

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-keduanya (ADA, 2011). Menurut kriteria diagnostik PERKENI (Perkumpulan Endokrinologi Indonesia) 2011, seseorang dikatakan menderita diabetes jika memiliki kadar gula darah puasa > 126 mg/dL dan pada tes sewaktu > 200 mg/dL. Kadar gula sepanjang hari bervariasi, dimana akan meningkat setelah makan dan akan kembali normal dalam waktu 2 jam. Jadi, dapat dikatakan bahwa Diabetes Mellitus adalah suatu penyakit kronis yang disebabkan oleh ketidakmampuan tubuh menggunakan insulin atau memproduksi insulin.

2.1.1 Epidemiologi Diabetes Mellitus

Berdasarkan WHO, prevalensi DM di Indonesia cukup besar. WHO memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. Senada dengan WHO, International Diabetes Federation (IDF) pada tahun 2009, memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM dari 7,0 juta pada tahun 2009 menjadi 12,0 juta pada tahun 2030. Meskipun terdapat perbedaan angka prevalensi, laporan keduanya menunjukkan adanya peningkatan jumlah penyandang DM sebanyak 2-3 kali lipat pada tahun 2030 (IDF, 2009).

2.1.2 Definisi dan Epidemiologi Diabetes Mellitus Tipe 2

DM tipe 2 (tak tergantung insulin), adalah DM yang lebih umum, penderitanya lebih banyak dibandingkan DM tipe 1. Penderita DM tipe 2 mencapai 90,9% dari keseluruhan populasi penderita diabetes. DM tipe 2 sering terjadi pada usia di atas 45 tahun, tetapi akhir-akhir ini di kalangan remaja dan anak-anak populasi penderita DM tipe 2 meningkat. Berbeda dengan DM tipe 1, penderita pada DM tipe 2 pada tahap awal umumnya dapat dideteksi jumlah insulin yang cukup di dalam darahnya, disamping kadar glukosa yang juga tinggi. DM tipe 2 bukan disebabkan oleh kurangnya sekresi insulin, tetapi karena sel-sel sasaran insulin gagal atau tak mampu merespons insulin secara normal. Keadaan ini lazim disebut resistensi insulin. Obesitas atau kegemukan sering dikaitkan dengan penderita DM tipe 2 (ADA, 2011).

Laporan dari hasil penelitian di berbagai daerah di Indonesia yang dilakukan pada dekade 1980-an menunjukkan sebaran prevalensi DM tipe 2 antara 0,8% di Tanah Toraja, sampai 6,1% yang didapatkan di Manado. Hasil penelitian pada rentang tahun 1980-2000 menunjukkan peningkatan prevalensi yang sangat tajam. Sebagai contoh, pada penelitian di Jakarta (daerah urban), prevalensi DM dari 1,7% pada tahun 1982 naik menjadi 5,7% pada tahun 1993 dan meroket lagi menjadi 12,8% pada tahun 2001 (PERKENI, 2011). Berdasarkan data-data yang ada tersebut, DM tipe 2 merupakan tipe DM yang yang paling besar di Indonesia.

2.1.3 Patofisiologi Diabetes Mellitus Tipe 2

DM tipe 2 disebabkan karena dua hal, yaitu penurunan respons jaringan perifer terhadap insulin, yang dinamakan resistensi insulin dan kemampuan sel β

pankreas untuk mensekresi insulin sebagai respons terhadap adanya glukosa. Konsentrasi insulin yang tinggi mengakibatkan reseptor insulin berupaya melakukan pengaturan sendiri (*self regulation*) dengan menurunkan jumlah reseptor atau *down regulation*. Akibatnya, terdapat dampak pada penurunan respon reseptornya dan lebih lanjut mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Di lain pihak, kondisi hiperinsulinemia juga dapat mengakibatkan desensitisasi reseptor insulin pada tahap *postreceptor*, yaitu penurunan aktivasi reseptor kinase, translokasi *glucose transporter* dan aktivasi *glycogen synthetase*. Kejadian ini mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Pada resistensi insulin, terjadi peningkatan produksi glukosa dan penurunan penggunaan glukosa sehingga mengakibatkan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemik). Pada tahap ini, sel β pankreas mengalami adaptasi diri sehingga responsnya untuk mensekresi insulin menjadi kurang sensitif, dan pada akhirnya membawa akibat pada defisiensi insulin (ADA, 2011).

2.1.4 Terapi Farmakologi Diabetes Mellitus Tipe 2

Dalam pengatasan DM tipe 2 pada umumnya, pengobatan secara farmakologis diperlukan untuk mengatasi gangguan yang ada. Terdapat beberapa jenis golongan terapi farmakologis, diantaranya (PERKENI, 2011):

2.1.4.1 Obat hipoglikemik oral

Berdasarkan cara kerjanya, OHO dibagi menjadi 5 golongan:

- A. Pemicu sekresi insulin (*insulin secretagogue*): sulfonilurea dan glinid
- B. Peningkat sensitivitas terhadap insulin: metformin dan tiazolidindion
- C. Penghambat glukoneogenesis (metformin)

D. Penghambat absorpsi glukosa: penghambat alfa glukosidase.

E. Dipeptidyl peptidase (DPP-IV) inhibitor

A. Pemicu Sekresi Insulin

1) Sulfonilurea

Obat golongan ini mempunyai efek utama meningkatkan sekresi insulin oleh sel beta pankreas, dan merupakan pilihan utama untuk pasien dengan berat badan normal dan kurang. Namun masih boleh diberikan kepada pasien dengan berat badan lebih. Untuk menghindari hipoglikemia berkepanjangan pada berbagai keadaan seperti orang tua, gangguan faal ginjal dan hati, kurang nutrisi serta penyakit kardiovaskular, tidak dianjurkan penggunaan sulfonilurea kerja panjang.

2) Glinid

Glinid merupakan obat yang cara kerjanya sama dengan sulfonilurea, dengan penekanan pada peningkatan sekresi insulin fase pertama. Golongan ini terdiri dari 2 macam obat yaitu Repaglinid (derivat asam benzoat) dan Nateglinid (derivat fenilalanin). Obat ini diabsorpsi dengan cepat setelah pemberian secara oral dan diekskresi secara cepat melalui hati. Obat ini dapat mengatasi hiperglikemia post prandial.

B. Peningkat sensitivitas terhadap insulin

1) Tiazolidindion

Tiazolidindion (pioglitazon) berikatan pada Gamma Peroxisome Proliferator Activated Receptor (PPAR- γ), suatu reseptor inti di sel otot dan sel lemak. Golongan ini mempunyai efek menurunkan resistensi insulin dengan

meningkatkan jumlah protein pengangkut glukosa, sehingga meningkatkan ambilan glukosa di perifer. Tiazolidindion dikontraindikasikan pada pasien dengan gagal jantung kelas I-IV karena dapat memperberat edema/retensi cairan dan juga pada gangguan faal hati. Pada pasien yang menggunakan tiazolidindion perlu dilakukan pemantauan faal hati secara berkala.

C. Penghambat glukoneogenesis

1) Metformin

Obat ini mempunyai efek utama mengurangi produksi glukosa hati (glukoneogenesis), di samping juga memperbaiki ambilan glukosa perifer. Terutama dipakai pada penyandang diabetes gemuk. Metformin dikontraindikasikan pada pasien dengan gangguan fungsi ginjal (serum kreatinin >1,5 mg/dL) dan hati, serta pasien-pasien dengan kecenderungan hipoksemia (misalnya penyakit serebro-vaskular, sepsis, renjatan, gagal jantung). Metformin dapat memberikan efek samping mual. Untuk mengurangi keluhan tersebut dapat diberikan pada saat atau sesudah makan. Selain itu harus diperhatikan bahwa pemberian metformin secara titrasi pada awal penggunaan akan memudahkan dokter untuk memantau efek samping obat tersebut.

D. Penghambat Glukosidase Alfa (Acarbose)

Obat ini bekerja dengan mengurangi absorpsi glukosa di usus halus, sehingga mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah sesudah makan. Acarbose tidak menimbulkan efek samping hipoglikemia. Efek samping yang paling sering ditemukan ialah kembung dan flatulens.

E. DPP-IV inhibitor

Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) merupakan suatu hormon peptida yang dihasilkan oleh sel L di mukosa usus. Peptida ini disekresi oleh sel mukosa usus bila ada makanan yang masuk ke dalam saluran pencernaan. GLP-1 merupakan perangsang kuat pelepasan insulin dan sekaligus sebagai penghambat sekresi glukagon. Namun demikian, secara cepat GLP-1 diubah oleh enzim *dipeptidyl peptidase-4* (DPP-4), menjadi metabolit GLP-1-(9,36)-amida yang tidak aktif.

2.1.4.2 Obat Injeksi

A) Insulin

Berdasar lama kerja, insulin terbagi menjadi empat jenis, yakni:

- Insulin kerja cepat (*rapid acting insulin*)
- Insulin kerja pendek (*short acting insulin*)
- Insulin kerja menengah (*intermediate acting insulin*)
- Insulin kerja panjang (*long acting insulin*)
- Insulin campuran tetap, kerja pendek dan menengah (*premixed insulin*).

Kebutuhan insulin pada diabetes tipe 1 antara 0,5-1,0 unit/kgBB perhari. Pada terapi inisiasi terapi awal insulin dapat diberikan dengan dosis 0,5-0,75 unit/kgBB perhari. Namun pada diabetes tipe 2 penggunaan insulin biasanya digunakan 10unit perhari atau 0,1-0,2 unit/kgBB perhari. Insulin diberikan dengan cara injeksi subkutan.

B) Agonis GLP-1

Pengobatan dengan dasar peningkatan GLP-1 merupakan pendekatan baru untuk pengobatan DM. Agonis GLP-1 dapat bekerja sebagai perangsang pelepasan insulin yang tidak menimbulkan hipoglikemia ataupun peningkatan berat badan yang biasanya terjadi pada pengobatan dengan insulin ataupun sulfonilurea. Agonis GLP-1 bahkan mungkin menurunkan berat badan. Efek agonis GLP-1 yang lain adalah menghambat pelepasan glukagon yang diketahui berperan pada proses glukoneogenesis. Pada percobaan binatang, obat ini terbukti memperbaiki cadangan sel beta pankreas. Efek samping yang timbul pada pemberian obat ini antara lain rasa sebah dan muntah.

2.2 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu atom, gugus, atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan pada orbit paling luar, termasuk atom hidrogen, logam-logam transisi, dan molekul oksigen. Adanya 'elektron tidak berpasangan ini, menyebabkan radikal bebas secara kimiawi menjadi sangat aktif. Radikal bebas dapat bermuatan positif (kation), negatif (anion), atau tidak bermuatan (Halliwell dan Gutteridge, 2000).

2.2.1 Definisi dan Sumber Radikal Bebas

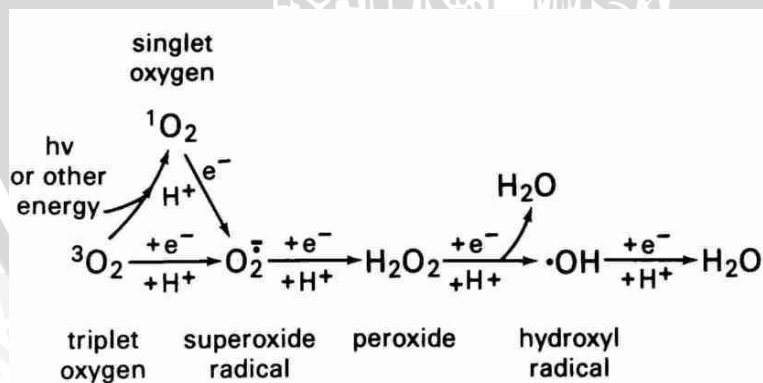
Sumber radikal bebas bisa berasal dari proses metabolisme dalam tubuh (internal) dan dapat berasal dari luar tubuh (eksternal). Dari dalam tubuh mencakup superoksida (O_2^*), hidroksil ($*OH$), peroksil (ROO^*), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen ($1O_2$), oksida nitrit (NO^*), dan peroksinitrit ($ONOO^*$). Dari luar tubuh antara lain berasal dari: asap rokok, polusi, radiasi, sinar UV, obat, pestisida, limbah industri, dan ozon (Papas, 1999).

Radikal bebas pada umumnya dapat mempunyai efek yang sangat menguntungkan, seperti membantu destruksi sel-sel mikroorganisme dan kanker. Namun, produksi radikal bebas berlebihan dan produksi antioksidan tidak memadai dapat menyebabkan kerusakan sel-sel jaringan dan enzim-enzim. Kerusakan jaringan dapat terjadi akibat gangguan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas asam lemak atau dikenal sebagai peroksidasi lipid. Aktivitas radikal bebas dapat menjadi penyebab atau mendasari berbagai keadaan patologis. Di antara senyawa-senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$) merupakan senyawa yang paling berbahaya karena mempunyai tingkat reaktivitas sangat tinggi. Radikal hidroksil dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel yaitu: (1) Asam lemak tak jenuh jamak (PUFA) yang merupakan komponen penting fosfolipid penyusun membran sel (2) DNA, yang merupakan piranti genetik dari sel. (3) Protein, yang memegang berbagai peran penting seperti enzim, reseptor, antibodi, pembentuk matriks, dan sitoskeleton (Papass, 1999; Halliwell dan Gutteridge, 2000).

Regulasi jumlah radikal bebas secara normal dalam sistem biologis tubuh dilakukan oleh enzim-enzim antioksidan endogenous seperti enzim superoksida dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx), dan katalase (CAT). Pengukuran radikal bebas di dalam tubuh sangat sulit dilakukan karena radikal bebas bereaksi sangat cepat sehingga seringkali dilakukan pengukuran tidak langsung melalui produk turunannya seperti MDA dan 4-hidroksinonenal. Kedua senyawa tersebut sering digunakan untuk pengukuran reaksi radikal bebas lipid (Nabet, 1996).

2.2.2 Proses Pembentukan Radikal Bebas

Radikal bebas diproduksi dalam sel yang secara umum melalui reaksi pemindahan elektron, menggunakan mediator enzimatik atau non-enzimatik. Produksi radikal bebas dalam sel dapat terjadi secara rutin maupun sebagai reaksi terhadap rangsangan. Secara rutin adalah superoksida yang dihasilkan melalui aktivasi fagosit dan reaksi katalisa seperti ribonukleotida reduktase. Sedangkan pembentukan melalui rangsangan adalah kebocoran superoksida, hidrogen peroksida dan kelompok oksigen reaktif (ROS) lainnya pada saat bertemunya bakteri dengan fagosit teraktifasi. Pada keadaan normal sumber utama radikal bebas adalah kebocoran elektron yang terjadi dari rantai transport elektron, misalnya yang ada dalam mitokondria dan endoplasma retikulum dan molekul oksigen yang menghasilkan superoksida. Dalam kondisi yang tidak lazim seperti radiasi ion, sinar ultraviolet, dan paparan energi tinggi lainnya, dihasilkan radikal bebas yang sangat berlebihan (Droge, 2002). Sistem oksigen aktif dapat dilihat pada gambar 2.1 berikut:

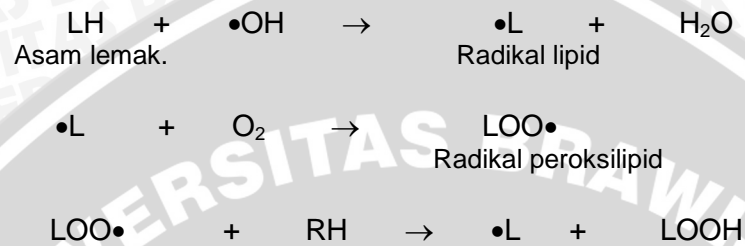


Gambar 2.1. Sistem oksigen aktif (Droge, 2002)

2.2.3 Dampak Negatif terhadap Membran Sel

Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh. Justru

asam lemak tak jenuh ini (asam-asam linoleat, linolenat dan arakidonat) sangat rawan terhadap serangan-serangan radikal, terutama radikal hidroksil. Radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan nama peroksidasi lipid.



Akibat akhir dari rantai reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksis terhadap sel, antara lain berbagai macam aldehida, seperti malondialdehida, 9-hidroksi-nonenal serta bermacam-macam hidrokarbon seperti etana (C_2H_6) dan pentana (C_5H_{12}). Dapat pula terjadi ikatan silang (*cross-linking*) antara dua rantai asam lemak atau antara asam lemak dan rantai peptida (protein) yang timbul karena reaksi dua radikal :



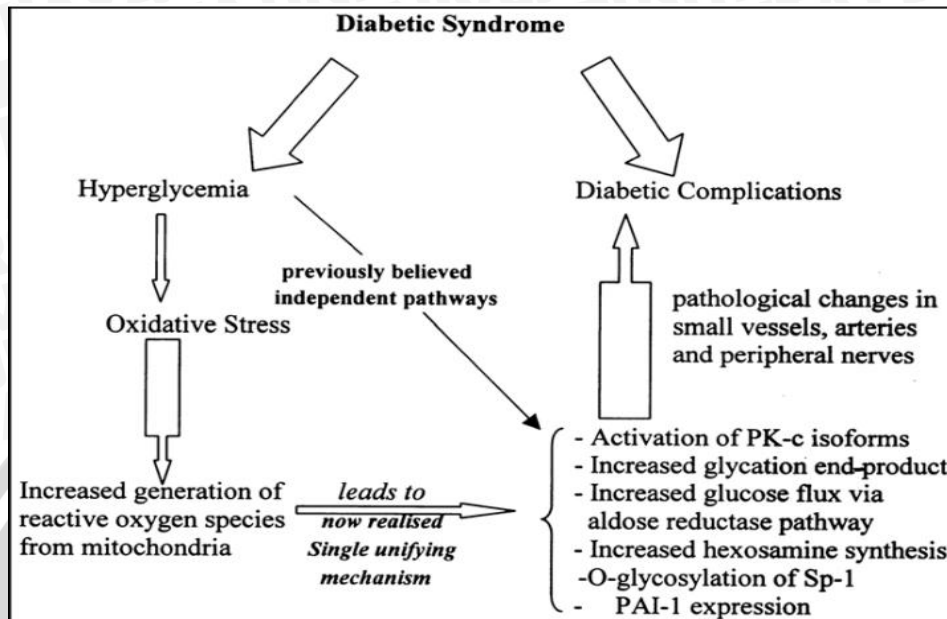
Semuanya itu menyebabkan kerusakan parah membran sel sehingga membahayakan kehidupan sel (Suryohudoyo, 1993).

2.3 Stress Oksidatif pada Diabetes Mellitus Tipe 2

Pada pasien DM tipe 2, setidaknya pada awalnya, tubuh masih dapat menghasilkan insulin, hanya saja adanya penurunan pada respon selulernya sehingga menyebabkan terjadinya gangguan metabolik. Dalam beberapa kasus, penurunan penyerapan glukosa ke dalam otot dan jaringan adiposa menyebabkan hiperglikemia ekstraseluler kronis, yang mengakibatkan kerusakan jaringan dan lainnya. Komplikasi ini, termasuk retinopati, nefropati, kerusakan

saraf perifer, penyakit jantung, dan aterosklerosis, bertanggung jawab akan morbiditas dan mortalitas pada pasien. Karena dampak sosial yang sangat besar dari diabetes, banyak perhatian telah difokuskan pada patologi komplikasi dan mekanisme molekuler yang mendasari, yang bisa berasal dari stress oksidatif (Niedowicz and Daleke, 2005).

Stres oksidatif adalah keadaan dimana adanya ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas atau ROS dengan antioksidan protektif dalam tubuh yang memadai. Stres oksidatif disebabkan oleh peningkatan produksi ROS yang terakumulasi di berbagai sel maupun jaringan. Pada DM tipe 2, terjadi kondisi hiperglikemia yang mana kondisi tersebut merupakan salah satu faktor utama peningkatan produksi ROS. Terdapat beberapa mekanisme dari hiperglikemia seperti yang ditunjukkan pada gambar 2.2. Mekanisme dari hiperglikemia tersebut memicu peningkatan produksi ROS dan gangguan aktivitas antioksidan, diantaranya antioksidan melalui jalur enzimatis, nonenzimatis, dan mitokondria (Mohora dkk., 2007). Sumber stres oksidatif pada jalur enzimatis berasal dari berbagai mekanisme yaitu metabolisme glukosa melalui jalur sorbitol yang menghasilkan $\bullet\text{O}_2$, reaksi glukosa dengan protein membentuk AGE, dan autooksidasi gliseraldehid yang membentuk radikal hidroksil. Lalu, stres oksidatif melalui jalur nonenzimatis disebabkan pembentukan ROS oleh aktivitas NOS dan NADPH oksidase (Johansen dkk., 2005).



Gambar 2.2. Mekanisme Stres Oksidatif pada Hiperglikemia (Tiwari and Rao, 2002)

2.3.1 Peningkatan Advance Glycosylation End Products (AGE)

Pada keadaan hiperglikemia, produksi berbagai gula pereduksi antara lain glukosa, glukosa-6-fosfat, dan fruktosa, akan meningkat melalui proses glikolisis dan jalur poliol. Glukosa sebagai gula pereduksi dapat menjadi agen yang bersifat toksik. Sifat toksik tersebut disebabkan oleh kemampuan kimiawi gugus karbonil aldehyd yang dimilikinya. Meskipun sebagian besar keberadaan gula pereduksi dalam larutan sebagai struktur cincin nonaldehid, glukosa dalam bentuk rantai lurusnya merupakan aldehid (Rahbani *et al.*, 1999). Aldehid merupakan senyawa yang mampu berikatan secara kovalen sehingga terjadi modifikasi protein. Modifikasi tersebut dapat dibangkitkan dalam tubuh melalui berbagai mekanisme enzimatik dan nonenzimatik (Anderson *et al*, 1999). Selain glukosa, semua jenis gula pereduksi juga mampu menyelenggarakan reaksi



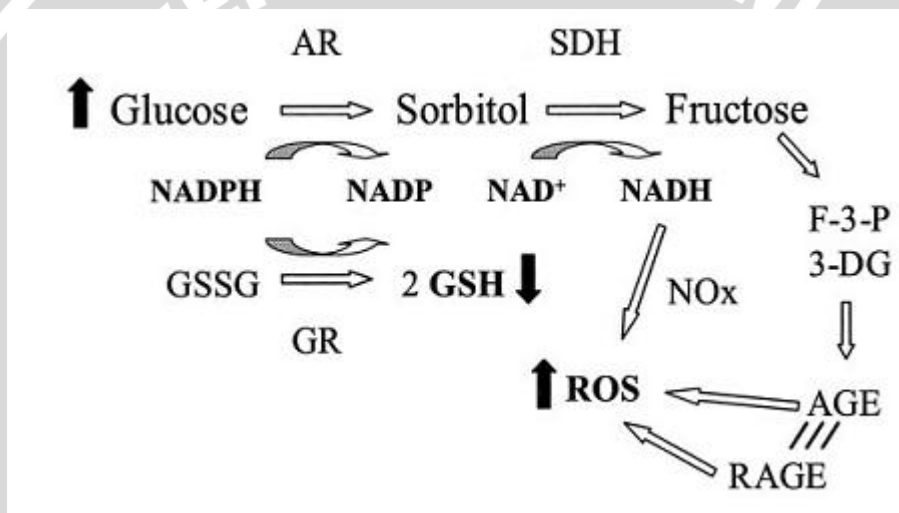
glikasi pada bermacam protein. Selain protein, target kerusakan lain adalah lipid-amino seperti fosfatidiletanolamin, dan DNA (Rahbani *et al*, 1999).

Reaksi pengikatan aldehid pada protein dikenal sebagai reaksi glikasi. Reaksi ini memiliki kemaknaan patologis yang besar. Berbagai contoh reaksi glikasi protein antara lain hemoglobin glikosilat, albumin, dan kristal lensa mata. Reaksi secara nonenzimatik glukosa darah dengan protein di dalam tubuh akan berlanjut sebagai reaksi *browning* dan oksidasi. Reaksi tersebut selanjutnya dapat menyebabkan akumulasi modifikasi kimia protein jaringan (Haffner, 1999). Pada binatang dengan diabetes, proses glikasi dapat teramati secara luas pada berbagai organ dan jaringan termasuk ginjal, hati, otak, paru, dan saraf (Oldfield *et al.*, 2001). Secara keseluruhan, perubahan kimia ini dikenal sebagai reaksi Maillard. Reaksi Maillard dapat terjadi pada kondisi penuaan fisiologis *in vivo* sebaik kondisi *in vitro* serta meningkat pada keadaan hiperglikemia. Selain itu, reaksi Maillard juga berkaitan dengan komplikasi kronik diabetes mellitus (Ueno *et al.*, 2002).

2.3.2 Jalur Poliol

Jalur poliol terdiri dari dua enzim. Enzim pertama, *aldosa reduktase* (AR), menurunkan glukosa menjadi sorbitol dengan bantuan co-faktor NADPH, dan enzim kedua, *sorbitol dehidrogenase* (SDH), dengan co-faktor NAD⁺, mengubah sorbitol menjadi fruktosa, suatu proses yang meningkatkan rasio NADH / NAD dan dapat mengakibatkan baik stres oksidatif dan aktivasi protein kinase C. Fruktosa dan metabolitnya, fruktosa-3-fosfat juga 3-deoxyglucosone lebih bermanfaat sebagai agen glikasi nonenzimatik daripada glukosa. Sorbitol dapat mengganggu penyerapan dan metabolisme myo-inositol. Peran fisiologis dari jalur AR masih belum diketahui. Namun, AR, sorbitol dan myo-inositol diduga

memiliki peran dalam osmoregulasi ginjal. Konsumsi NADPH merupakan hasil AR pada depleksi tingkat NADPH. NADPH ini juga bertindak sebagai kofaktor untuk *glutation reduktase*, yang mana menurunkan glutation teroksidasi menjadi glutation tereduksi. Perubahan yang terus menerus dari glukosa melalui jalur polioliol akan meningkatkan pembentukan AGE. AGEs, yang berikatan dengan AGE pada reseptornya, diketahui menyebabkan stres oksidatif (Sharma and Sharma, 2013). Berikut jalur polioliol seperti yang ditunjukkan gambar 2.3.



Gambar 2.3. Jalur Polioliol. Tingginya kadar glukosa menyebabkan tidak semua glukosa difosforilasi. Sebagian kecil glukosa direduksi aldose reduktase menjadi sorbitol. Proses reduksi tersebut membutuhkan kofaktor NADPH sehingga reaksi reduksi sorbitol bersamaan dengan oksidasi NADPH menjadi NADP. Semakin banyak NADPH yang dibutuhkan akan menurunkan kadar NADPH sehingga timbul gangguan reduksi glutation (GSH). Oksidasi sorbitol menjadi fruktosa dikatalisis oleh enzim sorbitol dehidrogenase. Proses oksidasi membutuhkan NAD⁺ sebagai kofaktor akibatnya rasio NADH/NAD⁺ meningkat. NADH akan dibawa ke mitokondria dan dio-ksidasi menghasilkan anion superoksida. Metabolit fruktosa yaitu Fruktosa-3-Fosfat (F-3-P) dan 3-deoksiglukoson (3-DG) dapat membentuk AGE, terikat dengan RAGE, dan menghasilkan ROS (Chung, 2003).

2.3.3 Aktivasi Protein Kinase C

Protein kinase C (PKC) merupakan enzim yang termasuk serine dan threonin kinase yang tersebar secara meluas pada jaringan mamalia. Enzim ini berperan dalam tranduksi sinyal intraselular hormonal, neuronal, dan stimulus faktor pertumbuhan. PKC terdiri lebih dari sepuluh isoform yang dikelompokkan

menjadi tiga kelas berdasarkan struktur dan kofaktor. Hiperglikemia akan mengaktivasi protein kinase C secara langsung maupun tidak langsung. Aktivasi langsung melalui beberapa mekanisme di antaranya sintesis de novo diasilgliserol, sedangkan secara tidak langsung dengan ligasi reseptor AGE dan peningkatan aktivitas pada jalur polioliol (Mohora dkk.,2007).

Peningkatan protein kinase C menyebabkan stimulasi NADPH oksidase semakin besar dan stimulasi tersebut akan meningkatkan produksi $\cdot\text{O}_2^-$ (Johansen *et al.*, 2005). Stimulasi terhadap NADPH oksidase melalui translokasi komponennya yaitu *p47phospatase*, *p67phospatase*, dan *GTPase Rac*. Kemudian, protein-protein tersebut akan berikatan dengan heterodimer gp91phox-p22phox di membran lalu menginduksi konformasi gp91phox. Proses tersebut mengaktifkan NADPH oksidase lalu menyebabkan perpindahan elektron dari dalam menuju keluar sel. Elektron tersebut kopling dengan oksigen lalu membentuk $\cdot\text{O}_2^-$ (Tarar, 2012).

2.3.4 Peningkatan Heksoamin

Hiperglikemia meningkatkan produksi fruktosa-6-fosfat. Fruktosa-6-fosfat diubah menjadi glukosamin-6-fosfat oleh enzim glukosamin: fruktosa-6-fosfat amidotransferase (GFAT). Glukosamin-6-fosfat menghambat aktivitas glukosa-6-fosfat dehidrogenase (G6PD). Salah satu dampaknya yaitu menurunkan reduksi NADP⁺ menjadi NADPH. Hal ini menyebabkan penurunan rasio NADPH/NADP⁺. Penurunan rasio NADPH/NADP⁺ akan menyebabkan stres oksidatif melalui penurunan regenerasi antioksidan glutation. Selain itu, penurunan NADPH akan menurunkan aktivitas katalase sehingga konversi H₂O₂ menjadi H₂O terganggu (Mohora dkk., 2007).

2.3.5 Autooksidasi Glukosa

Proses autooksidasi glukosa dikatalisis oleh senyawa logam dalam jumlah kecil seperti besi dan seng. Hasil katalisis tersebut adalah senyawa oksigen reaktif. Autooksidasi glukosa terjadi pada fase I proses glikasi nonenzimatik pada protein yang secara alamiah masih bersifat reversibel. Fase ini merupakan sumber hidrogen peroksida yang mampu menghambat Cu/ZnSOD (Soesilowati, 2003). Selain hidrogen peroksida, radikal superoksida juga dihasilkan oleh proses autooksidasi glukosa tersebut serta terkait dengan pembentukan protein glikasi dalam plasma penderita diabetes. Akibat yang ditimbulkan berupa peningkatan aktivitas radikal superoksida serta kerusakan enzim superoksida dismutase (Droge, 2002).

2.3.6 Gangguan Aktivitas Antioksidan Enzimatis

ROS dapat ditangkap oleh antioksidan enzimatis seperti superoksida dismutase, glutathion peroksidase, dan katalase. Namun, aktivitas antioksidan tersebut dapat mengalami perubahan pada diabetes mellitus. Beberapa penelitian menunjukkan kadar antioksidan bervariasi pada pasien diabetes. Penelitian Wohaeib dan Godin (1987) menunjukkan peningkatan aktivitas katalase dan superoksida dismutase pada pankreas tikus diabetes. Namun, aktivitas antioksidan tersebut menurun pada liver (Ahmed, 2005). Peningkatan aktivitas antioksidan tersebut diduga kompensasi atas peningkatan radikal oksidan (Ramakhrisna dan Jailkhani, 2007).

Glikasi protein pada hiperglikemia dapat menyebabkan penurunan aktivitas antioksidan. Aktivitas glutathion reduktase menurun dalam kondisi tersebut sehingga menyebabkan penurunan reduksi GSSG menjadi GSH. Kadar GSH menjadi menurun di dalam tubuh. Penurunan GSH menyebabkan

penurunan aktivitas glutathione peroksidase karena GSH berperan sebagai substrat dan kofaktor enzim tersebut. Selain itu, penurunan aktivitas glutathione peroksidase juga disebabkan oleh peningkatan stres oksidatif (Ahmed, 2005).

2.3.7 Jalur Mitokondria

Jalur mitokondria merupakan sumber peningkatan ROS yang terjadi melalui proses nonenzimatis. Selama fosforilasi oksidatif, elektron akan berpindah dari NADH dan FADH₂ yang terletak di membran dalam mitokondria. Perpindahan elektron akan menghasilkan ATP dan terbentuknya $\cdot\text{O}_2^-$. Secara normal, $\cdot\text{O}_2^-$ akan diatasi oleh antioksidan. Dari hasil penelitian, hiperglikemia menginduksi pembentukan $\cdot\text{O}_2^-$ pada mitokondria yang berkontribusi dalam memicu stres oksidatif pada diabetes mellitus. Pada hiperglikemia, glikolisis meningkatkan pembentukan piruvat yang berlebihan sehingga pada proses fosforilasi oksidatif pembentukan $\cdot\text{O}_2^-$ juga semakin meningkat (Johansen et al., 2005).

2.4 Peroksidasi Lipid

Radikal bebas meningkat pada penyakit diabetes mellitus. Secara normal, radikal bebas memang dihasilkan dari proses metabolisme seluler. Namun, pada diabetes, produksi radikal bebas (terutama ROS) akan meningkat. Peningkatan ROS juga dapat diakibatkan penurunan destruksi ROS oleh *glutathione peroxidase* (GSH-Px) dan glutathione (GSH). Peningkatan ROS yang tidak diimbangi oleh destruksi akan menyebabkan kerusakan jaringan (Moussa, 2008).

Stres oksidatif merupakan mekanisme yang mendasari patogenesis diabetes dan komplikasi diabetes. Pada pasien diabetes, stres oksidatif tidak hanya ditandai peningkatan ROS dan penurunan kadar antioksidan, tetapi juga terjadi peroksidasi lipid (Moussa, 2008). Peroksidasi lipid merupakan kerusakan

oksidatif pada lipid yang mengandung asam lemak tak jenuh dengan lebih dari satu ikatan rangkap. Peroksidasi lipid bersifat berbahaya dan tidak terkontrol (Mahbob, 2005).

2.4.1 Pembentukan Peroksidasi Lipid

Peroksidasi lipid disebabkan reaksi antara lipid dengan radikal bebas (Kangralkar dkk., 2010). Proses peroksidasi lipid diawali dengan serangan pada asam lemak tak jenuh oleh ROS ($\cdot X$) atau Fe^{2+} yang mengambil atom hi-drogen dari gugus metilen ($-CH_2$). Dari $\cdot X$ atau Fe^{2+} , elektron berpindah menuju atom karbon membentuk karbon radikal ($CH\cdot$). Asam lemak tak jenuh yang mengandung elektron tak berpasangan ($L\cdot$) bereaksi dengan oksigen membentuk radikal lipid peroksida ($LOO\cdot$). Radikal ini dapat mengambil atom hidrogen dari molekul lipid yang lain dan membentuk $LOOH$. $LOOH$ bereaksi dengan Fe^{2+} akan menghasilkan Fe^{3+} dan $LO\cdot$ (radikal lipoksi).

Selain membentuk $LOOH$, reaksi lipid peroksida dengan molekul lipid akan membentuk $L\cdot$. Pembentukan $L\cdot$ dari reaksi tersebut menunjukkan peningkatan peroksidasi lipid. $L\cdot$ bereaksi dengan oksigen membentuk $LOO\cdot$ yang tidak stabil dan membentuk produk-produk seperti malondialdehyde (MDA) dan 4-hidroksinonenal (Devasayagam, 2003). Berikut proses peroksidasi lipid:

1. $LH + \cdot X \rightarrow L\cdot + XH$
- 1a. $LH + Fe^{2+} \rightarrow L\cdot + Fe^{3+}$
2. $L\cdot + O_2 \rightarrow LOO\cdot$
3. $LOO\cdot + LH \rightarrow L\cdot + LOOH$
4. $LOOH + Fe^{2+} \rightarrow LO\cdot + Fe^{3+}$
5. $LOO\cdot \rightarrow MDA \text{ dan nonenal}$

2.4.2 Malondialdehid

Malondialdehid (MDA) adalah produk tahap akhir oksidasi lipid yang dapat dibentuk secara nonenzimatis atau sebagai produk aktivitas siklooksigenase. MDA adalah molekul tidak stabil yang bereaksi, melalui pembentukan basis Schiff, dengan gugus amina bebas dari protein , lipid , dan DNA. Diperkirakan bahwa hingga 80% dari MDA adalah protein terikat. Selain itu, akumulasi MDA mempengaruhi organisasi membran dengan meningkatkan phosphatidylserine (PS). Akumulasi MDA berkorelasi dengan banyak jenis penyakit, seperti hepatitis C, Sindrom Down, kanker, kerusakan hati, penyakit neurodegeneratif, dan diabetes mellitus. Kadar MDA meningkat pada sel mesangial, sel-sel tubulus proksimal, sel-sel otot polos pembuluh darah, eritrosit, dan leukosit mononuklear yang diatasi dengan kadar tinggi glukosa. MDA juga meningkat dalam plasma, korteks ginjal, dan aorta dari tikus yang diinduksi STZ (Niedowicz and Daleke, 2005). Berikut gambar 2.4 yang merupakan struktur kimia MDA.



Gambar 2.4. Struktur Kimia MDA. Malondialdehid terdiri dari tiga atom karbon yang mengikat gugus karbonil pada atom karbon nomor satu dan tiga (IARC, 1987).

2.4.3 Penentuan Kadar Malondialdehid

MDA menjadi indikator utama dalam mengukur lipid peroksida karena kadar MDA meningkat pada penyakit-penyakit yang disebabkan oleh stress oksidatif. Pengukuran MDA dilakukan dengan metode kolorimetri setelah sampel direaksikan dengan asam tiobarbiturat yang disebut metode *thiobarbituric acid reactive substances* (TBARS) (Kangralkar dkk., 2010). Kecepatan reaksi tersebut

bergantung pada suhu, pH, dan konsentrasi asam tiobarbiturat. Intensitas warna secara maksimal didapatkan pada pemanasan selama 60 menit dan reaksi berlangsung cepat pada pH asam dengan konsentrasi asam tiobarbiturat 20-80 mM. Reaksi tersebut dapat dikuantifikasi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 532 nm.

Metode TBARS dapat digunakan untuk mendefinisikan kondisi pada sistem membran seperti mikrosom dan liposom. Aplikasi metode tersebut pada cairan biologis dan ekstrak jaringan masih menjadi permasalahan karena MDA terbentuk melalui dekomposisi lipid peroksida ketika pemanasan sampel dengan TBA. Dekomposisi tersebut dipercepat oleh besi yang terdapat dalam reagen. Preparasi jaringan dan cairan biologis yang menggunakan berbagai reagen yang mengandung besi akan meningkatkan konsentrasi MDA pada sampel yang dianalisis. Oleh sebab itu, butilat hidrositoluen ditambahkan pada sampel untuk mencegah dekomposisi lipid peroksida (Sochor, 2012).

2.5 Stres Oksidatif pada Ginjal

Hiperglikemia yang dipicu stres oksidatif telah dianggap sebagai mekanisme yang menyebabkan kerusakan sel yang terlihat pada komplikasi diabetes. Stres oksidatif memiliki peran penting dalam perubahan patologis ginjal. Stres oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan antara *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan antioksidan intraseluler. Lebih jauh, telah disebutkan bahwa hiperglikemia yang disebabkan kelebihan produksi superoksida oleh rantai transfer electron mitochondrial adalah mekanisme molekuler utama untuk diabetes (Sharma and Sharma, 2013).

Lebih jauh, peningkatan aktivitas NADPH oksidase menyebabkan produksi ROS pada diabetes nefropati. Selain itu, aktivasi jalur PKC mengarah

ke produksi ROS pada diabetes yang diturunkan oleh inhibitor PKC. Selain itu, telah dilaporkan bahwa, ROS mengaktifkan (PKC , MAPK , JAK / STAT) dan faktor transkripsi (NF - kb , AP - 1 dan SP - 1) dan meregulasi TGF - β 1 dan fibronektin yang mengarah ke akumulasi ECM di ginjal . Pemahaman saat ini adalah tentang oksidase NADPH nonfagosit baik di tingkat struktural dan biokimia mungkin berperan dalam diabetes nefropati. Telah ditunjukkan bahwa PKC secara aktif terlibat dalam kenaikan kadar glukosa dan asam lemak bebas yang diinduksi aktivasi dari NADPH oksidase. Bukti-bukti menunjukkan bahwa jalur ROS menyebabkan deposisi Matriks Ekstraseluler (ECM) dalam diabetes nefropati. ROS yang dihasilkan oleh kadar glukosa yang tinggi mengaktifkan kaskade transduksi sinyal (PKC , MAPK , dan JAK / STAT), faktor transkripsi (NF - kB , AP - 1 , dan Sp1), upregulate TGF - β 1, dan fibronektin dalam sel ginjal (Sharma and Sharma, 2013).

Telah ditunjukkan bahwa, di samping peningkatan regulasi sintesis ECM, ROS memainkan peran penting dalam degradasi ECM dan transisi epitel mesenkimal pada sel epitel tubular yang mengarah ke mesangial glomerulus dan ekspansi tubulointerstitial. Selain itu, diklorofluoresein meningkat dalam glomeruli yang diisolasi dari tikus terinduksi streptozotocin, memberikan bukti langsung dari peningkatan ROS di glomeruli. AGE diketahui memiliki berbagai efek secara kimia, seluler, dan pada jaringan yang terlibat dalam pengembangan dan perkembangan diabetes nefropati. AGE menghasilkan ROS secara langsung atau melalui reseptor AGE, sedangkan ROS, pada gilirannya, mendorong pembentukan AGE. Antioksidan secara efektif menghambat kenaikan kadar glukosa yang diinduksi TGF - β dan upregulasi fibronektin serta menurunkan

stres oksidatif dengan meningkatkan kadar antioksidan intraseluler seperti superoksida dismutase, katalase dll (Sharma and Sharma, 2013).

2.6 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat spesies oksigen reaktif, spesies nitrogen, dan radikal bebas lainnya sehingga mampu mencegah penyakit-penyakit degeneratif seperti kardiovaskular, kanker, dan penuaan. Senyawa antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Senyawa ini memiliki struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai (Halliwell dan Gutteridge, 2000).

2.6.1 Jenis Antioksidan

Rajalakshmi dan Narisimhan (1996) menggolongkan antioksidan menjadi tiga tipe yaitu :

(1) Antioksidan primer

Senyawa-senyawa yang berfungsi sebagai antioksidan primer mampu memutus rantai reaksi pembentukan radikal bebas dengan memberikan ion hidrogen atau elektron pada radikal bebas sehingga menjadi produk yang stabil. Senyawa yang digolongkan sebagai antioksidan primer adalah kelompok senyawa polifenol, asam askorbat (vitamin C), kelompok senyawa asam galat, BHT, BHA, TBHQ, PG, dan tokoferol.

(2) Antioksidan sekunder

Antioksidan sekunder berfungsi untuk mencegah terbentuknya radikal bebas, menginaktifkan singlet oksigen, menyerap radiasi ultraviolet dan bekerja sinergis dengan antioksidan primer. Senyawa yang digolongkan sebagai antioksidan sekunder adalah asam tiodipropionat, dilauril dan distearil ester.

(3) *Chelator sequestrants*

Senyawa yang tergolong sebagai chelator berfungsi sebagai pengikat logam-logam yang dapat mengkatalis reaksi oksidasi lemak seperti Fe dan Cu. Belitz *et al.*, (2009) menyatakan bahwa terikatnya logam-logam tersebut oleh chelating agent mampu meningkatkan efisiensi reaksi antioksidan, menghambat oksidasi asam askorbat dan vitamin-vitamin yang larut lemak. Senyawa yang digolongkan sebagai chelator atau chelating agent adalah asam sitrat, suksinat, oksalat, laktat, malat, tartarat, asam polifosfat, *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA), asam amino dan peptida. Senyawa golongan asam karboksilat seperti asam sitrat, asam nikotinat, asam salisilat dan asetil salisilat disamping berfungsi sebagai chelator, juga memiliki keaktifan sebagai antioksidan. Dari keempat senyawa golongan asam karboksilat tersebut, asam sitrat merupakan antioksidan yang paling efektif dan memiliki sifat sebagai radioprotektor.

2.7 Binahong



Gambar 2.5. Daun Binahong (BPOM, 2008)

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) seperti yang ditunjukkan gambar 2.5 termasuk dalam famili Basellaceae merupakan salah satu tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit.. Tanaman ini sebenarnya berasal dari Cina dan menyebar ke Asia Tenggara. Tanaman Binahong banyak terdapat di Indonesia, Australia, Paraguay, Brazil, Argentina, dan Amerika Serikat (Sumartiningasih, 2011). Di negara Eropa maupun Amerika, tanaman ini cukup dikenal, tetapi para ahli di sana belum tertarik untuk meneliti serius dan mendalam, padahal beragam khasiat sebagai obat telah diakui. Di Indonesia tanaman ini dikenal sebagai gendola yang sering digunakan sebagai gapura yang melingkar di atas jalan taman. Namun tanaman ini belum banyak dikenal dalam masyarakat Indonesia (Manoi and Balitro., 2009).

2.7.1 Sinonim dan Klasifikasi Binahong

Di berbagai negara, tanaman binahong memiliki banyak sinonim, di antaranya *Boussingaultia gracilis*, *Boussingaultia cordifolia*, dan *Boussingaultia*

Pseudobasseloides. Selain itu, di tiap negara, binahong jika memiliki nama sendiri, yaitu enredadera del mosquito (Spanyol), filikafa, Gulf madeiravine, heartleaf madeiravine, Madeira vine (Inggris), lamb's tails, mignonette vine, Parra de Madeira (Spanyol), tapau, 'uala hupe, teng san chi (China) (Sumartiningsih, 2011).

Adapun klasifikasi binahong adalah sebagai berikut (BPOM, 2008):

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Caryophyllales
Suku	: Basellaceae
Marga	: Anredera
Jenis	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis
Nama umum	: Binahong

2.7.2 Deskripsi Binahong

Binahong merupakan tanaman menjalar dan bersifat perennial (berumur lama), panjang dapat mencapai 5 m. Batang lunak, berbentuk silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat di ketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Daun tunggal, bertangkai sangat pendek, tersusun berseling, berwarna hijau, bentuk jantung, panjang 5 - 10 cm, lebar 3 - 7 cm, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal berlekuk, tepi rata, permukaan licin, bisa dimakan. Bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai panjang, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputih-putihan

berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota 0,5 - 1 cm, berbau harum. Akar berbentuk rimpang dan berdaging lunak (BPOM, 2008).

2.7.3 Kandungan Kimia Binahong

Tanaman Binahong mengandung saponin, alkaloid, polifenol, flavonoid, dan monopolisakarida termasuk L-arabinosea, D-galaktosa, L-rhamnosa, (Rachmawati, 2008). D-glucosa merupakan komponen utama yang paling terbanyak pada. Tanaman ini juga kaya akan kandungan seperti flavonoid dari daun, batang, akar, dan buah. Beberapa kandungan binahong yang cukup diketahui memiliki banyak fungsi, yaitu (Astuti *et al.*, 2011):

a. Flavonoid

Flavonoid memiliki peran langsung seperti fungsi antibiotik yang memiliki spectrum luas. Daun binahong memiliki aktivitas antioksidan juga memiliki kandungan asam oleanolic yang memiliki fungsi antiinflamasi yang dapat mengurangi rasa sakit pada luka bakar. Asam oleanolic mengandung triterpenoid, dan dari umbi-umbian itu ditemukan kandungan protein (ancordin) sebagai imunostimulan untuk merangsang antibodi. Protein dapat merangsang oksida nitrit, yang dapat meningkatkan aliran darah yang membawa nutrisi ke setiap sel-sel jaringan dan merangsang tubuh untuk memproduksi hormon pertumbuhan dan reproduksi sel menggantikan sel yang rusak.

b. Saponin

Saponin merupakan salah satu golongan senyawa glikosida, yang merupakan senyawa kompleks dan memiliki banyak manfaat. Saponin dapat ditemukan pada akar dan daun tanaman, juga berfungsi sebagai antimikroba. Seperti antibakteri dan anti viral, kehadiran saponin ditandai dengan adanya larutan koloid yang stabil. Saponin dapat berfungsi sebagai pembersih, mampu

merangsang pembentukan kolagen, suatu protein yang berperan dalam proses penyembuhan luka. Selain itu, saponin dapat diklasifikasikan sebagai steroid, triterpenoidal atau alkaloid tergantung pada sifat aglikon, dan aglikon bagian dari saponin disebut sebagai sapogenin yang umumnya oligosakarida.

2.7.4 Manfaat Binahong

Manfaat dari binahong ini, berdasarkan kesaksian beberapa orang di Jawa, Indonesia, dapat mengobati diabetes mellitus, tifus, hipertensi, wasir, TBC, rematik, asam urat, asma, untuk meningkatkan volume urin, pemulihan pasca melahirkan, penyembuhan lukan, kolitis, diare, gastritis dan kanker. Masyarakat di Jawa, Indonesia, mempercayai, bahwa tanaman Binahong adalah tanaman serba bisa yang dapat mengobati beberapa penyakit dan memulihkan kesehatan tubuh. Namun, tanaman Binahong tidak terdokumentasi dengan baik, dan bukti ilmiah terbatas untuk menetapkan tanaman binahong sebagai obat herbal dan sangat sedikit diketahui mengenai senyawa bioaktif dalam tanaman Binahong (Astuti et al, 2011).

2.8 Streptozotocin

2.8.1. Definisi

Streptozotocin disintesis oleh *Streptomyces achromogenes* dan digunakan untuk menginduksi insulin dependen dan insulin non dependen diabetes mellitus (Szkudelski, 2001).

2.8.2. Penggunaan

STZ beraksi pada sel beta pankreas dengan cara merusak alkilasi DNA yang ditandai dengan perubahan pada insulin darah dan konsentrasi glukosa. Adapun mekanismenya yaitu STZ dikenali oleh sel beta pankreas via glucose

transporter GLUT2. Selanjutnya STZ menahan ekspresi GLUT2 (Szkudelski, 2001).

Rentang dosis STZ tidak sesempit rentang dosis aloksan. Dosis yang sering digunakan pada pemberian dosis tunggal intravena pada tikus dewasa untuk menginduksi IDDM (Insulin dependen) antara 40 – 60 mg/kgBB, namun dosis tinggi juga digunakan (Szkudelski, 2001). Menurut penelitian Zhang (2008) Streptozotocin banyak digunakan untuk menginduksi terjadinya diabetes mellitus 1 atau diabetes mellitus tipe 2 pada hewan coba. STZ dosis tinggi menyebabkan gangguan yang berat pada sekresi insulin sehingga terjadi diabetes mellitus tipe 1, sedangkan suntikan STZ dosis rendah (30 mg/kgBB) menyebabkan gangguan ringan pada sekresi insulin sehingga terjadi kelelahan sel beta pankreas.

2.9. Diet Tinggi Lemak (High Fat Diet)

Diet tinggi lemak terdiri dari 32-60% kalori dari lemak. Pada perspektif nutrisi, makanan sejumlah 60 kcal % lemak sudah dapat menginduksi obesitas pada tikus akibat kenaikan berat badan yang lebih cepat (Gadja, 2008).

Tipe dari lemak harus dipertimbangkan ketika memilih diet tinggi lemak untuk hewan coba. Banyak diet tinggi lemak yang mengandung lemak jenuh, seperti lemak babi, daging, dan minyak kelapa. Makanan tersebut sudah cukup untuk menginduksi obesitas pada strain yang rentan. Asam lemak dapat mempengaruhi fenotipe melalui berbagai macam mekanisme (ekspresi gen, produksi eicosanoid, fungsi reseptor membrane), tipe dan level dari diet tinggi lemak sangat penting diketahui untuk membandingkan data – data yang akan didapatkan selama penelitian (Gadja, 2008).

Komposisi diet tinggi lemak mengandung karbohidrat, protein (tepung terigu), lemak (kolesterol, minyak babi), air, dan asam cholate. Asam kolat merupakan *ionic detergent* yang digunakan untuk persiapan liposome dan isolasi lipid. Asam cholate larut dalam air, digunakan untuk lisis sel oleh bile-acid, persiapan liposom, isolasi dari membrane protein dan lipid, mencegah terjadinya ikatan nonspesifik pada afinitas kromatografi, dan media sel kultur (Zhang, 2008).

Kombinasi diet tinggi lemak sering digunakan untuk pembuatan model hewan coba DM tipe 2 dikombinasi dengan Streptozotocin (STZ). Menurut Shridar *et al.*, (2008), diet tinggi lemak terbukti dapat menurunkan sensitivitas insulin yang ditandai dengan meningkatnya jumlah insulin serum. Pada penelitian Lian J,*et.al.*, (2007) juga menyebutkan bahwa diet tinggi lemak dapat menginduksi resistensi insulin, dan gangguan sekresi insulin.

