

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. LATAR BELAKANG**

Diabetes melitus (DM) merupakan masalah kesehatan utama diseluruh dunia dengan prevalensi yang semakin meningkat. *World health organisation* (WHO) menyatakan lebih dari 180 juta orang diseluruh dunia menderita DM dan secara global menunjukkan adanya peningkatan yaitu 366 juta orang akan menderita DM pada tahun 2030.<sup>1</sup> DM merupakan gangguan metabolik kronik, progresif dengan hiperglikemia sebagai tanda utama karena kekurangan insulin secara absolut (DM tipe 1) atau secara relatif (DM tipe 2).<sup>2</sup> Diagnosa DM ditegakkan jika memenuhi salah satu kriteria sebagai berikut yaitu kadar gula puasa  $\geq 126$  mg/dl (7,0 mmol/l), gula darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dl serta adanya gejala khas DM yaitu polifagi, polidipsi, poliuri, penurunan berat badan.<sup>3</sup>

DM berpengaruh pada sistem tubuh karena gangguan metabolisme yang disebabkan oleh hiperglikemi.<sup>3</sup> DM penyumbang utama angka kejadian morbiditas dan mortalitas dalam masyarakat.<sup>4</sup> DM menyebabkan komplikasi diantaranya penyakit *peripheral arteri*, *chronic heart failure* (CHF), *stroke*, *retinopathy*, *chronic renal failure* (CRF) serta *neuropathy* yang menyebabkan ulkus pada kaki dan amputasi pada ekstremitas bawah.<sup>5</sup>

Penelitian DM secara *in vitro* menunjukkan adanya perubahan struktur sel mesangial diabetes. Kondisi glukosa yang tinggi mengakibatkan mesangium mengalami pembesaran, tercermin pada peningkatan produksi *extracellular*

*matrix* (ECM) oleh sel mesangial.<sup>6</sup> Studi laboratorium menunjukkan peningkatan kadar glukosa dalam sel mesangial dan sel tubulus menyebabkan peningkatan secara signifikan sintesis dan akumulasi komponen ECM seperti kolagen tipe IV, laminin, fibronektin dan proteoglikan.<sup>7</sup> Penebalan *glomerular basement membrane* (GBM) dan peningkatan komponen ECM terjadi pada jangka pendek DM yang disebabkan karena adanya gangguan keseimbangan antara peningkatan produksi atau penurunan serta perlekatan komponen ECM, penelitian lain menyatakan perubahan ECM pada kadar glukosa yang tinggi tidak dapat diobservasi sebelum 2 minggu.<sup>8,9</sup>

Keseimbangan antara sintesis dan degradasi ECM merupakan syarat untuk mempertahankan integritas struktural dan fungsional glomerulus.<sup>10</sup> Ekspansi sel mesangial pada tahap lanjut menghilangkan lumen kapiler glomerulus dan permukaan filtrasi sehingga menyebabkan terjadinya penurunan fungsi glomerulus.<sup>9</sup>

Kadar glukosa dan glukosamin meningkatkan sintesis laminin. Penelitian terhadap pengaruh kadar glukosa dan glukosamin yang tinggi terhadap sintesis laminin dan aktivitas PKC dan PKA menunjukkan terjadi peningkatan sintesis laminin pada sel mesangial dalam waktu 48 jam, hal ini sesuai dengan hasil studi *immunofluorescence* yang menunjukkan terjadinya akumulasi laminin dan kolagen tipe IV pada mesangial glomerulus dan dinding kapiler pada tikus diabetes, terjadinya perubahan biosintesis laminin dan kolagen tipe IV berperan terhadap berkurangnya selektifitas permeabilitas glomerular pada hewan coba DM.<sup>7,8</sup>

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

Glukosa tinggi menyebabkan produksi ROS pada sel mesangial melalui aktivasi NADPH oksidase dan metabolisme mitokondria. NADPH oksidase adalah turunan dari ROS yang merupakan sumber oksidan utama pada sel ginjal yang menyebabkan proliferasi sel mesangial.<sup>11</sup> ROS mempercepat empat mekanisme molekuler penting yang terlibat dalam kerusakan jaringan oksidatif yang disebabkan oleh hiperglikemia. Keempat jalur tersebut adalah peningkatan AGEs, peningkatan jalur *hexosamine*, aktivasi protein kinase C dan peningkatan jalur poliol.<sup>12</sup>

Studi kultur sel dan model hewan diabetes menunjukkan penghambatan generasi ROS mencegah amplifikasi sinyal ekspresi gen yang menyebabkan komplikasi vaskular. Pencegahan atau menurunkan produksi ROS dapat menghentikan kerusakan organ mikro dan makrovaskular pada awal DM termasuk nefropati, retinopati, dan aterosklerosis pembuluh darah besar.<sup>13</sup>

Perhatian sekarang beralih pada pengembangan antioksidan yang lebih efektif serta dapat digunakan dalam uji klinis pencegahan dan pengobatan komplikasi DM. Antioksidan merupakan zat yang menghambat oksidasi dan menjaga tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Antioksidan dapat

dikategorikan sebagai antioksidan alami atau buatan. Antioksidan buatan dapat dikembangkan lebih lanjut dengan meningkatkan bioavailabilitas dan farmakokinetik.<sup>13,14</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.<sup>14</sup>

Daun salam atau *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp atau *Eugenia polyantha* banyak tumbuh dan mudah diperoleh di Indonesia, digunakan sebagai rempah-rempah karena cita rasanya, dimanfaatkan sebagai pelengkap bumbu masak dan dikenal secara tradisional dapat menurunkan kadar kolesterol, diare, hipertensi dan DM. Analisis fitokimia menunjukkan ekstrak etanol daun salam (EEDS) mengandung alkaloid, karbohidrat, tanin, steroid, triterpenoid dan flavonoid serta saponin pada buah salam. Penelitian membuktikan daun salam mempunyai kandungan flavonoid  $65,2 \pm 1,83$  mgCE/gram dan mempunyai aktivitas antiradikal.<sup>15,16,17</sup>

Hasil penelitian menunjukkan flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik yang memiliki sifat antioksidatif serta berperan dalam mencegah kerusakan sel dan komponen selularnya oleh radikal bebas reaktif. Bentuk senyawa flavonoid yang berkontribusi sebagai antioksidan adalah *gallic acid*, *eugenol*, *kaemferol* dan *quercetin*.<sup>15</sup> Hasil uji antioksidan dengan metode difenilpicril hidrasil ( DPPH ) pada EEDS yaitu  $IC_{50} = 89.627$ , konsentrasi

senyawa antioksidan yang terkandung dalam daun salam menyebabkan lebih dari 50% DPPH mengalami penurunan karakter radikal bebas lebih besar dari vitamin C yaitu  $IC_{50} = 7.587$

Hasil ekstrak campuran *andrographis paniculata* dan *syzygium polyanthum* dapat menurunkan kadar gula darah puasa secara signifikan.<sup>18</sup> Penelitian lain melaporkan pemberian ekstrak daun salam pada penderita DM mampu menurunkan kadar gula darah serum secara signifikan sebesar 21-26%.<sup>19</sup>

Penelitian tentang pengaruh pemberian *Morinda citrifolia L* terhadap ekspresi laminin mesangial menunjukkan salah satu kandungan dalam *Morinda citrifolia L* adalah flavonoid. Hasil penelitian menunjukkan ekspresi laminin setelah pemberian *Morinda citrifolia L* menurun pada kelompok perlakuan.<sup>20</sup>

Daun salam mengandung flavonoid yang terdiri dari *gallic acid*, *eugenol*, *kaemferol* dan *quercetin*. Kandungan *Morinda citrifolia L* salah satunya adalah flavonoid. Daun salam mempunyai kandungan yang sama dengan *Morinda citrifolia L* yang dapat menurunkan ekspresi laminin mesangial. Berdasarkan hal tersebut apakah daun salam juga dapat menurunkan ekspresi laminin mesangial pada DM.

Interaksi yang kompleks antara kerentangan beberapa gen dan genetik serta faktor lingkungan dan analisis genetik diabetes sulit dipahami pada manusia. Selain itu, penelitian diabetes pada manusia terhambat oleh pertimbangan etika karena stimulus penyakit tidak diperbolehkan pada manusia, sehingga hewan model diabetes sangat berguna pada studi biomedis karena hewan coba dapat memberikan wawasan baru pada manusia dengan DM.<sup>21</sup>

Model hewan inbred, memiliki latar belakang faktor genetik yang homogen serta lingkungan yang dapat dikendalikan. Penggunaan tikus karena ukuran kecil, selang genetik pendek, pertimbangan ekonomi, selain itu hewan dengan diabetes memiliki karakteristik yang mirip dengan manusia.<sup>21</sup>

Streptozotocin (STZ) digunakan untuk menginduksi DM dan perkembangannya yang ditandai dengan adanya komplikasi. Tikus resisten terhadap aksi aloksan karena tingkat stabilitas yang rendah, waktu paruh yang relatif pendek ( kurang dari 1 menit), serta sifat asam solusinya, selain itu angka kejadian ketosis dan kematian pada hewan coba yang diinduksi dengan aloksan tinggi, karena keterbatasan ini penggunaan aloksan saat ini hampir digantikan oleh streptozotocin pada hewan coba laboratorium.<sup>21</sup>

Penelitian ini bermaksud untuk mengetahui efek pemberian ekstrak etanol daun salam (EEDS) terhadap ekspresi laminin mesangial glomerulus tikus *Sprague-dawley* DM.

## **1.2. PERUMUSAN MASALAH**

Apakah ekspresi laminin mesangial pada tikus *Sprague-dawley* DM yang diberi EEDS lebih rendah dibandingkan dengan ekspresi laminin mesangial pada tikus *Sprague-dawley* DM yang tidak diberi EEDS.?

### 1.3. ORISINALITAS PENELITIAN

Berikut adalah penelitian tentang daun Salam (SP ) yang pernah dilakukan.

**Tabel.1. Penelitian terkait pemanfaatan daun salam**

Penelitian	Metode	Dosis	Variabel		Hasil
			Bebas	Terikat	
Suharmiati, Betty Roosihermiatie. Studi pemanfaatan dan keamanan kombinasi metformin dengan ekstrak campuran andrographis paniculata dan syzygium polyanthum untuk pengobatan DM(Preliminary Study). BPPKK. 2012 January:110-20.	Eksperimen disain pre-post test. Sampel sebanyak 30 penderita DM pria atau wanita berusia antara 40–40 tahun dengan kadar gula darah puasa antara 140–220 mg/dl.	Pemberian metformin 500 mg pada pagi hari yang diminum 15 menit setelah makan serta 3 kali sehari masing-masing ekstrak herbal campuran Andrographis paniculata dan Syzygium polyanthum (1:1) seberat 700 mg	Ekstrak herbal campuran Andrographis paniculata dan Syzygium polyanthum	Kadar Gula darah	Ekstrak campuran andrographis paniculata dan syzygium polyanthum dapat menurunkan gula darah puasa secara signifikan
Perumal S, et al. Potential Antiradical Activity and cytotoxicity Assesment of Zizipus mauritiana and Syzygium polyanthum. Int J Pharmacol 2012;8(6): 535-41	Ekperimental	Daun dan kulit batang Zizipus mauritiana Dan S. polyanthum dikeringkan pada udara dan digiling menjadi bubuk halus dan dimaserasi secara terpisah dengan rasio 10g bahan tanaman kelompok dalam 100 ml methanol	Ekstrak Zizipus mauritiana dan ekstrak daun Syzygium polyanthum	Total fenolik, flavonoid dan aktivitas antioksidan	Ekstrak daun Syzygium polyanthum mengandung total fenolik $333,75 \pm 1,92$ GAEg-1 dan flavonoid $65,2 \pm 1,83$ mgC Eg-1. Ekstrak daun Syzygium polyanthum mempunyai aktivitas antioksidan

<p>Har LW, Ismail IS. Antioxidant activity, total phenolic and total Flavonoid of Syzygium polyanthum (wight) Walp Leaves. Int. J. Med Arom. Plants. 2012;2:219-28.</p>	<p>Eksperimental HPLC dan LC-MS</p>	<p>ekstraksi daun Syzygium polyanthum kering (1,5 kg) dilakukan dengan cara perendaman selama 24 jam dalam etanol (5L) disaring melalui lapisan Guaze dan daun itu kembali perendaman dengan metanol segar. Tahap ini diulang 3 kali dan filtrat continued terkonsentrasi dalam vakum pada 40</p>	<p>Ekstrak metanol daun salam</p>	<p>Aktivitas antioksidan, total fenolik dan total flavonoid</p>	<p>Ekstrak metanol daun salam menunjukkan aktivitas antioksidan. Mayor phenolic acid dalam ekstrak methanol daun salam adalah Gallic acid dan Caffeic Acid dan Quercetin sebagai mayor flavonoid.</p>
<p>Khan A et al. Bay Leaves Improve Glucose and Lipid Profile of People with Type 2 Diabetes. J Clin Biochem. 2009 January; 44:52-6.</p>	<p>Eksperimental (Uji Klinik). 40 Pasien Diabetes tipe 2 diintervensi dengan pemberian ekstrak kering daun salam dosis 1,2 dan 3 gram/hari selama 30 hari</p>	<p>40 Pasien Diabetes tipe 2 diintervensi dengan pemberian ekstrak kering daun salam dosis 1,2 dan 3 gram/hari selama 30 hari</p>	<p>Ekstrak Daun salam</p>	<p>Kadar glukosa serum dan Total kolesterol</p>	<p>Ekstrak Daun salam menurunkan kadar glukosa serum dan total kolesterol</p>
<p>Fithriana D. Pengaruh pemberian <i>Morinda citrifolia</i> L terhadap fungsi ginjal diabetes nefropati pada tikus Sprague</p>	<p>Eksperimental <i>the post test only control group design.</i></p>	<p>Pemberian MC 10 mg/dl/hr, 20 mg/dl/hr, 40 mg/dl/hr, 80 mg/dl/hr.</p>	<p>Ekstrak <i>Morinda citrifolia</i> L</p>	<p>Kadar albumin urin, NO, ekspresi laminin mesangial</p>	<p>Terdapat perbedaan kadar albumin urin, kadar NO dan ekspresi laminin mesangial antara</p>



dawley yang diinduksi streptozotocin (STZ) kajian kadar albumin urin, NO, ekspresi laminin mesangial. Tesis magister ilmu biomedik FK Undip. 2011: 1-76.

kelompok kontrol dengan kelompok perlakuan.

Orisinalitas dari penelitian ini adalah belum ada penelitian tentang variabel bebas EEDS dan variabel tergantung ekspresi laminin mesangial glomerulus pada tikus *Sprague Dawley* DM. Berdasarkan data penelitian tersebut perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan pemberian EEDS dapat menurunkan ekspresi laminin mesangial pada DM dengan menggunakan tikus *Sprague Dawley* DM.

#### **1.4. MANFAAT PENELITIAN**

##### **1. Bagi ilmu pengetahuan**

Memberikan informasi untuk pengembangan IPTEK bidang kedokteran tentang manfaat EEDS sebagai obat alternatif untuk perbaikan fungsi ginjal DM yang dapat terlihat dari indikator ekspresi laminin mesangial.

##### **2. Bagi masyarakat**

Memberikan informasi manfaat EEDS berdasarkan hasil penelitian ilmiah terhadap perbaikan fungsi ginjal DM yang dapat terlihat dari indikator ekspresi laminin mesangial.

### 3. Bagi peneliti lain

Memberikan tambahan kajian ilmiah sebagai dasar penelitian lebih lanjut terhadap DM.

## **1.5. TUJUAN PENELITIAN**

### **1.5.1. Tujuan Umum**

Penelitian ini bertujuan membuktikan ekspresi laminin mesangial pada tikus *Sprague-dawley* DM yang diberi EEDS lebih rendah dibandingkan yang tidak diberi EEDS.

### **1.5.2. Tujuan Khusus**

1. Mendeskripsikan ekspresi laminin mesangial pada tikus *Sprague-dawley* DM yang diberi EEDS pada dosis bertingkat
2. Menganalisis perbedaan ekspresi laminin mesangial pada tikus *Sprague-dawley* DM yang diberi EEDS pada dosis bertingkat.