

## BAB 2

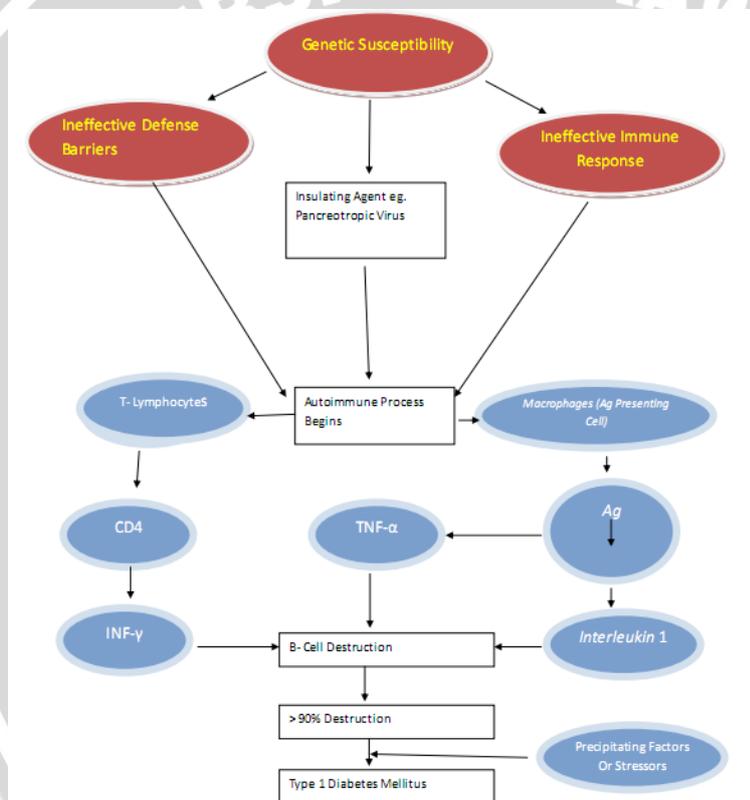
### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) adalah penyakit yang diturunkan, kronis, dan berpotensi menurunkan dan membahayakan sistem endokrin tubuh dengan manifestasi yang khas, yaitu hiperglikemi dan glikosuria. Prevalensi diabetes di dunia menurut WHO mengalami peningkatan secara cepat dan diperkirakan pada tahun 2030 jumlah penderita DM dua kali lipat dibanding tahun 2000 sebesar 117 juta. Pada dasarnya, ada dua klasifikasi pada DM, yaitu insulin-dependent (DM tipe 1) dan insulin-independent (DM tipe 2). Namun beberapa referensi mengklasifikasikan berdasarkan etiologi bahkan periode kesakitannya (Johnson *et al.*, 2015)

Pada umumnya, DM tipe 1 adalah hasil dari sebuah proses autoimun terhadap protein sel islet pankreas. Hubungan yang kuat juga terlihat antara terjadinya DM tipe 1 dan penyakit endokrin akibat autoimun. Hal ini dapat diketahui melalui beberapa autoantibodi dalam tubuh, yaitu *Islet Cell Cytoplasmic Antibodies* (ICCA), *Islet Cell Surface Antibodies* (ICSA), *Glutamic Acid Decarboxilase* (GAD), dan *Anti-insulin Antibodies* (IAA). ICCA adalah antibodi primer yang menyerang sitoplasma protein sel islet yang akurat dalam memprediksi terjadinya DM tipe 1 di kemudian hari. Sedangkan ICSA, adalah autoantibodi yang menyerang permukaan sel islet, serta GAD dan IAA adalah autoantibodi yang ditemukan pada pasien baru terdiagnosis DM tipe 1 (Ozougwu *et al.*, 2013).

Adanya autoantibodi tersebut mendestruksi sel- $\beta$  pankreas sebagai penghasil insulin. Sehingga produksi glukagon meningkat dan timbul lesi-lesi pankreas yang menyebabkan infiltrasi limfosit T secara berlebihan, dilanjutkan dengan aktivasi sel T CD4+ antigen spesifik islet yang merusak sel sel  $\beta$ -pankreas sehingga terjadi defisiensi insulin dan insulinitis kemudian jatuh kedalam keadaan DM. Sementara, sel T CD8+ berkontribusi dalam tingkat keparahan (Ozougwu *et al.*, 2013).



**Gambar 2.. Patogenesis DM Tipe 1 (Ozougwu *et al.*, 2013)**

Migrasi sel T dan monosit juga terjadi di dalam tunika intima endotel yang menyebabkan terbentuk atheroma. Sel T mensekresi sitokin dan monosit bergerak menuju *subendothelial space* dan membentuk foam cell. Pada keadaan hiperglikemi, sel endotel mensintesis senyawa bioaktif, salah satunya *nitric oxide*(NO) kemudian terjadi vasodilatasi. Namun dengan keadaan kerusakan sel-

$\beta$  pankreas, produksi NO menurun dan produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) meningkat akibat penumpukan *fatty acid* dari jaringan adipose yang mengaktifkan protein kinase C sehingga terbentuklah ion peroksida toksik (Beckman *et al.*, 2002)

Pada DM tipe 1, kerusakan sel  $\beta$  menyebabkan kadar glukosa sangat tinggi namun tidak dapat dimanfaatkan untuk membentuk energi. Maka terjadi katabolisme lemak dan protein. Selain itu terjadi abnormalitas pada sel  $\alpha$  pankreas sehingga kadar glukagon meningkat. Kedua hal tersebut mengakibatkan terjadinya eksaserbasi defek metabolisme. Selanjutnya, mengalami lipolisis dan peningkatan *fatty acid* dan gliserol. Sehingga insulin yang normalnya dapat menghambat lipolisis tidak ada terjadilah peningkatan bahan-bahan keton dalam tubuh seperti aseton (Nugroho, 2006; Ozougwu *et al.*, 2013).

Sedangkan DM tipe 2 yang merupakan 90% tipe DM yang diderita oleh masyarakat akibat diet tinggi kalori dan aktivitas fisik yang rendah. Sehingga prevalensinya banyak terjadi di kalangan *overweight* dan obesitas. (Brouwers *et al.*, 2013). Menurut studi yang dilakukan di Firlandia, dibanding DM tipe 1, lingkungan member pengaruh 40% lebih besar terhadap DM tipe 2. Namun terdapat faktor lain DM tipe 2 memberi pengaruh 1-2% ras kaukasia, namun ras lain seperti India dan Arab lebih besar. Di India Selatan, kemungkinan terkena DM tipe 2 mencapai 50%. Hal ini mengindikasikan bahwa genetik juga memberikan pertambahan resiko terkena DM tipe 2 (Dabla, 2010).

Pada kondisi DM tipe 2, insulin masih cukup untuk mencegah terjadinya ketosis namun tidak pada glukosuria. Maka, cairan dan elektrolit tubuh akan keluar dan terjadi dehidrasi. Lebih lanjut akan terjadi penurunan eksresi glukosa (hiperglikemi). Secara umum, patofisiologi DM tipe 2 disebabkan oleh resistensi

insulin dan kemampuan sel  $\beta$  untuk mensekresi insulin. Awalnya diawali dengan kompensasi sel  $\beta$  pankreas mensekresi insulin lebih banyak (hiperinsulinemia). Kondisi tersebut mengakibatkan reseptor insulin melakukan *self regulation* dengan menurunkan jumlah reseptor (down regulation), penurunan aktivasi kinase reseptor, translokasi *glucose transporter-2* (GLUT-2) dan aktivasi glikogen sintetase sehingga jatuh pada resistensi insulin dan terjadi hiperglikemi. Seiring kejadian tersebut, sel  $\beta$  pankreas beradaptasi dengan menurunkan respon produksi insulin dan terjadi defisiensi insulin (Nugroho, 2006)

Mekanismenya adalah pada diabetes, terjadi peningkatan *advanced glycation end-products* (AGEs) dan prekusornya yaitu *methylgluoxal* (MGO) yang menyebabkan disfungsi endotel yang berkembang menjadi komplikasi mikrovaskular (Brouwers *et al.*, 2014)

## 2.2 Nefropati Diabetes

Diabetes mellitus seringkali tidak berjalan sendiri, namun karena DM merupakan sindroma metabolik yang sistemik, maka beberapa organ-organ lain akan menampilkan manifestasi klinis yang patologis. Salah satunya adalah organ ginjal sehingga disebut Nefropati Diabetes (ND) (Laksmi *et al.*, 2014). Sekali seseorang mengalami proteinuria persisten maka prognosis dari komplikasi diabetes tersebut akan memburuk secara progresif ke stadium ESRD dan membutuhkan terapi dialisis (Yokozawa *et al.*, 2005)

Secara definisi, nefropati diabetes adalah penyakit ginjal yang sering kali menyertai stadium lanjut penyakit diabetes melitus, dimulai dengan hiperfiltrasi, hipertrofi ginjal, mikro-albuminuria, dan hipertensi, seiring waktu akan terjadi

proteinuria dengan tanda-tanda lain penurunan fungsi ginjal, dan akhirnya menyebabkan penyakit ginjal terminal (Simatupang *et al.*, 2010)

Ginjal merupakan organ utama untuk membuang sisa metabolisme yang tidak diperlukan tubuh. Produk-produk ini meliputi urea, asam urat, hasil pemecahan hemoglobin, dan kreatinin yang merupakan hasil dari metabolisme otot. Setiap ginjal memiliki kurang lebih 1 juta nefron yang tidak dapat diregenerasi. Setiap nefron terdiri atas glomerulus yang dilalui sejumlah besar cairan yang terfiltrasi dari darah, tubulus panjang untuk proses reabsorpsi dan sekresi sehingga dapat menjadi urin sesungguhnya serta dialirkan menuju sistem pelvikokaliks (Guyton dan Hall, 2007).

Secara normal, glukosa akan direabsorpsi bersama natrium di tubulus proksimal. Namun pada keadaan hiperglikemi, akan terjadi peningkatan reabsorpsi glukosa dan natrium di tubulus proksimal. Perubahan itu mengakibatkan peningkatan  $\text{Na}^+$ /glucose cotransport. Maka, pengiriman natrium ke makula densa akan menurun dan mengaktifkan *tubuloglomerulus feedback* sehingga terjadi dilatasi arterioler aferen, diperantarai oleh hormone vasoaktif termasuk *insulin-like growth factor I* (IGF-I), *transforming growth factor  $\beta$*  (TGF- $\beta$ 1), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *nitric oxide*, prostaglandin, dan glukagon yang berakibat pada peningkatan aliran darah serta *glomerular filtration rate* (GFR) (Guyton dan Hall, 2007). Tubuloglomerular feedback sendiri adalah hubungan terbalik antara konsentrasi Na, Cl, dan K di makula densa dan Single Nefron GFR yang bertujuan untuk menstabilkan elektrolit yang akan dikirim ke tubulus distal (Vallon *et al.*, 1999)

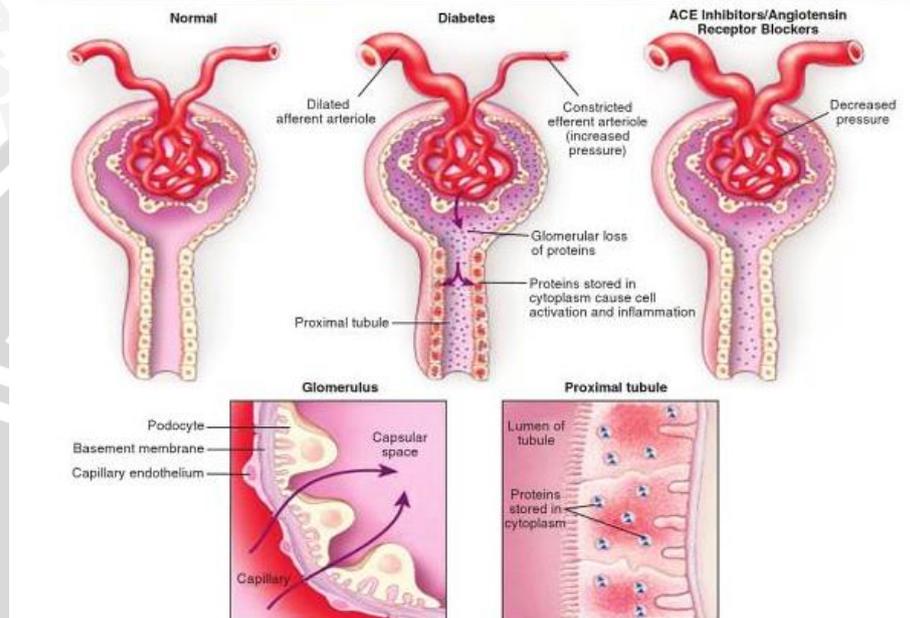
Secara patologi ada beberapa jalur yang meneruskan seorang penyandang DM bisa jatuh ke dalam keadaan ND. Salah satu faktor yang kuat

adalah poligenetik. Namun pada letak ras tertentu, Amerika, Amerika-Meksiko, Amerika-Afrika, dan imigran dari Asia Tenggara yang tinggal di Inggris memiliki prevalensi lebih tinggi daripada ras Kaukasia. Di Amerika Serikat, setiap tahun lebih dari 100.000 orang terdiagnosis gagal ginjal, dan 45% dari kasus tersebut disumbangkan dari diabetes. Selain itu seseorang dengan ibu yang mengalami hiperglikemi selama hamil menyebabkan terganggunya pementukan nefron, hal ini telah dibuktikan dalam beberapa studi. bayi dengan berat badan lahir rendah juga berkaitan dengan hipertensi, sindroma metabolic, dan data mengenai ND masih kontroversial (Dabla, 2010). Keadaan hiperglikemi juga menginisiasi terjadinya abnormalitas pada sel mesangial untuk memproduksi TGF- $\beta$ 1 endogen yang berfungsi dalam kontraktilitas vaskular. Dalam keadaan kronis, terjadi ketidakseimbangan antara jumlah ROS dengan enzim antioksidan sehingga menimbulkan efek peroksidasi membrane sel lipid, dan oksidasi protein yang akan membentuk AGEs yang ireversibel. AGEs memiliki peran untuk menjadi perantara adhesi molekul yang menyebabkan hipertrofi sel, sintesis matriks ekstrasel, serta inhibisi Nitric Oxide. Proses ini berlanjut dan terjadi ekspansi mesangium (Kamble *et al.*, 2013)

Hipotesis mengenai rendahnya nefron menyebabkan terjadinya kompensasi tubuh untuk terjadi hipertrofi glomerulus dan meningkatkan GFR, sehingga memperparah kejadian injuri pada glomerulus sebagai hasil dari kerusakan ginjal akibat DM. Pada DM di tahap awal, hiperfiltrasi tersebut akan dinetralisir oleh kontrol glikemi yang baik.

Dengan adanya abnormalitas dilatasi vaskuler menstimulasi interaksi Angiotensin (AT) II dan aldosteron dengan meningkatkan tekanan sistolik, mengaktifkan oksidasi NAPD sehingga jatuh pada keadaan hipertensi ginjal

(Yokozawa, et.al., 2010). Oleh karena itu, memperbaiki tekanan abdominal intraglomerulus lewat ACE inhibitor yang secara spesifik bertugas menurunkan tekanan arteri eferen sangat dianjurkan untuk memperbaiki hipertensi dan mencegah kerusakan vaskular renal (Simatupang *et al.*, 2010)



**Gambar 2.2.1. Dilatasi Arteri Aferen Dan Hipertrofi Tubulus Pada DM (Johnson *et al.*, 2015)**

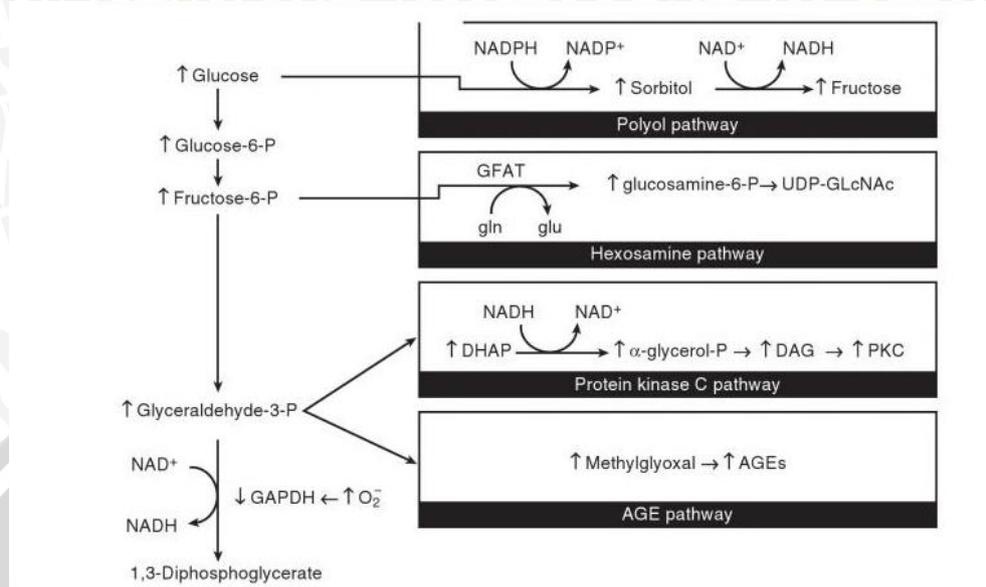
Peningkatan serum glukosa menyebabkan hipertrofi renal akibat stimulasi dari growth factor renal, seperti IGF-I, VEGF, TGF- $\beta$ , dan AT-II. TGF- $\beta$  menstimulasi sintesis protein namun mencegah proliferasi sel dengan cara menghambat siklus sel. Glukosa sendiri yang termasuk dalam AGEs dan AT-II menstimulasi produksi TGF- $\beta$  pada sel mesangial, podosit, dan sel epitel tubular. Hiperglikemi juga menginduksi ekspresi trombospondin sebagai activator TGF- $\beta$  (Johnson *et al.*, 2015).

Akibat adanya hipertrofi pada glomerulus dan tubulus renal, maka ukuran ginjal akan bertambah beberapa sentimeter. Abnormalitas tersebut disebabkan penebalan membran basalis glomerulus diikuti peningkatan volume sel

mesangial. Keterkaitan kuat terjadi antara penambahan volume sel mesangial dengan kondisi klinis. Dikarenakan, oklusi kapiler glomerulus akibat ekspansi mesangial mengakibatkan berkurangnya area untuk melakukan filtrasi. Sehingga pada keadaan progresif, usaha mempertahankan GFR semakin sulit, sehingga terjadi penurunan GFR yang digunakan sebagai salah satu penanda renal disease (Nelson *et al.*, 1993)

Mekanisme DM untuk meninduksi ND sangat kompleks. Peningkatan superoksida dari mitokondria menginduksi produksi vasokonstriktor, seperti endotelin-1 dengan targetnya sel otot polos vaskuler, meningkatkan retensi air dan garam di ginjal, dan stimulasi Sistem Renin-Angiotensin-Aldosteron. Peningkatan endotelin berhubungan dengan stimulasi reseptor AGEs secara ireversibel akibat nonenzimatic glycation dari asam amino dan protein. Salah satu reseptornya adalah protein kinase c yang meregulasi fungsi vaskuler, *Nuclear Factor-kappaB* (NFkB) dan peningkatan oksidasi kolesterol LDL. Selain itu, AGEs memiliki efek terhadap sel podosit dalam induksi hipertrofi yang diikuti apoptosis dan supresi sintesis nefron (Beckman *et al.*, 2002)

Jalur lain adalah jalur polyol yang mengonversi glukosa menjadi sorbitol oleh aldose reduktase yang dipercepat dalam kondisi hiperglikemi. Bila tingginya konversi tersebut, maka kadar sorbitol akan meningkat dan berperan dalam komplikasi mikrovaskular. Komplikasi diabetes yang dapat diukur dari jalur ini adalah kadar aldolase reduktase inhibitor yang berfungsi untuk menekan hiperfiltrasi dan efek ringan dalam mengurangi albuminuria. Selanjutnya adalah jalur hexosamine yang meningkatkan N-asetilglukosamin akibat tingginya fruktosa-6-fosfat yang melalui jalur ini. Glukosamin yang termodifikasi oleh enzim *PKB reduces* akan meningkatkan kejadian apoptosis sel (Johnson *et al.*, 2015).



**Gambar 2.2.2. Jalur Yang Terpapar Akibat Nefropati Diabetes (Johnson *et al.*, 2015)**

Tingkatan nefropati diabetes oleh karena DM tipe 1 akan melalui lima tngkatan yang dapat diprediksi, diklasifikasikan oleh Simatupang *et al.*,(2010).

Tingkat I (nefropati sangat awal) ditandai peningkatan GFR akibat kebutuhan ginjal yang meningkat

Tingkat II (nefropati yang berkembang) ditandai GFR tetap meningkat atau normal tetapi kerusakan glomerulus berlanjut dan terjadi mikroalbuminuria

Tingkat III (overt atau dipstri positif diabetes) berlanjut menjadi albuminuria secara klinis, terjadi dilatasi arteriol aferen sehingga berkembang menjadi hipertensi intraglomerular

Tingkat IV (nefropati tingkat lanjut) kerusakan glomerulus berlanjut, albumin dalam urin semakin meningkat, kemampuan filtrasi mulai menurun, *blood urea nitrogen* (BUN) dan kreatinin mulai meningkat, serta hampir semua pasien mengalami hipertensi

Tingkat V (ESRD) laju filtrasi menurun menjadi 10mL/min dan dibutuhkan terapi pengganti ginjal, seperti hemodialisis, dialisis peritoneum, dan transplantasi ginjal.

Kemajuan yang signifikan hadir untuk menjelaskan mengenai patofisiologi, pencegahan, dan mengobati nefropati diabetes, seperti kontrol gula darah yang bertujuan untuk menurunkan resiko kerusakan caskular, pemberian ACE inhibitor, kontrol tekanan darah untuk memperbaiki fungsi ginjal dan memperbaiki nilai albumin, restriksi protein dalam diet sehingga mencegah hiperfiltrasi, dan hipertensi intraglomerulus, pengobatan dislipidemi yang mana statin mampu menurunkan proteinuri dan menjaga laju filtrasi glomerulus, dan penghentian merokok sebagai sumber resiko kardiovaskuler dan nefropati (Simatupang *et al.*, 2010).

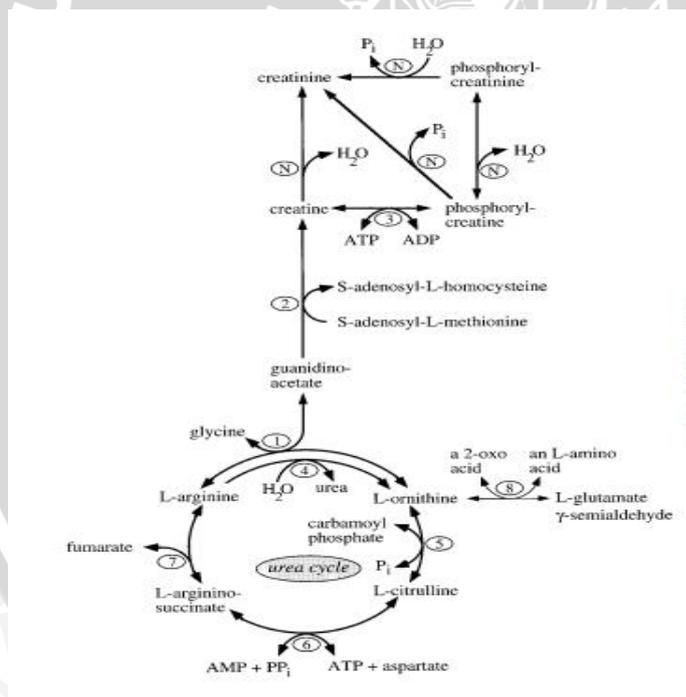
### 2.3 Kreatinin

Fungsi ginjal adalah sebagai organ yang bertanggung jawab untuk meregulasi volume ekstrasel, elektrolit, keseimbangan asam basa, ekskresi zat-zat toksik dari sisa metabolisme, dan obat-obatan. Ginjal juga bertugas sebagai homeostasis dari pembentukan urin melalui ultrafiltrasi di glomerulus, reabsorpsi air dan zat lain di tubulus, serta sekresi zat lain di tubulus. Selain itu, bertugas pula dalam meregulasi *red cell mass* dan renin yang berefek pada keseimbangan sodium, tekanan darah, metabolisme vitamin D, dan kalsium (Laksmi *et al.*, 2014)

Filtrasi oleh glomerulus merupakan awal dari pembentukan urin. GFR bergantung pada permeabilitas dinding kapiler, total permukaan membrane kapiler, dan kecepatan aliran plasma di kapiler. GFR adalah total filtrasi glomerulus yang terbentuk dalam seluruh glomerulus per unit time. Normalnya,

nilai GFR adalah 125-180 L./hari. Namun pada kondisi tertentu, misalnya penurunan perfusi renal pada kondisi syok, hipotensi, gagal jantung, sirosis, DM akan menurunkan GFR yang mana akan meningkatkan kadar serum kreatinin dalam plasma (Guyton dan Hall, 2007)

Sejatinya, kreatinin memiliki hubungan nonlinier terhadap GFR dan kenaikan kreatinin menjadi signifikan jika GFR mengalami penurunan 40-60%(Zelmanovitz *et al.*, 2009). Kreatinin sendiri memiliki hubungan yang erat dengan BUN. Normalnya, rasio BUN:kreatinin adalah 10:1 sampai 20:1. Jika ada peningkatan rasio maka mengindikasikan adanya kerusakan ginjal akibat hilangnya fungsi nefron (Deepa *et al.*, 2011).



Gambar 2.3 Metabolisme Kreatinin (Wyss dan Daouk, 2000)

Arginin dan glisin adalah asam amino yang membentuk kreatin. Keduanya disintesis di hepar dan ginjal yang dikatalisasi oleh enzim *L-arginine:glycine amidinotransferase* (AGAT) menjadi L-ornithine and guanidinoacetic acid (GAA). Selanjutnya, GAA bereaksi dengan *N-guanidinoacetate methyltransferase*

membentuk kreatin. Kreatin disimpan dalam jaringan otot dalam bentuk kreatin fosfat setelah diubah oleh *creatine kinase* (CK). Ketika terjadi metabolisme otot, untuk membentuk energi, kreatin fosfat akan diubah kembali menjadi kreatin oleh enzim CK. Seiring dengan pemakaian energi, sejumlah kecil diubah secara ireversibel menjadi kreatinin (Wyss dan Daouk, 2000). 98% total kreatinin tubuh berada di dalam otot dan dieksresikan dalam jumlah konstan. Maka, kreatinin bergantung pada massa otot yang berbeda pada gender, usia, serta aktivitas fisik. Namun setiap harinya kreatinin akan terdegradasi oleh *nonenzymatic dehydration*. Kreatinin tidak berikatan dengan protein namun terdistribusi secara bebas melalui cairan tubuh dan dieksresi melalui filtrasi glomerulus, di sekresi di tubulus dan tidak direabsorpsi (Dabla, 2010).

Menurut Sumaryono *et al.*, (2008), parameter kemampuan ginjal untuk mengeksresikan sampah metabolisme dapat dilihat melalui nilai klirens kreatinin. Jika nilai klirens kreatinin rendah, berarti konsentrasi dalam urin rendah sehingga konsentrasi dalam plasma tinggi. Maka, terjadi kerusakan pada sistem ekskresi ginjal yang mana kreatinin terfiltrasi di glomerulus dan tidak di reabsorpsi. Maka, kadar kreatinin dalam plasma yang tinggi mengindikasikan terjadinya penurunan efisiensi yang signifikan dari filtrasi ginjal. Nilai klirens kreatinin dapat diketahui dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Klirens kreatinin (ml/min)} = \frac{KU \times VU}{KP \times 1440 (\text{menit})}$$

KU = Kreatinin Urin (mg/dl)

VU = Volume urin (ml)

KP = Kreatinin plasma (mg/dl)

Metode untuk pengukuran kreatinin adalah reaksi Jaffé yang ditemukan pada tahun 1886. Menggunakan reaksi antara kreatinin dan asam pikrat pada

medium alkali akan membentuk kompleks merah-oranye yang diabsorpsi pada panjang gelombang 480-520nm. Hasil yang dikur adalah waktu sebelum reaksi dan sesudah reaksi. Waktu inkubasi adalah sebelum reaksi yakni 30 detik. Setelah 30 detik, sensitivitas akan meningkat untuk bereaksi antara sampel dengan reagen yang menghasilkan perubahan warna (Waktins, 1967). Kemudian diukur kembali setelah reaksi, yakni pada detik ke 90. Detik ke 90 dipilih karena tidak terjadi perbedaan yang signifikan pada detik selanjutnya (Crocker, *et al*, 1988). Optimalitas bergantung pada konsentrasi reagen alkali. Reaksi Jaffé tidak spesifik untuk kreatinin karena urea, glukosa, protein, dan lainnya juga beraksi dengan *picrate*. Reaksi Jaffé ini lebih spesifik untuk menghitung laju kinetik, cepat, dan mudah (McClatchey, 2002)

Metode lain adalah metode enzimatik. Menggunakan *creatinine deaminase* yang mengkatalisa kreatinin menjadi *n-methylhydantoin* dan ion alumunium. Lalu ion alumunium dideteksi dan direaksikan dengan *bromphenol blue*. Metode ini lebih spesifik dari reaksi Jaffé namun rumit dan mahal. (McClatchey, 2002)

Karena kelemahan-kelemahan tersebut, maka, Krishnegowda *et al.*, (2013) mengusulkan metode spektrofotometri untuk mengukur kadar kreatinin sehingga didapatkan sensitivitas yang baik, mudah, murah, dan cepat. Menggunakan reagen metol yang larut air sehingga murah dan tidak beracun. Metol dapat teroksidasi untuk mengasilkan produk kromogenik. Dan hasilnya metode ini cocok untuk mengestimasi kadar kreatinin dalam serum secara rutin.

## 2.4 Ubi jalar ungu

### 2.4.1 Sinonim

Latin : *Ipomoea batatas* L.

Indonesia : Ubi jalar ungu, Ketela Ungu, Telo ungu

Spainyol : *Batata, Camote, Boniato*

Perancis : *Patete douce*

Italia : *Batata dolce*

### 2.4.2 Klasifikasi

Kingdom : *Plantae*

Family : *Convolvulaceae*

Tribe : *Ipomoeae*

Genus : *Ipomoea*

Sub-genus : *Eriospermum*

Section : *Eriospermum*

Series : *Batatas*

Species : *Ipomoea batatas* (L.) Lam.

### 2.4.3 Kandungan Nutrisi Ubi Jalar Ungu

Ubi jalar ungu memiliki beberapa kandungan nutrisi yang baik untuk tubuh, seperti: serat, mineral, vitamin, dan antioksidan. Antioksidan yang terkandung di dalamnya meliputi *phenolic*, *tocopherol*,  $\beta$ -*carotene*, dan antosianin. Kandungan antosianin pada ubi jalar ungu cukup pekat menyebar dari bagian kulit sampai daging ubinya. Antosianin ini tergolong antioksidan atau penangkal radikal bebas (Teow *et al.*, 2006)

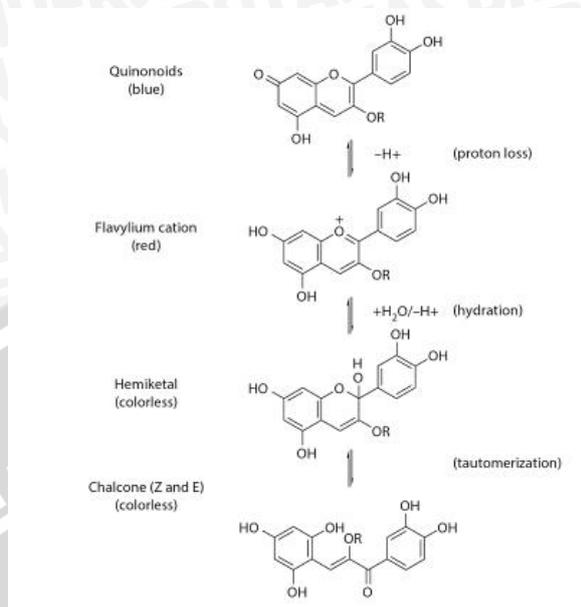
## 2.5 Antosianin

### 2.5.1 Definisi

Antosianin merupakan kelompok pigmen larut air yang memberikan warna merah, biru, ungu, bahkan hitam pada di hampir semua bagian tanaman. Kandungan yang lebih banyak terdapat dalam buah dan sayur, seperti: kubis merah, anggur, dan ubi. Bagi tanaman itu sendiri, zat warna antosianin yang mencolok lebih menarik perhatian binatang untuk menabur benang sari pada putik dalam rangka berkembang biak. Selain itu, antosianin dapat menjadi mekanisme proteksi terhadap lingkungan, salah satunya sinar UV dan cuaca ekstrim. Zat ini masuk dalam kelas polifenol di bawah famili flavonoid. Dari empat dekade yang lalu, di Rusia, menghitung bahwa setiap hari, rata-rata orang mengonsumsi 180-215 mg/hari. (Watson *et al.*, 2013)

### 2.5.2 Bioaktivitas dan Bioavailabilitas

Secara kimia, antosianin merupakan derivat *2-phenyl benzopyrylium* yang mengalami glikosilasi, polihidroksi, dan polimetoksi dan melambangkan *flavylium cations*. Perbedaan struktur kimia antosianin diakibatkan adanya ketidaksamaan pH yang menunjukkan stabilitas warna. Karena antosianin adalah komponen yang reaktif. Pada  $pH < 2$ , *red flavylium cations* akan melonjak dan pada keadaan dimana terjadi peningkatan pH secara cepat proton akan dilepas untuk memproduksi struktur *blue quinonoidal*. Selain pH, *bioactivity* dan *bioavailability* antosianin dapat berubah akibat suhu, cahaya, dan enzim. Antosianin adalah substansi yang sangat reaktif terhadap ROS.



**Gambar 2.5.2 Struktur Kimia Antosianin Dalam Setiap Warna**  
(Watson *et al.*, 2013)

Untuk *bioavailability*, komponen antosianin akan diabsorpsi jika diberikan secara oral. Namun harus diperhatikan jumlah bioaktif yang terkandung dalam setiap makanan. Dan jika akan meningkatkan *efficacy* dari target bioaktif dengan konsentrasi yang tetap, penting untuk menambah *bioavailability* adalah konsep dasar dalam pemberdayaan makanan. Dan antosianin memiliki bioavailabilitas dan bioabsorpsi yang cukup besar telah dituliskan dalam beberapa referensi. Hal ini dapat dilihat dari simpulan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa antosianin dapat dideteksi di sirkulasi dalam 15 menit dan menurun dengan cepat setelah 2 jam pemberian. Antosianin diabsorpsi cepat dari traktus pencernaan, terutama usus halus ke plasma dalam bentuk glikosida antosianin murni. Namun dalam absorpsinya bergantung pada konsumsi komponen lain, misalnya alkohol, diet tinggi karbohidrat dan lemak. Sedangkan hasil metabolisme proses metilasi dan glukoronidasi dari glikosida antosianin dapat ditemukan di urin dalam waktu 6-8 jam (Watson *et al.*, 2013)

### 2.5.3 Kandungan Dalam Ubi Jalar Ungu

Beberapa kandungan yang dimiliki oleh antosianin dalam ubi ungu-terutama peonidins dan sianidins-dapat memberikan efek terapeutik, yakni seperti yang disebutkan dalam referensi ini adalah antiinflamasi, antiobesitas, antioksidan, dan vasoprotektor terlebih saat melewati saluran pencernaan manusia. Jenis antosianin tersebut mungkin saja dapat menurunkan risiko yang potensial mengganggu kesehatan yang ditimbulkan oleh logam berat dan radikal oksigen (Wallace *et al.*, 2014; Ishida *et al.*, 2000).

### 2.5.4 Hubungan Antosianin dengan Diabetes Melitus

Diabetes dapat diakibatkan ketidakseimbangan produksi ROS dan kemampuan tubuh dalam mendetoksifikasi. Stres oksidatif dapat menginduksi aktivasi jalur utama dan faktor transkripsional. Hal ini dapat terjadi akibat kerusakan sel  $\beta$ -pankreas sehingga terjadi penurunan insulin dan enzim penangkal radikal bebas, seperti *superoxide dismutase*, *catalase*, dan *glutathione peroxidase*. Maka, banyak penelitian yang bertujuan untuk mengatasi dan mencegah komplikasi diabetes menggunakan bahan-bahan yang mengandung efek antioksidan. Salah satunya adalah antosianin yang memiliki komponen antioksidan cukup poten seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoulene* (BHT),  *$\alpha$ -tocopherol*, Trolox, *catechin*, dan *quercetin* (Lucioli, 2012)

Pada beberapa studi yang telah direpresentasikan oleh Watson, *et.al.*, (2013), komponen antosianin dapat diukur aktivitas dari *oxygen radical absorbance capacity* (ORAC) dengan metode *assay*. Dan hasilnya beberapa komponen memiliki nilai ORAC yang lebih tinggi daripada vitamin E dalam Trolox.

Berdasarkan *evidence base*, antosianin menjadi modulator bagi molekul antioksidan, aktivitas enzim, dan ekspresi gen pada manusia dan hewan coba.

Selama menderita DM, akan terjadi pula reaksi inflamasi non spesifik secara kronis, utamanya pada jaringan adiposa akibat konsumsi diet tinggi lemak sehingga sitokin pro-inflamasi akan terdeposit di dalam tubuh dan menimbulkan kerusakan, salah satunya adalah TNF- $\alpha$  dan Nf- $\kappa$ B sebagai stres oksidatif dalam respon inflamasi. Namun antosianin mampu memproteksi sel endotel dari induksi TNF- $\alpha$ , menurunkan Nf- $\kappa$ B, sitokin, dan mediator inflamasi lainnya. Dan antosianin memediasi ameliorasi dari disfungsi adiposit pada tikus (Maharani, *et al*, 2014)

Dalam penellitan lain menyebutkan bahwa antosianin memiliki mekanisme *insulin-like activity* yang dibuktikan dengan temuan mediasi dari antosianin dapat meningkatkan translokasi GLUT-4 sehingga terjadi down regulation retinol-binding protein 4 (RBP4) dan sekresi adiponectin akibat peningkatan *peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$*  (PPAR  $\gamma$ ) yang berfungsi sebagai reseptor hormon untuk mengontrol metabolisme glukosa dan lemak (Lucioli, 2012).

GLUT-4 sendiri adalah *insulin-dependen glucose transporter* utama yang berlokasi di otot, *myocardium*, dan jaringan adiposa untuk meregulasi homeostasis glukosa dalam tubuh dan meningkatkan fungsi hemodinamik. GLUT-4 yang berada di plasma membran dapat meningkatkan aktivitas PPAR $\gamma$  (Watson *et al.*, 2013).

Selain itu, antosianin juga menghambat enzim yang mengkatalisasi pencernaan karbohidrat, yakni  $\alpha$ -*glucosidase*, meskipun sebagai inhibitor yang sangat lemah (Lucioli, 2012)

## 2.6 Patomekanisme Diabetogenik pada Hewan Coba

Penelitian menggunakan hewan coba model diabetes melitus didasarkan pada patogenesis penyakit tersebut pada manusia. Tidak semua kondisi tersebut sama dengan manusia, dikarenakan perbedaan fisiologi, kondisi patologis pada diabetes itu sendiri, dan komplikasi penyertanya (Nugroho, 2006)

Hewan coba dapat menjadi hiperglikemi dengan pengambilan pankreas atau pemberian diabetogenik seperti streptozotocin atau aloksan (Ani *et al.*, 2006; Rees dan Alcolado, 2005) Diabetes tipe 1 terjadi akibat destruksi sel  $\beta$  pankreas sehingga terjadi resistensi insulin. Hal ini dapat terjadi melalui injeksi senyawa toksin diabetogenik, genetik, atau infeksi virus disebut "induced" atau "spontan" menggunakan rekayasa genetika (Cheta, 1998).

Sedangkan diabetes tipe 2 dapat menggunakan metode pengaturan diet tinggi gula selama 2 bulan akan menstimulasi resistensi insulin, pengambilan pankreas (operasi), induksi senyawa kimia diabetogenik, dan genetik. Kemudian akan terjadi penurunan respon reseptor insulin jaringan perifer terhadap insulin dan sel- $\beta$  pankreas memproduksi insulin dalam jumlah sedikit. Sehingga terjadi kondisi hiperglikemia seperti DM tipe 2 (Nugroho, 2006)

### 2.6.1 Streptozotocin

Streptozotocin (*2-deoksi-2-(3-metil-3-nitrosoureido)-D-glukopiranos*) disintesis oleh *Streptomyces achromogenes* yang digunakan untuk menginduksi baik diabetes mellitus tipe 1 dan diabetes mellitus tipe 2 pada dosis masing-masing. Rute pemberian yang sering digunakan dosis tunggal intravena pada tikus dewasa untuk menginduksi diabetes mellitus tipe 1 adalah 40-60 mg/kgBB dan lebih dari 40 mg/kgBB secara intraperitoneal. Streptozotocin (STZ) juga berefek dengan rute pemberian intraperitoneal dosis yang sama atau lebih

tinggi, tetapi dosis tunggal di bawah 40mg/kgBB mungkin tidak efektif. STZ juga dapat diberikan dalam beberapa kali menggunakan dosis rendah (Szkudelski, 2001; Nugroho, 2006). Pada pemberian dosis rendah secara multipel hewan coba akan mengalami insulinitis autoimun (*T-lymphocyte dependent*) memiliki kecenderungan untuk mengalami diabetes tipe 1 (Deeds *et al.*, 2011).

Sedangkan untuk diabetes melitus tipe 2, STZ diberikan secara intravena atau intraperitoneal dengan dosis 100mg/kgBB. Lalu tikus akan mengalami gangguan respon terhadap glukosa dan sensitivitas sel  $\beta$  terhadap glukosa serta tidak berpengaruh terhadap sel  $\alpha$  dan  $\delta$  secara signifikan. Sehingga tidak membawa dampak terhadap glukagon dan somatostatin. Patofisiologi tersebut identik dengan DM tipe 2 (Nugroho, 2006)

Streptozotocin adalah antibiotik spektrum luas yang toksik terhadap produksi insulin oleh sel- $\beta$  di islet pankreas (Deeds *et al.*, 2011). Streptozotocin dalam sel beta menyebabkan perubahan dalam kadar insulin dan glukosa darah. Setelah injeksi, terjadi hiperglikemia seiring dengan penurunan insulin dalam darah. Beberapa jam kemudian, hipoglikemia terjadi dengan kadar insulin darah yang tinggi. Pada akhirnya, hiperglikemia berkembang dan kadar insulin dalam darah menurun. Perubahan yang terjadi pada kadar glukosa darah dan insulin menggambarkan adanya kelainan pada fungsi sel beta. STZ mengganggu oksidasi glukosa dan menurunkan biosintesis dan sekresi insulin. Pada awalnya STZ menghapuskan respon sel beta terhadap glukosa, kemudian diikuti dengan penurunan fungsi yang permanen dan kerusakan sel (Szkudelski, 2001).

Streptozotocin menghambat sekresi insulin dan penyebab keadaan diabetes mellitus tergantung insulin (DM tipe 1). Kedua efek tersebut dapat

dikaitkan dengan sifat kimianya, yaitu potensi alkilasi. STZ adalah analog nitrosurea dimana bagian *N-metil-N-nitrosurea* (MNU) berhubungan dengan rantai karbon-2 heksosa. STZ dan senyawa alkilasinya dapat memberikan efek setelah keduanya diuptake ke dalam sel. Nitrosurea bersifat lipofilik, dan dapat melewati membran plasma dengan baik, namun, akibat adanya substitusi heksosa dalam STZ membuatnya kurang lipofilik. STZ secara selektif terakumulasi dalam sel-sel beta pankreas melalui afinitas rendah transporter glukosa (GLUT2) dalam membrane sehingga terjadi alkilasi DNA dan kematian sel  $\beta$ . Dengan demikian, sel produsen insulin yang tidak mengekspresikan transporter glukosa ini tidak berefek terhadap STZ (Lensen, 2008).

Efek dari STZ pada glukosa dan homeostasis insulin, mencerminkan kelainan fungsi sel beta akibat induksi toksin. Awalnya, yang dipengaruhi adalah biosintesis insulin, sekresi insulin yang diinduksi glukosa dan metabolisme glukosa (oksidasi glukosa dan konsumsi oksigen). Namun, pada kemudian hari gangguan fungsional sel beta, kekurangan ekspresi gen dan produksi protein memicu kerusakan, baik transportasi maupun metabolisme glukosa (Lensen, 2008)

Terhadap jenis kelamin, STZ juga memiliki perbedaan sensitivitas. Pada tikus dan mencit jantan yang diinduksi STZ memiliki kemungkinan lebih besar untuk terjadi diabetes. Namun pada betina memiliki kadar estradiol lebih tinggi untuk melindungi sel  $\beta$  pankreas dari apoptosis oleh karena stres oksidatif (Deeds *et al.*, 2011)

### 2.6.2 Diet Tinggi Lemak

Diet tinggi lemak yang biasa digunakan dalam penelitian mengandung sekitar 32-60% kalori dan lemak. Diet dengan 60% terdiri atas lemak sudah menginduksi obesitas pada hewan pengerat karena dapat menambah berat badan lebih cepat sehingga memungkinkan peneliti untuk mengambil data dalam waktu singkat (Gadja, 2008).

Jenis lemak harus dipertimbangkan saat memilih diet tinggi lemak untuk hewan coba. Banyak diet tinggi lemak yang mengandung lebih banyak lemak jenuh, seperti lemak babi, lemak sapi, atau minyak kelapa, diet tersebut cukup mampu merangsang obesitas. Asam lemak dapat mempengaruhi fenotipe melalui berbagai mekanisme (gen ekspresi, produksi eikosanoid, dan fungsi reseptor membran), oleh karena itu penting untuk menyertakan informasi tentang jenis dan tingkat lemak yang digunakan untuk membandingkan data selama penelitian. Komposisi diet tinggi lemak mengandung karbohidrat, protein, dan lemak (Gadja, 2008).

Kombinasi diet lemak dengan STZ sering digunakan untuk pembuatan model hewan coba DM tipe 2. Diet tinggi lemak terbukti dapat menurunkan sensitivitas insulin yang ditandai dengan meningkatnya jumlah insulin serum (Sridhar *et al.*, 2008). Pada studi Srinivasan *et al.*, (2005) juga menyebutkan bahwa diet tinggi lemak dapat menginduksi resistensi insulin yang ditandai dengan hiperglikemia, hipertrigliserida, hiperkolesterolemia dan kompensasi hiperinsulinemia.