BAB 2

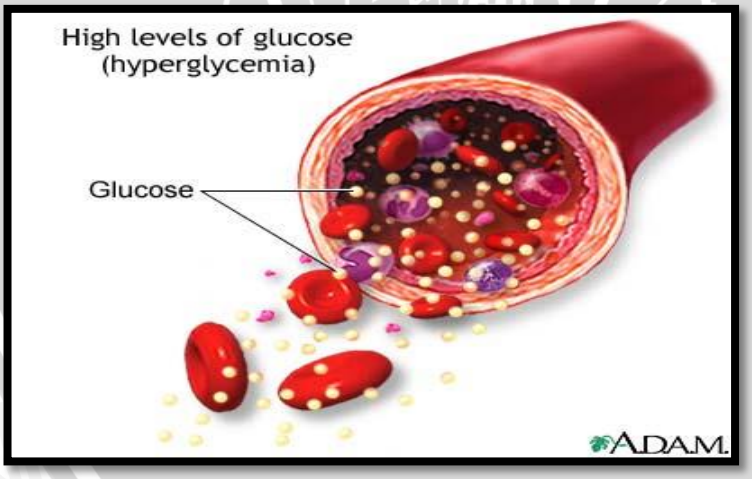
TINJAUAN PUSTAKA

Berikut penulis akan menjabarkan tinjauan pustaka mengenai Diabetes Melitus (DM) sampai dengan hubungan pemberian PsP sebagai antioksidan yang dapat menghambat peningkatan PVAT pada DM tipe 2.

2.1 Diabetes Melitus

2.1.1 Definisi Diabetes Mellitus

Menurut *American Diabetes Association* (ADA) tahun 2010, DM merupakan suatu penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya (*American Diabetes Association*, 2010).



Gambar 2.1.1 : Gambaran kondisi hiperglikemi di pembuluh darah.

Penyebab kematian dan kesakitan utama pada penderita diabetes baik DM tipe 1 maupun DM tipe 2 adalah penyakit kardiovaskular misalnya penyakit aterosklerosis, stroke, *peripheral arterial disease* (PAD), kardiomiopati, dan gagal jantung kongestif (Juutlainen *et al*., 2005). Penyebab aterosklerosis pada

penderita DM tipe 2 bersifat multifaktorial yang melibatkan interaksi kompleks dari berbagai keadaan seperti hiperglikemia, hiperlipidemia, dan stress oksidatif (Hayat *et al*, 2004).

Diabetes mellitus (DM) adalah kondisi kronis yang memiliki karakteristik tingginya gula darah (hiperglikemia) dengan manifestasi klinis seperti sering haus (polidipsi), sering kencing (poliuri), sering lapar (polifagi), dan adanya penurunan berat badan (Rother *et al*., 2007). Kriteria diagnosis DM menurut *American Diabetes Association* (ADA) tahun 2010 dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2.1.1 : Kriteria Diagnosis DM (ADA, 2012).

Kriteria Diagnosis DM
HbA1c ≥ 6,5 %
Atau
Gula darah puasa ≥ 126 mg/dL. Puasa: tidak mengkonsumsi sumber kalori paling tidak selama 8 jam
Atau
Gula darah 2 jam ≥ 200 mg/dL pada uji toleransi gula secara oral. Tes toleransi glukosa oral (TTGO) yaitu pengujian meminum 75 g glukosa anhidrat yang dilarutkan dalam air
Atau
Gejala klasik dari hiperglikemia atau krisis hiperglikemia dengan konsentrasi glukosa darah acak ≥ 200 mg/dL.

Diagnosis pada DM dapat ditegakkan dengan menggunakan pemeriksaan kadar glukosa darah. Pemeriksaan glukosa secara enzimatik dari darah plasma vena merupakan pemeriksan glukosa darah yang dianjurkan.

Sedangkan pemeriksaan darah kapiler digunakan untuk memantau hasil pengobatan dengan menggunakan glukometer (PERKENI, 2011).

2.1.2 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Klasifikasi etiologi DM menurut Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI) pada tahun 2011 adalah :

Tipe 1	Destruksi sel beta, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut ▪ Autoimun ▪ Idiopatik
Tipe 2	▪ Bervariasi, mulai yang dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang dominan defek sekresi insulin disertai resistensi insulin
Tipe lain	▪ Defek genetik fungsi sel beta ▪ Defek genetik kerja insulin ▪ Penyakit eksokrin pankreas ▪ Endokrinopati ▪ Karena obat atau zat kimia ▪ Infeksi ▪ Sebab imunologi yang jarang ▪ Sindrom genetik lain yang berkaitan dengan DM
Diabetes melitus gestasional	

Tabel 2.1.2 : Klasifikasi etiologis Diabetes Melitus (PERKENI.,2011).

2.2 Diabetes Melitus tipe 2

Diabetes Melitus (DM) tipe 2 memiliki angka kejadian 90% dari kasus DM, dahulu DM tipe 2 ini dikenal sebagai Non Insulin Dependent Diabetes Melitus (NIDDM). DM tipe 2 merupakan gangguan metabolik yang disebabkan penurunan sensitivitas sel beta pankreas (Guyton *et al*, 2008). DM tipe 2 seringkali terjadi karena adanya resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai defek sekresi insulin disertai resistensi insulin (Mansjoer *et al*.,2007;Price *et al*.,2006).

Patofisiologi DM Tipe 2 sangat kompleks. Pada awalnya, terjadi kegagalan insulin dalam upaya menurunkan gula darah, mengakibatkan sel ß

pankreas akan terus mencoba mensekresikan insulin lebih banyak untuk mengatasi penurunan sensitivitas insulin. Dalam keadaan ini toleransi glukosa dapat masih normal, dan suatu saat akan terjadi gangguan dan menyebabkan gangguan toleransi glukosa (IGT) (Price *et al*., 2006). Apabila keadaan resistensi insulin bertambah berat disertai beban glukosa yang terus menerus terjadi, sel ß pankreas dalam jangka waktu yang tidak lama akan mengalami penurunan sekresi insulin, disertai peningkatan glukosa hepatik dan penurunan penggunaan glukosa oleh otot dan lemak yang mempengaruhi kadar gula darah puasa dan 2 jam post prandial. Pada Akhirnya sekresi insulin oleh sel ß pankreas akan menurun dan terjadi hiperglikemia yang bertambah berat dan terus menerus berlangsung (Ostenson *et al*., 2001).

Resistensi insulin merupakan bagian dari serangkaian kelainan yang sering disebut sebagai sindrom metabolik. Beberapa gambaran sindrom metabolik meliputi: 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. Akibat utama yang tidak diinginkan dari sindrom metabolik adalah penyakit kardiovaskular yang meliputi aterosklerosis dan kerusakan berbagai organ di seluruh tubuh (Guyton *et al*., 2008).

Faktor risiko DM tipe 2 adalah riwayat keluarga diabetes (seperti orang tua atau saudara dengan diabetes tipe 2), obesitas (IMT ≥ 25 kg/m^2), inaktivitas fisik, ras/etnis (misal Afrika Amerika, Latin, Native American, Asia Amerika, Pacific Islander), sebelumnya didiagnosa dengan IFG, IGT, atau A1C 5,7-6,4%, riwayat diabetes mellitus gestasional atau melahirkan bayi > 4 kg, hipertensi (tekanan darah ≥ 140/90 mmHg), kadar kolesterol HDL < 35 mg/dL (0,90

mmol/L) dan/atau kadar trigliserida > 250 mg/dL (2,82 mmol/L), riwayat penyakit kardiovaskular.

2.2.1 Penatalaksanaan Diabetes

Menurut PERKENI 2011, Tujuan penatalaksanaan secara umum adalah meningkatkan kualitas hidup penyandang diabetes. Tujuan penatalaksanaan adalah sebagai berikut:

- Jangka pendek: menghilangkan keluhan dan tanda DM, mempertahankan rasa nyaman, dan mencapai target pengendalian glukosa darah.
- Jangka panjang: mencegah dan menghambat progresivitas penyulit mikroangiopati, makroangiopati, dan neuropati.

Tujuan akhir pengelolaan adalah turunnya morbiditas dan mortalitas DM. Untuk mencapai tujuan tersebut perlu dilakukan pengendalian glukosa darah, tekanan darah, berat badan, dan profil lipid, melalui pengelolaan pasien secara holistik dengan mengajarkan perawatan mandiri dan perubahan perilaku.

Terapi farmakologis diberikan bersama dengan pengaturan makan dan latihan jasmani (gaya hidup sehat). Terapi farmakologis terdiri dari obat oral dan bentuk suntikan. Berikut adalah perbandingan terapi farmakologis untuk pasien DM :

Tabel 2.2.1: Perbandingan terapi farmakologis untuk pasien DM (PERKENI., 2011).

	Cara kerja utama	Efek samping utama	Keuntungan	Kerugian

Sulfonilurea	Meningkatkan sekresi insulin	BB naik, hipoglikemia	Sangat efektif	Meningkatkan berat badan, hipoglikemia (glibenklamid dan klorpropamid)
Glinid	Meningkatkan sekresi insulin	BB naik, hipoglikemia	Sangat efektif	Meningkatkan berat badan, pemberian 3x/hari, harganya mahal dan hipoglikemia
Metformin	Menekan produksi glukosa hati & menambah sensitifitas terhadap insulin	Dispepsia, diare, asidosis laktat	Tidak ada kaitan dengan berat badan	Efek samping gastrointestin, kontraindikasi pada insufisiensi renal
Penghambat glukosidase-alfa	Menghambat absorpsi glukosa	Flatulen, tinja lembek	Tidak ada kaitan dengan berat badan	Sering menimbulkan efek gastrointestin,3x/hari dan mahal

Tiazolidindion	Menambah sensitifitas terhadap insulin	Edema	Memper-baiki profil,berpotensi menurunkan infark miokard	Retensi cairan,CHF, fraktur, berpotensi menimbulkan infark miokard, dan mahal
DPP-4 inhibitor	Meningkatkan sekresi insulin, menghambat sekresi glucagon	Sebah, muntah	Tidak ada kaitan dengan berat badan	Penggunaan jangka panjang tidak disarankan, mahal
Inkretin analog/mimetic	Meningkatkan sekresi insulin, menghambat sekresi glucagon	Sebah, muntah	Penurun-an berat Badan	Injeksi 2x/hari, penggunaan jangka panjang tidak disarankan, dan mahal
Insulin	Menekan produksi	Hipoglikemi,BB naik	Dosis tidak terbatas, memperbaiki	Injeksi 1-4 kali/hari,harus dimonitor,meningk

	glukosa hati, stimulasi pemanfaatan glukosa		profil lipid da sangatefektif	atkan berat badan, hipoglikemia dan analognya mahal

2.3 Pembuatan Tikus Model DM Tipe 2

Pada pembuatan tikus model DM tipe 2 perlu dilakukan persiapan pemilihan tikus berdasarkan galur yang tepat dan bahan-bahan yang akan untuk induksi menjadi DM tipe 2.

2.3.1 Pemilihan Hewan Coba

Berbagai hewan coba sering digunakan dalam penelitian *in vivo*. Beberapa hewan coba yang pernah digunakan adalah New Zealand white rabbit, sprague dawley-rat, dan tikus wistar (*Rattus novergicus*). Berbagai hewan coba tersebut memiliki kelebihan dan kekurangan masing-masing yang mampu menunjang penelitian. Berikut adalah penjelasan mengenai hewan coba yang sering digunakan dalam penelitian :

1. Balb/c adalah jenis tikus (mice) albino yang digunakan sebagai hewan coba karena kemiripannya dengan struktur sel manusia. Dalam berbagai penelitian disebutkan bahwa tikus balb/c baik digunakan dalam penelitian terkait immunologi dan onkologi karena respon sel mirip dengan manusia.
2. Sprague-Dawley merupakan tikus (rat) galur albino hibrida. Kelebihan lain yang dimiliki oleh tikus jenis ini adalah memilki tingkat reproduksi yang tinggi, tenang, dan mudah dijinakkan. Sangat mudah dibiakkan dan cocok digunakan dalam penelitian terkait pengamatan perilaku, empati, dan *pro-*

social behaviour. Selain penelitian terkait perilaku, Sprague-Dawley dapat digunakan sebagai hewan coba untuk research angiogenesis terutama di renal. Jenis biakan yang paling banyak digunakan adalah Charles River Sprague-Dawley.

3. Hewan coba tikus putih lain yanng sama-sama albino hibrida adalah *Rattus norvegicus* galur Wistar. Sprague-Dawley merupakan galur turunan dari tikus jenis ini. Rattus norvergicus galur wistar dipilih karena keberhasilan dalam suatu percobaan pembuatan model ateroskerosis pada tikus (Johnson *et al*., 2012). Tikus jenis ini lebih mudah didapatkan dan lebih murah dibandingkan jenis lainnya (Kustiyah *et al,* 2003) (Murwani *et al*, 2006). 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).

2.3.2 High Fat Diet

Penelitian DM tipe 2 membutuhkan hewan coba yang memiliki proses patologi dan metabolik yang sama dengan DM tipe 2 manusia. Beberapa penelitian berkembang terkait pemilihan hewan coba. Pengubahan genetik yang disengaja pada hewan coba menjadi salah satu pilihan yang digunakan. Tetapi hewan coba dengan mutasi genetik ini membutuhkan lingkungan yang sangat ketat dan biaya yang cukup tinggi. Oleh sebab itu, penelitian beralih menggunakan tikus yang diberi pakan tinggi lemak atau high-fat diet. Model ini dibuat dengan cara mengekspos tikus dengan pakan tinggi lemak dalam beberapa bulan. Hasil penelitian model ini menunjukkan peningkatan signifikan

hiperglikemia tikus dikarenakan pakan tinggi lemak. Pakan tinggi lemak yang diformulasikan mengandung 58% kalori menyebabkan resistensi insulin dalam waktu 2 minggu ditandai dengan peningkatan berat badan, hiperglikemia ringan, hipertrigliseridemia, hiperkolesterolemia, dan kompensasi hiperinsulinemia. Pakan tinggi lemak dapat menginduksi resistensi insulin melalui siklus metabolisme glukosa-asam lemak. Tingginya kadar trigliserida disebabkan peningkatan availabilitas asam lemak dan oksidasi. Diet yang dikembangkan untuk menginduksi resisten insulin memiliki ciri khas mengandung tinggi lemak atau tinggi karbohidrat, glukosa, minyak jagung atau minyak jenis lainnya, kolesterol dan pelet. (Srinivas *et al*, 2005 ; Liang *et al*, 2007).

2.3.3 *Streptozotocin*

Streptozotocin (STZ) adalah agen anti mikroba hasil turunan dari mikroorganisme tanah *Streptomyces achromogenes*. Digunakan sebagai agen terapi metastasis sel pankreas dan malignansi lainnya. STZ bersifat agen diabetik sehingga digunakan untuk menginduksi DM pada hewan coba. STZ digunakan luas untuk menghasilkan baik DM tipe 1 maupun DM tipe 2 dengan cara menginduksi kematian sel beta pankreas (Zhang *et al*, 2008).

Dosis STZ menentukan bagaimana kondisi klinis hewan coba. STZ dosis tinggi digunakan untuk menghasilkan keadaan mirip DM tipe 1 sedangkan dosis rendah STZ yang di kombinasi dengan *High Fat Diet* (HFD) menimbulkan gangguan ringan sekresi insulin yang pada tahap selanjutnya menimbulkan gejala klinis DM tipe 2 (Zhang *et al*, 2008). Dalam penelitian menyebutkan untuk menimbulkan gambaran klinis DM tipe 1 diperlukan dosis STZ injeksi peritoneal sebanyak 180-200mg/kgBB. Sedangkan untuk menimbulkan gambaran klinis DM tipe 2 dibutuhkan dosis STZ injeksi peritoneal sebanyak 100mg/kgBB. Kedua

injeksi tersebut merupakan *single injection*. Dosis 40mg/kgBB dengan *multiple injection* sebanyak 5-6 kali dapat menimbulkan gambaran klinis DM tipe 1 maup

Streptozotocin (STZ)

Gambar 2.3.3. Struktur kimia streptozotocin (STZ) (Lenzen, 2007).

Terjadinya endogenus stres oksidatif kronis merupakan cara streptozotocin menginduksi terjadinya hiperglikemia. Stres oksidatif yang dijembatani oleh adanya radikal bebas mampu menimbulkan kerusakan pada jaringan bahkan organ. Studi baru-baru ini menyebutkan streptozotocin meningkatkan lipid peroxidase dan menurunkan level antioksidan nonenzimatik. Peningkatan glukosa darah dan menurunnya kadar insulin di serum sangat berkaitan dengan peningkatan lipid peroksidase. Pada pasien diabetes ditemukan pula stress oksidatif yang berlangsung terus menerus (Jia *et al*, 2008).

2.4 Radikal bebas

Reactive oxygen species (ROS) adalah reaktif molekul secara kimia dengan oksigen. ROS tinggi disebabkan banyaknya valensi elektron reaktif. Akumulasi ROS disebut stres oksidatif. Stres oksidatif adalah keadaan di mana jumlah radikal bebas di dalam tubuh melebihi kapasitas tubuh untuk menetralisirnya. Akibatnya intesitas proses oksidasi sel-sel tubuh normal menjadi semakin tinggi dan menimbulkan kerusakan yang lebih banyak. Transformasi protein yang terjadi akibat stres oksidatif dapat mengakibatkan disfungsi protein, kerusakan jaringan dan berkembangnya berbagai jenis penyakit. Berbentuk

radikal seperti radikal hidroksil (-OH), radikal peroksil (-OOH), dan ion superoksida (O_2^--). Sebagian yang lain bukan radikal, seperti singlet oksigen (O_2), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan ion hipoklorit (ClO^-). Senyawa oksigen reaktif, sesuai dengan namanya, berasal dari oksigen (O_2), senyawa yang diperlukan oleh semua organisma aerobik termasuk manusia.Organisma aerobik memerlukan oksigen untuk menghasilkan ATP, suatu senyawa yang merupakan sumber energi bagi kebanyakan mahluk hidup, melalui fosforilasi oksidatif yang terjadi di mitokondria (Halliwel and Gutteridge., 2010).

Stres oksidatif dapat dihasilkan oleh proses adaptasi. Target kerusakan bisa di DNA, protein, lipid, asam urat. Dalam keadaan tertentu pengalihan elektron tersebut berjalan kurang sempurna sehingga terjadi senyawa-senyawa oksigen reaktif yang sangat berbahaya, yang akan merusak sel apabila tak diredam. Hal seperti itu terjadi dalam keadaan-keadaan yang disebut jejas oksidatif.Definisi dari stres oksidatif pada sistem biologi adalah terjadi aktifasi dengan fokus oksigen yang bersifat toksis dan X radiasi (Chevion *et al*., 2003).

Manusia dan mahkluk hidup aerob lain dapat menoleransi oksigen (O2) karena memiliki system transfer elektron dan enzim untuk oksigen, pertahanan dengan atioksidan untuk melindungi dari efek toxic dari ROS. ROS/RNS selalu diproduksi di mahkluk hidup , hal ini meliputi mekanisme lepasnya electron O2 dari system transport elekton mitokondria , sitokrom p-4510 dan b5 yang memproduksi radikal bebas. Proses transport electron di mitokondria sendiri diduga mengjasilkan O2- sebanyak 1-3 % dari total O2 yang dihirup dalam proses menghasilkan energy. O2- ini juga dihasilkan dalam proses fagositosis oleh sel – sel leukosit , seperti neutrophil , monosit, marofag, dan eosinophil untuk menginaktivasi bakteri dan virus. Saat proses fagositosis terjadi ,

konsumsi O2 meningkat drastis oleh karena aktivasi NADPH-oksidase di membrane yang mereduksi O2 menjadi $O2^-$ .Tetapi banyak juga molekul di dalam tubuh kita yang mudah teroksidasi bila mengalami kontak dengan ROS ini seperti katekolamin, tertrahidrofolat. Glukosa juga bereaksi dengan protein membentuk ROS, karena itu , pada pasien dabetes yang mana gula darahnya tinggi terjadi stress oksidatif. ROS ini lalu dapat mengoksidasi LDL sehingga akan menimbulkan respon inflamasi yang akan merangsang makrofag untuk memfagositosis dan membentuk foam cell yang merupakan awal dari proses aterosklerosis (Bahorun *et al*., 2006).

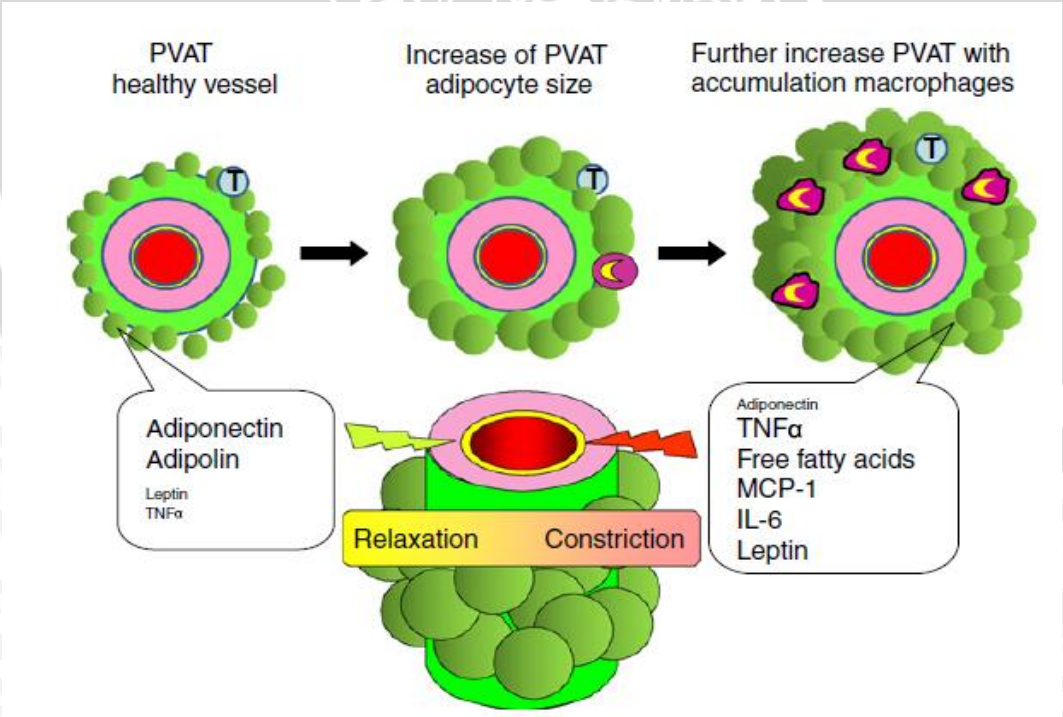
2.5 Jaringan lemak perivaskular (PVAT)

PVAT (*Perivaskular adipose tissue*) adalah lembaran tipis jaringan adiposa yang berbatasan dengan tunika adventitia pembuluh darah. PVAT terdiri dari stromal, fibroblas, *stem cell*, *mast cell*, dan saraf (Meijer *et al*., 2011).

2.5.1 Patofisiologi PVAT

PVAT merupakan jaringan stabil yang sudah ada sejak perkembangan embrio. Pada keadaan sehat (tidak terjadi obesitas), PVAT mengatur efek respon pembuluh darah. Istilah jaringan perivaskular adiposa meliputi lemak organ-spesifik tertentu (Yudkin *et al*., 2005). Jaringan adiposa perivaskular, mirip dengan lemak lainnya, aktif secara metabolik, mensekresi beragam zat bioaktif yang disebut adipokin (Chatterjee *et al*., 2009). Adiponektin dan ADRF dilepaskan oleh PVAT untuk mengurangi respon kontraktil dari agen vasokontriktif sehingga membuat pembuluh darah tetap dilatasi dan mencegah terjadinya hipertensi (Lee *et al.,* 2013). Namun sebaliknya, pada kondisi obesitas, PVAT menjadi tidak stabil serta akan mengalami inflamasi dan berekspansi

sehingga massanya bertambah (Eringa et al., 2012). Ekspansi PVAT ini berhubungan dengan peningkatan *Reactive Oxygen Species* (ROS), pelepasan *Free Fatty Acid* (FFA), dan stress fisik (Gustafon.,2010). ROS dapat mengaktivasi Peroxisome Proliferator Activated Receptor-γ (PPAR- γ) memicu deferensiasi dan infiltrasi dari preadiposit sehingga terjadi peningkatan jumlah adiposit yang kemudian menyebabkan terjadinya disfungsi PVAT. Kemudian sitokin proinflamasi dari PVAT ini dapat berdifusi ke struktur disekitarnya dan dapat menimbulkan efek pada dua tempat, yaitu pada endotel dan jaringan lain yang berdekatan. Pada jaringan yang berdekatan, sitokin dan adipokin menyebabkan masuknya makrofag jaringan ke dalam dinding arteri dan menyebabkan proliferasi sel-sel otot polos (Verhagen *et al*., 2010).



Gambar 2.5.1 : Mekanisme ekspansi jaringan perivaskular adipose (Eringga *et al*.,2012).

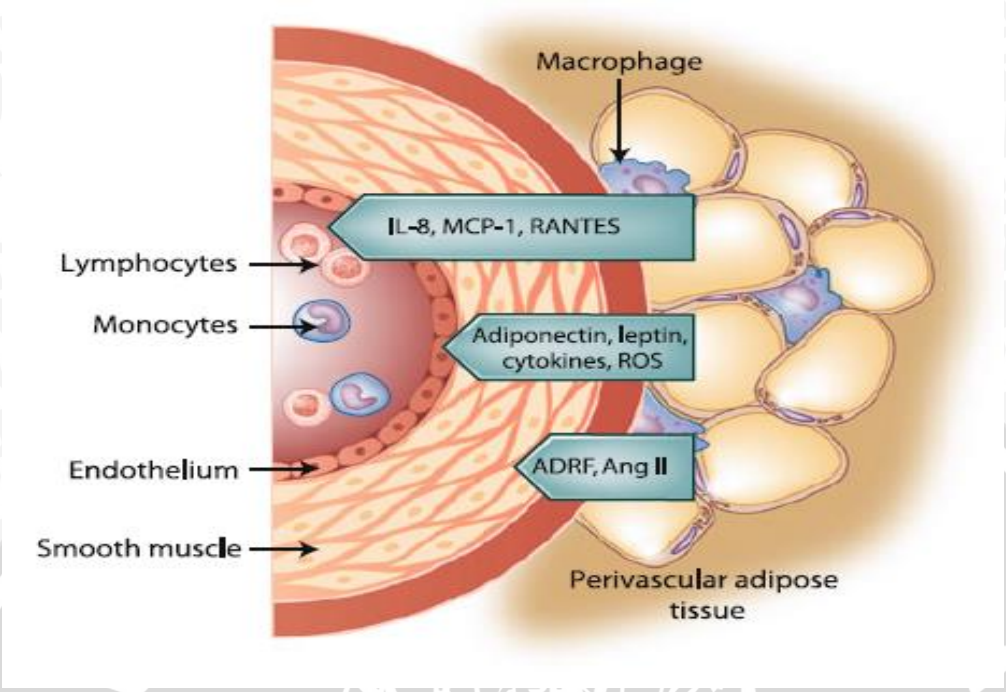
PVAT dapat mensekresi berbagai macam zat bioaktif yang disebut adipokin. Berikut adalah mediator yang dilepaskan dari PVAT serta fungsi dan asal mediator tersebut :

Tabel 2.5.1 : Mediator yang dilepaskan dari PVAT serta fungsi dan asal mediator tersebut (Srinivas *et al*.,2010).

Mediator	Function	Primary source
Adiponectin	↓ TNF-α, IFNγ, IL-6, NF-κB, phagocytosis, endothelial adhesion molecules ↑ IL-10, IL-1RA	Adipocytes
Adrenomedullin	↓ Inflammation	Adipocytes
IL-6	↓ Adiponectin secretion ↓ Lipoprotein lipase activity ↑ Lipolysis, suppressor of cytokine signaling type-3 (SOCS-3)	Macrophages, inflammatory cells, fibroblasts, endothelial cells, adipocytes
IL-8	↑ Chemotaxis of neutrophils, monocytes, T-lymphocytes ↑ Reactive oxygen species (ROS)	Adipocytes, inflammatory cells
Leptin	↑ TNF-α, IL-6, IL-12, ROS ↑ Macrophage and monocyte activation ↑ Smooth muscle cell proliferation and migration	Adipocytes
MCP-1	↑ Chemotaxis and *trans*endothelial migration of monocytes	Adipocytes, inflammatory cells
PAI-1	↓ Plasminogen activation	Platelets, vascular endothelium, adipocytes
Resistin	↑ Endothelial adhesion molecules, Pentraxin-3, TNF-α, IL-6, IL-12, IL-1β, NF-κB	Macrophages, adipocytes
Visfatin	↑ IL-6, IL-8, TNF-α ↓ Apoptosis of neutrophils ↑ Smooth muscle cell proliferation and migration	Adipocytes, macrophages

2.5.2 PVAT pada DM Tipe 2

DM tipe 2 mempengaruhi PVAT, PVAT tetap menjadi jaringan yang stabil namun dalam keadaan diabetes massa PVAT menjadi meningkat (Greenstein *et al.*,2009). PVAT di pengaruhi oleh adanya ROS dan NADPH oksidase. Pada Diabetes mellitus tipe 2 ini dihubungan dengan inflamasi kronik, sebagai hasil dari kenaikan sekresi dan aktivasi dari adipokin pro-inflamasi serta sitokin dari inflamasi pada adiposa (Calle and Fernandez, 2012; Miranville *et al*., 2012).

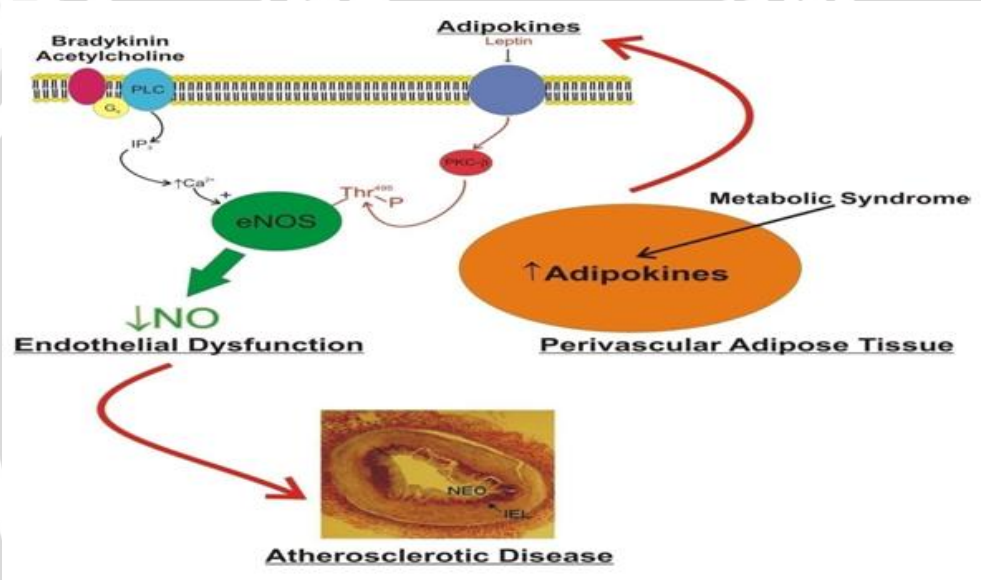


Gambar 2.5.2 : Interaksi dari *Perivascular Adipose Tissue* dengan endotelium pembuluh darah, otot polos, dan sel imun serta mediator-mediator (Meijer *et al*., 2011).

Adiponektin yang termasuk dalam PVAT juga dianggap bermanfaat untuk meningkatkan perfusi jaringan dan metabolisme glukosa. Adiponektin merupakan protein pada sirkulasi manusia yang berhubungan dengan metabolism glukosa, peningkatan sensitivitas insulin, dan untuk memperbaiki fungsi vaskular (Koenig *et al*., 2006). Ketika terjadi ekspansi jaringan adiposa karena diet tinggi lemak atau pengembangan obesitas, jaringan adiposa mulai memproduksi TNFα dan *free fatty acid*, yang kemudian meningkatkan produksi *monosit chemotactic protein-1* (MCP-1), *interleukin*-6 (IL-6) serta leptin dalam simpanan lemak. kemudian MCP-1 dan IL-6 menarik makrofag dan leukosit lainnya ke dalam jaringan adiposa. Selanjutnya keadaan pro-inflamasi ini membuat pengurangan produksi adiponektin (Ouchi *et al*.,2011).

2.5.3 PVAT pada DM tipe 2 yang mengakibatkan Aterosklerosis

Ketebalan PVAT juga memiliki efek remodeling vaskular dan aterosklerosis (Henrichot *et al*, 2005). Setelah diet tinggi lemak dan terjadi obesitas kemampuan PVAT untuk merelaksasikan otot polos vaskular menjadi berkurang, hal tersebut disebabkan karena adanya peningkatan makrofag pro-inflamasi dan perubahan simultan dalam produksi adipokine (Chatterjee *et al.*, 2009).



Gambar 2.5.3 : mekanisme PVAT menyebabkan *coronary vascular disease* (Payne.,2010).

Mekanisme keterlibatan PVAT dalam proses aterosklerosis yaitu meningkatkan produksi adipokin dan sitokin proinflamasi, seperti TNF-α yang kemudian meningkatkan produksi MCP-1 dan IL-6 (Eringa ., 2011).

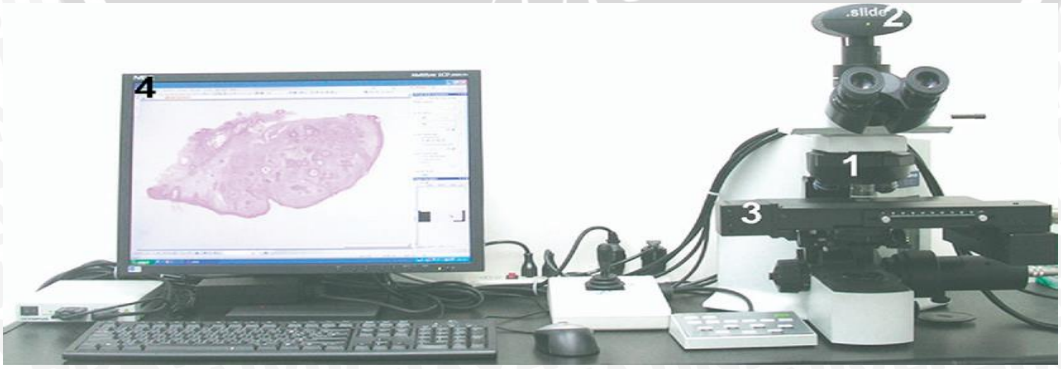
2.5.4 Metode Pengukuran ketebalan PVAT pada Hewan Coba

Metode pengukuran ketebalan PVAT diawali dengan persiapan preparat. Sampel yang digunakan untuk membuat preparat adalah dari potongan aorta. Pembuatan preparat menggunakan prosedur Paraffin Block. Proses selanjutnya adalah pulasan preparat aorta. Berbagai pulasan dapat digunakan untuk Pulasan

untuk sampel aorta tersebut menggunakan pulasan hematoksilin-eosin. Pengamatan dan pengukuran sediaan menggunakan mikroskop binokuler (Yanuartono, 2007).

Perkembangan teknologi menghasilkan kemudahan bagi peneliti untuk mendapatkan gambaran preparat dengan pembesaran yang tinggi. Kemudahan ini berupa *virtual slide microscopy*. *Virtual slide microscopy* tidak membatasi pengguna seperti konvesional mikroskop biasa. *Virtual slide microscopy* mengubah hasil pembacaan mikroskop konvensional menjadi bentuk digital. Untuk menghasilkan digital slide mikroskopik dibutuhkan *software dot-slide system* dengan hardware khusus (Chen *et al*, 2008).

Dot-slide OlyVIA merupakan software produksi Olympus untuk melihat hasil scan dari dot-slide system yang dikembangkan Soft Imaging System GmbH (Olympus Deutschland GmbH, Hamburg, Jerman). Hardware yang digunakan dalam sistem ini terdiri atas 4 komponen utama seperti yang dapat dilihat pada Gambar 2.5.4 yakni : (1) mikroskop cahaya; (2) kamera color digital; (3) penampang yang dapat dikontrol ke semua arah menggunakan joystick dan software; dan (4) PC atau komputer yang diinstal dengan image acquisition software (Chen *et al*, 2008).



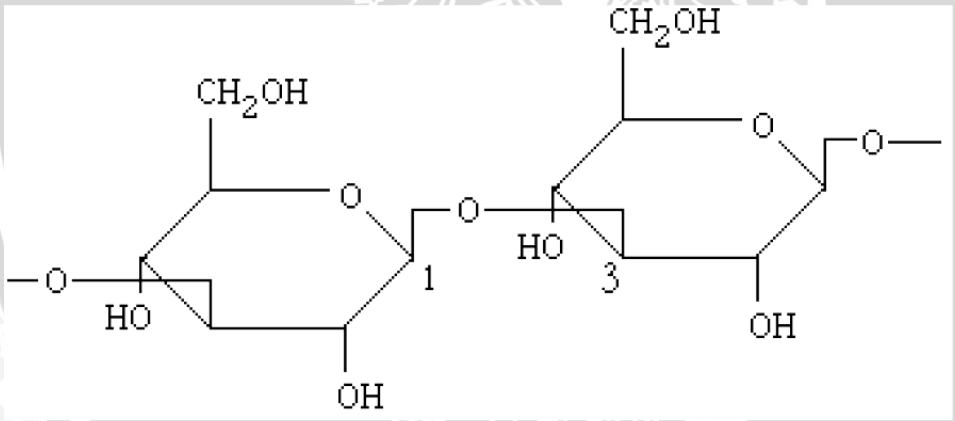
Gambar 2.5.4 : Hardware yang digunakan dalam dot-slide system (Chen *et al*, 2008).

2.6 Peptida Polisakarida (PsP) dari Ganoderma Lucidum

2.6.1 Peptida Polisakarida (PsP)

Peptida polisakarida (PsP) yang memiliki kandungan bioaktif β-D-glucan terhadap pembesaran sel-sel lemak pada tikus yang diberikan diet tinggi lemak. Efek beta glucan ini diharapkan dapat mengurangi gula darah dengan cara menghambat stress oksidatif dengan menjadi antioksidan (Jia *et al.*,2008).

Dimana 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.,2003*).



Gambar 2.6.1 : Struktur kimia polisakarida *β-D-glucan* dari Ganoderma *Lucidum* (Toai *et a*l.,2005)

2.6.2 Ganoderma Lucidum

Ganoderma sp. adalah golongan *Basidiomycetes* yang merupakan famili dari *polyporaceae*, yang awalnya jamur tersebut tumbuh pada kayu atau pohon yang tebal. Beberapa jenis dari *Ganoderma sp.* diantaranya yaitu *G. Lucidum, G. Sinense, G. Oregonense, G. Applanatum, G. Tsugae, G. Neo-japanicum*.

Ganoderma lucidum merupakan jenis yang paling dikenal di masyarakat (Suryanto *et al.,* 2005).

Ganoderma lucidum dan beberapa spesies jamur yang terkait mempunyai sejarah panjang penggunaan untuk berbagai kepentingan pengobatan lebih dari 4000 tahun. Di jepang disebut dengan Reishi, di cina di kenal dan korean dikenal dengan Ling Chu dan Ling Zhi yang berarti jamur keabadian. Ganoderma spesies merupakan obat kuat yang terkenal di cina, tersebar luas di india pada akar pohon, merupakan famili polyporaceae dari Basidiomycete (Ajith et al., 2007).

Beberapa kelas substansi bioaktif yang terisolasi dan teridentifikasi dari G. Lucidum seperti triterpenoids, polysaccharides, nucleosides, sterols dan alkaloids telah menunjukkan fungsi dan peranan sebagai anti inflamasi, anti tumor antioksidan, imunomodulasi radioproteksi pada penelitian sebelumnya dimana pada penelitian ini akan membahas tentang polysaccharides dari G. Lucidum (Xu *et al*., 2011).

Gambar 2.6.2 : *Ganoderma lucidum* (Suryanto *et al*., 2005).

Ganoderma lucidum dapat merangsang penyerapan glukosa, baik melalui PI 3-kinase dan AMPK dalam sel otot rangka L6 sehingga berkontribusi untuk homeostasis glukosa (Fenglin Li et al., 2011). Pemberian PsP telah dilaporkan dapat mencegah atau meredam penurunan enzim antioksidan jaringan pada

sejumlah hewan model stres oksidatif sehingga menyebabkan timbulnya perlindungan seluler terhadap ROS (Jia *et al*., 2008).

2.6.3 Peptida polisakarida sebagai anti oksidan

Kerusakan oksidatif selular telah diketahui sebagai penyebab utama dari injuri sel dan jaringan dan secara primer disebabkan oleh Reactive Oxygen Species (ROS), dimana ROS dapat berikatan dengan kebanyakan komponen sel normal, bereaksi dengan membran lipid tidak jenuh, mendenaturasi protein dan menyerang asam nukleat. Akibat ketidak seimbangan pembentukan metabolik oksigen aktif dan rata-rata mereka dieliminasi baik secara enzimatik maupun non enzimatik anti oksidan maka kejadian tersebut dikatakan sebagai suatu stress oksidatif. Stress oksidatif memainkan peranan penting pada keadaan fisiologis dan berbagai macam penyakit seperti DM, infark miokard dan karsinogenesis. Sel dalam tubuh mempunyai mekanisme antioksidan seperti glucose-6-phosphate dehydrogenase, superoxide dismutase (SOD), catalse (CAT), glutathione-S-transferase (GST) dimana kesemuanya ini berguna untuk mencegah pembentukan dari radikal bebas dan perbaikan dari kerusakan oksidatif. Peptida polisakarida G. Lucidum pada penelitian sebelumnya memiliki fungsi sebagai anti inflamasi dan anti tumor. SOD dan CAT merupakan enzim mayor scavenger yang mengeliminasi racun radikal bebas in vivo. Enzim SOD mengambil superoxide radicals ($O2^{-}$) dengan mengkatalisis perubahan dari dua radikal ini menjadi bentuk hidrogen peroksidase dan oksigen molekular. Hidrogen peroksidase dibentuk oleh SOD dan proses lain dilakukan oleh CAT. Peptida polisakarida Ganoderma lucidum diduga dapat meningkatkan aktifitas SOD dan CAT *(Jia.,2008).*