

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

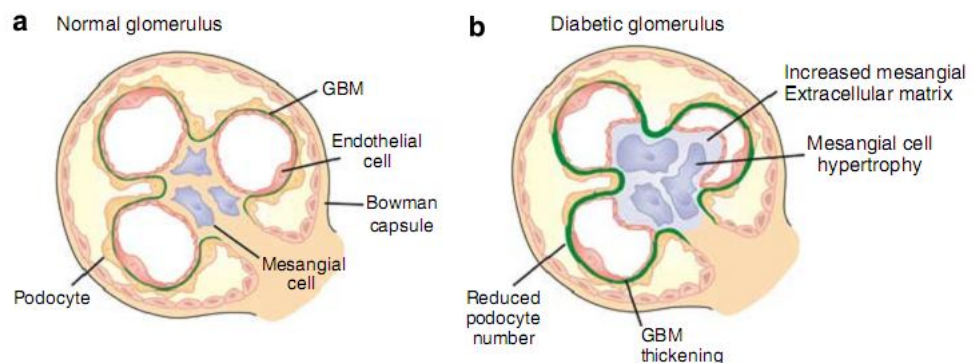
#### 2.1. Ekspresi laminin mesangial pada DM

Sel mesangial glomerulus bersama dengan matriks disekitarnya merupakan mesangium. Sel mesangial dikelilingi oleh matriks mesangial. Komponen matriks mesangial terdiri dari kolagen tipe IV, glikosaminoglikan sulfat, fibronektin dan laminin. Matriks mesangial berfungsi sebagai pengatur migrasi sel, pembelahan sel, penyaring serta sebagai penyimpan faktor pertumbuhan. Sel mesangial merupakan *pericytes* dengan fungsi utamanya memberi dukungan struktur, mengatur aliran darah kapiler glomerulus serta mengatur pergantian matriks mesangial, mensintesis TGF- $\beta$  yang merupakan mediator kunci dalam perkembangan penyakit ginjal, serta mengekspresikan reseptor untuk merespon substansi vasoaktif termasuk angiotensin II.<sup>22,23,24</sup>

Laminin merupakan glikoprotein non-kolagen, terdiri dari tiga rantai polipeptida yang berbeda ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), sebelas rantai laminin yang berbeda terdiri dari lima  $\alpha$ , tiga  $\beta$  dan tiga  $\gamma$ , merupakan komponen utama mesangium dan GBM serta terdapat pada semua ECM. Laminin berperan pada perkembangan dan perbaikan mikrovaskular serta pada proses glomerulogenesis, merupakan supramolekul perakit ECM dan stabilitas GBM dan membantu memediasi berbagai fungsi sel termasuk pertumbuhan, diferensiasi serta sebagai faktor pendukung.<sup>25,26</sup> Kelainan deposisi laminin terjadi pada berbagai penyakit

termasuk pada DM. Parenkim ginjal DM tipe I terjadi peningkatan laminin dalam mesangium ginjal diabetes.<sup>9</sup>

Perubahan karakteristik glomerulus pada ginjal diabetes meliputi penebalan GBM dan ekspansi mesangial sebagai akibat peningkatan matriks mesangial dan ukuran sel mesangial karena hipertrofi sehingga menyebabkan berkurangnya permukaan filtrasi yang menyebabkan berkurangnya laju filtrasi glomerulus (Lihat gambar 1), hal ini sesuai dengan pernyataan Catherwood dkk yang menyatakan pada diabetes secara *in vitro* terjadi perubahan struktur pada sel mesangial yaitu pembesaran mesangium yang tercermin dalam peningkatan produksi protein *extracellular matrix* (ECM) oleh sel mesangial pada kondisi glukosa tinggi.<sup>6,27,28</sup>



Gambar 1. Perubahan karakter glomerulus pada penyakit ginjal diabetes

Sumber : Jefferson JA, 2008

ECM berperan penting pada fungsi fisiologis yang merupakan faktor utama patogenesis komplikasi DM.<sup>8</sup> Keseimbangan antara sintesis dan degradasi ECM merupakan syarat untuk mempertahankan integritas struktural dan fungsional glomerulus.<sup>10</sup> Perubahan biosintesis laminin dan kolagen tipe IV berperan

terhadap berkurangnya selektifitas permeabilitas glomerular pada hewan coba DM.<sup>8</sup>

Kadar glukosa dan glukosamin meningkatkan sintesis laminin. Penelitian terhadap pengaruh paparan sel terhadap glukosa dan glukosamin yang tinggi terhadap sintesis laminin dan aktivitas PKC dan PKA pada sel mesangial ginjal tikus menunjukkan pada jangka waktu 48 jam, glukosa dan glukosamin yang tinggi meningkatkan sintesis laminin dalam sel mesangial.<sup>7</sup> Hasil studi *immunofluorescence* pada tikus diabetes menunjukkan terjadinya akumulasi laminin dan kolagen tipe IV pada mesangial glomerulus dan dinding kapiler. Penelitian lain menunjukkan adanya penebalan GBM dan peningkatan komponen matrik mesangial pada tikus diabetes nonterapi.<sup>8</sup>

## **2.2. Faktor – faktor yang mempengaruhi ekspresi laminin mesangial**

Mekanisme glukosa meningkatkan produksi protein ECM disebabkan oleh beberapa faktor, antara lain formasi *advanced glycosylation end products* (AGEs), aktivasi protein kinase C (PKC), peningkatan produksi *transforming growth factor-β* (*TGF-β*), jalur NF-κB/NADPH oksidase/*reactive oxygen species* (ROS), angiotensin II serta *hexosamine biosynthesis pathway* (HPB).<sup>6,7,8,11</sup>

### **2.2.1. Reactive oxygen species (ROS)**

Studi klinis dan eksperimental menunjukkan stres oksidatif mempunyai peran penting dalam timbulnya DM serta perkembangan komplikasi yang diakibatkannya.<sup>12,25</sup>

ROS pada kondisi fisiologis dihasilkan secara terus menerus yang secara efektif dihilangkan oleh sistem antioksidan. ROS terdiri dari superoksida atau

radikal hidroksil dan alkoxyl, peroksil dan derivat non-radikal oksigen lainnya terutama hidrogen peroksida dan ozon yang berperan penting pada sinyal sel, penuaan dan penyakit degeneratif. Produksi ROS harus seimbang dengan aktivitas antioksidan, ketika jumlah ROS melebihi kekuatan pertahanan seluler atau dalam kondisi menurunnya produksi antioksidan dapat menyebabkan peningkatan cedera jaringan oksidan atau stres oksidatif.<sup>29</sup>

Ginjal DM rentan terhadap terjadinya kerusakan terutama pada struktur dan kerusakan fungsional yang disebabkan oleh ROS sebagai akibat hiperglikemi kronis. Konsentrasi glukosa yang tinggi menyebabkan stres oksidatif dengan menghasilkan ROS melalui jalur enzimatik dan non-enzimatik dalam tubuh. Sumber utama ROS pada DM adalah melalui jalur poliol, AGEs dan NADPH oksidase dalam sel glomerulus dan tubulus yang menyebabkan kerusakan / cedera jaringan ginjal.<sup>29</sup> NADPH oksidase merupakan turunan dari ROS menyebabkan proliferasi sel mesangial dan ekspresi fibronektin.<sup>30</sup>

### **2.2.2. Jalur poliol**

Glukosa yang tidak digunakan dialihkan ke jalur poliol dengan menggunakan dua reaksi enzimatik, yang pertama pengurangan glukosa menjadi sorbitol oleh aksi aldosa reduktase dan oksidasi kedua adalah sorbitol menjadi fruktosa oleh aksi sorbitol dehidrogenase. Pengurangan glukosa menjadi sorbitol menggunakan NADPH, oksidasi sorbitol meningkatkan NADPH dengan menghasilkan perubahan secara cepat dalam sitoplasma dan meningkatkan produksi ROS. Hiperglikemi kronis meningkatkan pembentukan ROS, hal ini menyebabkan konsumsi berlebihan NADPH dalam jalur poliol sehingga

menghambat glutasi tereduksi yang merupakan substrat penting pada *gluthation-peroxidase*. *Gluthation-peroxidase* merupakan mediasi aktivitas antioksidan seluler sehingga dapat mengganggu fungsi antioksidan.<sup>29</sup> Perubahan galaktosa menyebabkan perubahan ECM yang berhubungan dengan peningkatan kadar poliol (*galactitol*) yang menurunkan *myo-inositol*. Paparan tinggi galaktosa berhubungan dengan akumulasi poliol (*galactitol*), peningkatan NADH/NAD<sup>+</sup> dan penurunan kadar *myo-inositol* yang memungkinkan ketidakseimbangan metabolik yang berpartisipasi pada patogenesis perubahan ECM.<sup>9</sup>

### **2.2.3. *Advanced glycation end products (AGEs)***

AGEs merupakan sekelompok molekul senyawa heterogen yang terbentuk dari nonenzimatik melalui interaksi gula pereduksi dengan gugus amino bebas protein, lipid dan asam nukleat.<sup>29</sup> AGEs merupakan salah satu kontributor utama pada komplikasi DM. Semua struktur ginjal rentan terhadap akumulasi AGEs termasuk GBM, mesangial dan sel endotel, podocyte serta tubulus.<sup>30</sup> AGEs pada konsentrasi yang tinggi dalam tubuh merupakan racun yang dapat memodifikasi struktur protein intraseluler yang terlibat dalam transkripsi gen, serta dapat menyebabkan kerusakan pada membran biologis dan endotelium. AGEs berdifusi ke ruang ekstraseluler dan langsung memodifikasi protein ekstraseluler seperti laminin dan fibronectin sehingga mengganggu sinyal antara matriks.<sup>2</sup>

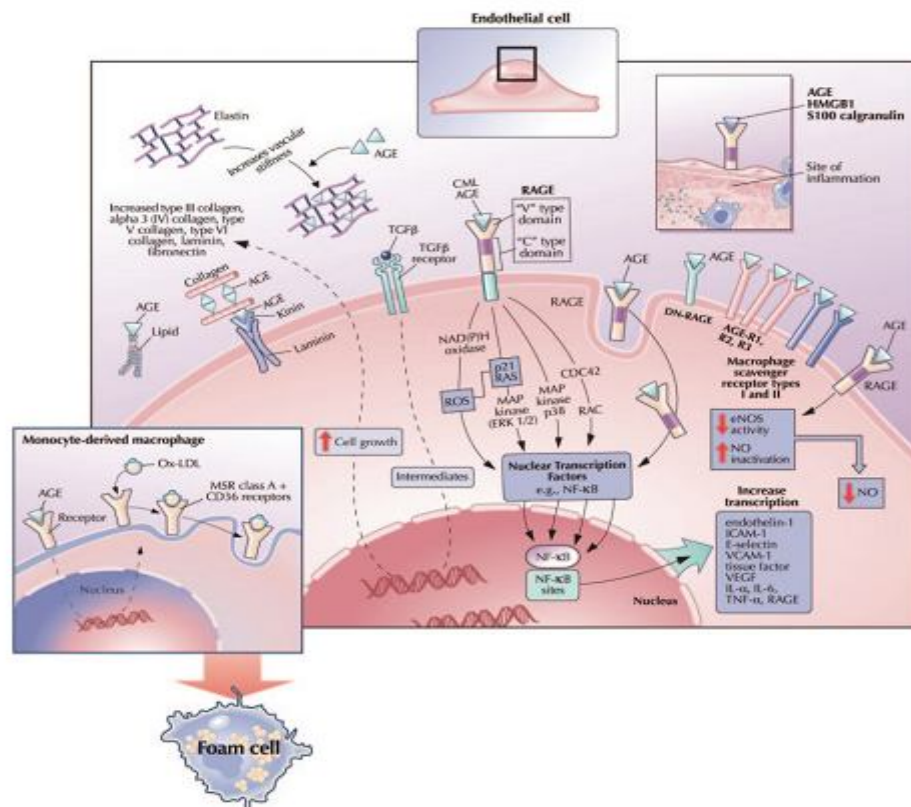
Mekanisme umum AGEs berkontribusi terhadap komplikasi DM melalui (1) pembentukan cross-links antara molekul kunci pada membran basal dari ECM yang secara permanen merubah struktur sel, (2) interaksi AGEs dengan RAGE pada permukaan sel merubah fungsi seluler (lihat gambar 2).<sup>31</sup>

AGEs berefek melalui reseptor dan berikatan dengan protein antara lain RAGE dan AGEs, selanjutnya ikatan AGE dan RAGE berpotensi mengaktifkan NADPH yang menyebabkan peningkatan produksi ROS di ginjal. Ikatan RAGE mengaktifkan *PKC- $\alpha$ -mediated* mengaktifkan NADPH dan NF- $\kappa$ B yang menyebabkan produksi sitokin inflamasi dan generasi mitokondria ROS yang lebih lanjut menyebabkan stres oksidatif yang menyebabkan gangguan atau kerusakan pada ginjal.<sup>29</sup>

Akumulasi AGEs pada protein ECM dapat menyebabkan pembentukan *cross-links* yang merupakan perangkap makromolekul lokal. AGEs dapat mengubah sifat protein matriks kolagen, laminin dan fibronectin melalui *AGE-intermolecular covalent bonds*. Formasi AGEs pada laminin menyebabkan penurunan ikatan dengan kolegen tipe IV serta mengurangi pemanjangan polimer dan penurunan ikatan *heparin sulfat proteoglycan*. AGEs menyebabkan fungsi ECM menjadi terganggu dengan mengubah struktur dan fungsi pembuluh darah yang utuh.<sup>27</sup> Kontrol DM yang buruk, menyebabkan ditemukannya laminin dan kolagen tipe IV sebagai hasil *non-enzymatically glycated* dengan kemampuan mengikat heparin yang menurun.<sup>7</sup>

AGEs dalam ECM terbentuk pada berbagai molekul yang berbeda termasuk lipid, kolagen, laminin, elastin dan fibronectin. Pembentukan AGEs pada molekul ECM mengubah konstitusi matriks dan menyebabkan kekakuan. AGEs juga mengaktifkan *transforming growth factor-receptor* untuk menstimulasi pertumbuhan sel menyebabkan peningkatan produksi ECM. AGEs

berikatan dengan RAGE pada permukaan sel endotel menyebabkan kaskade sinyal menstimulasi oksidasi NADPH dan peningkatan produksi ROS.<sup>31</sup>



Gambar 2. Mekanisme EGEs menyebabkan komplikasi DM

Sumber : Goldin A, 2011.

#### 2.2.4. NADPH /NF-κB

NADPH oksidase merupakan sumber utama ROS pada DM. NADPH oksidase terletak pada membran plasma dari berbagai jenis sel ginjal termasuk sel

mesangial. NADPH oksidase terdiri dari enam sub unit, yaitu dua komponen membran (p22 fagositosis oksidase (phox) dan gp91phox) dan empat komponen sitosol (p47phox, p40phox, p67phox dan GTPase Rac kecil). Ketiga protein sitosol (p47phox, p67phox dan GTPase Rac kecil) mengaktifkan NADPH oksidase sehingga menghasilkan superoksida yang disebut ROS.<sup>29</sup>

NADPH oksidase terdiri dari beberapa isoform sebagai keluarga nox, terutama isoform nox4, protein asam amino 578 yang merupakan sumber utama ROS pada ginjal. NADPH oksidase dari ROS berperan penting pada hiperglikemi menyebabkan stres oksidatif yang pada ginjal menyebabkan peningkatan ekspresi ECM dan ekspansi mesangial.<sup>29</sup>

Penelitian secara *in vivo* dan *in vitro* DM menunjukkan pembentukan NADPH oksidase dan produksi ROS secara konstan dalam sel mesangial. NADPH oksidase merupakan sumber oksidan utama pada tubular sel epitel dan sel mesangial glomerulus. NADPH oksidase merupakan turunan dari ROS menyebabkan proliferasi sel mesangial dan ekspresi fibronektin melalui JNK/NF- $\kappa$ B/NADPH oksidase/jalur ROS.<sup>11</sup>

#### **2.2.5. Transforming growth factor- $\beta$ (TGF- $\beta$ )**

*Growth factor* (GH) yang terdapat dalam jaringan ginjal antara lain TGF- $\beta$ , ang II dan *insulin-like growth factor I* (IGF-I). GH berperan dalam akumulasi ECM. Konsentrasi glukosa yang tinggi menyebabkan peningkatan ekspresi dan bioaktivitas TGF- $\beta$  mRNA pada sel mesangial dan sel tubulus proksimal, dimana glukosa yang tinggi menyebabkan dua kali lipat tingkat TGF- $\beta$  mRNA. ROS dapat mengaktifkan TGF- $\beta$  secara langsung atau tidak langsung melalui aktivasi



enzim proteolitik. TGF- $\beta$  meningkatkan akumulasi protein ECM dalam sel, penetralan antibodi terhadap TGF- $\beta$  melemahkan stimulasi protein matrik oleh glukosa yang tinggi.<sup>7,22</sup>

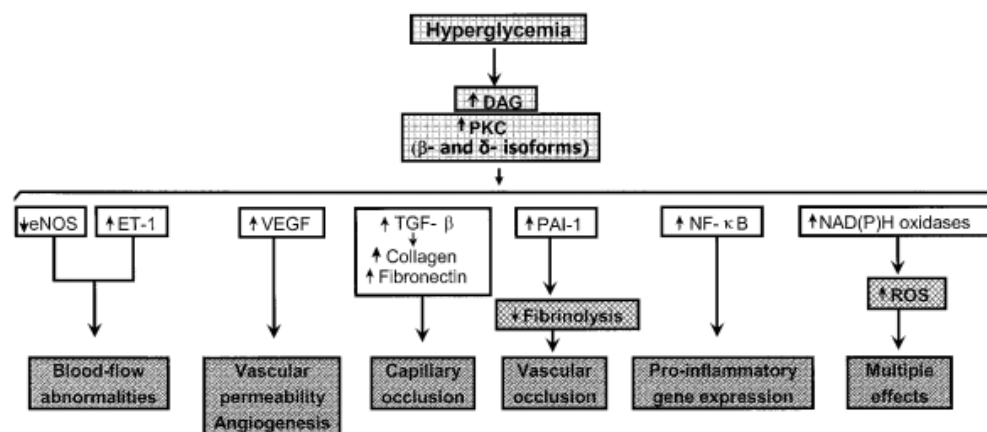
#### **2.2.6. Hexamine biosintesis pathway (HBP)**

Penelitian menunjukkan efek glukosa yang tinggi pada metabolisme seluler dimediasi oleh *hexamine biosintesis pathway* (HBP) dengan mengubah *fructose-6-phosphate* menjadi *glucosamine-6-phosphate* oleh *the rate-limiting enzyme, glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase* (GFA). HBP berperan sebagai penengah efek glukosa terhadap organ tubuh. HPB berhubungan dengan kadar glukosa dalam menyebabkan perubahan pertumbuhan sel dan ekspresi GH, mengatur TGF- $\beta$ 1 dalam ginjal terutama pada sel mesangial dan sel tubulus proksimal serta berperan dalam memediasi efek glukosa pada ECM yang didukung oleh kemampuan 2 inhibitor GFA yang dapat melemahkan kemampuan kadar glukosa yang tinggi dalam meningkatkan laminin dan fibronektin. HPB meningkatkan laminin melalui mekanisme PKC sebagai akibat paparan jangka panjang sel terhadap PMA *bloked glucosamin* yang menyebabkan peningkatan laminin.<sup>7</sup>

#### **2.2.7. Aktivitas protein kinase C (PKC)**

PKC merupakan keluarga berhubungan dengan enzim yang menfosforilasi residu serine/treonin pada berbagai protein intraseluler dan terlibat dalam berbagai fungsi seluler.<sup>32</sup> Aktivasi kronis PKCs membutuhkan peningkatan DAG. Hiperglikemi dalam sel meningkatkan sintesis molekul yang disebut *diacylglycerol* (DAG) yang merupakan aktivasi kofaktor penting untuk Protein

Kinase C,  $-\beta$ ,  $-\delta$  dan  $-\alpha$ . PKC teraktivasi oleh hiperglikemi intraseluler menyebabkan berbagai efek pada ekspresi gen (Lihat gambar 3).<sup>33</sup>



Gambar 3. Konsekuensi hiperglikemi dari aktivasi PKC  
Sumber : Brownlee M, 2005

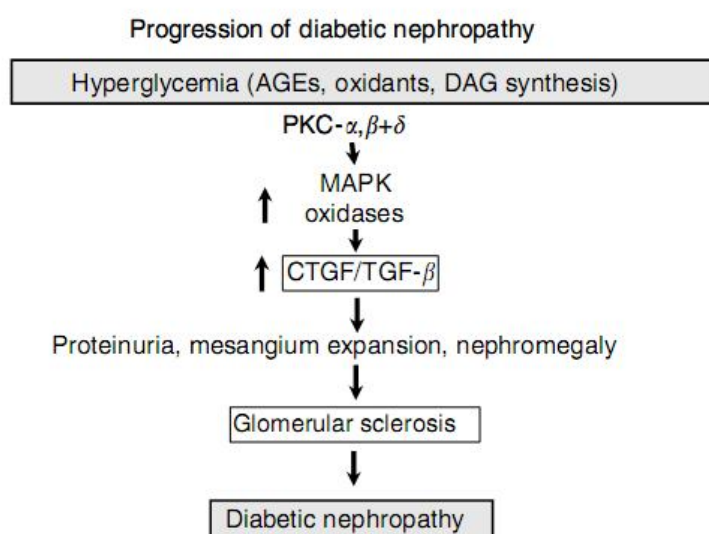
Hiperglikemi dapat meningkatkan aktivitas PKC yang menyebabkan aktivasi dari beberapa isoform dari *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (bentuk turunan; NADPH) oksidasi sehingga menghasilkan oksidan yang berlebihan. Peningkatan kadar oksidan yang berkombinasi dengan PKC menyebabkan aktivasi *mitogen-activated kinase* menyebabkan produksi berlebihan *fibrotic growth factor* (Lihat gambar 4).<sup>34</sup>

Glukosa yang tinggi menyebabkan peningkatan aktivitas protein kinase C (PKC) dari hari ke minggu. Aktivasi PKC oleh hiperglikemi meningkatkan ekspresi TGF- $\beta$  mRNA dan bioaktivitasnya. PKC adalah mediator yang menyebabkan sintesis TGF- $\beta$  yang disebabkan oleh kadar glukosa yang tinggi.<sup>7</sup>

Penelitian mengidentifikasi TGF- $\beta$ 1 berperan penting terhadap terjadinya akumulasi ECM. Aktivasi PKC dapat meningkatkan produksi ECM dan ekspresi TGF- $\beta$ 1, dimana PKC *inhibitors* dapat mencegah hiperglikemi atau diabetes

menyebabkan akumulasi ECM dan produksi TGF- $\beta$ 1 di sel mesangial atau glomerulus ginjal.<sup>34</sup>

Pelitian terhadap pengaruh jangka panjang (48 jam) paparan sel terhadap glukosa dan glukosamin yang tinggi terhadap sintesis laminin dan aktivitas PKC-PKA pada sel mesangial ginjal tikus menunjukkan glukosa dan glukosamin yang tinggi meningkatkan sintesis laminin dalam sel mesangial.<sup>7</sup> Penelitian lain menyatakan DM menyebabkan aktivasi PKC- $\alpha$  secara signifikan berkontribusi pada akumulasi kolagen IV, laminin, fibronektin dengan peningkatan ekspresi TGF- $\beta$  pada glomerulus tikus DM, selain itu PKC mendukung produksi ROS.<sup>29</sup>



Gambar 4. Peran Hiperglikemia mengaktifkan PKC dan meningkatkan *connective tissue growth factor* dan TGF- $\beta$  menyebabkan ekspansi mesangium.

Sumber : Noh H, 2007

### 2.2.8. Angiotensin II

*Growth factor systems* berperan dalam menengahi pengaruh kadar glukosa yang tinggi dalam sel mesangial, meliputi *renin-angiotensin system (RAS)*, the

*insulin-like growth factor (IGF) axis*, dan *TGF- $\beta$* . Konsentrasi glukosa yang tinggi merangsang RAS dalam sel mesangial menyebabkan peningkatan produksi ang II dan mengaktifkan sinyal Ang II melalui reseptor AT1. Penelitian pada kultur sel mesangial glomerulus menunjukkan pengobatan terhadap ang II meningkatkan sintesis protein ECM termasuk fibronektin dan laminin.<sup>35</sup>

Peningkatan ang II berperan penting dalam patogenesis diabetes nefropati, hal ini disebabkan penyempitan arteri preferensial eferan glomerulus sehingga terjadi peningkatan permeabilitas kapiler terhadap protein, ang II mempengaruhi sistesis glomerulus dan protein mesangial serta fungsi mesangial serta merangsang pembentukan *advanced glycation end products* (AGEs) serta merangsang proliferasi sel mesangial dan akumulasi matrik mesangial dengan menginduksi *proinflamasi* dan *fibrogenic sitokin*, *kemokin* dan *GH*.<sup>8,36</sup>

### **2.3. DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.)**

#### **2.3.1. Morfologi**

Daun Salam adalah Daun *Syzygium polyanthum* (wight.) Walp.<sup>37</sup> Daun tunggal, letak berhadapan, bertangkai dengan panjang  $\frac{1}{2}$  - 2 cm. Helai daun berbentuk lonjong sampai elips atau bundar telur sungsang, ujung meruncing, pangkal runcing, tepi rata, panjang 5-15 cm, lebar 3-8 cm, pertulangan menyirip, permukaan atas licin berwarna hijau tua, permukaan bawah warnanya hijau muda. Daun bila diremas berbau aromatik lemah; rasa kelat atau sepat; harum adstringen.<sup>16, 37,38</sup>

#### **2.3.2. Taxonomy**

Secara ilmiah, Daun salam bernama *Eugenia polyantha* Wight dengan sinonim *Eugenia lucidula* Miq dan *Syzygium polyanthum* Wight.<sup>39</sup> Tanaman ini

termasuk divisi *Spermatophyte*, sub-divisi *Pinophyta*, kelas *Coniferopsida*, pada keluarga *Eugenia* dan merupakan spesies *Eugenia polyanthum* (Wight) walp.<sup>16</sup>

### **2.3.3. Manfaat**

Daun Salam dapat dimanfaatkan sebagai pelengkap bumbu masak, secara tradisional dapat digunakan untuk menurunkan kadar kolesterol tinggi, diare, hipertensi dan DM.<sup>16</sup> Penelitian Setiawan menunjukkan pemberian ekstrak etanolik daun salam dosis 2,62 mg/20gBB dan 5,24 mg/20 BB dapat menurunkan secara bermakna kadar glukosa darah mencit jantan yang diinduksi aloksan.<sup>40</sup>

### **2.3.4. Kandungan Kimiawi**

Analisis fitokimia ekstrak etanol daun salam (EEDS) menunjukkan daun salam mengandung alkaloid, karbohidrat, tanin, steroid, triterpenoid, flavonoid, minyak atsiri, sitral dan eugenol, tanin serta saponin pada buah Salam.<sup>38,40</sup> Saponin menunjukkan sifat hipokolesterolemik, steroid dan triterpenoid bersifat analgesik, flavonoid bersifat antibakteri, antioksidan, anti-inflamasi, anti-alergi, antimutagenik, dan aktivitas vasodilatasi, Steroid dan triterpenoid bersifat analgesik.<sup>41</sup> Bentuk senyawa flavonoid pada daun salam termasuk gallic acid, eugenol, kaemferol dan quercetin yang berkontribusi dalam antioksidan.<sup>15</sup>

### **2.3.5. Aktifitas flavonoid terhadap DM**

Daun Salam yang dapat digunakan sebagai antidiabetik ataupun antioksidan hanya ditentukan berdasarkan satu tempat, pohon salam berusia 7 tahun dengan ketinggian 3-5 meter dengan diameter 20 cm. kemudian dipotong kecil-kecil dan dibuat ekstrak, dikeringkan selama tiga hari dan di blender.<sup>40,42</sup>

Studi klinis dan eksperimental menunjukkan bahwa stres oksidatif mempunyai peran penting dalam timbulnya DM serta perkembangan komplikasi

yang diakibatkannya. Stres oksidatif meningkat pada DM karena peningkatan produksi ROS dan kekurangan pertahanan mekanisme antioksidan. Sumber produksi ROS pada DM berasal dari non-mitokondria dan mitokondria. Radikal bebas terbentuk secara tidak proporsional pada diabetes, terbentuk oleh *glucose oxidation, non-enzymatic glycation of proteins, and the subsequent oxidative degradation of glycated*. Tingginya radikal bebas dan menurunnya mekanisme pertahanan antioksidan menyebabkan kerusakan organel sel dan enzim, peningkatan peroksida lipid dan berkembangnya resistensi insulin, selain itu ROS mempercepat empat mekanisme molekuler penting yang terlibat dalam kerusakan jaringan oksidatif yang disebabkan oleh hiperglikemia. Keempat jalur tersebut adalah meningkatnya AGEs, meningkatkan jalur *hexosamine*, aktivasi protein kinase C dan peningkatan jalur polioliol.<sup>12</sup>

Glukosa tinggi menyebabkan produksi ROS pada sel mesangial melalui aktivasi NADPH oksidase dan metabolisme mitokondria. Kadar glukosa yang tinggi menyebabkan peningkatan aktivasi NADPH oksidase dan produksi ROS dalam sel mesangial ginjal. NADPH oksidase yang merupakan turunan dari ROS menyebabkan proliferasi sel mesangial dan ekspresi fibronectin. NADPH oksidase merupakan sumber oksidan utama pada tubular sel epitel dan sel mesangial glomerulus. Penelitian secara *in vivo* dan *in vitro* menunjukkan pengaturan NADPH oksidase dan produksi ROS secara konstan dalam sel mesangial.<sup>11</sup>

Pendekatan antioksidan dapat mengontrol produksi radikal bebas dan meningkatkan pertahanan antioksidan intraseluler. Penelitian menunjukkan

flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik yang memiliki sifat antioksidatif serta berperan dalam mencegah kerusakan sel dan komponen selularnya oleh ROS.<sup>43</sup> Perumal membuktikan daun salam mempunyai kandungan flavonoid  $65,2 \pm 1,83$  mgCE/gram dan mempunyai aktivitas antiradikal.<sup>17</sup>

Flavonoid digambarkan sebagai properti yang paling berguna, dimana hampir semua kelompok flavonoid mempunyai kemampuan sebagai antioksidan. Flavonoid mempunyai efek yang paling kuat melindungi tubuh terhadap ROS serta mampu mencegah cedera akibat radikal bebas melalui berbagai cara salah satunya melalui cara langsung dengan *scavenging* radikal bebas. Flavonoid mengoksidasi radikal bebas sehingga lebih stabil serta mengurangi reaktivasi radikal. Flavonoid menstabilkan ROS melalui reaktivitas ikatan radikal bebas, karena reaktivitas yang tinggi dari kelompok *hydroxyl* flavonoid membuat *inactive* radikal bebas.<sup>14</sup>

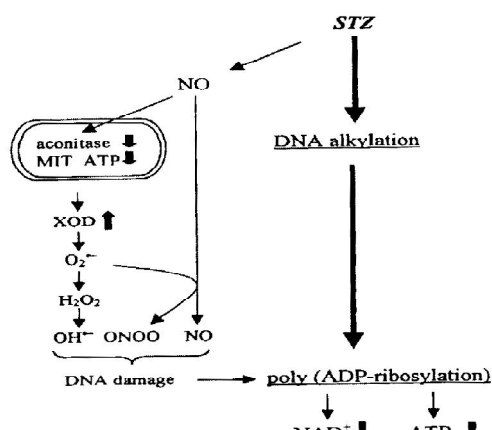
#### **2.4. Tikus DM yang diinduksi streptozotocin (STZ)**

Penelitian tentang DM dilakukan menggunakan hewan percobaan didasarkan pada patogenesis penyakit pada manusia. Berdasarkan metoda pelaksanaannya hewan percobaan DM, salah satunya dapat dilakukan dengan cara terinduksi (*induced*), melalui pankrektomi, senyawa kimia (diabetogenik) dan virus. Eksperimental laboratorium secara induksi dilakukan dengan beberapa metode, salah satunya dengan membuat hewan coba menjadi DM dengan menyuntikkan senyawa diabetogenik seperti streptozotocin (STZ). Streptozotocin atau *2-deoksi-2-(3-(meta-3-nitrosoureido)-D-gluko piranose)* merupakan *derivate*

*nitrosuria* yang diisolasi dari *Streptomyces achromogenes* yang mempunyai aktivitas antineoplasma dan antibiotik spektrum luas. Struktur kimia dari STZ.<sup>44</sup>

STZ menyebabkan diabetes ringan sampai berat tergantung pada dosis yang diberikan baik secara intra vena (i.v) maupun intra peritoneal (i.p).<sup>45</sup> Dosis STZ yang digunakan untuk menginduksi DM tipe 1 adalah 40-60 mg/kg BB secara iv, sedangkan untuk ip dapat menggunakan dosis yang sama atau lebih besar, tetapi dosis tunggal dibawah 40 mg/kgBB tidak efektif. STZ dapat diberikan dengan dosis berulang, untuk menginduksi DM tipe 2 STZ diberikan secara iv dosis 100 mg/kgBB pada tikus *neonatus* (usia 2 hari).<sup>46</sup>

Binatang pengerat ( *Rodent* ) biasa digunakan sebagai hewan uji pada penelitian DM dengan induksi senyawa diabetogenik.<sup>45</sup> Jenis kelamin dan latar belakang genetik akan mempengaruhi kerentanan hewan pengerat (*Rodent*) terhadap kerusakan pankreas akibat induksi STZ dan peningkatan kerusakan ginjal pada diabetes. Hewan pengerat jantan mempunyai kepekaan yang lebih tinggi terhadap induksi STZ dan lebih mudah menjadi hiperglikemi.<sup>47</sup> Sz kudelski mekanisme induksi kerusakan sel  $\beta$  pancreas pada tikus oleh STZ (Lihat gambar 5).<sup>4</sup>





Gambar 5. Mekanisme induksi kerusakan sel  $\beta$  pancreas pada tikus oleh streptozotocin  
MIT = mitokondria; XOD = xanthine oksidase  
Sumber : Szkudelski, 2001

STZ menembus sel  $\beta$  Langerhans melalui transporter glukosa GLUT 2. Aksi STZ intraseluler menghasilkan perubahan DNA sel  $\beta$  pankreas. Alkilasi DNA oleh STZ melalui gugus *nitrosourea* mengakibatkan kerusakan sel  $\beta$  pankreas. STZ merupakan donor *nitrit oksid* (NO) yang mempunyai kontribusi terhadap kerusakan sel melalui peningkatan aktivitas guanililsiklase dan pembentukan cGMP. STZ menghambat siklus Krebs dan menurunkan konsumsi oksigen mitokondria. Produksi ATP mitokondria yang terbatas selanjutnya mengakibatkan penurunan nukleotida sel  $\beta$  pankreas secara drastis.<sup>46</sup>