabetes berfungsi sebagai inhibito enzim aldose reduktase sehingga penggunaan dari pereduksi ekuivalen berkurang. Ekuivalen pereduksi berguna sebagai konversi glutation teroksidasi (GSSG) menjadi glutation tereduksi (GSH) yang selanjutnya mencegah penumpukan sorbitol di jaringan. Vitamin C juga berfungsi sebagai minimalisir pembentukan AGE dengan cara mengurangi penumpukan sorbitol di jaringan. Antioksidan ini juga meredam radikal superoksida yang dihasilkan oleh proses autooksidasi glukosa dan sintesis nitrit oksida (Chutani, 2008; Setiawan dan Suhartono, 2005).



Gambar 2.6 Struktur alfa tokoferol (Flora, 2009)

### 2.7.5. Likopen



**Gambar 2.7 Struktur All-trans Likopen (Syamsudin, 2013)**

Likopen adalah zat pigmen fitokimia yang ada pada buah tomat. Likopen memiliki isomer  $\beta$  karoten yang bersifat larut lemak, memiliki rumus kima  $C_{40}H_{56}$  dan berat molekul sebesar 536,89. Zat karotenoid ini mengandung 11 ikatan rangkap dua yang terkonjugasi, yang dapat berfungsi menonaktifkan radikal bebas. Sebagai *polyene*, likopen akan bereaksi isomerisasi *cis-trans* yang akan diinduksi oleh cahaya dan energi panas, maupun reaksi kimia. Likopen yang diperoleh dari tanaman lebih cenderung dalam bentuk *-trans*, dimana likopen yang telah dikonsumsi oleh manusia 50% akan berbentuk isomer *cis* (Syamsudin, 2013).

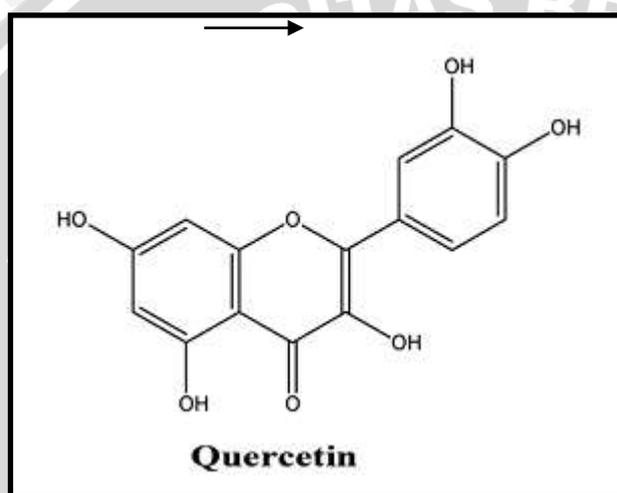
Senyawa likopen merupakan karotenoid seperti  $\beta$  karoten, akan tetapi likopen tidak dapat membentuk vitamin A dalam tubuh. Hal ini dikarenakan likopen tidak memiliki struktur cincin  $\beta$  inone. Likopen dapat meninaktivasi hidrogen peroksida, nitrogen dioksida, dan menurunkan kerentanan kerusakan DNA akibat stres oksidatif. Sebagai antioksidan, likopen memiliki kemampuan *singlet-oxygen-quenching* dua kali lipat dari  $\beta$  karoten dan sepuluh kali lipat dari kemampuan alfa tokoferol, melalui mekanisme transfer elektron ke radikal bebas dan penarikan hidrogen. Tidak hanya sebagai antioksidan, likopen juga berfungsi

sebagai agen neuroprotektif, antiproliferatif, antikanker, antiinflamasi, dan agen hipokolestronemik (Oyehini *et. al.*, 2014; Syamsudin, 2013).

#### 2.7.6. Kuersetin

Kuersetin adalah salah satu bioflavonoid. Flavonoid adalah senyawa polifenol dengan struktur difenilpropan yang terdiri dari dua cincin aromatik yang berhubungan melalui tiga atom karbon yang biasanya dalam bentuk heterocycle teroksigenasi. Flavonoid memiliki 15 atom karbon, dua cincin benzena yang dihubungkan dengan tiga rantai linear atom karbon. Berbagai subgrup dari flavonoid diklasifikasikan berdasarkan pola substitusi dari cincinnya. Kuersetin flavonol (3',3,4',5,7-pentahydroxyflavone) adalah flavonoid diet yang paling banyak. Jenis Flavonoid ini dapat ditemukan di buah-buahan, sayur-mayur, serta minyak zaitun, anggur merah, dan teh. Kuersetin menghambat terjadinya stress oksidatif melalui beberapa mekanisme, antara lain : menangkap radikal bebas (*scavaging free radical*), inhibisi xantin oksidase, peroksidasi lipid, dan perlekatan ion metal. Senyawa ini dapat memperbaiki kerusakan jaringan pankreas yang disebabkan oleh stres oksidatif dengan cara menstabilkan peroksidasi lipid dan secara tidak langsung meningkatkan produksi antioksidan endogen, yaitu glutathione (GSH). GSH dapat mengkonversi hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air. Kuersetin dapat melindungi sel-sel yang menderita stres oksidatif dengan menghambat meningkatnya konsentrasi  $Ca^{2+}$  intraseluler yang berkepanjangan dan mencegah kematian sel *Ca^{2+}*-dependent. Kuersetin memiliki berbagai kegunaan lainnya antara lain: sebagai antiinflamasi, antialergi, antiviral, antitrombotik, antimutagenik, antineoplastik, dan efek sitoprotektif. (Flora, 2009; Oyenihi *et. al.*, 2014).

Dalam keadaan hiperglikemia pada penderita diabetes, kuersetin berguna menurunkan kadar glukosa darah puasa tikus dan meningkatkan toleransi glukosa, melindungi sel  $\beta$  pankreas dari stres oksidatif. Kuersetin meningkatkan sekresi insulin pada sel sekretorik insulin, menurunkan peroksidasi lipid, dan meningkatkan aktivitas enzim antioksidan seperti superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase (GPx), dan katalase (.Oyenihi *et. al.*, 2014)

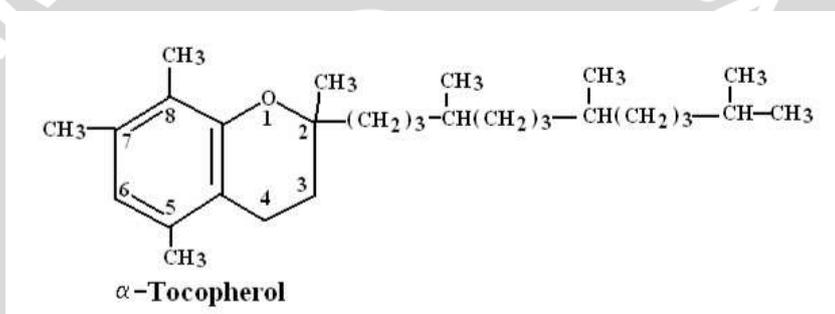


Gambar 2.8 Struktur Kuersetin (Flora, 2009)

#### 2.7.7. Vitamin E

Senyawa vitamin E biasanya memiliki rantai alfa tokoferol dan terdapat beberapa yang memiliki rantai  $\beta$ , delta, dan gamma. Alfa tokoferol adalah adanya cincin tocol (6-hidroksikromans) dengan satu substitusi poliisoprenoid dan 3 grup metil. Jadi vitamin E juga termasuk dalam golongan isoprenoid dan terpen.  $\beta$ , gamma, dan delta tokoferol memiliki posisi dan jumlah substitusi metil di cincin tokolnya. Vitamin E bersifat larut lemak, dapat terdegradasi dalam keadaan beku, pemasakan dengan temperatur yang tinggi, dan proses makanan (Koner, 2006).

Vitamin E memiliki efek pencegahan diabetes, sensitivitas insulin, kontrol glikemik, glikasi protein, komplikasi mikrovaskuler, penyakit kardiovaskuler beserta faktor resikonya. Senyawa ini memiliki efek sebagai sistem pertahanan terhadap radikal bebas dan memperbaiki transpor glukosa serta sensitivitas insulin. Konsumsi vitamin E dalam jangka panjang dapat meningkatkan kadar antioksidan GSH pada sel darah merah yang penting untuk melindungi jaringan tubuh, terutama  $\beta$  pankreas dari ROS (Robertson *et. al.*, 2003; Setiawan dan Suhartono, 2005).



**Gambar 2.8 Struktur Alfa Tokoferol (Chutani, 2006)**

## 2.8. Pengaruh Kulit Tomat terhadap Diabetes Melitus tipe 2

Dari hasil penelitian farmasi di Pakistan, kandungan di dalam tomat, terutama likopen memiliki efek yang sangat penting dalam mereduksi stres oksidatif pada pasien DM tipe 2. Hal ini sangatlah bermanfaat untuk menghambat terjadinya komplikasi kardiovaskuler yang diakibatkan oleh gangguan oksidatif yang berat. Suplementasi likopen meningkatkan kadar glutathion dan metabolit antioksidan yang sangat penting dalam mempertahankan kadar aktivitas glutathion peroksidase sebagai enzim pereduksi  $H_2O_2$  yang dibentuk dari dismutasi dari anion superoksida oleh superoksida dismutase (Memon *et al.*, 2014).