

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penderita diabetes mellitus (DM) memiliki risiko komplikasi yang lebih tinggi apabila tidak melakukan kontrol diabetes yang baik. Kadar glukosa darah yang tinggi (hiperglikemi) dan berlangsung lama adalah penyebab terjadinya kerusakan jaringan, hal tersebut terjadi karena glukosa mampu mempengaruhi fungsi dan struktur dari jaringan tubuh serta protein dalam sel. Terdapat 4 mekanisme utama yang menyebabkan kerusakan jaringan pada kondisi hiperglikemi, yaitu melalui peningkatan produksi *Advanced Glycation End Products* (AGEs), peningkatan jalur poliol, aktivasi protein kinase C (PKC) dan peningkatan jalur heksosamin.¹ Perubahan sistemik yang terjadi pada kondisi hiperglikemi tersebut dapat memicu terjadinya stres oksidatif dan inflamasi yang mengakibatkan terjadinya hipoksia sel dan kerusakan jaringan.²

Diabetes Nefropati (DN) merupakan salah satu komplikasi yang sering terjadi pada penderita diabetes tipe 2 (30-40%).¹ Penyakit ini terjadi akibat disfungsi endotel dan respon angiogenik yang tidak seimbang.³ Pada kondisi ini, terjadi perubahan yang diawali dengan pembesaran ukuran ginjal, hiperfiltrasi glomerulus dan peningkatan matriks ekstraseluler.⁴ Beberapa hormon pertumbuhan sangat berperan terhadap patogenesis diabetik nefropati, seperti

insulin, *Transforming Growth Factor-Beta* (TGF-B) dan *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF).⁵

Ekspresi hormon pertumbuhan seperti VEGF telah diidentifikasi meningkat di sel tubulus proksimal pada kondisi hiperglikemi kronik (model DM tipe 2). Selain dapat mempengaruhi struktur tubulus, peningkatan ekspresi VEGF di tubulus juga diketahui dapat mengakibatkan terjadinya perubahan struktural di interstitium peritubular (fibrosis) dan glomerulus (degenerasi nefron dan fibrosis).^{6,7} Tubulus proksimal memiliki peran penting pada fase awal perkembangan DN, dimana proses patologis yang terjadi mampu mengakibatkan kerusakan glomerulus. Hal ini karena, tubulus proksimal merupakan penyumbang sebagian besar massa kortikal dan pertumbuhan ginjal pada diabetes. Saat tubulus tumbuh, filtrat glomerulus yang direabsorpsi akan semakin banyak dan akan lebih sedikit yang mencapai makula densa di ujung lengkung henle. Kondisi ini menyebabkan terjadinya peningkatan laju filtrasi glomerulus dari sistem umpan balik tubuloglomerulus. Sebagai konsekuensi dari hiperfiltrasi dan lingkungan diabetes, perubahan yang terjadi akan meningkatkan jumlah protein, faktor pertumbuhan dan AGEs dari filter glomeruli. Kondisi ini akan memicu terjadinya oksidatif stress dan inflamasi interstisial kortikal pada ginjal yang selanjutnya dapat menyebabkan terjadinya hipoksia dan fibrosis tubulointerstisial yang sangat menentukan progresivitas penyakit ginjal.^{7,8}

VEGF merupakan sinyal protein yang berperan untuk menginduksi terjadinya vaskulogenesis dan angiogenesis.^{9,10,11} Peningkatan ekspresi VEGF

menjadi penanda ketika terjadi kerusakan sel endotel akibat proses inflamasi atau stres oksidatif, sebagai respon untuk membentuk pembuluh darah baru.^{12,13} Produksi VEGF yang tepat bermanfaat untuk memelihara struktur dan fungsi ginjal. Tetapi, kelebihan dari ekspresi VEGF justru memicu angiogenesis yang abnormal.¹⁴ Beberapa mediator mengakibatkan terjadinya peningkatan ekspresi VEGF pada ginjal di fase awal diabetik nefropati, seperti hiperglikemia yang menyebabkan hipoksia, angiotensin, *reactive oxygen species* (ROS) dan AGEs.^{15,16}

Studi meta analisis menunjukkan bahwa hiperglikemia yang timbul akibat diabetes atau gangguan toleransi glukosa (pra-diabetes) menunjukkan hubungan yang kuat dengan peningkatan ekspresi VEGF.¹⁷ Kondisi hiperglikemi mampu merangsang produksi VEGF di podosit dan tubulus ginjal melalui aktivasi PKC, ROS dan jalur *Extracellular signal-regulated kinase* (ERK) dengan mengatur Angiotensin II pada sel tubulus proksimal. Tingkat VEGF mRNA juga diatur oleh AGEs melalui faktor transkripsi seperti *nuclear factor-kappa β* (NF-κβ) dan aktivator protein-1 (AP-1). Selain itu, *transforming growth factor-B1* (TGF-B 1) yang diekspresikan dalam sel endotel glomerulus diabetes dan *Tumor Necrosis Factor* (TNF) yang diekspresikan melalui faktor transkripsi NF-κβ juga mampu meningkatkan ekspresi protein VEGF.^{16,18,19} TNF-α merupakan salah satu sitokin pro-inflamasi yang berperan penting pada proses inflamasi vaskuler dan aterosklerosis.²⁰ Peningkatan stres oksidatif seperti ROS dan RNS yang berasal

dari Angiotensin II, oksidasi glukosa dan AGEs pada penderita DM juga dapat meningkatkan VEGF dengan menstabilkan *Hypoxia-Inducible Factor -1a*.¹

Eksresi berlebihan dari VEGF akan mengubah sinyal-sinyal intra dan interseluler yang menyebabkan peningkatan proliferasi sel-sel yang mengekspresikan VEGFR seperti podosit, sel endotel tubulus dan sel-sel mesangial²¹ yang mengakibatkan perubahan struktur dan fungsi ginjal, seperti hipertropi glomerulus, glomerulosklerosis, proteinuria, pembesaran mesangial, sklerosis mesangial dan sel endotel.^{10,22,3} Hipoksia merupakan penyebab utama terjadinya sekresi VEGF. Tikus yang mengalami DM akibat induksi *streptozotosin* (STZ) akan menurunkan pO₂ pada medula ginjal, sehingga mengakibatkan hipoksia yang diinduksi oleh *Hypoxia-Inducible Factor* (HIF), dimana faktor ini mengatur transkripsi VEGF mRNA.²³

Carica pubescens (CP) adalah tanaman khas yang tumbuh pada dataran tinggi dan kaya dengan kandungan vitamin C yang bermanfaat sebagai antioksidan. Di Indonesia tanaman ini dapat ditemukan di daerah dataran tinggi Dieng.²⁴ Pada buah CP terkandung senyawa flavonoid yang dapat bertindak sebagai antioksidan, seperti kuersetin.²⁵ Selain itu, di dalam buah CP juga mengandung senyawa rutin yang merupakan salah satu golongan flavonoid yang diketahui memiliki efek sebagai anti-inflamasi dan anti-hiperglikemi.²⁶⁻²⁹ Pemberian senyawa flavonoid seperti kuersetin dan rutin diketahui mampu menghambat proliferasi sel dan ekspresi VEGF pada kultur sel.^{30,31} Senyawa

rutin dengan dosis 50 mg/kg BB atau 10 mg/200 g BB juga terbukti mampu mengontrol kadar glukosa darah dan metabolisme lipid.³²

Studi secara biokimia menunjukkan bahwa ekstrak buah CP memiliki aktivitas sebagai anti-hiperglikemia dan anti-hipertensi³³. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya juga membuktikan bahwa pemberian jus buah CP dengan dosis 4 mL/200 g BB dan 8 mL/200 g BB menunjukkan kadar glukosa darah puasa (GDP) dan TNF- α yang lebih rendah dibandingkan dengan hewan coba tikus DM tanpa pemberian jus buah CP.²⁸ Meskipun memiliki khasiat dalam mengontrol kadar glukosa darah dan inflamasi pada kondisi DM, akan tetapi perannya secara spesifik pada organ yang terpengaruh oleh DM, seperti dalam mencegah komplikasi pada organ ginjal belum pernah diteliti.

Komplikasi yang dapat terjadi pada DM berdampak sangat signifikan terhadap mortalitas, morbiditas dan kualitas hidup. Peningkatan stres oksidatif dan sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α pada kondisi DM dapat meningkatkan ekspresi VEGF di tubulus ginjal secara berlebihan dan berperan pada perkembangan DN.^{14,34} Buah CP mengandung senyawa yang bersifat antioksidan, anti-hiperglikemi dan anti-inflamasi memiliki potensi untuk mengatasi kondisi tersebut, sehingga perlu untuk dilakukan penelitian “Pengaruh Jus Buah *Carica pubescens* Terhadap Ekspresi VEGF pada Ginjal Tikus Wistar DM Tipe 2”. Hasil pemeriksaan ekspresi VEGF di ginjal pada penelitian ini juga akan dihubungkan dengan kadar GDP dan TNF- α yang sudah diperoleh dari penelitian sebelumnya.²⁸

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dari latar belakang yang telah dikemukakan, *Carica pubescens* merupakan salah satu tanaman yang berpotensi untuk mengatasi komplikasi ginjal pada pasien DM Tipe 2, maka dapat dirumuskan permasalahan:

Bagaimanakah pengaruh jus buah *Carica pubescens* terhadap ekspresi VEGF pada ginjal tikus Wistar DM Tipe 2?

1.2 Tujuan Penelitian

1.2.1 Tujuan Umum

Membuktikan Pengaruh Jus Buah *Carica pubescens* Terhadap Ekspresi VEGF pada Ginjal Tikus Wistar DM Tipe 2.

1.2.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis pengaruh pemberian diet tinggi lemak dan *nicotinamide-streptozotocin* terhadap ekspresi VEGF pada ginjal tikus wistar DM tipe 2.
2. Menganalisis pengaruh pemberian jus buah *Carica pubescens* dengan dosis 4 mL/200 gram BB dan 8 mL/200 gram BB terhadap ekspresi VEGF pada ginjal tikus wistar DM tipe 2.
3. Menganalisis pengaruh pemberian rutin dengan dosis 10 mg/200 gram BB terhadap ekspresi VEGF pada ginjal tikus wistar DM tipe 2 (kontrol flavonoid).
4. Menganalisis perbedaan pengaruh antar kelompok pemberian jus buah *Carica pubescens* dengan dosis 4 mL/200 gram BB, 8 mL/200 gram BB

dan pemberian rutin dengan dosis 10 mg/200 gram BB terhadap ekspresi VEGF pada ginjal tikus wistar DM tipe 2.

5. Menganalisis hubungan antara ekspresi VEGF pada jaringan ginjal dengan kadar GDP dan TNF- α serum pada tikus wistar DM tipe 2.

1.3 Manfaat Penelitian

1) Perkembangan Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini diharapkan mampu menambah literatur dan pengetahuan tentang *Carica pubescens* yang bermanfaat sebagai adjuvan dan diet sehat pada penderita DM Tipe 2.

2) Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat berguna bagi masyarakat untuk memanfaatkan jus *Carica pubescens* sebagai salah satu sumber makanan sehat yang baik bagi penderita DM.

3) Ekonomi

Penelitian ini diharapkan mampu meningkatkan nilai jual dari *Carica pubescens* sebagai produk oleh-oleh khas dieng yang bermanfaat bagi penderita DM Tipe 2.

4) Peneliti lain

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai referensi atau acuan peneliti lain yang tertarik terhadap manfaat dari *Carica pubescens* pada DM.

1.4 Orisinalitas Penelitian

Setelah dilakukan telusur pustaka, tidak ditemukan adanya penelitian atau publikasi sebelumnya yang telah menjawab rumusan masalah pada penelitian.

Hasil telusur pustaka dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Orisinalitas Penelitian

No	Judul, peneliti, nama jurnal	Tujuan, jumlah sampel, desain	Hasil
1.	- <i>Carica pubescens</i> fruit juice reduces tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and fasting blood glucose (FBG) levels in type 2 diabetes mellitus Wistar rats. ²⁸ - Kusuma, Rachmawati, Anjani, Muniroh. - Food Research 4 (Suppl.3): 67-74	- Mengetahui pengaruh pemberian jus buah CP terhadap TNF- α dan kadar glukosa darah puasa pada tikus Wistar yang diinduksi High Fat Diet-Streptozotocin. - 25 ekor tikus Wistar jantan - <i>Randomized post-test only control group</i>	Kadar TNF- α dan glukosa darah puasa menurun secara signifikan pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok kontrol positif sehingga disimpulkan bahwa jus buah CP berpotensi menurunkan kadar TNF- α dan glukosa darah puasa.
2.	- Pengaruh Jus Buah Karika (<i>Carica pubescens</i>) Terhadap Kadar SOD dan Profil Lipid (Trigliserida dan <i>High Density Lipoprotein</i>) Studi pada Tikus Wistar Diabetes Melitus Tipe 2. ³⁵ - Rachmawati.	- Mengetahui pengaruh pemberian jus buah CP terhadap kadar SOD, TG, dan HDL pada tikus Wistar yang diinduksi <i>High Fat Diet</i> -Streptozotocin. - 25 ekor tikus Wistar jantan - <i>Randomized post-test only control group</i>	Terjadi peningkatan kadar SOD dan HDL, serta penurunan kadar TG secara nyata pada kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif sehingga jus buah CP berpotensi untuk meningkatkan kadar SOD, HDL dan menurunkan TG.

- Thesis Universitas Diponegoro.
3. - Evaluation of Antihyperglycemia and Antihypertension Potential of Native Peruvian Fruits Using *In Vitro* Models.
 - Pinto, Ranilla, Apostolidis, Lajolo, Genovese, Shetty.³³
 - Journal of Medical Food.
 - Untuk melihat potensi buah lokal Peru (*Carica pubescens*, *Pouteria lucuma*, *Inga feuille*, dan lain-lain), dalam mengontrol kondisi hiperglikemia dan hipertensi.
 - 5 gram sampel diekstrak dalam 100 mL etanol
 - Studi *In Vitro* secara biokimia

Ekstrak buah kering *Carica pubescens* memiliki aktivitas sebagai inhibitor α -amilase, α -glukosidase, dan *Angiotensin I-Converting Enzyme* (ACE) sehingga buah ini memiliki potensi sebagai sumber makanan dengan manfaat anti hipertensi dan anti hiperglikemia. Jumlah limfosit pada tikus yang diberikan ekstrak daun *Carica pubescens* secara signifikan lebih rendah dibandingkan kelompok *azoxymethane* sehingga disimpulkan ekstrak *Carica pubescens* dapat menurunkan jumlah limfosit tikus *Sprague dawley* yang diinduksi *azoxymethane*.
 4. - Efek pemberian ekstrak daun *Carica pubescens* terhadap jumlah limfosit tikus *Sprague dawley* yang diinduksi *azoxymethane*: studi di laboratorium penelitian dan pengujian terpadu 4 Universitas Gadjah Mada.³⁶
 - Yudina, Gumay, Muniroh.
 - Jurnal Kedokteran Diponegoro.
 - Mengetahui efek pemberian ekstrak daun *Carica pubescens* terhadap jumlah limfosit tikus *Sprague dawley* yang diinduksi *azoxymethane*.
 - 25 ekor tikus *Sprague dawley* jantan
 - *Randomized post-test only control group*

Ekstrak daun *Carica pubescens* dapat menurunkan jumlah sel neutrofil secara
 5. - Efek pemberian ekstrak daun *Carica pubescens* terhadap jumlah neutrofil tikus
 - Mengetahui efek pemberian ekstrak daun *Carica pubescens* terhadap jumlah neutrofil

	<p><i>Sprague dawley</i> yang diinduksi <i>azoxymethane</i>.³⁷</p> <p>- Blezeinsky, Gumay, Hardian.</p> <p>- Jurnal Kedokteran Diponegoro.</p>	<p>tikus <i>Sprague dawley</i> yang diinduksi <i>azoxymethane</i>.</p> <p>- 25 ekor tikus <i>Sprague dawley</i> jantan</p> <p>- <i>True eksperimental laboratorik Post Test Only with Control Group Design</i></p>	<p>signifikan pada tikus <i>Sprague dawley</i> yang diinduksi <i>azoxymethane</i>.</p>
6.	<p>- Efek pemberian ekstrak daun <i>Carica pubescens</i> terhadap jumlah leukosit pada tikus <i>Sprague dawley</i> yang diinduksi <i>azoxymethane</i>: studi di laboratorium penelitian dan pengujian terpadu 4 Universitas Gadjah Mada.³⁸</p> <p>- Sugeng, Gumay, Bakri.</p> <p>- Jurnal Kedokteran Diponegoro.</p>	<p>- Mengetahui efek pemberian ekstrak daun <i>Carica pubescens</i> terhadap jumlah leukosit tikus <i>Sprague dawley</i> yang diinduksi <i>azoxymethane</i>.</p> <p>- 25 ekor tikus <i>Sprague dawley</i> jantan</p> <p>- <i>Randomized post-test only control group</i></p>	<p>Ekstrak daun <i>Carica pubescens</i> mampu menurunkan jumlah leukosit secara signifikan dibandingkan dengan kelompok kontrol.</p>

Berdasarkan pencarian pustaka yang telah ditemukan, penelitian yang akan dilakukan oleh peneliti berbeda dengan penelitian sebelumnya. Penelitian yang sudah dilakukan sebelumnya banyak yang menggunakan sediaan CP dalam bentuk ekstrak daun atau ekstrak buah. Selain itu, penelitian sebelumnya lebih banyak meneliti tentang potensi CP pada hewan coba tikus dengan pemodelan kanker kolorektal (induksi *azoxymethane*). Penggunaan sediaan CP dalam bentuk jus buah dan pemodelan tikus DM dilakukan pada satu penelitian sebelumnya.

Namun, variabel terikat yang diteliti pada penelitian tersebut adalah GDP dan TNF- α . Sedangkan pada penelitian ini, pemberian jus buah CP dilakukan pada hewan coba tikus Wistar DM dengan variabel terikat yang diteliti yaitu, ekspresi VEGF pada ginjal secara imunohistokimia.