

## **DISERTASI**

**PENGARUH FRAKSI KAYA ASAM KLOGENAT DARI BIJI KOPI  
HIJAU ROBUSTA (*Coffea canephora* L) TERHADAP RESISTENSI  
INSULIN, EKSPRESI mRNA GEN TRANSPORTER GLUKOSA 4,  
PADA TIKUS DIABETES MELITUS**

*Effect of chlorogenic acid rich fraction of robusta green coffee tines  
(*Coffea canephora* L) on insulin resistance, gluocosa transporter 4  
gene mRNA expression, in diabetes melitus rats*



**RUSMAN  
C013191017**

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**PENGARUH FRAKSI KAYA ASAM KLOGENAT DARI BIJI KOPI  
HIJAU ROBUSTA (*Coffea canephora* L) TERHADAP RESISTENSI  
INSULIN, EKSPRESI mRNA GEN TRANSPORTER GLUKOSA 4,  
PADA TIKUS DIABETES MELITUS**

*Effect of chlorogenic acid rich fraction of robusta green coffee tines  
(Coffea canephora L) on insulin resistance, gluocosa transporter 4  
gene mRNA expression, in diabetes melitus rats*

DISERTASI

Disusun Dan Diajukan Oleh

**RUSMAN  
C013191017**

Kepada

**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

DISERTASI

PENGARUH FRAKSI KAYA ASAM KLOGROGENAT PADA BIJI KOPI HIJAU  
ROBUSTA (*Coffea Canifora* L) TERHADAP RESISTENSI INSULIN,  
EKSPRESI mRNA GEN GLUT-4 PADA TIKUS DIABETES MELLITUS  
EFFECT OF CLOGROGENIC ACID RICH FRACTION FROM ROBUSTA GREEN  
COFFEE BEANS (*Coffea canephora* L) ON INSULIN RESISTANCE, GLUT-4  
GENE mRNA EXPRESSION, IN DIABETIC MELLITUS RATS

Disusun dan diajukan  
Oleh

**Rusman**  
C013191017

Telah dipertahankan di hadapan Penilai Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran  
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin  
pada tanggal, 12 Desember 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui  
Promotor,

**Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM, Sp.GK**  
Nip.19680530 199603 2 001

Co. Promotor

Co. Promotor

**dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph.D, Sp.GK(K)**  
Nip.19700821 199903 1 001

**Prof. Dr. M. Natsir Djide, M.Si, Apt**  
Nip.19500817 197903 1 003

Ketua Program Studi S3  
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Hasanuddin,

**Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes**  
Nip.19671103 199802 1 001

**Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, FINASIM Sp.GK**  
Nip.19680530 199603 2 001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI  
**UNIVERSITAS HASANUDDIN**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
Jl. Perintis Kemerdekaan Kampus Tamalanrea Km. 10 Makassar 90245  
Telp. ( 0411 ) 586010, 585836, 586200 Psw. 2767 Fax. (0411) 586297

### **PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : **Rusman**  
Nomor Pokok : C013191017  
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran  
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul : **Pengaruh Fraksi Kaya Asam Klorogenat Pada Biji Kopi Hijau Robusta (*Coffea Canifora* L) Terhadap Resistensi Insulin, Ekspresi mRNA Gen Glut-4 Pada Tikus Diabetes Melitus**

Adalah karya tulis saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain, bahwa

Disertasi yang saya tulis ini benar- benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 1 Desember 2022

Yang menyatakan,



992CAJX966929543 **Rusman**

## DAFTAR TIM PENGUJI

1	Prof. Dr. dr.Haerani Rasyid, M.Kes, SpPD-KGH, FINASIM, SpGK	Promotor
2	dr. Agussalim Bukhari M.Clin., Med.,Ph.D., Sp.GK (K)	Ko-Promotor I
3	Prof. Dr. Natsir Djide, M.S., Apt	Ko-Promotor II
4	Prof. Dr. Mustofa, M.Kes., Apt	Penguji Eksternal
5	Prof. Subehan, S.Si., M.Pharm. Sc., Ph.D, Apt	Penguji
6	Dr.dr.Husaini Umar,Sp.PD-KEMD	Penguji
7	Dr.Upik A.Miskad,ph.D,Sp.PA (K)	Penguji
8	Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt	Penguji
9	Yulia Yusrini Djabir, M.Si., M.BM.Sc., Ph.D., Apt	Penguji

## ABSTRAK

RUSMAN. *Pengaruh Fraksi Kaya Asam Klorogenat dari Ekstrak Biji Kopi Hijau Robusta (Coffea canephora L) terhadap Resistensi Insulin, Ekspresi mRNA Gen Glut-4 pada Tikus Diabetes Mellitus* (dibimbing oleh Haerani Rasyid, Agussalim Bukhari, Natsir Djide).

Penelitian ini bertujuan menentukan pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat dari biji kopi hijau robusta (*Coffea canephora L*) terhadap resistensi insulin, ekspresi mRNA gen Glut-4, pada tikus galur wistar diabetes mellitus tipe-2 yang diinduksi pakan diet tinggi lemak. Jenis penelitian ini adalah eksperimental dengan desain *Randomized Control Group Pre-Post Test*, biji kopi hijau diekstraksi menggunakan metode maserasi, kemudian difraksinasi menggunakan metode ekstrak cair cair. Hasil fraksinasi dilakukan pengukuran asam klorogenat dengan menggunakan spektrofotometer UV-VIS, HPLC. Sebanyak ± 30 ekor tikus galur wistar diberi pakan diet tinggi lemak selama 20 minggu hingga diperoleh tikus model diabetes mellitus tipe 2, dibuktikan dengan pemeriksaan HOMA IR dan HbA1C, tikus yang mengalami resistensi insulin dilanjutkan ke perlakuan dengan pemberian fraksi kaya asam klorogenat dengan dosis 300 mg/kg BB, 400 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB, kontrol negatif (pakan diet tinggi lemak), kontrol positif metformin dan asam klorogenat. Hewan coba diberi perlakuan selama 9 minggu, kemudian dilakukan pemeriksaan glukosa darah puasa, HbA1C, HOMA IR, ekspresi Gen GLUT-4, dan ekspresi Gen Glut -4 secara imunohistokimia. Hasil pemeriksaan HPLC menunjukkan bahwa fraksi kaya asam klorogenat dengan konsentrasi 4.925±0,091%. Berdasarkan analisis data statistik uji T-berpasangan dan ANOVA menunjukkan bahwa pada pengukuran kadar glukosa darah puasa, resistensi insulin berupa pemeriksaan HOMA IR, HbA1C, pemeriksaan Ekspresi Gen GLUT-4 dan imunohistokimia menunjukkan kelompok perlakuan fraksi kaya asam klorogenat pada dosis 300 mg/kg BB 400 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB dengan kelompok pakan diet tinggi lemak sebagai kontrol negatif terdapat pengaruh yang signifikan dan tidak ada pengaruh yang signifikan dengan kelompok positif metformin dan asam klorogenat.

Kata kunci: asam klorogenat, diabetes mellitus, GLUT-4, HbA1C, HOMA IR, resistensi insulin





## ABSTRACT

RUSMAN. *The Effect of Chlorogenic and Rich Fraction from Robusta Green Coffee Beans (Coffea canephora L) on Insulin Resistance. Glut - 4 Gene mRNA Expression in Diabetic Mellitus Rata* (supervised by Haerani Rasyid, Agussalim Bukhari, and Natsir Djide)

The aim of this study is to determine the effect of a chlorogenic acid - rich fraction from robusta green coffee beans (*Coffea canephora L*) on insulin resistance and Glut - 4 gene mRNA expression in Wistar strain rats with type - 2 diabetes mellitus induced by a high - fat diet. This study was an experimental study with the randomized control group pre-post-test design. Green coffee beans were extracted using maceration method, then fractionated using liquid extract method. The results of the fractionation were measured with chlorogenic acid using a UV - VIS spectrophotometer, HPLC. A total of 30 wistar rats were fed a high - fat diet for 20 weeks until a type 2 diabetes mellitus model was obtained, as proven by HOMA IR and HbA1C examination. The rats experiencing insulin resistance were continued for a treatment by administering a chlorogenic acid - rich fraction at the doses of 300 mg / kg BW, 400 mg / kg BW, and 500 mg / kg BW, negative control (high fat diet), positive control of metformin, and chlorogenic acid. Experimental animals were treated for 9 weeks, and then fasting blood glucose, HbA1c, HOMA IR, GLUT-4 gene expression, and Glut 4 gene expression were examined by immunohistochemistry. HPLC examination results show that the fraction was rich in chlorogenic acid with a concentration of  $4.925 \pm 0.091$  %. Statistical data analysis with paired T-test and ANOVA indicate that when measuring fasting blood glucose level, insulin resistance in the form of HOMA IR, HbA1C examinations, GLUT-4 Gene expression examination, and immunohistochemistry, the treatment group of the chlorogenic acid - rich fraction at a dose of 300 mg / kg BW 400 mg / kg BW and 500 mg / kg BW with the high - fat diet group as a negative control indicate a significant effect and no significant effect with positive metformin and chlorogenic acid group.

Keywords: chlorogenic acid, diabetes mellitus, GLUT-4, HbA1C, HOMA IR, insulin resistance



## PRAKATA

Alhamdulillahirabbilalamin puji dan syukur Penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Penulis menyadari sepenuhnya disertasi ini dapat diselesaikan berkat bantuan, bimbingan saran, dan koreksi beserta dukungan dari berbagai pihak. Terkhusus keluarga tercinta, Orang Tua Hasanuddin dan Inasia, Ahmad Dini, Spd.Mpd dan St Zaenab, Spd atas Doa dan Perhatian yang selalu menyertai, Istri Tercinta apt. Juhriati, S.Si., M.Si. Fatimah Az Zahra atas Doa, dukungan dan kesabarannya selama menjalani pendidikan dan penelitian, beserta seluruh keluarga tercinta, banyak bantuan dari berbagai pihak dalam penyusunan disertasi ini, oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati Penulis menghaturkan ucapan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M. Sc, selaku Rektor Universitas Hasanuddin atas berkenan dan diterimanya penulis untuk mengikuti dan menyelesaikan studi pada program Doktoral Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin
2. Ibu Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M. Kes, sp. PD-KGH, sp. GK Selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Bapak Prof. dr. Budu, Ph. D, Sp.M (K) selaku dekan Fakultas Kedokteran periode sebelumnya yang telah memberikan izin mengikuti Pendidikan ini



3. Bapak Dr. dr. Irfan Idris, M. Kes selaku Ketua Program Studi S3 Ilmu Kedokteran Universitas Hasanuddin sekaligus Penasehat akademik, yang telah memberi kesempatan melanjutkan program studi Doktor. Semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebaikan beliau
4. Ibu Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M. Kes, sp. PD-KGH, sp. GK selaku promotor yang selalu memberikan perhatian dan penuh kesabaran membimbing, memotivasi, membantu memperluas wawasan keilmuan, serta memberikan saran dan dukungan moril secara terus menerus sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini. Semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebaikan beliau
5. Bapak Dr. Agussalim Bukhari, M. Med, Ph. D, sp. GK (K) selaku co-promotor. Terima kasih yang sebesar besarnya atas segala bimbingan dorongan dan kepercayaan serta kesempatan untuk melaksanakan penelitian dan menyelesaikan pendidikan ini. Semoga Allah Subhanahu Wa Ta'ala senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebaikan beliau.
6. Bapak Prof. Dr. M. Natsir Djide, M.Si., Apt, selaku co-promotor. Terima kasih yang sebesar besarnya atas segala bimbingan dan arahan sejak menempuh Pendidikan Sarjana sampai pada pendidikan doktor, motivasi dan kepercayaan serta kesempatan untuk melaksanakan penelitian dan menyelesaikan pendidikan ini. Semoga

Allah Subhanahu Wa Ta'ala senantiasa melimpahkan rahmat dan membalas amal kebaikan beliau.

7. Tim penguji Prof. Dr. Mustofa, Apt., M. Kes, selaku penguji eksternal Dr. dr. Husaini Umar, sp. PD-KEMD, Dr. Upik A. Miskad, Ph. D, sp.PA (K), Prof. Dr. Sartini Djide, M.Si., Apt, Yulia Yusrini Djibir, M. Si, M.BM. Sc, pH.D., Apt dan Prof.Subehan, S.Si., M. Pharm.Sc, Ph.D., Apt selaku penguji yang sangat kompeten di bidangnya dan tidak Lelah memberikan masukan, saran dan nasihat yang sangat berguna bagi penyempurnaan disertasi ini. Semoga selalu dalam lindungan dan Rahmat-Nya.
8. Kepada Seluruh Staf Departemen Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, dan Seluruh Staf Pengajar yang tidak dapat saya sebutkan satu per satu saya mengucapkan banyak terima kasih atas motivasi yang sangat membantu penulis dalam menyelesaikan studi dan disertasi ini.
9. Tim Laboran HUMRC RS PTN UNHAS atas bantuannya dalam pemeriksaan RT PCR, Laboratorium Patologi anatomi Rumah sakit Universitas Hasanuddin, Laboratorium Kimia Analisis Farmasi beserta dosen Universitas Megahrezki yang banyak membantu selama penelitian.
10. Kepada teman seperjuangan mahasiswa Program Studi Ilmu Kedokteran FK Universitas Hasanuddin Angkatan 2019, terima kasih atas dukungan dan kerjasamanya yang tidak terlupakan

11. Seluruh pihak yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu yang telah membantu saya menyelesaikan Pendidikan ini. Saya juga menghaturkan Maaf yang sebesar besarnya terhadap kesalahan saya dalam penulisan dan penyusunan disertasi ini.

Semoga semua mendapat berkah dan Ridho Allah SWT. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan disertasi ini masih banyak terdapat kekurangan. Untuk itu, saran dan masukan yang sifatnya membangun bagi penulis sangat diharapkan. Semoga disertasi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Aamiin.

Makassar, 12 Desember 2022  
Penulis

Rusman

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN DISERTASI .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI .....	<b>iError! Bookmark n</b>
DAFTAR TIM PENGUJI.....	v
ABSTRAK .....	<b>Error! Bookmark n</b>
ABSTRACT .....	vii
PRAKATA .....	viii
DAFTAR ISI .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR TABEL DAN GRAFIK .....	xvii
DAFTAR ISTILAH .....	xixx
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG .....	xxi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Tujuan Peneitian .....	6
1.4 Keaslian Penelitian.....	7
1.5 Manfaat .....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Diabetes Melitus.....	9
1. Defenisi.....	9
2. Klasifikasi Diabetes Melitus .....	10
3. Gejala Diabetes Melitus .....	14
4. Kriteria Diagnosis.....	15
5. Komplikasi Diabetes Melitus .....	16
6. Pengobatan Diabetes Melitus .....	19
2.2 Insulin.....	24

1. Sintesis Insulin.....	24
2. Sekresi Insulin .....	25
3. Reseptor Insulin.....	27
4. Singnaling Insulin.....	28
5. Mekanisme down regulation dan up regulation reseptor insulin	30
2.3 Resistensi Insulin .....	32
1. Mekanisme pre-reseptor .....	34
2. Mekanisme reseptor .....	42
3. Hubungan reseptor insulin dan ekspresi protein GLUT-4 .....	46
2.4 Glukosa Transforter.....	47
2.5 Asam Klorogenat.....	51
1. Efek Asam Klorogenat Terhadap Metabolisme Lipid .....	52
2. Metabolisme Glukosa asam Klorogenat .....	54
2.6 Kerangka Teori.....	55
<b>BAB III KERANGKA KONSEP, KERANGKA TEORI DAN HIPOTESIS</b>	
<b>PENELITIAN.....</b>	<b>56</b>
3.1 Kerangka Konsep.....	56
3.2 Definisi Operasional .....	56
3.3 Hipotesis Penelitian.....	57
<b>BAB IV METODE PENELITIAN .....</b>	<b>58</b>
4.1 Rancangan Penelitian .....	58
4.2 Lokasi dan Waktu.....	58
4.3 Alat dan Bahan.....	59
4.4 Sampel.....	59
4.5 Alur Penelitian .....	61
4.6 Analisa Data.....	75
4.7 Alur Penelitian .....	75
4.8 Pengolahan dan Analisis Data .....	77
<b>BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>78</b>
5.1 Hasil Rendamen Fraksi Kaya Asam Klorogenat Kopi Hijau ( <i>Coffea canephora</i> L.) .....	78

5.2	Hasil Analisis Bivariat .....	82
5.3	Hasil Pemeriksaan Resistensi Insulin.....	89
5.4	Hasil Pemeriksaan HOMA IR setelah pemberian pakan diet tinggi Lemak.....	95
5.5	Hasil Pemeriksaan Ekspresi Gen .....	102
5.6	Hasil Pemeriksaan Imunohistokimia.....	109
5.7	Pembahasan .....	114
BAB VI PENUTUP .....		123
6.1	Kesimpulan .....	123
6.2	Saran.....	124
DAFTAR PUSTAKA		
LAMPIRAN		



## DAFTAR GAMBAR

	Hal
1. Pensinyalan Reseptor Insulin.....	29
2. Mekanisme Insulin menstimulasi transporter glukosa (GLUT4) didalam jaringan otot dan adiposa .....	50
3. Asam Klorogenat .....	51
4. Kerangka Teori.....	55
5. Kerangka Konsep.....	56
6. Skema Kerja Penelitian.....	76
7. Hasil Pengukuran Kurva Baku Standar Larutan Asam Klorogenat.....	78
8. Gambaran ekspresi GLUT-4 pada masing-masing kelompok tikus pada perbesaran 400 X dengan pewarnaan imunohistokimia menggunakan antibodi anti GLUT-4. ....	109
9. Hasil pengukuran imunohistokimia menggunakan plugin <i>IHC profile</i> pada <i>software</i> Image .....	109

## DAFTAR TABEL DAN GRAFIK

	Hal
1. Klasifikasi Etiologis Diabetes mellitus .....	24
2. Famili Glukosa Transforte .....	48
3. Hasil Rendamen Fraksi Asam Klorogenat dari Kopi Hijau Robusta ( <i>Coffea chanefora</i> L).....	78
4. Hasil Pengukuran Larutan Baku Standar Asam Klorogenat.....	78
5. Hasil Pengukuran Kandungan Asam Klorogenat fraksi kaya asam klorogenat biji kopi hijau ( <i>Coffea canephora</i> L) .....	79
6. Hasil pemeriksaan HPLC asam klorogenat.....	79
7. Hasil pengukuran kandugan asam klorogenat fraksi kaya asam klorogenat dari kopi robusta secara HPLC.....	80
8. Hasil uji linearitas baku standar asam klorogenat .....	80
9. Hasil pemeriksaan HRMS (Spektrofotometri massa resolusi tinggi fraksi kaya asam klorogenat kopi hijau robusta .....	81
10. Hasil Pemeriksaan Kadar Glukosa darah Puasa pada tikus yang pre, induksi pakan diet tinggi lemak dan post pemberian Fraksi kaya asam klorogenat .....	82
11. Perbandingan kadar glukosa darah puasa pre, induksi DTL dan post perlakuan .....	85
12. Perbandingan selisih Kadar glukosa darah puasa setelah Pemberian Fraksi Kaya Asam Klorogenat pada tikus yang diInduksi Pakan diet tinggi lemak .....	85
13. Perbandingan kadar glukosa darah puasa pada kelompok perlakuan post intervensi .....	86
14. Perbandingan Kadar glukosa darah puasa Antar Kelompok setelah intervensi fraksi kaya asam klorogenat .....	87
15. Hasil pemeriksaan HbA1C pre, induksi dan post pemberian fraksi kaya asam klorogenat .....	89

16. Grafik Perubahan Rerata kadar HbA1C Pada Kelompok Perlakuan .....	91
17. Perbandingan selisih Kadar HbA1C setelah Pemberian Fraksi Kaya Asam Klorogenat pada tikus yang diInduksi Pakan diet tinggi lemak .....	92
18. Perbandingan kadar HbA1C Pada Kelompok Perlakuan Post Intervensi .....	92
19. Perbandingan Kadar HbA1C antar kelompok setelah intervensi dengan fraksi kaya asam klorogenat .....	93
20. Hasil Pemeriksaan HOMA IR pre, Induksi DTL dan post perlakuan .....	95
21. Grafik Perubahan Rerata kadar HOMA IR Pada Kelompok Perlakuan .....	98
22. Perbandingan Kadar HOMA IR pre, induksi dan post intervensi pada masing-masing kelompok perlakuan .....	98
23. Perbandingan kadar HOMA IR Pada Kelompok Perlakuan Post Intervensi .....	99
24. Perbandingan HOMA IR antar Kelompok Post Intervensi .....	100
25. Perbandingan Ekspresi Gen GLUT-4 Pada Kelompok Perlakuan	102
26. Grafik Perubahan Rerata ekspresi Gen GLUT-4 Pada Kelompok Perlakuan .....	105
27. Grafik Perbandingan rerata Ekspresi Gen GLUT 4 terhadap tikus DM yang diinduksi pakan diet tinggi lemak .....	105
28. Perbandingan Ekspresi Gen GLUT-4 Pada Kelompok Perlakuan Post Intervensi .....	106
29. Rerata ekspresi GLUT-4 secara Imonuhistokimia Setelah Pemberian fraksi kaya asam klorogenat .....	110
30. Perbandingan Ekspresi Gen GLUT-4 secara Imunohistokimia Antar Kelompok Setelah Pemberian Fraksi Kaya Asam Klorogenat .....	111

31. Perbandingan ekspresi gen GLUT-4 antar kelompok Setelah Pemberian fraksi kaya asam klorogenat .....	112
32. Analisis Korelasi Glukosa dara puasa, HbA1C,HOMA IR dan ekspresi mRNA gen GLUT-4 .....	113

## DAFTAR ISTILAH

---

<b>Istilah</b>	<b>Arti dan Penjelasan</b>
Asam klorogenat	suatu senyawa yang termasuk kedalam komponen fenolik, terbentuk dari esterifikasi asam quinic dan asam transinamic tertentu
Adiposa	jaringan ikat yang terdiri dari adiposit, sel-sel kaya lipid Berfungsi untuk menyimpan energi dalam bentuk lemak
Diabetes Melitus	penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya
Dislipidemia	kondisi yang terjadi ketika kadar lipid (lemak) di dalam darah terlalu tinggi atau terlalu rendah
Endotoksin	toksin pada bakteri gram negatif berupa lipopolisakarida pada membran luar dari dinding sel yang pada keadaan tertentu bersifat toksik pada inang tertentu
Glikolisis	proses pemecahan glukosa atau gula di dalam darah yang melibatkan beberapa enzim, di antaranya enzim heksokinase dan enzim fosfofruktokinase
Glukosa Transporter	sekelompok protein dari kelas transporter monosakarida yang terdapat pada sel, berfungsi untuk menyerap glukosa dari sirkulasi darah dan mempercepat penurunan rasio plasmanya, dengan mengalihkan glukosa tersebut ke dalam sel target, umumnya berupa sel pada jaringan adiposa atau otot lurik dan otot jantung
glukoneogenesis	proses pemecahan glukosa atau gula di dalam darah yang melibatkan beberapa enzim, di antaranya enzim heksokinase dan enzim fosfofruktokinase
Insulin	Hormon polipeptida yang mengatur metabolisme karbohidrat

---

---

Sekresi	proses untuk membuat dan melepaskan substansi kimiawi dalam bentuk lendir yang dilakukan oleh sel tubuh dan kelenjar
Reseptor insulin	komponen glikoprotein dari membran plasma
Resistensi insulin	Turunnya kemampuan insulin untuk merangsang penggunaan glukosa tubuh atau turunnya respon sel target (otot jantung, jaringan lemak dan hati) terhadap konsentrasi insulin fisiologis

---



## DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

Lambang/ Singkatan	Arti dan Penjelasan
ADA	American Diabetes Association
AGE	Advanced glycation end-products
ATP	<i>Adenosina trifosfat</i>
CGA	Chlorogenat Acid
DMG	Diabetes Mellitus Gestasional
DM	Diabetes Mellitus
DNA	deoxyribonucleic acid
DPP-4	dipeptidyl peptidase-4
FFA	Free Fatty Acid (Asam Lemak Bebas)
G6P	glukosa-6-phosphate
GLUT	Glukosa Transferter
HDL	<i>High-density lipoprotein</i>
IR	Reseptor Insulin
IRS	Insulin Reseptor substrat
<i>IL-6</i>	<i>Interleukin-6</i>
<i>IMT</i>	<i>Indeks Massa Tubuh</i>
<i>ISPAD</i>	<i>International Society of pediatric and adolescence diabetes</i>
LDL	Low-density lipoprotein
MODY	Maturity Onset Diabetes of the Young
NEFA	Non esterified fatty acid
PI3K	phosphatidylinositol 3 kinase
Polifagia	banyak makan
Poliuria	banyak berkemih
Polydipsia	banyak minum
PPAR - $\gamma$	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma
ROS	reactive oxygen species
RNS	reactive Nitrogen species
STZ	Streptozotosin
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
<i>TGF</i>	tumor growth factor
VLDL	<i>Very-low-density lipoprotein</i>
WHO	World Health Organization

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Penyakit gangguan metabolik yang disebabkan kenaikan glukosa darah akibat penurunan sekresi insulin oleh sel beta pankreas dan gangguan fungsi insulin dikenal dengan diabetes melitus tipe-2 (Jean-Marie 2018). Kelainan multigenik faktorial yang ditandai hiperglikemia kronis yang timbul dari resistensi insulin di mana jaringan target gagal merespon kadar insulin normal (Alan R. Saltiel, 2016) .

Sindrom metabolik yang banyak terjadi seperti resistensi insulin, visceral adiposit, dislipidemia, dan keadaan inflamasi secara sistemik (Tjandrawinata 2016). Resistensi insulin disebabkan karena aksi insulin yang berkurang dalam jaringan target metabolik dan vaskuler, sehingga diperlukan konsentrasi insulin yang lebih tinggi dari normal untuk mempertahankan normoglikemia. Resistensi insulin akan mengganggu ambilan glukosa di jaringan perifer dan mengakibatkan produksi glukosa yang berlebihan pada hati, sehingga memicu terjadinya penyakit diabetes melitus tipe-2(Tjandrawinata 2016). Insulin termasuk hormon protein, yang disimpan dalam sel beta pankreas dalam bentuk kristal (Levine 1974).

Kegemukan sebagai faktor penyebab penyakit metabolik, dimana jaringan adiposa memodulasi metabolisme dengan melepaskan Non esterified fatty acid (NEFA) dan gliserol. Obesitas meningkatkan risiko

terjadinya resistensi insulin dan diabetes melitus tipe 2, melalui jaringan adiposa di dalam lemak dengan cara melepaskan lebih banyak asam lemak bebas (FFA), gliserol, hormon, sitokin pro-inflamasi dan faktor lain, yang dapat mempengaruhi terjadinya resistensi insulin dan diabetes melitus tipe 2. Non esterified fatty acid (NEFA) memicu resistensi insulin dan merusak fungsi sel  $\beta$ , yang selanjutnya terjadi penurunan sensitivitas insulin. Adanya ketidak seimbangan asupan energi dapat menyebabkan obesitas, yang merupakan faktor risiko paling potensial untuk diabetes melitus tipe-2 (Sazonov And Schuckers, 2010). Jaringan adiposa dianggap sebagai tempat penyimpanan energi di lemak dalam bentuk trigliserida. Jaringan adiposa seperti Tumour Necrosis Factor alpha (TNF- $\alpha$ ), Interleukin 6 (IL-6), Transforming growth factor beta (TGF), angiotensin, adiponektin dan sebagainya (Santana,et.al 2017).

Penghambatan ikatan insulin dengan reseptornya, menyebabkan kadar insulin dalam darah terus meningkat atau hiperinsulinemia. Hiperinsulinemia yang berkepanjangan ini akan mengaktifasi jalur protein kinase mTOR/S6K1 dan menyebabkan resistensi insulin dengan meningkatkan fosforilasi IRS-1. Aktivasi jalur protein kinase mTOR ini juga menghambat IRS-1 dari aktivasi fosfatidilinositol 3-kinase (PI3K) dan Akt. PI3K dan Akt merupakan dua efektor metabolisme insulin. Sehingga hal tersebut mengakibatkan resistensi insulin dan penurunan klirens insulin. Mekanisme resistensi insulin pada diabetes melitus tipe 2 terjadi karena kelelahan sel beta pankreas akibat meningkatnya produksi insulin terus

menerus sebagai kompensasi terhadap peningkatan kadar glukosa darah secara kronis. Kelelahan sel beta pankreas mengakibatkan kadar glukosa darah tetap tinggi walaupun dalam keadaan puasa seperti yang ditemukan pada diabetes melitus tipe 2 (Kelana et al. 2016). Obesitas penyebab terbanyak terjadinya resistensi insulin, yang diawali dengan berkurangnya jumlah reseptor insulin dan kegagalan reseptor untuk mengaktifkan tirosin kinase (Umboh, Kasie, and Edwin 2007). Insulin merangsang kerja Glukosa Transporter (GLUT) untuk memfasilitasi masuknya glukosa, asam amino dan asam lemak ke dalam sel (Pagel-Langenickel et al. 2008). Gangguan translokasi dan ekspresi GLUT-4 pada otot skeletal memperlihatkan adanya hubungan dengan terjadinya sindrom resistensi insulin (Scheepers, Joost, and Schürmann 2004).

Tingginya biaya pengobatan penyakit diabetes melitus, dapat menjadi ancaman bagi pasien untuk berhenti melakukan pengobatan yang memicu terjadinya komplikasi, serta konsumsi obat seumur hidup dapat memicu efek samping dari penggunaan obat, saat ini ada beberapa obat alternatif yang dapat digunakan sebagai terapi diabetes melitus tetapi memicu peningkatan efek samping akibat dari konsumsi obat tersebut. Semakin tingginya prevalensi diabetes melitus sehingga diperlukan bahan baku obat generasi baru yang mudah didapatkan terutama di Indonesia tanpa harus mendatangkan bahan baku dari luar negeri, Sulawesi Selatan merupakan salah satu daerah penghasil kopi terbesar di Indonesia, salah satunya adalah kopi robusta (*Coffea canifora L*) yang memiliki

kandungan asam klorogenat yang dapat dijadikan sebagai bahan baku dalam pengobatan diabetes melitus.

Kopi robusta (*Coffea canephora* L ) memiliki senyawa utama yaitu kafein dan asam klorogenat, merupakan antioksidan yang berguna untuk mengurangi efek kerusakan sel akibat radikal bebas dan pendorong metabolisme yang meminimalkan pelepasan glukosa berlebihan dari hati ke dalam darah, kopi mengandung banyak senyawa seperti fenol, diterpen, trigonelin dan mineral seperti kalium dan magnesium, asam klorogenat, trigonelin, quinide dan telah terbukti mempengaruhi metabolisme glukosa, asam Klorogenat merupakan komponen utama kedua dalam kopi yang termasuk dalam golongan senyawa fenol dalam kopi (Yamauchi et al. 2010).

Kopi hijau sumber utama CGA di alam (5–12 g / 100 g). Studi terbaru menunjukkan bahwa konsumsi ekstrak kopi hijau memberikan efek penghambatan akumulasi lemak memodulasi metabolisme glukosa pada manusia (Ong, Hsu and Tan, 2012). Beberapa penelitian mengatakan bahwa konsumsi kopi setiap hari tanpa kafein yang mengandung asam klorogenat yang tinggi secara signifikan dapat mengurangi resiko terkena diabetes melitus tipe 2 serta dapat menurunkan tekanan darah pada pasien hipertensi (Shokouh et al. 2019). Pemberian seduhan daun kopi robusta pada suhu 70°C dapat meningkatkan status antioksidan total pada tikus yang mengalami sindrom metabolik dengan penginduksi diet tinggi lemak dan fruktosa (Widyastuti et al. 2020). Penelitian selanjut mengenai

isolasi asam klorogenat dari kopi robusta pada tikus wistar yang diinduksi dengan diet tinggi lemak dan streptozotisin (STZ) 35mg/kg/BB, menunjukkan bahwa pemberian asam klorogenat dengan dosis 10 mg/kg/BB/hari serta 20 mg/kg/BB/hari secara signifikan meningkatkan status glikemik dan fungsi ginjal pada tikus diabetes melitus tipe-2.

Berdasarkan uraian diatas, dipandang perlu untuk dilakukan penelitian tentang pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat dari biji kopi hijau robusta (*Coffea chaneformis* L) terhadap resistensi insulin, ekspresi mRNA gen Glut-4, pada tikus galur wistar diabetes melitus tipe 2 yang diinduksi pakan diet tinggi lemak.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Masalah yang akan diteliti pada penelitian ini yaitu; bagaimanakah pengaruh pemberian fraksi kaya asam Klorogenat pada biji kopi hijau robusta (*coffea canephora* L) terhadap resistensi insulin, ekspresi mRNA gen Glut-4, pada tikus galur wistar diabetes melitus tipe 2 yang diinduksi pakan diet tinggi lemak?

Masalah ini dapat dirumuskan dalam bentuk pertanyaan-pertanyaan penelitian berikut ini :

1. Berapakah kandungan total asam klorogenat fraksi biji kopi hijau robusta (*Coffea chaneformis* L)?
2. Bagaimana pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat terhadap kadar glukosa darah puasa pada tikus galur wistar yang diinduksi pakan diet tinggi lemak?



3. Bagaimana pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat biji kopi hijau robusta terhadap kadar HOMA IR tikus galur wistar yang diinduksi pakan diet tinggi lemak?
4. Bagaimana pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat biji kopi hijau robusta terhadap kadar HbA1C tikus galur wistar yang diinduksi pakan diet tinggi lemak?
5. Bagaimana pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat biji kopi hijau robusta terhadap ekspresi mRNA gen Glut-4 pada tikus galur wistar yang di induksi pakan diet tinggi lemak
6. Bagaimana pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat biji kopi hijau robusta terhadap ekspresi protein GLUT 4 secara imonuhistokimia pada otot skeletal tikus galur wistar yang diinduksi pakan diet tinggi lemak

### 1.3 Tujuan Peneitian

Tujuan penelitian ini, untuk menentukan pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat dari biji kopi hijau robusta (*coffea canephora* L) terhadap resistensi insulin, ekspresi mRNA gen Glut-4, ekspresi protein GLUT-4, pada tikus galur wistar diabetes melitus tipe 2 yang diinduksi dengan diet tinggi lemak secara khusus:

- 1 Menentukan kadar asam klorogenat pada fraksi etanol biji kopi hijau robusta (*Coffea chanefora* L)
- 2 Menentukan pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat dari biji kopi hijau robusta (*Coffea chanefora* L) terhadap kadar glukosa darah

puasa pada tikus galur wistar yang diinduksi dengan pakan diet tinggi lemak

- 3 Menentukan pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat dari biji kopi hijau robusta (*Coffea chaneformis* L) terhadap kadar HbA1C pada tikus galur wistar yang di induksi pakan diet tinggi lemak
- 4 Menentukan pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat dari biji kopi hijau robusta (*Coffea chaneformis* L) terhadap kadar HOMA IR pada tikus galur wistar yang di induksi pakan diet tinggi lemak
- 5 Menentukan pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat dari biji kopi hijau robusta (*Coffea chaneformis* L) terhadap Ekspresi mRNA gen Glut-4 pada tikus galur wistar yang diinduksi pakan diet tinggi lemak
- 6 Menentukan pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat dari biji kopi hijau robusta (*Coffea chaneformis* L) terhadap ekspresi protein GLUT-4 secara imunohistokimia pada otot skeletal pada tikus galur wistar yang diinduksi dengan pakan diet tinggi lemak

#### **1.4 Keaslian Penelitian**

Penelitian sejenis telah dilakukan sebagai berikut:

1. Bicho *et al.*, 2013 membuktikan bahwa asam klorogenat dapat menghambat penyerapan glukosa dalam usus melalui penghambatan translocase glukosa-6-fosfat dan penurunan transportasi glukosa yang digerakkan oleh gradien natrium. Selain itu, asam Klorogenat dan turunannya menurunkan output glukosa hepatic melalui penghambatan aktivitas glukosa-6-fosfatase

2. Huxley et.all., melaporkan bahwa konsumsi harian 3 sampai 4 cangkir kopi yang mengandung asam Klorogenat secara signifikan mengurangi resiko diabetes melitus tipe-2 sebesar 30%
3. Karthikesan et.all., (2010) Asam Klorogenat (CGA) dengan dosis 5 mg/kg berat badan memiliki potensi antidiabetes pada tikus yang diinduksi streptozotocin (STZ) dan nicotinamide.
4. Zheng et.all (2007) meneliti efek penghambatan asam Klorogenat pada konsentrasi glukosa darah setelah makan pada tikus, dapat menghambat aktivitas  $\alpha$ -amilase dan  $\alpha$ -glukosidase serta mengurangi konsentrasi glukosa darah setelah makan

### **1.5 Manfaat**

1. Manfaat pengembangan Ilmu

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi teori tentang pengaruh pemberian fraksi kaya asam klorogenat dari biji kopi hijau robusta (*offea canephora L*) terhadap resistensi insulin, ekspresi mRNA gen glut-4 pada tikus diabetes melitus tipe-2

2. Manfaat Aplikasi

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif serta pengembangan produk sebagai bahan baku obat yang dapat digunakan dalam pengobatan bagi pasien diabetes melitus tipe 2

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Diabetes Melitus**

##### **1. Defenisi**

Diabetes melitus termasuk kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya. Penyakit diabetes melitus termasuk penyakit kronis akibat menurunnya fungsi pankreas untuk memproduksi insulin sehingga terjadi gangguan metabolisme glukosa. Pada penderita diabetes melitus, glukosa tidak dapat diubah menjadi glikogen sehingga tidak dapat masuk ke dalam sel dan menyebabkan glukosa darah meningkat. Orang dengan kadar glukosa berlebih akan mengalami penurunan berat badan dan juga mudah mengalami kelelahan akibat kadar glukosa tidak dapat diserap semua dan tidak dimetabolisme dalam sel (Judith G. Regensteiner *et al.*, 2018).

Diabetes melitus termasuk penyakit degeneratif, yaitu penyakit yang terjadi akibat fungsi atau struktur dari jaringan atau organ tubuh yang secara progresif menurun dari waktu ke waktu karena usia atau karena gaya hidup. Diabetes melitus adalah suatu kelainan metabolik kronis serius yang memiliki dampak signifikan terhadap kesehatan seseorang, kualitas hidup, harapan hidup pasien, dan pada sistem layanan kesehatan (Sreemantula *et al.* 2005)

## 2. Klasifikasi Diabetes Melitus

Tabel 1. Klasifikasi etiologis diabetes melitus

Tipe 1	Destruksi sel beta, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut <ul style="list-style-type: none"><li>- Melalui proses imunologik (Autoimun)</li><li>- Idiopatik</li></ul>
Tipe 2	Bervariasi mulai yang dominan resistensi insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang dominan defek sekresi insulin disertai resistensi insulin
Tipe lain	<ul style="list-style-type: none"><li>- defek genetik fungsi sel beta</li><li>- defek genetik kerja insulin</li><li>- penyakit eksokrin pankreas</li><li>- endokrinopati</li><li>- karena obat atau zat kimia</li><li>- infeksi</li><li>- sebab imunologi yang jarang</li><li>- sindrom genetik lain yang berkaitan dengan diabetes melitus</li></ul>
Diabetes melitus gestasional	Diabetes melitus yang timbul pada masa kehamilan, umumnya bersifat sementara, tetapi merupakan faktor resiko diabetes melitus tipe-2

Klasifikasi diabetes melitus telah diperkenalkan berdasarkan metode presentasi klinis, umur, dan riwayat penyakit. Klasifikasi ini telah disahkan oleh WHO dan telah dipakai diseluruh dunia (Price and Wilson, 2005).

Ada empat klasifikasi gangguan toleransi glukosa, yaitu diabetes melitus tipe 1, diabetes melitus tipe 2, diabetes melitus gestasional, dan diabetes melitus tipe lain.

### a. Diabetes melitus tipe 1 (Diabetes melitus tergantung insulin)

Diabetes melitus tipe 1 dulu dikenal sebagai tipe juvenil dan tipe dependen insulin, pasien mengalami kekurangan insulin absolut sehingga membutuhkan insulin dari luar (Atlas and Publishers 2009).

Penyebab diabetes melitus tipe 1 adanya kerusakan sekresi insulin

pada keadaan normal setelah konsumsi makanan sebagai respons terhadap peningkatan kadar glukosa dan asam amino yang bersirkulasi (Mycek, 2001).

b. Diabetes melitus tipe 2 (Diabetes melitus tidak tergantung insulin)

Diabetes melitus tipe 2 dikenal sebagai tipe tidak tergantung insulin, serta terdapat defisiensi insulin relatif. Hingga saat ini diabetes melitus tipe 2 yang sering terjadi, pasien tidak mutlak bergantung pada suplai insulin dari luar (Atlas and Publishers 2009). Menurut perkiraan, 5-10% orang diatas usia 60 tahun mengidap penyakit diabetes melitus tipe 2, biasanya terjadi pada orang dewasa pada umur 40 tahun keatas dengan insidensi lebih besar pada orang gemuk (*overweight*, dengan BMI > 27)(diabetes care 2019).

Faktor genetik merupakan penyebab yang lebih besar dari pada virus atau antibodi autoimun. Penyebab diabetes melitus tipe 2 adalah penurunan fungsi dari sel  $\beta$  pankreas, yang menyebabkan kadar insulin bervariasi dan tidak cukup untuk memelihara homeostatis glukosa. Pada beberapa kasus, resistensi insulin disebabkan oleh penurunan jumlah reseptor insulin. (Mycek, 2001). Menurut Tjay dan Kirana (2007), penyebab diabetes melitus tipe 2 antara lain akibat proses penuaan, banyak penderita jenis ini mengalami penyusutan sel-sel  $\beta$  yang progresif serta penumpukan amiloid disekitarnya. Sel  $\beta$  yang tersisa umumnya masih aktif, tetapi sekresi insulinnya semakin berkurang. Selain itu kepekaan



reseptornya juga menurun. Penurunan fungsi sel  $\beta$  bersama resistensi insulin yang meningkat yang mengakibatkan terjadinya hiperglikemia.

c. Diabetes gestasional (diabetes kehamilan)

Diabetes melitus *gestasional* (DMG) adalah terjadinya intoleransi glukosa pada masa kehamilan. Resistensi insulin yang terjadi akibat perubahan metabolik dari proses kehamilan dapat meningkatkan kebutuhan insulin dan kemudian terjadi hiperglikemia (American Diabetes Association 2018). Pada umumnya diabetes melitus gestasional (DMG) sembuh dengan sendirinya setelah persalinan. Faktor risiko terjadinya DMG adalah usia tua, etnik, obesitas, riwayat keluarga, dan riwayat gestasional terdahulu. Karena terjadi peningkatan sekresi berbagai hormon yang mempunyai efek metabolik terhadap toleransi glukosa, maka kehamilan adalah suatu keadaan diabetogenik. Menurut kriteria, DMG terjadi apabila dua atau lebih dari nilai berikut ini ditemukan atau dilampaui setelah pemberian 75 g glukosa oral yaitu kadar glukosa puasa, 105 mg/dL; 1 jam, 190 mg/dL; 2 jam, 165 mg/dL; 3 jam, 145 mg/dL (Price dan Wilson, 2005).

Pada umumnya DMG mulai ditemukan pada kehamilan trimester kedua atau ketiga, pada saat itu terjadi keadaan resistensi insulin. Oleh karena resiko kesakitan dan kematian perinatal tinggi, maka dianjurkan skrining DMG dilakukan pada semua wanita hamil (Adam, 2005). Pengenalan diabetes melitus sangat penting karena

penderita beresiko tinggi terhadap frekuensi kematian janin yang lebih tinggi. Kebanyakan perempuan hamil harus menjalani pemeriksaan DMG selama usia kehamilan 24 hingga 28 minggu (Price dan Wilson, 2005).

d. Diabetes Tipe khusus lain

Diabetes tipe spesifik lain adalah (a) kelainan genetik dalam sel beta seperti yang dikenali pada MODY (*diabetes awitan dewasa muda*). Diabetes subtype ini memiliki prevalensi familial yang tinggi dan bermanifestasi sebelum usia 14 tahun. Pasien seringkali obesitas dan resisten terhadap insulin. Kelainan genetik telah dikenali dengan baik dalam empat bentuk mutasi dan fenotip yang berbeda (MODY 1, MODY 2, MODY 3, MODY4); (b) kelainan genetik pada kerja insulin, menyebabkan sindrom resistensi insulin berat dan akantosis nekrotik; (c) penyakit pada eksokrin pankreas menyebabkan pankreatitis kronik; (d) penyakit endokrin seperti sindrom Cushing dan akromegali; (e) obat-obat yang bersifat toksik terhadap sel-sel beta; dan (f) infeksi (Price dan Wilson, 2005).

Menurut *International Society of Pediatric and Adolescent Diabetes* (ISPAD) (2009), diabetes melitus tipe lain dapat berupa defek genetik fungsi pankreas sel  $\beta$  dan defek genetik pada kerja insulin, kelainan eksokrin pankreas misalnya pankreatitis, neoplasia, kistik fibrosis, dan haemokromatosis. Selain itu dapat pula berupa gangguan endokrin seperti akromegali, sindrom *Cushing*, glukagonoma, hipertiroidisme, dan

somatortatinoma. Diabetes melitus tipe lain juga dapat terjadi akibat terinduksi obat dan kimia misalnya pentamidin, asam nikotik, glukokortikoid, hormon tiroid, dan lain-lain.

### **3. Gejala Diabetes Melitus**

Penyakit diabetes melitus ditandai berbagai gejala yaitu polifagia (banyak makan), poliuria (banyak berkemih), dan polidipsia (banyak minum). Disamping naiknya kadar gula darah, diabetes ditandai oleh adanya “gula” dalam kemih (glikosuria) dan banyak berkemih karena glukosa yang disekresikan mengikat banyak air. Akibatnya timbul rasa sangat haus, kehilangan energi, turunnya berat badan serta rasa letih. Tubuh mulai membakar lemak untuk memenuhi kebutuhan energinya, yang disertai pembentukan zat-zat perombakan, antara lain aseton, asam hidroksibutirat dan diasetat, yang membuat darah menjadi asam. Keadaan ini yang disebut *ketoacidosis* dan terutama timbul pada tipe 1, amat berbahaya karena akhirnya dapat menyebabkan kehilangan kesadaran (*coma diabeticum*). Napas penderita yang sudah menjadi sangat kurus sering kali juga berbau aseton (Tjay dan Kirana, 2007). Gejala kronik yang sering timbul adalah kesemutan, kulit terasa panas atau seperti tertusuk-tusuk jarum, rasa tebal di kulit, sehingga kalau berjalan seperti diatas bantal atau kasur, kram, letih, mudah mengantuk, mata kabur, gatal disekitar kemaluan, terutama wanita, gigi mudah goyah dan mudah lepas, kemampuan seksual menurun, bahkan impoten (Tjokroprawiro, 2006).

#### 4. Kriteria Diagnosis

Kriteria diagnosa yang ditetapkan oleh *World Health Organization* (WHO) pada tahun 1980 dan 1985 masih digunakan, meskipun telah ditarik dan diperbaiki oleh *American Diabetes Association* (ADA) melalui komite ahli tentang diagnosa dan penggolongan diabetes melitus 1997. Kriteria yang dimaksud sebagai berikut:

1. *World Health Organization* (WHO) : Kadar glukosa atau gula dengan atau yang melampaui 11.1 mmol/L dalam plasma darah vena yang diambil sampelnya secara acak (atau 10.1mmol/L jika seluruh darah vena diambil sampelnya), atau kadar gula puasa dengan atau yang melampaui 7.8 mmol/L dalam plasma darah vena (Atau 6.7 mmol/L jika seluruh darah vena diambil sampelnya).
2. *American Diabetes Association* (ADA) : Kadar glukosa dengan atau yang melampaui 11.1 mmol/L dalam plasma darah vena yang diambil sampelnya secara acak, ditambah dengan gejala-gejala diabetes, atau kadar gula puasa dengan atau yang melampaui 7.0 mmol/L dalam plasma sampel darah vena (Puasa dinyatakan sebagai tanpa makan atau minum yang mengandung kalori-kalori selama 6-10 jam sebelumnya, biasanya semalam) (Mc Wright, 2008).

Diagnosa pasti diabetes melitus adalah apabila ada gejala khas serta keluhan ditambah kadar glukosa darah sewaktu  $\geq 200$  mg/dL dan kadar glukosa darah puasa  $\geq 126$  mg/dL pada dua kali pemeriksaan yang berbeda.

## 5. Komplikasi Diabetes Melitus

Komplikasi diabetes melitus dapat terjadi akibat rendahnya kontrol diabetes. Komplikasi tersebut dapat berupa komplikasi makrovaskuler maupun mikrovaskuler. Komplikasi makrovaskuler berupa penyakit serebrovaskuler atau stroke, penyakit arteri perifer dan penyakit jantung koroner yang merupakan penyebab kematian terbesar pada pasien diabetes melitus (ADA, 2002). Komplikasi mikrovaskuler berupa retinopati diabetik, katarak, kerusakan ginjal sebagai penyebab gagal ginjal serta kerusakan saraf tepi (neuropati diabeti) (Halliwell dan Gutteridge, 1999). Beberapa penelitian membuktikan bahwa komplikasi diabetes berkorelasi dengan konsentrasi glukosa darah (Giugliano *et al.*, 1996).

Salah satu penyebab peningkatan kadar glukosa dalam darah adalah sensitivitas insulin yang menurun (resistensi insulin) (Williams, 2011). Resistensi insulin berhubungan dengan penurunan ambilan glukosa oleh jaringan perifer, turunnya penghambatan produksi glukosa oleh hepar dan peningkatan lipolisis (Williams, 2011). Namun demikian, hiperglikemia berat juga merupakan faktor yang memperparah kondisi resistensi insulin karena sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas yang berlebihan. Peningkatan produksi insulin mengakibatkan kadar insulin dalam darah menjadi tinggi (hiperinsulinemia) yang memperparah resistensi insulin melalui mekanisme *down regulation* reseptor insulin. Saat kadar glukosa darah naik maka terjadi hiperinsulinemia untuk menurunkan kadar glukosa darah. Namun pada keadaan ini terjadi

penurunan jumlah reseptor insulin pada sel target. Pengurangan reseptor sel target yang berlangsung kronik dan secara bertahap akan menurunkan kepekaan sel terhadap peningkatan insulin. Hal ini yang memperparah kondisi hiperglikemia pada individu dengan diabetes melitus tipe 2 (Olefsky *et al.*, 1985).

Hiperglikemia diketahui sebagai penginduksi radikal bebas yang menyebabkan stres oksidatif dan berkontribusi pada komplikasi diabetes (Giugliano *et al.*, 1996). Stres oksidatif terjadi akibat peningkatan produksi atau gangguan pembuangan molekul reaktif seperti *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) (Maritim *et al.* 2003). *Reactive oxygen species* dapat menstimulasi pembentukan LDL teroksidasi. *Low-density lipoprotein* teroksidasi tidak dapat dikenali oleh reseptor LDL sehingga dikenali oleh reseptor *scavenger* makrofag sebagai benda asing. Fagositosis LDL teroksidasi oleh makrofag merupakan patogenesis terbentuknya *foam cell* dan plak aterosklerosis (Boullier *et al.*, 2001).

Hiperglikemia juga menyebabkan kerusakan sel yang tidak tergantung insulin dalam pemasukan glukosa ke dalam sel yaitu sel endotel retina, sel neuron, sel schwann dan sel mesangial glomerulus ginjal. Pada sel-sel tersebut terdapat peningkatan kadar glukosa intrasel yang menyebabkan sel tersebut menjadi rusak. Kerusakan terjadi melalui beberapa mekanisme antara lain peningkatan aktivitas jalur polyol (sorbitol), peningkatan produksi AGE (*Advanced Glycation End-products*)

intraseluler, peningkatan jalur aktivitas *stress-sensitive* (NF- $\kappa$ B, p38 MAPK dan Jak/STAT) dan peningkatan aktivitas jalur hexosamine (Ceriello, 2003). Mekanisme tersebut meningkatkan produksi ROS yang dapat mengakibatkan kerusakan DNA (Brownlee, 2005).

Meskipun dalam kondisi hiperglikemia, sel dalam tubuh mengalami kekurangan energi (Williams, 2011). Hal ini menyebabkan peningkatan aktivitas enzim *lipoprotein lipase* (LPL). Enzim LPL menghidrolisis trigliserid dalam adiposit (Bishop *et al.*, 2010). Asam lemak bebas dan gliserol merupakan hasil hidrolisis dari trigliserid yang kemudian dijadikan sumber energi alternatif oleh sel (Williams, 2011). Peningkatan kadar asam lemak bebas dalam hepar mengakibatkan peningkatan produksi VLDL kaya trigliserid. Trigliserid ditransfer dari VLDL ke LDL dan HDL. Setelah VLDL mentransfer trigliserid ke LDL dan HDL, VLDL mengandung *cholesteryl ester* akibat aktivitas *cholesterol ester transfer protein* (CEPT). Kondisi ini menyebabkan peningkatan katabolisme HDL oleh hepar yang menghasilkan penurunan kadar HDL serum (Horowitz *et al.*, 1993). Salah satu fungsi dari HDL adalah untuk menjaga keseimbangan kolesterol di sel perifer melalui jalur *reverse cholesterol transport pathway*. Penurunan kadar HDL ini dapat menyebabkan terjadinya peningkatan kadar kolesterol total.

## 6. Pengobatan Diabetes Melitus

Terdapat beberapa golongan obat antidiabetes diantaranya (Katzung, 2012):

### a. Golongan Sulfonilurea

Generasi kesatu; tolbutamid, klorpropamid, generasi kedua; glibenklamid, gliklazid, glipizid, glikidon dan glimepirid. Antidiabetik oral dari sulfonilurea yang meningkatkan sensitivitas sel- $\beta$  pankreas terhadap glukosa, untuk meningkatkan pelepasan insulin. Obat ini dapat meningkatkan depolarisasi membran sel- $\beta$  dengan menutup *ATP-gated K<sup>+</sup> channel*. Biasanya, saluran ini ditutup ketika terjadi peningkatan glukosa intraseluler, yang menyebabkan ATP meningkat. Tolbutamid dan gliburid (glibenklamid) termasuk golongan obat ini (Lullman *et al.*, 2000).

Mekanisme kerja sulfonilurea adalah merangsang pelepasan insulin dari sel- $\beta$  pankreas sehingga hanya efektif bila sel- $\beta$  pankreas masih dapat memproduksi; mengurangi kadar glukagon dalam serum; meningkatkan pengikatan insulin pada jaringan target dan reseptor; dan meningkatkan insulin dengan kebersihan hormon di hati (Lullman *et al.*, 2000).

Obat-obat golongan sulfonilurea sering disebut sebagai insulin secretagogues, karena mekanisme kerja obat ini merangsang sekresi insulin dari sel sel beta Langerhans pancreas. Rangsangan ini melalui interaksi dengan ATP-sensitive K channel pada



membrane sel sel beta dan menimbulkan depolarisasi membrane. Keadaan ini akan membuka kanal Ca, terbukanya kanal Ca menyebabkan ion  $Ca^{2+}$  masuk sel beta, dan kemudian merangsang granula yang berisi insulin. Rangsangan ini menyebabkan sekresi insulin dengan jumlah yang ekuivalen denganpeptida-C. Selain itu sulfonylurea dapat mengurangi klirens insulin di hepar. Pada penggunaan dengan dosis yang besar, dapat menyebabkan hipoglikemia.

Mekanisme kerja sulfonylurea juga dapat menyebabkan penurunan konsentrasi glucagon serum. Pemberian sulfonylurea jangka panjang pada penderita diabetes yang tidak tergantung pada insulin dapat menurunkan kadar glucagon serum, ini disebabkan oleh peningkatan pelepasan insulin dan somatostatin yang dapat menghambat sel A

Sulfonilurea juga bekerja dengancara memberikan efek ekstrapankreas untuk memperkuat aktivitas insulin pada target jaringannya. Pada penderita diabetes tipe 2 terdapat bukti bahwa terjadinya peningkatan pengikatan insulin ke jaringan reseptor selama pemberian sulfonylurea.

b. Golongan Biguanida : Metformin

Obat golongan biguanida tidak berfungsi untuk menstimulasi pelepasan insulin dan tidak menurunkan gula darah pada orang sehat. Zat ini juga menekan nafsu makan hingga berat badan tidak

meningkat, sehingga dapat diberikan pada penderita yang kegemukan (Tjay dan Kirana, 2007).

Metformin tidak menyebabkan pelepasan insulin dari pankreas dan pada umumnya tidak menyebabkan hipoglikemia, bahkan dalam dosis besar. Metformin mengurangi kadar glukosa terutama dengan menurunkan produksi glukosa di hati dan dengan meningkatkan aksi insulin pada otot dan lemak (Davis et al. 2006).

Biquanid tidak merangsang sekresi insulin, hal ini berbeda dengan golongan sulfonilurea, sehingga risiko terjadinya hipoglikemia lebih kecil dibandingkan dengan obat-obat golongan sulfonilurea. Metformin dapat dipergunakan tersendiri atau dalam kombinasi dengan sulfonilurea. Mekanisme kerja metformin adalah dengan mengurangi pengeluaran glukosa hati melalui hambatan gluconeogenesis. Salah satu efek penting metformin adalah kemampuannya untuk mengurangi hiperlipidemia (menurunkan kadar kolesterol LDL, VLDL dan meningkatkan kadar kolesterol HDL).

c. Miglitinid: repaglinida, nateglinida

Repaglinida adalah *secretagogue* insulin oral kelas miglitinid. Agen ini merupakan turunan dari asam benzoat, dan strukturnya tidak berhubungan dengan sulfonilurea. Seperti sulfonilurea, repaglinida merangsang pelepasan insulin dengan menutup ATP-saluran kalium tergantung dalam sel  $\beta$  pankreas. Seperti sulfonilurea,

efek samping utama dari repaglinida adalah hipoglikemia. Meglitinida seperti repaglinide dan nateglinide digunakan sebagai pengobatan pada pasien diabetes melitus tipe 2 yang mengikuti gaya hidup yang fleksibel. Merupakan sekresi insulin kerja pendek yang memberikan risiko hipoglikemia yang lebih sedikit, penambahan berat badan dan hiperinsulinemia kronis dibandingkan dengan sulfonilurea. Meglitinida adalah substrat enzim sitokrom P450 (CYP) dan anion organik yang mengangkut polipeptida 1B1 (transporter OATP1B1) (Pakkir Maideen, Manavalan, and Balasubramanian 2018)

d. Inhibitor glukosidase: Akarbose dan miglitol

Inhibitor  $\alpha$ -glukosidase mengurangi penyerapan usus pati, dekstrin, dan disakarida dengan menghambat aksi dari  $\alpha$ -glukosidase dalam *brush border* usus. Penghambatan enzim ini memperlambat penyerapan karbohidrat, yang dapat mengumpulkan glukosa plasma postprandial baik pada orang normal dan penderita diabetes (Stein, Lamos, and Davis 2013).

Inhibitor  $\alpha$ -glukosidase tidak merangsang pelepasan insulin oleh karena itu tidak mengakibatkan hipoglikemia. Inhibitor  $\alpha$ -glukosidase biasanya digunakan dalam kombinasi dengan agen antidiabetik oral lainnya ataupun insulin. Obat-obat golongan ini harus diberikan pada saat makan karena sulit terserap (Stein et al. 2013).

Akarbose dan miglitol menghambat  $\alpha$ -glukosidase pada vili-vili usus. Enzim ini bertanggung jawab pada hidrolisis oligosakarida menjadi glukosa dan gula-gula lainnya. Akibatnya, peningkatan glukosa darah pascaprandial ditumpulkan (Morrison 2005).

e. Thiazolidindion : rosiglitazon dan pioglitazon

Thiazolidindion (glitazon: rosiglitazon, pioglitazon) adalah agen kepekaan insulin untuk membuat jaringan menjadi responsif dengan memicu sintesis yang diinginkan atau ketersediaan transporter glukosa melalui aktivasi faktor transkripsi PPAR $\gamma$  (*Peroksisom proliferasi-diaktifkan reseptor- $\gamma$* ) (Lullman, *et al.*, 2000).

Mekanisme aksi dari Thiazolidindion yaitu dengan meningkatkan sensitivitas insulin dalam jaringan perifer tetapi juga dapat menurunkan produksi glukosa oleh hati. Obat dari golongan ini mempunyai kerja farmakologi istimewa sehingga disebut *insulin sensitizers*. Thiazolidindion dapat mengurangi resistensi insulin perifer karena aktivasi PPAR di jaringan adiposa yang mengurangi aliran asam lemak ke otot, sehingga menurunkan resistensi insulin (Stein *et al.* 2013).

f. Penghambat DPP-4 (DPP-4 blockers) : sitagliptin, vildagliptin

Sitagliptin merupakan penghambat dipeptidil peptidase-IV (DPP) yang aktif peroral dan digunakan untuk terapi pasien dengan diabetes tipe 2. Obat-obat golongan ini bekerja menurunkan efek hormon inkretin. Inkretin berperan utama terhadap produksi insulin

di pankreas dan inkretin ini diuraikan oleh suatu enzim khas DPP4 (*dipeptidylpeptidase*). Dengan penghambatan enzim ini, senyawa gliptin mengurangi penguraian dan inaktivasi inkretin, sehingga kadar insulin akan meningkat (Stein et al. 2013).

## **2.2 Insulin**

Insulin merupakan hormon peptida yang disekresikan oleh sel  $\beta$  dari pulau langerhans pankreas, dan berperan dalam metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. Insulin juga memiliki fungsi untuk mengatur kadar normal glukosa darah, memudahkan penyerapan atau transpor berbagai zat seperti glukosa dan monosakarida lainnya serta asam amino, ion K, nukleosida dan fosfat anorganik melalui membran, serta mempengaruhi enzim. Insulin bekerja dengan memperantarai *uptake* glukosa seluler sehingga masuknya glukosa menjadi lebih cepat ke sel otot rangka dan adiposa, serta regulasi metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. Insulin meningkatkan transpor glukosa dari darah ke dalam sel target di jaringan perifer (otot, otak, jaringan, lemak/adiposa, hati dan lain-lain) melalui transporter glukosa (GLUT-4). Insulin juga berperan dalam penghambatan lipolisis pada jaringan lemak dan mengurangi kadar asam lemak bebas dalam plasma (Muhammad 2018) Suherman, 2007; (Sulistyoningrum et al. 2013)(Wilcox 2005).

### **1. Sintesis Insulin**

Insulin di sekresikan dari sel beta pulau Langerhans Pankreas. Precursor insulin, preproinsulin (BM : 11.500) disintesa di dalam ribosom

dan memasuki sel retikulum endoplasmik, dimana insulin ini distimulasi oleh enzim untuk membentuk proinsulin. Proinsulin terdiri dari rantai A dan B disatukan jembatan disulfide. Proinsulin ditransportasikan ke badan golgi apparatus dan dikemas ke dalam vesikel sekretori (Loureiro et al. 2015) (Weiss, 2014). Pada manusia gen pengkode insulin berada pada lengan pendek kromosom 11.

## **2. Sekresi Insulin**

Sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pankreas pada orang normal meliputi dua fase (Depkes RI, 2005; Merentek, 2006) :

- a. Fase pertama (dini), yaitu insulin dari sel-sel  $\beta$  pulau langerhans pankreas tersekresi segera setelah stimulus atau rangsangan glukosa yang terjadi dalam 3-10 menit pertama setelah makan (postprandial) yang ditandai dengan meningkatnya kadar glukosa darah. Insulin yang disekresi pada fase ini adalah insulin yang disimpan dalam sel  $\beta$  (siap pakai)
- b. Sekresi fase kedua (lanjut), yaitu sekresi insulin dimulai 20 menit setelah stimulasi glukosa.

Pada fase 1, pemberian glukosa akan meningkatkan sekresi insulin untuk mencegah kenaikan kadar glukosa darah. Kenaikan glukosa darah ini selanjutnya akan merangsang fase 2 dengan mengirimkan sinyal ke jaringan yang sensitif terhadap insulin dalam tubuh misalnya otot dan adiposa untuk meningkatkan produksi insulin agar menyerap glukosa. Hal ini menyebabkan penurunan kadar glukosa dalam plasma darah dan

secara bersamaan sel  $\beta$  langerhans akan menurunkan sekresi insulin. Makin tinggi kadar glukosa darah sesudah makan maka makin banyak pula insulin yang dibutuhkan, akan tetapi kemampuan ini hanya terbatas pada kadar glukosa darah dalam batas normal ((Hulver and Lynis Dohm 2004) ; (Merentek, 2006).

Sekresi insulin normal oleh sel  $\beta$  pankreas pada saat puasa yaitu pada saat kadar glukosa darah turun, kanal  $K^+$  yang sensitif ATP di membran sel  $\beta$  membuka sehingga ion  $K^+$  akan keluar, dengan demikian potensial membran dalam keadaan hiperpolar dipertahankan sehingga kanal  $Ca^{2+}$  tertutup, akibatnya  $Ca^{2+}$  tidak dapat masuk sehingga perangsangan sel  $\beta$  untuk mensekresi insulin menjadi menurun (Merentek, 2006;(Wilcox 2005) .

Sebaliknya pada keadaan setelah makan, kadar glukosa darah yang meningkat akan ditangkap oleh sel  $\beta$  melalui transporter glukosa-2 (GLUT-2) dan dibawa ke dalam sel. Di dalam sel glukosa akan difosforilasi menjadi *glucose-6-phosphate* (G6P) dengan bantuan enzim penting, yaitu glukokinase/heksokinase. Glukosa-6-fosfat kemudian akan mengalami glikolisis dan akhirnya akan menjadi asam piruvat menghasilkan ATP. Adanya rasio ATP/ADP akan menutup kanal  $K^+$  yang tergantung ATP (*ATP-sensitive  $K^+$  channel*) sehingga  $K^+$  menumpuk dalam sel mengakibatkan depolarisasi sel  $\beta$ . Sebagai kompensasinya, terjadi perangsangan atau aktivasi kanal  $Ca^{2+}$  yang tergantung voltase sehingga kanal tersebut terbuka, akibatnya  $Ca^{2+}$  masuk. Meningkatnya konsentrasi

$\text{Ca}^{2+}$  intraseluler merangsang sekresi insulin yaitu menyebabkan translokasi granul atau eksositosis dari granul yang mengandung insulin ke membran dan insulin dilepaskan ke darah (Ikawati, 2008);(Muhammad 2018); (Suherman, 2007); (Wilcox 2005)).

### **3. Reseptor Insulin**

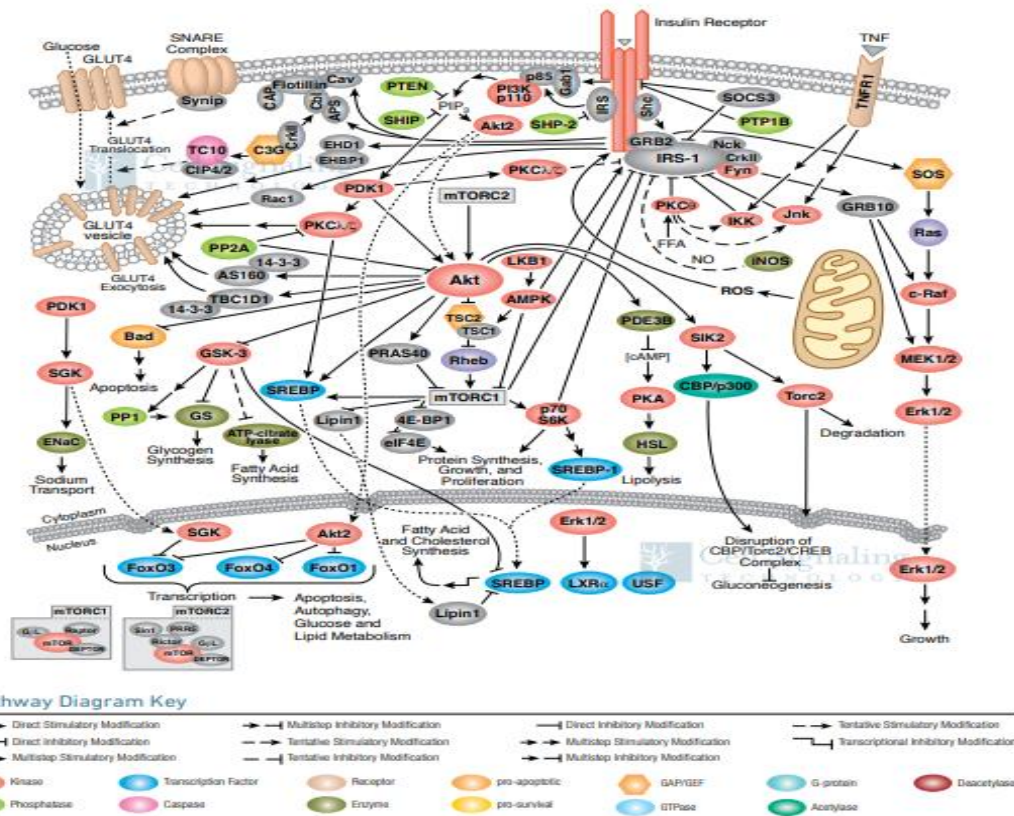
Reseptor insulin (IR) berada di membran sel bersifat heterotetramer yang terdiri dari 2 sub unit alpha ( $\alpha$ ) dan 2 sub unit beta ( $\beta$ ) yang dihubungkan oleh rantai disulfide menjadi  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  dan  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  kompleks. Sub unit  $\alpha$  berada permukaan membran dan memiliki insulin-binding site, sedangkan sub unit  $\beta$  tertanam di membran sel, menghantarkan signal dari sub unit  $\alpha$  ke intraseluler ((Wilcox 2005 ; Greenstein, 2005 ; Arnal et al, 2010)). Insulin yang disekresikan dari sel  $\beta$  pankreas akan berikatan dengan reseptor insulin  $\alpha$  pada insulin-binding site. Ikatan insulin-reseptor insulin kompleks ini kemudian masuk ke dalam sel secara endositosis. Reseptor insulin kompleks dikemas dalam bungkus berlapis secara invaginasi dan fusi oleh permukaan sel. Dalam sel, kemasan secara bertahap terbuka membentuk endosome, endosome melepaskan insulin dan reseptor insulin, reseptor insulin akan dibuang ke membran sedangkan hormon insulin akan didegradasi. Proses masuknya reseptor ke dalam sel secara endositosis setelah berikatan dengan hormon (ligand) disebut down regulation receptor atau proses internalisasi reseptor ( Greenstein, 2005). Pada manusia gen reseptor insulin bernama gen *Insr* terletak pada kromosom 19. Reseptor insulin (IR) ditemukan pada seluruh



permukaan sel tubuh, namun ekspresi reseptor insulin terbanyak ditemukan pada sel otot skeletal, sel hati dan sel lemak .

#### **4. Singnaling Insulin**

Insulin bekerja pada sel tagetnya dengan mengaktifkan tyrosine kinase. Insulin berikatan dengan subunit reseptor  $\alpha$  di ekstraseluler dan menghantarkan signal melalui sub unit  $\beta$  dengan mengaktifkan tyrosine kinase C intraselluler sehingga sub unit  $\beta$  mengalami autofosforilasi. Autofosforilasi dari insulin reseptor tirosine kinase menstimulasi aktivitas katalitik dari reseptor tyrosine kinase yang menghasilkan fosforilasi tirosin dari insulin reseptor substrat (IRSs) termasuk IRS1, IRS2, IRS3, IRS4. Ikatan ini kemudian mengaktifkan enzim phosphatidilinositol 3 kinase (PI3K). PI3 kinase memfosforilasi phosphoinositides spesifik membentuk PIP2 menjadi PIP3. PIP3 kemudian mengaktifasi serine/threonine kinase yaitu phosphoinositide-dependent kinase-1 (PDK1). Aktivasi PDK1 menyebabkan aktifasi dari Akt/protein kinase B (PKB) dan protein kinase C  $\lambda$  dan  $\zeta$  (PKC $\lambda/\zeta$ ). Signal transduksi Akt mengaktifkan fosforilasi substrat yaitu AS160 yang menstimulasi translokasi GLUT-4 (suatu protein pengangkut glukosa yang tergantung insulin) dari vesikel intraseluler eksositosis ke permukaan sel agar glukosa dapat masuk ke dalam sel (Martins et al. 2014). Mekanisme insulin signaling dapat dilihat pada gambar 1 di bawah ini.



Gambar 1 Pensinyalan Reseptor Insulin

Insulin mempunyai 3 target jaringan utama, yaitu otot skeletal, jaringan lemak dan hati. Pada ketiga jaringan ini reseptor insulin sangat banyak, dan merupakan tempat penyimpanan glukosa, Dalam keadaan normal, kadar glukosa darah seseorang adalah 90 – 120 mg/dL, setelah makan, akan meningkat menjadi 250-300 mg/dL. Peningkatan ini akan merangsang sekresi insulin untuk menurunkan kadar glukosa darah dan setelah makan kembali ke posisi normal setelah 2 jam (Budiyani et al. 2018). Penurunan kadar glukosa oleh insulin terjadi akibat pengambilan dan penyimpanan glukosa ke dalam otot skeletal, sel hati dan sel lemak. Lebih kurang 75% glukosa disimpan di sel otot skeletal, itu sebabnya disebut sebagai target terutama dari kerja insulin, sedangkan pada saat

istirahat glukosa disimpan di hati dan sel lemak (Bhattacharya, And, and Roy 2005)

## **5. Mekanisme down regulation dan up regulation reseptor insulin**

Sebuah sel memiliki banyak saluran dan reseptor yang pengaturannya sangat kompleks. Reseptor akan berespon terhadap perubahan lingkungan yang terjadi di sekitarnya baik dari sel di sebelahnya, neuron, dan lain sebagainya. Reseptor tidak selamanya berada pada permukaan sel, akan tetapi dapat dibawa masuk kembali ke dalam sel untuk dikeluarkan, ataupun didegradasi (Atlas and Publishers 2009 ; Greenstein, 2006). Apabila signal yang datang ke reseptor terlalu kuat, maka reseptor akan dibawa masuk ke dalam sel sehingga sel menjadi kurang sensitif. Inilah yang disebut sebagai “down regulation”. Sebaliknya bila signal terlalu lemah, maka reseptor akan disintesis lebih banyak sehingga sel menjadi lebih sensitive yang disebut sehingga “up regulation” (Greenstein, 2006; Costanzo, 2010).

Reseptor insulin dikode oleh gen Insulin reseptor substrat yang terletak pada lengan pendek kromosom 19 (Wilcox, 2005). Reseptor insulin akan bekerja apabila berikatan dengan ligand-nya. Ligand dari reseptor insulin adalah hormon insulin. Paparan secara terus menerus secara kronik dari insulin dapat menginduksi down regulation reseptor pada berbagai jenis sel termasuk sel adiposit, IM-9 limfosit, dan sel liver. Dari hasil penelitian terdahulu diketahui bahwa berkurangnya sensitifitas sel terhadap insulin berhubungan dengan berkurangnya jumlah reseptor

insulin di permukaan sel. Keadaan hiperglikemia dan peningkatan hormon renin angiotensin aldosteron diduga turut memainkan peranan penting terjadinya down regulation (Tiwari et al, 2007). Selain itu penurunan biosintesis reseptor insulin oleh mRNA menurunkan jumlah reseptor insulin.

Peningkatan kadar hormon insulin dalam darah memicu penurunan regulasi reseptor, jika insulin berikatan dengan reseptornya pada permukaan sel, maka kompleks reseptor hormon akan mengalami endositosis dan kemudian diserang oleh enzim lisosomal intraseluler (Ohkuma and Poole 1978). Internalisasi molekul insulin menyediakan jalur untuk degradasi hormon serta pengaturan jumlah situs yang tersedia untuk mengikat pada permukaan sel. Pada konsentrasi plasma yang tinggi, jumlah reseptor permukaan untuk insulin secara bertahap berkurang oleh percepatan internalisasi reseptor dan degradasi yang disebabkan oleh peningkatan pengikatan hormon. Laju sintesis reseptor baru di dalam retikulum endoplasma dan pemasukannya dalam membran plasma tidak sejalan dengan laju kerusakannya, seiring waktu, hilangnya reseptor sel target yang diinduksi sendiri untuk insulin mengurangi sensitivitas sel target terhadap peningkatan konsentrasi hormon. Proses ini diilustrasikan oleh situs reseptor insulin pada sel target, misalnya sel hati, pada orang dengan diabetes tipe 2, karena peningkatan kadar glukosa darah pada individu yang kelebihan berat badan, sel sel  $\beta$  (pulau langerhans) di pankreas harus melepaskan lebih banyak insulin

daripada normal untuk memenuhi permintaan dan mengembalikan darah ke tingkat homeostasis (Fröjdö, Vidal, and Pirola 2009) . Peningkatan kadar insulin darah yang hampir konstan terjadi sebagai hasil dari upaya untuk mencocokkan peningkatan glukosa darah, yang akan menyebabkan situs reseptor pada sel-sel hati untuk menurunkan regulasi dan mengurangi jumlah reseptor untuk insulin, meningkatkan resistansi subjek dengan mengurangi sensitivitas terhadap hal ini. Penurunan sensitivitas insulin pada hati dapat dilihat pada glukoneogenesis berlanjut di hati bahkan ketika kadar glukosa darah meningkat proses resistensi insulin lebih umum , yang mengarah pada diabetes pada orang dewasa (Wilcox 2005)

### **2.3 Resistensi Insulin**

Resistensi insulin adalah turunnya kemampuan insulin untuk merangsang penggunaan glukosa tubuh atau turunnya respon sel target/organ (otot, otot jantung, jaringan lemak dan hati) terhadap konsentrasi insulin fisiologis. Mekanisme yang mendasari resistensi insulin ini adalah faktor genetik atau defek primer sel target, autoantibodi terhadap insulin dan degradasi insulin yang berlangsung cepat. Gangguan ini dapat terjadi pada tingkat prereseptor, reseptor, postreseptor dan GLUT. Resistensi Insulin ditemukan pada diabetes melitus tipe 2, obesitas, gangguan toleransi glukosa, dan pada anak yang orang tuanya menderita diabetes melitus. Diantara penyebab tersebut, obesitas adalah penyebab tersering resistensi insulin, yang diawali dengan berkurangnya

jumlah reseptor insulin dan kegagalan reseptor untuk mengaktifkan tirosin kinase. Resistensi insulin ini tidak hanya ditemukan pada obesitas dengan diabetes maupun prediabetes, tetapi juga ditemukan pada obesitas yang relatif euglikemia. Resistensi insulin pada obesitas yang relatif euglikemia tidak berlanjut menjadi diabetes melitus tipe 2 karena tidak terjadi kelainan sekresi insulin oleh pankreas, sehingga kadar glukosa darah tetap normal walaupun terjadi hiperinsulinemia. Resistensi insulin adalah faktor risiko utama terjadinya intoleransi glukosa dan diabetes melitus tipe 2, mayoritas individu dengan resistensi insulin tidak berlanjut menjadi diabetes melitus tipe 2 tetapi tetap memiliki risiko tinggi terjadinya aterotrombosis/penyakit kardiovaskular walaupun tanpa disertai dislipidemia (Després, Lemieux, and Prud'homme 2001).

Resistensi insulin dianggap sebagai salah satu mekanisme yang mendasari terjadinya diabetes tipe 2. Resistensi insulin mengganggu ambilan glukosa di jaringan perifer dan mengakibatkan produksi glukosa yang berlebihan oleh hati. Hal ini berpengaruh pada terjadinya hiperglikemia pada penderita diabetes tipe 2. Phosphatidilinositol 3 Kinase (PI3K) merupakan kunci dari jalur signaling insulin yang mengaktifkan AKT agar glukosa transporter dapat bertranslokasi. Gangguan pada aktivasi PI3K akibat proses perpindahan insulin yang tidak normal karena mengalami perubahan atau menggunakan jalur signaling yang berbeda, mengakibatkan resistensi insulin (Choi and Kim 2010). Resistensi insulin sering sekali berhubungan dengan kejadian obesitas dan berhubungan

dengan asam lemak bebas. Ada empat mekanisme yang dapat menyebabkan resistensi insulin yang diinduksi oleh asam lemak bebas, yaitu: perubahan pada ekspresi jumlah reseptor insulin pada permukaan sel target insulin, pengikatan pada ligand, fosforilasi domain kinase, dan aktivitas dari reseptor tirosin kinase (Bhattacharya et al. 2005), (Vázquez-Jiménez et al. 2019)). Resistensi insulin pada diabetes melitus tipe-2 paling sering disebabkan akibat perubahan signaling sehingga pengambilan glukosa oleh kerja insulin terganggu (Choi and Kim 2010). Menurut DeFronzo dan Tripathy (2009) bahwa penderita Diabetes Melitus tipe-2 mengalami penurunan pengambilan glukosa otot sebesar 50%. Peningkatan produksi dari Siklus Krebs dan oksidasi lemak seperti peningkatan acetyl co-A, ceramide dan diacylglycerol mengganggu proses signaling ke mitokondria. Hal ini mengakibatkan terjadinya disfungsi mitokondria sehingga reseptor insulin resisten terhadap ligand nya (DeFronzo and Tripathy 2009). Mekanisme resistensi insulin dapat terjadi pada tahap pre-reseptor, reseptor dan post-reseptor

## **1. Mekanisme pre-reseptor**

### **a. Asam Lemak Bebas menginduksi kerusakan signaling insulin**

Metabolisme abnormal dari lemak akan meningkatkan konsentrasi Asam Lemak Bebas di dalam darah dan meningkatkan deposit lemak di otot skeletal. Peningkatan deposit lemak ini dapat mengganggu aktivitas insulin sehingga dapat menurunkan efektivitas stimulasi insulin untuk pengambilan glukosa oleh sel (Bhattacharya et

al. 2005). Produksi glukosa endogen di hepar oleh insulin dihambat secara efektif oleh asam lemak bebas (FFA) dengan mengaktifkan PKC. PKC $\delta$  yang ditingkatkan oleh FFA dalam 3T3L1 sel lemak dapat secara langsung menghambat IR $\beta$  kinase dan IR-1 tyrosine phosphorylation. Isotipe dari PKC $\epsilon$  diduga mempunyai hubungan dengan resistensi insulin. Ekspresi yang berlebih dari PKC $\epsilon$  dijumpai pada otot skeletal hewan diabetes dan penderita diabetes. ekspresi dan aktivasi PKC $\epsilon$  mengakibatkan down regulation sejumlah IR di atas membran sel dengan menurunkan aktivitas AKT. Pemberian asam lemak bebas (FFA) pada sel otot skeletal dan sel lemak, akan menghambat fosforilasi PDK1, mengakibatkan Akt terhambat dan akhirnya menghambat sekresi insulin (Bhattacharya et al. 2005). Pada obesitas terjadi hiperplasia sel adiposa. Jaringan Adiposa menghasilkan sitokin anti inflamasi seperti adiponektin dan sitokin pro inflamasi misalnya TNF- $\alpha$ . Sitokin anti inflamasi seperti adiponektin berfungsi mengatur homeostasis metabolisme lipid dan glukosa pada keadaan normal. Pada individu yang overweight dan obesitas, kadar adiponektin ditemukan menurun dan kadar TNF- $\alpha$  meningkat.(Piya, McTernan, and Kumar 2013) Asam Lemak Bebas (FFA) dapat meningkat akibat sindroma metabolik. FFA yang meningkat di dalam darah mengakibatkan hiperinsulinemia dan FFA akan berikatan dengan Toll Like Receptor (TLR) yang berada di adiposit, hati dan otot skeletal. Interaksi antara TLRs dengan FFA



mengaktifkan NF- $\kappa$ B yang merupakan faktor kunci yang mengatur transkripsi sejumlah sitokin pro inflamasi seperti IL1, TNF- $\alpha$ , PAI-1, resistin, RBP4, MCP1, Visfatin, dan lain-lain. Serin phosphorylasi dari insulin reseptor substrate 1 (IRS1) oleh berbagai adipokin secara langsung melalui jalur inflamasi termasuk c-Jun N-terminal kinases (JNK) pathway dan I-Kappa B Kinase  $\beta$  (IKK $\beta$ )/ NF- $\kappa$ B pathway mengganggu jalur insulin signal, menyebabkan peningkatan resistensi insulin (Piya et al. 2013). Resistensi insulin terjadi akibat jalur signaling insulin yang terjadi tidak melalui PI3K sehingga tidak terjadi eksositosis GLUT ke permukaan sel (Choi and Kim 2010)

b. Endotoksin dan resistensi insulin

Endotoksin dari usus secara normal diabsorpsi ke dalam darah. Akan tetapi tidak mengganggu metabolisme glukosa dan lipid. Namun peningkatan asam lemak bebas dapat menyebabkan peningkatan absorpsi endotoksin sehingga endotoksin akan berikatan dengan TLRs di hati, jaringan adiposa dan otot skeletal serta menambah sintesis pro inflamasi sitokin oleh NF- $\kappa$ B (Piya et al. 2013).

c. Mekanisme respons imun terhadap resistensi insulin

Obesitas menginduksi terjadinya inflamasi yang ditandai dengan produksi pro dan anti inflamasi dari adipositokin yang abnormal. Makrofag bertanggung jawab terhadap produksi sitokin inflamasi yang berada pada jaringan adiposa. Aktivitas sel monosit

berperan penting dalam kaskade kejadian yang mengarah kepada penyakit inflamasi termasuk resistensi insulin. Ekspresi reseptor pada permukaan sel adalah elemen kunci dalam regulasi sitokin pro inflamasi, yang disebut TLRs (TLR2 dan TLR4). TLRs (Toll Like Receptors) adalah protein transmembran yang terlibat dalam mendeteksi mikroba selama infeksi dan memainkan peranan penting dalam mekanisme pertahanan imun inang. Aktivasi dari protein-protein adaptor ini menstimulasi multi kaskade termasuk extracellular signal-regulated kinase (ERK), c-Jun N-terminal Kinase (JNK) dan p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) jalur aktivasi dari NF- $\kappa$ B signaling dan merupakan hasil peningkatan regulasi dari beragam mediator inflamasi, seperti sitokin, kemokin, dan molekul adhesi yang bersama-sama melayani fungsi penting dalam merangsang inflamasi. Dari hasil penelitian klinik dan eksperimental, telah ditemukan bahwa aktivitas TLR2 dan TLR4 meningkat pada penderita diabetes dan aktivitas ini berhubungan dengan pathogenesis diabetes dan aterosklerosis. ((Shi et al. 2006);(Curtiss and Tobias 2009) (Dasu et al. 2008)terdapat hubungan yang kuat antara ekspresi TLRs dengan IL-6 dan TNF- $\alpha$  pada penderita obesitas yang dapat diukur pada sel monosit perifer

TLR2 dan TLR4 diduga berperan pada mekanisme resistensi insulin konvensional di dalam otot skeletal dan jaringan adiposa penderita diabetes melitus tipe-2 ((Vázquez-Jiménez et al. 2019) (Shi

et al. 2006) menemukan TLR4 dideskripsikan sebagai molekul penghubung antara asam lemak bebas, inflamasi dan sistem imun alamiah tubuh. Sel adiposa memproduksi IL-6 melalui aktivasi TLR4 dan up-regulasi dari osteopontin dalam memperluas inflamasi jaringan adiposa dan resistensi insulin.

d. Estrogen dan resistensi insulin

Hormon estrogen pada manusia secara struktur molekulnya berbentuk steroid, yang memiliki 3 nama estradiol, estrone dan estriol, yang merupakan regulator utama pada sistem reproduksi pria maupun wanita dan juga fungsi nonreproduktif seperti pada jaringan tulang, sistem kardiovaskular, sistem imun dan sistem saraf. Reseptor estrogen dinamakan ERs, terdiri dari 2 bentuk ER $\alpha$  dan ER $\beta$  ((Deroo et al. 2006). Reseptor estrogen terdapat di nukleus, membran plasma dan mitokondria. ERs pada nukleus dan mitokondria ikut dalam regulasi protein/enzim yang terlibat dalam beberapa jalur regulasi metabolisme. Estrogen bekerja untuk meregulasi ekspresi dari gen target, ikut mengatur pertumbuhan sel, difrensiasi dan homeostasis. Ikatan antara reseptor estrogen nucleus dengan estrogen kompleks menghasilkan respon terhadap urutan elemen melalui interaksi protein dengan protein aktivator-1 (AP1) atau SP1 yang berada pada promoter daerah secara langsung maupun tidak langsung, menghasilkan perekrutan protein ke promoter, meningkatkan atau menurunkan

Kadar mRNA dan berhubungan dengan produksi protein dan respons fisiologis (Deroo et al. 2006) Mekanisme kerja secara genomis ini biasanya berlangsung selama berjamjam. Estrogen dapat bekerja lebih cepat (hitungan detik atau menit) melalui jalur non genomik, yaitu reseptor estrogen yang berada atau bertautan pada plasma membran ataupun non estrogen-reseptor plasma membran yang lain, yaitu estrogen-binding protein. Menghasilkan respon seluler seperti peningkatan kadar  $Ca^{2+}$  atau NO dan aktivasi dari enzim kinase (Deroo et al. 2006). ERs menginduksi aktivitas intraseluler signaling cascade memediasi efek cepat (“rapid effects”). Beberapa “rapid effects” ini kini juga diketahui dimediasi oleh G protein-couple estrogen receptor (GPER), yang dominan berada di retikulum endoplasmik secara luas tersebar di sejumlah organ tubuh manusia, termasuk jaringan lemak dan berperan dalam fungsi sistem imun sebagaimana di sistem saraf pusat dan kardiovaskular. Defisiensi GPER ditemukan berhubungan dengan peningkatan lemak visceral. ER $\alpha$  bekerja pada pulau langerhans pankreas untuk meningkatkan sekresi insulin, menurunkan gluconeogenesis dan glycolisis di hati serta meningkatkan pengambilan glukosa pada otot skeletal (Alonso-Magdalen et al. 2008). Percobaan yang dilakukan baik pada hewan maupun manusia yang kekurangan sintesis estrogen endogen menunjukkan resistensi insulin, yang dapat diterapi dengan pemberian suplemen estrogen. Estrogen

meningkatkan sensitivitas insulin hepar dengan menurunkan gluconeogenesis dan glycogenolysis (Alonso-Magdalena et al. 2008). Estrogen juga melindungi apoptosis sel  $\beta$  pankreas, menurunkan signal pro-inflamasi, dan memperbaiki kerja insulin. Ekspresi ER $\alpha$  dan ER $\beta$  banyak ditemukan pada jaringan lemak subkutan dan intra abdomen. ER $\alpha$  lebih dominan terekspresi di jaringan lemak intra abdomen. Mencit jantan dan betina yang kekurangan ER $\alpha$  berkembang menjadi obesitas sentral dengan peningkatan jaringan lemak putih (WAT) dan berat badan. Ketiadaan ER $\alpha$  mempengaruhi hypothalamus menurunkan kebutuhan energi dan meningkatkan asupan makanan pada hewan coba. Penelitian lain menunjukkan bahwa estrogen mempertahankan produksi insulin pada mencit jantan dan betina diabetes. Estrone (E2) yang bekerja pada ER $\alpha$  dapat menstimulasi sintesis insulin melalui interaksi antara ER $\alpha$  ekstraseluler dengan tyrosine kinase Src, yang mengaktifkan ERK1/2 MAPK . Peran ER $\alpha$  sebagai antidiabetik juga terlihat dari hasil penelitian, yang mengindikasikan defisiensi ER $\alpha$  meningkatkan kadar insulin puasa, mengganggu toleransi glukosa dan menghasilkan resistensi insulin otot skeletal. Estrogen dan ERs ikut meregulasi energi metabolisme pada transport glukosa. Kerja insulin menstimulasi pengambilan glukosa di otot skeletal melalui kerja GLUT-4, ditekan oleh ketiadaan ER $\alpha$ . Namun ekspresi GLUT-4 tidak dipengaruhi oleh ketiadaan ER $\beta$ . ER $\beta$  bekerja bertindak sebagai

penghambat aktivitas Peroxisome Proliferators-Activated Receptor Gamma (PPAR $\gamma$ ). PPAR $\gamma$  merupakan penghambat utama dari metabolisme glukosa dan lipid.

e. Kerja estrogen pada mitokondria

Estrogen diketahui mempunyai reseptor di mitokondria dan ikut berperan dalam regulasi energi metabolisme. Energi metabolisme digunakan mulai dari transport glukosa, glikolisis, siklus tricarboxylic acid (TCA), Mitochondrial

Respiratoric Chain (MRC) untuk fosforilasi oksidatif, translokasi dan penggunaan ATP. Encoding nDNA gen protein Mitochondrial Respiratoric Chain (MRC) dan transkripsi mtDNA dipengaruhi oleh estrogen. Keterlibatan estrogen terhadap ekspresi gen mitokondria ini terjadi melalui ikatan antara estrogen receptor (ERs) dengan estrogen receptor element mitokondria (mtERE) yang terkandung di dalam DNA mitokondria (mtDNA). Resistensi insulin pada otot skeletal dengan gangguan toleransi glukosa pada obesitas, berhubungan dengan penurunan aktivitas enzim oksidatif dan tidak proporsionalnya kerja dari enzim glikolitik. Perbandingan kerja enzim glikolitik/oksidatif berkorelasi negatif dengan sensitivitas insulin pada otot skeletal. Hal inilah yang ditemukan pada Non Insulin Dependent Diabetes Melitus (NIDDM) (Chen et al, 2009). Estrogen ikut terlibat di dalam regulasi beberapa enzim penting pada siklus TCA. Reaksi pertama dari siklus TCA adalah kondensasi

antara asetil CoA dan oxaloasetat membentuk sitrat. Reaksi ini dikatalisir oleh citrate synthase (CS) dan estrogen meningkatkan aktivitas enzim ini. Menurut Beckett et al (2002) aktivitas citrate synthase (CS) di otot skeletal dari tikus Ovx yang disuntikkan E2 selama 6 hari, signifikan lebih tinggi daripada Ovx yang tidak disuntik.

## **2. Mekanisme reseptor**

Mekanisme resistensi insulin pada tahap reseptor terjadi oleh karena penurunan densitas reseptor insulin akibat hiperglikemia dan hiperinsulinemia dalam jangka waktu yang lama.

### **Mekanisme post-reseptor**

#### **a. Aktivitas ROCK pada otot skeletal terhadap resistensi insulin**

Penelurusan tahapan dari Akt yang menyebabkan resistensi insulin telah dilakukan oleh Lienhard group. Lienhard menemukan AS160 dari 3T3-L1 sel lemak. Penelitian yang dilakukan pada AS160 ini juga menunjukkan bahwa kerja insulin terhadap fosforilasi AS160 menjadi lebih sedikit pada otot skeletal penderita Diabetes Melitus tipe-2 dan terjadi penghambatan AS160, sehingga terjadi penurunan yang signifikan terhadap translokasi GLUT-4. Lebih lanjut akibat pengaruh dari aktivitas ROCK pada otot skeletal akan memberikan kontribusi dalam mengganggu homeostasis glukosa pada pasien DM tipe-2 (Choi and Kim 2010) Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) mitokondria dan resistensi

insulin Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator-1 $\alpha$  (PGC1 $\alpha$ ) mitokondria berperan mempertahankan homeostasis glukosa, lemak dan energi. PGC-1 co-activator telah diketahui sebagai pemeran utama yang mengintegrasikan jalur signaling pada kontrol seluler dengan metabolisme sistemik. PGC-1 co-activator mempunyai aktivitas transkripsi yang kuat ketika melekat pada DNA heterolog, sangat versatile dan mempunyai kemampuan untuk berinteraksi dengan banyak faktor transkripsi yang berbeda-beda (Chang et al. 2006). Anggota pertama dari keluarga PGC-1 yang teridentifikasi dari lemak coklat adalah PPAR $\gamma$  yang sekarang dikenal dengan nama PGC-1 $\alpha$ . PGC-1 $\beta$  merupakan homolog PGC-1 $\alpha$  dari yang berbeda. Faktor transkripsi yang merupakan target PGC-1 $\alpha$  dan PGC-1 $\beta$  termasuk NRF-1 dan NRF-2, nuclear hormone receptors seperti PPAR $\alpha$ , PPAR $\delta$ , ERR $\alpha$  dan TR (tabel 1). Seluruh faktor transkripsi ini secara langsung meregulasi ekspresi gen nuclear-encoded mitokondria. NRF-1 dan NRF-2 yang merupakan target PGC-1 $\alpha$ , dapat menstimulasi ekspresi faktor transkripsi A mitokondria, suatu matrix protein mitokondria esensial untuk replikasi dan transkripsi dari DNA mitokondria. Stimulasi secara bersamaan dari PGC-1 $\alpha$  dan PGC-1 $\beta$  gen mitokondria meningkatkan kapasitas enzymatic oksidasi asam lemak- $\beta$ , siklus kreb, dan oksidasi fosforilasi (OXPHOS), merangsang ekspresi gen pada biosintesa heme, transport ion, translasi mitokondria, import protein



dan dapat menstimulasi biogenesis mitokondria serta meningkatkan fungsi respirasi. Kedua co-activator ini menstimulasi biogenesis mitokondria dengan karakteristik metabolic yang berbeda). Kehilangan PGC-1 $\alpha$  menyebabkan deficit fungsional yang signifikan pada metabolisme oksidatif di berbagai jaringan (Lin et, 2005). PGC-1 $\alpha$  meregulasi thermogenesis adaptif dari lemak coklat, serabut otot spesifik, gluconeogenesis hepar dan ketogenesis, sedangkan PGC-1 $\beta$  mengontrol sintesis lemak hepar dan produksi lipoprotein. Defisiensi PGC-1 $\alpha$  mengganggu ekspresi gen gluconeogenic dan produksi glukosa hati sehingga dapat menyebabkan hipoglikemia pada saat puasa. Kemampuan PGC-1 $\alpha$  untuk mengontrol jalur metabolisme juga terdapat pada otot skeletal. Calcium signaling pathway memainkan peranan pada stimulasi transkripsi PGC-1 $\alpha$  melalui calcineurin dan calcium-dependent protein kinase. Ekspresi ektopik dari PGC-1 $\alpha$  menstimulasi ekspresi GLUT-4 dan metabolisme oksidatif mitokondria. Disregulasi dari PGC-1 $\alpha$  berhubungan dengan berbagai kondisi patologis seperti obesitas dan resistensi insulin. Kadar PGC-1 $\alpha$  mRNA meningkat pada hati tikus model DM tipe-1 dan DM tipe-2, hal ini sehubungan dengan perubahan insulin/glukagon axis dan resistensi insulin hepar. Penelitian baru-baru ini mendapatkan hubungan yang kuat antara resistensi insulin dengan disfungsi mitokondria di otot skeletal. Ekspresi sejumlah besar gen OXPHOS secara kuantitatif menurun

pada otot skeletal penderita DM tipe-2 dan pasien prediabetik resistensi insulin. Hal ini diikuti dengan penurunan signifikan kadar mRNA PGC1 $\alpha$ , PGC-1 $\beta$  dan NRF-1 serta morfologi abnormal mitokondria. Namun belum jelas apakah penurunan ekspresi PGC-1 $\alpha$  dan gangguan OXPHOS mitokondria merupakan faktor penyebab berkembangnya resistensi insulin pada DM tipe-2. Sebagai catatan bahwa ekspresi dari PGC-1 $\alpha$  dan PGC-1 $\beta$  menginduksi otot skeletal menjadi sensitif terhadap insulin. Insulin resisten dapat menurunkan ekspresi PGC-1 $\alpha$  dan gangguan fungsi mitokondria, yang kemudian memperburuk resistensi insulin sehingga diduga bahwa peningkatan aktivitas PGC-1 $\alpha$  pada otot skeletal dapat memberikan efek menguntungkan terhadap metabolisme otot dan sensitivitas insulin (Lin et al, 2005; Kim, 2008).

Keadaan awal dari diabetes tipe 2 yaitu terjadinya resistensi insulin dan berbagai model telah diciptakan untuk mengestimasi adanya resistensi insulin. Salah satunya adalah Homeostasis Model Assessment insulin resistance (HOMA-IR). Model ini pertama kali dijelaskan pada tahun 1985 oleh Matthews, dan memiliki korelasi yang kuat dengan teknik klem glukosa. HOMA-IR dirumuskan sebagai  $(\text{insulin puasa } (\mu\text{U} / \text{mL}) \times \text{glukosa puasa } (\text{mmol} / \text{L})) : 22,5$ . HOMA-IR rendah menandakan sensitivitas insulin yang tinggi, sedangkan HOMA-IR tinggi menunjukkan resistensi insulin yang tinggi. Pemeriksaan insulin dilakukan dengan metode

chemiluminescent (sandwich) immunoassay, dengan bahan berupa serum / plasma Li-heparin / plasma K3-EDTA / plasma natrium sitrat. Sampel tersebut akan stabil pada suhu kamar selama 8 jam / 2-8 0C selama 24 jam /  $\leq -200\text{C}$  selama 6 bulan. Beberapa obat, ternyata dapat meningkatkan kadar insulin, seperti kortikosteroid, levodopa dan kontrasepsi oral.

### 3. Hubungan reseptor insulin dan ekspresi protein GLUT-4

Reseptor insulin adalah reseptor tirosin kinase yang berbentuk heterodimer yang terdiri dari 2 sub unit  $\alpha$  dan 2 sub unit  $\beta$  yang dihubungkan dengan ikatan *disulfide*. Pengikatan suatu ligan (insulin) pada sub unit  $\alpha$  akan menyebabkan sub unit  $\beta$  mengalami autofosforilasi. Reseptor yang teraktivasi ini akan memacu fosforilasi protein insulin *receptor substrate-1* (IRS-1) yang kemudian mengaktivasi protein *phosphatidyl inositol 3-kinase* (PI3-kinase) yang lebih lanjut akan memicu pelepasan GLUT-4 ke membran sel untuk mengangkut atau mentranspor glukosa ke dalam sel baik di otot lurik, jaringan adiposa, maupun organ hati (Saini 2010).

Protein GLUT-4 adalah protein transporter yang berperan penting dalam mengangkut glukosa ke dalam sel otot rangka. Protein GLUT-4 akan di ekspresikan ke permukaan membran sel otot rangka setelah adanya rangsangan sinyal dari insulin yang menempel pada reseptor insulin di otot. Otot rangka adalah otot lurik yang paling besar massanya dibandingkan jenis otot lain (40-60% dari massa

tubuh manusia). Otot rangka adalah tempat penyimpanan sekaligus tempat regulasi glukosa yang paling dominan setelah organ hati. Pada otot rangka terdapat 2 protein transporter glukosa yaitu GLUT-1 dan GLUT-4. Protein GLUT 4 merupakan transporter glukosa yang terlibat dengan rangsangan insulin dalam menurunkan kadar glukosa darah. Pada saat rangsangan insulin terjadi akan menyebabkan ekspresi GLUT-4 sebanyak 400 kali lebih besar dibanding GLUT-1. Kondisi resisten insulin memberikan dampak besar terhadap regulasi glukosa dalam kaitannya dengan ekspresi GLUT-4 (Lauritzen and Schertzer 2010).

#### **2.4 Glukosa Transforter**

Glukosa merupakan biomolekul universal yang sangat penting sebagai bahan bakar biologis untuk sel mamalia. Sejalan dengan itu, setiap sel dalam tubuh mengekspresikan setidaknya satu jenis protein transporter glukosa (Kim dan Kandror, 2011). Kebanyakan mamalia memasukan glukosa ke dalam sel melalui proses difusi yang dimediasi oleh suatu protein transmembran yang dikenal dengan nama GLUT. Transporter glukosa pada mamalia mempunyai 14 famili protein transmembran yang diekspresikan pada tempat yang spesifik di dalam jaringan. Di antara ke 14 famili protein spesifik transporter (GLUT), hanya ada 4 bentuk transporter yang telah berkembang atau establis dan dikenal dengan baik. Ke 4 bentuk transporter tersebut mempunyai fungsi memasukan glukosa ke dalam sel (Thorens dan Mueckler, 2010).

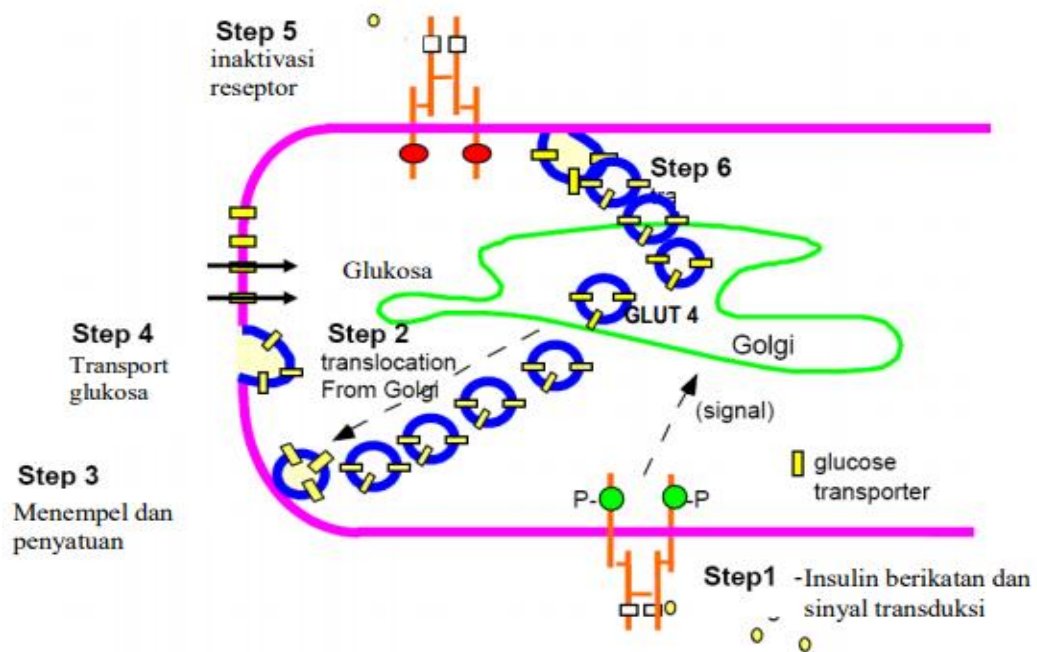
Menurut Watson dan Pessin (2001), saat ini ada lima bentuk glukosa transporter, yaitu GLUT 1-5. GLUT 1-4 berfungsi sebagai transpor glukosa sedangkan GLUT 5 sebagai transpor fruktosa. GLUT 1-5 tersebar dalam berbagai jaringan. GLUT 1 terdapat dalam eritrosit dan sel endotel pembuluh darah otak. GLUT 3 terutama terdapat di neuron otak GLUT 2 terdapat dalam hati, usus, ginjal, dan pankreas. GLUT 4 terutama terdapat di dalam otot dan jaringan adiposa. Sedangkan Wood dan Trayhurn (2003) melaporkan ada 12 bentuk GLUT, yaitu GLUT 1 sampai GLUT 12. Bentuk-bentuk GLUT tersebut tersebar pada berbagai jaringan dan mempunyai fungsi utama sebagai transpor glukosa. Diantara ke-12 bentuk GLUT tersebut hanya ada dua GLUT, yaitu GLUT 4 dan 12 yang mekanisme kerjanya responsif terhadap insulin. Adapun famili glukosa transporter, distribusi dan fungsinya di sajikan pada Tabel dibawah ini :

Tabel 2. Famili glukosa transporter

Isoform /bentuk	Lokalisasi Jaringan Utama	Insulin sensitive	Fungsi transporter
GLUT 1	Eritrosit,otak	Tidak	Glukosa
GLUT 2	Hati,pancreas,usus,ginjal	Tidak	Glukosa,fruktoas
GLUT 3	Otak	Tidak	Glukosa
GLUT 4	Otot,jantung,otak, adiposa	Yes	Glukosa
GLUT 5	Usus,testis,ginjal	Tidak	Fruktosa,glukosa
GLUT 6	Otak,limpa	Tidak	Glukosa
GLUT 7	Not determined	Not determined	Not determined
GLUT 8	Testis,otak, dan jaringan lainnya	Tidak	Glukosa
GLUT 9	Hati,ginjal	Not determined	Not determined
GLUT 10	Hati,pancreas	Tidak	Glukosa
GLUT 11	Jantung,otot	Tidak	glukosa
GLUT 12	Jantung,otot,usus,adiposa	Yes	Not determined

Salah satu transporter glukosa yang berperan penting dalam ambilan glukosa adalah glukosa transporter 4 (GLUT 4). GLUT 4 mengalami translokasi ke permukaan membran plasma sebagai respon terhadap insulin selanjutnya meregulasi glukosa untuk masuk ke dalam sel. Glukosa transporter 4 adalah transporter utama glukosa yang responsif terhadap insulin di dalam jaringan otot dan adiposa baik pada manusia maupun hewan pengerat (Kobayashi et al., 2004). GLUT 4 ditemukan pada berbagai organel, termasuk membran plasma, endosomes, trans-Golgi dan vesikula yang menengahi transportasi GLUT4 antara kompartemen organel tersebut (Bryant et al., 2002). Pada kondisi basal, di dalam endosom ditemukan hanya 30-40% GLUT (Martin et al., 1996), sedangkan pada trans-Golgi ditemukan sekitar 60% lebih GLUT 4 (Slot et al., 1997). GLUT4 diekspresikan pada permukaan membran plasma jaringan sensitif-insulin (jaringan adiposa, otot seklet dan beberapa neuron) dan merupakan transporter glukosa yang bertanggung jawab atas efek insulin terhadap penurunan kadar glukosa darah postprandial (Huang dan Ceko, 2007) Glukosa mengalami metabolisme dimulai ketika glukosa masuk ke dalam sel. Mekanisme masuknya glukosa ke dalam sel hati dan otot yang distimulasi insulin, diawali dengan adanya ikatan antara insulin dan reseptor yang terdapat di permukaan membran sel dan menghasilkan signal intraseluler. Signal ini selanjutnya mengakibatkan translokasi transporter glukosa (GLUT 4) yang berada pada pool membran mikrosomal intraseluler bergerak menuju

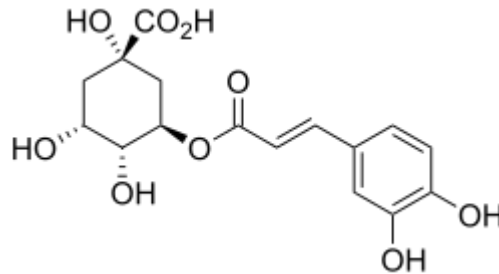
membran plasma pada permukaan sel otot membentuk saluran. Adanya saluran ini menyebabkan glukosa masuk ke dalam sel



Gambar 2. Mekanisme insulin menstimulasi tranporter glukosa (GLUT 4) di dalam jaringan otot dan adiposa

Dalam sel otot dan jaringan adiposa, insulin merangsang pengiriman glukosa transporter GLUT4 dari lokasi intraseluler ke permukaan sel, di mana GLUT 4 memfasilitasi pengurangan kadar glukosa plasma (Bryant et al., 2002). Fungsi utama insulin adalah menstimulasi transpor glukosa masuk ke dalam sel terutama sel otot dan adiposa yang selanjutnya digunakan sebagai sumber energi atau disimpan dalam bentuk glikogen.

## 2.5 Asam Klorogenat



Gambar 3. Asam Klorogenat ((1*S*,3*R*,4*R*,5*R*)-3-[(2*Z*)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enyl]oxy)-1,4,5-trihydroxy cyclohexane carboxylic acid)

Asam Klorogenat adalah suatu senyawa yang termasuk kedalam komponen fenolik, mempunyai sifat yang larut dalam air dan terbentuk dari esterifikasi asam quinic dan asam transinamic tertentu seperti asam kafein, asam ferulic, dan asam kumaric. Subgrup utama dari isomer asam Klorogenate pada kopi adalah asam caffeoyquinic (CQA), asam feruloylquinic (FQA), asam dicaffeoyquinic (diCQA) dan asam p-coumaroylquinic (p-CQA) pada jumlah yang lebih kecil asam klorogenat diserap dalam bentuk utuh di perut tikus. Sebagian besar asam Klorogenat terhidrolisis menjadi asam caffeic dan quinic asam sebelum diserap dalam saluran pencernaan melalui aksi esterase pada usus kecil dan usus besar (esterase mikroba) (Konishi and Kobayashi 2004).

Mekanisme aksi dari asam Klorogenat dalam metabolisme, diantaranya sebagai anti-inflamasi dan antioksidan, Stres oksidatif yang terakumulasi dalam lemak juga telah diusulkan sebagai pemrakarsa awal metabolisme terkait obesitas (Santana-Gálvez et al. 2017)(Furukawa et al. 2017). Asam Klorogenat pada tikus yang diberi diet tinggi lemak sangat



menentukan makrofag pada jaringan adiposa seperti Cd11c, Cd11b, Cd68, dan F4 / 80 dan mediator gen pro-inflamasi seperti MCP-1 dan makrofag  $\alpha$ . Lebih lanjut, para peneliti menemukan bahwa asam Klorogenat mencegah Peroxisome Proliferators-Activated Receptor  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ), Reaksi Oksigen (ROS) yang dihasilkan dengan pemberiann diet tinggi lemak, yang mendukung terjadinya peradangan, menghasilkan insulin, meningkatkan insulin, lemak, dan berat badan, sementara penghambatan PPAR $\gamma$  menggunakan steatosis hati(Naveed et al. 2018).

## **1. Efek Asam Klorogenat Terhadap Metabolisme Lipid**

### **a. Mengurangi Kerentanan Oksidasi LDL dan Menurunkan LDL-Kolesterol dan Level malondialdehid (MDA)**

Modifikasi oksidatif low-density lipoprotein (LDL) oleh radikal bebas merupakan proses awal dalam patogenesis aterosklerosis. Penyerapan cepat LDL termodifikasi secara oksidatif melalui reseptor menyebabkan pembentukan sel busa. LDL yang teroksidasi memiliki sejumlah sifat aterogenik. Asam klorogenik mempengaruhi status risiko kardiovaskular dengan mengurangi kerentanan oksidasi LDL dan menurunkan kadar kolesterol LDL dan malondialdehid (MDA) LDL. Asam Klorogenat sebagai senyawa aktif yang ada dalam kopi dapat menghambat oksidasi LDL secara in vitro dan karenanya dapat melindungi terhadap penyakit kardiovaskular (Goldstein et al. 1979)(Yukawa et al. 2004)

- b. Menghambat penyerapan lemak dan mengaktifkan metabolisme lemak di hati

Asam Klorogenat, kafein, dan senyawa polifenol lainnya dalam ekstrak biji kopi hijau, dapat menekan kenaikan berat badan dan penumpukan lemak visceral pada tikus. Para penulis melaporkan bahwa asam Klorogenat mungkin efektif terhadap penambahan berat badan dan akumulasi lemak dengan menghambat penyerapan lemak dan aktivasi metabolisme lemak di hati. Pemberian asam Klorogenat secara oral (30 dan 60 mg / kg / hari) selama 14 hari mengurangi tingkat trigliserida pada hati tikus. Efek supresi dari asam Klorogenate pada akumulasi trigliserida pada hati lebih kuat daripada ekstrak biji kopi hijau (Shimoda, Seki, and Aitani 2006).

- c. Menghambat penyerapan dan transformasi Lipid, menghambat penyerapan kolesterol dan biosintesis hepatic efek asam Klorogenat pada aktivitas enzim dalam metabolisme lipid dan mengeksplorasi mekanisme antihyperlipidemia. Para penulis mempelajari efek penurun lipid dan mekanisme CGA dengan mengamati pengaruh pada pembentukan misel kolesterol dan pada penghambatan 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reduktase dari hati babi normal serta pankreas lipase secara *in vitro*. Para penulis menemukan bahwa CGA memiliki efek penghambatan yang kuat pada pembentukan misel

kolesterol dan memiliki potensi penghambatan yang lebih kuat pada HMG-CoA reduktase daripada simvastatin. Selain itu, CGA juga memiliki penghambatan yang lebih kuat pada aktivitas lipase pankreas. Mekanisme CGA dalam mengurangi lipid darah kemungkinan besar terkait dengan penghambatan penyerapan dan transformasi lipid dan dengan penghambatan penyerapan usus dan biosintesis kolesterol hati (Naveed et al. 2018)

## **2. Metabolisme Glukosa asam Klorogenat**

Efek hipoglikemik CGA didefinisikan sebagai insulin perintis sensitizer, memperkuat fungsi insulin seperti terapi aksi terapeutik metformin, CGA mengandung antidiabetes potensial pada dosis akut tunggal (5 mg / kg berat badan) di tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin-nicotinamide. Bukti menunjukkan bahwa glikemia berkurang setelah penggunaan 50 mg / kg turunan asam Klorogenat pada tikus, sementara Bassoli et al. melaporkan 70 mg / kg CGA cukup untuk hasil yang sama, mereka menemukan penurunan yang signifikan dalam kadar puncak glukosa plasma serta efek yang menguntungkan dari asam Klorogenat dalam mengurangi indeks glikemik makanan melalui penyerapan glukosa usus pada tikus. Pemberian asam Klorogenat dapat meningkatkan respons insulin dan glukosa puasa plasma dibandingkan dengan plasebo (McCarty 2005)(Naveed et al. 2018).

## 2.6 Kerangka Teori

