

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. LATAR BELAKANG MASALAH

Diabetes melitus (DM) merupakan kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya.<sup>1</sup> Hiperglikemia kronik pada diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi dan kegagalan beberapa organ tubuh terutama mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah.<sup>2</sup>

Penelitian-penelitian epidemiologi menunjukkan bukti adanya peningkatan insiden DM diseluruh dunia termasuk Indonesia. Data WHO menyebutkan bahwa pada tahun 2000 jumlah penderita DM di seluruh dunia sebanyak 171 juta jiwa dan diproyeksikan akan meningkat menjadi 366 juta pada tahun 2030.<sup>3</sup> Indonesia menempati tempat ke empat tertinggi didunia setelah India, Cina dan Amerika Serikat. WHO memprediksi kenaikan jumlah penderita DM di Indonesia menjadi hampir tiga kali lipat dari 8,4 juta pada tahun 2000 menjadi 21,3 juta jiwa pada tahun 2030.<sup>3</sup> Badan Pusat Statistik Indonesia 2003 memperkirakan jumlah penduduk Indonesia yang berusia diatas 20 tahun sebesar 133 juta jiwa, dengan prevalensi DM sebesar 14,7% di daerah urban dan 7,2% di daerah rural, maka diperkirakan jumlah penderita DM sebanyak 8,2 juta di daerah urban dan 5,5 juta di daerah rural. Tahun 2030, diperkirakan jumlah penduduk Indonesia yang berusia di atas 20 tahun sekitar

194 juta jiwa dengan asumsi prevalensi DM seperti telah disebutkan sebelumnya, maka diperkirakan jumlah penderita DM sebanyak 12 juta di daerah urban dan 8,1 juta di daerah rural.<sup>4</sup>

DM menyebabkan peningkatan insiden kesakitan dan kematian di seluruh dunia akibat komplikasi hiperglikemia. Komplikasi hiperglikemia jangka panjang berhubungan dengan risiko trombosis, aterosklerosis dan penyakit kardiovaskuler. Tujuh puluh sampai delapan puluh persen penderita DM meninggal karena penyakit vaskuler.<sup>3</sup> Komplikasi DM dapat mengenai beberapa organ, oleh karena itu penelitian mengenai mekanisme penyakit ini dan terapi terus dikembangkan.<sup>3</sup>

Penelitian mengenai diabetes pada hewan percobaan berdasarkan patogenesis penyakit tersebut pada manusia. Penelitian hewan coba ini dapat dilakukan secara spontan maupun dengan induksi. Tikus *Sprague Dawley* (SD) merupakan salah satu hewan coba untuk penelitian diabetes baik sebagai *spontaneous animal models* maupun menggunakan induksi zat diabetogenik.<sup>5</sup> Karakteristik klinis dan histopatologis tikus SD menyerupai gejala dan tanda diabetes tipe 2 pada manusia.<sup>5</sup>

Hewan percobaan DM yang pertama kali digunakan adalah hewan hiperglikemia. Kondisi hiperglikemia pada hewan percobaan pertama kali dilakukan dengan cara pankreatektomi, namun cara ini sudah jarang dilakukan karena bersifat invasif dan tidak menggambarkan kondisi patologis pada manusia. Obat-obatan diabetogenik saat ini banyak digunakan untuk membuat kondisi hiperglikemia pada hewan percobaan diantaranya adalah streptozotocin (STZ).<sup>6</sup>

STZ merupakan antibiotik spektrum luas dan bersifat sitotoksik terutama terhadap sel  $\beta$  pankreas. Efek STZ pada sel  $\beta$  pankreas ditandai dengan perubahan karakteristik insulin dan glukosa darah. Injeksi STZ menyebabkan degenerasi sel  $\beta$  pankreas yang ditandai dengan perubahan karakteristik glukosa dan insulin darah.<sup>6,7</sup> Hiperglikemia terjadi akibat gangguan oksidasi glukosa dan penurunan biosintesis serta ekskresi insulin pada tikus yang diinduksi STZ.<sup>6</sup> Gejala diabetes ditunjukkan dalam beberapa hari pada hewan coba tikus yang diinduksi STZ intraperitoneal (i.p) dengan dosis 40 mg/kgbb.<sup>8</sup>

Penyakit kardiovaskuler merupakan komplikasi utama pada DM. Peningkatan kadar homosistein (Hcy) merupakan faktor risiko *independent* penyakit kardiovaskuler. Pada pasien DM peningkatan Hcy dihubungkan dengan disfungsi endotel, resistensi insulin, makroangiopati dan nefropati. Kadar Hcy pada DM masih kontroversial, hal ini kemungkinan disebabkan karena heterogenitas penderita, fungsi ginjal dan keberadaan penyakit vaskuler lainnya.<sup>9</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Emoto M dkk pada subjek manusia mendapatkan kadar Hcy pada penderita DM tipe 2 lebih tinggi dibandingkan kontrol ( $12,0 \pm 0,7$  :  $8,7 \pm 0,3$   $\mu\text{mol/l}$ ,  $P < 0,0001$ ).<sup>10</sup> Ndrepepa G dkk pada penelitiannya mendapatkan hasil bahwa kadar Hcy di sirkulasi meningkat pada pasien DM tipe 2 dibandingkan kontrol.<sup>9</sup> Penelitian lain menyebutkan bahwa plasma Hcy basal lebih rendah pada penderita DM tanpa nefropati dibandingkan kontrol sehat.<sup>11,12</sup> Penelitian lain oleh Gonzales dkk menyebutkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna kadar Hcy pada penderita DM tipe 2 dengan kontrol.<sup>13</sup>

Autooksidasi Hcy pada hiperhomosisteinemia (HHcy) menghasilkan *reactive oxygen species* (ROS) berupa superoksida dan hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida dan radikal hidroksil bersifat toksik pada vaskuler. Penelitian-penelitian sebelumnya menyimpulkan bahwa Hcy menginduksi kerusakan sel sebagian besar melalui hidrogen peroksida. Superoksida yang terbentuk dari radikal hidroksil akan mengawali peroksidasi lipid, suatu efek yang terjadi pada tingkat membran plasma endotel dan dalam partikel lipoprotein.<sup>14,15</sup> Penelitian oleh Dwivedi J dkk mendukung hubungan Hcy plasma yang tinggi dengan peningkatan peroksidasi lipid *in vivo*.<sup>16</sup>

Peroksidasi lipid dapat dideteksi secara tidak langsung dengan mengukur hidrolisis lipoperoksidase plasma ke bentuk malondialdehid (MDA). MDA terbentuk dari peroksidasi lipid pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas (radikal hidroksil) dengan *polyunsaturated fatty acids* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai, hasil akhir reaksi tersebut akan terbentuk hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida dapat menyebabkan dekomposisi beberapa produk aldehid yang bersifat toksik terhadap sel, diantaranya adalah MDA. Kadar MDA pada penderita DM baik laki-laki maupun perempuan lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol non DM.<sup>12-14</sup>

Asam folat, vitamin B12 dan vitamin B6 diperlukan untuk menurunkan Hcy.<sup>17</sup> Folat berperan sebagai donor metil pada metabolisme Hcy menjadi metionin.<sup>18</sup> Menurut *Homocysteine Lowering Trialist Collaboration* (HLTC), asam folat dapat menurunkan kadar Hcy sebesar 25%, vitamin B12 sebesar 7% dan vitamin B6 tidak memberikan pengaruh yang signifikan.<sup>19</sup> Racek J dkk meneliti efek pemberian folat

dan antioksidan pada kadar Hcy dan petanda stres oksidatif, didapatkan hasil pemberian folat saja sebesar 5 mg/hari diperkirakan dapat berfungsi sebagai antioksidan pada penderita HHcy, yang menghasilkan penurunan radikal bebas dan penurunan kadar Hcy.<sup>20</sup> Penelitian pada tikus wistar dengan HHcy akibat tidak diberikan suplementasi folat dibandingkan kelompok yang diberikan folat 8 ppm menunjukkan peningkatan aktivitas MDA.<sup>21</sup> Penelitian oleh Nieman dkk menggunakan tikus SD diabetik yang sebelumnya diberi folat 0 ppm, 2 ppm dan 8 ppm selama 30 hari mendapat hasil peningkatan aktivitas enzim *glysine N-methyltransferase* (GNMT) pada tikus SD yang tidak diberi folat. Peningkatan aktivitas enzim GNMT ini menyebabkan kehilangan gugus metil yang berperan dalam produksi Hcy.<sup>22</sup> Pemberian folat selama 30 hari juga dilakukan oleh Huang RF dkk untuk melihat hubungan antara pengurangan folat dengan peningkatan Hcy yang merangsang peningkatan stres oksidatif pada tikus wistar yang diberi suplementasi folat dengan berbagai dosis.<sup>23</sup>

Untuk melihat pengaruh pemberian folat terhadap kadar Hcy dan MDA pada DM, peneliti mencoba meneliti pengaruh pemberian folat 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm selama 30 hari terhadap penurunan kadar Hcy dan MDA pada hewan percobaan yang diinduksi STZ. Penelitian ini menggunakan tikus SD jantan sebagai hewan percobaan karena tikus jantan tidak dipengaruhi siklus hormonal yang akan mengganggu hasil penelitian.

## **1.2. PERUMUSAN MASALAH**

Perumusan masalah penelitian berdasar latar belakang diatas adalah sebagai berikut: Bagaimanakah pengaruh pemberian folat dosis bertingkat selama 30 hari terhadap penurunan kadar Hcy dan MDA plasma pada tikus *Sprague Dawley* (SD) yang diinduksi STZ ?

## **1.3. TUJUAN PENELITIAN**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Membuktikan pengaruh pemberian folat dosis bertingkat selama 30 hari terhadap penurunan kadar Hcy dan MDA plasma pada tikus SD yang diinduksi STZ.

### **1.3.2. Tujuan khusus**

1. Menganalisis perbedaan kadar Hcy serum tikus SD yang diinduksi STZ sebelum dan setelah pemberian folat 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm selama 30 hari.
2. Menganalisis perbedaan kadar MDA plasma tikus SD yang diinduksi STZ sebelum dan setelah pemberian folat 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm selama 30 hari.
3. Menganalisis pengaruh pemberian folat 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm selama 30 hari terhadap penurunan kadar Hcy serum pada tikus SD yang diinduksi STZ dibandingkan dengan yang tidak diberi folat.

- Menganalisis pengaruh pemberian folat 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm selama 30 hari terhadap penurunan kadar MDA plasma pada tikus SD yang diinduksi STZ dibandingkan dengan yang tidak diberi folat.

#### 1.4. MANFAAT PENELITIAN

- Memberikan bukti ilmiah tentang pengaruh pemberian folat terhadap penurunan kadar Hcy dan MDA tikus SD yang diinduksi STZ.
- Sebagai bahan informasi untuk melakukan penelitian lanjutan tentang pengaruh dosis pemberian folat pada penderita DM.

#### 1.5. Tabel 1. ORISINALITAS PENELITIAN

No	Tahun	Peneliti	Judul	Metode	Sampel	Hasil
1.	2001 J Nutr 2001;131: 33–38. <sup>23</sup>	Huang RF, Hsu YC, Lin HL, Yang FL.	<i>Folate depletion and elevated plasma homocysteine promote oxidative stress in rat livers.</i>	<i>Study eksperimental</i>	28 ekor tikus Wistar jantan	Penurunan asupan folat dan peningkatan konsentrasi Hcy merangsang peningkatan stres oksidatif hepar tikus.
2.	2002 Arteriosclerosis Thromb Vasc Biol J;22:772-80. <sup>24</sup>	Symon JD, Mullick AE, Ensuna JL, Amy AM, Rutledge JC.	<i>Hyperhomocysteinemia Evoked by Folate Depletion: Effects on Coronary and Carotid Arterial Function</i>	<i>Study eksperimental</i>	44 tikus SD jantan yang diberi folat dan 48 tikus SD sebagai kontrol	HHcy pada kelompok kontrol merusak resistensi endotel pembuluh darah, meningkatkan permeabilitas arteri karotis dan memulai pengerasan arteri. HHcy dapat menimbulkan efek-efek dengan mekanisme yang berhubungan dengan peningkatan stres oksidatif dan glukooksidatif.
3.	2003 Europ J Clin Nutr 57, 483–489. <sup>25</sup>	Moat SJ, Hill MH, McDoweel IFW dkk	<i>Reduction in plasma total homocysteine through increasing folate intake in healthy individuals is not associated with changes in measures of antioxidant activity or oxidant damage.</i>	<i>Double blind controlled trial</i>	126 orang	Pada individu sehat penurunan plasma tHcy tidak memiliki efek fungsional terhadap kerusakan oksidatif.

4.	2004 Cell Stress & Chaperones ;9 (4): 344–9. <sup>26</sup>	Lavin CH, Hudson PR, Mukherjee S, Davies GK, Williams CP, Harvey JN et al.	<i>Folate supplementation reduces serum Hsp70 levels in patients with type 2 diabetes</i>		26 penderita DM tipe 2	Suplementasi asam folat pada penderita DM tipe 2 menyebabkan penurunan kadar Hsp 70 yang merupakan petanda stress oksidatif.
5.	2005 British Jour Nutr ; 94:204–210. <sup>21</sup>	Días N, Pérez R, Hurtado V, Santridián S.	<i>Hyperhomocysteinemia induced by dietary folate restriction cause kidney oxidative stress in rat</i>	<i>The post test-only control group</i>	25 tikus wistar jantan	Hiperhomosisteinemia merangsang stres oksidatif ginjal dengan perantara peroksidasi lipid, peningkatan MDA ginjal ditunjukkan oleh kelompok binatang yang tidak mendapatkan suplementasi folat.
6.	2005 Physiol. Res. 54: 87-95. <sup>20</sup>	Racek J, Rusnakova H, Trefil L, Siala KK.	<i>The influence of folat on homocysteine level and oxidative stress in patient with hyperlipidemia and hyperhomocysteinemia</i>	<i>Randomized control trial</i>	100 orang	Pemberian folat dapat dianggap sebagai antioksidan pada pasien dengan hiperhomosisteinemia karena dapat menurunkan produksi radikal bebas melalui penurunan homosistein
7.	2006 Am J Physiol Endocrinology Metab 2006;291:E1235–E42. <sup>22</sup>	Nieman KM, Hartz CS, Szegedi SS, Garrow TA, Sparks JD, Schalinske KL.	<i>Folate status modulates the induction of hepatic glycine N-methyltransferase and homocysteine metabolism in diabetic rat.</i>	<i>Study eksperimental</i>	Tikus SD jantan	Diabetes tipe 1 menunjukkan gangguan metabolisme gugus metil, kolin dan Hcy dan status folat mempengaruhi gangguan tersebut.
8.	2007 British Journal of Nutrition ;97: 855–63. <sup>27</sup>	Chang CM, Yu CC, Hsin-Te Lu, Yi-Fang Chou and Rwei-Fen S. Huang	<i>Folate deprivation promotes mitochondrial oxidative decay: DNA large deletions, cytochrome c oxidase dysfunction, membrane depolarization and superoxide overproduction in rat liver</i>	<i>Study eksperimental</i>	60 ekor tikus wistar	Peningkatan stres oksidatif pada mitokondria ditunjukkan oleh kelompok yang tidak mendapatkan folat, ditandai dengan disfungsi enzim cytochrome c oxydase, depolarisasi membran dan peningkatan produksi superoksida. Pemberian antioksidan folat berperan pada perbaikan kerusakan oksidatif mitokondria.
9.	2009 Archive of med research. Vol	Shidfar F, Homayounfar R, Fereshtehnejad SM, Kalani	<i>Effect of folate supplementation on serum homocysteine and plasma total antioxidant capacity in hipercolesterolemic</i>	<i>Double blind control trial</i>	40 orang	Suplementasi folat menurunkan kadar homosistein serum dan meningkatkan kapasitas anti oksidan (SOD,



---

40(5):380- A  
6.<sup>28</sup>

*adult under lovastatin  
treatment :a double blind  
randomized controlled  
trial*

---

glutation peroxidase).

Orisinalitas pada penelitian ini adalah melihat pengaruh pemberian folat 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm terhadap penurunan kadar Hcy dan MDA pada tikus diabetes yang diinduksi STZ dengan metode *randomized controlled group pretest posttest design*.