

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Patogenesis kematian sel β pankreas

Sedikitnya ada 4 jenis tipe sel yang telah dikenali pada pulau Langerhans, yang tersebar tidak seragam yaitu sel β (penghasil insulin) adalah yang paling banyak sekitar 68% dan cenderung terpusat pada bagian tengah pulau. Sel α (penghasil glukagon) sekitar 20%, biasanya ditemukan di perifer, sel δ (penghasil somatostatin) sekitar 10%, dan 2% sisanya merupakan sel penghasil polipeptida pankreas (sel PP).³⁷⁻⁴²

Neogenesis merupakan proliferasi dan diferensiasi sel progenitor pankreas, proses yang menentukan jumlah sel β pada saat kelahiran. Neogenesis sel β berhenti segera setelah lahir dan hanya sejumlah kecil siklus sel β yang masih dapat terus berkembang bila dibutuhkan sebagai mekanisme kompensasi terhadap peningkatan kebutuhan akan insulin.⁹ Terdapat penurunan yang signifikan jumlah sel β pankreas tikus per kilogram berat badan dengan pertambahan usia. Kemampuan regenerasi sel β pada usia dewasa terbatas disebabkan karena kapasitas replikasi yang rendah.⁹ Hasil-hasil penelitian telah membuktikan adanya berbagai kemungkinan mekanisme regenerasi sel β pankreas dengan pemberian stimulus-stimulus eksternal antara lain berupa preparat hormonal, *growth factor*.^{9,48}

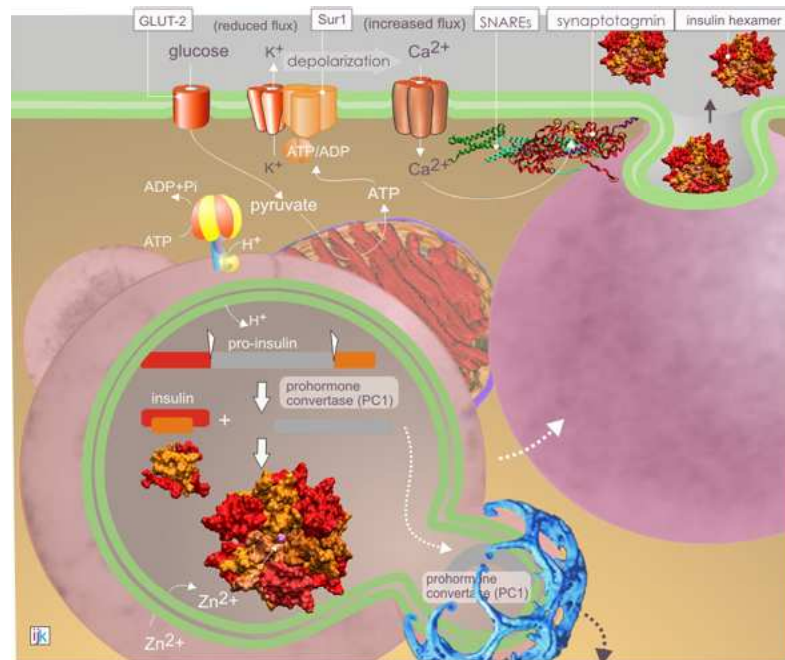
Insufisiensi insulin pada penderita diabetes terutama disebabkan tidak terjadinya mitogenesis yang memadai setelah kematian sel β pankreas. Apoptosis merupakan bentuk utama kematian sel β pankreas pada DM tipe 1 maupun DM tipe 2. Dimana pada mekanisme kematian sel ini melibatkan IL-1 β , nuklear factor (NF)- κ B, dan Fas. Respon imun yang terjadi pada lesi insulitis DM tipe 1 menyebabkan dilepaskannya sitokin-sitokin seperti IL-1 β , TNF, IFN- α , IFN- β , IFN- γ dan diinduksinya faktor-faktor transkripsi seperti; nuklear faktor (NF)- κ B, STAT-1 dan Fas, yang selanjutnya menginduksi apoptosis sel β melalui aktivasi serangkaian gen sel β di bawah kontrol faktor-faktor transkripsi. Aktivasi NF- κ B memicu produksi nitric oxide (NO), *chemokin* dan deplesi *Calcium* pada retikulum endoplasma (*stress retikulum*). Selanjutnya stress retikulum akan mengaktivasi *mitogen activated protein kinase* (MAPK) dan pelepasan sinyal apoptosis oleh mitokondria yang menyebabkan kematian sel β .⁴⁵⁻⁴⁹

Paparan kronik diet dengan kadar glukosa tinggi dan lemak bebas menyebabkan glukotoksik yang mengakibatkan disfungsi sel β dan memicu apoptosis pada diabetes tipe 2 melalui stress retikulum endoplasma tanpa melibatkan jalur NO dan NF- κ B.³⁷⁻³⁹ *Ryanodine receptor 2* (RyR2), suatu *Calcium channel* pada sel β memiliki peran penting dalam pengaturan keberadaan sel β dengan menekan apoptosis yang dimediasi oleh aktivitas calpain-10 gen pemicu diabetes tipe 2. Apoptosis sel β melalui jalur calpain-10 *in vitro* dapat diinduksi oleh diet asam palmitat dan keadaan

hipoglikemik yang lama. Sebaliknya diet tinggi glukosa atau keadaan hiperglikemik yang lama, tidak mempengaruhi aktivitas calpain-10, hal ini menunjukkan mekanisme apoptosis sel β pada DM tipe 2 belum sepenuhnya diketahui secara pasti, kemungkinan adanya mekanisme lain yang menyebabkan apoptosis sel β pada keadaan hiperglikemik.⁵⁰

2.2 Sintesis dan sekresi insulin

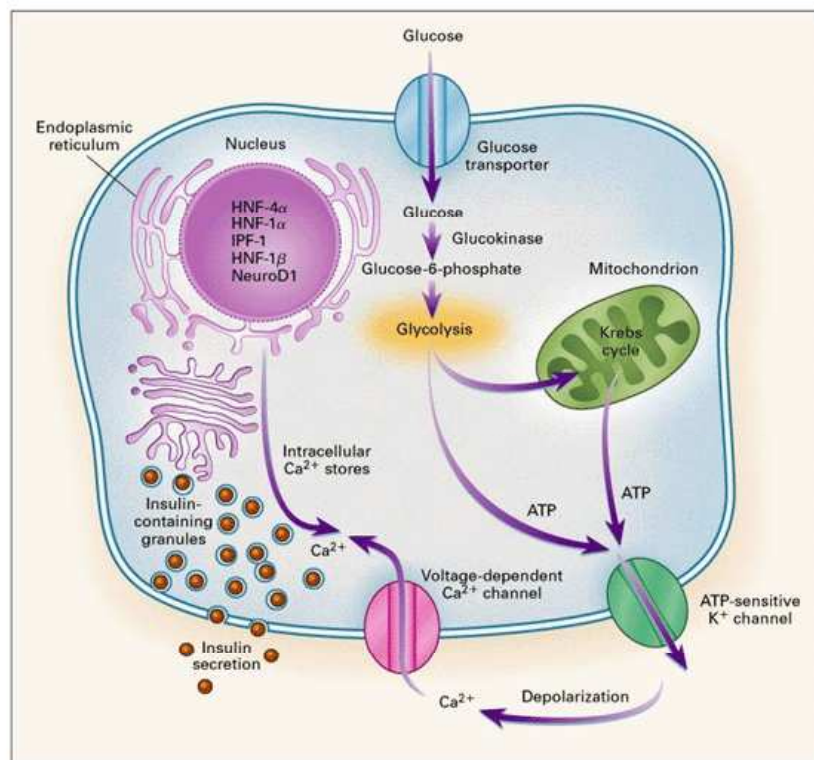
Insulin dikenal sebagai hormon yang berperan penting untuk mengatur keseimbangan glukosa darah dalam sirkulasi. Insulin merupakan protein dengan berat molekul 6000D, terdiri atas dua rantai yang dihubungkan oleh ikatan disulfide, disintesis dalam jumlah signifikan hanya pada sel β pankreas. mRNA insulin ditranslasi sebagai prekursor rantai tunggal preproinsulin, perpindahan sinyal peptida selama proses insersi ke dalam retikulum endoplasma menghasilkan proinsulin yang terdiri atas 3 rantai yaitu satu rantai B terminal amino, satu rantai A terminal *carboxy* dan peptida penghubung yang dikenal sebagai C peptida. Di dalam retikulum endoplasma, dihasilkan insulin matur disebabkan karena terpaparnya proinsulin oleh beberapa endopeptida spesifik yang menyebabkan C peptida terlepas. Dalam badan Golgi, Insulin dan C peptida bebas dikemas ke dalam granula-granula sekretorik yang terakumulasi di dalam sitoplasma⁵¹⁻⁵³ yang akan terpulas coklat pada pengecatan immunohistokimia.



Gambar 1. Sintesis Insulin⁵⁵

Sekresi insulin dari sel β pankreas merupakan proses kompleks yang melibatkan integrasi dan interaksi berbagai stimulus eksternal dan internal sebagai respon perubahan kadar glukosa darah. Secara molekuler mekanisme glukosa menginduksi sekresi insulin melalui beberapa tahapan berikut : peningkatan konsentrasi glukosa pada cairan ekstraseluler menyebabkan pula peningkatan kadar glukosa diantara sel β , glukosa masuk ke dalam sel β pankreas melalui difusi yang difasilitasi oleh GLUT-2 *glucose transporter*. Intraseluler glukosa dimetabolisme membentuk ATP, mengakibatkan terjadinya peningkatan rasio ATP/ADP dan kadar glukosa intra seluler yang tinggi menyebabkan depolarisasi membran sel serta menginduksi penutupan KATP *channel* pada permukaan sel. Diikuti dengan terbukanya *Cell-surface voltage dependent Calcium channels (VDCC)*,

influx Calcium ke dalam sel β , penambahan *cytosolic Calcium* bebas memicu *exocytosis* insulin. Kemudian molekul insulin masuk ke dalam sirkulasi darah terikat dengan reseptor. Ikatan insulin dan reseptornya membutuhkan GLUT 4 *glucose transporter* untuk dapat masuk ke dalam sel otot dan jaringan lemak serta uptake glukosa dengan efisien, yang akhirnya menurunkan kadar glukosa dalam plasma.⁵⁴⁻⁵⁶



Gambar 2. Sekresi Insulin⁵⁶

2.3 Induksi streptozotocin

Streptozotocin merupakan *N-nitroso* derivat *D-glucosamine* dipakai secara luas untuk menginduksi model hewan coba diabetes mellitus tipe 1 maupun tipe 2, disintesis dari *streptomyces achromogenes*. Streptozotocin

(STZ, 2-deoxy-2-(3-(methyl-3-nitrosoureido)-D-glucopyranose)^{58,59} menembus sel β melalui transporter glukosa (GLUT 2), intra seluler gugus nitrosourea akan menyebabkan alkilasi DNA melalui aktivasi *poly ADP-ribosylation* yang mengakibatkan penekanan NAD^+ dan ATP seluler. Selanjutnya terjadi peningkatan defosforilasi ATP yang menghambat sekresi dan sintesis insulin serta akan memacu peningkatan substrat untuk reaksi katalisis xantin oksidase yang akan menghasilkan radikal superoksida, menyebabkan kerusakan sel β pankreas. Metabolisme STZ intraseluler juga menghasilkan NO (*nitric oxide*) melalui peningkatan aktivitas guanil siklase dan pembentukan cGMP serta membangkitkan oksigen reaktif yang memiliki kontribusi terhadap kerusakan sel β . Pembentukan anion superoksida dan peningkatan aktivitas xantin oksidase akan menghambat siklus kreb dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria, akibatnya produksi ATP mitokondria terbatas menyebabkan pengurangan secara drastis nukleotida sel β pankreas yang berujung pada kerusakan sel tersebut.^{28-31,57}

Gambaran histologi pankreas pasien diabetes mellitus bergantung insulin, didapatkan adanya infiltrasi sel-sel mononuklear ke dalam pulau langerhans (insulitis), infiltrat radang terutama terdiri dari sel T.⁵⁸⁻⁵⁹ Pada awalnya sel T menyebabkan sedikit kerusakan pada sel β pankreas, selanjutnya menginisiasi terjadinya proses radang dengan atau tanpa sekresi sitokin untuk mengaktifkan sel T lainnya, dan menyebabkan kerusakan total sel β untuk kemudian menyebabkan diabetes.⁵¹⁻⁶² Secara umum insulitis

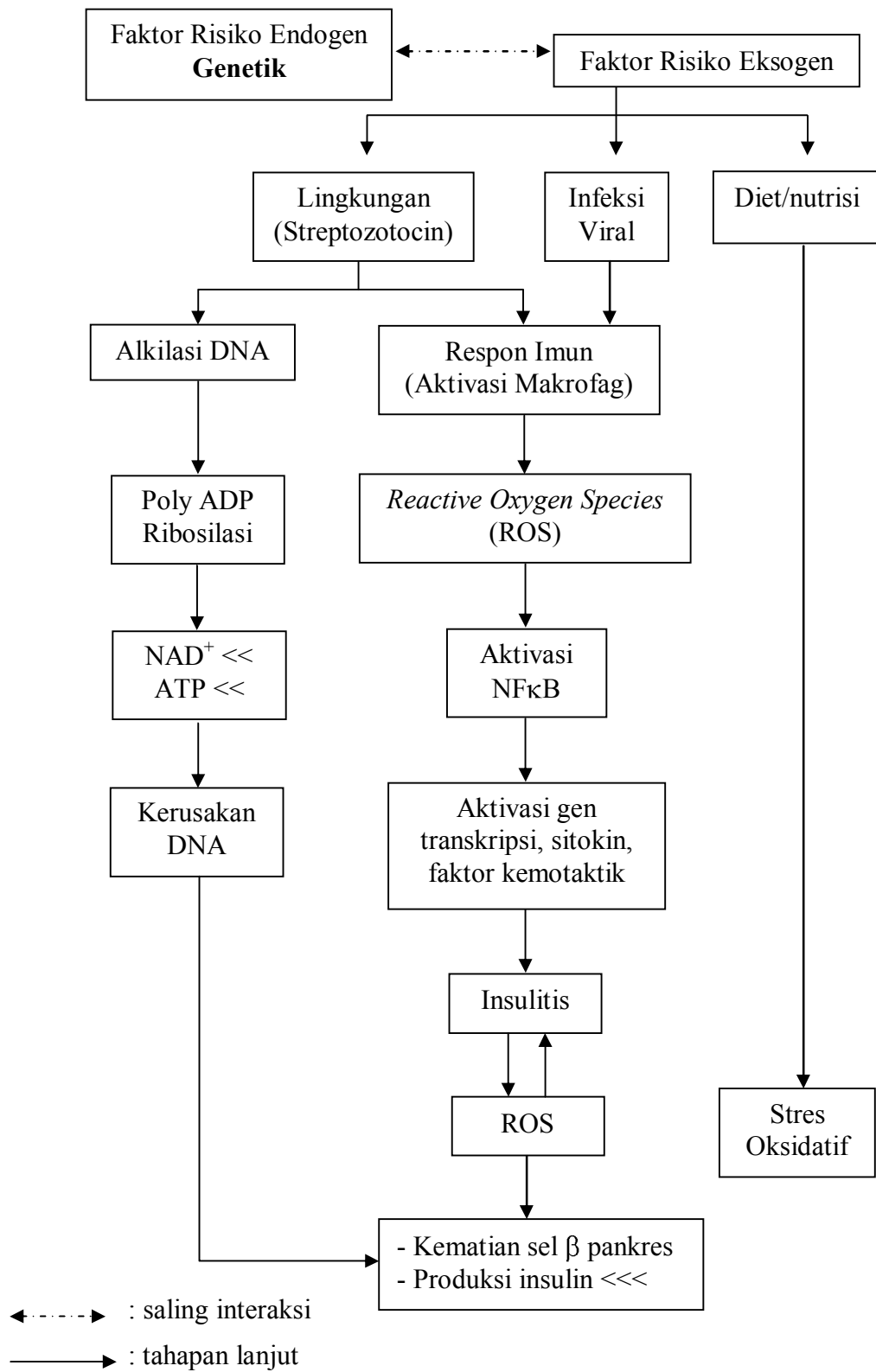
berupa infiltrasi limfosit pada pulau langerhans dapat disebabkan oleh efek toksik langsung terhadap sel β pankreas oleh zat kimia tertentu terutama STZ, reaksi autoimun terhadap sel β pankreas dan infeksi virus.⁶³

Pemberian STZ menimbulkan efek diabetogenik diinisiasi oleh *reactive oxygen species* (ROS) melalui efek toksik langsung pada GLUT 2^{29,54}, aktivasi sitokin TNF- α dan INF- γ akibat stimulasi sel T dependent, serta aktivasi IKK- α dan NF- κ B. Secara *in vitro*, ROS dapat terbentuk pada pulau langerhans dengan induksi STZ dan *ex vivo* pada mencit jantan C57BL/6 yang diinduksi STZ dosis rendah, namun tidak pada mencit betina. *In vivo* STZ merupakan antigen bagi sel T dan ROS memicu aktivasi sel T.⁶⁴⁻⁶⁷

Respon terhadap STZ, Th-1 type cytokines dan sel-sel imun lainnya akan menghasilkan ROS yang mengaktifkan NF- κ B⁶⁰, kemudian menyebabkan aktivasi gen yang terkait sitokin-sitokin pro inflamasi yang diaktifkan dan mengaktifkan NF- κ B. Regulasi ini menyebabkan respon inflamasi lokal diperkuat dan dipertahankan serta menurunkan aktivitas anti inflamasi dan berakhir dengan kerusakan sel β pankreas. Hal tersebut menunjukkan peran penting NF- κ B sebagai regulator utama reaksi imunologi dan inflamasi pada induksi STZ.⁶⁷⁻⁷⁰

Gambaran histopatologik pankreas mencit yang menunjukkan gambaran insulitis berupa infiltrasi limfosit, makrofag dan nekrosis sel beta.⁶³ Insulitis sendiri diklasifikasikan sebagai **insulitis ringan** bila terdapat sebulan sel-

sel radang mononuklear (limfosit) disekitar pulau langerhans (*periinsulitis*), **insulitis sedang** bila sebukan sel-sel radang mononuklear(limfosit) menginfiltrasi sebagian kecil (<50%) pulau langerhans, **insulitis berat** bila sebukan sel radang mononuklear (limfosit) menginfiltrasi sebagian besar pulau langerhans (>50%), dan **end stage islet** bila seluruh bagian pulau langerhans mengalami nekrosis (*complete β cell loss*).^{60,61,67}



Gambar 3. Patomekanisme kerusakan sel β pankreas akibat induksi streptozotocin

2.4. *Allium sativum*

Klasifikasi ⁷⁴

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Liliopsida</i>
Subkelas	: <i>Liliidae</i>
Ordo	: <i>Liliales</i>
Famili	: <i>Liliaceae</i>
Genus	: <i>Allium</i>
Spesies	: <i>Allium sativum L</i>

Bawang putih (*Allium sativum*), dikenal dengan berbagai nama: Garlic (Inggris), Bawang Putih (Indonesia), Bawang (Jawa); Bawang Bodas (Sunda), Bawang handak (Lampung); Kasuna (Bali), Lasuna pute (Bugis), Bhabang pote (Madura); Bawa bodudo (Ternate), Kalfeo foleu (Timor). Bawang putih termasuk klasifikasi tumbuhan terna berumbi lapis atau siung yang bersusun. Bawang putih tumbuh secara berumpun dan berdiri tegak sampai setinggi 30-75 cm, mempunyai batang semu yang terbentuk dari pelepah-pelepah daun. Helaian daunnya mirip pita, berbentuk pipih dan memanjang. Akar bawang putih terdiri dari serabut-serabut kecil yang berjumlah banyak. Setiap umbi bawang putih dapat terdiri dari satu siung (*solo garlic, pearl garlic, single garlic*) sejumlah siung yang masing-masing terbungkus kulit tipis berwarna putih.⁷¹⁻⁷⁵

Bawang putih yang semula merupakan tumbuhan daerah dataran tinggi, sekarang di Indonesia, jenis tertentu dibudidayakan di dataran

rendah. Bawang putih berkembang baik pada ketinggian tanah berkisar 200-250 meter di atas permukaan laut.⁷²⁻⁷⁴

Bawang putih (*Allium Sativum*) mengandung lebih dari 100 macam metabolit sekunder yang secara biologi sangat berguna. Metabolit-metabolit tersebut sebagian besar mengandung belerang yang bertanggung jawab pada rasa, aroma dan sifat-sifat farmakologi bawang putih.¹⁷⁻²¹ Dua senyawa organosulfur yang penting (1) *asam amino non volatil γ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein* dan (2) *S-alk(en)il-sistein sulfoksida (alliin)*. γ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein merupakan senyawa intermediet biosintesis pembentukan senyawa organosulfur lainnya termasuk *S-alk(en)il-sistein sulfoksida (alliin)*, melalui dua jalur reaksi enzimatik yaitu **jalur thiosulfanat** yang berlangsung dengan bantuan enzim γ -glutamil-transpeptidase menghasilkan senyawa allisin dan kelompok allil sulfida, dithiin, ajoene serta senyawa sulfur lain, **jalur S-allil sistein (SAC)** dengan bantuan enzim γ -glutamil-peptidase oksidase. Kedua senyawa organosulfur di atas merupakan prekursor sebagian besar senyawa organosulfur lainnya, dimana kadarnya dapat mencapai 82% dari keseluruhan senyawa yang terkandung dalam umbi bawang putih. γ -glutamil-S-alk(en)il-L-sistein salah satu jenis yaitu senyawa thiosulfinat dengan kandungan utama allisin (70%). Senyawa thiosulfinat dalam bawang putih terbentuk karena aktivitas enzim alliinase terhadap alliin.^{1,2,17-29,71-76}

Senyawa-senyawa lain yang terkandung dalam bawang putih antara lain: SPC(S-propil-sistein), SEC(S-etil-sistein), SMC(S-metil-sistein)

termasuk kelompok organosulfur, bawang putih juga mengandung organo selenium dan tellurium, senyawa bioaktif Flavonoid seperti Kaemferol-3-O- β -D-glukopirosa, Iso-ikamnetin-3-O- β -D-glukopirosa, senyawa frukto-peptida penting seperti Na-(1-deoy-D-fructose-1-yl)-L-arginin, protein dengan kandungan beta-carotene, Thiamine(Vit.B1), Riboflavin (Vit. B2), Niacin (Vi.B3), Pantothenic acid (B5), Vitamin B6, Folate (Vit.B9), Vitamin C, Calsium, Iron, Magnesium, Phosphorus, Potassium, Sodium, Zinc.^{21-25,73-75}

Enzim Allinase yang terkandung dalam bawang putih akan menjadi aktif pada saat bawang putih diiris, dihaluskan, diremas^{71,72} dalam proses pembuatan ekstrak selanjutnya akan menghidrolisis *Alliin* menghasilkan senyawa intermediet Asam Allil Sulfenat yang dengan kondensasi akan menghasilkan *Allicin*, asam piruvat dan ion NH_4^+ . Satu miligram *Alliin* setara dengan 0,45 mg *Allicin*.⁷² *Allicin* bersifat tidak stabil sehingga mudah mengalami reaksi lanjut tergantung kondisi pengolahan, faktor eksternal seperti penyimpanan, suhu dan lain-lain.⁷⁴⁻⁸¹

Ekstraksi bawang putih dengan ethanol pada suhu 0°C akan menghasilkan *Alliin*. Ekstraksi dengan etanol dan air pada suhu 25°C akan menghasilkan *Allisin* dan tidak menghasilkan *Alliin*. Sedangkan ekstraksi dengan metode distilasi uap (100°C) menyebabkan seluruh kandungan *Alliin* berubah menjadi *Allil sulfida* oleh karena itu proses ekstraksi perlu dilakukan pada suhu kamar. Pemanasan dapat menurunkan aktivitas anti kanker ekstraksi umbi bawang putih. Pengolahan ekstraksi dengan

microwave selama 1 (satu) menit menyebabkan hilangnya 90% kinerja enzim allinase. Pemanasan dapat menyebabkan pembentukan senyawa *Allil-sulfur* terhenti.⁷¹⁻⁹⁰

Kandungan bahan aktif bawang putih mempunyai berbagai aktivitas biologi antara lain: menurunkan faktor resiko terhadap penyakit jantung dan kanker, stimulasi fungsi imun, anti mikroba, anti oksidan, antidiabetik, antibiotik, hipokolesterolemik, fibrinolitik.^{1,2,24,27,72-81}

Allicin dan *alliin* mampu menjadi agen anti diabetes dengan merangsang pankreas untuk mengeluarkan sekresi insulin lebih banyak. Mekanisme penurunan kadar glukosa darah oleh ekstrak bawang putih masih belum diketahui secara jelas. Komponen organosulfur dan kandungan flavonoid bawang putih merupakan antiglikasi dan antioksidan poten yang dapat mencegah komplikasi diabetes dengan meningkatkan aktivitas dari enzim-enzim antioksidan seperti *catalase*, *superoxidase dismutase*, *glutathione peroxidase*. Namun demikian diduga masih ada senyawa lain dalam bawang putih yang berperan dengan mekanisme yang belum diketahui dengan pasti.⁸²⁻⁹⁰