

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pengaruh PsP dari *Ganoderma lucidum* terhadap kadar profil lipid tikus model diabetes mellitus tipe 2, sehingga nantinya diharapkan PsP dapat menjadi salah satu pilihan terapi tambahan untuk penderita diabetes mellitus tipe 2. Oleh karena itu, pada bab tinjauan pustaka kali ini akan dijelaskan mengenai diabetes mellitus, profil lipid, antioksidan, PsP, dan pembuatan model *in vivo* diabetes mellitus tipe 2.

2.1 Diabetes Mellitus

2.1.1. Definisi Diabetes Mellitus

Diabetes mellitus adalah sekelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia akibat kerusakan pada sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (American Diabetes Association, 2013). Insulin adalah hormon yang diproduksi di pankreas yang memungkinkan glukosa dari makanan untuk memasuki sel-sel tubuh di mana ia diubah menjadi energi yang dibutuhkan oleh otot-otot dan jaringan untuk berfungsi. Seseorang dengan diabetes tidak menyerap glukosa dengan baik, dan glukosa tetap beredar di dalam darah (kondisi yang dikenal sebagai hiperglikemia) yang seiring waktu dapat merusak jaringan-jaringan tubuh. Kerusakan ini dapat menyebabkan komplikasi kesehatan yang dapat menyebabkan disabilitas maupun mengancam jiwa (International Diabetes Federation, 2013).

2.1.2 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Klasifikasi diabetes meliputi tiga kelas klinis (International Diabetes Federation, 2013):

- **Diabetes mellitus tipe 1**

Diabetes mellitus tipe 1 disebabkan oleh reaksi autoimun, dimana sistem pertahanan tubuh menyerang sel-sel beta penghasil insulin di pankreas.

Sebagai hasilnya, tubuh tidak bisa lagi memproduksi insulin yang dibutuhkannya. Penderita bentuk diabetes ini membutuhkan insulin setiap hari untuk mengendalikan kadar glukosa dalam darah mereka. Tanpa insulin, orang dengan diabetes tipe 1 akan meninggal.

- **Diabetes mellitus tipe 2**

Diabetes tipe 2 adalah jenis yang paling umum dari diabetes. Pada diabetes tipe 2, tubuh mampu memproduksi insulin namun insulin tersebut tidak cukup atau tubuh tidak mampu untuk merespon efeknya (dikenal juga sebagai resistensi insulin), yang mengarah ke penumpukan glukosa dalam darah. Banyak orang dengan diabetes tipe 2 tetap tidak menyadari penyakit mereka untuk waktu yang lama karena gejala penyakit ini membutuhkan waktu bertahun-tahun untuk dapat muncul atau dikenali. Penderita diabetes tipe ini sering didiagnosis hanya ketika komplikasi diabetes telah berkembang.

- **Gestational diabetes mellitus (GDM)**

Wanita yang mengalami resistensi terhadap insulin dan diikuti oleh kadar glukosa darah yang tinggi selama kehamilan dikatakan menderita diabetes gestasional. Gestational diabetes cenderung terjadi sekitar minggu ke-24 kehamilan. Kondisi ini muncul karena kinerja insulin diblok oleh hormon yang dihasilkan oleh plasenta.

2.1.3 Kriteria Diagnosis Diabetes Mellitus

Selama beberapa dekade, diagnosis diabetes didasarkan pada kriteria glukosa plasma, baik glukosa plasma puasa (FPG) atau nilai 2-h dalam 75-g tes toleransi glukosa oral (OGTT) (American Diabetes Association, 2013). Kriteria diagnosis dari diabetes mellitus ditunjukkan dalam Gambar 2.1.

A1C $\geq 6.5\%$. The test should be performed in a laboratory using a method that is NGSP certified and standardized to the DCCT assay.*
OR
FPG ≥ 126 mg/dL (7.0 mmol/L). Fasting is defined as no caloric intake for at least 8 h.*
OR
2-h plasma glucose ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L) during an OGTT. The test should be performed as described by the WHO, using a glucose load containing the equivalent of 75 g anhydrous glucose dissolved in water.*
OR
In a patient with classic symptoms of hyperglycemia or hyperglycemic crisis, a random plasma glucose ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L).
*In the absence of unequivocal hyperglycemia, result should be confirmed by repeat testing.

Gambar 2.1 Kriteria Diagnosis Diabetes Mellitus (American Diabetes Association, 2013)

2.1.4 Patofisiologi Diabetes Mellitus Tipe 2

Diabetes mellitus tipe 2, berbeda dengan tipe 1, dikaitkan dengan peningkatan konsentrasi insulin plasma (hiperinsulinemia). Hal ini terjadi sebagai upaya kompensasi oleh sel- β pankreas terhadap penurunan sensitivitas jaringan terhadap efek metabolisme insulin, yaitu suatu kondisi yang dikenal sebagai resistensi insulin. Perkembangan resistensi insulin dan gangguan metabolisme

glukosa biasanya terjadi secara bertahap, yang dimulai dengan peningkatan berat badan dan obesitas. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa jumlah reseptor insulin di otot rangka, hati, dan jaringan adiposa pada orang obesitas lebih sedikit daripada jumlah reseptor pada orang yang kurus. Namun kebanyakan resistensi insulin agaknya disebabkan kelainan jaras sinyal yang menghubungkan reseptor yang teraktivasi dengan berbagai efek selular. Gangguan sinyal insulin agaknya disebabkan efek toksik dari akumulasi lipid di jaringan seperti otot rangka dan hati akibat kelebihan berat badan (Guyton & Hall, 2008).

Resistensi insulin merupakan bagian dari serangkaian kelainan yang sering disebut sebagai sindrom metabolik. Beberapa gambaran sindrom metabolik meliputi: (1) obesitas, terutama akumulasi lemak abdomen; (2) resistensi insulin; (3) hiperglikemia puasa; (4) abnormalitas lipid seperti peningkatan kadar trigliserida darah dan penurunan kolesterol lipoprotein berdensitas tinggi di darah; dan (5) hipertensi. Peran kontribusi resistensi insulin dalam beberapa komponen sindrom metabolik masih belum jelas, meskipun sudah jelas bahwa resistensi insulin merupakan penyebab utama peningkatan kadar gula darah. Akibat utama yang tidak diinginkan dari sindrom metabolik adalah penyakit kardiovaskular yang meliputi aterosklerosis dan kerusakan berbagai organ di seluruh tubuh (Guyton & Hall, 2008).

Pada resistensi insulin yang berat dan berkepanjangan, adanya kenaikan kadar insulin bahkan tidak cukup untuk mempertahankan pengaturan kadar glukosa yang normal. Akibatnya, hiperglikemia dengan derajat sedang terjadi setelah memakan sejumlah karbohidrat pada tahap awal penyakit. Pada tahap selanjutnya diabetes tipe 2, sel-sel- β pankreas menjadi lelah dan tidak mampu memproduksi cukup insulin untuk mencegah hiperglikemia yang lebih parah, terutama setelah seseorang menyantap makanan yang banyak mengandung

karbohidrat. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa faktor genetik dapat berperan penting untuk menentukan ketahanan pankreas seseorang terhadap pengeluaran sejumlah besar insulin dalam waktu beberapa tahun yang diperlukan untuk mencegah kelainan metabolisme glukosa pada diabetes mellitus tipe 2 (Guyton & Hall, 2008).

2.1.5 Manifestasi Klinis Diabetes Mellitus Tipe 2

Tanda-tanda klinis yang dapat diamati dari penderita DM tipe 2 adalah jumlah urin yang diekskresikan keluar tubuh meningkat (poliuria), rasa haus, konsumsi cairan yang meningkat (polidipsi), berat badan menurun, dan kelelahan. Gejala klinis tersebut terdapat pada seseorang dengan hiperglikemia (Mant, *et al.*, 2008). Pada orang dengan hiperglikemia, ketika kadar glukosa yang tidak terpakai dalam darah melebihi kapasitas resorpsi ginjal, glukosa diekskresikan dalam urin (glikosuria), dan hal itu menyebabkan ginjal untuk mengeluarkan lebih banyak air (diuresis osmotik), sehingga menghasilkan sejumlah besar urin (poliuria). Poliuria menyebabkan dehidrasi dan mengaktifkan mekanisme haus, dan mengakibatkan konsumsi cairan dalam jumlah besar (polidipsia). Kurangnya glukosa yang masuk ke dalam sel akibat resistensi insulin, meskipun konsentrasi tinggi glukosa dalam darah, menyebabkan sel kekurangan glukosa, yang ditafsirkan oleh tubuh sebagai kebutuhan untuk makan dan memicu peningkatan asupan makanan (polifagia) (MDGuidelines, 2014).

2.2 Metabolisme Lipid

Beberapa senyawa kimia di dalam makanan dan tubuh diklasifikasikan sebagai lipid. Lipid ini meliputi: (1) lemak netral, yang dikenal juga sebagai trigliserida (TG); (2) fosfolipid; (3) kolesterol; (4) beberapa lipid lain yang kurang

penting. Trigliserida dipakai didalam tubuh terutama untuk menyediakan energi bagi berbagai proses metabolik, suatu fungsi yang hampir sama dengan fungsi karbohidrat. Akan tetapi, beberapa lipid, terutama kolesterol, fosfolipid, dan sejumlah kecil trigliserida, dipakai untuk membentuk semua membran sel dan untuk melakukan fungsi-fungsi sel lainnya (Guyton & Hall, 2008). Semua lipid bersifat hidrofobik dan sebagian besar tidak larut dalam darah, sehingga mereka membutuhkan transport di dalam struktur bulat, hidrofilik yang disebut lipoprotein, yang memiliki protein permukaan (apoprotein, atau apolipoprotein) yang merupakan kofaktor dan ligan untuk enzim pengolah lipid (Merck Manual, 2014).

Lipoprotein diklasifikasikan menurut komposisi lipid dan proteinnya. Kelas utama lipoprotein adalah sebagai berikut: kilomikron, very-low-density lipoprotein (VLDL), *remnants* (atau *intermediate-density lipoprotein*, IDL), *low-density lipoprotein* (LDL), dan *high density lipoprotein* (HDL). Kilomikron dan VLDL adalah transporter utama trigliserida dari diet dan endogen secara berurutan, sedangkan LDL dan HDL utamanya membawa kolesterol antara hati dan jaringan ekstrahepatik (Myhealthywaist, 2014).

2.2.1 Metabolisme Lipid Eksogen

Lebih dari 95% dari diet lemak adalah TG; sisanya adalah fosfolipid, asam lemak bebas (FFA), kolesterol (hadir dalam makanan sebagai kolesterol yang teresterifikasi), dan vitamin yang larut dalam lemak. TG dalam diet dicerna dalam lambung dan duodenum menjadi monogliserida (MG) dan FFA oleh lipase lambung, emulsifikasi dari peristaltik lambung yang kuat, dan lipase pankreas. Diet kolesterol ester dide-esterifikasi menjadi kolesterol bebas dengan mekanisme yang sama. MG, FFA, dan kolesterol bebas kemudian diserap oleh villi usus ke dalam enterosit. Setelah diserap ke dalam enterosit, MG dan FFA

disintesis kembali menjadi TG dan dikemas bersama dengan kolesterol dalam kilomikron, yang merupakan lipoprotein terbesar (Merck Manual, 2014).

Kilomikron mengangkut TG dan kolesterol dari dalam enterosit melalui limfatik ke dalam sirkulasi. Dalam kapiler jaringan adiposa dan otot, apoprotein C-II (apo C-II) di kilomikron mengaktifkan lipoprotein lipase (LPL) endotel untuk mengkonversi 90% dari kilomikron TG ke asam lemak dan gliserol, yang diambil oleh adiposit dan sel otot untuk penggunaan atau penyimpanan energi. Sisa kilomikron yang kaya akan kolesterol kemudian beredar kembali ke hati, di mana mereka dibersihkan dalam proses yang diperantarai oleh apoprotein E (apo E) (Merck Manual, 2014).

2.2.2 Metabolisme Lipid Endogen

Hampir semua lipoprotein dibentuk di hati, yang juga merupakan tempat sebagian besar kolesterol plasma, fosfolipid dan TG disintesis. Selain itu, sebagian kecil lipoprotein berdensitas tinggi juga disintesis di dalam epitel usus selama absorpsi asam lemak dari usus (Guyton & Hall, 2008). Lipoprotein beredar melalui darah terus menerus sampai TG yang dikandungnya diambil oleh jaringan perifer atau lipoprotein itu sendiri dibersihkan oleh hati. Faktor-faktor yang merangsang sintesis lipoprotein hati umumnya menyebabkan peningkatan kadar kolesterol plasma dan TG (Merck Manual, 2014).

Very low-density lipoprotein (VLDL) berisi apoprotein B-100 (apo B) dan disintesis di hati. Peran utama dari VLDL adalah mengirimkan kolesterol dan trigliserida pada jaringan ekstrahepatik. *Nascent* VLDL disekresikan ke dalam aliran darah dalam dua bentuk: VLDL-1 (yang lebih besar, dengan lebih banyak trigliserida) dan VLDL-2. Dalam aliran darah, mereka memperoleh apolipoprotein lain untuk menjadi partikel dewasa. Dalam perjalanannya, partikel VLDL akan bertemu dengan lipoprotein lipase (LPL). Apo C-II pada permukaan VLDL

mengaktifkan LPL endotel untuk memecah TG menjadi FFA dan gliserol, yang akan diserap oleh sel-sel (Myhealthywaist, 2014).

VLDL sintesis meningkat bersama dengan peningkatan FFA intrahepatik, seperti yang terjadi pada diet tinggi lemak dan ketika kelebihan jaringan adiposa melepaskan FFAs langsung ke dalam sirkulasi (misalnya pada obesitas, diabetes yang tidak terkontrol mellitus) (Merck Manual, 2014).

Intermediate-density lipoprotein (IDL) adalah produk pengolahan LPL dari VLDL dan kilomikron. IDL adalah sisa-sisa VLDL dan kilomikron yang kaya kolesterol yang dibersihkan baik oleh hati atau dimetabolisme oleh lipase hepatik menjadi LDL, yang mempertahankan apo B (Merck Manual, 2014).

LDL adalah pembawa kolesterol utama dalam darah manusia. Sekitar 40 sampai 60% dari semua LDL dibersihkan oleh hati dalam proses yang diperantarai oleh apo B dan reseptor LDL hati. Reseptor LDL hati di-down-regulated oleh pengiriman kolesterol ke hati oleh kilomikron dan dengan peningkatan diet lemak jenuh; serta reseptor tersebut dapat di-up-regulated dengan penurunan lemak dan kolesterol dalam diet (Merck Manual, 2014).

Kolesterol LDL yang tinggi dalam darah merupakan faktor risiko penyakit kardiovaskular yang kuat karena LDL dapat masuk ke dinding arteri dan berkontribusi dalam pembentukan plak aterosklerosis. Reseptor scavenger nonhepatik, terutama makrofag, akan mengambil kelebihan LDL yang teroksidasi yang beredar karena tidak terproses oleh reseptor hepatik. Monosit yang kaya akan LDL yang teroksidasi akan bermigrasi ke ruang subendotel dan berubah menjadi makrofag; makrofag ini kemudian akan mengambil lebih banyak LDL yang teroksidasi dan membentuk sel busa di dalam plak aterosklerosis (Merck Manual, 2014).

High-density lipoproteins (HDL) merupakan lipoprotein yang awalnya bebas kolesterol yang disintesis di enterosit dan hati. Salah satu fungsi HDL

adalah mengambil kolesterol dari jaringan perifer dan dari lipoprotein lainnya dan mentransportnya ke tempat lain dimana kolesterol itu dibutuhkan, seperti sel lain, lipoprotein lain, atau ke hati (untuk dibersihkan). Secara keseluruhan HDL mempunyai efek anti aterogenik (Merck Manual, 2014).

2.3 Konsep Dislipidemia

Dislipidemia adalah suatu kondisi dimana kadar lipid di dalam darah abnormal (Sorace, 2006). Bentuk umum dislipidemia ditandai oleh tiga kelainan lipid, yaitu peningkatan trigliserida, LDL berpartikel kecil, dan penurunan HDL kolesterol. Pada beberapa orang, tingkat HDL kolesterol yang rendah dapat terjadi tanpa adanya kelainan lipoprotein lainnya. Namun, hal itu tidak umum terjadi di masyarakat. HDL kolesterol yang rendah lebih sering terjadi sebagai bagian dari triad lipid dislipidemia (The Expert Panel, 2002).

ATP III Classification of LDL, Total, and HDL Cholesterol (mg/dL)	
LDL Cholesterol – Primary Target of Therapy	
<100	Optimal
100-129	Near optimal/above optimal
130-159	Borderline high
160-189	High
≥190	Very high
Total Cholesterol	
<200	Desirable
200-239	Borderline high
≥240	High
HDL Cholesterol	
<40	Low
≥60	High

Gambar 2.2 Klasifikasi ATP III (Adult Treatment Panel III) mengenai kadar kolesterol total, LDL kolesterol, dan HDL kolesterol (The Expert Panel, 2002)

Lipid triad ini terjadi secara umum pada orang yang mengalami penyakit jantung koroner (PJK) dini. Oleh sebab itu, seringkali lipid triad ini disebut aterogenik dislipidemia. Ciri khas orang dengan aterogenik dislipidemia umumnya adalah obesitas, memiliki resistensi insulin, dan inaktif secara fisik. Banyak orang dengan diabetes tipe 2 memiliki aterogenik dislipidemia (The Expert Panel, 2002).

LDL kolesterol umumnya membentuk 60-70% dari total serum kolesterol. LDL berisi satu lipoprotein yaitu apo B-100 (apo B). Kekuatan peningkatan LDL untuk menyebabkan PJK ditunjukkan paling jelas pada orang dengan hiperkolesterolemia familial. Pada orang-orang ini, aterosklerosis koroner dan PJK dini terjadi bahkan tanpa adanya faktor risiko lainnya. Penyakit ini memberikan bukti kuat bahwa LDL merupakan lipoprotein aterogenik yang kuat (The Expert Panel, 2002).

Hubungan LDL kolesterol dengan perkembangan PJK harus dilihat sebagai proses multi-langkah yang dimulai relatif awal dalam hidup. Tahap pertama aterogenesis adalah *fatty streak*, yang sebagian besar terdiri dari makrofag yang berisi kolesterol, terutama LDL kolesterol. Tahap kedua terdiri dari plak fibrosa dimana lapisan jaringan parut melapisi inti yang kaya lipid. Faktor risiko lain berkontribusi terhadap pertumbuhan plak pada fase ini. Tahap ketiga direpresentasikan dengan perkembangan plak yang tidak stabil yang rentan terhadap ruptur dan pembentukan trombosis luminal. Ruptur plak bertanggung jawab atas sebagian besar sindrom koroner akut. Peningkatan LDL memainkan peran penting dalam perkembangan plak koroner yang matur, yang merupakan substrat untuk plak yang tidak stabil. Bukti terbaru menunjukkan bahwa LDL kolesterol juga memberikan kontribusi pada ketidakstabilan plak (The Expert Panel, 2002).

2.3.1 Peran Dislipidemia dalam Diabetes Mellitus Tipe 2

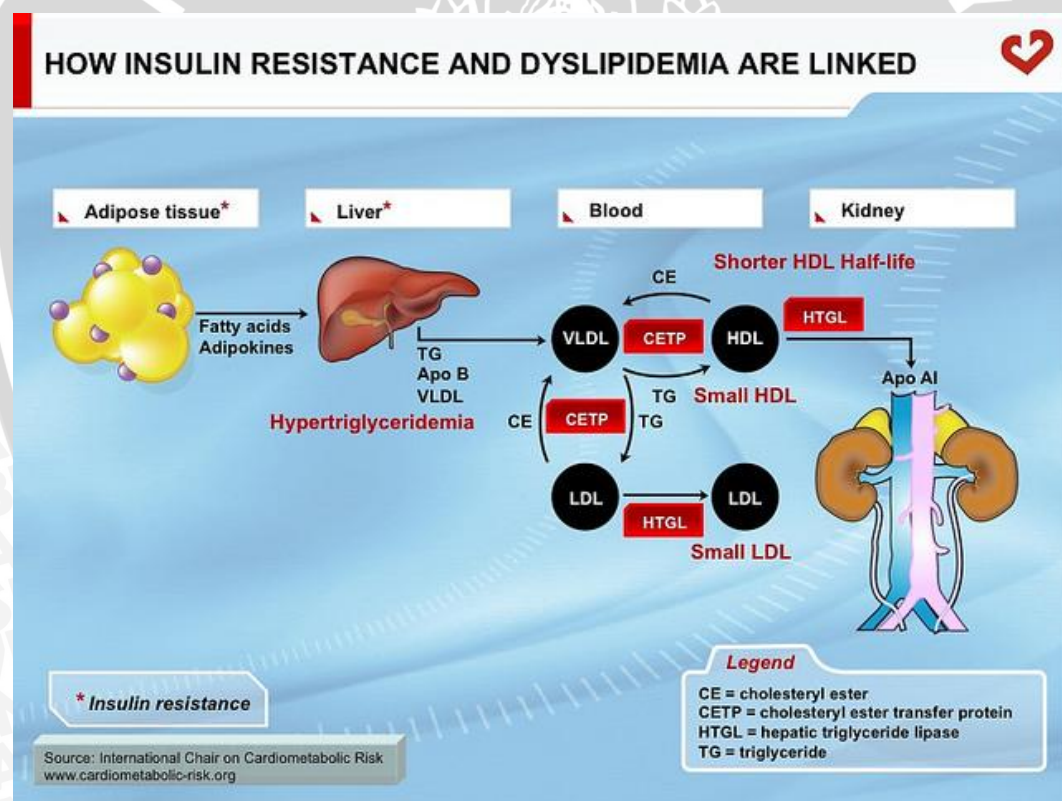
Peningkatan risiko aterosklerosis pada diabetes mellitus terdiri dari beberapa faktor. Perubahan kadar lipid plasma yang terkait dengan diabetes merupakan salah satu faktor kunci. Spektrum dislipidemia pada diabetes mellitus dapat mencakup semua jenis dislipidemia yang dapat diidentifikasi dalam populasi umum, namun, ada satu fenotip yang sangat umum pada diabetes mellitus, yang disebabkan sebagian besar karena resistensi insulin dan defisiensi insulin. Fitur karakteristik fenotip ini adalah konsentrasi trigliserida dalam plasma yang tinggi, kadar kolesterol HDL rendah dan peningkatan konsentrasi partikel *small dense* LDL (Mooradian, 2009).

Penyebab utama dari tiga fitur utama diabetik dislipidemia adalah peningkatan pelepasan asam lemak bebas pada sel adiposa yang resisten terhadap insulin. Peningkatan fluks asam lemak bebas ke hati dengan adanya simpanan glikogen yang memadai akan meningkatkan produksi trigliserida, yang pada gilirannya merangsang sekresi apolipoprotein B (apoB) dan VLDL kolesterol. Kemampuan insulin yang terganggu untuk menghambat pelepasan asam lemak bebas menyebabkan peningkatan produksi VLDL hepatic yang berkorelasi dengan tingkat akumulasi lemak hati (Mooradian, 2009).

Hiperinsulinemia juga dikaitkan dengan kadar kolesterol HDL yang rendah. Peningkatan jumlah partikel kolesterol VLDL dan peningkatan kadar trigliserida dalam plasma akan menurunkan tingkat kolesterol HDL dan meningkatkan konsentrasi partikel padat LDL-kolesterol kecil melalui beberapa proses: trigliserida yang diangkut VLDL dipertukarkan dengan kolesterol ester yang diangkut HDL melalui aksi dari kolesterol ester transfer protein (CETP), yang menghasilkan peningkatan jumlah baik partikel sisa VLDL yang kaya kolesterol aterogenik serta partikel HDL yang kaya trigliserida dan miskin

kolesterol. HDL yang kaya trigliserida ini selanjutnya dihidrolisis oleh lipase hepatic atau lipoprotein lipase (Mooradian, 2009).

Peningkatan konsentrasi partikel *small dense* LDL dijelaskan oleh pertukaran lipid yang serupa. Peningkatan kadar trigliserida yang diangkut VLDL memungkinkan CETP untuk mempromosikan transfer trigliserida menjadi LDL sebagai ganti kolesterol ester yang diangkut HDL. LDL kaya trigliserida mengalami hidrolisis oleh lipase hepatic atau lipoprotein lipase, yang menghasilkan partikel *small dense* LDL yang mengandung sedikit lipid (Mooradian, 2009).



Gambar 2.3 Peran Resistensi Insulin Terhadap Diabetik Dislipidemia (Myhealthywaist, 2014)

Berdasarkan Gambar 2.3 diketahui bahwa dalam keadaan resistensi insulin, peningkatan lipolisis dan peningkatan fluks asam lemak dari jaringan

adiposa; hipersekresi dan hipokatabolisme dari kilomikron dan VLDL *remnant*, dan *de novo* lipogenesis hepatic merupakan tiga sumber utama TG, substrat utama yang mengatur sekresi apoB sebagai VLDL. Dengan adanya peningkatan VLDL dalam plasma dan aktivitas normal dari CETP protein plasma, VLDL TG dapat ditukar dengan LDL dan HDL-kolesterol. Pertukaran ini menghasilkan partikel LDL kaya TG, yang dengan cepat akan dilipolisis oleh *hepatic lipase*, sehingga menghasilkan partikel *small dense* LDL. Partikel HDL kaya TG dapat menjalani modifikasi lebih lanjut, termasuk hidrolisis TG oleh *hepatic lipase* yang akan mengarah ke pemisahan protein struktural penting apoA-I. The apoA-I bebas dalam plasma dibersihkan lebih cepat daripada apoA-I terkait dengan partikel HDL sehingga jumlah partikel HDL akan berkurang (Miccoli *et al.*, 2008).

2.4 Profil Lipid

Serum profil lipid diukur untuk memprediksi risiko kardiovaskular dan sekarang telah hampir menjadi tes rutin. Tes ini mencakup empat parameter dasar: kolesterol total, kolesterol HDL, kolesterol LDL dan trigliserida.

2.4.1 Faktor Pra-Analitis dari Tes Profil Lipid

Tes profil lipid ini biasanya dilakukan pada spesimen darah puasa. Puasa mengacu pada 12-14 jam pembatasan diet lengkap dengan pengecualian air dan obat-obatan. Hal ini dilakukan karena dua alasan utama: (1) trigliserida post-prandial tetap tinggi selama beberapa jam, (2) sebagian besar nilai acuan untuk serum lipid ditetapkan pada spesimen darah puasa (Nigam, 2011).

Selain keadaan puasa / non-puasa ada faktor lain (pra-analitis) yang dapat mempengaruhi komponen lipid:

1. Perubahan dari posisi tegak ke terlentang dapat mengurangi kadar kolesterol sebanyak 10% dan trigliserida sebesar 12% akibat efek dilusi.

2. Aplikasi tourniquet berkepanjangan (2-5 menit) dapat meningkatkan kolesterol dari 5 sampai 15%.
3. Trigliserida akan sedikit lebih tinggi di musim dingin daripada di musim panas dan sebaliknya.
4. Kondisi penyakit seperti sindrom nefrotik meningkatkan kolesterol total, kolesterol LDL dan kolesterol VLDL, sedangkan hipotiroidisme meningkatkan kolesterol LDL dan kolesterol total. Infeksi dan inflamasi dapat menurunkan kolesterol total dan kolesterol HDL dan meningkatkan trigliserida (Nigam, 2011).

2.4.2 Pengukuran

2.4.2.1 Persiapan serum

Bahan dan Peralatan yang diperlukan untuk melakukan preparasi serum adalah sebagai berikut (Proimmune, 2009).

- Sampel darah tikus
- Tabung Vacutainer non EDTA
- Pipet serologis volume yang sesuai (steril)
- Tabung sentrifugasi
- Cryovials
- Mesin sentrifugasi

Prosedur untuk membuat preparasi serum adalah sebagai berikut.

1. Ambilah darah lengkap ke dalam tabung Vacutainer yang tidak mengandung antikoagulan. Ambillah sekitar 2½ kali volume yang dibutuhkan untuk digunakan.
2. Lalu diinkubasikan dalam posisi tegak pada suhu kamar selama 30-45 menit (tidak lebih dari 60 menit) untuk memungkinkan pembekuan.

3. Sentrifuse selama 15 menit pada kecepatan yang direkomendasikan produsen (biasanya 1000-2000 RCF). Jangan menggunakan rem untuk menghentikan mesin sentrifugasi.
4. Secara cermat aspirasikan supernatan (serum) pada suhu kamar dan masukkan ke dalam tabung sentrifugasi, usahakan tidak mengganggu lapisan sel atau mentransfer sel. Gunakan pipet bersih untuk masing-masing tabung.
5. Periksa serum untuk kekeruhan. Sampel keruh harus disentrifugasi dan diaspirasi lagi untuk menghilangkan sisa materi yang tidak larut.
6. Aliquot ke cryovials dan simpan pada -80°C . Pastikan bahwa cryovials telah berlabel dengan informasi yang relevan dan memadai (Proimmune, 2009).

2.4.2.2 Prosedur Pengukuran Profil Lipid

Serum untuk analisis profil lipid disimpan pada -80°C sampai sampel dianalisis. Profil lipid dianalisis pada penganalisis Cobas Mira Plus (Roche Diagnostics) berdasarkan reagen petunjuk pemakaiannya (Nogueira et al, 2012). Roche Cobas Mira, diperkenalkan pada tahun 1984, adalah penganalisis kimia random akses yang menawarkan analisis selektif untuk berbagai kimia, menyediakan tes rutin dan STAT (Block Scientific Inc, 2013).

2.5 Perlindungan Antioksidan terhadap Stres Oksidatif

2.5.1 Stres Oksidatif pada Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2

Radikal bebas adalah zat kimia yang memiliki 1 atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas ini terbentuk dari pemecahan ikatan kimia yang mana tiap pecahan menyimpan 1 elektron atau dari penggabungan zat non radikal dan radikal yang mana jumlah elektronnya akan ganjil. Radikal bebas sesungguhnya diproduksi oleh makhluk hidup melalui aktivitas metabolisme yang normal setiap saat. Terdapat beberapa macam spesies reaktif dari radikal bebas,

di antaranya yaitu radikal bebas yang berasal dari oksigen (*Reactive Oxygen Species* / ROS) dan radikal bebas yang berasal dari nitrogen (*Reactive Nitrogen Species* / RNS). ROS merupakan penyebab dari kerusakan oksidatif dari DNA, degradasi dari asam lemak dan kolesterol ester, kerusakan membran sel, dan juga kerusakan oksidatif pada lipoprotein, termasuk LDL (Rizzo, *et al.*, 2010).

Stres oksidatif merupakan kondisi dimana terjadi ketidakseimbangan dari jumlah radikal bebas yang terdapat dalam tubuh dengan mekanisme tubuh untuk mengikat molekul radikal bebas tersebut atau memperbaiki kerusakan yang disebabkan radikal bebas. Stres oksidatif dapat terjadi dengan meningkatnya ROS dalam tubuh tanpa adanya molekul atau substansi lain yang dapat berfungsi sebagai pengikat ROS dan melindungi dari komplikasi mikrovaskuler dan makrovaskuler yang disebabkan ROS (Hutcheson dan Rochic, 2012).

Pada resistensi insulin dan penurunan fungsi sel beta yang mengakibatkan hiperglikemia berhubungan dengan peningkatan FFA (*Free Fatty Acid*). Hal tersebut pada akhirnya akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Beberapa penelitian mengindikasikan bahwa pembentukan ROS merupakan akibat langsung dari hiperglikemia, dan beberapa studi lainnya menunjukkan bahwa peningkatan FFA juga merupakan hasil dari pembentukan ROS (Evans *et al.*, 2003).

Stres oksidatif berperan sebagai mediator dari resistensi insulin dan berkembangnya intoleransi glukosa pada diabetes melitus, kemudian mendukung terjadinya proses lebih lanjut terhadap terjadinya komplikasi aterosklerosis, dan berkontribusi dalam meningkatkan komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular (Tiwari *et al.*, 2013).

Hiperglikemia dapat meningkatkan stres oksidatif melalui beberapa jalur. Mekanisme utamanya tampaknya akibat ROS intrasel yang diinduksi oleh hiperglikemia, yang diproduksi melalui gradien elektromekanis proton yang

dihasilkan oleh rantai transpor elektron mitokondria dan berakibat pada meningkatnya produksi superoksida. Dua mekanisme lainnya telah diusulkan yang mungkin dapat menjelaskan bagaimana hiperglikemia dapat menyebabkan peningkatan pembentukan ROS. Salah satu mekanisme melibatkan transisi autoksidasi logam-katalis dari glukosa bebas. Melalui mekanisme ini, glukosa sendiri memulai reaksi autoxidative dan memproduksi radikal bebas, menghasilkan anion superoksida (O_2^-) dan hidrogen peroksida (H_2O_2). Mekanisme lain melibatkan transisi autoksidasi logam-katalis protein-terikat produk Amadori, yang menghasilkan superoksida dan radikal hidroksil dan senyawa dikarbonil yang sangat reaktif (Kumawat *et al.*, 2013).

2.5.2 Peran Antioksidan dalam Menurunkan Stres Oksidatif

Antioksidan merupakan molekul yang dapat menghambat maupun menunda kerusakan seluler yang disebabkan oleh radikal bebas, serta mengatasi terjadinya kondisi stres oksidatif tersebut. Antioksidan memiliki beberapa mekanisme pertahanan terhadap keberadaan radikal bebas, yaitu enzim antioksidan, antioksidan yang bekerja memutuskan rantai radikal bebas (*chain breaking antioxidant*), dan antioksidan yang bekerja sebagai protein pengikat logam (*metal binding protein*). Enzim antioksidan bekerja dengan mengubah molekul radikal bebas menjadi molekul yang tidak dapat berikatan dengan struktur sel sehingga mencegah kerusakan sel. Misalnya H_2O_2 yang diubah menjadi air dan oksigen oleh enzim katalase yang merupakan antioksidan. *Chain breaking antioxidant* bekerja dengan menerima dan memberikan elektron kepada molekul radikal bebas. Melalui mekanisme ini, molekul radikal bebas tersebut tidak dapat melaksanakan transfer elektron dengan struktur sel maupun dengan molekul radikal bebas lain. Kerja radikal bebas sebagai *metal binding protein* yaitu dengan memodifikasi ion logam,

seperti besi (Fe) dan tembaga (Cu) untuk menjadi bentuk yang tidak reaktif dan tidak bereaksi dengan radikal bebas (Young dan Woodside, 2001).

2.6 Peptida Polisakarida *Ganoderma Lucidum*

2.6.1 Karakteristik *Ganoderma Lucidum*

Klasifikasi *Ganoderma lucidum* adalah sebagai berikut: (Park, Y. J., et al., 2012).

Kingdom	: <i>Fungi</i>
Phylum	: <i>Basidiomycota</i>
Classis	: <i>Agaricomycetes</i>
Ordo	: <i>Polyporales</i>
Famili	: <i>Ganodermataceae</i>
Genus	: <i>Ganoderma</i>
Spesies	: <i>Ganoderma lucidum</i>



Gambar 2.4 *Ganoderma lucidum* (Chen S., et al., 2012)

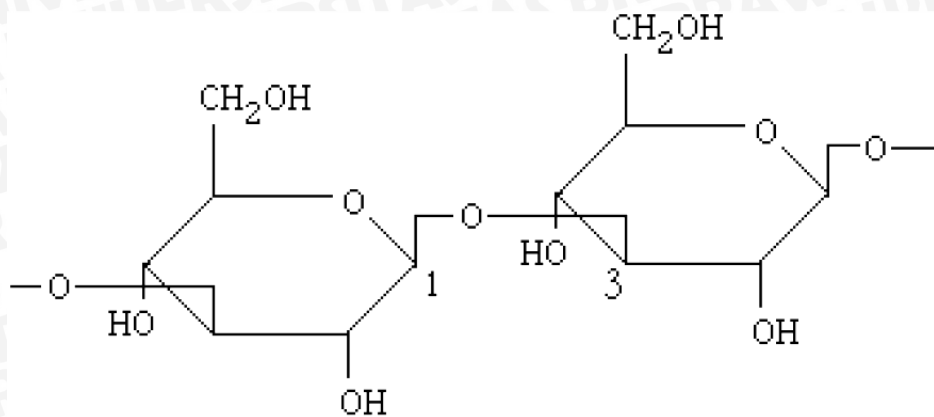
Jamur *Ganoderma* utamanya ditemukan di area tropis dan subtropis; spesies yang tipikal adalah *Ganoderma lucidum*. Jamur ini disebut Ling Zhi atau

Reishi (Cina), Mannentake (Jepang), dan Tuwon biri (Hausa). Jamur ini bersifat musiman dan dapat ditemukan tumbuh sendiri atau tumbuh dalam kelompok pada batang kayu atau tunggul yang sudah membusuk. Pada mulanya, topi dari jamur ini menonjol atau memanjang secara tidak teratur, tapi seiring dengan menjadi dewasa bentuknya berubah menjadi kurang lebih seperti bentuk kipas; dengan permukaan yang mengkilap; berwarna merah sampe merah coklat ketika sudah dewasa; saat masih muda sering didapatkan zona kuning terang dan putih di dekat batas. Batangnya terkadang tidak ada; nemun lebih sering ada; 3-14 cm panjangnya; ketebalannya sampai dengan 3 cm; dan berwarna sama dengan topinya. Bagian bawah jamur *Ganoderma* berwarna krem dan banyak berpori (Mohammed *et al.*, 2007).

2.6.2 Definisi Peptida Polisakarida

Terdapat beberapa substansi bioaktif yang dapat diidentifikasi dan diisolasi dari jamur *Ganoderma lucidum* seperti triterpenoid, polysakarida, nukleosida, sterol, dan alkaloid yang menunjukkan fungsi dan peranan sebagai anti inflamasi, anti tumor antioksidan, imunomodulasi radioproteksi pada penelitian sebelumnya. Peptida Polisakarida merupakan salah satu zat bioaktif yang dapat diisolasi dan diidentifikasi jamur *Ganoderma lucidum* serta beberapa spesies jamur terkait lainnya (Xu *et al.*, 2011).

Secara aktif biologi, polisakarida terutama berasal dari cabang (1→3)- β -D-glucans dan aktifitasnya melalui komponen reseptor tipe 3 (CR3 receptor) yang berikatan dengan polisakarida (1→3)- β -D-glucans. β -D-glucans merupakan komponen komponen mayor dari *Ganoderma* mycelium yang merupakan komponen minor dari spora *Ganoderma* (Silva D., 2003).



Gambar 2.5 Struktur (1,3)- β -D-glucan (Toai *et al.*, 2005)

2.6.3 Efek Peptida Polisakarida sebagai Antioksidan terhadap Profil Lipid pada Diabetes Mellitus Tipe 2

Selama 20 tahun terakhir, beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa ekstrak *Ganoderma lucidum* memiliki efek terapi yang menguntungkan pada diabetes. Seto *et al.* melaporkan bahwa ekstrak air *Ganoderma lucidum* dapat memberikan efek yang menguntungkan dalam mengobati diabetes tipe 2 dengan menurunkan kadar glukosa serum melalui supresi ekspresi gen PEPCK hati. Jung *et al.* melaporkan bahwa *Ganoderma lucidum* dapat merangsang penyerapan glukosa, baik melalui PI 3-kinase dan AMPK dalam sel otot rangka L6 sehingga berkontribusi untuk homeostasis glukosa (Li *et al.*, 2011).

Salah satu mekanisme dari aksi antihiperqlikemia *Ganoderma lucidum* Polisakarida (GLP) adalah melalui kemampuan *scavenging*nya untuk melindungi pulau pankreas dari kerusakan akibat radikal bebas yang diinduksi oleh streptozotocin *in vivo* dan *in vitro*. Aksi diabetogenik streptozotocin dapat dicegah oleh superoksida dismutase, katalase dan *scavenger* radikal hidroksil lainnya, seperti etanol dan dimetil urea; oleh karena itu ada bukti yang menunjukkan bahwa kejadian diabetes melibatkan anion superoksida dan radikal hidroksil. Efek buruk dari anion superoksida dan radikal hidroksil dapat dinetralkan oleh

enzim antioksidan, seperti SOD, CAT dan GPx. Administrasi GLP dapat meningkatkan aktivitas GPx dan GR dalam kondisi diabetes. Tikus yang diterapi GLP menunjukkan penurunan peroksida lipid yang berkaitan dengan peningkatan aktivitas SOD dan CAT secara *dose-dependent*. Hasil dari peningkatan aktivitas SOD dan CAT menunjukkan bahwa GLP memiliki aktivitas *scavenging* radikal bebas, yang memiliki efek yang menguntungkan terhadap perubahan patologis yang disebabkan oleh memiliki O_2^- dan OH^- (Jia *et al.*, 2009).

Pada penelitian yang telah ada, efek hipoglikemik pada pemberian PsP *Ganoderma lucidum* pada tikus yang dipuasakan (normal) adalah melalui masuknya ion Ca^{2+} ke dalam sel beta pankreas, yang akan menyebabkan sekresi insulin meningkat. Terapi pada isolasi sel beta pankreas dengan menggunakan GI-PS menurunkan kadar induksi aloksan melalui penghambatan aktivasi NF-kappa B dan menekan pembentukan radikal bebas. Selain itu, GI-PS juga mencegah atau menghambat progresifitas dari komplikasi nefropati dengan menurunkan peningkatan dari serum glukosa dan TG pada tikus diabetes yang diinduksi STZ (Seto, 2009). Pemberian GI-PS dosis sedang sampai tinggi secara signifikan meningkatkan aktivitas SOD, GSH Px, CAT yang merupakan enzim antioksidan (Meng *et al.*, 2011). Salah satu mekanisme anti hiperglikemia dari GI-PS adalah melalui peningkatan kemampuan proteksi sel beta pankreas dari kerusakan akibat radikal bebas. Sehingga hal ini akan menyebabkan sekresi insulin meningkat dan kadar glukosa darah menurun (Jia, 2009).

Telah diketahui bahwa dislipidemia dikaitkan dengan diabetes mellitus yang tidak terkontrol. Kadar TC, TG dan LDL-C yang meningkat, sedangkan kadar HDL-C menurun dalam darah, memberikan kontribusi untuk komplikasi sekunder dari diabetes. Tikus diabetes menunjukkan elevasi yang signifikan dari TC, TG, dan LDL-C, sedangkan HDL-C mengalami penurunan. Suplementasi

Ganoderma lucidum Polisakarida mengakibatkan penurunan kadar TC, TG dan LDL-C dengan peningkatan kadar HDL-C. Efek *Ganoderma lucidum* dalam menurunkan risiko penyakit kardiovaskular dan mempercepat penghapusan kolesterol dari perifer jaringan ke hati untuk katabolisme dan ekskresi mungkin karena aktivitas yang rendah dari enzim biosintesis kolesterol atau rendahnya tingkat lipolisis yang berada di bawah kendali insulin (Li *et al.*, 2011).

2.7 Pembuatan Model In Vivo Diabetes Mellitus Tipe 2

2.7.1 Penggunaan Tikus Wistar sebagai Model Diabetes Mellitus Tipe 2

Secara umum, ada tiga jenis hewan coba yang sering digunakan sebagai hewan model diabetes mellitus tipe 2, yaitu: tikus Sprague Dowley, mencit BALB/c dan *Rattus norvegicus* Galur Wistar. Tikus Sprague Dawley adalah strain albino hibrida dengan kepala panjang dan sempit. Tikus galur ini memiliki tingkat reproduksi tinggi dan mempunyai tingkat insiden tumor spontan yang rendah. Fitur dari tikus Sprague Dawley yang mempunyai temperamen yang tenang dan penanganan mudah disambut baik oleh para ilmuwan dan para teknisi laboratorium hewan yang sibuk. Sangat mudah dibiakkan dan cocok digunakan dalam penelitian terkait pengamatan perilaku, empati, dan pro-social behaviour. Selain penelitian terkait perilaku, Sprague-Dawley juga digunakan sebagai hewan coba untuk penelitian angiogenesis terutama di renal. Jenis biakan yang paling banyak digunakan adalah Charles River Sprague-Dawley (Johnson, 2012).

Mencit BALB/c adalah mencit albino, galur inbred yang imunodefisien. Mencit BALB / c memiliki karakteristik mudah dibiakkan dan memiliki variasi berat

yang minimal antara jantan dan betina. Mencit BALB / c banyak digunakan untuk penelitian dalam terapi kanker dan imunologi (Johnson, 2012).

Tikus Wistar adalah galur albino hibrida lainnya. Tikus ini merupakan strain tikus yang pertama kali dikembangkan sebagai hewan model untuk penelitian. Galur tikus Sprague Dawley berasal berasal dari galur ini (Johnson, 2012). *Rattus norvegicus* galur wistar dipilih karena keberhasilan dalam suatu percobaan pembuatan model aterosklerosis pada tikus (Muwarni *et al.*, 2006). Tikus jenis ini lebih mudah didapatkan dan lebih murah dibandingkan jenis lainnya (Kustiyah *et al*, 2003). Dalam penelitian lain menyebutkan bahwa *Rattus norvegicus* galur Wistar memiliki metabolisme kolesterol yang mirip dengan manusia dilihat dari fungsi HDL dan LDL. HDL dan LDL tikus *Rattus norvegicus* galur Wistar dan manusia memiliki fungsi yang sama yaitu memproduksi steroid dan apolipoprotein yang sama (Cyntia, 2011).

2.7.2 Penggunaan *High Fat Diet* (HFD) dan Streptozotocin (STZ) Low Dose Sebagai Penginduksi Diabetes Mellitus Tipe 2

2.7.2.1 *High Fat Diet* (HFD)

Sebuah data eksperimen besar yang dihasilkan pada hewan laboratorium sangat mendukung gagasan bahwa *high fat diet* berhubungan dengan gangguan aksi insulin. Tampak dari studi hewan bahwa jenuh lemak, khususnya, memiliki dampak paling merusak. Hal ini secara biologis masuk akal bahwa *high fat diet* meningkatkan berat badan, yang kemudian mendorong terjadinya resistensi insulin. Ada bukti besar yang mendukung pandangan ini. Selain itu, ada bukti yang berkembang bahwa obesitas memainkan peran patogenik sentral dalam perkembangan diabetes. Ini berarti bahwa setiap faktor makanan yang meningkatkan berat badan kemungkinan akan mempromosikan pengembangan diabetes. Peran lemak sebagai bahan bakar metabolisme, energi dan

keseimbangan lemak, dan struktur dan fungsi membran sel dan juga sebagai ligan untuk reseptor nuklir yang mempengaruhi ekspresi gen, membuatnya sangat masuk akal bahwa baik jumlah dan jenis lemak makanan memainkan peran penting dalam aksi insulin, pemeliharaan berat badan, dan pencegahan diabetes (Marshall & Bessesen, 2002).

Peningkatan simpanan lemak tubuh menyebabkan kontrol pelepasan lemak dan kelanjutan siklus lemak oleh hormon insulin menurun. Aktivitas anti-lipolisis dari insulin menjadi terhambat dan mengurangi penggunaan glukosa sebagai sumber energi. Asam lemak terlepas lebih banyak dan lebih mudah teroksidasi, salah satunya yaitu oksidasi LDL menjadi oxLDL. Stimulasi transpor glukosa ke dalam otot oleh hormon insulin juga terganggu yang menyebabkan terjadinya kondisi yang disebut resistensi insulin. Resistensi insulin menyebabkan terjadinya kondisi hiperglikemia yang berkepanjangan yang merupakan proses awal dari penyakit DM tipe 2 (Day dan Bailey, 2011).

2.7.2.2 Streptozotocin (STZ)

Streptozotocin (STZ) adalah produk nitrosourea alami dari *Streptomyces achromogenes*. Biasanya, injeksi intraperitoneal dosis tunggal (60 mg / kg berat badan) akan mengakibatkan toksisitas langsung pada sel-sel β mengakibatkan nekrosis dalam waktu 48-72 jam dan menyebabkan hiperglikemia permanen. STZ memecah untai DNA dari sel islet (Prasad et al, 2009).

STZ banyak dipakai untuk menghasilkan diabetes eksperimental pada hewan rodentia. Namun ada kontroversi mengenai apakah model diabetes yang diinduksi oleh STZ adalah DM tipe 1 atau DM tipe 2. STZ bekerja berdasarkan dosis yang diberikan, apabila dosis STZ besar, maka akan terjadi proses alkilasi dari substansi nitrosourea yang sitotoksik. Efek dari STZ dosis rendah adalah stimulasi dari respons imunitas yang menyebabkan autoantigen untuk asam

glutamat dekarboksilase. Efek utama dari STZ dalam menginduksi DM tipe 2 yaitu hipoinsulinemia dan hiperglikemia (Graham, *et al.*, 2011).

STZ dosis tinggi (130 atau 150 mg/kg BB) menghasilkan hiperglikemia parah pada tikus mirip dengan tipe 1 diabetes, dan tiga administrasi berturut STZ dosis rendah (40 mg/kg BB) menginduksi hiperglikemia ringan pada tikus mirip dengan tipe 2 diabetes (Ventura-Sobrevilla *et al.*, 2011).

Diabetes yang diinduksi Streptozotocin adalah model diabetes eksperimental yang terdokumentasi dengan baik. Diabetes-Streptozotocin menyediakan contoh relevan dari stres oksidatif kronis endogen akibat hiperglikemia yang dihasilkan. Peran oksidatif stres dan antioksidan dalam kerusakan organ dan jaringan telah dipelajari secara ekstensif pada diabetes dan pasien diabetes eksperimental. Dalam penelitian Jia *et al* ini, pengobatan streptozotocin secara signifikan meningkatkan peroksida lipid dan menurunkan tingkat antioksidan nonenzimatik dan aktivitas enzim antioksidan dalam plasma dan hati tikus (Jia *et al.*, 2009).

