

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1. DIABETES MELITUS (DM)**

##### **2.1.1. Definisi**

*American Diabetes Association (ADA) 2006*, mendefinisikan DM sebagai suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya. Hiperglikemia kronik pada diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, disfungsi dan kegagalan beberapa organ tubuh terutama mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah.<sup>1</sup>

##### **2.1.2. Patofisiologi**

DM dibagi menjadi dua katagori utama berdasar pada sekresi insulin endogen yaitu (1) *insulin dependent diabetes mellitus (IDDM)* dan (2) *non insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM)*.

Kerusakan sel  $\beta$  pankreas diperantarai oleh proses autoimun terjadi pada IDDM atau DM tipe 1. Petanda destruksi imun yang dapat diperiksa adalah *autoantibody islet cell*, *autoantibody insulin*, *autoantobody glutamic acid decarboxylase (GAD65)*. Satu atau lebih antibodi tersebut terdeteksi pada 80-85% penderita hiperglikemia saat awal deteksi. Pada IDDM kadar glukosa darah sangat tinggi namun tidak dapat digunakan secara optimal untuk pembentukan energi, oleh karena itu energi diperoleh dari peningkatan katabolisme lipid dan protein.<sup>1</sup>

Patofisiologi pada NIDDM disebabkan karena dua hal yaitu (1) penurunan respons jaringan perifer terhadap insulin, peristiwa tersebut dinamakan resistensi

insulin, dan (2) penurunan kemampuan sel  $\beta$  pankreas untuk mensekresi insulin sebagai respons terhadap beban glukosa. Konsentrasi insulin yang tinggi mengakibatkan reseptor insulin berupaya melakukan pengaturan sendiri (*self regulation*) dengan menurunkan jumlah reseptor atau *down regulation*. Hal ini membawa dampak pada penurunan respons reseptornya dan lebih lanjut mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Di lain pihak, kondisi hiperinsulinemia juga dapat mengakibatkan desensitisasi reseptor insulin pada tahap *postreceptor*, yaitu penurunan aktivasi kinase reseptor, translokasi *glucose transporter* dan aktivasi *glycogen synthase*. Kejadian ini mengakibatkan terjadinya resistensi insulin. Pada resistensi insulin, terjadi peningkatan produksi glukosa dan penurunan penggunaan glukosa sehingga mengakibatkan peningkatan kadar gula darah (hiperglikemik). Pada tahap ini, sel  $\beta$  pankreas mengalami adaptasi diri sehingga responsnya untuk mensekresi insulin menjadi kurang sensitif, dan pada akhirnya membawa akibat pada defisiensi insulin.<sup>1</sup>

Penelitian mengenai patologi diabetes dan komplikasinya terus dikembangkan. Penelitian yang dikembangkan menggunakan hewan percobaan diabetik.

### **2.1.3. DM pada tikus SD yang diinduksi STZ**

Penelitian mengenai DM pada hewan percobaan berdasarkan pada patogenesis penyakit tersebut pada manusia. Penelitian menggunakan hewan percobaan yang dibuat secara patologis menjadi DM bertujuan untuk mengenali diagnosis,

menentukan terapi maupun obat-obatan yang digunakan dalam pengobatan DM maupun komplikasinya.

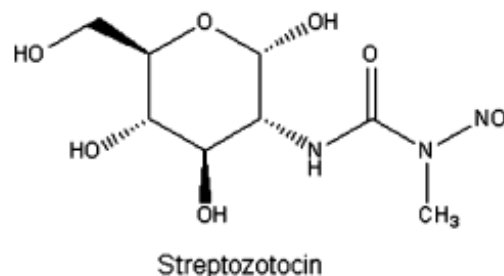
Penelitian hewan percobaan DM dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa kimia yang bersifat diabetogenik, pembedahan dengan pankreatektomi atau manipulasi genetik.<sup>29</sup> Salah satu hewan percobaan yang sering digunakan untuk penelitian eksperimental diabetik adalah tikus SD. Tikus SD mudah dikembangbiakan, dapat digunakan sebagai model diabetik spontan maupun dengan induksi zat diabetogenik, memiliki kemampuan metabolik yang relatif cepat sehingga lebih sensitif jika digunakan dalam penelitian yang berhubungan dengan metabolik tubuh.<sup>5</sup>

Senyawa kimia yang bersifat diabetogenik merupakan cara yang mudah untuk menginduksi hewan percobaan menjadi DM. Senyawa kimia ini menyebabkan nekrosis dan degenerasi sel  $\beta$  pankreas. Senyawa kimia ini memberikan efek diabetogenik jika diberikan secara parenteral (intravena, intraperitoneal dan subkutan).<sup>6</sup>

STZ atau *2-deoxy-2-([(methylnitrosoamino)carbonyl]amino)-D-glucopyranose* diperoleh dari *Streptomyces achromogenes* dapat digunakan untuk menginduksi baik DM tipe 1 maupun tipe 2 pada hewan uji. Struktur kimia STZ dapat dilihat pada gambar 1. STZ menembus sel  $\beta$  Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Aksi STZ intraseluler menghasikan perubahan DNA sel  $\beta$  pankreas. Alkilasi DNA oleh STZ melalui gugus nitroourea mengakibatkan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas. Pemindahan gugus metil dari STZ ke molekul DNA menyebabkan kerusakan DNA

sel  $\beta$  pankreas. Glikosilasi protein juga dapat menjadi faktor penyebab kerusakan DNA. Kerusakan DNA akibat STZ dapat mengaktifasi *poly (ADP-ribose) polymerase* (PARP) yang kemudian mengakibatkan penekanan *nicotinamide adenine dinucleotide* (NAD<sup>+</sup>) seluler, selanjutnya menimbulkan penurunan jumlah *adenosine triphosphate* (ATP), dan akhirnya terjadi nekrosis sel  $\beta$  pankreas.<sup>30</sup>

Hipotesis lain menyatakan peran STZ sebagai diabetogenik selain melalui alkilasi DNA tetapi juga melalui peran intraseluler sebagai donor NO (*nitric oxide*) yang mempunyai kontribusi terhadap kerusakan sel melalui peningkatan aktivitas guanilil siklase dan pembentukan *cyclic guanosine monophosphate* (cGMP). NO dihasilkan sewaktu STZ mengalami metabolisme dalam sel. Selain itu, STZ juga mampu membangkitkan oksigen reaktif yang mempunyai peran tinggi dalam kerusakan sel  $\beta$  pankreas. Pembentukan anion superoksida karena aksi STZ dalam mitokondria dan peningkatan aktivitas xantin oksidase. Dalam hal ini, STZ menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Penurunan produksi ATP mitokondria akan mengakibatkan pengurangan secara drastis nukleotida sel  $\beta$  pankreas dan menyebabkan nekrosis sel.<sup>30</sup>



Gambar 1. Struktur kimia streptozotocin  
(Sumber : Lenzen S.).<sup>30</sup>

Dosis untuk menginduksi diabetes tergantung pada jenis hewan, cara pemberian dan status gizi hewan percobaan.<sup>29</sup> Gejala resistensi insulin tampak jelas pada hewan percobaan yang diinduksi STZ. Penelitian oleh Ramesh B dkk pada tikus wistar yang diinduksi STZ 40 mg/kg secara i.p menghasilkan tikus hiperglikemia dalam 96 jam<sup>8</sup>, sedangkan peneliti lain menggunakan tikus SD dengan dosis STZ yang sama menghasilkan tikus hiperglikemia dalam 72 jam.<sup>31</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Arora S dkk pada hewan percobaan dengan berbagai dosis pemberian STZ mendapatkan hasil bahwa pemberian dosis 40 mg/kgbb dalam dosis terbagi menghasilkan NIDDM. Pada penelitian tersebut, *mice* yang diberi i.p STZ 40mg/kg menunjukkan hiperglikemia pada minggu pertama dan masih bertahan sampai minggu kelima.<sup>32</sup>

## **2.2. HOMOSISTEIN (Hcy)**

Hcy diteliti pertama kali oleh Vincent Du Vigneaud pada tahun 1932 sebagai asam amino yang mengandung sulfur dan sebagai hasil antara metabolisme metionin.<sup>19</sup> Pada tahun 1969 McCully menghubungkan HHcy dan homosisteinuria dengan penyakit vaskuler termasuk diantaranya proliferasi otot polos, progresifitas stenosis arteri dan perubahan hemostatik.<sup>15,33,34</sup>

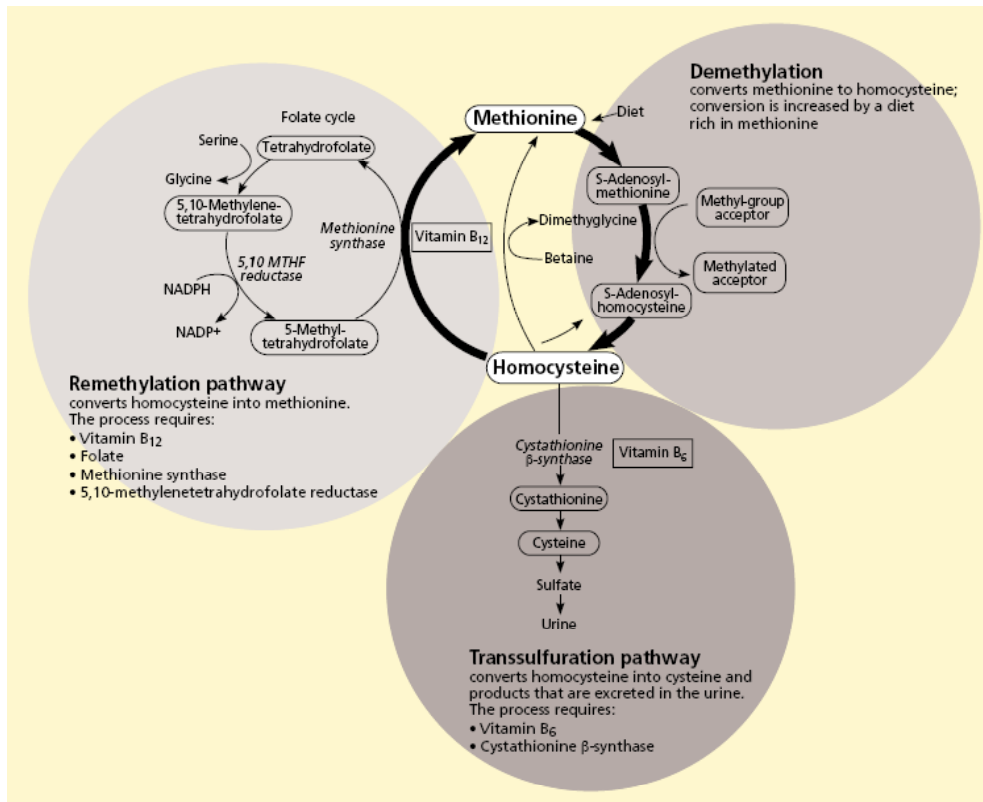
### **2.2.1. Metabolisme Hcy**

Hcy merupakan asam amino yang mengandung sulfur dan sebagai hasil antara metabolisme metionin. Hcy didegradasi melalui dua jalur yaitu remetilasi yang menghasilkan metionin dan transsulfurasi yang menghasilkan sistein.<sup>15,34</sup> Kerusakan

genetik dari enzim yang terlibat dalam metabolisme Hcy atau defisiensi nutrisi asam folat, vitamin B6 dan B12 menyebabkan peningkatan konsentrasi Hcy plasma dan berhubungan dengan peningkatan risiko kardiovaskuler.<sup>35</sup>

Kelebihan diet metionin dikonversi menjadi Hcy melalui jalur transmetilasi enzimatis (gambar 2). Hcy dikonversi ke sistationin melalui jalur transsulfurasi yang tergantung pada vitamin B6 dengan enzim *Cystationine  $\beta$  synthase* (CBS). Sistationin kemudian dikonversi ke sistein yang akhirnya didegradasi dan diekskresikan ke dalam urin.<sup>35</sup> Remetilasi terjadi pada sebagian besar sel dengan bantuan 5 *methylenetetrahydrofolate reductase* (MTHFR) dengan asam folat sebagai kosubstrat dan metionin sintase dan kobalamin sebagai kofaktor. Jalur betain merupakan jalur alternatif remetilasi Hcy, ketika kadar Hcy sangat tinggi dan jalur remetilasi yang tergantung fosfat terbatas. Betain merupakan kelompok donor metal yang berasal dari diet yang mengandung kolin.<sup>18</sup>

Apabila remetilasi Hcy ke metionin terganggu akibat suplai asam folat yang tidak adekuat, Hcy akan dimetabolisme menjadi Hcy-tiolakton oleh *methionyl-tRNA synthase* (MetRS) yang toksik bagi sel.<sup>35</sup> Hcy-tiolakton adalah suatu tioester yang reaktif, bereaksi dengan kelompok amino bebas *low-density lipoprotein* (LDL) membentuk sel busa yang berperan dalam aterosklerosis.<sup>15</sup>

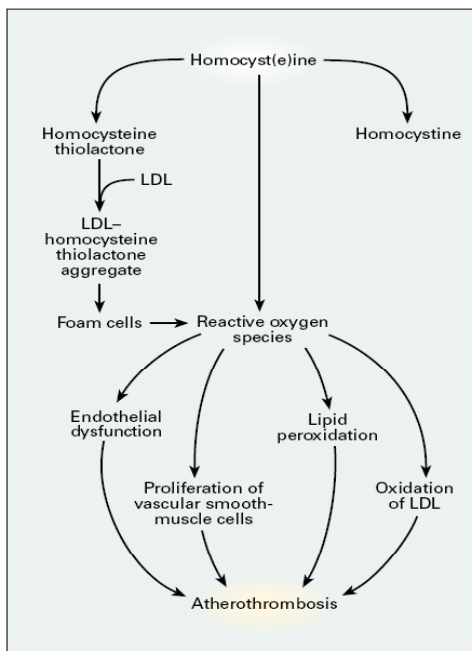


Gambar 2. Metabolisme homosistein  
(Sumber : Lens & Haynes.)<sup>35</sup>

Metabolisme Hcy plasma diatur oleh sejumlah enzim, tersedianya kofaktor dan kosubtrat khusus. Metabolisme Hcy juga dipengaruhi oleh usia, jenis kelamin dan variasi sirkadian.<sup>36</sup> Meningkatnya kadar Hcy dalam darah melebihi kadar normal disebut sebagai hiperhomosisteinemia (HHcy). HHcy menunjukkan bahwa telah terjadi gangguan pada salah satu jalur metabolisme, sehingga terjadi pengelepasan yang berlebihan ke dalam darah akibat penumpukan di dalam sel.<sup>15</sup>

### 2.2.2. Patogenesis HHcy pada vaskuler

Hcy secara cepat mengalami autooksidasi membentuk homosistin, *mixed disulfide* dan homosistein tiolakton (gambar 3). ROS potensial termasuk superoksida dan hidrogen peroksida diproduksi selama autooksidasi Hcy. Hidrogen peroksida (radikal hidroksil) memiliki efek toksik pada vaskuler akibat HHcy. Superoksida yang terbentuk dari radikal hidroksil akan mengawali peroksidasi lipid, suatu efek yang terjadi pada tingkat membran plasma endotel dan dalam partikel lipoprotein. Autooksidasi Hcy juga menyebabkan oksidasi LDL melalui generasi radikal anion superoksida.<sup>15</sup>



Gambar 3 . Pengaruh homosistein pada vaskuler (Sumber: Welch & Losalzo).<sup>15</sup>



### 2.2.3. Metabolisme Hcy pada DM

Konsentrasi kadar Hcy pada DM masih kontroversial. Penyebab kontroversi pada beberapa penelitian kemungkinan disebabkan karena ada atau tidaknya komplikasi nefropati diabetik pada penderita DM. Pasien DM dengan peningkatan kreatinin sebagai indikator disfungsi ginjal menunjukkan peningkatan kadar Hcy plasma.<sup>34,35</sup> Penelitian eksperimental menggunakan tikus diabetik menunjukkan hasil bahwa status DM menurunkan kadar Hcy melalui peningkatan katabolisme Hcy lewat jalur transulfurasi. Penelitian oleh Jacobs dkk menggunakan tikus diabetik yang diinduksi STZ menunjukkan bahwa kadar Hcy plasma lebih rendah dibandingkan kontrol.<sup>37</sup> Penelitian ini menunjukkan peningkatan aktivitas enzim hepatic transulfurasi (CBS dan *Cystathionine  $\gamma$ -lyase* (CGL)) pada hewan coba yang tidak mendapatkan terapi insulin, hal ini menunjukkan bahwa defisiensi insulin menyebabkan peningkatan katabolisme Hcy di hepar.<sup>37</sup>

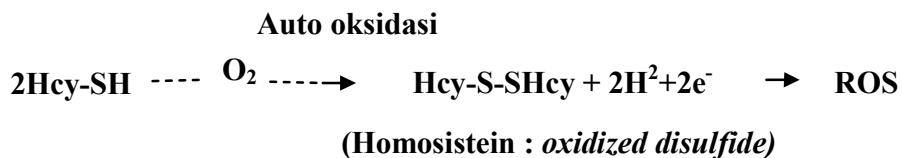
Penelitian eksperimental lain menunjukkan perubahan hormonal yang terjadi pada resistensi insulin dan diabetes tipe 2 menunjukkan aktifitas metabolik metionin dan Hcy. Hcy plasma ditemukan menurun pada resistensi insulin seperti pada diabetes tipe 2 tanpa komplikasi dibandingkan kontrol. Penurunan Hcy akibat peningkatan enzim transulfurasi dan remetilasi Hcy, melalui peningkatan aktifitas CBS, CGL dan *betaine homocysteine methyltransferase* (BHMT).<sup>34</sup> Penelitian-penelitian tersebut menjelaskan peran hormon dalam mengatur kadar Hcy plasma dan menjelaskan penurunan Hcy plasma pada DM tipe 1 dan tipe 2 sebelum terjadi nefropati DM. Fungsi ginjal normal penting dalam metabolisme Hcy. Parenkim ginjal sangat

penting dalam metabolisme Hcy, jika fungsi ginjal terganggu maka metabolisme dan *clearance* Hcy akan terganggu.<sup>35</sup>

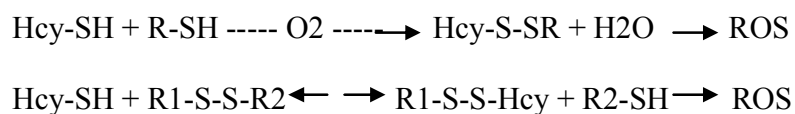
#### 2.2.4. Hubungan antara Hcy dan stres oksidatif

Hubungan antara HHcy dan stres oksidatif dimungkinkan karena HHcy merangsang kerusakan oksidatif pada endotel vaskuler (terutama pada endotelium dan reaksi enzim eNOS melalui autooksidasi Hcy, pembentukan Hcy disulfida, interaksi Hcy tiolakton dan protein Hcy).<sup>17</sup>

Oksidasi dua molekul Hcy menghasilkan disulfida teroksidasi (Hcy), dua proton ( $H^+$ ) dan dua elektron ( $e^-$ ), bersamaan dengan itu merangsang pembentukan ROS berupa radikal superoksida, radikal hidroksil dan hidrogen peroksida.<sup>34</sup>



Selain itu senyawa disulfida campuran juga berperan pada pembentukan ROS.<sup>34</sup>



## 2.3. MALONDIALDEHID (MDA)

### 2.3.1. Biokimia MDA

Radikal bebas memiliki waktu paruh yang sangat pendek sehingga sulit diukur dalam laboratorium. Kerusakan jaringan lipid akibat ROS dapat diperiksa menggunakan senyawa MDA. MDA merupakan senyawa hasil peroksidasi lipid yang terbentuk dari peroksidasi lipid pada membran sel yaitu reaksi radikal bebas (radikal hidroksi) dengan *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi tersebut terjadi secara berantai akan menghasilkan sejumlah radikal lipid dan senyawa yang sangat sitotoksik terhadap endotel. Radikal-radikal lipid tersebut akan bereaksi dengan logam-logam transisi bebas dalam darah seperti  $\text{Fe}^{2+}$  dan  $\text{Cu}^{2+}$  menghasilkan aldehyd toksik, salah satunya adalah MDA.<sup>38,39</sup> Eliminasi MDA dari sirkulasi dengan bantuan enzim aldehyd dehidrogenase dan thiokinasi yang terjadi dihepar terjadi dalam waktu 2 jam pada tikus namun 10-30% melekat semi permanen pada protein dan dieliminasi dalam waktu 12 jam. Toksisitas MDA meningkat karena reaktivitasnya yang tinggi terutama terhadap protein dan DNA.<sup>39</sup>

Kadar MDA telah digunakan secara luas sebagai indikator stres oksidatif pada lemak tak jenuh sekaligus merupakan indikator keberadaan radikal bebas. MDA merupakan senyawa berbentuk kristal putih yang higroskopis diperoleh dari hidrolisis asam 1,1,3,3 tetraethoxypropane. Radioaktif  $^{14}\text{C}$ -MDA dapat dibuat dari 1,3 propanediol menggunakan alkohol dehidrogenase. MDA lebih stabil dalam plasma dan reaktivitasnya sangat tergantung pada pH.<sup>39</sup>

HHcy dan DM dapat menyebabkan peningkatan produksi ROS sehingga terjadi stres oksidatif. Stres oksidatif adalah keadaan yang tidak seimbang antara antioksidan yang ada dalam tubuh dengan produksi ROS. Stres oksidatif dapat menyebabkan terjadinya reaksi peroksidasi lipid, protein termasuk enzim dan DNA, yang dapat menyebabkan terjadinya kerusakan oksidatif. Kerusakan oksidatif pada senyawa lipid terjadi ketika senyawa radikal bebas bereaksi dengan senyawa PUFA. Peroksidasi lipid merupakan reaksi berantai yang terus menghasilkan pasokan radikal bebas sehingga terjadi reaksi peroksidasi-peroksidasi selanjutnya.<sup>38</sup>

### **2.3.2. Pengukuran MDA**

Metode pengukuran MDA yang sering digunakan adalah metode *thiobarbituric acid* (TBA) menggunakan spektrofotometer atas dasar penyerapan warna yang terbentuk dari reaksi TBA dan MDA. Tes ini didasarkan pada reaksi kondensasi antara satu molekul MDA dengan dua molekul TBA pada pH rendah. Reaksi ini terjadi pada suasana asam pada suhu 90-100<sup>0</sup>C, TBA akan memberikan warna *pink-cromogen* yang dapat diperiksa secara spektrofotometrik pada panjang gelombang 530-535 nm atau fluoresen pada panjang gelombang 553 nm. Jumlah MDA yang terdeteksi menunjukkan banyaknya peroksidasi lipid yang terjadi. Tes TBA selain mengukur kadar MDA yang terbentuk karena proses peroksidasi lipid juga mengukur produk non-volatil yang terbentuk akibat panas yang ditimbulkan pada saat pengukuran kadar MDA plasma yang sebenarnya. Kadar MDA dapat diperiksa baik di plasma, jaringan maupun urin.<sup>38</sup> Metode pengukuran MDA lain adalah dengan

pengukuran kadar MDA serum bebas menggunakan *high-performance liquid chromatography* (HPLC) namun metode ini membutuhkan penanganan sampel yang sangat rumit.<sup>40</sup>

Pengukuran MDA dipengaruhi oleh variasi diurnal, spesimen hemolisis dan jenis spesimen. Sampel hemolisis dapat menyebabkan peningkatan kadar MDA oleh karena itu pemisahan sampel harus dilakukan secepat mungkin dalam waktu kurang dari 30 menit. Penggunaan sampel serum mendapatkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan sampel plasma dengan antikoagulan.<sup>41</sup>

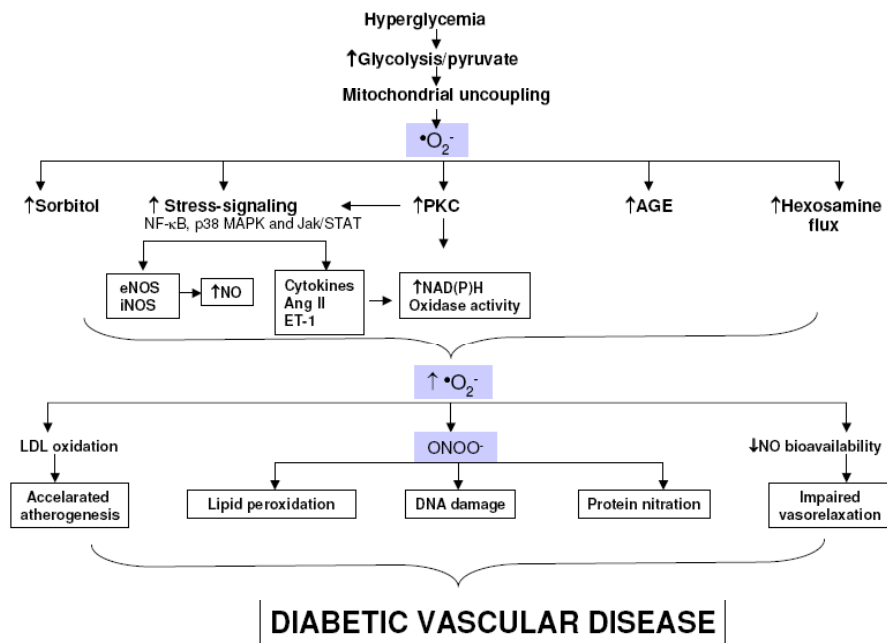
### **2.3.3. Hubungan MDA dengan komplikasi DM**

Hiperglikemi pada DM menyebabkan peningkatan produksi radikal bebas terutama ROS dari berbagai jaringan yang berasal dari proses autooksidasi dan glikosilasi protein. Radikal bebas merupakan hasil dari produk normal metabolisme sel. Namun beberapa keadaan dapat menimbulkan gangguan keseimbangan antara produksi ROS dan mekanisme pertahanan seluler yang mengakibatkan disfungsi sel dan kerusakan sel. Peningkatan kadar ROS pada diabetes dapat disebabkan karena peningkatan produksi dan atau penurunan antioksidan enzimatik maupun nonenzimatik<sup>42,43</sup>

Penelitian terkini menunjukkan bahwa hiperglikemia merangsang pelepasan superoksida ( $\bullet\text{O}_2^-$ ) di tingkat mitokondria yang merupakan pemicu awal timbulnya stres oksidatif pada penderita DM dengan mengaktifkan *nuclear factor kappa B cells* (NF- $\kappa$ B), p38 *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), jalur poliol (sorbitol),

heksosamine, protein kinase C (PKC) dan *advanced glycosilation product* (AGEs) (gambar 4). Peningkatan PKC dan AGEs menyebabkan umpan balik positif sintesis ROS dan *reactive nitrogen species* (RNS) yang akan menimbulkan kelainan vaskuler pada DM .<sup>44</sup>

Sumber penyebab stres oksidatif pada penderita DM dapat melalui jalur nonenzimatis, enzimatik dan jalur mitokondria. Sumber enzimatik dari stres oksidatif berasal dari enzimatis glukosa. Glukosa dapat mengalami autooksidasi dan menghasilkan radikal  $\bullet\text{OH}$ . Selain itu, glukosa juga bereaksi dengan protein nonenzimatis yang menghasilkan produk Amadori yang diikuti pembentukan AGEs. Jalur poliol pada hiperglikemia juga menghasilkan radikal  $\bullet\text{O}_2^-$ . Adanya proses autooksidasi pada hiperglikemia dan reaksi glikasi akan memicu pembentukan radikal bebas khususnya radikal superoksida dan hidroksi peroksida melalui reaksi *Haber-Weis* dan *Fenton* akan membentuk radikal hidroksil. Radikal bebas yang terbentuk dapat merusak membran sel menjadi peroksidasi lipid atau MDA.<sup>44</sup>



Gambar 4. Proses hiperglikemia pada DM dan komplikasinya.  
(Sumber :Johansen et al.)<sup>44</sup>

Implikasi stres oksidatif pada patogenesis DM diduga bukan hanya akibat generasi radikal bebas oksigen tetapi juga akibat glikosilasi protein nonenzimatik, autooksidasi glukosa, gangguan metabolisme glutation, perubahan pada enzim antioksidan, senyawa peroksidasi lipid dan penurunan asam askorbat.<sup>43</sup>

Reaksi oksidasi seringkali menyebabkan kerusakan oksidatif. Akibatnya terjadi kerusakan atau kematian sel. Senyawa radikal bebas yang ada mengoksidasi dan menyerang komponen lipid membran sel. Namun, perlu dipahami bahwa reaksi oksidasi tidak hanya menyerang komponen lipid melainkan juga komponen penyusun sel lainnya seperti protein, lipoprotein maupun DNA.<sup>43</sup>

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan hubungan antara kadar MDA yang tinggi dengan komplikasi DM. Kalaivanam dkk pada penelitiannya menyatakan bahwa kadar MDA penderita DM lebih tinggi dibanding kontrol dan berhubungan dengan komplikasi kronik DM.<sup>14</sup>

## **2.4. FOLAT.<sup>45</sup>**

Folat merupakan vitamin B9 yang larut dalam air dan terdapat dalam makanan. Asam folat merupakan sintetik yang berasal dari folat yang ditemukan sebagai suplemen dan fortifikasi makanan. Fungsi folat sangat penting untuk berbagai fungsi tubuh mulai dari sintesis nukleotida sampai remetilasi Hcy.

### **2.4.1. Absorpsi, transportasi, metabolisme dan ekskresi**

Folat yang diabsorpsi berasal dari makanan. Bioavailabilitas folat dari makanan bervariasi, tergantung dari berbagai faktor seperti pelepasan inkomplet struktur sel tanaman, hambatan deglutaminasi dari unsur diet lain dan kemungkinan peningkatan poliglutaminasi. Poliglutamat folat yang terdapat dalam makanan akan diubah menjadi monoglutamat oleh *pteroylpolyglutamat hydrolase* dalam mukosa intestinal. Absorpsi monoglutamil folat dalam konsentrasi rendah terjadi akibat proses transport saturasi yang berjalan optimum pada pH asam (sekitar 5) dengan mekanisme absorpsi *nonsaturable* saat konsentrasi folat intestinal melebihi 5-10 µmol/L. Setelah proses uptake seluler, sebagian besar folat mengalami metilasi dan dilepas ke sirkulasi dalam bentuk *5-methyltetrahydrofolate* (5-MTHF), bebas berikatan dengan albumin.<sup>45</sup>



Metabolisme asam folat dan vitamin B<sub>12</sub> dihubungkan oleh reaksi pemindahan grup metil dari 5-MTHF ke kobalamin.

Plasma folat bebas difiltrasi di glomerulus dan sebagian direabsorpsi di tubulus proksimal ginjal. Sehingga kadar folat ditemukan sedikit dalam urin. Duktus biliaris mensekresikan folat sekitar 100µg/hari tetapi sebagian besar direabsorpsi di sirkulasi enterohepatik.<sup>45</sup>

#### **2.4.2. Fungsi**

Koenzim folat bersama dengan derivat koenzim dari vitamin B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> dan B<sub>2</sub> esensial dalam metabolisme satu karbon. Secara biokemis, unit karbon dari serin atau glisin dipindahkan ke *tetrahydrofolate* (THF) membentuk metilen-THF yang digunakan untuk (1) sintesis timidin yang berperan dalam sintesis DNA, (2) oksidasi membentuk *formyl-THF* sintesis purin (prekursor DNA dan RNA), (3) diubah menjadi *methyl-THF* yang penting untuk proses metilasi Hcy menjadi metionin. Sebagian metionin diubah menjadi *S-adenosylmethionine* yang merupakan donor universal dari gugus *methyl* untuk DNA, RNA, hormon, neurotransmitter, lipid membran dan protein.<sup>45</sup>

#### **2.4.3. Asam folat ,metabolisme Hcy dan ROS**

Fungsi asam folat dalam metabolisme Hcy saat ini menjadi pembahasan yang sangat menarik. Peningkatan konsentrasi plasma Hcy secara independen merupakan faktor risiko penyakit kardiovaskuler dan serebrovaskuler. Folat merupakan mikronutrien utama pada status Hcy, suplementasi folat digunakan sebagai

pengobatan untuk menurunkan konsentrasi Hcy. Folat berperan sebagai donor metil pada metabolisme Hcy menjadi metionin sehingga autooksidasi Hcy yang menghasilkan disulfida teroksidasi, dua proton (H<sup>+</sup>) dan dua elektron (e<sup>-</sup>) yang merangsang pembentukan ROS tidak terbentuk.<sup>34</sup>

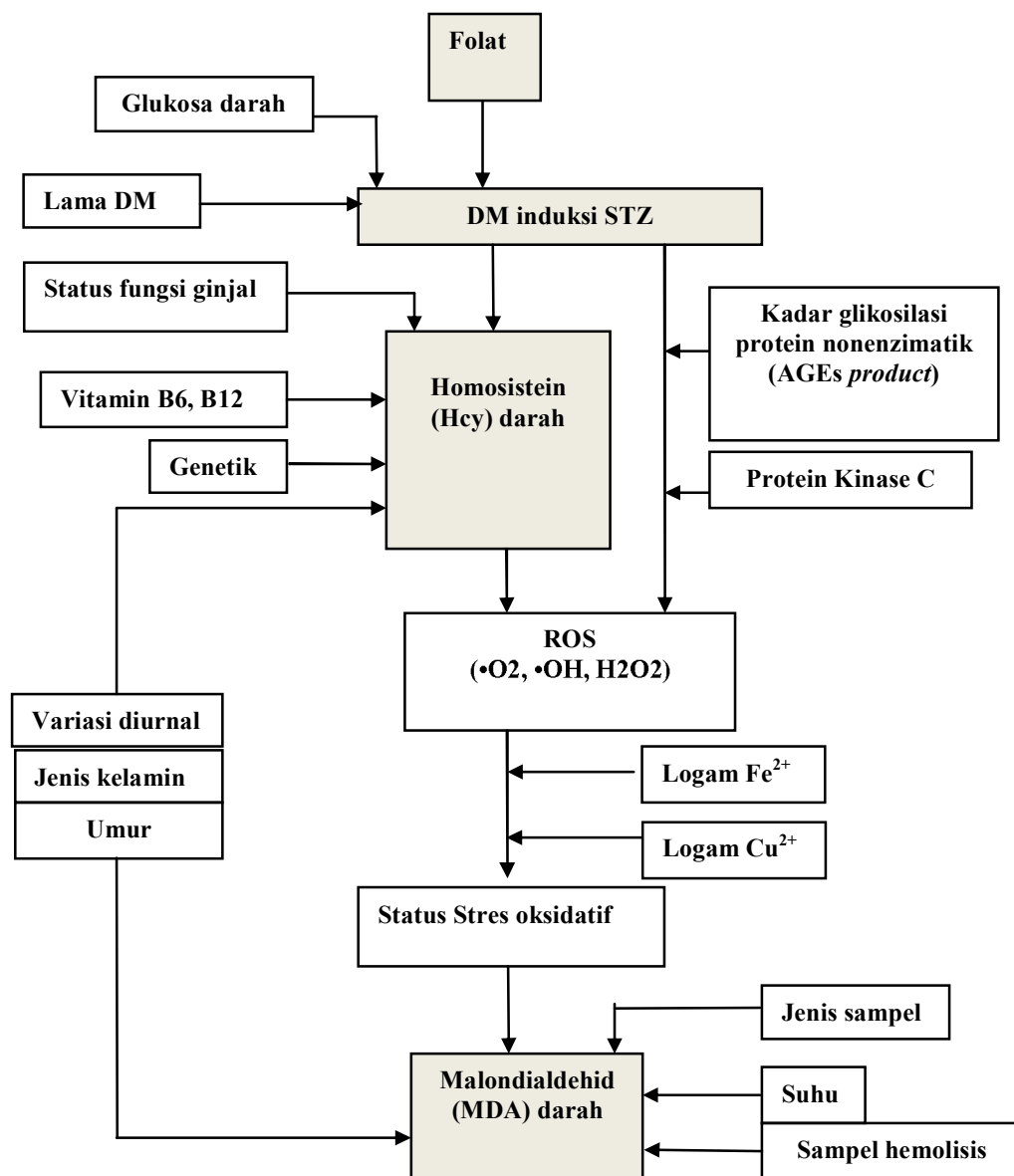
#### **2.4.4. Hubungan antara folat dengan DM**

Metabolisme folat dan gugus metil merupakan jalur yang berkaitan dan penting untuk kehidupan, gangguan proses metabolisme ini berhubungan dengan kelainan patologis seperti penyakit kardiovaskuler, kanker dan kelainan bawaan. Donor metil utama adalah *S-adenosilmethyonine* (SAM) yang menyediakan gugus metil dari beberapa reaksi metiltransferase termasuk perubahan glisin menjadi sarkosin oleh enzim *glycine N-methyltransferase* (GNMT), sintesis *phosphatidylcholine* (PC) dari *phosphatidylethanolamine* (PE) dengan bantuan enzim *PE N-methyltransferase* (PEMT) dan produksi kreatinin fosfat oleh enzim *guanidoacetate methyltransferase* (GAMT).<sup>22</sup>

Gangguan pengaturan metabolisme gugus metil dan Hcy terjadi pada penderita DM. Peningkatan aktivitas PEMT, GNMT dan BHMT dan penurunan aktivitas *methionine synthase* (MS) membuktikan bahwa pada DM terjadi defisiensi gugus metil dan peningkatan kebutuhan kolin. Pemberian folat dapat menurunkan aktivitas enzim GNMT tanpa menurunkan jumlah enzim pada tikus yang diinduksi STZ.<sup>22</sup>

## 2.5. KERANGKA TEORI

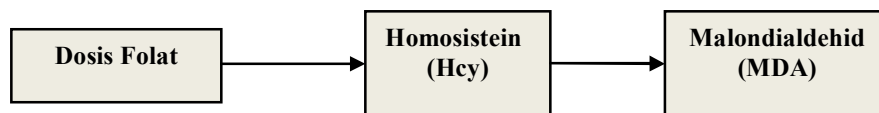
Tujuan kerangka teori penelitian adalah menggambarkan hubungan antara variabel bebas (dosis folat), variabel antara (Hcy), variabel tergantung (MDA) dan faktor-faktor yang mempengaruhinya (gambar 5).



Gambar 5. Kerangka teori

## 2.6. KERANGKA KONSEP

Kerangka konsep penelitian bertujuan untuk menggambarkan hubungan antara variabel yang akan diteliti dan penyederhanaan dari kerangka teori. Sesuai dengan tujuan penelitian ini yaitu membuktikan adanya pengaruh pemberian folat dosis bertingkat terhadap penurunan kadar Hcy dan MDA plasma pada tikus SD yang diinduksi STZ (gambar 6).



Gambar 6. Kerangka konsep

## 2.7. HIPOTESIS

Hipotesis mayor :

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

Hipotesis minor :

1. Kadar Hcy serum tikus SD yang diinduksi STZ setelah pemberian folat 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm selama 30 hari lebih rendah dibandingkan sebelum pemberian folat.
2. Kadar MDA plasma tikus SD yang diinduksi STZ setelah pemberian folat 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm selama 30 hari lebih rendah dibandingkan sebelum pemberian folat.

3. Pemberian folat menurunkan kadar Hcy serum tikus SD yang diinduksi STZ.
4. Pemberian folat menurunkan kadar MDA plasma tikus SD yang diinduksi STZ.