

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Melitus Tipe 1

2.1.1 Definisi DM Tipe 1

Diabetes Melitus sudah lama dikenal di Mesir pada abad ke 16 sebelum masehi. Istilah diabetes sendiri berasal dari bahasa Yunani yaitu diabetes yang berasal dari kata *sypon* menunjukkan pembentukan urin yang berlebihan, mellitus yang berasal dari kata *meli* yang berarti madu (Irland, 2010).

Diabetes melitus tipe 1 (DM tipe 1) adalah suatu kumpulan gejala yang timbul dengan karakteristik hiperglikemia (peningkatan glukosa darah) kronik disertai berbagai kelainan metabolik akibat gangguan hormonal (Mansjoer *dkk*, 2008). Pada DM tipe 1 terjadi destruksi sel beta yang disebabkan oleh autoimun (tipe 1A) dan idiopatik (tipe 1B) yang menimbulkan berbagai komplikasi kronik pada mata, ginjal, saraf, dan pembuluh darah (Cotran *et al.*, 2007). DM tipe 1 atau *insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM) disebut juga sebagai diabetes onset juvenilis yang ditandai dengan rendahnya kadar insulin akibat rusaknya sel beta pankreas dan peningkatan radikal bebas. Hal ini menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah saat puasa (normal rata-rata sekitar 70-120 mg/dl) sekitar 190-200 mg/dl pada manusia (Guyton & Hall, 2006). Sedangkan kadar glukosa darah pada mencit jantan normal rata-rata adalah dengan rentang 71-124 mg/dl (Soemardji, 2004).

2.1.2 Etiologi DM Tipe 1

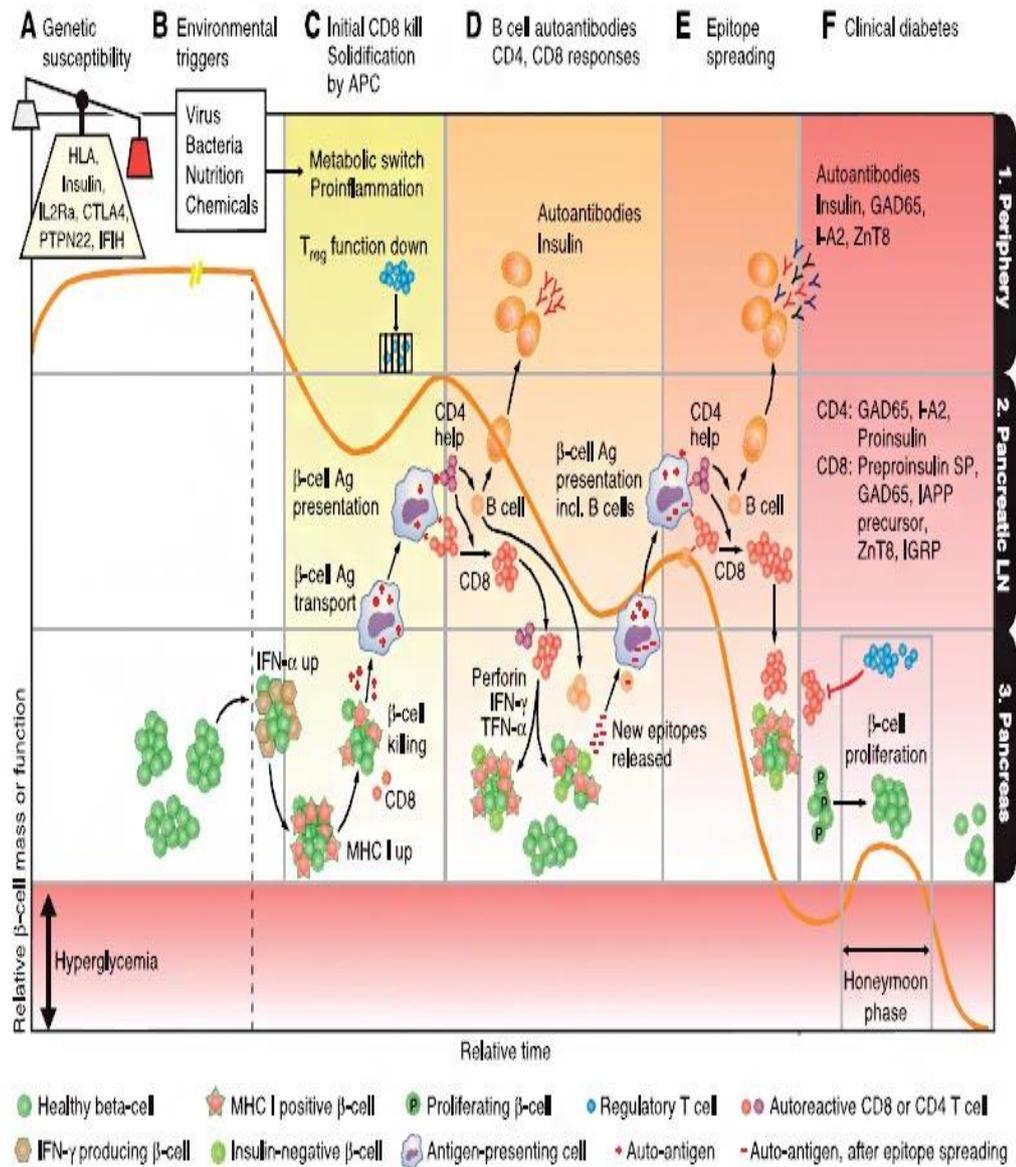
Seiring berjalannya waktu Insiden DM tipe 1 meningkat dengan pesat terutama di negara maju dan waktu onsetnya cenderung menuju usia yang lebih

muda. Hal ini merupakan kemungkinan dari kerentanan kombinasi genetik dan paparan oleh faktor pemicu yang ada di lingkungan. Faktor lingkungan tersebut antara lain konsumsi susu sapi, konsumsi protein gandum dan vitamin D. Beberapa gen rentan mutasi yang menjadi pemicu DM tipe 1 ialah HLA (*Human leukocyte antigen*), gen insulin, PTPN22 (*Protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 22*), IL2R4 (*Interleukin-2 receptor- α*), CTLA-4 (*Cytotoxic T lymphocyte-associated protein 4*) dan IFIH1 (*Interferon-induced helicase 1*). Disamping itu faktor infeksi juga dapat memicu perkembangan DM tipe 1, baik infeksi virus ataupun bakteri (Van Belle *et al.*, 2011).

Sekitar 95% penyebab dari DM tipe 1 diakibatkan oleh interaksi faktor lingkungan secara genetik sehingga menyebabkan disregulasi dari sistem imun (Guyton & Hall, 2006). Proses disregulasi sistem imun ditandai dengan adanya perkembangan autoantibodi terhadap sel islet, antibodi yang terbentuk antara lain GAD-65 (*glutamic acid decarboxylase antibodies 65*, merupakan enzim biosintesis dari neurotransmitter GABA), ICA512 (Islet Cell Autoantibodies 512), IA-2A (*insulinoma associated 2 autoantibodies*), ZnT-8 (*beta cell-specific zinc transporter*), dan IAA (*Insulin Auto Antibodies*) yang dapat dijadikan sebagai penanda pada DM tipe 1. Interaksi ini kemudian dilanjutkan dengan perkembangan dari penyakit autoimun yang merusak sel penghasil insulin pada islet pankreas dari sel langerhans (Longo *et al.*, 2011).

2.1.3 Patofisiologi DM Tipe 1

DM tipe 1 adalah keadaan hiperglikemia kronis yang berhubungan dengan kehancuran selektif sel beta pankreas sehingga pankreas tidak mampu memproduksi insulin. Mekanisme penurunan masa dan fungsi sel beta akibat destruksi sel beta tersebut dapat diamati secara ringkas pada gambar 2.1 sebagai berikut,



Gambar 2.1 Perkembangan Masa atau Fungsi Sel Beta Pankreas pada DM Tipe 1 (van Belle *et al.*, 2011).

Patogenesis DM tipe 1 diawali dengan adanya mutasi pada gen rentan yang dipicu oleh faktor lingkungan baik virus, bakteri, nutrisi dan bahan kimia. Pada pankreas, mutasi tersebut menyebabkan meningkatnya ekspresi dari INF- α dan MHC kelas 1 oleh sel beta yang merupakan pemicu serangan autoreaktif oleh sel limfosit T CD8. Akibatnya, terbentuklah antigen sel beta yang kemudian ditangkap oleh APC (*Antigen presenting cells*) dan ditranser menuju *peripancreatic-draining lymph node*. Sementara itu di perifer, faktor lingkungan tersebut mengubah keadaan metabolik yang mendukung keadaan proinflamasi sehingga meningkatkan respon efektor sel limfosit T terhadap fungsi sel Treg. Antigen sel beta tadi juga dipresentasikan kedalam konteks proinflamasi oleh sel helper CD4 yang menginisiasi konversi sel B menjadi sel plasma sehingga dihasilkannya autoantibodi terhadap insulin. Hal ini menyebabkan sel limfosit T CD8 yang autoreaktif terus dirangsang untuk membelah dan bermigrasi ke pankreas sehingga menyebabkan destruksi sel beta yang ditandai dengan penurunan masa sel beta secara bertahap. Stres yang disebabkan oleh destruksi sel beta, yang melibatkan perforin, IFN- α , dan TNF- α , IL-1 menyebabkan sel beta menghentikan produksi insulin (*pseudoatrophy*) (Longo *et al.*, 2011).

Destruksi sel beta juga menyebabkan pelepasan antigen sel beta baru. Antigen ini kemudian kembali ditangkap oleh APC, terjadi migrasi sel B, dan kembali bermigrasi nodul limfa pankreas sehingga terbentuknya suatu lingkaran setan pada proses ini. Kemudian pada fase selanjutnya melibatkan spesifisitas baru pada sel CD4 dan CD8, sel T dan sel B dalam proses penyebarannya yang menyebabkan destruksi sel beta pankreas terus berlanjut. Hal yang aneh ditemukan juga pada reaksi inflamasi autoimun tersebut. Reaksi inflamasi autoimun tersebut juga dapat merangsang proliferasi sel beta sehingga dapat dilihat pada timeline diatas bahwa terjadi grafik fluktuatif naik dan turun pada masa sel beta pankreas. Pada keadaan hiperglikemi, reaksi remisi juga sering

ditemukan setelah gejala klinis muncul. Fase tersebut merupakan fase sementara relatif atau disebut juga dengan *honeymoon phase*. Fase ini biasanya terjadi dalam waktu beberapa bulan sampai satu tahun, yaitu suatu periode dimana ditemukannya kadar glukosa darah tidak sampai tahap hiperglikemia yang biasanya menjadi pengecoh dalam penanganan DM tipe 1 (Van Belle *et al.*, 2011).

Seiring dengan perjalanan patogenesis DM tipe 1 ditemukan adanya peningkatan kadar ICA512, GAD-65, IA-2A, IAA dan ZnT8t. Peningkatan ini disebabkan oleh beberapa faktor pencetus seperti infeksi virus dan faktor lingkungan sehingga mengaktifkan sel limfosit T yang berada di islet (*peripancreatic lymph node*) dan sirkulasi (Suryono *dkk.*, 2013). Infiltrasi sel limfosit T memicu pelepasan beberapa sitokin [*Tumor Necrosis Factor (TNF- α)*, interferon γ , dan interleukin 1 [IL-1)] yang menimbulkan peradangan pada sel beta (insulitis) dan akhirnya menyebabkan kerusakan permanen sel beta pankreas (Longo *et al.*, 2011).

2.1.4 Diagnosis Diabetes Melitus Tipe 1

Pada umumnya, pasien dengan kecurigaan terhadap penyakit diabetes mellitus dapat dilihat dari gejala klasik yang dialami. Gejala-gejala klasik tersebut berupa,

1. Poliuria (Gangguan pada frekuensi diuresis atau banyak berkemih)
2. Polidipsia (Rasa haus yang tidak berkesudahan sehingga banyak minum)
3. Polifagia (Tingginya ritme rasa lapar sehingga terjadi peningkatan konsumsi makanan)
4. Penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan penyebabnya

Untuk memperkuat diagnosis, dilakukan pemeriksaan tambahan terhadap keluhan klinis tambahan DM. Keluhan klinis tambahan DM tersebut antara lain, lemah, kesemutan, gatal-gatal, penglihatan kabur, disfungsi ereksi, dan penyembuhan luka yang buruk (Gustaviani, 2007).

Dalam menegakkan terapi perlu dilakukan pemeriksaan penyaring untuk membedakan DM tipe 1 dengan DM tipe lainnya. Kadar *C-Peptide* dan insulin yang rendah ditemukan pada kasus DM tipe 1. Cihakova (2001) mengemukakan bahwa pada penderita DM tipe 1 ditemukannya karakteristik-karakteristik secara tidak langsung antara lain,

- Adanya riwayat DM positif pada keluarga
- Ketoasidosis, ketonemia, ketouria
- Glukosuria
- Usia muda
- Memiliki badan yang kurus
- Kemungkinan 30-50% pada kembar identik
- Memiliki riwayat penyakit autoimun
- Peningkatan kadar *C-Peptide*
- Adanya antigen HLA (*Human Leukocyte Antigens*)-DR3 dan DR4
- Infiltrasi dari limfosit di sekitar islet langerhans
- Ditemukannya marker imunologis ICA512 (*Islet Cell Auto-antibody*), GAD-65 (*Glutamic Decarboxylase Auto-antobody*), IA-2A, IAA (*Insulin Auto-antibody*) dan ZnT8 pada serum

Karakteristik-karakteristik diatas perlu dilakukan pemastian lebih lanjut dengan Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) sehingga dapat menentukan langkah diagnostik dan terapi selanjutnya (Suryono dkk., 2013).

Suryono *dkk.*, (2013) membuat suatu uji diagnostik untuk mendiagnosis penyakit diabetes melitus. Uji diagnostik tersebut memiliki beberapa kriteria dalam menegakkan diagnosis terhadap diabetes mellitus. Pasien yang termasuk dalam kriteria-kriteria tersebut dikategorikan sebagai penderita diabetes mellitus. Adapun kriteria-kriteria yang dimaksud adalah sebagai berikut,

- a. Pasien dengan keluhan klinis DM dan kadar glukosa darah sewaktu ≥ 200 mg/dl.

Kadar glukosa darah sewaktu adalah hasil pemeriksaan kadar glukosa darah sesaat pada suatu hari dengan waktu acak tanpa memperhatikan waktu makan terakhir (Gustaviani, 2007).

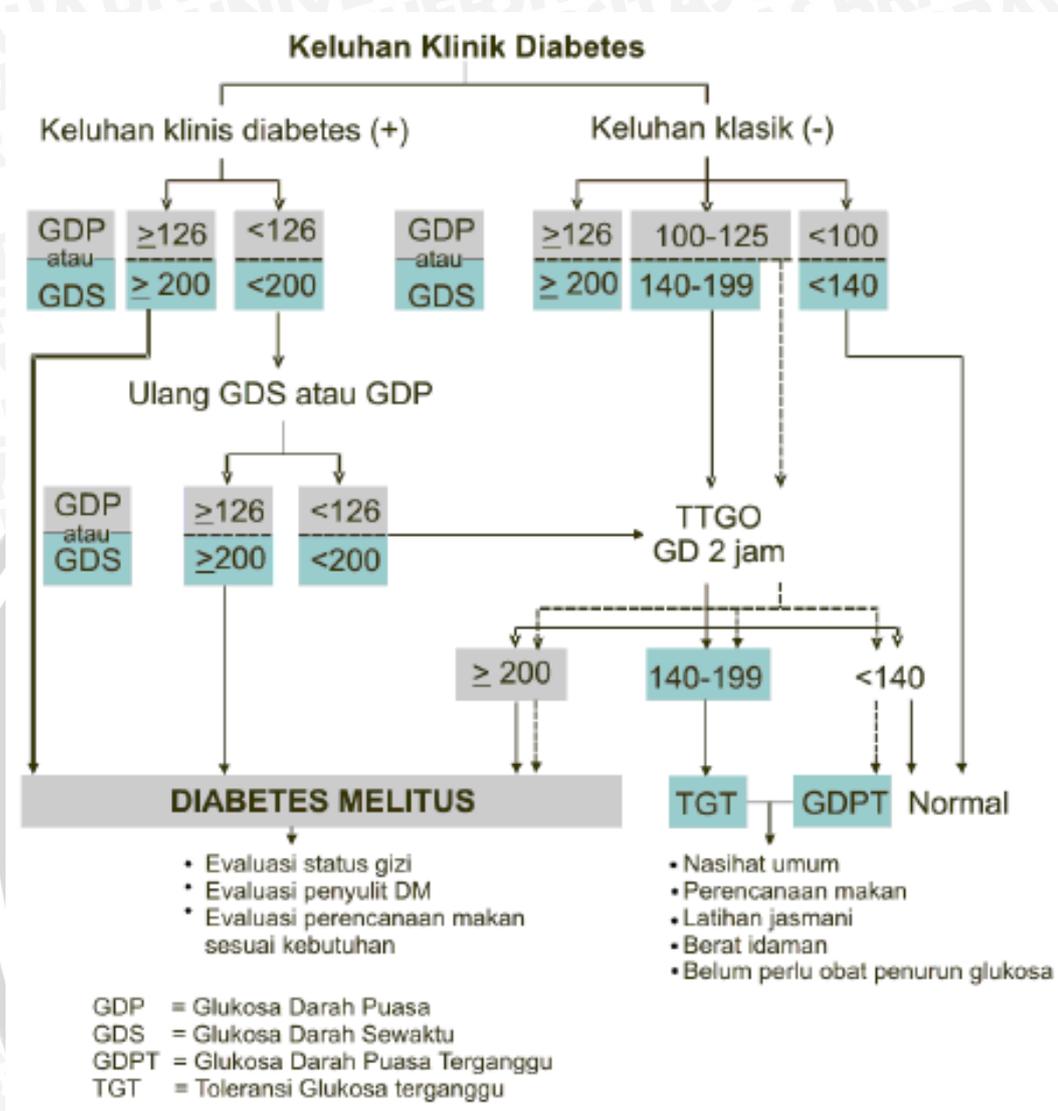
- b. Pasien dengan keluhan klinis DM dan kadar glukosa darah puasa ≥ 126 mg/dl.

Kadar glukosa darah puasa adalah hasil pemeriksaan kadar glukosa darah saat setelah tidak mendapat asupan kalori tambahan minimal selama 8 jam (Suryono *dkk.*, 2013).

- c. Pasien dengan kadar glukosa darah 2 jam pada Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) ≥ 200 mg/dl.

TTGO adalah pemeriksaan dengan memberikan larutan glukosa khusus untuk diminum. Menurut standard WHO larutan glukosa yang digunakan menggunakan beban glukosa yang setara dengan 75gr glukosa *anhidrus* yang dilarutkan ke dalam air (Gustaviani, 2007).

Kemudian langkah-langkah diagnostik tersebut dapat diamati secara ringkas pada gambar 2.2 sebagai berikut,



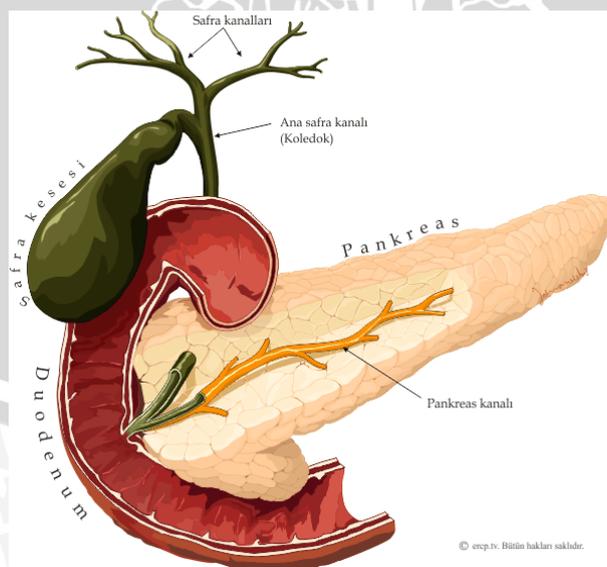
Gambar 2.2 Langkah-Langkah Diagnostik DM (Suryono *dkk*, 2013).

2.1.5 Komplikasi Diabetes Melitus

Keadaan hipoglikemia, hiperglikemia dengan ketoasidosis, dan hiperglikemia non-ketotik menjadi komplikasi akut yang paling sering pada penderita diabetes melitus. Faktor-faktor tersebut memiliki angka kematian yang tinggi, hal ini biasanya disebabkan oleh ketidaktahuan penderita pada gejala-gejala tersebut sehingga menjadi faktor terlambat datang ke rumah sakit. Pada DM tipe 1, keadaan hiperglikemia dengan ketoasidosis merupakan komplikasi akut tersering yang dijumpai (Suryono *dkk.*, 2013). Sedangkan pada keadaan kronis komplikasi DM meliputi *diabetic retinopathy*, *diabetic nephropathy*, *diabetic neuropathy*, disfungsi gastrointestinal dan urogenital, penyakit kardiovaskular, komplikasi pada ekstremitas bawah, infeksi, dan manifestasi dermatologi (Longo *et al.*, 2011).

2.2 Pankreas

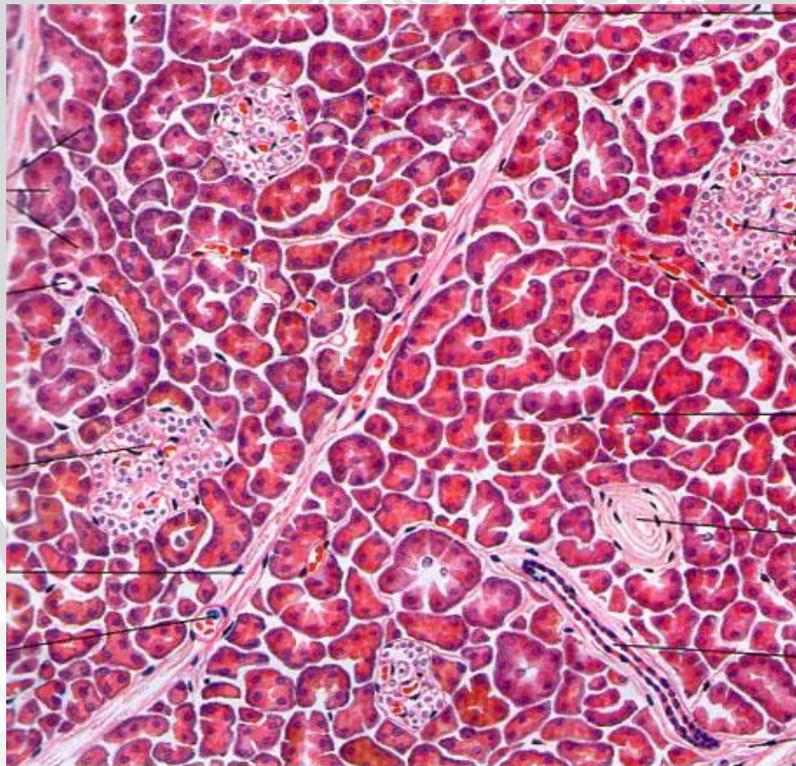
2.2.1 Anatomi



Gambar 2.3 Anatomi Pankreas (Anonymous, 2012).

Pankreas merupakan suatu kelenjar yang terletak dibelakang lambung, diantara kelenjar limpa dan duodenum. Pankreas berada pada posisi retroperitoneal sekunder dan berproyeksi sekitar ke vertebra lumbalis I atau II. Bagian yang lebar terletak di ujung sebelah kanan rongga abdomen atau disebut juga dengan kepala (*caput pancreatis*) yang cenderung ke arah bawah di dalam lekukan duodenum. *Caput pancreatis* berdekatan dengan *pars descendens duodeni* dan berlanjut sebagai badan (*corpus pancreatis*) yang menyilang *columna vertebralis*. Pada ujung kiri atau disebut juga dengan ekor (*cauda pancreatis*) merupakan bagian yang dekat dengan kelenjar limpa (Dorland, 2002).

2.2.2 Struktur Jaringan Penyusun



Gambar 2.4 Pankreas Eksokrin dan Endokrin (pandangan seksional). Pulasan: Hematoksilin dan eosin. Pembesaran lemah. (Eroschenko, 2010).

Kelenjar pankreas tersusun menjadi dua jaringan utama, asini dan pulau langerhans. Jaringan asini merupakan organ eksokrin yang berfungsi mensekresi getah pencernaan dalam duodenum, sekitar lebih dari 90% jaringan ini menempati volume pankreas. Pulau langerhans merupakan kumpulan sel berbentuk ovoid. Jaringan ini terdiri dari empat sel utama yang diklasifikasikan berdasarkan hasil sekresinya, sel alfa yang mensekresikan glukagon (berperan dalam peningkatan glukosa dalam darah), sel beta yang mensekresikan insulin (berperan dalam penurunan glukosa dalam darah), sel delta yang mensekresikan somatostatin (berperan dalam regulasi sel alfa dan beta), dan sel PP/sel gamma (berperan dalam sekresi polipeptida pankreas). Pada jaringan ini juga aliran darah lima kali lebih banyak dibanding dengan aliran pada kelenjar asini (Constanzo, 2006).

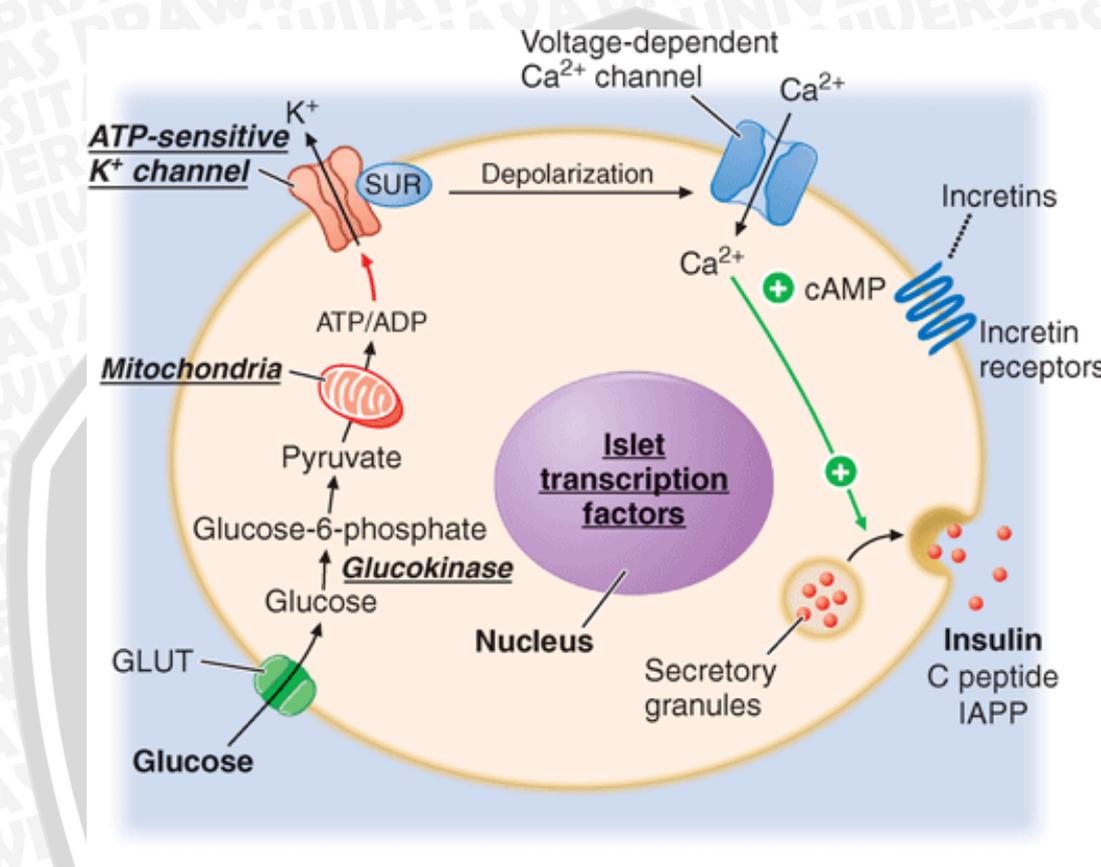
2.2.3 Sel Beta Pankreas

Sel beta pankreas merupakan sel yang paling sensitif dengan keberadaan glukosa di dalam darah (Ebong, 2006). Penderita diabetes akan mengalami perubahan morfologi pada sel beta, baik dalam ukuran maupun jumlahnya. Sel ini menyusun sekitar 68% volume pulau langerhans (Butler *et al.*, 2003). Oleh karena itu, jumlah sel beta di dalam pulau langerhans merupakan parameter yang penting dalam menentukan tingkat kerusakan pankreas.

2.2.4 Insulin

Insulin diproduksi di sel beta pankreas pada pulau langerhans pankreas. Secara kimiawi, insulin terdiri dari dua rantai peptide (rantai A dan B) dengan masing-masing 21 dan 30 asam amino yang saling dihubungkan oleh 2 jembatan disulfida. Biosintesis insulin dimulai dalam bentuk prekursor hormon insulin (preproinsulin) di retikulum endoplasma sel beta pankreas. Prekursor ini

kemudian dipecah sehingga terbentuk proinsulin dan kemudian diurai kembali oleh enzim peptidase menjadi insulin dan *C-peptide* yang nantinya akan disekresikan melalui membran sel (Longo *et al.*, 2011).



Gambar 2.5 Mekanisme Sekresi Insulin yang Distimulus oleh Glukosa (Longo *et al.*, 2011).

Berdasarkan fungsinya, insulin merupakan hormon anabolik utama. Insulin diperlukan untuk pengangkutan glukosa dan asam amino melewati membran, pembentukan glikogen menjadi dalam hati dan otot rangka, perubahan glukosa menjadi trigliserida, sistesis asam nukleat, dan sintesis protein sehingga dapat dikatakan bahwa kadar glukosa merupakan regulator utama terhadap sekresi insulin. Pengangkutan glukosa ke intrasel di mediasi

oleh transporter glukosa (GLUT-1) yang kemudian mempengaruhi aktivitas kanal ion yang memicu sekresi dari insulin (Cotran *et al*, 2007). Insulin tidak dapat digunakan peroral karena terurai oleh pepsin lambung, sehingga selalu diberikan sebagai injeksi subkutan setengah jam sebelum makan. Zat ini dirombak dengan cepat terutama di hati, ginjal, dan otot (Guyton & Hall, 2006).

2.3 Hematopoietic Stem Cell

2.3.1 Definisi Hematopoietic Stem Cell

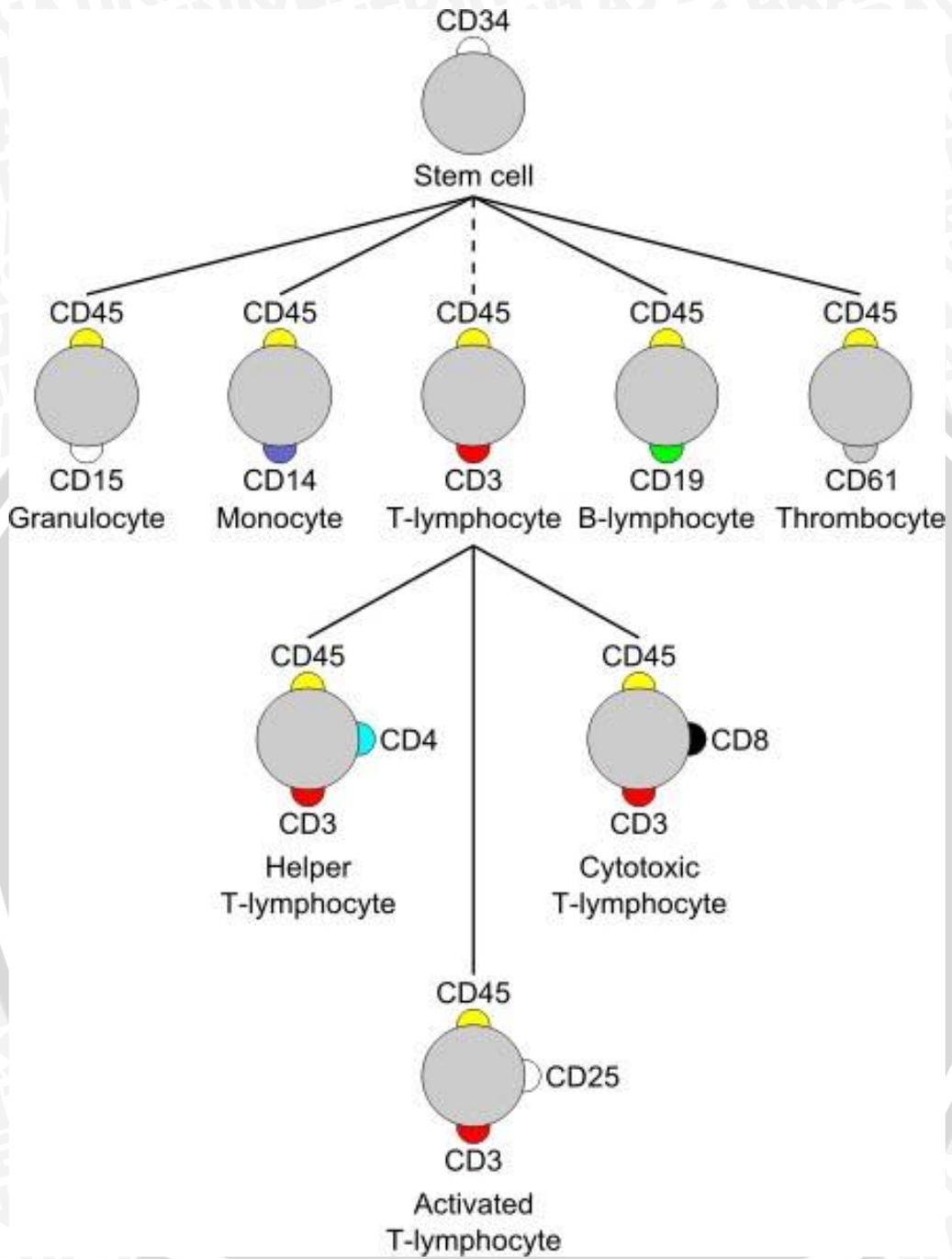
Stem cell atau sel punca adalah sel yang belum terspesialisasi yang mempunyai kemampuan atau potensi untuk berkembang menjadi berbagai jenis sel-sel yang spesifik untuk kemudian membentuk berbagai jaringan tubuh. Sel punca mempunyai dua sifat khas, yaitu kemampuan berdiferensiasi menjadi sel lain dan kemampuan meregenerasi dirinya sendiri. Berdasarkan pada kemampuannya untuk berdiferensiasi, sel punca dibagi menjadi sel punca totipotent, pluripotent, dan multipotent. Sedangkan berdasarkan sumber selnya, sel punca dibagi menjadi zigot, sel punca embrionik, fetus, sel punca darah tali pusat, dan *Adult stem cell*. *Adult stem cell* ini merupakan sel punca yang diambil dari jaringan dewasa, misalnya sumsum tulang (Sell, 2004).

Jenis sel punca dari sumsum tulang salah satunya adalah *hematopoietic stem cell* (HSC) (Abbas & Lichtman, 2005) yang merupakan sel multipotent. HSC dikenal juga dengan sel CD34+ yang mengekspresikan CD34. Sel tersebut mampu beriferensiasi menjadi semua jenis sel darah yaitu myeloid (Monosit, makrofag, neutrofil, basofil, eosinofil, eritrosit, megakariosit/platelet, dan sel dendritik) dan sel limfoid (Sel-T, Sel-B, dan sel-NK) atau disebut juga dengan *human CD34+ hematopoietic progenitor cells* (Aiuti *et al.*, 1999). Pada sinusoidal di endothelialniche terdapat *Hematopoietic Stem Cell* dengan jumlah yang

signifikan yang siap untuk masuk ke dalam darah perifer dan berdiferensiasi, sel ini biasanya diukur dengan penanda CD34 (Adam & Scadden, 2006). Lagasse (2000) telah membuktikan bahwa *hematopoietic stem cell* mampu berdiferensiasi menjadi hepatosit dan diduga mampu berdiferensiasi menjadi sel lainnya.

2.3.2 Sel CD34

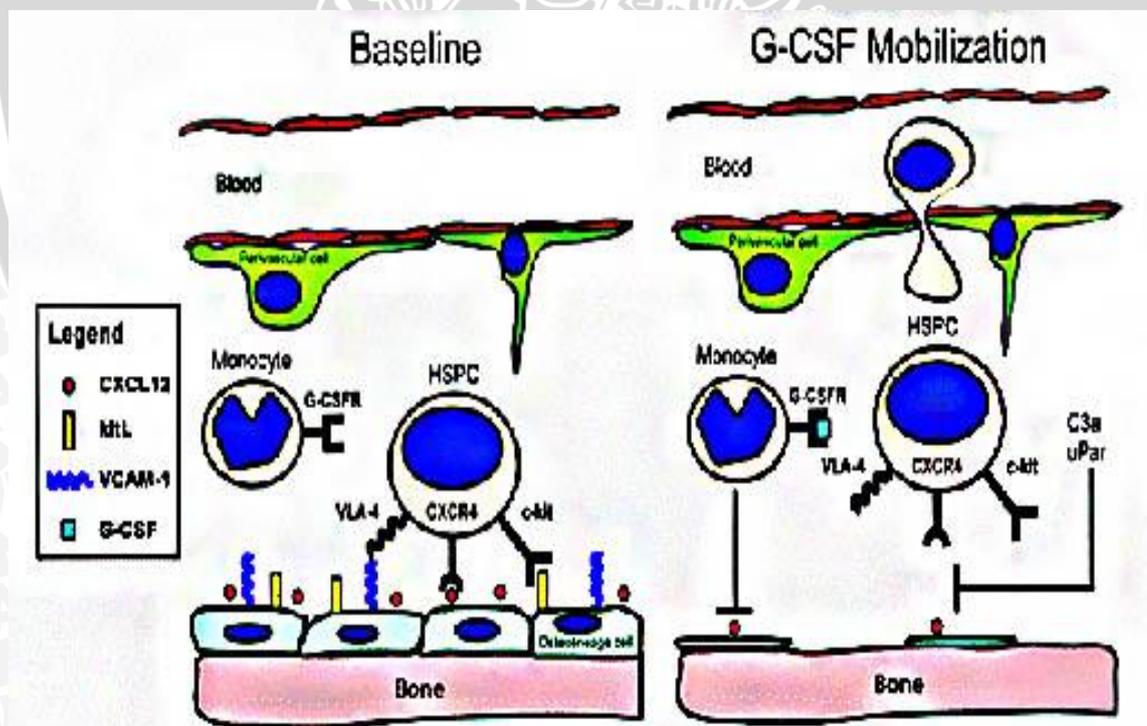
Untuk membedakan suatu populasi sel telah dibuat nomenklatur standar pada molekul permukaan sel, molekul tersebut disebut antigen *cluster of differentiation* (CD). Populasi sel tersebut dibedakan satu dengan yang lain oleh bantuan antibodi monoklonal terhadap antigen determinan subpopulasi pada permukaannya (Hoffbrand *et al.*, 2005). HSC merupakan komponen utama pada proses hematopoiesis. Terdapat dua penanda terhadap HSC yaitu CD34 dan *stem cell antigen-1* (SCA-1), dengan demikian CD34 sering kali digunakan untuk mengidentifikasi kadar *stem cell* yang terdapat pada sumsum tulang atau darah perifer (Abbas & Lichtman, 2005).



Gambar 2.6 Diferensiasi Sel Punca (CD34) (Wikipedia, 2013).

2.3.3 Mobilisasi Hematopoietic Stem Cell

Sel *osteoblast lineage* merupakan sel skeletal yang bertanggung jawab terhadap proses sintesis, deposit dan mineralisasi dari komponen matriks ekstra seluler dari tulang (Calabrese, 2012). Sel *osteoblast lineage* tersebut menahan mobilisasi HSC ke perifer dengan membentuk suatu ikatan antara reseptor dan ligan pada permukaannya. Pada permukaan HSC (CD34) terdapat *C-X-C chemokine receptor type 4* (CXCR4) yang berikatan dengan kemokin *stromal cell-derived factor 1* (SDF-1)/CXCL12 (*C-X-C Chemokine Ligand type 12*) pada sel *osteoblast lineage*. Ikatan ini menyebabkan HSC tetap berada pada tempatnya yaitu sumsum tulang. Oleh karena itu SDF-1 dan CXCR4 berpengaruh pada regulasi HSC di banyak aspek seperti migrasi dan perkembangan dari HSC (Dar et al., 2006).



Gambar 2.7 Mekanisme G-CSF dalam Mobilisasi HSC ke Sirkulasi Perifer (Link, 2010).

Pada gambar 2.7 dapat dilihat visualisasi mengenai mekanisme G-CSF dalam memobilisasi HSC ke sirkulasi perifer. Monosit merupakan salah satu faktor yang memfasilitasi mobilisasi HSC ke sirkulasi perifer. Monosit yang teraktivasi mengekspresikan reseptor G-CSF (G-CSFR) yang menekan sel *osteoblast lineage* dan kemokin SDF-1. SDF-1 juga dikenal sebagai C-X-C *chemokine receptor type 12* (CXCR12) (Kim *et al.*, 2006).

2.3.4 Penggunaan HSC pada DM tipe 1

Pengobatan berbasis HSC dinilai memiliki potensi pengobatan yang baik terutama bagi penyakit degeneratif. Penelitian Griffith *et al.*, (2010) membuktikan bahwa HSC mampu memperbaiki iskemi pada jantung yang mana berkontribusi pada perbaikan dan regenerasi miokardial. Penelitian oleh Lin *et al.*, (2010) dan Lagasse *et al.*, (2000) juga telah membuktikan bahwa HSC berkontribusi pada pengisian *stem cell* pada liver dan mampu berubah menjadi hepatosit yang berperan pada regenerasi hepatosit.

Transplantasi HSC pada DM tipe 1 telah terbukti memiliki potensi yang baik pada perbaikan prognosis dari DM tipe 1. Penelitian menunjukkan selama 2 tahun setelah dilakukannya transplantasi, 70% pasien mengalami perbaikan pada produksi insulin (Griffith *et al.*, 2010). Penelitian dengan menggunakan kombinasi immunosupresan pada pasien DM tipe 1 telah menunjukkan bahwa pemberian HSC secara infus bertindak sinergis untuk meregulasi dan memperbaiki sistem imun dan meningkatkan sistem imun pada jaringan (Voltarelli *et al.*, 2008).

2.4 *Saccharomyces cerevisiae*

2.4.1 Taksonomi



Gambar 2.8 Gambaran Ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) dan Perbesaran 6000x (Deerinck, 2013).

Taksonomi *Saccharomyces* spp. menurut Sanger (2004), adalah:

Kingdom	: Eukaryota
Phylum	: Fungi
Subphylum	: Ascomycota
Class	: Saccharomycetes
Order	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Saccharomyces</i>
Spesies	: <i>Saccharomyces cerevisiae</i>

2.4.2 Deskripsi

Saccharomyces cerevisiae merupakan salah satu dari jenis ragi yang paling banyak dimanfaatkan. Ragi ini menjadi bahan dasar dalam pembuatan bir, roti, tempe, dan tape (Landecker, 1972). Secara mikroskopik *Saccharomyces cerevisiae* berbentuk bulat lonjong, silindris, oval atau bulat telur yang dipengaruhi oleh strainnya dengan diameter 5-10 μm (Lodder, 1970). Secara makroskopik ragi berpenampilan mempunyai koloni, warna kuning muda, permukaan berkilau, licin, tekstur lunak, dan memiliki sel bulat dengan askospora 1-8 buah (Landecker, 1972). Pada umumnya, ragi dapat tumbuh dan berkembang biak dalam gula sederhana seperti glukosa, maupun gula kompleks disakarida yaitu sukrosa. Selain itu untuk menunjang kebutuhan hidupnya, ragi tumbuh dalam lingkungan yang hangat, lembab, mengandung oksigen (aerobik), karbohidrat, dan nitrogen. Suhu optimum pertumbuhannya adalah 30°C, suhu maksimumnya 35-37°C, dan suhu minimumnya 9-11°C (Judoamijojo *dkk.*, 1992). Pada uji fermentasi gula-gula mempunyai reaksi positif pada gula dekstrosa, galaktosa, sukrosa, maltose, raffinosa, trehalosa, dan negative pada gula laktosa (Lodder, 1970).

Di Indonesia, terdapat banyak pemanfaatan ragi untuk menjadi berbagai macam bahan siap guna dan bahan ragi sangat mudah didapat dengan harga yang murah (Rahmawati, 2009). *Beta glucan* merupakan kandungan utama dari ragi *Saccaromyces cerevisiae*, telah terbukti memiliki kemampuan yang tinggi sebagai imunostimulan dan imunoregulator (Life Source Basic, 2002). *Beta glucan* tersebut diketahui terdapat pada dinding sel ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan perbandingan sebanyak 80% lebih banyak dibanding dengan jamur, gandum, dan bakteri curdlan (Mason, 2004).



Gambar 2.9 Salah Satu Produk Ragi Instan *Saccharomyces cerevisiae* yang Beredar di Pasaran (Sutomo, 2011).

2.4.3 *Beta Glucan*

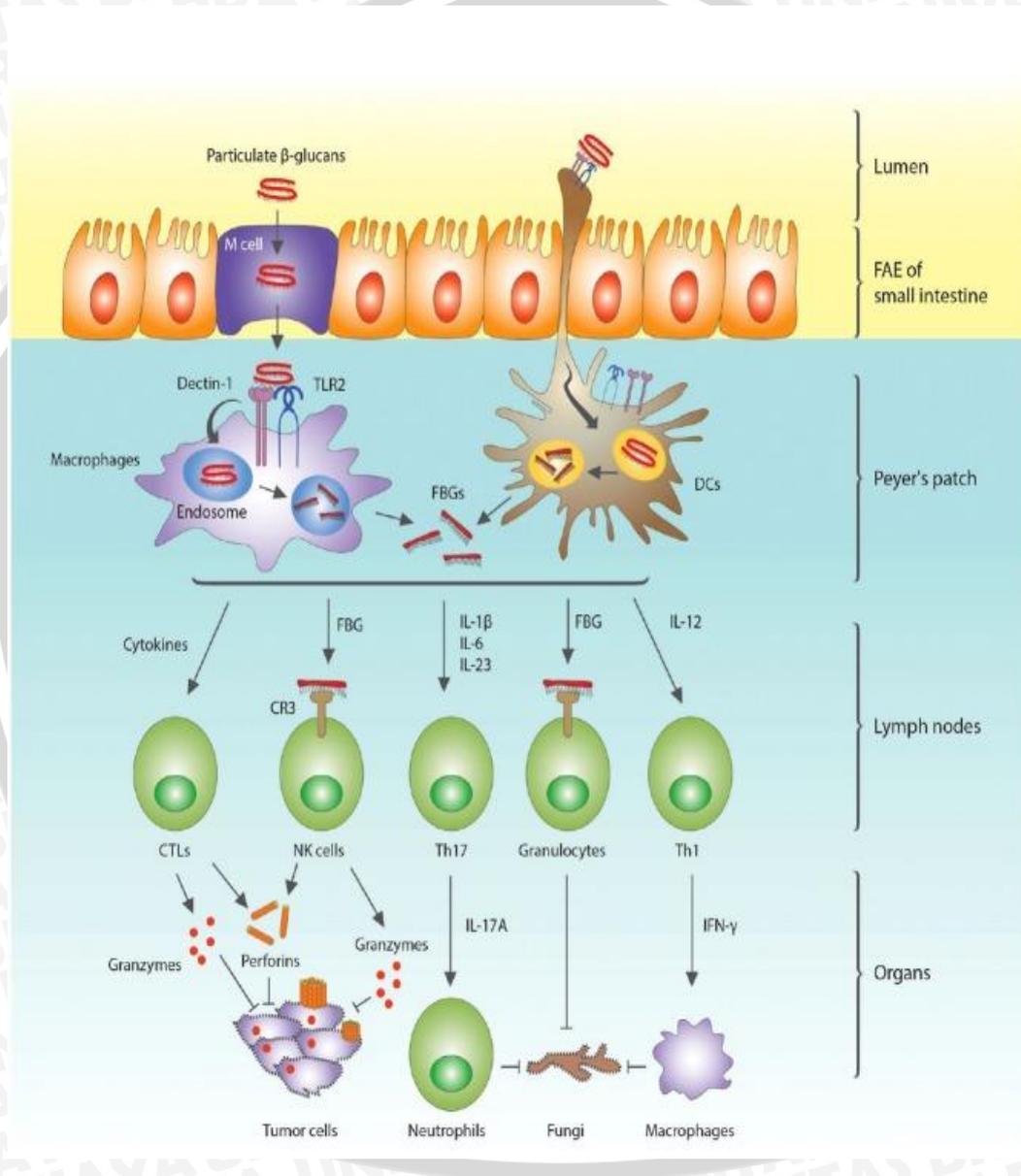
Beta glucan (β -1,3-1,6-Glucan) adalah senyawa polisakarida dari monomer *D-glucose* yang dihubungkan dengan ikatan β -glycosidic. *Beta glucan* pada dasarnya merupakan bentuk dari produk serat pangan yang biasa digunakan sebagai sumber nutrisi pada makanan dan suplemen (Hong *et al.*, 2004). *Beta glucan* banyak ditemukan pada ragi *Saccharomyces cerevisiae*, jamur, gandum, dan bakteri curdlan dari *Alcaligenes faecalis*. Studi menunjukkan bahwa stimulasi *beta glucan* pada hematopoiesis, sehingga pada terapinya *beta glucan* digunakan untuk meregulasi sistem imunitas dari kemoterapi (Ito *et al.*, 2009).

2.4.4 Penggunaan *Beta Glucan* Sebagai Terapi DM

Beta glucan memiliki pengaruh dalam peningkatan dan mobilisasi granulosit serta progenitornya dengan menstimulasi produksi dari *granulocyte colony stimulating factor* (G-CSF). Mekanisme *beta glucan* dalam mempromosikan mobilisasi G-CSF dan meningkatkan ikatan G-CSF dengan reseptornya, *granulocyte colony stimulating factor receptor* (G-CSFR), pada monosit menyebabkan sel *osteoblast lineage* yang berada di sumsum tulang tersupresi. Supresi sel *osteoblast lineage* menyebabkan regulasi ekspresi CXCR4 dan SDF-1 di sumsum tulang menurun. (Kim *et al.*, 2006). CXCR4 dan SDF-1 merupakan faktor yang dapat berperan dalam proses mobilisasi HSC ke sirkulasi (Christopher & Link, 2008). Penurunan ekspresi CXCR4 dan SDF-1 di sumsum tulang diharapkan dapat menginduksi mobilisasi HSC ke sirkulasi dan terjadinya mekanisme perbaikan jaringan yang rusak, khususnya sel beta pankreas yang mengalami kerusakan pada penyakit diabetes melitus kronis (Lin *et al.*, 2010).

2.4.5 Farmakokinetik *Beta Glucan*

Mekanisme penyerapan beta glukon dan proses regulasi sistem imun dalam menstimulus ekspresi G-CSF melalui aktivasi makrofag dapat diamati pada gambar 2.10 sebagai berikut,



Gambar 2.10 Mekanisme Penyerapan Beta Glukan dan Aktivasi Makrofag (Ito et al, 2013).

Ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan kandungan utamanya *Beta Glucan* diserap secara maksimal oleh tubuh melalui oral pada saat perut dalam keadaan kosong melalui enterosit. Sel mikrofold (Sel M) merupakan sel enterosit spesifik yang tidak memiliki mikrovili namun memiliki mikrofold yang luas sehingga disebut dengan sel mikrofold atau sel M. Sel M yang merupakan bagian dari *patch peyer* menyerap *beta glucan* yang kemudian akan ditangkap oleh *antigen-presenting cells* (APCs), salah satunya adalah makrofag. *Beta glucan* tersebut akan ditangkap oleh *CR3 (CD11b/CD18)-receptor*, *human b-glucan receptor (Dectin-1)*, dan *toll like receptor2/6 (TLR2/6)* pada permukaan makrofag yang kemudian akan mengaktifkan proses regulasi sistem imun dengan mengekspresikan G-CSF. Stimulus G-CSF oleh *beta glucan* tersebut memobilisasi HSC ke perifer (Ito *et al.*, 2009).

Beberapa studi telah mengemukakan bahwa telah ditemukannya fragmen kecil dan besar dari *beta glucan* pada serum yang mana membuktikan bahwa *beta glucan* diserap dengan baik melalui jalur intestinal (Frey *et al.*, 1996). *Beta glucan* juga dikategorikan sebagai makanan, sehingga dapat dengan mudah dikonsumsi tanpa air, diserap dengan cepat di usus, dan tidak mudah terpengaruh oleh temperatur yang tinggi (Hong *et al.*, 2004).

2.5 **Streptozotocin**

2.5.1 **Definisi**

Streptozotocin (STZ) adalah zat kimia yang mengandung toksin bagi sel beta penghasil insulin pada pankreas (Brentjens & Saltz, 2001). Zat yang memiliki rumus kimia (2 - deoxy - 2 - (((methylnitrosoamino) carbonyl) amino) - D - glucopyranose) atau dengan rumus molekul $C_8H_{15}N_3O_7$ ini digunakan pada bidang kesehatan untuk mengobati kanker pada pulau langerhans dan membuat

hewan percobaan model diabetes melitus (Vavra *et al.*, 1959). *Streptozotocin* ditemukan pada akhir tahun 1950 dan awalnya zat ini digunakan sebagai antibiotik. Obat ini ditemukan dari strain mikroba tanah (*Streptomyces achromogenes*) oleh ilmuwan di perusahaan obat Upjohn (sekarang merupakan bagian dari Pfizer) di Kalamazoo, Michigan. Pada pertengahan tahun 1960, hasil penelitian menemukan bahwa *streptozotocin* adalah toksin yang merusak sel beta pankreas secara selektif. Kemudian zat ini dipertimbangkan sebagai obat untuk membuat hewan model diabetes, dan pengobatan kanker (Rerup, 1970).



Gambar 2.11 Rumus Kimia dari *Streptozotocin* (Lenzen, 2008).

Streptozotocin termasuk dalam senyawa *glucosamine-nitrosourea*. Seperti agen alkylating yang lain pada kelas nitrosourea, *streptozotocin* mengandung toksin terhadap sel yang sehat dengan cara merusak DNA. *Streptozotocin* bekerja langsung pada sel β pankreas, dengan aksi sitotoksiknya yang dimediasi oleh *reactive oxygen species* (ROS) sehingga dapat digunakan sebagai induksi DM. *Streptozotocin* dikenali sebagai glukosa yang ditransport

oleh protein *glucose transport* (GLUT 2) yang masuk ke dalam sel, tetapi zat ini tidak dikenali oleh GLUT lainnya dan menyebabkan alkilasi DNA. Alkilasi atau masuknya gugus metil dari STZ ke dalam molekul DNA ini menyebabkan kerusakan fragmentasi DNA (Elsner *et al.*, 2000). Hal ini menjelaskan bahwa *streptozotocin* bersifat toksin pada sel beta, karena menyebabkan kadar GLUT 2 menjadi tinggi di dalam sel beta (Firdous *et al.*, 2009).

Adapun sifa-sifat kimia dari *streptozotocin* menurut Lenzen (2008) adalah:

- Senyawa *methylnitrosourea* bersifat sitotoksik yang melekat pada molekul glukosa (*2-deoxyglucose*) yang merupakan turunan dari glukosamin
- Analog glukosa yang merupakan racun bagi sel beta pankreas
- Komponen hidrofilik
- Relatif stabil pada PH 7,4 dan suhu 37°C (daya tahan sampai satu jam)

Selain itu, *streptozotocin* banyak digunakan untuk menginduksi terjadinya diabetes melitus tipe 1 atau diabetes melitus tipe 2 pada penelitian-penelitian yang menggunakan hewan coba. Penelitian oleh Arora *et al.*, (2009) pada mencit jantan galur Balb/C membuktikan bahwa pemberian *streptozotocin* dosis tinggi 180 mg/kgBB sebanyak satu kali injeksi secara intraperitoneal menyebabkan gangguan yang berat pada sekresi insulin sehingga terjadi diabetes melitus tipe 1 (*insulin-dependent diabetes mellitus*). Sedangkan pemberian STZ dosis rendah 40 mg/kgBB secara intraperitoneal selama 5 (lima) hari berturut-turut juga menyebabkan terjadinya diabetes melitus tipe 1, namun jika dikombinasikan dengan diet tinggi lemak maka akan terjadi gangguan ringan pada sekresi insulin sehingga terjadi kelelahan pada sel beta pankreas dan mengakibatkan terjadinya diabetes melitus tipe 2 (*non-insulin-dependent diabetes mellitus*).

2.5.2 Penggunaan Streptozotocin

Streptozotocin telah diakui oleh *Food and Drug Administration* (FDA) di Amerika untuk mengobati kanker yang telah metastase pada sel langerhans pankreas. Sejak zat ini diketahui berbahaya karena mengandung toksin tersebut, zat ini jarang digunakan lagi untuk mengobati kanker dan terbatas (Vavra *et al.*, 1959). Pada pasien yang menderita kanker tersebut, *streptozotocin* dapat mengurangi ukuran tumor dan gejalanya (hipoglikemia karena terlalu banyak produksi insulin oleh insulinomas) dengan dosis yang diberikan sebesar 500 mg/m²/hari intravena selama 5 hari dan diulangi 4-6 minggu (Rerup, 1970; Rossini *et al.*, 1977; Brentjens & Saltz, 2001).

