BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Diabetes Melitus

Menurut American Diabetes Association (ADA) 2004, diabetes melitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya.[4,5] Tahun 1992, lebih dari 100 juta penduduk dunia menderita DM dan pada tahun 2000 jumlahnya meningkat menjadi 150 juta yang merupakan 6% dari populasi dewasa. Jumlah penderita diabetes melitus di Amerika Serikat pada tahun 1980 mencapai 5,8 juta orang dan pada tahun 2003 meningkat menjadi 13,8 juta orang. Indonesia menempati urutan keempat dengan jumlah penderita diabetes terbesar di dunia setelah India, Cina dan Amerika Serikat. Dengan prevalensi 8,4% dari total penduduk, diperkirakan pada tahun 1995 terdapat 4,5 juta pengidap diabetes dan pada tahun 2025 diperkirakan meningkat menjadi 12,4 juta penderita. Penelitian epidemiologis di Manado mendapat prevalensi DM 6,1%. Penelitian terakhir tahun 2005 prevalensi DM tipe 2 dikota Makasar mencapai 12,5%. [22,23]

Diabetes melitus diklasifikasikan menjadi 2 tipe yaitu *insulin dependent diabetes melitus* (IDDM, Tipe 1) dan *non-insulin-dependent diabetes melitus* (NIDDM, Tipe 2). Diabetes tipe 1 merupakan penyakit autoimun oleh karena reaksi inflamasi lokal pulau-pulau langerhans pankreas yang ditandai destruksi

sekresi insulin, sedangkan diabetes tipe 2 adanya resistensi insulin perifer dan sekresi insulin yang terganggu.[4,24] Resistensi Insulin dan disfungsi sel beta merupakan faktor utama yang terlibat dalam perkembangan terjadinya diabetes.[25]

Insulin disintesis dan disekresikan oleh sel-sel beta di *islet-islet* langerhans pankreas. Jumlah sel beta pada pankreas diatur melalui 4 mekanisme independen yaitu replikasi (pembelahan mitogen dari sel beta), ukuran, neogenesis , dan apoptosis sel beta. Hipotesis perubahan sel beta menjadi diabetes adalah adaptasi sel beta terhadap peningkatan beban metabolik, dekompensasi ringan, dekompensasi berat, dekompensasi yang disertai kerusakan struktural.[25]

2.1.1. *Diabetes yang Diinduksi STZ*

Penelitian tentang diabetes sering dilakukan menggunakan tikus. Beberapa metoda yang digunakan untuk menjadikan tikus diabetes melitus yaitu dengan cara menghilangkan pankreas merupakan metode yang efektif, Injeksi ektrak pada hipofisis anterior, dan injeksi streptozotocin. STZ merupakan *glukosamin* dari *derivat N-nitro,* sebagai antibiotik *broadspectrum* dan sitotoksik pada sel beta pankreas tempat produksi insulin. Injeksi STZ 60 mg/kg intravena atau intraperitoneal pada tikus menyebabkan degenerasi sel beta langerhans dan secara klinik menunjukkan tanda diabetes pada hari ke 2-4. [15] Penelitian Arora dkk membuktikan bahwa pemberian injeksi *STZ* dosis rendah 40 mg/kg, intraperitoneal pada tikus selama lima hari, tikus

menunjukkan adanya komplikasi pada diabetes.[24] Beberapa penelitian menyebutkan bahwa injeksi *STZ* intravaskuler pada tikus membuat pankreas bengkak dan berakibat terjadinya degenerasi pada sel beta langerhans dan terjadi diabetes melitus pada hari ke 2-4. [15,26]

STZ menghambat sekresi insulin dan menyebabkan peningkatan *insulin-dependent* diabetes melitus. Kedua efek tersebut dapat dihubungkan dengan zat kimia tertentu, terutama potensi *alkylating*. *STZ* analog dengan *nitrosourea* dimana *N-methyl-N-nitrosourea(MNU)* berikatan dengan karbon-2 dari hexose. Toksisitas STZ dan senyawa *alkylating* yang berhubungan secara kimia masuk ke dalam sel. *STZ* secara selektif terakumulasi di dalam sel beta pankreas lewat *glukosa transporter 2 (GLUT2)* dengan afinitas rendah dalam membran plasma. Toksisitas STZ lebih besar dibandingkan dengan *N-methyl-N-nitrosourea* dalam sel yang menggunakan *GLUT2*, meskipun kedua substansi mempunyai kemiripan DNA. Pentingnya glukosa transporter 2 (GLUT2) dalam proses ini ditunjukkan dengan adanya pengamatan bahwa STZ merusak organ lain yang menggunakan transporter ini, khususnya ginjal dan hati. Toxititas *STZ* terikat terhadap aktivitas *alkilating DNA methylnitrosourea moiety*, terutama pada posisi O^6 guanin. Perpindahan kelompok metil dari *STZ* ke molekul DNA menyebabkan kerusakan sel karena fragmentasi DNA. Glikosilasi protein mungkin faktor kerusakan tambahan.[27]

Diabetes melitus dapat menyebabkan disfungsi endotel dan selanjutnya menimbulkan aterosklerosis. Disfungsi endotel yang mengawali lesi

aterosklerosis pada penderita diabetes melitus dapat terjadi akibat adanya hiperglikemi. Hiperglikemi kronik menyebabkan disfungsi endotel melalui berbagai mekanisme antara lain glikosilasi non enzimatik , meningkatkan sintesis diacylglyserol (DAG) melalui jalur glikolitik, peningkatan terjadinya stres oksidatif dan peningkatan *oxidized* lipoprotein,[25] penurunan produksi *nitric oxide* (NO), penurunan aktivitas fibrinolitik dan aktivasi koagulasi yang berulang.[28,29]

Hiperhomosisteinemia secara tidak langsung merupakan faktor penyebab penyakit vaskular dan kematian pada diabetes melitus type 2.[18,30] Faktor genetik dan nutrisi berpengaruh terhadap peningkatan homosistein plasma yang menyebabkan kerusakan sel endotel.[31]

2.2. Homosistein

Homosistein (hcy) merupakan asam amino yang mengandung sulfur yang berikatan erat dengan metionin dan sistein. Hcy mula-mula diidentifikasi tahun 1862 pada urin anak retardasi mental. Tahun 1869 McCully menemukan patologi vaskuler pasien hiperhomosisteinemia dengan adanya proliferasi sel otot polos, stenosis arteri yang progresif, dan perubahan hemostasis.[7,11]

Banyak bukti epidemiologi menunjukkan bahwa adanya hiperhomosisteinemia ringan merupakan faktor risiko independen kejadian aterosklerosis koroner, serebral, dan pembuluh darah perifer.[11,32] Mekanisme molekuler Hcy atau metabolitnya mendorong terjadinya kelainan vaskuler masih belum diketahui.[33]

2.2.1. Metabolisme Homosistein

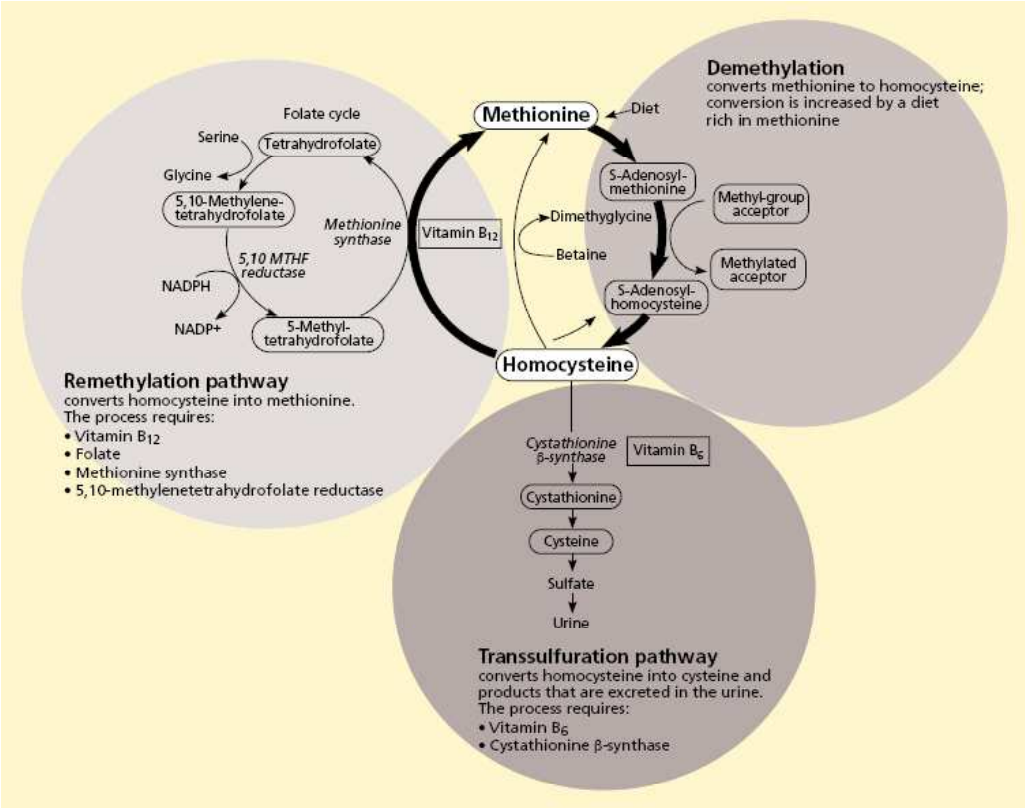
Homosistein (Hcy) dipengaruhi oleh adanya vit B6, vit B12 dan asam folat dalam makanan dan total metionin dalam protein. Hcy dimetabolisme melalui dua jalur: remetilasi dan transsulfurasi.[7,11,34,35]

Jalur transsulfurasi, dimana Hcy dan serine membentuk *cystathionine*, yang memecah menjadi sistein dan α-ketobutirat dan sebagian memasuki siklus metilasi, yang merupakan bagian metabolisme dengan satu karbon (*one-carbon metabolism*). *S-adenosylmetionine* (SAM) adalah suatu pengatur remetilasi dan transsulfurasi yang penting pada Hcy.[36] Faktor lain selain diet juga penting, adanya kerusakan genetik (defisiensi hereditar dari *cystathionine synthase* dan diperlukan enzim dalam sintesis *5-methyltetrahydrofolate* dan CH3-B12), kolesterol yang tinggi dalam darah.[11] Tahap pertama metabolisme Hcy, SAM merupakan donor metil terpenting pada reaksi transmetilasi (gambar 1). SAM mengalami demitilasi membentuk *S-adenosil homosistein* (SAH), yang akan dihidrolisis menjadi adenosin dan Hcy. Hcy selanjutnya memasuki jalur transsulfurasi atau jalur remetilasi. Jalur transsulfurasi, sekitar 50% Hcy berikatan dengan serin atas pengaruh enzim sistasionin β sintase membentuk sistasionin. Sistasionin akan dimetabolisme menjadi sistein dan α ketobutirat oleh enzim γ sistationase. Sistein dirubah menjadi sulfat dan diekskresikan ke dalam urin. [7,11,34,35]

Jalur remetilasi, Hcy mengalami daur ulang menjadi metionin melalui 2 reaksi yang berbeda. Reaksi pertama dibutuhkan metilkobalamin sebagai

kofaktor dan metiltetrahidrofolat sebagai kosubstrat. *Metiltetrahidrofolat* dibentuk dari tetrahidrofolat oleh pengaruh enzim *metiltetrahidrofolat reduktase* (MTHFR).

Reaksi kedua memerlukan enzim *betain Hcy metil transferase*, yang dibutuhkan betain. Daur ulang serta penyimpanan Hcy menjamin penyediaan metionin yang cukup. Kelebihan metionin, dimanfaatkan jalur transfulfurasi dengan meningkatkan regulasi sistasionin β sintase dan mengurangi regulasi jalur remetilasi, sedangkan defisiensi metionin dimanfaatkan jalur remetilasi.[7,11,34,35,37,38]



Gambar 1.
Siklus metionin dan jalur metabolisme homositein.
Dimodifikasi dari rujukan Mayer, Jacobsen, & Robinson.[38]

Peningkatan Hcy berhubungan dengan formasi plak dari peningkatan endapan kolagen dan kalsium, degenerasi elastin dan kerusakan sel endotel. Disebutkan dalam teori bahwa efek ini terjadi oleh aksi langsung dari Hcy atau lanjutan dari *homocysteine thiolactone* reaktif.

2.2.2. Faktor-Faktor yang Menyebabkan Hiperhomosistein

Hiperhomosisteinemia dapat disebabkan oleh berbagai faktor antara lain faktor genetik, umur, jenis kelamin, kekurangan nutrisi (defisiensi vitamin), gaya hidup, penyakit (gagal ginjal, penyakit autoimun), perubahan fisiologi yang berkaitan dengan usia dan obat-obatan (nitrit oksida, metrotrexate, antikonvulsan).[7,11,25]

Faktor tersebut mempengaruhi metabolisme Hcy karena gangguan koenzim, *methionine synthase* (MS) atau *S-adenosylmetionine* (SAM). Hultberg, Chaveau, dan Alnadottir dalam penelitiannya menemukan ada korelasi positif antara kadar Hcy , serum kreatinin, dan *glomerular filtration rate* (GFR).[7]

2.2.3. Pemeriksaan Hcy plasma

Pemeriksaan Hcy menggunakan serum atau plasma dengan sampel puasa. Bentuk teroksidasi sebagai komponen terbesar dalam plasma direduksi terlebih dahulu dengan berbagai reduktor seperti Na-borohidrat dan akhir-akhir ini dengan fosfine yang larut dalam air *tri(2-karboksietil)fosfine*. Hcy kemudian dipisahkan dari thiol dengan berat molekul rendah lainnya (sistein,

sistenilglisin dan glutation) dengan *reserve-phase HPLC*, dideteksi secara *elektrokimiawi* dan *fluorometri*. Metode pemeriksaan Hcy secara *immunoassay* dikembangkan oleh Shipchandlerd dan Moore serta Franzen. Kedua molekul ini menggunakan monoklonal antibodi tikus terhadap *S-adenosil-Hcy*, yang terbentuk setelah reduksi, kemudian direaksikan dengan *adenosine* dengan bantuan enzim *S-adenosilHcy hidrolase*.[11,39]

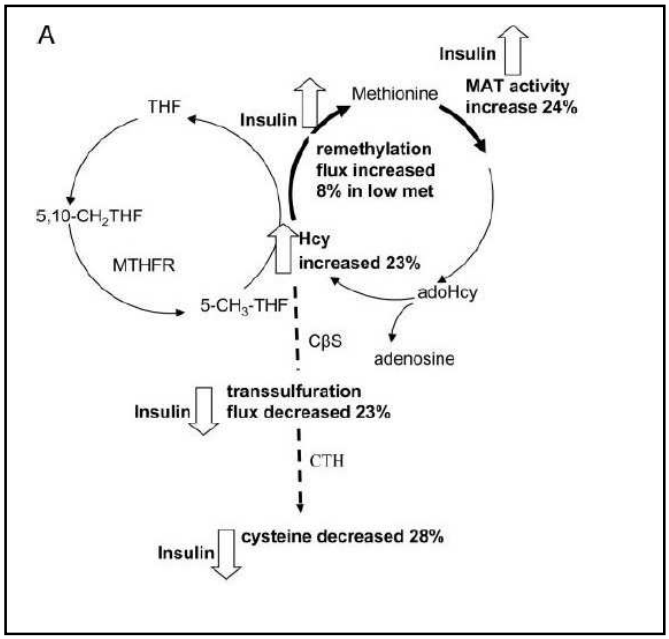
2.2.4. Homosistein pada Diabetes

Kadar plasma homosistein dilaporkan normal, berkurang atau meningkat pada pasien diabetes mellitus. Penelitian tikus diabetes yang diinduksi STZ, kadar Hcy menurun dan meningkat dengan pemberian insulin. Kenaikan Hcy proposional terhadap konsentrasi insulin. Penelitian pada manusia , konsentrasi Hcy berkorelasi kuat dengan konsentrasi insulin.[40] Pasien diabetes tipe 2 dengan fungsi sel beta pankreas yang baik, yang resistensi terhadap insulin dan hiperinsulinemia cenderung mempunyai konsentrasi homosistein meningkat, sementara pasien yang sama dimana fungsi sel beta terganggu konsentrasi homosistein cenderung rendah.[40]

Diabetes tipe 1 mempunyai nilai rendah pada remethilasi metionin-homosistein tetapi transsulfurasi meningkat, dan dengan pemberian insulin, transsulfurasi dan remetilasi menjadi normal. Hiperinsulinemia yang disebabkan *hyperinsulinemic-euglycemic* merangsang Hcy transmetilasi dan transsulfurasi pada manusia sehat. Insulin menyebabkan kenaikan *transmethylasi metionin*, *transsulfurasi homosistein*, dan ***c****learance* yang

ditemukan rusak pada diabetes tipe 2. Hiperhomosistenemia setelah pemberian metionin tampak pada NIDDM, terkesan kerusakan transulfurasi. Pemberian insulin menurunkan ekspresi mRNA pada *transsulfurasi* dan *cistationase*, Hcy meningkat dan ekskresi sistein menurun.[41] Jacobs *et al.* menemukan aktifitas *betaine homocysteine methyltransferase* (BHMT) hepatic, *methylenetetrahydrofolate reductase* (MTHFR) dan sintesis metionin tidak berubah pada model STZ. Nieman *et al* melaporkan bahwa Insulin yang tidak cukup pada tikus yang diberi STZ meningkatkan BHMT dan menurunkan *methionine synthase* (MS). Peningkatan konsentrasi insulin menyebabkan menurunnya aktifitas MTHFR pada hepatosit.

Insulin meningkatkan produksi homosistein dengan cara penghambatan transulfurasi dan meningkatkan flux remetilasi ketika metionin dihambat. Ditunjukkan dalam sel hepar pada penelitian bahwa insulin secara signifikan meningkatkan produksi homosistein dengan cara mengurangi transulfurasi melalui penghambatan transkripsional CβS dan CTH. Awalnya insulin menginduksi jalur remetilasi homosistein pada saat metionin dihambat. Keadaan patologis dengan defisiensi insulin dimana insulin berperan pada remetilasi homosistein hepar, penggunaan homosistein hepar untuk sintesa metionin kurang efisien. Ditemukan bahwa fungsi dan sekresi normal insulin dibutuhkan untuk menjaga aktivitas MS di hepar dan BHMT atau CβS menjadi jalur utama bagi penggunaan dan katabolisme homosistein hepar pada individu yang kekurangan insulin (gambar 2).[41]



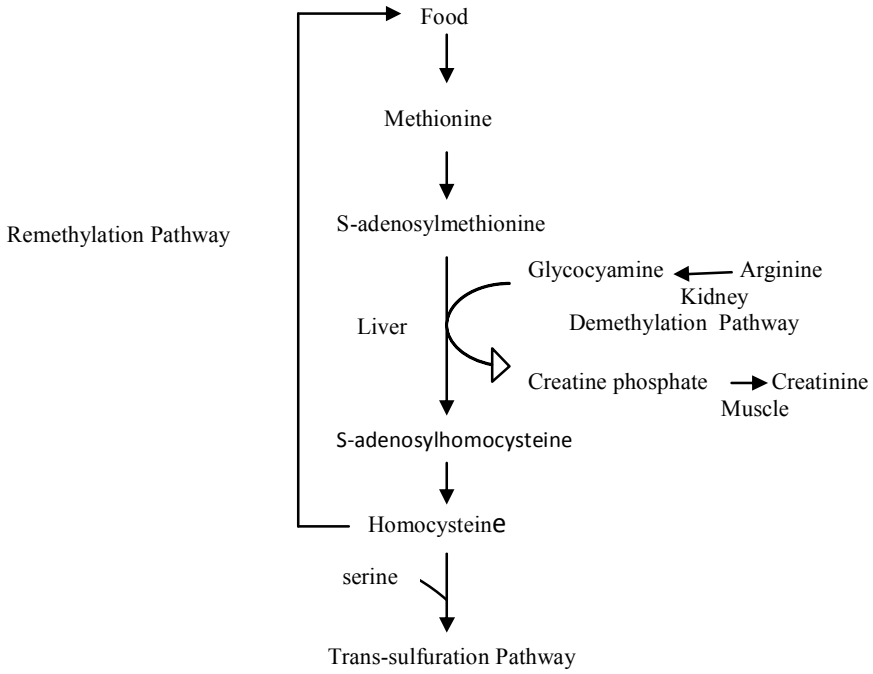
Gambar:2
Homosistein dan insulin.
Bentuk dari kinetik seluler homosistein ketika adanya insulin dalam hepar.
Dimodifikasi dari rujukan dari Chiang,Wang,Chen, & Yao. [41]

2.2.5. Homosistein dan Kelainan Vaskuler pada Diabetes

Hiperhomosisteinemia mempunyai pengaruh terhadap vaskuler yang akan merugikan pada diabetes. Beberapa mekanisme HHcy bersifat *vaskulotoxic*, penurunan *nitric oxide,* stress oxidatif, proliferasi sel otot polos dengan perubahan dinding arteri , kerusakan fibrinosisis, inflamasi kronik, peningkatan adesi lekosit dan agregasi trombosit yang menyebabkan penyakit vaskuler.[42]

Beberapa penelitian menyatakan terdapat hubungan antara homosistein pada diabetes dan penyakit mikrovaskuler. Peningkatan konsentrasi Hcy dan penyakit mikrovaskular pada diabetes melitus dapat terjadi lama seperti retinopati dan nefropathi.[42] Diabetes akan terjadi peningkatan kadar kreatinin

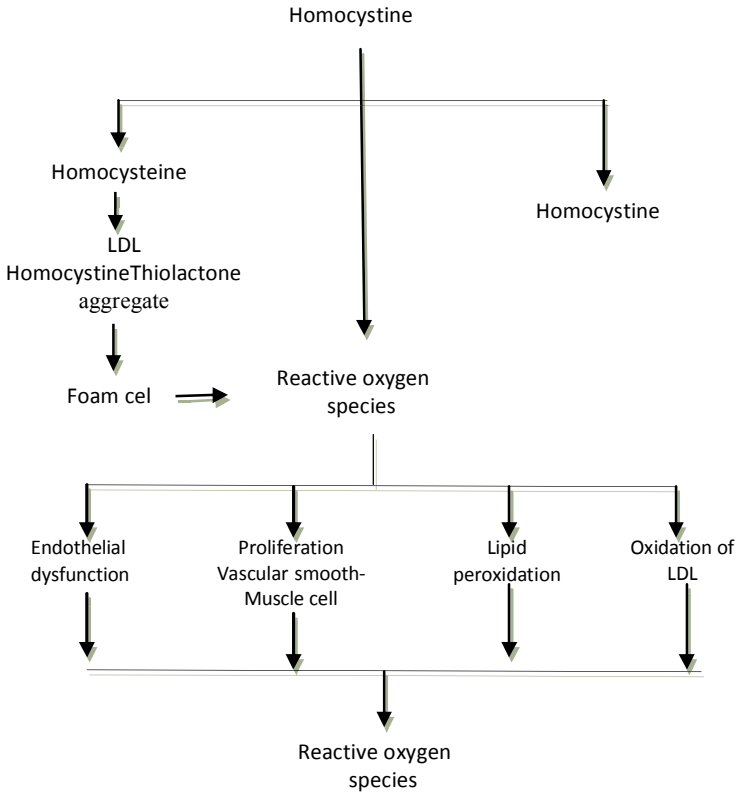
sebagai indikator disfungsi ginjal karena hiperhomohomosisteinemia.[18] Hcy diubah menjadi sistein lewat serangkaian proses vitamin B6 atau diremetilasi menjadi metionin. Reaksi selanjutnya terjadi melewati 2 jalur , salah satunya terikat pada vitamin B12 dan Folat dan lainnya pada betain. Kadar Hcy terikat dekat dengan formasi kreatinin (gambar 3) dan meningkat pada pasien dengan fungsi renal yang rusak khususnya penyakit ginjal stadium akhir.[41]



Gambar 3.
Jalur metabolisme tampak adanya hubungan antara homosistein dengan kreatinin. Dimodifikasi dari rujukan Elias, & Eng. [40]

Selain itu akibat dari Autooksidasi Hcy memproduksi ROS sitotoksik, termasuk radikal anion superoksid dan radikal hidroxil. Formasi dependen superoksida yang terbentuk dari radikal hidroksil menyebabkan lipid peroksidasi yang terjadi pada membran plasma endotel dan partikel

lipoprotein. Autooxidasi Hcy mendukung oksidasi LDL melalui turunan radikal anion superoksida (gambar 4). Meskipun mekanisme molekuler yang tepat belum diketahui, Hcy menyebabkan disfungsi endotel pada beberapa level.[7]



Gambar 4:
Homosistein dan kelainan vaskuler
Dimodifikasi dari Welch & Losalzo.).[7]

2.3. Lipid

Lipid adalah senyawa yang mengandung karbon dan hydrogen yang umumnya hidrofobik tetapi larut dalam pelarut organik. Golongan yang penting adalah lemak netral, lipid terkonjugasi dan sterol. Lipid plasma yang utama terdiri atas kolesterol, trigliserid, fosfolipid dan asam lemak bebas. Lipid

plasma tidak larut dalam cairan plasma, agar lipid plasma dapat diangkut dalam sirkulasi, maka susunan molekul lipid dalam bentuk lipoprotein yang bersifat larut dalam air.[45] Lipoprotein dalam urutan densitasnya dari yang tinggi adalah *chylomicron*, *very low density lipoprotein* (VLDL), *low density lipoprotein* (LDL) dan *high density lipoprotein* (HDL).[12,20] Walaupun secara teoritis bentuk lipoprotein ikut berperan dalam arterosklerosis , namun dalam diabetes melitus kelainan lipid yang paling sering dijumpai adalah adanya peningkatan kadar trigliserida.

2.3.1. Metabolisme Lipid

Lipid darah diangkut dengan 2 cara yaitu jalur eksogen dan endogen:

1. Jalur Eksogen: Trigliserida dan kolesterol yang berasal dari makanan dalam usus berbentuk kilomikron, akan diangkut dalam saluran limfe melalui duktus thorasikus menuju ke darah. Trigliserid dalam kilomikron mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase pada permukaan sel endotel membentuk asam lemak dan kilomikron remnan. Kolesterol juga dapat disintesis dari asetat dibawah pengaruh enzim HMG Co A reduktase yang menjadi aktif jika terdapat kekurangan kolestrol endogen. Asupan kolesterol dari darah juga diatur oleh jumlah reseptor LDL yang terdapat pada permukaan sel hati.[45]
2. Jalur Endogen

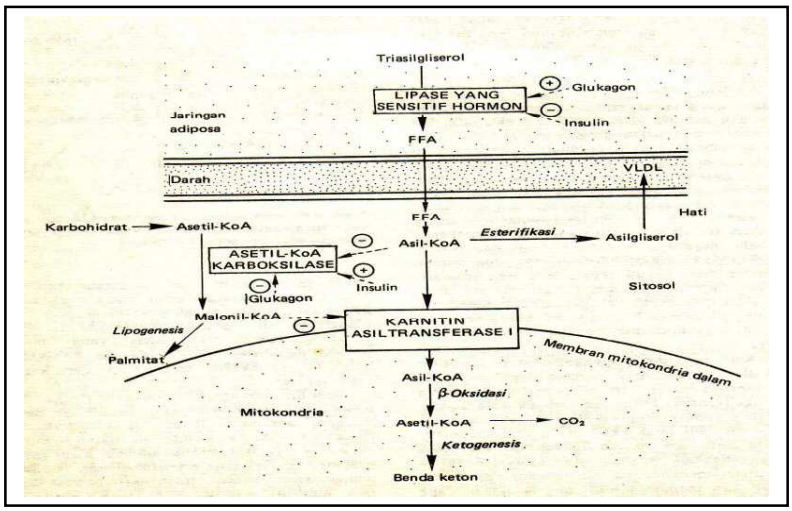
   Trigliserid dan kolesterol yang disintesis oleh hati diangkut secara endogen dalam bentuk VLDL kaya trigliserid dan mengalami hidrolisis

dalam sirkulasi oleh lipoprotein lipase yang juga menghidrolisis kilomikron menjadi partikel lipoprotein yang lebih kecil yaitu IDL dan LDL. LDL mengalami katabolisme melalui reseptor LDL yang terdapat pada permukaaan sel hati dan jalur non reseptor. Jalur katabolisme reseptor dapat ditekan oleh produksi kolesterol endogen.

Kenaikan kadar kolesterol kira-kira 25 mg/dl yang juga tergantung umur. Di Amerika, rata-rata kenaikan 18 kg berat badan pada usia 25-50 tahun, kenaikan berat badan ini diikuti dengan kadar kolesterol yang meningkat.

3. Lipogenesis

Lipogenesis adalah pembentukan lemak (perubahan dari bahan makanan bukan lemak menjadi lemak tubuh). Proses lipogenesis berkenaan dengan konversi glukosa dan zat antara (piruvat, laktat, dan asetl-KoA) menjadi lemak, merupakan fase anabolik. Status gizi organisme dan jaringan adalah faktor utama yang mengendalikan lipogenesis. Sintesis asam lemak rantai panjang dikendalikan oleh modifikasi alosterik, kovalen enzim , perubahan – perubahan dalam kecepatan sistesis dan degradasi enzim. Reaksi yang membatasi kecepatan dalam lipogenik adalah langkah asetil-KoA karboksilase. Molekul asil-KoA berantai panjang menghambat asetil-KoA karboksilase dengan bersaing dengan aktivator sitrat (gambar 5).[45]



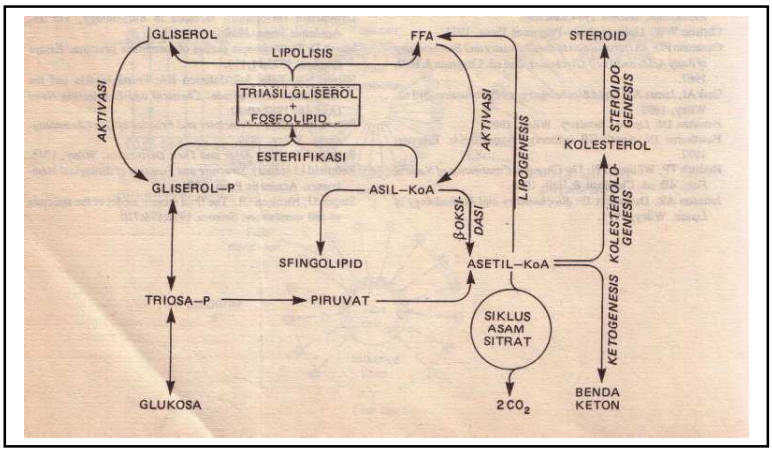
Gambar 5.
Pengaturan oksidasi asam lemak.
Dimodifikasi dari dari Mayes.[45]

4. Lipolisis

Lipolisis adalah dekomposisi atau pemecahan lemak. Karbohidrat

dikonversi menjadi trigliserol sebelum dipakai sebagai energi. Trigliserid lipoprotein dalam kilomikron atau VLDL tidak dapat diambil oleh jaringan tetapi harus lebih dahulu mengalami hidrolisis oleh lipoprotein lipase untuk membentuk asam lemak bebas dan gliserol. Asam lemak yang dibebaskan diambil oleh jaringan menjadi asetil-KoA dan re-esterifikasi dengan gliserol menjadi trigliserid. Keseimbangan dalam aktifitas lipolisis dan esterifikasi menentukan kecepatan pelepasan asam lemak bebas.(gambar 6). Lipolisis dipengaruhi oleh faktor-faktor lipotropik (metionin,kolin,betain) dan

bila terjadi defisiensi menyebabkan trigliserid menumpuk cenderung terbentuknya fatty liver.[45]



Gambar 6:
Proses lipolisis
Dimodifikasi dari dari Mayes. [45]

2.3.2. Kolesterol

Kolesterol adalah sterol yang sangat penting secara biologis. [44] Kolesterol di sebut sebagai 3-hidroksil-5,6-kolesten.[45] Homeostasis kolesterol diatur melalui keseimbangan antara absorpsi asupan kolesterol dan sintesis kolesterol endogen dengan ekskresi asam empedu dan pengeluaran kolesterol dari empedu. Lipoprotein disintesis dan dikatabolisme melalui 3 jalur yang berbeda yaitu jalur kilomokron, jalur VLDL/LDL/IDL, dan jalur HDL, dimana satu dengan yang lain saling berinteraksi.[46]

2.3.3. Trigliserid

Trigliserid adalah tiga molekul asam lemak teresterifikasi menjadi satu molekul gliserol, sebagai bagian dari lemak netral. Jaringan adiposa memiliki simpanan trigliserida yang berfungsi sebagai gudang lemak.[44] Peningkatan konsentrasi kaya trigliserid tetapi bukan kaya kolesterol, lipoprotein yang mengandung apoB berhubungan dengan kehilangan fungsi renal. Trigliserid tinggi dan HDL-C rendah signifikan dengan peningkatan serum kreatinin. Semua penelitian sebelumnya bahwa hubungan antara lipid dan ginjal menggunakan serum kreatinin atau *glomerular filtration rate* (GFR) sebagai indeks fungsi ginjal.[47]

2.3.4. HDL

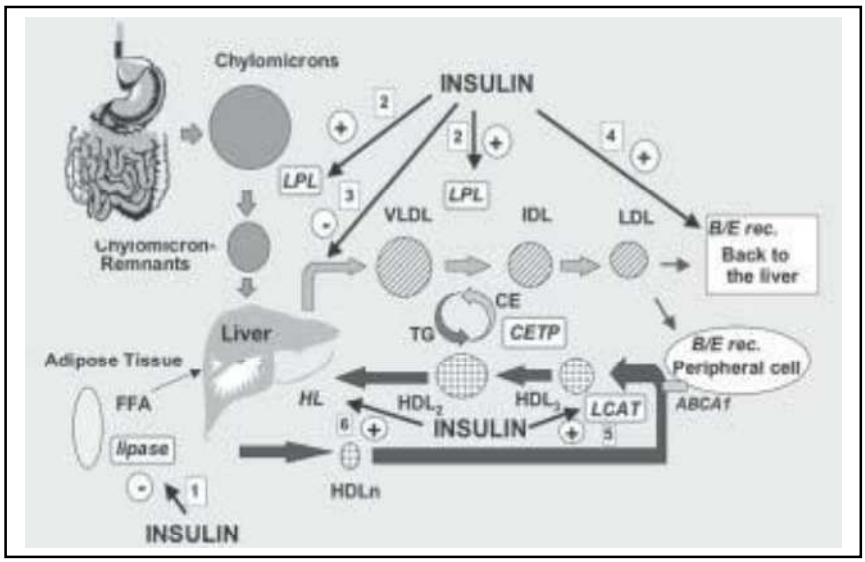
HDL terbentuk dari protein dan lipid. Apolipoprotein A-1 (Apo A-1) merupakan komponen utama yang menentukan bentuk HDL.[48] HDL disekresi oleh hepatosit sebagai lipoprotein miskin *small kolesterol* yang mengandung apoprotein A,C, dan E. Komponen permukaan remnant khilomikron dan VLDL dalam plasma dipindahkan ke HDL selama proses lipolisis.[48] HDL membawa kelebihan kolesterol dari sel perifer ke hati, melindungi LDL oksidasi, menghambat ekspresi molekul adhesi dalam sel endotel, mencegah pergerakan monosit ke dinding pembuluh darah.

2.3.5. LDL

Partikel LDL adalah produk akhir dari kaskade VLDL-IDL-LDL. LDL adalah kolesterol utama berhubungan dengan lipoprotein plasma dan setiap partikel LDL mengandung molekul Apo-B. Partikel LDL berperan utama dalam artherosklerosis.[49] Reseptor LDL yang ada di dalam hati akan mengikat LDL dari sirkulasi. Terikatnya LDL oleh reseptor LDL ini penting dalam pengontrolan kolesterol darah, di samping itu dalam pembuluh darah terdapat sel-sel perusak LDL. Melalui jalur ini *(scavenger pathway),* molekul LDL dioksidasi, sehingga tidak dapat masuk kembali ke dalam aliran darah.

2.3.6. Lipid pada Diabetes

Insulin memainkan peran dalam pengaturan metabolisme lipid. Tempat utama aktivitas insulin pada metabolisme lipoprotein jaringan adipose (gambar 7). Insulin menghambat lipolisis oleh lipase. Insulin dapat mengaktifkan lipoprotein lipase, yang meningkatkan katabolisme lipoprotein kaya trigliserid dalam menghambat produksi VLDL oleh hepar. Insulin meningkatkan *clearance* LDL, dengan cara merangsang aktivitas reseptor Apo B/E (reseptor LDL) dan mempertinggi degradasi LDL lewat jalur reseptor LDL. Insulin juga bekerja pada metabolisme HDL dengan cara mengaktifkan LCAT dan aktivitas lipase hepar.[49]



Gambar 7.
Hubungan antara insulin dan lipid
Dimodifikasi dari Verges.[49]

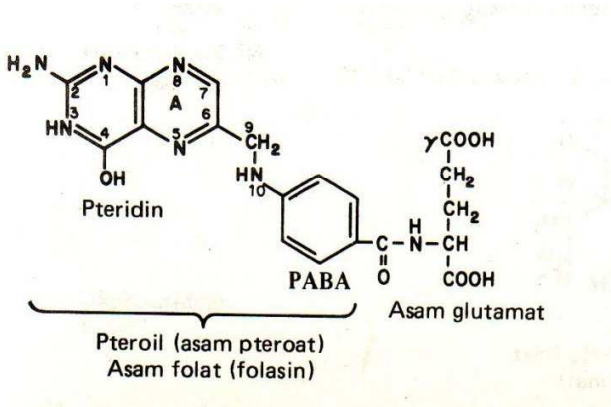
Insulin merangsang lipogenesis dengan cara meningkatkan transport glukosa ke dalam sel sehingga terjadi peningkatan persediaan piruvat untuk sintesis asam lemak dan gliserol.[45]

Hiperlipidemia (lipotoksisitas) dapat mengakibatkan akumulasi lipid yang abnormal dalam sel beta sehingga menginduksi apoptosis sel beta. Asam lemak melalui produksi *long chain acyl-CoA* (LC Acyl-CoA) intraseluler, dapat mengaktivasi isoform protein kinase C (PKC) yang mengakibatkan fosforilasi serine/threonine pada molekul IRS dalam sel beta dan memicu degradasi IRS-2 serta mengakibatkan apoptosis sel beta.[25] Penelitian pada tikus yang dinduksi STZ menunjukkan semua hiperlipidemia, diakibatkan oleh peningkatan absorbsi lemak lewat usus, perubahan peningkatan abnormal aktivasi A-cholesterol acyltransferase (ACAT) dalam usus kecil.[21] Defisiensi insulin menyebabkan metabolisme asam lemak bebas berlebihan, mungkin ini petunjuk

kerusakan metabolisme lipid.[50] Peninggian asam lemak bebas plasma akan meningkatkan sekresi VLDL oleh hati yang mengikutsertakan pengeluaran trigliserid dan kolesterol ekstra ke dalam sirkulasi.[45]

2.4. ASAM FOLAT

Folat dan asam folat adalah istilah-istilah umum untuk kelompok senyawa senyawa yang berfungsi sebagai koenzim di dalam proses unit-unit karbon dan yang diturunkan dari asam pteroid**.** Asam pteroid terdiri atas cincin pteridin yang tergabung dengan residu *asam p-aminobenzoik*.[51] Secara kimia asam folat terdiri dari *pteridin heterobisiklik*, *asam aminobenzoat* (PABA), dan asam glutamate (gambar 8). [52]



Gambar 8.

Struktur dan penomoran atom asam folat.

Dimodifikasi dari Martin.[52]

Bentuk dari Vitamin B_9 yang larut air adalah asam folat (vitamin B_9 atau folacin) dan folat (bentuk yang alami), serta *pteroyl-asam L-glutamat* dan *pteroyl-L-glutamat*. Asam folat itu sendiri tidak aktif secara biologis,

tetapi yang penting secara biologi adalah *tetrahydrofolate* dan turunan lainnya setelah konversi dengan *asam dihydrofolic* dalam hati.[53] Asam folat berasal dari makanan. Vitamin B_9 berfungsi untuk biosintesis nukleotida, remetilasi Hcy, mensintesis DNA, DNA perbaikan, dan methylate DNA serta bertindak sebagai kofaktor dalam reaksi biologis yang melibatkan folat. Kekurangan folat salah satunya dapat menyebabkan akumulasi Hcy sebagai akibat dari salah satu mekanisme metabolisme karbon metilasi menjadi terganggu.[51]

Asam folat terdapat sebagai *poliglutamat* berkonjugasi dengan ikatan gamma rantai polipeptida 7 asam glutamate. Folat di dalam hati terutama adalah konjugat *pentaglutamil*. Rantai *peptida glutamil* dengan hubungan gamma bersifat resisten terhadap hidrolisis oleh enzim proteolitik biasa yang terdapat dalam usus, yang spesifik *folil poliglutamat* hidrolase. Hidrolisis *pteroilheptaglutamat* menjadi *pteroilmonoglutamat* oleh enzim usus berlangsung cepat dan tidak membatasi kecepatan absorbsi folat ke dalam sirkulasi mesenterik, hanya bentuk monoglutamil yang diserap dan sebagian direduksi menjadi *tetrahidrofolat* (H4 folat dan mengalami metilasi menjadi N^5-metil H4 folat).[52]

Asam folat dapat mengalami reduksi yang dikatalisis oleh enzim dihidrofolat reduktase menjadi asam *dihydrofolat-tetrahydrofolate*. Asam folat dibutuhkan untuk pembentukan kreatinin dan kolin, sintesis purin dan metilasi RNA. Asam folat juga dibutuhkan untuk metabolisme asam amino esensial metionin yang semula ditemukan di protein hewan . Asam folat ini

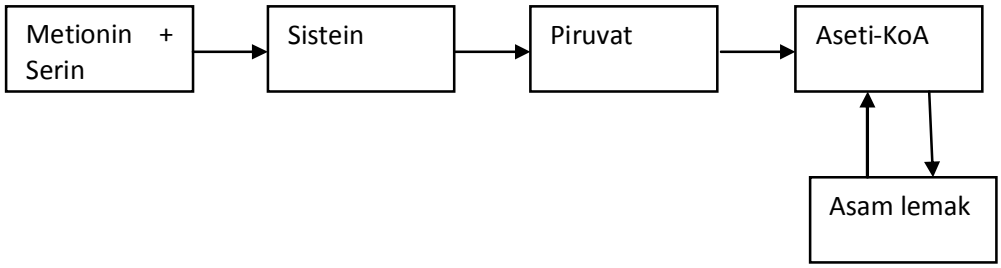
memiliki dua efek fisiologis utama, yaitu sebagai kofaktor enzim sintesis *deoxyribonucleic acid* (DNA) dan *ribonucleic acid* (RNA) yang berperan dalam replikasi sel serta dibutuhkan untuk mengubah Hcy.[51,52] Asam folat sebagai pembawa kelompok karbon dalam reaksi metabolisme. Dibutuhkan untuk biosintesis cholin, serine, glysis, purin dan *deoxythymidin monophosphat* (dMTP).[50]

2.4.1. Hubungan Asam Folat dan Homosistein

Salah satu risiko penting terjadinya hiperhomosisteinemia adalah rendahnya asupan vitamin yang berperan pada metabolisme Hcy yaitu asam folat, vitamin B12 dan vitamin B6. Folat mereduksi konsentrasi Hcy plasma (Bellamy dkk. 1899) dan karena kemampuan menurunkan Hcy tersebut maka folat dianggap memiliki daya proteksi terhadap penyakit kardiovaskuler. Sejak 25 tahun yang lalu muncul bukti-bukti yang menunjang hipotesis bahwa meningkatnya Hcy plasma merupakan faktor risiko aterosklerosis. Suatu dilatasi arteri akibat penurunan aliran yang diinduksi oleh pemberian oral metionin pada sukarelawan yang sehat dapat seluruhnya dicegah dengan pra-perlakuan folat dosis tinggi (Usui dkk. 1899.). Folat berperan sebagai donor metil pada metabolisme Hcy menjadi metionin sehingga autooksidasi Hcy yang menghasilkan disulfida teroksidasi , dua proton (H+) dan dua elektron (e-) yang merangsang pembentukan ROS tidak terbentuk.[30] Asam folat juga dapat menjaga fungsi endotel pada pasien hiperkolesterolemia dengan menurunkan katabolisme nitrit oksida.

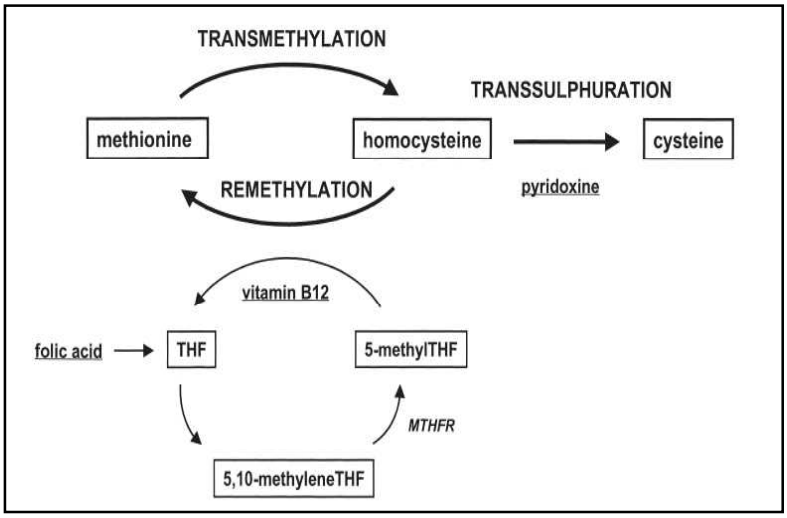
2.4.2. Hubungan Asam Folat dan Lipid

Interkonversi bahan makanan dimana diet karbohidrat menunjukkan mudahnya konversi karbohidrat menjadi lemak. Reaksi yang bermakna adalah konversi piruvat menjadi asetil-KoA sebagai bahan pemula untuk sintesis asam lemak. Asam-asam amino yang membentuk piruvat adalah glisin, serin, sistin, sistein, alanin, treonin. Asetil-KoA salah satunya terbentuk dari metionin dan serin menjadi sistein kemudian akan dirubah menjadi piruvat.(gambar 9) Asam- asam amino glisis, serin, sistin, sistein dan metionin diperlukan dalam metabolisme Hcy.[44]



Gambar 9.
Interkonversi bahan makanan utama.
Dimodifikasi dari Mayes.[44]

Hati tikus banyak mengandung serin dehydrate. Konversi serin menjadi piruvat oleh serin dehidratse mempunyai makna fisiologis yang besar. Serin dipecah secara primer menjadi glisin dan N^5,N^{10} metilentetrahidrofolat yang diperlukan dalam metabolism Hcy. Metionin terbentuk dari proses remetilasi Hcy yang mana memerlukan asam folat.(gambar 10) [42]



Gambar 10.
Metabolisme homosistein: THF: tetrahydrofolate; MTHFR: 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase.
Dimodifikasi dari Guldener & Stehouwer. [42]

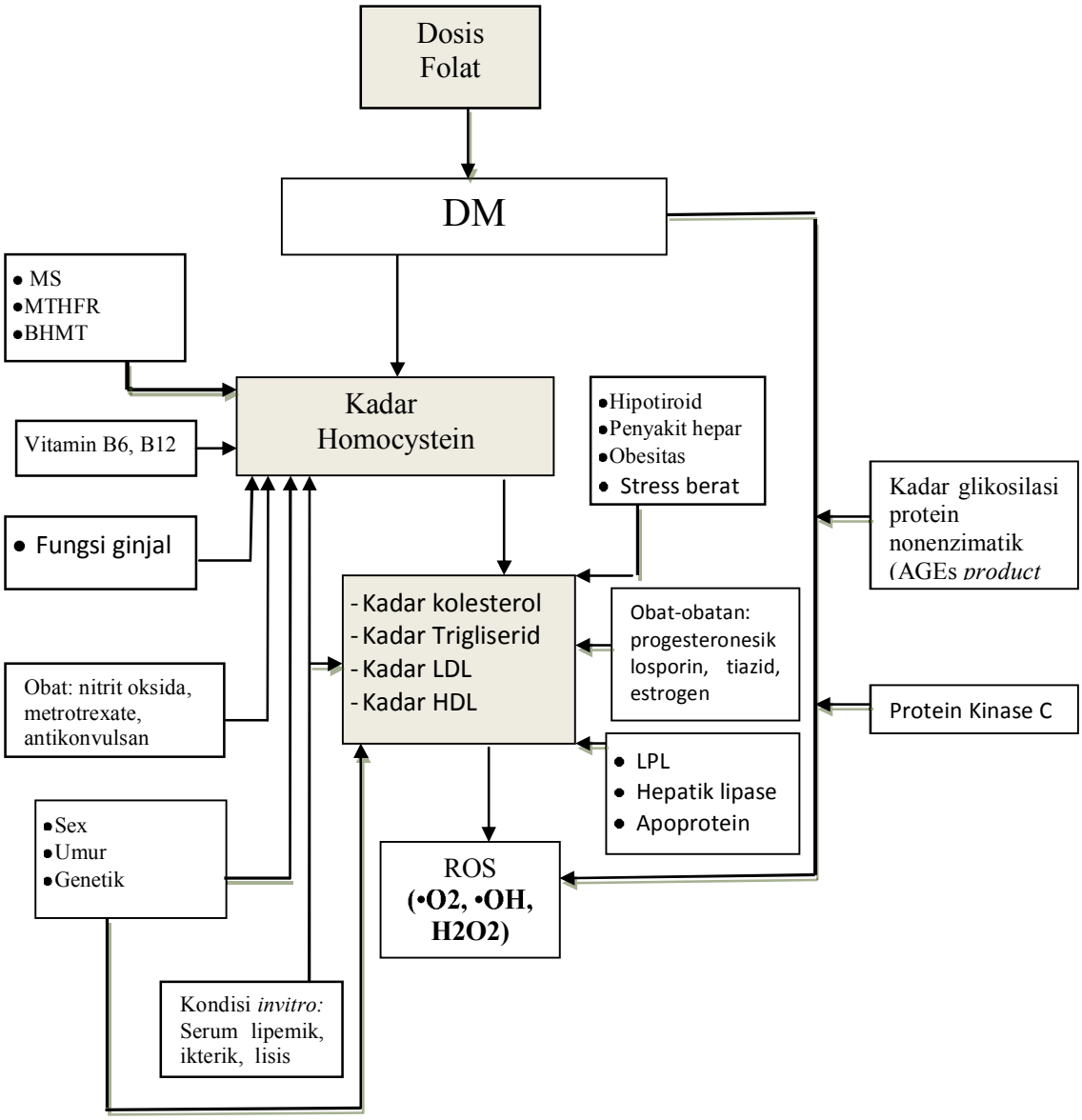
Selain konversi bahan makanan, melalui homosistein yang cepat teroksidasi sendiri ketika ditambahkan ke plasma, yang membentuk hcy, tercampur disulfida dan hcy thiolakton. Spesies oksigen reaktif yang kuat, termasuk superoksida dan hydrogen peroksida dihasilkan selama autooksidasi homosistein dan hidrogen peroksida (bersama dengan radikal hidroksil) secara khusus dilibatkan pada toxisitas vaskuler hiperhomosistein. Autooxidasi Hcy mendukung oksidasi LDL melalui turunan radikal anion superoksida (gambar 4). [7]

Penelitian *double-blind randomized control* , terapi asam folat (5 mg PO) selama 4 minggu memperbaiki kerusakan fungsi endotel pasien dengan risiko kardiovaskuler pada hiperkolesterol *familial*. Folat termasuk dalam *endogenous regeneration* BH_4 (*Tetrahidrobiopterin* / kofaktor sintesis NO).

Akhir-akhir ini ditunjukkan BH_4 dapat meningkatkan fungsi endotel dalam hiperkolesterolemia.[9] Efek menguntungkan pemberian asam folat dapat dihubungkan dengan kemampuan mereduksi modifikasi oksidatif LDL kolesterol-hiperhomosisteinemia dan kemampuan meningkatkan HDL kolesterol. Penelitian pada manusia dan tikus menunjukkan bahwa nilai plasma LDL kolesterol tinggi dihubungkan dengan vaskulopati oleh produksi NO *vaskuler* yang rusak atau meningkatkan hasil radikal oksigen yang bereaksi dengan NO utk membentuk peroksinitrat yang bergantian memainkan peran penting dalam vaskulopati oksidatif. Penelitian pada tikus SD kadar plasma LDL kolesterol meningkat sementara HDL kolesterol menurun yang di beri kontrasepsi oral dibandingkan dengan tikus kontrol yang diberi asam folat cukup. Wilmink et al (2000) menyebutkan pemberian folat oral dosis tinggi akan mencegah disfungsi endotel dihubungkan dengan *fat load*.[13]

Folat juga sebagai bahan yang diperlukan dalam pembentukan metionin oleh MTHFR bersamaan dengan vitamin B12, dimana metionin sebagai komponen dalam pembentukan *acetyl Co-A* sebagai bahan pemula untuk sintesis asam lemak. Penelitian dinyatakan keadaan hipokolesterolemia diberi asam folat (5 mg dan 10 mg) menurunkan *Acetyl CoA* dihasilkan dari β-oksidasi asam lemak , *Acetyil CoA* sebagai substrat penting dalam biosintesis kolesterol, hipokolesterol baik menurunkan kejadian arterosklerosis.[12] Hipotesis baru, diabetes melitus awal terjadinya lesi aterosklerosis yaitu berupa adanya perubahan-perubahan fungsi sel endotel

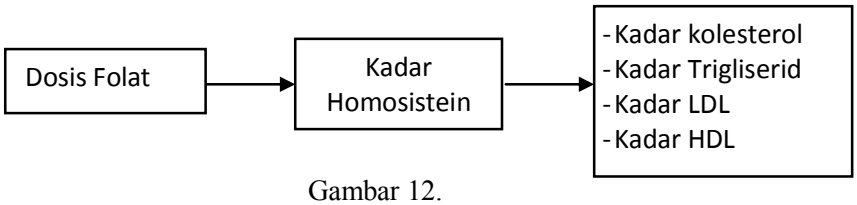
2.5. Kerangka Teori



Gambar 11.
Kerangka teori

2.6. Kerangka Konsep

Beberapa variabel yang ada dalam kerangka teori, akan di tentukan variable yang diteliti untuk mengetahui hubungannya sesuai dengan tujuan penelitian.



Gambar 12.
Kerangka konsep

2.7. Hipotesis

Hipotesis mayor:

Pemberian folat dosis bertingkat selama 30 hari berpengaruh terhadap Hcy dan profil lipid pada tikus *SD* yang diinduksi *STZ* .

Hipotesis minor:

4. Pemberian folat 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm selama 30 hari menurunkan kadar Hcy serum pada tikus SD yang diinduksi STZ dibandingkan sebelum pemberian folat.
5. Pemberian folat 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm selama 30 hari menurunkan kadar kolesterol, trigliserid, LDL serum pada tikus SD yang diinduksi STZ dibandingkan sebelum pemberian folat.
6. Pengaruh pemberian folat 2 ppm, 4 ppm dan 8 ppm selama 30 hari meningkatkan kadar HDL serum pada tikus SD yang diinduksi STZ dibandingkan sebelum pemberian folat.