

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus

2.1.1 Definisi

Diabetes berasal dari bahasa Yunani yang berarti “mengalirkan atau mengalihkan” (*siphon*). Mellitus dari bahasa latin yang bermakna manis atau madu. *American Diabetes Association* (ADA) (2006), mendefinisikan DM sebagai suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Hiperglikemia kronik pada diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi dan kegagalan beberapa organ tubuh terutama mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah (Corwin, 2009).

2.1.2 Epidemiologi

Pada tahun 2000, menurut WHO diperkirakan sedikitnya 171 orang diseluruh dunia menderita Diabetes Melitus atau sekitar 2.8% dari total populasi. Insidennya terus meningkat dengan cepat dan diperkirakan tahun 2030 angka ini menjadi 366 juta jiwa atau sekitar 4.4% dari populasi dunia. DM terdapat diseluruh dunia, 90% adalah jenis Diabetes Melitus tipe 2 terjadi di negara berkembang. Peningkatan prevalensi terbesar adalah di Asia dan di Afrika. Hal ini diakibatkan karena tren urbanisasi dan perubahan gaya hidup seperti pola makan yang tidak sehat.

Di Indonesia sendiri, berdasarkan hasil Riskesdas (2007) dari 24417 responden berusia > 15 tahun , 10,2% mengalami toleransi glukosa terganggu (kadar glukosa 140-200 mg/dl setelah puasa selama 4 jam diberikan beban glukosa sebanyak 75 gram). DM lebih banyak ditemukan

pada wanita dibanding dengan pria serta pada golongan tingkat pendidikan dan status sosial yang rendah. Kelompok usia terbanyak DM adalah 55-64 tahun yaitu 13.5%. Beberapa hal yang dihubungkan dengan faktor resiko DM adalah obesitas, hipertensi, kurangnya aktivitas fisik dan rendahnya konsumsi sayur dan buah (Risikesdas, 2007).

2.1.3 Klasifikasi

Klasifikasi DM yang dianjurkan oleh Perkeni adalah yang sesuai dengan anjuran klasifikasi DM *American Diabetes Association* (ADA). Klasifikasi etiologi Diabetes Mellitus menurut ADA (2006) adalah dapat dilihat pada tabel dibawah ini :

Tabel 2.1 Klasifikasi Etiologi Diabetes Mellitus

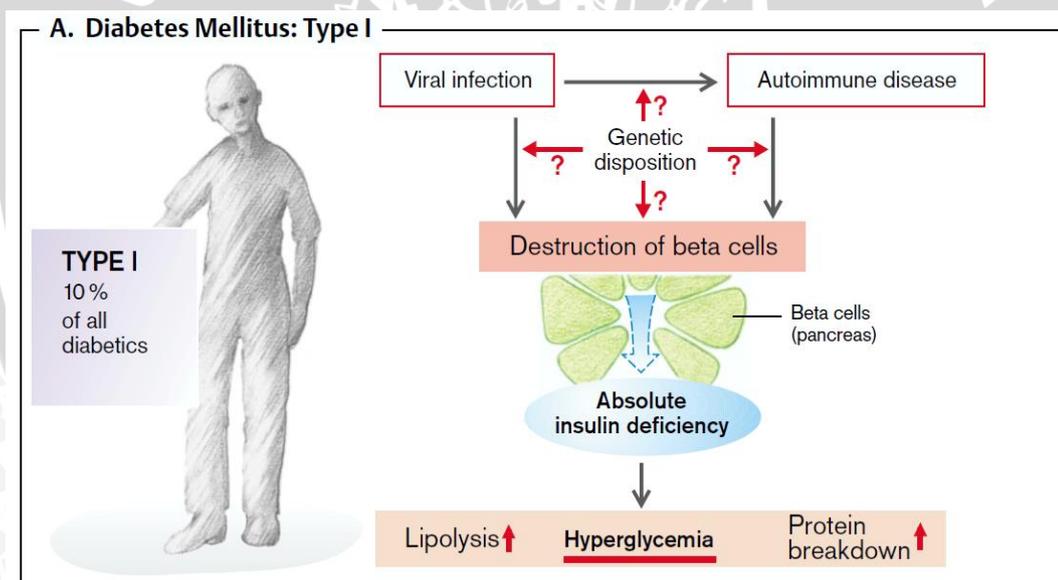
Tipe	Keterangan
Diabetes Tipe 1	Diabetes yang tergantung dengan insulin disebabkan oleh kerusakan sel-sel beta dalam pankreas sejak masa anak-anak atau remaja
Diabetes Tipe 2	Mulai dari yang dominan resistensi insulin relatif sampai yang dominan defek sekresi insulin
Diabetes Tipe lain	<ol style="list-style-type: none"> Defek genetik fungsi insulin Defek genetik kerja insulin Obat Infeksi Sebab imunologi yang jarang : <i>antibody insulin</i> Resistensi insulin Sindroma genetik lain yang berkaitan dengan DM (<i>Klinefelter, sindrom Turner</i>)
Diabetes Gestasional (DMG)	Karena dampak kehamilan

(Perkeni, 2006)

2.1.4 Patogenesis

Pada DM tipe 1 atau yang disebut IDDM (*Insulin Dependent Diabetes Mellitus*) terjadi ketiadaan insulin yang mutlak, sehingga penderita

mempunyai kebutuhan pasokan insulin dari luar. Kondisi ini disebabkan karena adanya lesi pada sel beta pankreas. Pembentukan lesi ini disebabkan karena mekanisme gangguan autoimun dan infeksi virus yang terlibat dalam kerusakan sel-sel beta. Adanya antibodi atau autoimun yang menyerang sel beta biasanya dideteksi beberapa tahun sebelum timbulnya penyakit. DM tipe 1 dapat berkembang secara tiba-tiba, dengan tiga gejala pokok: (1) meningkatnya glukosa darah, (2) peningkatan penggunaan lemak untuk energi dan pembentukan kolesterol oleh hati, dan (3) penipisan protein tubuh (Guyton, 2011). Bagan patofisiologi dapat dilihat pada gambar 2.1 dibawah ini.

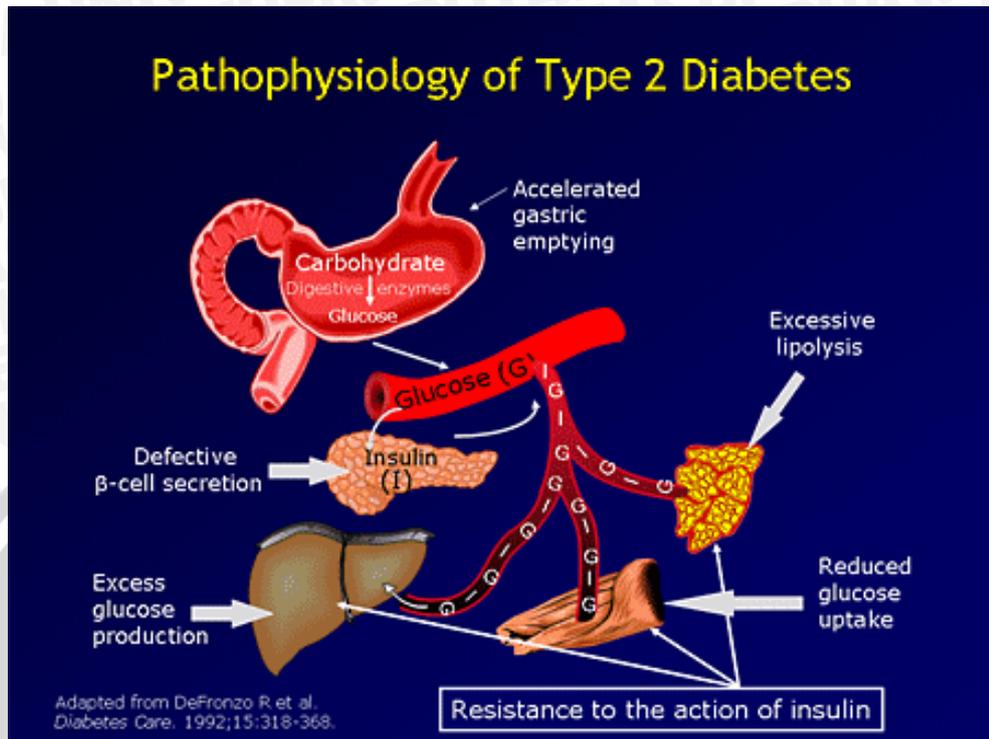


Gambar 2.1 Patofisiologis T1DM

Diabetes melitus tipe 2 merupakan penyakit kronis yang progresif, dimulai dengan resistensi insulin yang mengarah ke peningkatan produksi glukosa hepatic dan berakhir dengan kerusakan sel beta. Resistensi insulin didefinisikan sebagai ketidakmampuan jaringan target seperti otot dan jaringan adiposa untuk merespon sekresi insulin endogen dalam tubuh

(Moreira, 2010). *Lipotoxicity* dapat berkontribusi terhadap resistensi insulin. *Lipotoxicity* mengacu kepada tingginya konsentrasi asam lemak bebas yang terjadi sebagai akibat tekanan hambatan *hormone sensitive lipase* (HSL). Normalnya insulin menghambat lipolisis dengan menghambat HSL, namun pada resistensi insulin tidak terjadi secara efisien. Hasil dari peningkatan lipolisis adalah peningkatan asam lemak bebas, dan inilah yang menyebabkan obesitas dan peningkatan adiposa. Asam lemak bebas menyebabkan resistensi insulin dengan mempromosikan fosforilasi serin pada reseptor insulin yang dapat mengurangi aktivitas *insulin signalling pathway*. Fosforilasi reseptor insulin pada asam amino tirosin penting untuk mengaktifkan *insulin signalling pathway*, jika tidak, maka GLUT-4 akan gagal untuk *translocate*, dan penyerapan glukosa ke jaringan akan berkurang, menyebabkan hiperglikemia (Moreira, 2010).

Pada individu non-diabetik sel beta mampu menangkal resistensi insulin dengan meningkatkan produksi dan sekresi insulin. Pada penderita DM apabila keadaan resistensi insulin bertambah berat disertai tingginya glukosa yang terus terjadi, sel beta pankreas dalam jangka waktu yang tidak lama tidak mampu mensekresikan insulin dalam jumlah cukup untuk menurunkan kadar gula darah, disertai dengan peningkatan glukosa hepatik dan penurunan penggunaan glukosa oleh otot dan lemak akan mempengaruhi kadar gula darah puasa dan postprandial. Akhirnya sekresi insulin oleh sel beta pankreas akan menurun dan terjadi hiperglikemia berat (Moreira, 2010).



Gambar 2.2 Patofisiologi DM Tipe 2

Hiperglikemia dan hiperinsulinemia yang terjadi pada DM-2 menyebabkan resistensi adiponektin melalui penurunan regulasi ekspresi reseptor AdipoR1. Hal ini menyebabkan C-terminal globular domain (gAd), produk gen adiponektin yang memiliki efek metabolik yang poten terutama pada otot skelet, mengalami resistensi sehingga kemampuan gAd untuk meningkatkan translokasi GLUT-4, penyerapan glukosa, penyerapan asam lemak dan oksidasi, serta fosforilasi AMP-activated protein kinase (AMPK) dan asetil-CoA karboksilase (ACC) mengalami penurunan (Fang, 2006).

Menariknya, hiperinsulinemia menyebabkan peningkatan sensitivitas *full-length adiponectin* (fAd) melalui peningkatan ekspresi reseptor AdipoR2. Hiperinsulinemia menginduksi kemampuan fAd untuk meningkatkan penyerapan asam lemak dan meningkatkan oksidasi

asam lemak sebagai respon dari fAd sehingga meningkatkan resiko komplikasi vaskular pada DM-2 (Fang, 2006).

2.1.5 Tanda dan Gejala

2.1.5.1 Gejala Akut

Gejala penyakit DM dari satu penderita ke penderita lain bervariasi, bahkan mungkin tidak menunjukkan gejala apapun sampai saat tertentu. Pada permulaan gejala yang ditunjukkan meliputi serba banyak (tripoli) yaitu: banyak makan (polifagi), banyak minum (polidipsi), banyak kencing (poliuri). Bila keadaan tersebut tidak segera diobati, akan timbul gejala nafsu makan mulai berkurang, berat badan turun dengan cepat (turun 5 – 10 kg dalam waktu 2 – 4 minggu), dan mudah lelah. Bila tidak segera diobati, akan timbul rasa mual, bahkan penderita akan jatuh koma yang disebut dengan koma diabetik (Fauci, 2009).

2.1.5.2 Gejala Kronik

Gejala kronik yang sering dialami oleh penderita DM adalah kesemutan, kulit terasa panas, atau seperti tertusuk-tusuk jarum, rasa tebal di kulit, kram, capai, mudah mengantuk, mata kabur, gatal di sekitar kemaluan terutama wanita, gigi mudah goyah dan mudah lepas, kemampuan seksual menurun bahkan impotensi (Dunning, 2009).

2.1.6 Diagnosis

Dapat ditegakkan melalui tiga cara dengan melihat dari tabel dibawah ini :

Tabel 2.2. Kriteria Diagnostik Diabetes Mellitus

Kriteria Diagnostik Diabetes Mellitus
Gejala klasik DM + Glukosa plasma sewaktu > 200 mg/dl
Gejala klasik DM + Glukosa plasma puasa > 126 mg/dl atau Glukosa plasma 2 jam pada TTGO (Test Toleransi Glukosa Oral) > 200 mg/dl, menggunakan beban glukosa 75gr anhidrus yang dilarutkan dalam air

(Perkeni, 2006)

2.1.7 Komplikasi

Komplikasi-komplikasi yang terjadi pada penderita diabetes mellitus dapat terbagi menjadi dua kategori mayor, yaitu :

a. Komplikasi metabolik akut

Komplikasi metabolik diabetes disebabkan oleh perubahan yang relatif akut dari konsentrasi glukosa plasma. Komplikasi metabolik yang paling serius pada diabetes tipe 1 adalah *diabetic ketoacidosis (DKA)*. Hiperglikemia, hiperosmolar, koma nonketotik (*HHNK*) juga merupakan komplikasi metabolik akut dari diabetes yang sering terjadi pada penderita diabetes tipe 2 yang lebih tua. Hiperglikemia menyebabkan hiperosmolaritas, diuresis osmotik, dan dehidrasi berat. Pasien dapat menjadi tidak sadar dan meninggal bila keadaan ini tidak segera ditangani. Komplikasi metabolik lain yang sering terjadi pada diabetes adalah hipoglikemia sebagai akibat dari syok insulin yang dikarenakan pemberian insulin yang berlebih (Price dan Wilson, 2006).

b. Komplikasi vaskular jangka panjang

Komplikasi vaskular jangka panjang dari diabetes melibatkan pembuluh-pembuluh darah kecil (mikroangiopati) dan pembuluh-pembuluh darah sedang dan besar (makroangiopati). Mikroangiopati merupakan lesi spesifik diabetes yang menyerang kapiler dan arteriola retina (*retinopati diabetic*) dan saraf-saraf perifer (*neuropati diabetic*),

otot-otot serta kulit (Price dan Wilson, 2006). Komplikasi makrovaskular terutama terjadi akibat aterosklerosis. Komplikasi makrovaskular ikut berperan dan menyebabkan gangguan aliran darah, penyulit komplikasi jangka panjang, dan peningkatan mortalitas (Corwin, 2009).

Pada diabetes, terjadi kerusakan pada lapisan endotel arteri dan dapat disebabkan secara langsung oleh tingginya kadar glukosa dalam darah, metabolit glukosa, atau tingginya kadar asam lemak dalam darah yang sering dijumpai pada pasien diabetes. Akibat kerusakan tersebut, permeabilitas sel endotel meningkat sehingga molekul yang mengandung lemak masuk ke arteri. Kerusakan sel-sel endotel akan mencetuskan reaksi imun dan inflamasi sehingga akhirnya terjadi pengendapan trombosit, makrofag, dan jaringan fibrosis. Sel-sel otot polos berproliferasi. Penebalan dinding arteri menyebabkan hipertensi, yang semakin merusak lapisan endotel arteri karena menimbulkan gaya yang merobek sel-sel endotel (Corwin, 2009).

2.1.8 Hiperglikemia

Hiperglikemia kronis merupakan tanda umum pada diabetes melitus. Hiperglikemia mengakibatkan peningkatan fluk glukosa dan siklus *Tricarboxylic Acid* (TCA), dimana hal ini akan menambah rantai transpor elektron pada mitokondria sehingga akan memproduksi lebih banyak radikal oksigen (O_2^{\cdot}) dari pada mitokondria SOD (Erejuwa, 2012). Hiperglikemia akan menyebabkan peningkatan stres oksidatif melalui berbagai macam cara, antara lain melalui autooksidasi glukosa, pembentukan AGE (*Advanced Glycation End-product*), dan melalui *polyol pathway* (Jay, 2006).

Peningkatan metabolisme glukosa akibat hiperglikemia intraseluler menghasilkan produksi yang berlebihan dari NADH (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide*) dan *flavin adenosine dinucleotide*, yang akan menggunakan rantai transpor elektron untuk membentuk ATP (*Adenosine Triphosphate*). Peningkatan NADH akan meningkatkan tingginya proton mitokondria dan elektron akan ditransfer menuju oksigen, menghasilkan superoksida (O_2^-). Mitokondria superoksida ini akan meningkatkan sintesis diasilgliserol (DAG) dan protein kinase C (Jay, 2006). Melalui reaksi *non-enzimatic glycation*, glukosa dan bereaksi dengan protein membentuk AGE. Pada DM, level AGE menjadi tinggi akibat dari hiperglikemia kronis. AGE dapat menghambat efek antiproliferasi dari nitrit oksida. Pada vaskuler, AGE berinteraksi dengan protein pada permukaan sel atau komponen matrik ekstrasel menghasilkan *cross-linked* protein, dimana akan meningkatkan pengerasan dari pembuluh arteri. AGE juga dapat memodifikasi protein plasma dan akan merubah aksi reseptor AGE pada sel seperti makrofag, endotel vaskular, dan sel otot halus menghasilkan ROS. AGE telah banyak dihubungkan dengan kejadian lesi aterosklerosis pada pasien diabetes (Erejuwa, 2012). Pada DM, AGE banyak ditemukan pada berbagai jaringan, seperti hati, ginjal, dan eritrosit adalah jaringan yang paling mudah mengalami pembentukan AGE. AGE yang terbentuk akan berikatan dengan reseptor pada permukaan sel membentuk RAGE pada sel endotel dan makrofag, menghasilkan pembentukan ROS intrasel dan aktivasi ekspresi gen. Sel endotel yang terkena AGE akan mengaktifasi NF- κ B, meningkatkan produksi molekul adhesi, dan akan mengurangi kemampuan GSH. ROS intrasel akan mentranslokasikan NF- κ B kedalam nukleus dan

akan menginduksi gen dan juga menyebabkan peningkatan oksidatif stres (Mohora, 2007).

Pada normoglikemia, sebagian besar glukosa di fosforilasi menjadi glukosa 6-fosfat oleh hexokinase, dan sebagian kecil yang tidak difosforilasi masuk kedalam siklus poliol (Mohora, 2007). Ada dua enzim yang berperan dalam pembentukan ROS pada jalur poliol yaitu aldosa reduktase dan sorbitol dehidrogenase (Jay, 2006). Aldosa reduktase normalnya berfungsi mengurangi racun aldehid pada sel akibat alkohol yang inaktif, tetapi karena konsentrasi glukosa tinggi pada sel, enzim ini akan mereduksi NADPH sehingga perubahan glukosa menjadi sorbitol meningkat. Pada kondisi hiperglikemia 30-35% glukosa di metabolisme pada jalur ini. NADPH adalah kofaktor enzim penting pada metabolisme *Reactive Nitrogen Species* (RNS) dan ROS. Keberadaan NADPH yang sedikit akan mengurangi pembentukan glutathione dan aktifitas sintesis nitrit oksida yang akan menghasilkan peningkatan oksidatif stress (Jay, 2006). Jalur ini juga akan merusak fungsi endotel, pertama karena sorbitol yang dihasilkan tidak dapat didifusi menuju sel membran dengan mudah dan akan terakumulasi menyebabkan kerusakan osmotis. Kedua hiperglikemia yang terjadi menyebabkan peningkatan produk jalur poliol yang menyebabkan penurunan NADPH esensial untuk membentuk GSH (*glutathione*) oleh *glutathione reduktase* (GR) sebagai antioksidan sel untuk mencegah kerusakan oksidatif (Mohora, 2007). Enzim sorbitol dehidrogenase meningkatkan produksi superoksida dengan meningkatkan oksidasi NAD(P)H oleh NADH (Jay, 2006).

2.2 Insulin

2.2.1 Fisiologi Normal Insulin

Lemak dan Karbohidrat dari makanan, ada beberapa yang langsung digunakan untuk menghasilkan energi, namun beberapa disimpan untuk digunakan kemudian. Lemak disimpan di sel lemak dan karbohidrat disimpan sebagai glikogen dalam sel hati dan otot. Insulin dibutuhkan untuk mentransport glukosa ke dalam sel untuk digunakan sebagai bahan bakar atau untuk disimpan. Insulin juga memfasilitasi pengambilan dan penyimpanan asam lemak oleh sel lemak dan pengambilan asam amino oleh semua sel (Guthrie, 2004).

Insulin diproduksi oleh sel β pankreas, pengeluaran insulin dipengaruhi oleh level glukosa darah. Pada level selular, insulin akan berinteraksi dengan protein di permukaan sel, yang bernama *insulin receptor*. Interaksi ini menstimulasi reaksi didalam sel dan memproduksi GLUT4 (*glucose transporter*). GLUT4 merupakan transporter untuk membawa glukosa dan protein dari permukaan sel ke dalam sel. Enzim utama dalam proses ini adalah PPAR- γ (*peroxisome proliferator-activated receptor- γ*), enzim ini di nucleus sel, dan bekerja untuk memproduksi RNAm (RNA messenger) yang akan membentuk GLUT1-5 (Guthrie, 2004).

Insulin juga berfungsi untuk menstimulasi enzim untuk memecah glikogen dan lemak. Tidak adanya insulin, hati akan memproduksi glukosa baru (glukoneogenesis) dari protein dan gliserol hasil pemecahan lemak. Glukosa hasil produksi hati merupakan salah satu proses penyebab hiperglikemia pada DM selain karena defisiensi insulin dan resistensi insulin (Guthrie, 2004).

2.2.2 Resistensi Insulin

Resistensi insulin terjadi di sel perifer (terutama sel otot dan lemak) dan pada hati. Resistensi insulin timbul akibat sel beta meningkatkan produksi insulin untuk mengkompensasi dan memelihara level glukosa darah dalam keadaan normal, namun terjadi abnormalitas pada reseptor insulin, sehingga insulin tidak bekerja optimal pada sel (Guthrie, 2004).

2.2.3 Defisiensi Insulin

Defisiensi insulin terjadi akibat sel beta mengalami kelelahan karena terlalu sering memproduksi insulin dalam jumlah besar (*hyperscretion insulin*), toksisitas glukosa dan lipid pada sel beta, atau faktor genetik. Lemak, terutama TG merupakan zat toksik bagi sel beta. Enzim lipase yang diaktifkan di sel lemak akan memecah lemak menjadi TG, FFA, dan gliserol. Akumulasi lemak intra-abdominal mengeluarkan TG menuju pankreas. TG ini akan menjadi toksik menyebabkan kerusakan dan menghilangkan fungsi dari sel beta (Guthrie, 2004).

2.2.4 Efek Insulin pada Metabolisme Karbohidrat

Peran insulin dalam metabolisme karbohidrat antara lain, insulin dapat menaikkan pengambilan glukosa oleh otot. Sel otot membutuhkan glukosa sebagai energi. Ada dua kondisi dimana sel otot menggunakan glukosa dalam jumlah besar, kondisi yang pertama saat melakukan latihan yang sedang dan berat, karena saat latihan serabut otot menjadi lebih permeabel oleh glukosa meskipun tidak ada insulin. Kondisi yang kedua selama beberapa jam setelah makan, dimana kadar gula darah meningkat

sehingga pankreas mengeluarkan insulin dalam jumlah banyak. Insulin dalam jumlah ini menyebabkan transpor glukosa ke otot makin cepat. Glukosa tersebut ada yang disimpan dalam sel otot dalam bentuk glikogen, sebagai cadangan energi (Guyton, 2011).

Peran insulin selanjutnya adalah menaikkan pengambilan, penyimpanan, dan penggunaan glukosa oleh hati. Saat kadar gula darah menurun, hati mengubah glikogen menjadi glukosa yang akan dialirkan ke darah. Mekanisme pengambilan dan penyimpanan glukosa di dalam hati, yaitu:

1. Insulin menonaktifkan fosforilase hati, enzim ini yang menyebabkan glikogen di hati dipecah menjadi glukosa.
2. Insulin menyebabkan peningkatan pengambilan glukosa ke hati dengan meningkatkan aktivitas enzim glukokinase.
3. Insulin meningkatkan aktivitas enzim glikogen sintetase untuk membentuk glikogen sehingga kadar glikogen dalam hati meningkat.

Jika glukosa darah menurun, hati akan melepaskan glukosa. Penurunan glukosa darah menyebabkan pankreas mensekresi insulin dalam jumlah sedikit, mencegah pengambilan glukosa oleh hati, mengaktifkan enzim fosforilase mengeluarkan glukosa fosfat, sehingga glukosa berdifusi kembali ke dalam darah (Guyton, 2011). Dalam metabolisme karbohidrat, insulin juga berperan dalam menghambat glukoneogenesis dan merubah kelebihan glukosa menjadi asam lemak.

2.2.5 Efek Insulin pada Metabolisme Lemak

Peran insulin pada metabolisme lemak, insulin dapat menaikkan sintesis dan penyimpanan lemak. Insulin meningkatkan penggunaan

glukosa di berbagai jaringan. Hal ini menyebabkan penggunaan lemak menurun. Kerja insulin dapat meningkatkan sintesis asam lemak, asam lemak akan ditranspor dari hati oleh lipoprotein ke sel adiposa untuk disimpan. Peningkatan asam lemak terjadi karena, insulin meningkatkan transport glukosa ke dalam hati, yang akan diubah menjadi piruvat di jalur glikolisis, dan piruvat diubah menjadi asetil koenzim A, untuk mensintesis asam lemak. Insulin juga mengaktifasi lipoprotein lipase di dinding kapiler jaringan adipose, untuk merubah kembali TG menjadi asam lemak (Guyton, 2011).

Peran insulin dalam penyimpanan lemak di sel adipose, bekerja dengan cara menghambat kerja *hormone-sensitive lipase*. Enzim ini menyebabkan hidrolisis dari TG yang tersimpan di sel lemak dan menghambat pengeluaran asam lemak dari jaringan adipose. Insulin juga menaikkan transpor glukosa ke dalam membrane sel lemak, yang digunakan untuk sintesis asam lemak dan α -gliserol fosfat yang bergabung dengan asam lemak membentuk TG yang disimpan di jaringan adiposa (Guyton, 2011).

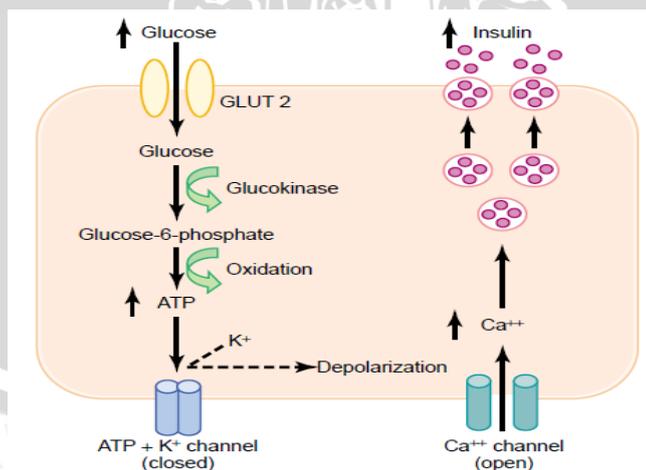
Defisiensi insulin dapat menyebabkan pemecahan lemak dan pengeluaran asam lemak bebas, akibat aktivasi enzim hormone-sensitif lipase dan menyebabkan peningkatan konsentrasi fosfolipid dan kolesterol plasma, dengan meningkatkan kerja hati untuk merubah asam lemak menjadi kolesterol yang akan membentuk aterosklerosis pada penderita DM. Kekurangan insulin juga dapat menyebabkan jumlah berlebihan asam asetoasetik dari hasil reaksi asam lemak menghasilkan *asetil Co-A*. Asam

asetoasetik akan diubah menjadi asam β -hidroksibutirat dan aseton (benda keton) yang dapat menyebabkan asidosis dan koma (Guyton, 2011).

2.2.6 Efek Insulin pada Metabolisme Protein

Peran insulin dalam metabolisme protein, insulin meningkatkan sintesis dan simpanan protein, dengan cara : (1) insulin menstimulasi transport asam amino ke dalam sel, (2) insulin meningkatkan translasi dari RNA messenger untuk membentuk protein baru, (3) insulin meningkatkan kecepatan transkripsi DNA untuk membentuk RNA dan mensintesis protein, (4) insulin menghambat katabolisme protein, dan (5) di dalam hati, insulin menekan kecepatan proses glukoneogenesis. Kekurangan insulin menyebabkan protein habis dan peningkatan asam amino, yang akan digunakan sebagai energi dan substrat dari glukoneogenesis. Hal ini menyebabkan kelelahan dan disfungsi berbagai organ (Guyton, 2011).

2.2.7 Mekanisme Sekresi Insulin



Gambar 2.3 Mekanisme Sekresi Insulin

Sel beta memiliki banyak *glucose transporter* (GLUT-2). Di dalam sel, glukosa di fosforilasi menjadi glukosa-6-fosfat oleh glukokinase. G-6-P

akan dioksidasi menjadi ATP, yang akan menghambat ATP-sensitive *potassium channels* sel. Penutupan ATP+K ini membuka Kalsium channel, yang akan memproduksi kalsium yang menstimulasi insulin untuk dikeluarkan ke ekstrasel dengan eksositosis. Asam amino dapat dimetabolisme oleh sel beta untuk meningkatkan ATP intrasel dan menstimulasi pengeluaran insulin, hormone gastrointestinal, glucagon, kortisol juga dapat menstimulasi pengeluaran insulin (Guyton, 2011).

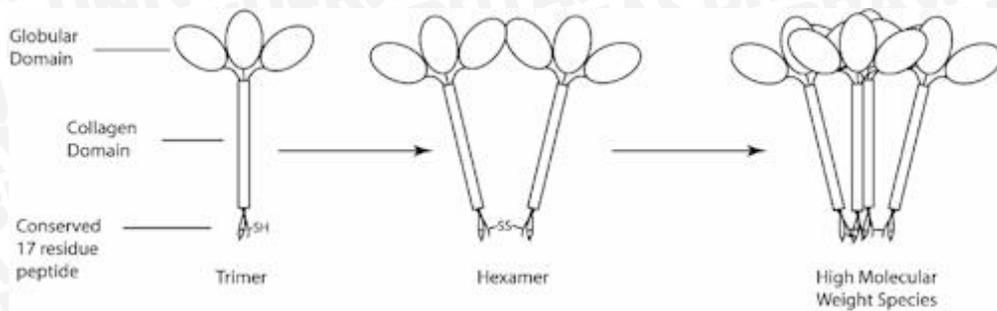
2.3 Adiponektin

2.3.1 Definisi

Adiponektin yang juga disebut adipoQ dan Acrp30 adalah faktor komplemen (Clq) yang disintesis adiposit. Adiponektin meningkatkan oksidasi lemak dan sensitivitas insulin. Ekspresi gen adiponektin di jaringan lemak viseral dihambat oleh glukokortikotiroid dan *Tumor Necrosis Factor α* (TNF- α) dan dipacu oleh insulin dan *Insulin-like Growth Factor* (IGF-1). Kadar adiponektin darah menurun pada obesitas dan berkorelasi negatif dengan resistensi insulin serta kadar *C-reactive protein* (CRP) rendah (Indra, 2007).

2.3.2 Struktur

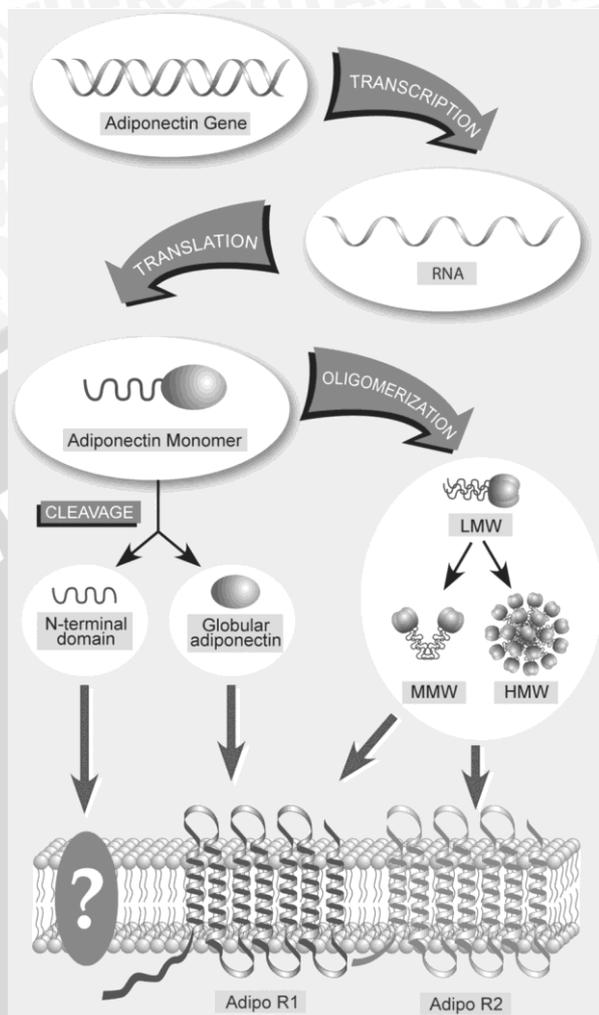
Adiponektin adalah salah satu protein yang melimpah/banyak di dalam plasma (~1-17 $\mu\text{g/ml}$) dan mempunyai hubungan yang terbalik dengan *Body Mass Index* (BMI). Kadar adiponektin menurun pada orang yang mengalami obesitas.



Gambar 2.4 Struktur Adiponektin (Lee, 2007)

Produk gen adiponektin adalah protein seberat 30kDa tetapi monomer-monomer ini dapat membentuk *trimetic Low-molecular-mass form* (LMW) atau urutan yang lebih kompleks yang meliputi hexamer-hexamer, *medium-molecular-mass form* (MMW) dan oligomer-oligomer, *High-molecular-mass form* (HMW), yang tiap struktur tersebut mempunyai fungsi yang berbeda dan respon jaringan yang berbeda. Sebagai tambahan, *full-length* adiponektin (fAd) multimer dapat dipecah untuk melepaskan sebuah fragmen yang mengandung C-terminal globular domain (gAD), yang mempunyai efek metabolik yang poten, terutama pada otot skelet. Selanjutnya, sebuah sinyal intraselular ditujukan untuk melepaskan adiponektin *N-terminal region* yang berikatan dengan tipe sel tertentu dan memperantari efek-efek fisiologis (Fang, 2006).

Kontrol promotor gen adiponektin diperantai oleh *sterol-regulatory-element-binding protein* (SREBP), *CCAAT/enhancer-binding protein* (C/EBP), *peroxisome-proliferasor-activated receptor γ* (PPAR γ), faktor transkripsi, dan beberapa faktor lain seperti TNF- α , insulin, dan thiazolidinediones (Fang, 2006).



Gambar 2.5 Regulasi Sintesis Adiponektin (Fang, 2006)

Fungsi dari adiponektin dapat diregulasi dari berbagai tahap, seperti transkripsi dari gen adiponektin, translasi dari protein RNA, modifikasi *post-translational* yang berakibat oligomerisasi fAd ke dalam trimer (LMW), hexamer (MMW), dan oligomer (HMW). Pemecahan fAd yang diperantarai oleh protease membentuk *N-terminal fragment* dan C-terminal globular domain (gAd). gAd mempunyai afinitas yang tinggi terhadap AdipoR1 dan bentuk dari fAd dan gAd, LMW, MMW, dan HMW dapat memperantarai berbagai efek seluler. Selain itu, *N-terminal fragment* dapat memperantari respon seluler (Fang, 2006).

Terdapat 2 macam reseptor adiponektin, yaitu :

Adipo R1 : yang mempunyai afinitas yang tinggi terhadap gAd dan afinitas yang rendah terhadap bentuk oligomerik fAd

Adipo R2 : mempunyai afinitas yang sama antara bentuk gAd dan fAd.

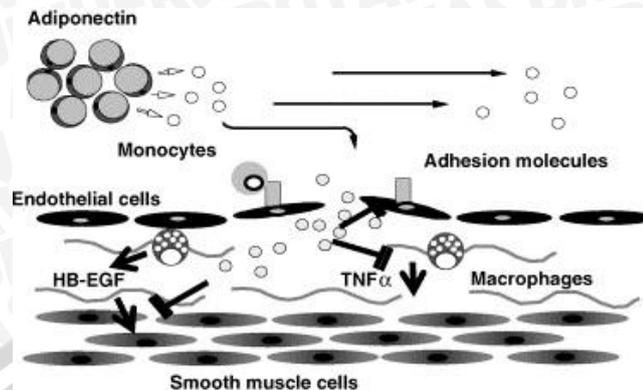
Hiperinsulinemia atau hiperglikemia dapat mengurangi ekspresi AdipoR1 *messenger Ribonucleid Acid* (mRNA), yang berakibat pada resistensi gAd.

Hiperinsulinemia juga menginduksi sensitivitas fAd dengan cara meningkatkan ekspresi AdipoR2 (Fang, 2006).

2.3.3 Peranan

2.3.3.1 Adiponektin Sebagai Antiaterogenik

Adiponektin memiliki aktivitas biologi sebagai antiaterogenik yang melindungi remodeling luka sel-sel vaskular. Adiponektin terbukti menghambat ekspresi molekul adhesi termasuk *vascular cell adhesion molecule* (VCAM) dan E-selectin serta menghambat TNF- α yang dapat menginduksi aktivasi NF- κ B melalui inhibisi fosforilasi I κ B. Adiponektin juga dapat menghambat ekspresi *macrophage scavenger receptor* kelas A-1 sehingga dapat menurunkan pengambilan LDL teroksidasi oleh makrofag dan menghambat pembentukan sel busa. Adiponektin dapat melemahkan sintesis DNA yang diinduksi oleh faktor-faktor pertumbuhan seperti *platelet-derived growth factor* (PDGF), *heparin-binding epidermal growth factor* (EGF)-like growth factor, *basic fibroblast growth factor* dan EGF serta mencegah proliferasi dan migrasi sel yang diinduksi oleh *heparin-binding* (EGF)-like growth factor (Matsuzawa, 2004).



Gambar 2.6 Mekanisme Molekular Adiponektin Sebagai Antiaterogenik

(Matsuzawa, 2004)

Hipoadiponektinemia berkorelasi pada individu dengan BMI yang tinggi, sensitivitas insulin yang rendah, profil penanda biokimiawi lemak yang buruk, penanda inflamasi yang meningkat, dan risiko penyakit kardiovaskular yang tinggi. Dari hasil Penelitian Matsushita (2005), diketahui adanya hubungan yang terbalik antara adiponektin dengan CRP pada subyek sehat. Sehingga diduga bahwa penurunan serum adiponektin berhubungan dengan fase awal inflamasi. *Low-grade* adiponektin sebagai modulator berkaitan dengan aktivitas biologi endogen terhadap respon sel endotel yang dirangsang oleh sitokin proinflamasi melalui *cross talk* antara *Cyclic 3',5'-Adenosin Monophosphate-Protein Kinase A (cAMP-PKA)* melalui jalur sinyal *Nuclear Faktor-Kappa B (NF-κB)*. Sintesis dan sekresi adiponektin meningkat dengan adanya aktivasi $PPAR\gamma$ dan menurun pada keadaan kelebihan kalori, yang diasumsikan berhubungan dengan defisiensi leptin atau resistensi leptin (Sartika, 2006).

2.3.3.2 Adiponektin pada Stres Oksidatif

Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif dengan membentuk reaksi reduksi oksidasi biokimia dan merupakan suatu bagian yang normal dari metabolisme sel. Keseimbangan reduksi oksidasi menggambarkan proses fisiologis normal sebagai upaya tubuh memperbaiki ketidakstabilan, kerusakan, penurunan akibat ROS seperti Superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal hidroksi (OH^-) dan oksigen tunggal serta senyawa organik seperti *Reactive Nitrogen Species* (RNS) terutama dalam bentuk peroksi nitrin ($ONOO^-$). Ketidakseimbangan antara oksidan dan antioksidan berpotensi menyebabkan kerusakan yang disebut stres oksidatif (Sartika, 2006).

Stres oksidatif menggambarkan banyaknya ROS pada proses oksidasi, baik reduksi oksidasi maupun stress oksidatif berkaitan dengan gagalnya pertahanan kapasitas antioksidan tubuh terhadap produksi ROS yang berlebih. Stres oksidatif sering dikaitkan dengan berbagai patofisiologi penyakit antara lain diabetes tipe 2 dan aterosklerosis. Pada keadaan diabetes, stres oksidatif menghambat pengambilan glukosa di sel otot dan sel lemak serta menurunkan sekresi insulin oleh sel- β pankreas. Stres oksidatif secara langsung mempengaruhi dinding vaskular sehingga berperan penting pada patofisiologi terjadinya diabetes tipe 2 dan aterosklerosis (Sartika, 2006).

Dari beberapa penelitian diketahui bahwa akumulasi lemak pada obesitas dapat menginduksi keadaan stres oksidatif yang disertai dengan peningkatan ekspresi *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphatase* (NADPH) oksidase dan penurunan ekspresi enzim antioksidan. Pada

kultur sel adiposa, peningkatan kadar asam lemak meningkatkan stres oksidatif melalui aktivasi NADPH oksidase sehingga menyebabkan disregulasi sitokin proinflamasi interleukin-6 (IL-6) dan *Monocyte Chemoattractant Protein-1* (MCP-1). Akumulasi peningkatan stres oksidatif pada sel adiposa dapat menyebabkan disregulasi adipokin dan keadaan sindrom metabolik. Furukawa dkk (2004) menunjukkan bahwa kadar adiponektin berhubungan terbalik dengan stres oksidatif secara sistemik. Penelitian-penelitian terbaru menunjukkan stres oksidatif yang diakibatkan oleh akumulasi lemak merupakan target yang tepat untuk pengobatan.

Disregulasi adiponektin memediasi aktivasi NF- κ B melalui fosforilasi subunit β dari *inhibitori subunit 1- κ B kinase* (IKK- κ). Aktivasi NF- κ B dapat menyebabkan terbentuknya ROS yang bertindak sebagai pemicu terbentuknya *oxidizes LDL* (ox-LDL). LDL teroksidasi memicu makrofag secara agresif meng-*uptake* ox-LDL yang dapat menyebabkan perkembangan menjadi lesi aterosklerosis. Ox-LDL berkaitan erat dengan beberapa manifestasi sindrom metabolik yang diakibatkan oleh peningkatan kadar lemak plasma dan perubahan densitas serta ukuran LDL sejalan dengan meningkatnya kadar glukosa dan insulin plasma. Ox-LDL berkontribusi mengaktifkan NF- κ B sehingga dapat menstimulasi pembentukan ROS. Keadaan ini dapat menyebabkan inflamasi yang berkembang menjadi hipertensi, aterosklerosis, diabetes, dan obesitas (Sartika, 2006).

Pada penelitian mengenai peran antiinflamasi dari adiponektin juga menunjukkan bahwa adiponektin dapat memperbaiki dampak negatif

dari TNF- α terhadap fungsi endotel tanpa perlu menghambat ikatan dari TNF- α . fAd dapat menghambat molekul adhesi yang diinduksi oleh TNF- α , seperti VCAM-1, E-selectin, *Intercellular adhesion molecule* (ICAM-1). Adiponektin mampu menekan perubahan inflamasi dengan menghambat fosforilasi *inhibitory* NF- κ B dan aktivasi NF- κ B tanpa mempengaruhi aktivasi *c-Jun N-terminal kinase*, p38, dan Akt yang diaktivasi oleh TNF- α . Adiponektin juga telah dibuktikan dapat menghambat pembentukan koloni leukosit, menurunkan aktivitas fagositosis, dan menurunkan sekresi TNF- α dari sel makrofag.

gAd dapat menghambat proliferasi sel yang diinduksi oleh ox-LDL, serta menghambat pengeluaran *superoxide* yang diinduksi oleh ox-LDL, dan aktivasi p42/p44 *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK) oleh ox-LDL dengan menggunakan kultur sel endotel. Dampak dari ambilan dan oksidasi dari LDL tersirkulasi pada dinding vaskuler dapat mengakibatkan terbentuknya sel busa, inaktivasi eNO, induksi respon inflamasi, dan stimulasi pembentukan ROS. Semua komponen tersebut telah diketahui berperan aktif pada proses terjadinya aterosklerosis. ROS vaskuler dapat mengakibatkan proliferasi dari sel endotel, salah satu proses yang terlibat langsung pada kelangsungan lebih lanjut angiogenesis (Sartika, 2006).

2.3.3.3 Adiponektin dan Metabolisme Lemak

Adiponektin merupakan protein yang beraksi secara langsung dalam regulasi jalur metabolik di jaringan adiposit, liver, dan otot rangka. Adiponektin juga mengintervensi otak dan meregulasi pelepasan energi melalui mekanisme sentral. Diketahui adiponektin meregulasi inflamasi pada sel adiposit itu sendiri dan aktivitas antiinflamasi melibatkan inhibisi

parsial faktor transkripsi NF- κ B. Di samping itu, obesitas dan resistensi insulin menyertai kondisi prediabetes yang dikenal sebagai sindrom metabolik. Beberapa bukti yang ada mengindikasikan bahwa obesitas ditandai dengan akumulasi makrofag di dalam jaringan adiposit serta profil transkripsi dalam adiposit dan makrofag menggambarkan status inflamasi aktif. Adiponektin mensupresi produksi TNF- α dan IL-6 dalam makrofag, dan regulasi kedua sitokin ini terjadi di dalam adiposit (Ajuwon, 2004).

Adiponektin menurunkan sintesis lemak dan produksi glukosa di dalam hati yang berdampak terjadinya penurunan konsentrasi asam lemak dan glukosa darah. Di samping itu, terjadi penurunan produksi trigliserida dan oksidasi lemak yang mengakibatkan peningkatan pelepasan energi oleh otot. Pada obesitas, sel lemak yang mengalami hipertrofi akibat diet kaya lemak, menyebabkan penurunan produksi dan sekresi hormon insulin serta meningkatkan resistensi insulin. Penambahan adiponektin dapat memperbaiki sensitivitas insulin dan dapat mengoreksi hiperglikemi. Ada hubungan antara obesitas dan adiponektin dalam sirkulasi, yaitu konsentrasi adiponektin akan meningkat secara signifikan dengan menurunnya berat badan. Penurunan adiponektin dihubungkan dengan resistensi insulin dan hiperinsulin. Peningkatan adiponektin dalam darah akan menurunkan resiko penyakit tersebut (Indra, 2006).

Adiponektin mungkin menjadi regulator lokal inflamasi pada adiposit dan jaringan adiposit melalui regulasinya pada NF- κ B dan faktor transkripsi PPAR γ 2. Sedangkan LPS (lipopolisakarida) menginduksi

peningkatan aktivasi NF- κ B, adiponektin menekan aktivasi NF- κ B dan menginduksi ekspresi IL-6 pada kultur adiposit babi dan adiposit 3T3-L1 (Gil, 2007). Lebih lanjut lagi, adiponektin bekerja antagonis dengan LPS dengan menginduksi ekspresi mRNA TNF- α . Adiponektin juga menginduksi peningkatan mRNA PPAR γ 2. Setidaknya adiponektin berinteraksi dengan dua reseptor seluler yakni ADIPO-R1 dan ADIPO-R2 yang menyebabkan aktivasi PPAR γ , AMP-kinase (AMPK) dan p38 *mitogen-activated protein kinase* (Gil, 2007).

Adiponektin meregulasi ekspresi beberapa sitokin proinflamasi dan anti inflamasi. Fungsi sitokin anti inflamasi mungkin berhubungan dengan kemampuan adiponektin untuk menekan sintesis TNF- α dan IFN γ dan menginduksi produksi sitokin anti inflamasi seperti IL-10 dan IL-1Ra. Aktivasi PPAR γ 2 menekan efek anti inflamasi melalui inhibisi aktivasi transkripsional respon gen pro inflamasi (Gil, 2007).

2.4 Susu sapi bubuk

Susu sapi bubuk merupakan bentuk olahan dari susu segar yang dibuat dengan cara memanaskan susu (*pasteurisasi*), kemudian dilakukan proses pengolahan dengan beberapa tahapan yaitu evaporasi, homogenisasi, dan pengeringan yang dilakukan dengan menggunakan *spray dryer* atau *roller dryer*. Produk ini mengandung 2-4% air. Prinsip pembuatan susu sapi bubuk adalah menguapkan sebanyak mungkin kandungan air susu dengan cara pemanasan (pengeringan) (Eriza, 2004 ; Nasution, 2009).

Menurut data USDA (2010), konsumsi susu sapi bubuk Indonesia meningkat 6.000 ton dari 106.000 ton menjadi 112.000 ton selama tahun

2009-2010. Data itu menunjukkan penerimaan masyarakat Indonesia akan susu sapi bubuk cukup tinggi. Sedangkan untuk tingkat konsumsi susu pada penderita diabetes mellitus di Indonesia masih tergolong kurang, karena sebagian besar pasien DM tidak pernah mengonsumsi susu. Sementara mereka yang mengonsumsi susu, mengkonsumsinya dengan frekuensi jarang (Wulanti, 1999).

Selain dikonsumsi dengan cara direkonstitusi menjadi susu cair, susu sapi bubuk juga banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku pada industri pengolahan pangan contohnya untuk pembuatan produk *bakery*, permen, dan saus. Susu sapi bubuk digunakan untuk meningkatkan nilai gizi dan sifat fungsionalnya seperti penerimaan sensori dan tekstur. Susu sapi bubuk sering diaplikasikan sebagai bahan baku maupun bahan tambahan pada industri pangan. Hal ini karena komponen dalam susu sapi bubuk dapat mudah berinteraksi dengan komponen lain ketika diformulasikan dan diproses menjadi suatu produk pangan (Augustin, 2008). Selain itu, susu sapi bubuk merupakan sumber nutrisi ekonomis bagi industri yang membutuhkan komponen gizi dari susu seperti lemak susu, mudah dalam transportasi dan penyimpanan, dan mudah direkonstitusi. Indonesia adalah negara beriklim tropis sehingga susu yang kaya nutrisi sangat rentan terhadap serangan mikroorganisme yang mempercepat kerusakannya. Oleh karena itu masyarakat lebih memilih susu dalam bentuk bubuk yang mana memiliki kadar air rendah serta lebih tahan lama sehingga dapat disimpan untuk jangka waktu lebih lama.

Di negara yang produksi susunya terbatas seperti Indonesia, susu yang banyak beredar adalah susu rekombinasi. Susu rekombinasi adalah

produk susu hasil pencampuran lemak susu dan padatan susu tanpa lemak dengan atau tanpa penambahan air. Pencampuran ini akan menghasilkan susu dengan komposisi lemak tertentu. Adapun komposisi yang terdapat pada susu sapi bubuk dapat dilihat pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Komposisi (%w/w) pada Susu sapi bubuk (Chandan, 1997)

Komponen	(%)
Kadar air	3,0
Kadar lemak	27,5
Kadar protein	26,4
Kadar laktosa	37,2
Kadar mineral	5,9

Lemak susu berkontribusi terhadap 48% total kalori pada susu. Lemak susu mengandung sekitar 66% lemak jenuh, 30% lemak tak jenuh rantai tunggal, serta 4% lemak tak jenuh rantai banyak. Komponen mikro dari lemak susu antara lain adalah fosfolipid, sterol, tokoferol (vitamin E), karoten, vitamin A, serta vitamin D (Buckle, 2009).

Susu mengandung berbagai jenis vitamin yang diperlukan tubuh. Kandungan vitamin dalam susu sapi bubuk secara umum dapat dilihat pada Tabel 2.4. Dipandang dari sudut gizi, susu merupakan sumber yang cukup baik dari vitamin larut air yaitu B dan C, serta vitamin larut lemak yaitu A, D, dan E (Buckle, 2009). Namun untuk beberapa vitamin yang sensitif terhadap panas seperti vitamin C dan B9, kandungannya dapat berubah secara signifikan untuk produk susu yang diolah menggunakan panas tinggi.

Menurut BPOM (2006), komposisi lemak total pada susu sapi bubuk maksimal 40% dan minimal 26% dengan kadar air maksimal 5%. Dalam susu sapi bubuk dapat ditambahkan komposisi lain seperti vitamin, *carrier* vitamin, emulsifier, stabilizer, anticaking, antioksidan, dan juga flavor. Susu

sapi bubuk berasal baik dari susu segar dengan atau tanpa rekombinasi dengan zat lain seperti lemak atau protein yang kemudian dikeringkan.

Tabel 2.4 Kandungan Vitamin pada Susu

Vitamin	Kandungan per 100 g
Vitamin A	160 IU
Vitamin C	2,0 mg
Vitamin D	0,5-4,4 IU
Vitamin E	0,08 mg
Vitamin B1 (Tiamin)	0,035 mg
Vitamin B2 (Riboflavin)	0,17 mg
Vitamin B3 ((Niasin)	0,08 mg
Vitamin B5 (Asam Pantotenat)	0,35 – 0,45 mg
Vitamin B6 (Piridoksin)	0,05 - 0,1 mg
Vitamin B9 (Asam Folat)	3 – 8 µg
Vitamin B12	0,5 µg
Biotin	0,5 µg

Kandungan air yang tinggi pada susu segar menyebabkan perlu dilakukan pemekatan terlebih dahulu untuk menghasilkan susu dengan kadar air yang lebih rendah. Proses pemekatan awal ini melibatkan evaporasi sehingga terjadi perubahan kadar air menjadi 50% diikuti dengan pengeringan semprot sehingga dihasilkan susu sapi bubuk dengan kadar air rendah, sekitar 3% (Widodo, 2003).

Fennema (1985) memaparkan adanya hubungan yang erat antara kadar air dalam bahan pangan dengan umur simpannya. Pengurangan

kadar air dengan pengeringan membantu memperpanjang umur simpan bahan pangan dengan cara mengurangi kerusakan mikrobiologis maupun kerusakan kimiawi. Umur simpan susu bubuk maksimal adalah dua tahun dengan penanganan yang baik dan benar. Susu bubuk dapat dikelompokkan menjadi tiga jenis yaitu susu bubuk berlemak (*full cream milk powder*), susu bubuk rendah lemak (*partly skim milk powder*), dan susu bubuk tanpa lemak (*skim milk powder*).

Susu bubuk berlemak (*full cream milk powder*) adalah susu yang telah diubah bentuknya menjadi bubuk. Susu bubuk rendah lemak (*partly skim milk powder*) adalah susu yang telah diambil sebagian lemaknya dan diubah bentuknya menjadi bubuk. Susu bubuk tanpa lemak (*skim milk powder*) adalah susu yang telah diambil lemaknya dan diubah menjadi bubuk (BSN 2000).

Gizi yang tersedia dalam susu bubuk berupa protein, glukosida, lipida, garam-garam mineral dan vitamin sangat cocok untuk pertumbuhan dan penambahan jumlah sel tubuh anak-anak dan mamalia muda lainnya (Buckle. 2009). Komposisi kandungan gizi dari berbagai jenis susu bubuk dapat dilihat pada Tabel 2.5.

Tabel 2.5 Komposisi kandungan gizi beberapa jenis susu bubuk

Susu Bubuk	Air (%)	Protein (%)	Lemak (%)	Laktosa (%)	Mineral (%)
Susu Bubuk <i>Full Cream</i>	3,5	25,2	26,2	38,1	7,0
Susu Bubuk Skim	4,3	35,0	0,97	51,9	7,8
Susu Bubuk Krim	4,0	21,5	40,0	29,5	5
Susu Bubuk <i>Whey</i>	7,1	12,0	1,2	71,5	8,2
Susu Bubuk <i>Buttermilk</i>	3,1	33,4	2,28	54,7	6,5

(Sudarwanto, 1993)

Susu sangat baik untuk mencegah resiko diabetes melitus tipe 2. Hal ini didukung oleh penelitian Tremblay (2009) yang menyatakan bahwa produk susu yang mengandung vitamin D dan kalsium dapat mencegah terjadinya resiko Diabetes Melitus tipe 2. Kombinasi asupan harian vitamin D sebanyak >800 IU dan kalsium >1200 mg diketahui dapat menurunkan resiko diabetes melitus tipe 2 sebesar 33% (Pittas, 2006). Penelitian Nikooyeh (2011) menunjukkan bahwa pemberian vitamin D sebanyak 1000 IU per hari dalam yogurt yang difortifikasi dapat menurunkan kadar glukosa darah secara signifikan. Tremblay (2009) menyatakan bahwa konsumsi susu dan produk susu rendah lemak kurang dari kebutuhan sehari memiliki kontribusi terhadap peningkatan sindrom resistensi insulin yang berhubungan dengan diabetes melitus tipe 2.

2.5 Vitamin D

2.5.1 Absorpsi, Transpor, Storage

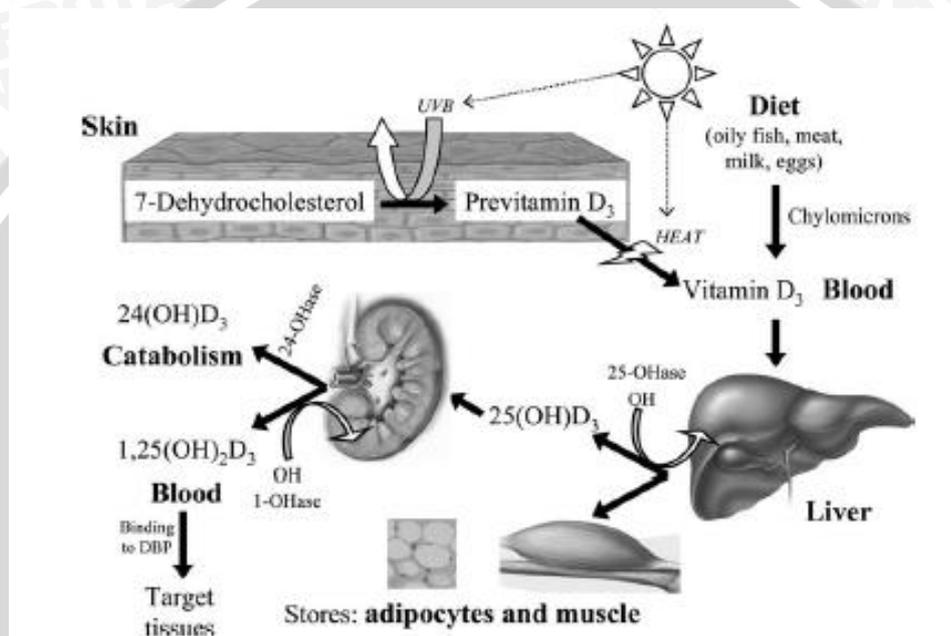
Vitamin D terdapat dalam dua bentuk, vitamin D3 (*cholecalciferol*) yang merupakan hasil konversi dari 7-*dehydrocholesterol* pada epidermis dan dermis manusia, vitamin D2 (*ergocalciferol*) yang diproduksi di jamur dan ragi. Perbedaan kimia antara vitamin D2 dan D3 terletak pada rantai sampingnya, berbeda dengan vitamin D3, vitamin D2 memiliki ikatan ganda antara karbon 22 dan 23 dan kelompok metil pada karbon 24 (Chung, 2009).

Vitamin D diabsorpsi dengan lemak makanan dan bergantung dengan adanya asam empedu. Absorpsi utamanya pada jejunum dan ileum. Vitamin D diabsorpsi dengan asam lemak rantai panjang dan menyatu dengan kilomikron, masuk ke system limfe, sesudah itu masuk ke plasma. Vitamin D plasma akan ditranspor menuju hati oleh kilomikron atau oleh carrier spesifik (Vitamin D-binding protein) DBP/transcalciferin. DBP diidentifikasi sebagai α -2-globulin dan albumin. Semua bentuk vitamin D (25-hidroksi-D₃, 24,25-dihidroksi-D₃, dan 1,25-dihidroksi-D₃) dibawa oleh protein globulin. Vitamin D yang disintesis di kulit dari kolesterol masuk ke sistem kapiler dan ditransportasi oleh DBP, vitamin D yang diikat DBP di salurkan ke jaringan perifer, sebagian kecil disimpan di hati. (Mahan, 2008).

2.5.2 Metabolisme dan Fungsi

Sumber utama vitamin D adalah cholecalciferol (vitamin D₃). Vitamin D harus diaktifkan menjadi dua bentuk hidroxilasi. Pertama terjadi di hati

oleh enzim D_3 25-hidroksilase dan menghasilkan 25-hidroksi vitamin D_3 (25-hidroksikolekalkiferol), yang kedua dibawa oleh enzim α -1-hidroksilase di ginjal dan menghasilkan 1,25-dihidroksivitamin D_3 ($1,25(OH)_2D_3$). Bentuk paling aktif vitamin D. $1,25(OH)_2D_3$ merupakan hormon steroid yang mengatur transkripsi lebih dari 200 gen (Hecht, 2010).

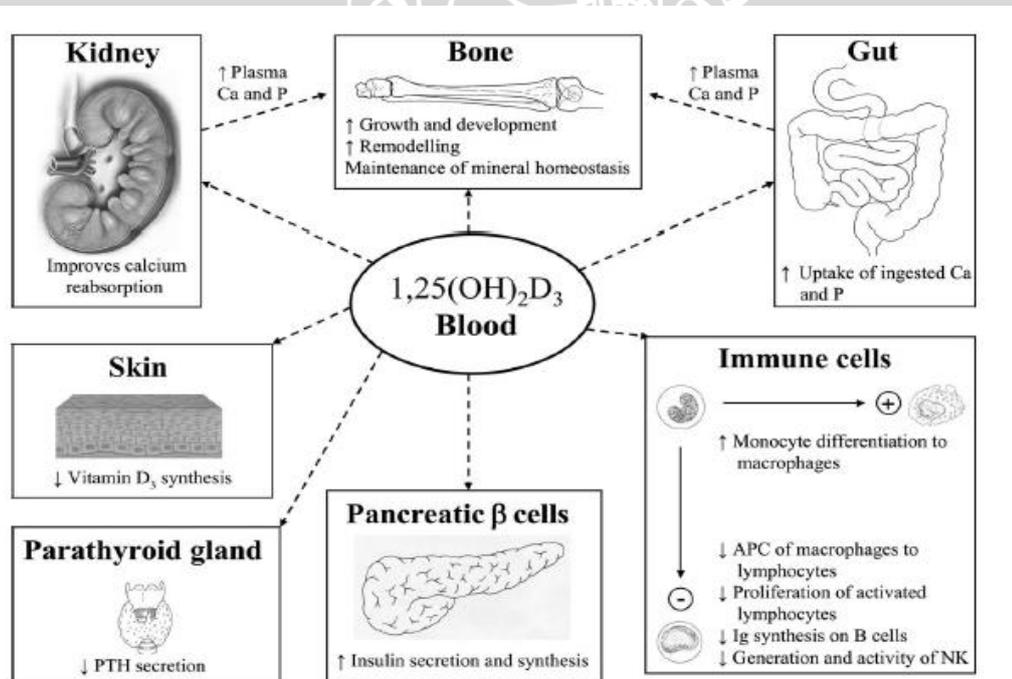


Gambar 2.7 Metabolisme vitamin D (Palomer, 2008)

Aktivitas α -1-hidroksilase meningkat oleh paratiroid hormon (PTH). Fungsi 25-dihidroksivitamin D_3 terutama seperti hormon steroid. Kerja utama melibatkan interaksi dengan reseptor membrane sel dan reseptor nukleus vitamin D (VDR) protein untuk membentuk transkripsi gen diberbagai jaringan. Lebih dari 50 gen telah diketahui diatur oleh vitamin D (Mahan, 2008). 1,25-dihidroksivitamin D_3 (Calcitriol) mempengaruhi homeostatis kalsium dan fosfor. Pertama calcitriol di usus meningkatkan aktivitas transport kalsium dan menstimulasi sintesis *calcium-binding protein*. Kedua, pada tulang, PTH dengan calcitriol memindahkan kalsium dan fosfor dari tulang untuk memelihara kadar normal darah. Di ginjal

calcitriol meningkatkan *renal tubular* mereabsorpsi kalsium dan fosfat (Mahan, 2008).

Salah satu fungsi biologis utama dari vitamin D adalah untuk mempertahankan homeostasis kalsium yang berdampak pada proses metabolisme seluler dan fungsi neuromuskular. Vitamin D mempengaruhi penyerapan kalsium usus dengan meningkatkan ekspresi epithelial calcium channel protein, yang pada gilirannya meningkatkan pengangkutan kalsium melalui sitosol dan melintasi membran basolateral dari enterocyte. Vitamin D juga memfasilitasi penyerapan fosfat usus. Secara tidak langsung, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mempengaruhi mineralisasi tulang dengan mempertahankan kalsium plasma dan konsentrasi fosfor yang diperlukan untuk mineralisasi tulang. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, hubungannya dengan hormon paratiroid, juga menyebabkan demineralisasi tulang akibat turunnya konsentrasi kalsium plasma (Chung, 2009).



Gambar 2.8. Mayor Target Sel Kerja Vitamin D (Palomer, 2008)

2.5.3 Sumber Vitamin D

Sumber makanan yang kaya akan vitamin D banyak didapatkan pada ikan salmon, sayuran hijau, *dairy product*, dan kacang-kacangan.

Tabel 2.6 Kandungan Vitamin D pada Berbagai Bahan Makanan

Sumber Makanan	Serving Size	Vitamin D (IU)
Minyak hati ikan cod	1 sendok makan	1360
Ikan salmon	3 ons	400-800
Catfish	3 ons	425
Ikan Tuna	3 ons	230-345
Susu, difortifikasi	1 cangkir	90-125
Kuning telur	-	24
Ikan sarden	1 ons	84
Hati, ayam dimasak	3 ons	44
Udang	1 ons	28

(Palo Alto Medical Foundation, 2011);(Mahan, 2008)

2.5.4 Peran Vitamin D pada Diabetes Mellitus Tipe II

Beberapa studi yang dilakukan pada hewan coba dan manusia menyatakan bahwa efek vitamin D yang signifikan menguntungkan terdapat pada subjek dengan Diabetes Mellitus Tipe 1 (*insulin-dependent*), yang diduga berhubungan dengan fungsi imunomodulator vitamin D. Berbeda pada studi hubungan vitamin D dengan Diabetes Mellitus Tipe 2, fungsi dan peran vitamin D masih belum dapat dijelaskan secara baik. Secara keseluruhan, data yang tersedia dari beberapa studi menyatakan bahwa pengaruh vitamin D terhadap kadar glukosa pada kondisi Diabetes Mellitus Tipe 2 akan terlihat signifikan jika diimbangi dengan peningkatan konsentrasi kalsitriol (Cangoz, 2013).

Kerja vitamin D pada T2DM dibagi menjadi 2, yaitu secara langsung dan secara tidak langsung. Secara langsung vitamin D menstimulasi ekspresi dari insulin reseptor, dengan cara ini akan meningkatkan kemampuan reaksi insulin untuk mentranspor glukosa

(Pittas, 2007). Secara tidak langsung vitamin D adalah dengan menjaga ketersediaan kalsium yang menentukan proses *insulin mediated intracellular* (Pittas, 2007). Vitamin D berperan dalam pengaturan kalsium ekstraseluler dan fluks kalsium, dimana sekresi insulin merupakan proses *Calcium-dependent*, sehingga perubahan dalam fluks kalsium dapat memberikan efek berlawanan terhadap fungsi sekresi sel beta (Pittas, 2007) dan menurunkan aktivitas GLUT-4 (Cimbek, 2012).

Menurut penelitian Kadowaki (1984) menegemukakan bahwa Ca^{2+} memiliki peran yang kuat pada pengeluaran insulin dan peningkatan sel beta intrasel. Level kalsium intrasel dipengaruhi tidak hanya oleh influk Ca^{2+} dari ekstrasel menuju ke sel, tetapi juga dari *uptake* dan pengeluaran Ca^{2+} oleh organel intrasel sel beta. Vitamin D memfasilitasi kalsium untuk diabsorpsi pada usus, untuk menyediakan ketersediaan kalsium dalam beberapa sel, dengan demikian vitamin D dan Kalsium mungkin memiliki peran yang sinergis dalam mengurangi resiko T2DM.

Vitamin D juga mengaktifkan 1-alfa hidrosilase pada sel beta pankreas (Bland, 2004). Enzim ini meningkatkan sintesis dari $1,25(OH)_2D_3$. Enzim ini merubah $25(OH)D_3$ menjadi bentuk aktif $1,25$ -dihidroksivitamin D_3 (Chiu, 2004). $1,25$ Dihidroksivitamin D_3 berikatan dengan reseptor vitamin D pada sel beta pankreas dan meningkatkan ekspresi reseptor insulin yang menghasilkan peningkatan sensitivitas insulin (Kirii, 2009). $1,25(OH)_2D_3$ berguna untuk pengeluaran insulin dan homeostatis glukosa, dengan cara meningkatkan eksositosis insulin dengan meningkatkan ekspresi dari calbindin-D28K di beta sel. Calbindin ini memiliki peran untuk meregulasi level kalsium intraseluler di beta sel,

hal ini menyebabkan terjadinya pembentukan insulin (proses yang bergantung pada kalsium) (Moreira,2010).

Shanti (2012), menyatakan bahwa sekresi dan sensitivitas insulin dipengaruhi oleh sekresi vitamin D mediated intracellular calcium. Peningkatan kalsium intrasel akan meningkatkan pengikatan dari calcium binding protein (calmodulin) pada IRS-1 (*Insulin receptor substrate 1*), hal ini akan menstimulasi fosforilase tirosin dan mengkativasi PI3 kinase yang akan meningkatkan sekresi insulin.

Menurut Dunlop (2005) vitamin D juga mengatur nuclear PPAR (Peroxisome Proliferative Activated Receptor) yang memiliki peran penting pada sensitivitas insulin terhadap glukosa. PPAR-Gamma juga sebagai factor transkripsi yang terlibat dalam mengatur metabolisme asam lemak dalam sel otot dan jaringan adipose (Cimbek, 2012).

Bagian hidrofobik dari cholecalciferol, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (bentuk aktif vitamin D) dan 7-hidroksi D_3 mengganggu residu asam lemak yang dapat merusak viskositas membrane sel, dan dengan demikian dapat melindungi membrane sel dari peroksidasi lipid dan efek berbahaya dari radikal bebas. Suplementasi vitamin D dapat menurunkan radikal bebas oksigen (O_2^-) dan meningkatkan status antioksidan. Namun mekanismenya masih belum diketahui, sehingga dari pernyataan tersebut, vitamin D memiliki kerja sebagai scavenger radikal bebas (Keong, 2006).

Keterkaitan peran vitamin D dengan kadar kalsium dalam darah juga memberikan efek yang signifikan jika dibandingkan dengan pemberian vitamin D tanpa kalsium pada Diabetes Mellitus Tipe 2. Moreira (2010)

menyatakan bahwa $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ berperan esensial dalam eksositosis insulin, yaitu sebuah proses pengeluaran insulin dari dalam membran sel menuju ekstraseluler yang membutuhkan kalsium (*calcium-dependent*), yang diregulasi oleh calbindin-D28K yang terdapat pada sel Beta pankreas. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ berperan penting untuk meningkatkan ekspresi calbindin-D28K yang dapat menurunkan jumlah kematian sel Beta akibat sitokin dan menurunkan kerusakan mitokondrial yang dapat berakibat pada peningkatan produksi ROS dan apoptosis lebih lanjut (Moreira, 2010; Pittas, 2011). Hal ini juga membuktikan bahwa gabungan aksi dari kedua zat gizi tersebut menghasilkan data yang lebih signifikan dibandingkan dengan pemberian vitamin D saja atau kalsium saja pada kondisi Diabetes Mellitus Tipe 2 (Kirii, 2009).

2.6 Kajian Teoritis Hubungan Vitamin D, Kadar Adiponektin, dan Diabetes Mellitus

Vitamin D memiliki peran langsung terhadap DM-2 melalui homeostatis glukosa ataupun secara tidak langsung dengan meregulasi gen adiponektin dimana hormon adiponektin tersebut berperan terhadap peningkatan sensitivitas insulin dan perlindungan komplikasi kardiovaskular dari DM-2. Vitamin D memiliki peran terhadap patogenesis DM-2 melalui beberapa mekanisme yang mungkin. Pertama, vitamin D mungkin bertindak langsung untuk menginduksi sekresi insulin sel beta tanpa mengubah sekresi glukagon dengan meningkatkan konsentrasi kalsium intraseluler melalui saluran kalsium non-selektif *voltage-dependent*. Yang kedua, vitamin D merangsang sintesis insulin dengan cara mengaktifkan biosintesis protein di pulau langerhans. Yang ketiga, vitamin D memediasi aktivasi *beta-cell*

calcium-dependent endopeptidase yang dapat memfasilitasi konversi proinsulin menjadi insulin. Dan yang keempat adalah efek langsung dari VTD (reseptor vitamin D) pada kerja insulin dengan cara menstimulasi ekspresi reseptor insulin sehingga dapat meningkatkan respon transport glukosa (Cavalier, 2011 ; Seshadri, 2011 ; Cangoz, 2013).

Sedangkan mekanisme vitamin D dalam peningkatan adiponektin adalah kalsium dan 1,25-dihydroxyvitamin D3 mengatur ekspresi adipokine di lemak visceral, dimana hal ini menunjukkan bahwa vitamin D mungkin meregulasi gen adiponektin. Hubungan antara vitamin D dan adiponektin mungkin juga dimediasi oleh sitokin mengingat bahwa 1,25 (OH) 2D berperan dalam mengatur gen TNF-alfa yang merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi sintesis adiponektin (Sahar, 2012).

2.7 Tikus Putih Sebagai Hewan Coba

Hewan model DM adalah hewan laboratorium yang dalam hal tertentu secara natural maupun artifisial memiliki respon, serta mempunyai pathogenesis ataupun patofisiologi yang sebagian atau seluruhnya mirip dengan DM pada manusia (Widyastuti, 2000).

2.7.1 Tikus Putih (*Rattus novergicus*)

Tikus yang digunakan sebagai hewan coba dalam penelitian adalah *Rattus novergicus* strain Wistar dengan klasifikasi sebagai berikut (Armitage, 2004) :

Tabel 2.7 Klasifikasi taksonomi tikus :

Class	: Mammalia
Subclass	: Theria
Infraclass	: Eutheria
Order	: Rodentia
Suborder	: Myomorpha
Superfamily	: Muroidea
Family	: Muridae
Subfamily	: Murinae
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>novergicus</i>

Gambar 2.9 Tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Pemakaian tikus putih (*Rattus norvegicus*) sebagai model banyak dilakukan mengingat tikus ini mudah diperoleh karena lebih cepat dewasa, tidak memperlihatkan perkawinan musiman, dan umumnya lebih cepat berkembang biak. Menurut Hanim (1996) tikus mempunyai sifat respon biologik dan adaptasi mendekati manusia. Tikus telah diketahui sifat-sifatnya dengan sempurna, mudah dipelihara, merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai macam penelitian, sangat mudah

ditangani, dapat ditinggal sendirian dalam kandang asal dapat mendengar suara tikus lain dan berukuran cukup besar sehingga memudahkan pengamatan (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988 ; Malole, 1989).

Siklus hidup tikus putih (*Rattus norvegicus*) jarang lebih dari tiga tahun, berat badan pada umur empat minggu dapat mencapai 35-40 gram dan setelah dewasa rata-rata 200-250 gram, tetapi bervariasi tergantung pada galur. Tikus jantan tua dapat mencapai bobot badan 500 gram, tetapi tikus betina jarang lebih dari 350 gram (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Kebutuhan pakan bagi seekor tikus setiap harinya kurang lebih sebanyak 10% dari bobot tubuhnya jika pakan tersebut berupa pakan kering dan dapat ditingkatkan sampai 15% dari bobot tubuhnya jika pakan yang dikonsumsi berupa pakan basah. Kebutuhan minum seekor tikus setiap hari kira-kira 15-30 ml air. Jumlah ini dapat berkurang jika pakan yang dikonsumsi sudah banyak mengandung air (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988). Rata-rata pemberian pakan harian untuk tikus *Sprague-Dawley* selama periode pertumbuhan dan reproduksi mendekati 15-20 gram untuk jantan dan 10-15 gram untuk betina (National Research Council, 1978).

2.7.2 Pembuatan Hewan Model DM-2

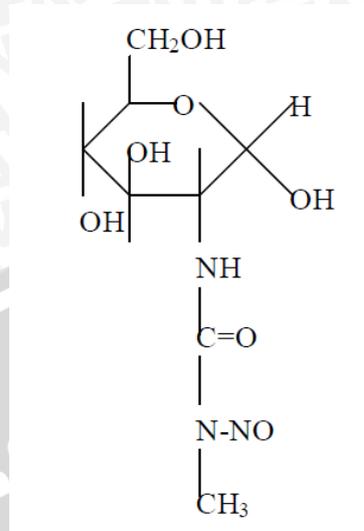
Untuk keperluan penelitian, kondisi patofisiologis DM tipe 2 pada hewan coba dapat diinduksi dengan berbagai cara. Zhang *et al* (2008) menemukan bahwa pemberian diet tinggi lemak dan injeksi streptozotocin (STZ) dosis rendah dapat digunakan untuk menginduksi penyakit DM tipe 2 pada tikus putih. Diet tinggi lemak menyebabkan penumpukan lemak pada tikus. Asam lemak di dalam darah disertai TNF-alfa, leptin, dan adiponektin

yang disekresi oleh adiposit berkontribusi terhadap resistensi insulin (Powers, 2005). Kondisi ini diikuti dengan hiperinsulinemia sebagai respon kompensasi terhadap peningkatan glukosa plasma. Pada fase akhir, sel beta mengalami disfungsi sekresi insulin sehingga insulin plasma berkurang. Pengurangan insulin plasma dapat dikondisikan pada tikus coba dengan pemberian STZ dosis rendah. STZ dosis rendah menyebabkan kerusakan pada sel beta dan disfungsi sekresi sel beta. Dengan demikian, tikus akan menderita stadium akhir penyakit DM tipe 2 (Zhang, 2008).

2.7.3 Streptozotocin

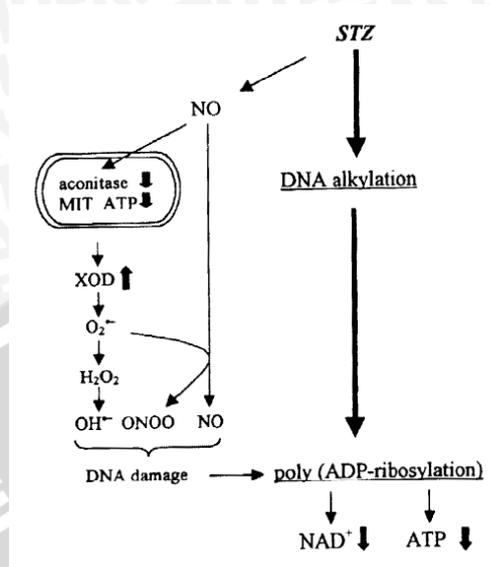
Streptozotocin (STZ) atau 2-deoxy-2-(3-(metil-3-nitrosoureido)-D-glukopiranosida disintesis oleh *streptomyces achromogenes* dan digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 dan DM tipe 2. STZ digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan coba karena secara selektif merusak sel B di pulau langerhans. STZ terdiri dari 1-methyl-1-nitrosourea berikatan dengan C-2 dari D-glukosa dengan berat molekul 265 g/mol (Shalahuddin 2005). STZ memiliki struktur separuh glukosa, karena berisi campuran α dan β anomer.

Berdasarkan strukturnya, STZ dapat merusak sel beta pankreas melalui dua cara yaitu alkilasi DNA melalui gugus alkilnya dan bekerja sebagai donor NO yang akan menambah jumlah NO dipankreas. NO yang berlebih ini akan bereaksi dengan radikal superokso membentuk peroksinitrit yang toksik terhadap sel beta pankreas (Shalahuddin, 2005).



Gambar 2.10 Struktur Streptozotocin

Aksi STZ pada sel beta pulau Langerhans diikuti dengan perubahan insulin dan glukosa darah. Hal ini disebabkan karena STZ dapat mengganggu oksidasi glukosa dan menurunkan biosintesis serta sekresi insulin. Aksi intraseluler dari STZ menyebabkan perubahan DNA pada sel beta pankreas (Gambar 2.11). Aktivitas alkilasi STZ dihubungkan dengan bagian nitrosoureidonya. Menurut Shalahuddin (2005), STZ masuk ke dalam sel B pankreas melalui GLUT 2 (*Glucose Transport 2*) dan berikatan dengan C-2 dari D- glukosa, setelah berikatan dengan gugus separuh glukosa menghasilkan degradasi metabolit untuk melepaskan N-methylnitroso kemudian menembus sel B dan menimbulkan efek sitotoksik.



Gambar 2.11 Mekanisme STZ Menginduksi Rusaknya Sel Beta Pankreas

Dua macam dosis STZ yang biasa digunakan untuk menghasilkan DM pada hewan coba, yakni dosis tinggi tunggal (>40 mg/kgBB) dan dosis rendah (<40 mg/kgBB) yang diberikan 5 hari berturut-turut (MLD-STZ, *multiple low dose Streptozotocin*). Pemberian dosis rendah STZ (10-30 mg/kgBB) secara multiple pada hewan memicu suatu proses autoimun yang mengarah pada kerusakan sel beta pankreas, yang diikuti dengan infiltrasi sel leukosit mononuclear dan adanya sitokin. Pada dosis tunggal akan menyebabkan rusaknya sel beta pankreas dan timbulnya hiperglikemia (Yu, 2004), sedangkan dosis rendah selama lima hari berturut-turut akan menimbulkan gejala diabetes setelah beberapa hari. Menurut Szkuldeski (2001) dosis rendah secara multiple lebih dominan digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 (IDDM), sedangkan DM tipe 2 (NIDDM) akan lebih mudah diinduksi secara intravena atau intraperitoneal dengan dosis 100mg/kgBB STZ setelah tikus tersebut lahir (sekitar berumur 8-10 minggu).