

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Ruellia Tuberosa* Linn sebagai Agen Terapi

*Ruellia Tuberosa* L. nama lainnya pletekan. Klasifikasi *Ruellia Tuberosa* L. yakni [9] :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisio	: Spermatophyta
Division	: Magnoliophyte
Class	: Magnoiopsida
Subclass	: Asteridae
Ordo	: Scrophulariales
Family	: Acanthaceae
Genus	: <i>Ruellia</i>
Spesies	: <i>Ruellia Tuberosa</i> Linn



**Gambar 1. *Ruellia Tuberosa* L. [30]**

*Ruellia Tuberosa* L. secara tradisional digunakan untuk pengobatan sebagai diuresis, antidiabetic, antipiretik, antihipertensi, antiinflamasi dan bahan antidote [10]. Menurut penelitian Mamdouh dkk, kandungan bioaktif yang terkandung dalam tanaman pletekan (*Ruellia tuberosa* L.) ini yaitu sterol, triterpenoid, alkaloid, flavonoid dan senyawa fenolik [11]. Dari analisa GC-MS, senyawa bioaktif pada ekstrak akar pletekan (*Ruelia tuberosa* L.) terdapat kandungan triterpenoid yang cukup besar. Senyawa triterpenoid dalam tanaman pletekan diketahui bersifat sebagai antioksidan [6]

Triterpenoid adalah senyawa metabolit sekunder yang kerangka karbonnya berasal dari enam satuan isopropena (2-metilbuta-1,3-diene). Yaitu kerangka karbon yang dibangun oleh enam satuan C<sub>5</sub>, dan diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik, seperti skualena. Senyawa ini berbentuk siklik dan sering memiliki gugus fungsi golongan alcohol, aldehida, ataupun asam karboksilat [35]. Triterpenoid merupakan golongan terbesar dari senyawa metabolit dan juga tersebar luas dalam tumbuhan dan hewan [36]. Triterpenoid dalam tanaman juga ditemukan bersamaan dengan steroid dan sterol. Senyawa triterpenoid dapat dijumpai pada bagian akar, batang, daun, buah maupun biji tanaman [37]

Sebagian besar senyawa triterpenoid mempunyai efek fisiologis pada hewan maupun manusia. Sehingga banyak dipergunakan sebagai obat, seperti untuk pengobatan penyakit diabetes. Sedangkan pada tumbuhan itu sendiri, senyawa triterpenoid sebagai senyawa untuk mempertahankan diri dari lingkungan (*survival system defence*). Sebagai contoh untuk anti-fungus, insektisida, anti pemangsa, anti bakteri dan antivirus [38]. Diantara senyawa alami lainnya, triterpenoid pentasiklik (PTS) merupakan suatu bahan farmakologi aktif dan bekerja pada proses bertindak atas metabolisme glukosa. Sehingga beberapa senyawa triterpenoid dengan struktur yang mirip ataupun identic dengan PTS dapat digunakan untuk menurunkan kadar glukosa darah [39]

## **2.2 Diabetes Mellitus**

Istilah diabetes mellitus berasal dari bahasa Yunani, yaitu diabetes yang berarti mengalir terus atau bocor, sedangkan kata mellitus berasal dari bahasa Latin yang artinya madu atau manis. Istilah tersebut menunjukkan atau menggambarkan tingginya kadar gula dalam urin penderitanya (adanya cairan manis yang mengalir terus). Dalam bahasa Indonesia penyakit ini dikenal sebagai penyakit “kencing manis” dan merupakan penyakit endokrin yang paling umum ditemukan. Penyakit ini ditandai dengan naiknya kadar gula darah (hiperglikemia) dan tingginya kadar gula darah dalam urin atau disebut dengan glikosuria [12].

Diabetes mellitus merupakan penyakit gangguan metabolik yang ditandai dengan tingginya kadar glukosa atau hiperglikemi. Hiperglikemi terjadi karena adanya gangguan sekresi insulin sehingga berakibat pada metabolisme karbohidrat, lipid dan protein [13]. Diabetes melitus tipe 1 disebabkan oleh degenerasi sel beta pankreas akibat infeksi virus, pemberian senyawa toksin, *diabetogenic (streptozotocin, alloxan)*, atau secara genetik yang mengakibatkan rendahnya produksi insulin hingga berhentinya produksi insulin. Hal tersebut mengakibatkan penurunan kadar glukosa yang masuk dalam otot [14].

### **2.3 Mekanisme *Streptozotocin (STZ)***

*STZ* diinjeksi ke dalam tubuh merupakan sumber radikal bebas NO. *STZ* akan masuk ke dalam sel beta pankreas dan akan merusak sel beta pankreas melalui 2 jalur, yaitu alkilasi DNA dan sebagai donor NO. Donor NO dapat memicu nekrosis sel beta pankreas, karena NO merupakan radikal bebas yg akan merusak membrane sel beta pankreas dengan cara mengambil atom hidrogen pada membran sel. Selain itu, NO dari *STZ* akan bereaksi dengan radikal bebas endogen superoksida membentuk peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>) yang sangat toksik. Tingginya peroksinitrit yang semakin meningkat akan menyebabkan stress oksidatif dimana terjadi ketidakseimbangan antara radikal bebas yang dihasilkan dengan antioksidan dalam tubuh sehingga akan terjadi kerusakan membran sel. Nekrosis sel beta pankreas akan menghambat produksi dan sekresi insulin [32]

Produksi dan sekresi insulin yang terhambat akan menyebabkan glukosa yang diserap oleh usus tidak dapat diubah menjadi glikogen dan lemak dan tidak dapat diedarkan ke sel otot, sehingga banyak glukosa yang tertimbun dalam darah, atau terjadi hiperglikemia [33]

Tingginya kadar glukosa dalam darah akan menyebabkan peningkatan kerja ginjal dalam mempertahankan volume dan komposisi cairan tubuh. Ketika terjadi filtrasi pada ginjal, kapiler-kapiler pada glomerulus akan mengalami tekanan karena tingginya kadar glukosa dalam darah. Hal tersebut menyebabkan aliran darah menjadi terganggu dan menyebabkan hipertrofi nefron sehingga

menyebabkan terjadinya gangguan fungsi ginjal yang kemudian dapat menyebabkan gagal ginjal kronik. Terganggunya fungsi ginjal tersebut akan mempengaruhi profil pita protein. Terjadinya kerusakan tersebut juga akan mempengaruhi kerja enzim protease [34]

## 2.4 Induksi Hewan Model Diabetes Mellitus

Untuk pembuatan hewan model diabetes mellitus menggunakan senyawa toksin yaitu *Streptozotocin* (STZ). STZ lebih banyak digunakan karena dapat langsung merusak sel beta pancreas [15]. *Streptozotocin* memasuki sel  $\beta$  pankreas dengan menyebabkan kerusakan pada DNA sel. *Streptozotocin* memasuki sel *Langerhans* pankreas melalui *glucose transporter 2* (GLUT 2) dan menyebabkan alkilasi. Di dalam sel, *streptozotocin* serupa dengan glukosa yang diangkut oleh rotein pengangkut glukosa yaitu GLUT 2, tapi tidak dikenali oleh protein pengangkut glukosa lainnya [16]. *Streptozotocin* bekerja dengan cara membentuk radikal bebas sangat reaktif yang dapat menimbulkan kerusakan pada membrane sel, protein dan *deoxyribonucleic acid* (DNA). Kerusakan DNA menginduksi aktivitas poli ADP ribosilasi, kemudian poli ADP ribosilasi mengakibatkan deplesi  $\text{NAD}^+$  seluler dan ATP mengalami penurunan. Deplesi simpanan energy sel akan mengakibatkan nekrosis sel  $\beta$  pankreas sehingga menyebabkan gangguan produksi insulin oleh sel *Langerhans* pankreas [17].

*Rattus norvegicus* merupakan salah satu hewan coba yang sering digunakan dalam penelitian, karena memiliki bentuk organ, proses biokimia dan biofisik yang mirip dengan mamalia sehingga dapat diaplikasikan pada manusia [18]. *Rattus Norvegicus* jantan mempunyai respon yang cepat, memberikan gambaran secara ilmiah yang mungkin terjadi pada manusia, memiliki rentang kadar glukosa darah normal yang mirip dengan manusia, siklus hormone lebih stabil karena jantan tidak ada siklus hormone estrogen, kondisi biologis dan fisiologis lebih stabil [19]. Sistem klasifikasi tikus *Rattus norvegicus* menurut Myers and Armitage (2004) [20] adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Filum	: Chordata
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia

Subkelas	: Theria
Ordo	: Rodensia
Famili	: Muridae
Subfamili	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus Norvegicus</i>



**Gambar 2.** *Rattus norvegicus* [31]

## **2.5 Pengaruh DM terhadap Aktivitas Protease Ginjal**

Protease merupakan enzim hydrolase yaitu enzim yang memecah protein [21]. Enzim ini memecah seluruh protein tanpa terkecuali atau hanya bisa memecah protein pada titik tertentu. Protease dihasilkan oleh neutrof dan dapat membunuh bakteri pada jaringan yang mengalami inflamasi. Enzim protease pada ginjal terdapat pada kapsula bowman, yang terdiri dari tiga lapis yaitu kapiler selapis sel endothelium pada glomerulus, lapisan kaya protein sebagai membrane dasar dan selapis sel epitel melapisi dinding kapsula bowman. Cairan dalam darah didorong keluar dari glomerulus dan melewati tiga lapisan tersebut dan masuk ke kapsula bowman dalam bentuk filtrat glomerular, disinal protein dalam bentuk molekul kecil banyak ditemukan.

Kerusakan pada glomerulus ginjal dapat mempengaruhi aktivitas protease. Kerusakan tersebut dapat menyebabkan protein berukuran kecil akan lolos dan akan terjadi hiperfiltrasi protein dimana pada keadaan normal tidak terjadi [22]. ROS merupakan molekul yang terbentuk karena adanya reaksi reduksi pada oksigen. Efek yang ditimbulkan dalam tubuh dapat dinetralsir oleh antioksidan alami. Namun terjadi ketidakseimbangan antara ROS dan antioksidan pada kondisi tertentu, disebut dengan stress oksidatif [23]. Keadaan

stress oksidatif menimbulkan kerusakan oksidatif mulai dari tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh. ROS yang berlebih dapat berikatan dengan senyawa apa saja terutama komponen membrane seperti lipid dan protein yang menyebabkan transport membrane terganggu. Peningkatan aktivitas protease yang berlebihan di ginjal akan menyebabkan seluruh protein membrane rusak sehingga integritas membrane hilang dan merusak jaringan ginjal [24]. Sehingga peningkatan aktivitas protease dapat digunakan sebagai parameter untuk mengetahui ginjal yang sedang mengalami kerusakan.

## **2.6 Pengaruh DM terhadap Profil Protein Ginjal**

Ginjal adalah organ yang merupakan gabungan dari nefron. Nefron terdiri atas glomerulus dan tubulus yang berfungsi memfiltrasi, mereabsorpsi dan mensekresikan cairan tubuh. Fungsi ginjal dapat terganggu akibat kerusakan komponen ginjal [25].

Kerusakan komponen ginjal dapat terjadi karena adanya inflamasi pada jaringan ginjal yang akhirnya menyebabkan obstruksi ginjal. Terjadinya parut tubulointerstisial akan memicu produksi enzim protease sebagai respon inflamasi yang sifatnya katalitik dan memecah molekul protein. Adanya enzim tersebut akan memicu pemutusan rantai protein sehingga terjadi perubahan kadar antigen protein yang disebut degradasi protein. Hal tersebut menyebabkan perubahan struktur protein. Adanya perubahan struktur protein dapat teridentifikasi dengan mengamati profil pita protein dengan metode elektroforesis SDS-PAGE.

Sodium Dodesil Sulfat Poliakrilamida Gel Elektroforsis (SDS-PAGE) merupakan metode analisis profil protein yang paling umum digunakan, terutama untuk memantau pemurnian protein. Prinsip metode ini yaitu pemisahan protein bermuatan berdasarkan berat molekulnya dengan teknik elektroforesis menggunakan poliakrilamida. Sehingga dapat digunakan untuk menentukan massa molekul relative protein. Sedangkan Sodium Dodesil Sulfat (SDS) adalah detergen anionic yang dapat melarutkan molekul hidrofobik yang memberikan muatan negative pada seluruh protein sehingga protein terdenaturasi. Selama SDS-PAGE berlangsung, seluruh protein bergerak menuju anoda yang bermuatan positif [7].

Metode ini digunakan untuk mengetahui profil pita protein dari serum hewan coba [26]. Gambaran profil protein dari serum dan perubahan kadar protein dapat dijadikan sebagai deteksi awal dalam melakukan diagnosa dan prognosa terhadap suatu penyakit [27]. Peradangan atau inflamasi pada jaringan mengekspresikan beberapa protein serum yang diproduksi sebagai respon dari inflamasi. Protein – protein tersebut diantaranya adalah CRP (115 kDa), haptoglobin (40 kDa), dan ferritin (330 kDa) [28].

## 2.7 Hipotesis Penelitian

1. Pemberian terapi ekstrak n-heksana akar *Ruellia Tuberosa L.* dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus *Rattus novergicus* yang terpapar MLD-STZ
2. Pemberian terapi ekstrak n-heksana akar *Ruellia Tuberosa L.* dapat menurunkan aktivitas enzim protease pada ginjal tikus *Rattus novergicus* yang terpapar MLD-STZ
3. Pemberian terapi ekstrak n-heksana akar *Ruellia Tuberosa L.* dapat memperbaiki kondisi ginjal yang rusak berdasarkan profil proteinnya pada tikus *Rattus novergicus* yang terpapar MLD-STZ