

DISERTASI

**ANALISIS PENGARUH EKSTRAK AKAR PURWOCENG
GUNUNG (*Artemisia lactiflora* Wall Ex D.C) TERHADAP KADAR
TESTOSTERON DAN EKSPRESI mRNA GEN PGC 1- α
PADA MENCIT Balb/c JANTAN HIPERGLIKEMIA**

ANALYSIS OF THE EFFECT OF PURWOCENG GUNUNG ROOT
EXTRACT (*Artemisia lactiflora* Wall Ex. D.C) ON TESTOSTERONE
LEVELS AND mRNA EXPRESSION OF THE PGC 1- α GENE IN
HYPERGLYCEMIC MICE Balb/c MALE



**RAUHUL AKBAR KURNIAWAN
C013181017**

**PROGRAM DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDIN
MAKASSAR
2023**

DISERTASI

**ANALISIS PENGARUH EKSTRAK AKAR PURWOCENG GUNUNG
(ARTEMISIA LACTIFLORA WALL EX D.C) TERHADAP KADAR
TESTOSTERON DAN EKSPRESI MRNA GEN PGC 1-A PADA
MENCIT BALB/C JANTAN HIPERGLIKEMIA**

**ANALYSIS OF THE EFFECT OF PURWOCENG GUNUNG
ROOT EXTRACT (ARTEMISIA LACTIFLORA WALL EX D.C) ON
TESTOSTERONE LEVELS AND MRNA EXPRESSION OF THE
PGC 1-A GENE IN HYPERGLYCEMIC MALE BALB/C MICE**

Disusun dan diajukan oleh

**RAUHUL AKBAR KURNIAWAN
C013181017**

*Telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Ujian dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Studi Doktor Ilmu Kedokteran
Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin
pada tanggal 18 Agustus 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan*

Menyetujui
Promotor

Prof. dr. Rosdiana Natzir, PhD, Sp.Biok(K)
NIP. 195510191982031001

Co Promotor

Co Promotor

Prof. dr. Mochammad Hatta, PhD, Sp.MK(K) NIP. 195704161985031001

dr. Agus salim Bukhari, M.Med. PhD, Sp.GK(K)
NIP. 197008211999031001

Ketua Program Studi Doktor
Ilmu Kedokteran,

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Hasanuddin,

Dr. dr. Irfan Idris, M.Kes
NIP. 196711031998021001

Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-KGH, Sp.GK
NIP. 196805301996032001



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN,
RISET DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
FAKULTAS KEDOKTERAN
PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU KEDOKTERAN
Jl. Perintis Kemerdekaan Km. 10 Makassar 90245 Telp.(0411)586010,(0411)586297
EMAIL : s3kedokteranunhas@gmail.com

PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rauhul Akbar Kurniawan
NIM : C013181017
Program Studi : Doktor Ilmu Kedokteran
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul :

ANALISIS PENGARUH EKSTRAK AKAR PURWOCENG GUNUNG (*Artemisia lactiflora* Wall Ex D.C)
TERHADAP KADAR TESTOSTERON DAN EKSPRESI mRNA GEN PGC 1- α PADA MENCIT Balb/c
JANTAN HIPERGLIKEMIA

Adalah karya tulisan 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 atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan Disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 16 Agustus 2023

Yang Menyatakan,



Rauhul Akbar Kurniawan

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim

Assalamu'alaikum Warahmatullah Wabarokatuh

Alhamdulillahirobbil'alamin, dengan memanjatkan segala puji kepada Allah SWT Tuhan Yang Maha Esa atas segala Rahmat dan hidayahNYA, serta sholawat dan salam kepada Rasulullah Muhammad SAW sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan Menyusun disertasi ini yang berjudul “Analisis Pengaruh Ekstrak Akar Purwoceng Gunung (*Artemisia Lactiflora* Wall Ex D.C) Terhadap Kadar Testosteron, dan Ekspresi mRNA Gen Pgc 1- α Pada Mencit Balb/C Jantan Hiperglikemia”.

Gagasan yang melatarbelakangi penulis memilih tajuk permasalahan ini dari hasil studi literatur atau pustaka ataupun perkembangan ilmu kedokteran, ilmu farmasi, serta perkembangan kondisi kesehatan manusia pada umumnya. Penulis bermaksud menyumbangkan konsep demi ilmu pengetahuan untuk meningkatkan kualitas hidup manusia ke depannya.

Banyak kendala yang penulis hadapi dalam tahapan dan proses guna menyelesaikan disertasi ini pada waktunya. Dalam kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan terima kasih kepada Prof. dr. Rosdiana Natzir, Ph.D., Sp.Biok(K) selaku promotor, Prof. dr. M. Hatta, Ph.D.,Sp.MK(K) dan dr. Agussalim Bukhari, M.Med., Ph.D. Sp.GK(K) selaku co promotor atas segala arahan dan bimbingannya mulai dari penyusunan sampai terselesaikannya disertasi ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada segenap tim penguji atas segala masukan dan

bimbingannya, serta kepada seluruh pihak yang tidak tercantum disini. Penulis menyadari masih banyaknya kekurangan dalam disertasi ini, sehingga diharapkan masukan dan perbaikan bagi pengembangan disertasi ini.

Makassar, Agustus 2023

Rauhul Akbar Kurniawan

ABSTRAK

RAUHUL AKBAR KURNIAWAN. *Analisis Pengaruh Ekstrak Akar Purwoceng Gunung (Artemisia lactiflora Wall Ex D.G) terhadap Kadar Testosteron dan Ekspresi m-RNA Gen Pgc 1-a pada Mencit Balb/C Jantan Hiperglikemia (dibimbing oleh Rosdiana Natzir, Mohammad Hatta, dan Agussalim Bukhari).*

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh dan hubungan antara kadar testosteron, ekspresi m-RNA gen PGC 1- α , dan kadar glukosa pada mencit Balb/C jantan hiperglikemia setelah pemberian ekstrak akar purwoceng gunung (*Artemisia lactiflora Wall Ex D.C*). Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan rancangan modifikasi *pretest posttest non randomized controlled group design*. Penelitian dilaksanakan secara *in vivo* dengan subjek mencit Balb/C jantan diinduksi *streptozotocin*. Terdapat 4 kelompok, yaitu kelompok kontrol positif, *stigmasterol* 0,01 mg/gram BB, kelompok ekstrak dosis 0,0836 mg/gram BB, kelompok ekstrak dosis 0,1672 mg/gram BB, dan kelompok kontrol negatif Na-CMC. Pemeriksaan testosteron secara ELISA dan ekspresi m-RNA gen PGC 1- α secara q-RT PCR. Hasil penelitian menunjukkan nilai signifikansi 1,000, artinya kadar testosteron pada kelompok perlakuan dosis 2 sebanding kontrol positif. Kontrol positif dengan ekstrak dosis 2 memiliki signifikansi 1,000, artinya ekspresi mRNA gen PGC 1- α berbeda secara tidak bermakna. Signifikansi kadar glukosa darah setelah perlakuan kontrol positif dengan ekstrak dosis 2, yakni 0,310, artinya perbedaan kadar glukosa darah tidak bermakna. Ekstrak akar *Artemisia lactiflora Wall. Ex. DC* meningkatkan kadar testosteron dan ekspresi m-RNA gen PGC 1- α serta menurunkan kadar glukosa darah mencit Balb/C jantan hiperglikemia. Efek ekstrak dosis 2 sebanding dengan efek kontrol positif dan lebih tinggi daripada dosis 1.

Kata kunci: ekstrak akar purwoceng gunung, glukosa darah, testosteron, ekspresi m-RNA gen PGC 1- α , hiperglikemia



ABSTRACT

RAUHUL AKBAR KURNIAWAN. *Analysis of Effect of Purwoceng Gunung Root Extract (Artemisia lactiflora Wall Ex D.C) on Testosterone Content and mRNA Expression of PGC 1-a Gene in Hyperglycemic Male Balb/C Mice* (supervised by Rosdiana Natzir, Mohammad Hatta, Agussalim Bukhari).

The research aims at investigating the effect and relationship between testosterone content, PGC 1-a gene mRNA expression, and glucose content in the hyperglycemic male Balb/c mice after the administration of Purwoceng Gunung root extract (*Artemisia lactiflora* Wall Ex D.C). The research used the experimental method with the modified pre-test – post-test non-randomized controlled group design. In vivo study with male Balb/c mice subjects was induced by the streptozotocin. There were 4 groups, namely 1 (positive control, stigmasterol 0.01 mg/gram BW), 2 (extract dose 0.0836 mg/gram BW), 3 (extract dose 0.1672 mg/gram BW), and 4 (control negative/Na-CMC). The examination of the testosterone by ELISA and expression of PGC 1-a gene mRNA by qRT PCR. The research result indicates that the significance value of 1.000 means that the testosterone content in the treatment group of dose 2 is comparable with the positive control. The positive control with the extract dose 2 has the significance of 1,000, meaning that the mRNA expression of the PGC 1-a gene is not significantly different. The significance of blood glucose levels after the positive control treatment with extract dose 2 was 0.310, meaning that the difference in the blood glucose content is not significant. The *Artemisia lactiflora* Wall. Ex. DC root extract increases the testosterone content and PGC 1-a gene mRNA expression, and decreases the blood glucose content in the hyperglycemic male Balb/c mice. The effect of the extract in dose 2 is comparable with that of the positive control and is higher than in dose 1.

Key words: Purwoceng Gunung root extract, blood glucose, testosterone, PGC 1-a gene mRNA expression, hyperglycemia



DAFTAR ISI

	halaman
SAMPUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI	iii
PRAKATA.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	7
C. Tujuan penelitian.....	7
D. Kegunaan Penelitian.....	8
E. Ruang Lingkup Penelitian.....	9
F. Novelitas.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Tinjauan Diabetes Mellitus.....	10
B. Purwoceng Gunung (<i>Artemisia lactiflora</i> Wall. Ex. D.C)	15
C. Stigmasterol.....	17
D. Testosteron.....	23
E. Resistensi Insulin.....	25
F. Streptozotocin.....	36

G. Ekspresi mRNA Gen PGC 1- α	40
H. Kerangka Teori.....	47
I. Kerangka Konseptual.....	48
J. Hipotesis.....	48
K. Definisi Operasional dan Kriteria Obyektif.....	49

BAB III METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian.....	50
B. Lokasi dan Waktu Penelitian.....	50
C. Populasi dan Teknik Sampel.....	51
D. Instrumen Pengumpul Data.....	52
E. Analisis Data.....	60
F. Alur Penelitian.....	61

BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian.....	62
1. Ekstrak Akar Purwoceng Gunung.....	62
2. Karakter Hewan Uji.....	62
3. Korelasi pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap kadar testosteron pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia.....	65
4. Korelasi pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap ekspresi mRNA gen PGC 1- α pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia.....	68
5. Korelasi pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap kadar glukosa pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia.....	70
B. Pembahasan.....	73
1. Korelasi pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap kadar testosteron pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia.....	77

2. Korelasi pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap ekspresi mRNA gen PGC 1- α pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia.....	79
3. Korelasi pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap kadar glukosa pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia.....	83
4. Korelasi antara kadar testosteron, ekspresi mRNA gen PGC 1- α , dan kadar glukosa darah setelah pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia...	88

BAB V PENUTUP

1. Kesimpulan	91
2. Saran-saran.....	92

DAFTAR PUSTAKA.....	93
----------------------------	-----------

DAFTAR TABEL

Tabel 1	Data Bobot Badan dan Kadar Glukosa.....	63
Tabel 2	Uji Normalitas Berdasarkan Bobot Badan dan Kadar Glukosa..	64
Tabel 3	Uji Homogenitas Berdasarkan Bobot Badan dan Kadar Glukosa	64
Tabel 4	Data Perubahan Kadar Testosteron.....	67
Tabel 5	Data Perubahan Ekspresi mRNA Gen PGC 1- α	70
Tabel 6	Data Perubahan Kadar Glukosa Darah.....	72
Tabel 7	Data Bobot Badan dan Kadar Glukosa Darah.....	74
Tabel 8	Rerata Perubahan Ekspresi mRNA Gen PGC 1- α , Kadar Glukosa Darah, dan Kadar Testosteron.....	88

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Tumbuhan Purwoceng	16
Gambar 2. Jalur Sintesis Sterol Tanaman.....	19
Gambar 3 Skema sintesis estron, 19-norsteroid, dan testosteron dari kolesterol atau stigmasterol.....	20
Gambar 4. Jalur pensinyalan Reseptor Insulin.....	33
Gambar 5. Regulasi Transkripsi Biogenesis Mithokondria.....	43
Gambar 6. Bagan Kerangka Teori.....	47
Gambar 7. Bagan Kerangka Konsep.....	48
Gambar 8. Bagan Alur Penelitian.....	62
Gambar 9. Diagram Rata-rata Perubahan Kadar Testosteron.....	77
Gambar 10. Diagram Rata-rata Perubahan Ekspresi mRNA Gen PGC 1- α	81
Gambar 11. Diagram Rata-rata Perubahan Kadar Glukosa Darah.....	84

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Hasil Identifikasi Akar Purwoceng Gunung	114
Lampiran 2	Rendemen Ekstraksi	115
Lampiran 3	Perhitungan Dosis	116
Lampiran 4	Data Penelitian	117
Lampiran 5	Analisa Kadar Testosteron	118
Lampiran 6	Analisa Ekspresi mRNA Gen PGC 1- α	121
Lampiran 7	Analisa Kdar Glukosa Darah	133
Lampiran 8	Dokumentasi Penelitian	139
Lampiran 9	Data Selisih	

DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Arti dan Keterangan
AMPK	Adenosin 5' mpnophospate-activated protein kinase
ANOVA	Analysis of varian
ATP	Adenosin triphosphate
BB	Bobot badan
CREB	cAMP response element-binding protein
DHEA	Dihidro epiandrotestosteron
DHT	Dihidro testosterone
dL	Desi liter
DM	Diabetes mellitus
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid
ERK	Extracellular signal-regulated kinase
FDA	Food and drug administration
FSH	Follicle stimulating hormone
GLUT2	Glucose transporter 2
GLUT4	Glucose transporter 4
HFWD	High fat western diet
IGF1	Insulin-like growth factor 1
I κ B	Inhibitor kappa beta
LH	Luteinizing hormone
mg	Mili gram
mRNA	Messenger ribose nucleic acid
NAD	Nicotinamide adenin dinucleotide
NADH	Nicotinamide dinucleotidephospate
NF κ B	Nuclear factor kappa beta
NO	Nitro oxide
PGC 1- α	Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α
PI3K	Phospatidyl inositol 2 kinase

PKC	Protein kinase c
PPAR γ	Peroxisome proliferator-activated receptor- γ
STZ	Streptozotocin
TNF α	Tumor nucleus factor alpha
VLDL	Very lowdensity lipoprotein
β	Beta

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) merupakan suatu penyakit metabolik multisistem dengan ciri hiperglikemia akibat kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya. Kelainan tersebut menyebabkan abnormalitas dalam metabolisme karbohidrat, lemak dan protein. DM tipe 2 ditandai dengan terjadinya resistensi insulin pada jaringan tubuh atau adanya gangguan abnormalitas sekresi insulin dari sel β pulau Langerhans pankreas (Wilcox, 2005).

Resistensi insulin umumnya ditemukan pada sejumlah orang dewasa, khususnya dengan obesitas, sindrom metabolik atau DM tipe 2. Resistensi insulin berperan penting dalam pathogenesis DM tipe 2. Manifestasi klinis dari resistensi insulin, intoleransi glukosa dan hiperinsulinemia, adalah konsekuensi ketidakmampuan insulin untuk merangsang penyerapan glukosa dalam jaringan target seperti otot dan lemak. Metabolisme lipid yang disfungsi dapat mengganggu pensinyalan insulin. Asam lemak bebas yang bersirkulasi dapat menekan kerja insulin pada organ target (McArdle et al., 2013).

Kadar testosteron pada laki-laki yang terkena DM tipe 2 menjadi lebih rendah dan dapat menyebabkan terjadinya disfungsi seksual dan resiko penyakit kardiovaskular. Kadar testosteron yang rendah berkaitan dengan gangguan sensitivitas insulin dan gangguan fungsi mitokondria (Pitteloud et al., 2005).

Diabetes ditandai dengan hiperglikemia akibat kegagalan produksi dan aksi insulin, diabetes mellitus (DM) menyebabkan kerusakan pada berbagai organ dan sistem, termasuk testis. Studi epidemiologis telah menunjukkan bahwa pria dengan DM tipe 1 memiliki keturunan yang jauh lebih sedikit daripada saudara kandung mereka yang tidak terpengaruh, dan bahwa perkiraan prevalensi infertilitas pada pria diabetes berkisar antara 35% hingga 51%. Pria diabetes mengalami peningkatan fragmentasi DNA, yang mungkin disebabkan oleh stres oksidatif yang berasal dari peningkatan kadar produk akhir glikasi lanjut, khususnya N-karboksimetil-lisin. Selain itu, penelitian terbaru melaporkan penurunan produksi laktat oleh SC (*Sertoli cell*) manusia selama kekurangan insulin. Mekanisme metabolisme ini dapat secara langsung mempengaruhi spermatogenesis, karena laktat yang diturunkan sel sertoli memiliki efek anti-apoptosis dan merupakan sumber energi utama untuk spermatosit dan spermatid (Neto et al., 2016).

Terdapat hubungan antara kadar gula darah, hormon testosteron dengan fungsi seksual dan ada perbedaan kadar gula darah dan hormon testosteron antara penderita yang mengalami disfungsi seksual dengan yang tidak mengalami disfungsi seksual (Rachmadi, 2008).

Androgen pada manusia terdiri dari testosteron, dihidrotestosteron (DHT), androstenedione dan dihidroepiandrosterone (DHEA) dan DHEA yang berikatan dengan sulfat (DHEAS). Testosteron disekresikan oleh testis laki-laki dan dalam jumlah sedikit oleh ovarium perempuan. Mayoritas testosteron (50-60%) terikat dengan protein plasma yang disebut *sex hormone binding globulin*

(SHBG), 40-50% terikat albumin, dan 1-2% dalam bentuk bebas (Pelzer et al., 2017).

Androgen berperan dalam mengatur metabolisme seluler dan produksi energi dengan meningkatkan jumlah mitokondria, aktivasi rantai respirasi sel, dan meningkatkan transkripsi gen rantai respirasi mitokondria yang menyandikan enzim yang bertanggung jawab dan fosforilasi oksidatif. Defisiensi androgen dikaitkan dengan peningkatan resistensi insulin, DM tipe 2, sindrom metabolik, dan obesitas. Gangguan metabolisme glukosa akibat gangguan fungsi sel β dapat menurunkan ekspresi mtDNA (Zhou et al., 2016).

Jumlah kopi mtDNA yang lebih tinggi dilaporkan berasosiasi dengan rendahnya prevalensi mikroalbuminaria dan jumlah kopi mtDNA pada darah perifer secara independen berasosiasi dengan lemak visceral pada dewasa muda sehat (Lee et al., 2014).

Aktivitas enzim antioksidan dan kadar testosteron dan gonadotropin menurun secara signifikan pada mencit DM dibandingkan dengan yang lain. Namun, peroksidasi lipid dan tingkat serum insulin, leptin dan TNF- α meningkat dan tingkat Zn testis berubah secara signifikan pada mencit DM dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$). Ekspresi gen NF- κ B dan TNF- α juga meningkat secara signifikan dan ekspresi gen Nrf2, StAR, P450scc dan 17 β HSD3 menurun di testis mencit diabetes ($p < 0,05$). Diet Tinggi lemak dapat mengganggu produksi testosteron dan sperma, dan menurunkan gonadotropin dengan meningkatkan tingkat serum leptin dan menginduksi resistensi insulin, stres oksidatif dan peradangan. Hasil perlakuan minyak

safflower dapat meningkatkan kadar testosteron dan parameter sperma dengan meningkatkan tingkat leptin, zink, dan resistensi insulin, dan ekspresi gen yang terlibat dalam sintesis testosteron, peradangan dan stres oksidatif (Nasiri et al., 2021).

Dewasa ini, penggunaan obat herbal sebagai alternatif dan pelengkap terapi untuk mencegah dan mengobati banyak penyakit metabolik semakin meningkat. Penggunaan obat-obatan herbal hanyalah salah satu dari banyak pendekatan yang berbeda penggunaan Pengobatan Pelengkap dan Alternatif dalam pencegahan dan pengobatan penyakit.

Purwoceng Gunung sebagai aprodisiak mengandung komponen kimia kelompok steroid, atsiri, furanokumarin, dan vitamin, yang terdapat di bagian tajuk maupun akar (Darwati & Roostika, 2016). Kelompok steroid terdiri dari sitosterol, stigmasterol (stigmasta-7, 16 dien-3-ol), dan (stigmasta-7, 25 dien-3-ol). Steroid merupakan komponen kimia berkhasiat dalam sintesis hormon testosteron pada manusia. Komponen kimia tersebut yang menjadikan Purwoceng Gunung sebagai obat tradisional untuk meningkatkan vitalitas dan kesuburan pria. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan jengger anak ayam dapat dipercepat dengan pemberian ramuan ekstrak purwoceng. Senyawa stigmasterol ini diduga sebagai salah satu pemicu timbulnya perilaku seksual (Usmiati & Yuliani, 2010).

Stigmasterol dan β -sitosterol secara signifikan memperbaiki perlemakan hati yang diinduksi *high-fat western diet style* (HFWD) dan kelainan metabolisme, termasuk peningkatan kadar lipid total hati,

triasilgliserol, kolesterol dan histopatologi hati. Kedua fitosterol menurunkan kadar asam empedu usus, disertai dengan peningkatan kadar lipid tinja. Analisis lipid dari sampel hati dan serum menunjukkan bahwa stigmasterol mencegah elevasi yang diinduksi HFWD dari beberapa diasilgliserol dan triasilgliserol dan menurunkan fosfolipid. Stigmasterol juga menurunkan kadar serum ceramide. Stigmasterol dan β -sitosterol, pada dosis yang sesuai dengan yang disarankan untuk manusia oleh FDA untuk menurunkan kadar kolesterol, terbukti meringankan NAFLD (*nonalcoholic fatty liver disease*) yang diinduksi HFWD. Stigmasterol lebih efektif dari pada β -sitosterol, mungkin karena penekanannya terhadap ekspresi gen lipogenik hati dan modulasi sirkulasi kadar ceramide (Feng et al., 2018).

Efek stigmasterol pada disfungsi memori yang diinduksi skopolamin diblokir oleh dosis sub-efektif dizocilpine (MK-801), antagonis reseptor N-Methyl D-Aspartate (NMDA), dan tamoxifen, antagonis reseptor estrogen. Selain itu, tingkat ekspresi ERK dan CREB terfosforilasi di hipokampus meningkat secara signifikan oleh stigmasterol, yang diblokir oleh tamoxifen atau MK-801 dengan skopolamin. Efek perbaikan kognitif yang diinduksi stigmasterol dimediasi oleh peningkatan kolinergik sistem neurotransmisi melalui aktivasi reseptor estrogen atau NMDA (Park et al., 2012).

Stigmasterol merupakan bahan dasar atau bahan baku untuk pembentukan beberapa senyawa antara seperti 1,4-androstadien-3,17-dion (1,4

ADD), 4-androsten-3,17-dion (AD), progesterone, dan senyawa lainnya. senyawa antara ini dikonversi menjadi obat-obat turunan steroid. Progesteron dapat diubah menjadi hormon korteks adrenal, testosteron, dan estradiol (Dira, 2015).

Diabetes mellitus Tipe 2 (DMT2) adalah kondisi hiperglikemia kronis akibat penurunan sensitivitas jaringan terhadap aksi insulin atau resistensi insulin. Kondisi ini menyebabkan gangguan metabolisme di mitokondria yang ditandai dengan penurunan ekspresi *Peroxisome Proliferator Activated Receptor- γ* (Ppar- γ) *coactivator 1- α* (PGC-1 α). Gangguan fungsi mitokondria menyebabkan akumulasi lipid toksik di jaringan sehingga menghambat aksi insulin dalam metabolisme glukosa. Koaktivator transkripsional PGC-1 α merupakan regulator fungsi mitokondria, biogenesis, dan respirasi jaringan. Peningkatan ekspresi gen PGC-1 α di jaringan, dapat meningkatkan oksidasi dan biogenesis mitokondria yang mengarah pada perbaikan dan peningkatan sensitivitas insulin. Gen Pgc-1 α memiliki peran penting dalam fungsi mitokondria karena dapat mengkoaktivasi transkripsi enzim-enzim yang berperan dalam biogenesis mitokondria. Peningkatan ekspresi Pgc-1 α dengan *exercise*, nutrisi dapat membantu memperbaiki resistensi insulin pada DMT2 (Setyawati, 2014).

Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR γ) coactivator-1 α (PGC-1 α) dapat menginduksi ekspresi beberapa gen hilir yang memainkan peran penting dalam regulasi biogenesis mitokondria dan metabolisme di jantung (Di et al., 2018).

Penelitian yang menganalisa pengaruh pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap kadar testosteron, ekspresi mRNA gen PGC 1- α , dan kadar glukosa darah, sepanjang pengetahuan kami belum dilakukan di Indonesia sehingga kami tertarik untuk melakukan penelitian ini.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap kadar testosteron pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia?
2. Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap ekspresi mRNA gen PGC 1- α pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia?
3. Bagaimanakah pengaruh pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap kadar glukosa pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia?
4. Bagaimanakah korelasi antara kadar testosteron, ekspresi mRNA gen PGC 1- α dan kadar glukosa darah setelah pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui hubungan antara kadar testosteron, ekspresi mRNA gen PGC 1- α dan kadar glukosa darah pada mencit Balb/c

jantan hiperglikemia setelah pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung.

2. Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap kadar testosteron pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia.
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap ekspresi mRNA gen PGC 1- α pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia.
3. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap kadar glukosa pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia.
4. Mengetahui adanya korelasi antara kadar testosteron, ekspresi mRNA gen PGC 1- α dan kadar glukosa darah setelah pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia.

D. Kegunaan Penelitian

1. Manfaat Keilmuan

1. Konsep mekanisme kerja ekstrak akar Purwoceng Gunung berdasarkan aktivitas yang diujikan dapat dijadikan parameter dalam studi antihiperglikemia dari bahan alami

2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menemukan dan memberikan informasi ilmiah bagi penelitian selanjutnya mengenai pengaruh ekstrak akar Purwoceng Gunung terhadap mencit jantan hiperglikemia.
2. Manfaat Praktis
 1. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan ilmiah menjadikan salah satu bahan alam sebagai antihiperglikemia melalui peningkatan kadar testosteron, ekspresi mRNA gen PGC 1- α , dan penurunan kadar glukosa darah.
 2. Penelitian ini diharapkan menjadi salah satu bentuk upaya dalam mendukung program pemerintah Republik Indonesia sebagaimana yang tercantum dalam Undang-undang Republik Indonesia Nomor 36 tahun 2009 tentang Kesehatan (pasal 46-48).

E. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini merupakan bagian dari Ilmu Kedokteran yakni Biologi Molekuler, dengan pendekatan penggunaan bahan alami ekstrak akar Purwoceng Gunung sebagai pilihan dalam peningkatan kadar testosteron, peningkatan ekspresi mRNA gen PGC 1- α dan penurunan kadar glukosa darah.

F. Novelitas

Belum ada penelitian sebelumnya yang menilai pengaruh ekstrak akar Purwoceng Gunung sebagai antihiperglikemia melalui peningkatan kadar testosteron, peningkatan ekspresi mRNA gen PGC 1- α , dan penurunan kadar glukosa darah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Hiperglikemia dan Diabetes Mellitus

Hiperglikemia adalah glukosa darah lebih besar dari 125 mg/dL saat puasa dan lebih dari 180 mg/dL 2 jam postprandial. Seorang pasien mengalami gangguan toleransi glukosa, atau pra-diabetes, dengan glukosa plasma puasa dari 100 mg/dL sampai 125 mg/dL. Seorang pasien disebut diabetes dengan glukosa darah puasa lebih besar dari 125 mg/dL. Hiperglikemia Ketika tidak diobati, dapat menyebabkan banyak komplikasi serius yang mengancam jiwa yang meliputi kerusakan pada mata, ginjal, saraf, jantung, dan sistem pembuluh darah perifer. Dengan demikian, sangat penting untuk mengelola hiperglikemia secara efektif dan efisien untuk mencegah komplikasi penyakit dan meningkatkan hasil pasien (Mouri & Badireddy, 2021).

Hiperglikemia menginduksi radikal bebas dan merusak sistem pertahanan antioksidan endogen melalui beberapa mekanisme yang berbeda. Secara khusus, hiperglikemia mendorong terciptanya produk akhir glikasi lanjut (AGEs), aktivasi protein kinase C (PKC), dan hiperaktivitas jalur heksosamin dan sorbitol, yang mengarah pada perkembangan resistensi insulin, gangguan sekresi insulin, dan kerusakan endotel. disfungsi, dengan menginduksi produksi ROS dan OS yang berlebihan (Papachristoforou et al., 2020).

Glukosa adalah sumber utama energi untuk otak, dan paparan baik tinggi dan rendahnya tingkat glukosa telah dikaitkan dengan banyak merugikan sistem

saraf pusat (SSP) hasil. Sementara banyak penelitian telah menyoroti dampak hiperglikemia pada pengukuran perifer dan sentral dari stres oksidatif, defisit kognitif, dan komplikasi vaskular pada diabetes tipe 1 dan tipe 2, ada bukti yang berkembang bahwa variabilitas glikemik secara signifikan mendorong peningkatan stres oksidatif, yang mengarah ke peradangan saraf dan disfungsi kognitif. Dalam ulasan ini, data terbaru tentang dampak variabilitas glikemik pada fungsi otak dan peradangan saraf akan disajikan. Karena tingkat stres oksidatif yang tinggi telah dikaitkan dengan disfungsi sawar darah-otak (BBB), penekanan khusus akan ditempatkan pada penelitian yang menyelidiki dampak variabilitas glikemik pada peradangan endotel dan pembuluh darah (Watt et al., 2020).

Diabetes mellitus adalah gangguan metabolisme kronis multifaktorial yang melibatkan ketidakmampuan untuk memproduksi insulin atau menggunakannya dengan benar sehingga mengubah metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein, dan hiperglikemia jangka panjang. Organisasi Kesehatan Dunia (*World Health Organization*) memperkirakan bahwa 439 juta orang akan menderita diabetes pada tahun 2030 (Shaw et al., 2010).

Diabetes melitus dapat menimbulkan komplikasi gangguan aliran darah ke organ seksual dan *hypogonadism* berupa tidak normalnya fungsi hipofisis dan hipotalamus. Sebanyak 50 % penderita pria diabetes mengalami disfungsi ereksi, resiko disfungsi ereksi penderita diabetes akan bertambah seiring bertambahnya usia yaitu 39 % di usia 40 tahun, 48 % di usia 50 tahun, 57 % di usia 60 tahun dan penelitian Babbot dan Rubin menyebutkan 50 % disfungsi ereksi terjadi setelah 1 tahun pertama menderita diabetes, 43 % pada 1-5 tahun pertama dan 45 % setelah

menderita di atas 5 tahun. Selain itu juga 30 % penderita diabetes mengalami penurunan kadar testosteron yang sering dihubungkan dengan penurunan libido. Diabetes dapat menyebabkan gangguan pada pembuluh darah akibat aterosklerosis berupa kelainan mikrovaskular dan makrovaskular yang dihubungkan dengan berbagai faktor aterogenik seperti kelainan metabolisme lemak, perubahan adhesi trombosis¹. Gangguan pembuluh darah terkait dengan disfungsi endotelial karena aktivasi protein kinase C (PKC), ekspresi berlebihan growth factors/cytokines dan stress oksidasi (Bloomgarden, 2000; Kandeel et al., 2001).

Peningkatan glukosa di jalur poliol mengeluarkan kofaktor aldose reductase (nicotinamide adenine dinucleotidephosphate/NADPH) dan sorbitol dehydrogenase (nikotinamid adenin dinukleotida/NAD⁺), menyebabkan berkurangnya NADPH yang berdampak menurunnya aktifitas glutathione reductase dan sintesis *nitric oxide* (NO) sehingga terjadi gangguan mikrovaskular dan melambatnya konduksi saraf, kegagalan neurogenik dan menurunnya NO menyebabkan akumulasi *advanced glycation end products* (AGEs). Selain itu hiperglikemia dengan melewati jalur *glycolytic* meningkatkan sintesis deacylglycerol (DAG) yang meningkatkan aktifitas PKC yang gilirannya meningkatkan aktifitas sodium-proton *antiport* yang mengatur pH intrasel, pertumbuhan dan diferensiasi sel juga menambah ekspresi protein matriks seperti fibronectin, kolagen tipe IV dan laminin yang menyebabkan disfungsi vaskular. Hiperglikemia kronis juga menyebabkan peningkatan nonenzim glucation yang berlaku sebagai antigen bagi protein dan DNA sehingga terjadi kelainan struktur dan fungsi makromolekul jaringan yang menyebabkan gangguan integritas

struktur dan fungsi vaskular serta saraf perifer. Peningkatan jalur poliol, akumulasi AGEs intrasel, aktifitas PKC menyebabkan komplikasi endotelium pembuluh darah, saraf perifer berupa mikroangiopati dan neuropati yang mengakibatkan terganggunya aliran darah, iskemia, terganggunya perfusi jaringan (Calles-Escandon & Cipolla, 2001; Semenkovich, 2006).

Diabetes mellitus yang tidak tergantung insulin, juga dikenal sebagai diabetes tipe 2 adalah kelainan poligenik yang menyebabkan kelainan pada metabolisme karbohidrat dan lipid. Kontributor utama dalam patofisiologi diabetes tipe 2 (T2D) termasuk resistensi terhadap aksi insulin, disfungsi sel, kelainan dalam metabolisme dan penyimpanan glukosa, obesitas visceral dan sampai batas tertentu peradangan dan stres oksidatif. Peningkatan obesitas juga merupakan faktor utama dalam peningkatan angka diabetes tipe 2. Tinjauan saat ini membahas senyawa bioaktif dari tanaman obat yang menawarkan potensi terapeutik yang ditingkatkan untuk patofisiologi gabungan diabetes dan obesitas (Sangeetha et al., 2017).

Nuclear factor kappa B (NF κ B) merupakan faktor transkripsi beberapa gen dan aktivasinya dikontrol oleh inhibitor kappa B kinase (IKK). IKK adalah serine-threonine protein kinase yang terlibat dalam aktivasi NF κ B dalam menanggapi rangsangan inflamasi. IKKb berperan pada jalur kanonis NF κ B, yang memfosforilasi I κ B dan mentranslokasi NF κ B ke dalam nucleus dan menginisiasi transkripsi gen proinflamasi. penghambatan IKKb dan NF- κ B menekan produksi mediator inflamasi. Dengan demikian, terapi baru yang menargetkan IKKb bisa jadi ampuh efek anti-inflamasi dan mungkin bermanfaat

dalam pengobatan kanker tertentu. Faktor obesitas dan hiperlipid menyebabkan resistensi insulin sehingga di hipotalamus terjadi aktivasi molekul proinflamasi termasuk IKK. Obesitas menyebabkan fosforilasi IKKB. IKK β memiliki peran penting dalam imunitas bawaan dan adaptif. Inflamasi metabolik dan resistensi insulin menyebabkan aktivasi IKKB dan stress retikulum endoplasma. IKKB dan NF-kB memiliki peran dalam memicu terjadinya resistensi insulin (Catley et al., 2005; Jin et al., 2013; Nagarajan et al., 2010; Ropelle et al., 2010; Steven, 2005).

Pada tingkat molekuler, beberapa molekul dan jalur pensinyalan diubah, beberapa dari mereka terlibat dalam proses metabolisme dan yang lainnya di (anti) inflamasi dan (anti) aktivitas oksidatif; contohnya, protein kinase teraktivasi mitogen (MAPK) / c-Jun N-terminal kinase (JNK) jalur, yang aktivasinya terkait erat dengan oksidatif stres dan yang menghambat pensinyalan insulin *AMP-activated protein kinase* (AMPK) yang mengaktifkan phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) / protein kinase B (Akt) / target mamalia dari rapamycin jalur (mTOR), mekanisme penting untuk kelangsungan hidup sel, regulasi apoptosis, modulasi konsentrasi enzim antioksidan, dan itu juga penting untuk glukosa yang adekuat transportasi dalam sel otot, adiposit dan hepatosit *nuclear factor-kB* (NF-kB) jalur intraseluler, yang mengatur transkripsi sitokin pro-inflamasi dan yang diaktifkan oleh I κ B kinase (IKK), protein kinase C (PKC), yang diaktifkan oleh stres oksidatif dan mengarah pada aktivasi proinflamasi, jenis gen homolog A (RhoA) / Rho jalur kinase, yang aktivasi menyebabkan komplikasi ginjal dan jantung, terutama dengan akumulasi matriks protein. Reseptor insulin substrat 1 dan 2 (IRS-1/2) yang diperlukan untuk efek insulin dan dipengaruhi secara negatif

oleh sitokin inflamasi. Glikogen sintase kinase-3b (GSK-3b), tidak hanya mengatur glikogen sintase tetapi juga kelangsungan hidup dan kematian sel. Forkhead box protein O 1 (FoxO1), yang mengatur banyak hal fungsi seperti glukosa dan metabolisme lipid, homeostasis redoks, perkembangan siklus sel, dan apoptosis dan peptida 1 seperti glukagon (GLP-1) yang merangsang produksi insulin dan menghambat sekresi sitokin proinflamasi (Tsuchiya & Ogawa, 2017).

Pada tingkat sel, disfungsi sel β dimanifestasikan oleh kegagalan sel β progresif dan perubahan struktural, dengan hilangnya gabungan jumlah sel- β dan kemampuan sekresi insulin yang mengarah ke dediferensiasi sel β , sebuah fenomena yang penting diberikan oleh apoptosis melalui berbagai mekanisme, seperti stres oksidatif, stres retikulum endoplasma (ERS), disfungsi mitokondria, defisiensi autophagi dan peradangan (Rivera-Mancía et al., 2018).

B. Purwoceng Gunung (*Artemisia lactiflora* Wall. Ex D.C)

Purwoceng adalah tanaman obat komersial yang dapat digunakan sebagai afrodisiak, diuretik, dan tonik. Tanaman tersebut adalah tumbuhan asli Indonesia yang tumbuh secara endemik di dataran tinggi Dieng Jawa Tengah, Gunung Pangrango Jawa Barat, dan area pegunungan di Jawa Timur. Dewasa ini, populasinya sangat jarang yang disebabkan oleh erosi genetik secara besar-besaran. Berdasarkan tingkat erosinya, purwoceng dikategorikan sebagai spesies yang hampir punah. Untuk menghindari kepunahan, tindakan konservasi harus dikelola dengan baik. Upaya pelestarian sebaiknya dilakukan secara bersama dengan upaya pemanfaatannya secara optimal dan berkelanjutan. Hingga saat ini tidak banyak laporan penelitian tentang purwoceng. Beberapa aspek yang sudah

dilaporkan adalah aspek agronomi, kultur in vitro, fitokimia, dan farmakologi (Darwati & Roostika, 2016).



Gambar 1. Tumbuhan Purwoceng (a) Purwoceng (b) Purwoceng Gunung

Tumbuhan selain Purwoceng yang diduga berkhasiat sebagai afrodisiak yaitu Purwoceng Gunung. Purwoceng Gunung merupakan tumbuhan asli Indonesia yang sering ditemukan di dataran menengah sampai pegunungan pada ketinggian 800 – 2.300 meter di atas permukaan laut. Khasiat yang dimiliki tumbuhan ini yaitu sebagai anti radang, pelancar haid, dan peluruh air seni. Penelitian mengenai Purwoceng Gunung belum banyak dilakukan, namun berdasarkan uji pendahuluan Purwoceng Gunung mengandung senyawa stigmasterol seperti yang ditemukan pada Purwoceng (Suzery et al., 2005).

Akar Purwoceng Gunung mempunyai kandungan kimia minyak atsiri, triterpenoid, steroid, flavonoid, glikosida flavonoid, dan stigmasterol. Akar rambut Purwoceng Gunung mengandung sitosterol, stigmasterol, dan saponin pada akar rambut Purwoceng Gunung umur 3 bulan lebih tinggi 2,22, 17,03, dan 39,35 kali dibanding akar tanaman Purwoceng Gunung di lapang umur 9 bulan (sitosterol 0,1558%, stigmasterol 0,4830%, saponin 0,1111%) (Rohimatun & Darwati, 2011).

Kadar senyawa aktif stigmasterol dalam ekstrak akar Purwoceng Gunung adalah $11,96 \pm 0,93$ %b/b (Kurniawan, 2017).

C. Stigmasterol

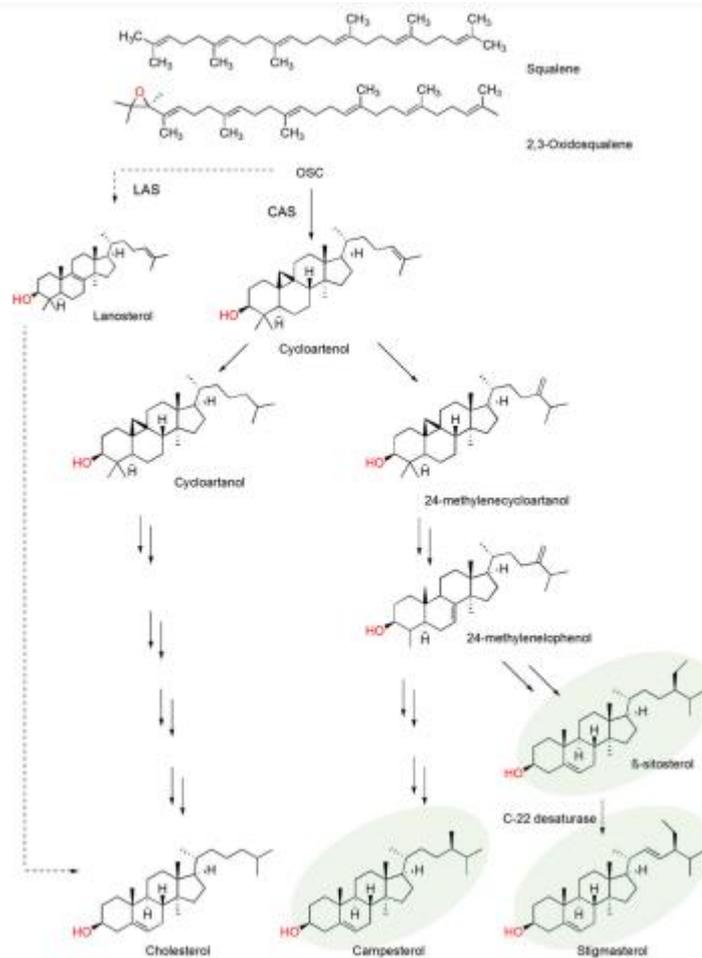
Stigmasterol merupakan turunan steroid yang dicirikan oleh gugus hidroksil pada posisi C-3 dari kerangka steroid, dan ikatan tak jenuh pada posisi 5-6 dari cincin B, dan posisi 22-23 pada substituen alkil. Stigmasterol ditemukan dalam lemak dan minyak kedelai, kacang calabar dan biji lobak, serta beberapa sayuran lainnya, kacang-kacangan, kacang-kacangan, biji-bijian, dan susu yang tidak dipasteurisasi.

Stigmasterol, β -sitosterol dan campesterol mewakili sterol tumbuhan utama, dan kolesterol sebagai sterol. Perubahan sterol tumbuhan, terutama kadar β -sitosterol/stigmasterol, dapat diinduksi oleh berbagai faktor biotik dan abiotik. Nematoda parasit tanaman, seperti nematoda akar-simpul *Meloidogyne incognita*, adalah patogen perusak yang diketahui dapat menghindari mekanisme pertahanan tanaman. Penelitian pada perubahan sterol tanaman *Brassica juncea* (sawi coklat), *Cucumis sativus* (mentimun), *Glycine max* (kedelai), *Solanum lycopersicum* (tomat), dan *Zea mays* jagung), 21 hari pasca inokulasi (dpi) dengan *M. incognita*. Perubahan utama terpengaruh rasio β -sitosterol/stigmasterol, dengan peningkatan β -sitosterol dan penurunan stigmasterol pada *S. lycopersicum*, *G. max*, *C. sativus* dan *Z. mays*. Selanjutnya, kadar kolesterol meningkat pada tomat, mentimun dan jagung, sedangkan kadar kolesterol sering berada di bawah batas deteksi masing-masing tanaman yang tidak terinfeksi. Analisis gen ekspresi dilakukan pada tomat. Gen sterol 22C-desaturase CYP710A11, bertanggung jawab atas konversi β -

sitosterol menjadi stigmasterol. Hasilnya ekspresi CYP710A11 sejalan dengan profil sterol tomat setelah infeksi *M. incognita*. Karena sterol memainkan peran kunci dalam interaksi patogen tanaman, temuan ini membuka wawasan baru dalam tanaman interaksi nematode (Cabianca et al., 2021).

Peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- γ) dilaporkan mengatur sensitivitas insulin dan perkembangan diabetes mellitus tipe 2 (T2DM). Stigmasterol diprediksi memiliki afinitas pengikatan terbaik terhadap PPAR- γ dan tidak memiliki efek samping (Dwivedi et al., 2021).

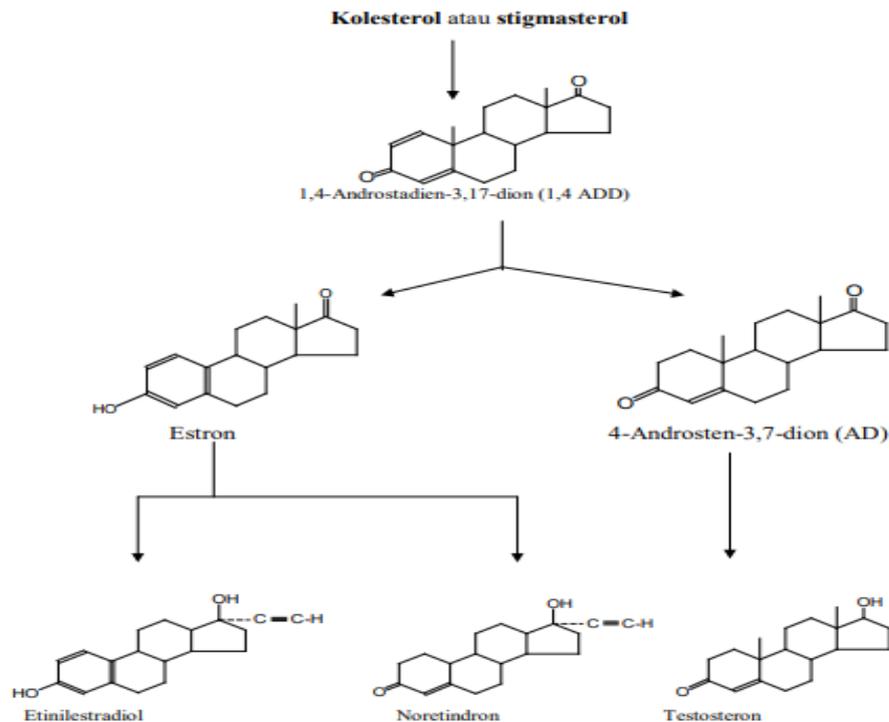
Penyakit radang usus (IBD) adalah gangguan peradangan kronis dengan mikrobiota usus ketidakseimbangan dan regulasi T (Treg)/T helper 17 (Th17) ketidakseimbangan kekebalan tubuh. Stigmasterol, sterol yang berasal dari tumbuhan, telah menunjukkan efek antiinflamasi. PPAR- γ yang dimediasi butirir aktivasi mengembalikan keseimbangan sel Treg/Th17, dan ini mungkin mekanisme yang mungkin, dimana stigmasterol melemahkan IBD (Wen et al., 2021).



Gambar 2. Jalur sintesis sterol tanaman dimulai dengan konversi 2,3 oksidoskualen menjadi sikloartenol oleh oksidoskualen siklase (OSC). Enzim OSC digolongkan sebagai sikloartenol sintase (CAS) atau lanosterol synthase (LAS) tergantung pada produk siklik pertama. Sintesis sterol utama jalur pada tanaman ditunjukkan oleh beberapa panah yang mewakili beberapa langkah enzimatik dengan detail informasi tentang konversi - sitosterol menjadi stigmasterol oleh C22-desaturase. (Cabianca et al., 2021).

Fitosterol memiliki efek fisiologis dan digunakan sebagai obat atau makanan suplemen. Stigmasterol telah menunjukkan efek antikanker terhadap berbagai kanker seperti hepatoma, kolangiokarsinoma, karsinoma kandung empedu, adenokarsinoma endometrium dan kulit, lambung, payudara, prostat, dan kanker serviks. Penelitian efek stigmasterol pada sinyal proapoptosis,

fungsi mitokondria, produksi spesies oksigen reaktif, dan kadar kalsium sitosol dan mitokondria dalam sel kanker ovarium manusia, untuk memahami mekanisme yang mendasari efek stigmasterol pada sel kanker ovarium. Uji migrasi untuk mengkonfirmasi stigmasterol menghambat migrasi sel kanker ovarium. Stigmasterol menghambat perkembangan ovarium manusia sel kanker. Stigmasterol menginduksi apoptosis sel, produksi ROS, dan kelebihan kalsium di ES2 dan sel OV90. Selain itu, stigmasterol merangsang kematian sel dengan mengaktifkan sumbu ER-mitokondria. Stigmasterol menekan migrasi sel dan gen angiogenesis pada ovarium manusia sel kanker. Hasil menunjukkan bahwa stigmasterol dapat digunakan sebagai pengobatan baru untuk kanker ovarium (Bae et al., 2020).



Gambar 3. Skema sintesis estron, 19-norsteroid, dan testosteron dari kolesterol atau stigmasterol (Tarigan, 1991 dalam (Dira, 2015)).

Potensi terapeutik stigmasterol, alkohol steroid alami dengan sifat modulator imun yang mapan, dinilai pada respon kulit alergi. Pemeriksaan efek supresifnya pada kulit aktif yang dimediasi imunoglobulin E (IgE). anafilaksis (ACA), pruritus yang diinduksi senyawa 48/80 (C48/80), dan dermatitis iritan yang diinduksi oleh 12-O-tetradecanoylphorbol13-acetate (TPA). Stigmasterol pada 10-100 mg/kg secara signifikan menghambat ACA dengan pengurangan area reaksi dan konsentrasi pewarna biru Evans ekstrasvasasi. Diberikan pada 50 dan 100 mg/kg, stigmasterol secara signifikan menghambat perilaku menggaruk yang diinduksi C48/80 bila dibandingkan dengan kontrol injeksi C48/80 yang diberi garam. Stigmasterol mengendalikan edema kulit telinga dan neutrofilia dan juga menurunkan kadar serum TNF α yang diinduksi oleh aplikasi topikal TPA. Epidermal penebalan lapisan dan infiltrasi sel inflamasi jaringan kulit telinga secara signifikan dikurangi oleh stigmasterol. Stigmasterol menunjukkan potensi yang signifikan sebagai molekul yang menarik dalam terapi penyakit kulit alergi (Antwi et al., 2018).

Peningkatan kadar kolesterol plasma sangat prediktif terhadap kardiovaskular (CVD) dan stroke dan merupakan pendorong utama aterosklerosis. Agen penurun kolesterol saat ini, seperti statin, tidak diketahui dapat membalikkan penyakit aterosklerotik setelah penyakit itu terbentuk. Di dalam model praklinis, agonis reseptor nuklir, LXR, telah terbukti mengurangi dan membalikkan aterosklerosis. Fitosterol adalah sterol non-kolesterol bioaktif yang bertindak sebagai agonis LXR dan mengatur metabolisme dan transportasi kolesterol. Suatu hipotesis bahwa stigmasterol akan bertindak

sebagai Agonis LXR dan mengubah sekresi kolesterol usus untuk meningkatkan eliminasi kolesterol. Mencit diberi diet kontrol, atau diet yang dilengkapi dengan stigmasterol (0,3% b/b) atau T0901317 (0,015% b/b), yang diketahui sebagai agonis LXR. Stigmasterol meningkatkan sekresi kolesterol transintestinal melalui jalur LXR-independen (Lifsey et al., 2021).

Diabetes tipe 2 terjadi akibat defek pada sensitivitas insulin dan sekresi insulin. Tinggi kandungan kolesterol dalam sel pankreas telah terbukti mengurangi fungsi sel dan meningkatkan apoptosis sel . Hiperglikemia dan dislipidemia berkontribusi pada glukolipotoksisitas yang mengarah ke diabetes tipe 2. Pemeriksaan kapasitas glukolipotoksisitas untuk menginduksi akumulasi kolesterol bebas di pankreas manusia dan garis sel insulinoma INS-1. Pengobatan glukolipotoksisitas meningkatkan kolesterol bebas dalam sel, disertai dengan peningkatan produksi spesies oksigen reaktif (ROS) dan penurunan sekresi insulin. Penambahan AAPH, pembangkit radikal bebas, mampu meningkatkan flipin, pewarnaan menunjukkan hubungan antara produksi ROS dan peningkatan kolesterol dalam sel . Stigmasterol mampu mencegah peningkatan kolesterol bebas dan kadar ROS yang disebabkan oleh glukolipotoksisitas di INS-1 sel. Penambahan stigmasterol juga menghambat apoptosis dini, meningkatkan insulin total, mempromosikan aktin reorganisasi, dan peningkatan sekresi insulin dalam sel yang terpapar glukolipotoksisitas. Secara keseluruhan menunjukkan akumulasi kolesterol sebagai mekanisme yang mendasari defek yang diinduksi glukolipotoksisitas dalam sekresi insulin

dan pengobatan stigmasterol sebagai strategi potensial untuk melindungi fungsi sel selama perkembangan diabetes (Ward et al., 2017).

Hasil penelitian uji toksisitas stigmasterol menggunakan model sel epitel usus (Caco-2 cell) menunjukkan tidak adanya sitotoksitas pada sel uji (Alemany et al., 2012). Stigmasterol merupakan salah satu komponen utama yang terdeteksi pada minyak *Corylus avellana*. Minyak ini efektif dalam pengobatan sindrom polikistik ovarium melalui pengaturan gonadotropin, steroid, dan parameter lipid serum serta memiliki fungsi sebagai antioksidan (Demirel et al., 2016).

D. Testosteron

Hormon seks secara kolektif disebut dengan androgen yang disekresikan oleh testis. Androgen meliputi testosteron, dihidrotestosteron, dan androstenedion. Hormon utama androgen adalah testosteron yang berperan pada perkembangan genitalia eksternal dan karakteristik seksual sekunder pada pria. Testosteron disekresikan oleh sel Leydig testis yang merupakan hormon seks steroid yang memiliki rumus kimia $C_{19}H_{28}O_2$ yang merupakan bagian dari famili molekul yang berasal dari kolesterol (Hall & Guyton, 2014)

Jumlah kecil testosteron disekresikan oleh korteks adrenal dan sel sertoli. Testosteron total di sirkulasi terdiri dari 0,5-3% testosteron bebas yang tidak terikat dengan protein plasma, 30-40% terikat *sex hormone-binding globulin* (SHBG), dan 54-68% terikat albumin. Efek biologis dari testosteron diperantarai oleh testosteron bebas atau testosteron yang terikat dengan albumin yang mudah terlepas sehingga kedua bentuk ini disebut *bioavailable testosteron*. Testosteron bersirkulasi dalam

darah selama 30 menit hingga beberapa jam. Hormon ini juga disekresi dalam jumlah kecil oleh korteks adrenal dan sertoli. Testosteron total di sirkulasi terdiri dari 0,5-3% testosteron bebas yang tidak terikat dengan protein plasma, 30-44% terikat SHBG, dan 54-68% terikat albumin. Efek biologis dari testosteron diperantarai oleh testosteron bebas atau testosteron yang terikat dengan albumin yang mudah terlepas sehingga kedua bentuk ini disebut *bioavailable testosterone*. SHBG disintesis oleh hepatosit dan produksinya dipengaruhi oleh hormon estrogen, tiroid, androgen, dan insulin (Hall & Guyton, 2014).

Testosteron dalam darah ditransfer ke jaringan atau didegradasi menjadi produk tidak aktif yang kemudian diekskresikan. Testosteron dalam jaringan kebanyakan akan dikonversi menjadi dihidrotestosteron, sedangkan yang tidak terikat dengan jaringan akan dikonversi secara cepat oleh hepar menjadi androsteron dan dihidroepiandrosteron dan secara simultan dikonjugasikan dan diekskresikan ke dalam usus melalui empedu atau ke dalam urin melalui ginjal (Hall & Guyton, 2014).

Testosteron secara umum berperan dalam pembentukan karakteristik maskulin tubuh. Pada saat fetus, *hormone chorionic gonadotropin* (HCG) dari plasenta merangsang testis untuk memproduksi testosteron dalam jumlah yang cukup hingga 10 minggu setelah kelahiran, kemudian tidak ada produksi testosteron selama masa kanak-kanak sampai usia 10 tahun sampai 13 tahun. Testosteron disekresikan secara cepat lagi setelah masa pubertas sehingga menyebabkan penis, skrotum, dan testis membesar. Efek testosteron yaitu pertumbuhan rambut pada pubis, hipertrofi pada mukosa laring dan membesarnya laring sehingga membentuk

suara yang khas pada pria, meningkatkan pembentukan protein dan otot, meningkatkan matriks tulang dan deposit kalsium di tulang, meningkatkan metabolisme basal tubuh, dan meningkatkan jumlah eritrosit (Hall & Guyton, 2014).

Sel Leydig testis mensekresi testosteron terjadi ketika rangsangan oleh LH dari hipofisis anterior. Jumlah testosteron yang disekresi meningkat sebanding dengan jumlah LH. Sekresi testosteron oleh testis memberikan umpan balik negatif ke hipotalamus untuk menurunkan sekresi *Gonadotropin Releasing Hormone* (GnRH) dan ke hipofisis anterior untuk menghambat sekresi LH. Umpan balik negatif ini terjadi jika ada peningkatan sekresi testosteron, sehingga kadar testosteron kembali normal. Umpan sebaliknya terjadi ketika kadar testosteron rendah maka akan merangsang hipotalamus mensekresikan GnRH dan akan merangsang sekresi LH sehingga testis akan mensekresikan testosteron.

E. Resistensi Insulin

Resistensi insulin diartikan sebagai kegagalan respon normal jaringan target terhadap insulin, baik insulin endogen maupun eksogen (Dash et al., 2018). Resistensi insulin sistemik dapat diukur dengan penurunan tingkat disposal glukosa pada manusia dan mencit percobaan sebagai respon terhadap konsentrasi insulin. Resistensi insulin terjadi pada jaringan aktif secara metabolik, termasuk otot skeletal, hepar dan jaringan adipose.

Resistensi insulin pada otot skeletal bermanifestasi sebagai penurunan transport gula dan sintesis glikogen. Sensitivitas insulin menurun pada miosit

individu obesitas seiring meningkatnya *lipid adiposity*, yang mendukung konsep bahwa kelebihan lemak menyebabkan penurunan sinyal insulin otot skeletal. Resistensi insulin di hepar bersifat selektif, yaitu insulin tidak mampu menekan glukoneogenesis, tetapi tetap menstimulasi sintesis asam lemak, sehingga bermanifestasi sebagai hiperglikemia dan hipertrigliseridemia. Manifestasi resistensi insulin di jaringan adipose yaitu gangguan transport glukosa dan gangguan inhibisi lipolisis.

Resistensi insulin adalah konsekuensi dari penurunan sinyal kaskade yang biasanya diaktifkan oleh insulin yang mengikat reseptornya, mengakibatkan metabolisme glukosa dan lipid yang tidak memadai, sebagai mekanisme kompensasi, ada kemungkinan bahwa sel-sel beta pankreas harus bekerja secara lebih mendalam, memicu perubahan dalam aktivitasnya elemen pengaturan dan pola ekspresi gen (Rivera-Mancía et al., 2018).

Resistensi insulin adalah suatu keadaan penurunan kemampuan jaringan yang sensitif terhadap insulin untuk memberikan respon normal terhadap insulin pada tingkat seluler. Penurunan kemampuan tersebut dapat disebabkan karena faktor genetik, metabolik, dan nutrisi.

Pada kondisi awal intoleransi glukosa, insulin yang diproduksi sel pankreas masih dapat melakukan kompensasi dengan meningkatkan sekresi insulin. Keadaan hiperinsulinemia dapat mempertahankan kadar glukosa darah pada keadaan normal.

Sensitivitas insulin terhadap insulin dan sekresi insulin merupakan dua kondisi berlawanan dan berkaitan secara proporsional. Makin rendah sensitivitas

insulin (resistensi insulin makin tinggi) makin banyak insulin yang disekresi. Keseimbangan antara sensitivitas insulin dan sekresi insulin memiliki nilai yang konstan dan digunakan standar dari *glucose disposition index*. Kondisi sensitivitas insulin menurun, sekresi sel β pancreas menyebabkan sekresi insulin tidak adekuat, sehingga terjadi transisi dari kondisi resistensi insulin ke diabetes yang merupakan manifestasi klinis.

Resistensi insulin didefinisikan sebagai respon biologis yang lemah terhadap kadar insulin normal atau lebih tinggi. Peran insulin adalah untuk memfasilitasi penyerapan dan penyimpanan nutrisi di berbagai jaringan (terutama otot rangka, hati, dan jaringan adiposa). Bagian otot rangka untuk 40% dari total berat badan dan hampir 80% dari penyerapan glukosa di orang sehat, menjadikannya bagian utama untuk pengembangan resistensi insulin perifer. Faktor risiko kardiovaskular meliputi: diabetes, sindrom metabolik, aterosklerosis, obesitas, dan penyakit hati berlemak nonalkohol (NAFLD), di mana resistensi insulin memainkan peran mekanisme. Selain itu, resistensi insulin telah diidentifikasi sebagai faktor independen dalam peningkatan insiden penyakit kardiovaskular (penyakit arteri koroner, gagal jantung, stroke) (Feng et al., 2018).

Insulin melalui mekanisme phosphatidyl inositol 3 kinase (PI3-K) pathway akan merangsang produksi NO oleh endotel, sedangkan pada keadaan resistensi insulin terjadi *insulin mediated glucose transport* yang tidak efektif dan gangguan produksi NO akibat defek PI3-K signaling, namun jalur mitogen-activated protein kinase (MAPK) masih berfungsi normal. Insulin melalui jalur MAPK bersifat proaterogenik karena meningkatkan potensi *platelet-derived growth factor* (PDGF)

sehingga terjadi proliferasi sel otot polos vascular dan merangsang produksi PA-I (Hsueh et al., 2001).

Resistensi insulin dapat disebabkan karena adanya defek reseptor, sehingga terjadi gangguan sinyal pada tingkat reseptor yang dapat menyebabkan defek pada jalur sinyal, seperti resistensi insulin yang menyebabkan hiperinsulinemia kompensatori. Jalur yang paling sering diakibatkan adalah PI3-K dan jalur protein kinase B, dan insulin reseptor substrat-1 (IRS-1). Gangguan kaskade sinyal menyebabkan resistensi kerja insulin, dengan hasil akhir hiperinsulinemia pada organ target (Aroor et al., 2013).

Resistensi insulin pada DM tipe 2 dapat terjadi melalui 4 mekanisme, yakni:

1. Peningkatan fosforilasi serin pada insulin reseptor substrat (IRS)
2. Peningkatan degradasi IRS
3. Peningkatan aktivitas fosfatase src homology 2 domain containing inositol 5'-phosphatase (SHIP2), phosphatase tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN), dan phosphor-tyrosine phosphatase IB (PTB-1B)
4. Penurunan aktivasi pensinyalan molekul dibawah reseptor insulin.

Peningkatan akumulasi spesies lipid toksik di otot dan jaringan perifer lain dapat mengganggu kerja insulin dalam metabolisme glukosa. Peningkatan senyawa metabolit lipid seperti acyl CoA dan DAG juga akan memicu resistensi insulin sehingga akan memicu terjadinya penurunan aktivitas fosforilasi oksidatif di mitokondria hingga 30%. Fosforilasi IRS pada residu serin menghambat interaksi IRS dengan reseptor insulin di permukaan, sehingga menurunkan fosforilasi tirosin

dari IRS dan menurunkan aktivasi PI3K. Peningkatan asam lemak bebas dapat menstimulasi reseptor mediator inflamasi yaitu toll like resptor (TLR) yang akan mengaktivasi I κ B kinase (IKK) β dan c-Jun N-terminal kinase (JNK) dan menstimulasi sitokin-sitokin proinflamatori seperti TNF α , interleukin-1 β dan IL-6. IKK β dan JNK berperan sebagai serine kinase yang akan memfosforilasi serin/treonin dari IRS sehingga menurunkan *signaling* insulin. Aktivasi JNK dapat dipicu dengan terjadinya stress endoplasmic reticulum (ER) dan meningkatkan fosforilasi serin kinase IRS. Jalur lain yang menghambat fosforilasi IRS yaitu PKC. Akumulasi diasilgliserol (DAG) sebagai produk asam lemak rantai panjang akan mengaktivasi PKC antara lain PKC- β , δ , dan Θ yang akan meningkatkan fosforilasi serin dari IRS dan memicu penghambatan pensinyalan insulin dan resistensi insulin (Setyawati, 2014).

Resistensi insulin merupakan faktor resiko utama untuk mengembangkan diabetes tipe 2, dan berkontribusi terhadap morbiditas obesitas. Tindakan insulin melibatkan serangkaian dari sinyal kaskade yang diprakarsai oleh insulin yang mengikat pada reseptornya, memunculkan autofosforilasi reseptor dan aktivasi reseptor tirosin kinase, menghasilkan fosforilasi tirosin substrat reseptor insulin (IRS). Fosforilasi IRS menyebabkan aktivasi PI3K dan selanjutnya untuk aktivasi Akt dan mediator downstream AS160, yang semuanya merupakan langkah penting untuk menstimulasi transportasi glukosa yang disebabkan oleh insulin. Meskipun mekanisme yang mendasari resistensi insulin tidak sepenuhnya diketahui pada otot skeletal, diduga menghasilkan setidaknya sebagian dari PI3K yang tergantung insulin aktivasi dan pensinyalan hilir (Choi & Kim, 2010).

Resistensi insulin merupakan kemunduran efek biologis dari insulin dalam memetabolisme glukosa, lipid, dan protein serta fungsi endotel dari vaskuler. Resistensi pada DM tipe 2 merupakan defek atau kelainan yang bersifat genetik, dimana jaringan tubuh tidak memberikan respon yang seharusnya terhadap insulin yang ada. Hal tersebut bukan faktor utama yang disebabkan karena berkurangnya reseptor insulin pada sel secara kuantitas atau jumlah, namun disebabkan karena adanya gangguan pada post reseptor. Gangguan tersebut dapat berupa sintesis dan translokasi dari GLUT, suatu faktor penting pada pemindahan glukosa dari darah ke dalam sel untuk selanjutnya dimetabolisme.

Pada DM tipe 2, proses ini mengalami hambatan tidak pekanya jarinya terhadap insulin. Hambatan utama adalah pada tahap 2 (*post signaling*) yakni pada tahap pembentukan, pengkativan serta penempatan dari GLUT. Bagian ini merupakan proses setelah terjadi ikatan antara insulin dengan reseptor pada membran (IRS1 dan IRS2). Fase ini merupakan proses yang melibatkan banyak senyawa protein dalam bentuk enzim, yang tujuan akhirnya adalah translokasi dan kemudian aktivasi terhadap GLUT4, suatu bagian transportasi glukosa dari luar ke dalam sel. Pada tingkat molekuler resistensi insulin dapat disebabkan oleh defek pada berbagai sistem enzim seperti PI3K dan protein kinase (PKC).

Pada fase selanjutnya dari metabolisme glukosa relative lebih mudah dipahami peristiwa fosforilasi-defosforilasi. Belum terungkapnya mekanisme terjadinya gangguan tersebut, namun diketahui ada beberapa hal bahwa pada tahap ini terdapat peran penting IRS.

Resistensi insulin adalah sindrom yang lazim di negara maju maupun berkembang. Ini adalah faktor predisposisi untuk diabetes mellitus tipe 2, perkembangan tahap akhir yang paling umum dari sindrom metabolik di Amerika Serikat. Sebelumnya, penelitian yang menyelidiki diabetes tipe 2 telah berfokus pada disfungsi sel beta di pankreas dan resistensi insulin, dan mengembangkan cara untuk memperbaiki disfungsi ini. Namun, dalam beberapa tahun terakhir, telah ada minat mendalam pada peran stres oksidatif di jaringan perifer untuk menginduksi resistensi insulin. Tujuan dari tinjauan ini adalah untuk fokus pada mekanisme generasi spesies oksidatif dan korelasi langsungnya dengan resistensi insulin, untuk membahas peran obesitas dalam patofisiologi fenomena ini, dan untuk mengeksplorasi potensi antioksidan sebagai pengobatan untuk disfungsi metabolik.

Resistensi insulin merupakan masalah pandemi yang tidak membedakan faktor demografi, termasuk sosial ekonomi dan etnis. Diabetes melitus tipe 2, akibat resistensi insulin, merupakan penyakit metabolik yang menurut data terakhir *World Health Organization* tahun 2014, menyerang 9% penduduk dunia, baik di negara maju maupun negara berkembang, dan secara langsung menyebabkan 1,5 juta kematian pada tahun itu saja. Pradiabetes, atau sindrom metabolik, ditemukan pada hampir 35% kasus pada orang dewasa di Amerika Serikat saja antara tahun 2003 dan 2012. Faktor predisposisi dan indikator terbaik perkembangan diabetes di masa depan adalah resistensi insulin. Kondisi ini ditandai dengan penurunan sensitivitas insulin di jaringan perifer. Resistensi insulin ditandai dengan penurunan respon seluler terhadap stimulasi insulin di jaringan perifer.

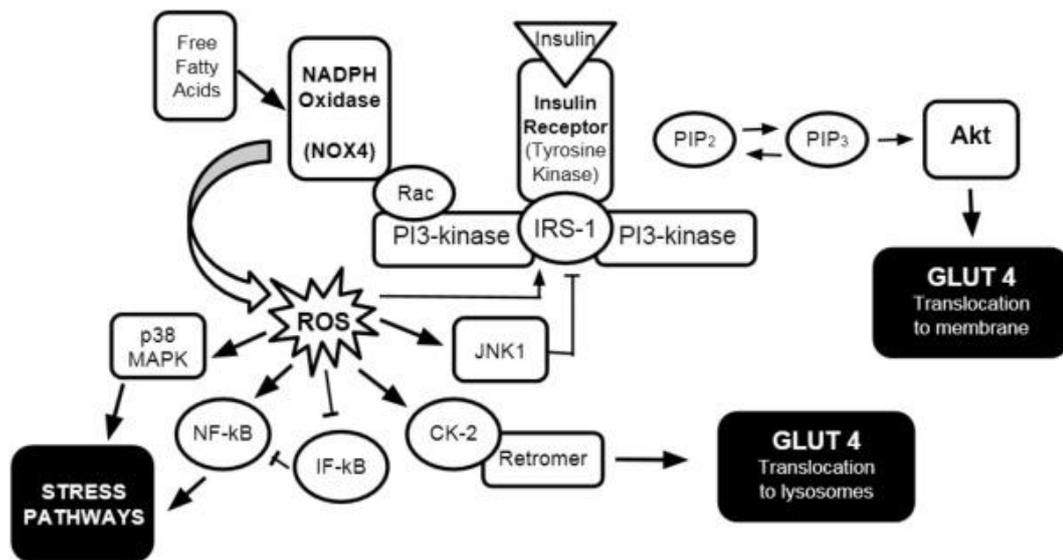
Dengan demikian, penting untuk menyelidiki mekanisme respon perifer terhadap insulin ini untuk memahami patogenesis komplikasi metabolik selanjutnya.

Stres oksidatif baru-baru ini diakui sebagai mekanisme kunci dalam resistensi insulin. Stres oksidatif didefinisikan oleh kelebihan spesies oksidatif endogen, yang merusak sel dan memanipulasi jalur sinyal. Spesies reaktif, terutama spesies oksigen reaktif (ROS) seperti superoksida, hidrogen peroksida, dan ion radikal hidroksil, adalah agen stres oksidatif dan diproduksi pada tingkat fisiologis rendah sebagian besar di mitokondria dan peroksisom. ROS diproduksi secara endogen dan memiliki signifikansi fisiologis pada tingkat rendah, terutama di jalur pensinyalan, meskipun mekanisme ini belum jelas karena peran ganda yang dimainkan ROS baik sebagai sinyal maupun sebagai agen perusak. Di antara peran pensinyalan ini adalah kontrol transkripsi dan regulasi siklus sel. Ada pembicaraan silang antara ROS mitokondria endogen dan enzim redoks mulai dari NADPH oksidase hingga reseptor angiotensin I/II. H₂O₂ telah diselidiki secara khusus dalam studi ini sebagai salah satu "saklar redoks" yang dapat menyebabkan lingkaran setan stimulasi redoks. Telah diterima untuk beberapa waktu bahwa ROS menjadi merusak sel-sel di luar tingkat fisiologis yang rendah. Studi terbaru menyimpulkan bahwa kerusakan ROS memiliki peran langsung dalam pengembangan dan perkembangan banyak penyakit kronis, termasuk patogenesis resistensi insulin dan diabetes tipe 2.

Hubungan antara stres oksidatif dan resistensi insulin telah menarik perhatian. Penelitian di bidang ini telah mengungkapkan bahwa ada korelasi kuat antara keadaan stres oksidatif dalam tubuh dan kejadian resistensi insulin dan

bahkan kasus diabetes stadium lanjut. Pemahaman tentang korelasi ini tidak jelas atau tidak lengkap, seringkali berfokus pada detail individu dari jalur atau patogenesis tertentu. Dalam ulasan ini, kami bermaksud untuk mengklarifikasi jalur molekuler di balik patogenesis resistensi insulin, mengeksplorasi hubungan antara resistensi insulin dan obesitas, dan membahas antioksidan sebagai pengobatan potensial untuk pasien diabetes dan pra-diabetes.

Penting untuk menggambarkan jalur pensinyalan reseptor insulin ketika membahas resistensi insulin. Transduksi sinyal reseptor insulin melibatkan banyak protein dan ditranseksi oleh beberapa jalur lain. Skema jalur ini bersama dengan jalur oksidatif patogen ditunjukkan pada gambar 4.



Gambar 4. Jalur pensinyalan reseptor insulin termasuk pengaruh ROS. Jalur normal dimulai dengan insulin mengikat reseptor insulin tirosin kinase. Reseptor insulin memfosforilasi substrat reseptor insulin-1 (IRS-1) yang pada gilirannya memfosforilasi PI3-kinase. PI3-kinase kemudian memfosforilasi PIP2 yang kemudian mengaktifkan Akt, akhirnya menyebabkan translokasi transporter glukosa 4 (GLUT4) ke membran plasma sel otot rangka dan adiposit, sehingga memungkinkan sel untuk menyerap glukosa ekstraseluler, menurunkan kadar glukosa interstitial dan dengan demikian konsentrasi glukosa plasma. Singkatan yang

digunakan: PIP2 dan PIP3: spesies phosphatidylinositol; Rac: Rac GTPase; ROS: Spesies oksigen reaktif; JNK1: c-Jun N-terminal kinase 1; CK-2: Kasein kinase 2; NF- κ B: faktor inti κ B; IF- κ B: Faktor penghambat κ B; p38 MAPK: p38 mitogen diaktifkan protein kinase; Akt: protein kinase B. (Hurrell & Hsu, 2017).

Glucose transporter 4 (GLUT4) merupakan transporter glukosa utama di jaringan sensitif insulin perifer, yaitu otot rangka dan jaringan adiposa, dan telah menjadi fokus banyak penelitian terkait resistensi insulin. Sel merespon insulin dengan meningkatkan ekspresi GLUT4 di membran plasma, sehingga meningkatkan pengambilan glukosa seluler dari aliran darah. Namun, tingkat pensinyalan insulin yang tinggi menghasilkan efek negatif pada keberadaan GLUT4 di membran. Sampai apa yang dianggap sebagai konsentrasi insulin optimal, sel meningkatkan pemanfaatan jalur transduksi insulin normal. Di luar konsentrasi optimal, sel menunjukkan pergeseran ke bawah dalam ekspresi GLUT4. Dengan demikian, kadar glukosa darah tetap tinggi dan pankreas mengeluarkan lebih banyak insulin sebagai respons, yang mengarah ke loop umpan balik positif yang menaikkan kadar insulin intravaskular dan membuat jaringan perifer tidak peka terhadap insulin. Konsekuensi biomolekuler dari siklus ini adalah penurunan regulasi GLUT4 yang berlanjut di membran sel, memperburuk masalah. Akibat sistemik dari disfungsi ini adalah hiperglikemia, hiperinsulinemia, dan peningkatan stres oksidatif pada jaringan.

Mekanisme di balik regulasi ini melibatkan protein yang berbeda dalam transduksi dari jalur normal. NADPH oksidase 4 (NOX4) adalah enzim pengoksidasi kuat yang menghasilkan ROS. Di atas konsentrasi insulin optimal, pergeseran jalur pensinyalan terjadi pada PI3-kinase. PI3-kinase memfosforilasi

Rac bukan PIP2, yang memperkuat aktivitas NOX4. Tingkat ROS meningkat sebagai hasilnya. Peningkatan ROS mengaktifkan kasein kinase-2 (CK2) yang pada gilirannya mengaktifkan retromer. Retromer kemudian memberi sinyal ke jaringan trans-Golgi di hilir, dan GLUT4 diangkut ke lisosom untuk degradasi membran plasma. Oleh karena itu, kadar glukosa intravaskular tetap tinggi di lingkungan oksidatif.

Mitokondria juga berkontribusi pada oksidasi dalam sel karena lingkungan nutrisi yang tinggi. Karena peningkatan pasokan glukosa dalam diet gula tinggi, mitokondria memiliki lebih banyak substrat yang tersedia untuk membuat ATP. Dengan demikian mitokondria hiperaktif dan menghasilkan lebih banyak produk sampingan alami mereka, ROS. Peningkatan ROS ini merusak infrastruktur sel, dan menginduksi respons stres yang menjadi tanggung jawab mitokondria. ROS secara langsung menstimulasi NF- κ B, JNK, dan p38 MAPK yang menghasilkan respons stres yang diinduksi mitokondria. Peningkatan kadar ROS menginduksi pembelahan mitokondria yang menghasilkan aksi pada jalur reseptor insulin dan protein stres. Fungsi mitokondria telah secara langsung dikaitkan dengan resistensi insulin pada otot rangka. Jalur stres dan protein yang diinduksi oleh disfungsi mitokondria telah dipelajari secara ekstensif untuk peran mereka dalam apoptosis dan siklus sel, meskipun mereka menginduksi respons stres lainnya. Sebuah studi dalam kultur sel menunjukkan bahwa resistensi insulin dapat dicegah dengan membatasi aktivasi mitokondria yang berlebihan (Hurrell & Hsu, 2017).

Hasil pengujian resistensi insulin ekstrak biji jintan hitam dilakukan dengan pengukuran konsentrasi tirosin terfosforilasi pada IRS-1 karena memiliki

konsentrasi terbesar dari insulin reseptor tirosin kinase dan terbukti dapat mengkativasi PI3K dan mendukung translokasi GLUT-4. Penurunan ambilan glukosa memiliki hubungan yang signifikan dengan penurunan tirosin terfosforilasi pada IRS-1 (Panggabean Efta; Yunita, Ema Pristi, 2014).

F. Streptozotocin

Streptozotocin (2-deoxy-2-[3-methyl-3-nitrosourea] 1-Dglucopyranose) terjadi dalam 2 bentuk anomerik dan yang dapat dipisahkan dengan HPLC. Obat ini digunakan untuk mengobati sel pulau tumor pankreas dan beberapa tumor neuroendokrin dan memiliki sitotoksisitas selektif untuk sel pankreas. Ini memasuki ini sel melalui transporter glukosa (GLUT2) dan menyebabkan alkilasi DNA, menghasilkan nekrosis yang cepat dan ireversibel. Streptozotocin secara luas diterapkan dalam penelitian medis untuk menghasilkan diabetes mellitus pada banyak spesies hewan percobaan. Sebagian besar publikasi tentang induksi diabetes oleh streptozotocin melibatkan mencit. Berbagai macam jadwal dosis dan rute administrasi telah dilaporkan. Dua metode induksi adalah injeksi intraperitoneal dosis tinggi tunggal atau beberapa dosis rendah. Untuk induksi diabetes melalui rejimen dosis tinggi tunggal, dosis yang dilaporkan bervariasi dari 100 mg/kg sampai 220 mg/kg. Dosis rendah biasanya melibatkan administrasi intraperitoneal dari 5 dosis harian berturut-turut 40 mg/kg streptozotocin, tetapi penggunaan 4 (35 mg / kg) dan 6 administrasi harian juga pada 2 percobaan terpisah dari 5 suntikan 40 mg / kg telah dilaporkan juga. Regimen yang sangat agresif sebanyak 5 kali 100 mg/kg menginduksi diabetes pada 90% mencit C3H, tetapi pada kasus streptozotocin dilarutkan dalam PBS bukan asam sitrat buffer, yang diduga dengan

cepat menonaktifkan obat. Bahkan meskipun induksi melalui beberapa dosis rendah streptozotocin lebih melelahkan, banyak peneliti mematuhi rejimen ini berdasarkan keyakinan bahwa itu lebih konsisten dalam hasil hiperglikemik hewan (De La Garza-Rodea et al., 2010).

Streptozotocin secara luas digunakan untuk menginduksi diabetes eksperimental pada hewan. Mekanisme kerjanya di sel pankreas telah diselidiki secara intensif dan sekarang cukup dipahami. Tindakan sitotoksik dari agen diabetogenik ini dimediasi oleh spesies oksigen reaktif. Streptozotocin memasuki sel melalui transporter glukosa (GLUT2) dan menyebabkan alkilasi DNA. Kerusakan DNA menginduksi aktivasi poli ADP-ribosilasi, suatu proses yang lebih penting untuk diabetogenisitas streptozotocin daripada kerusakan DNA itu sendiri. Poly ADP-ribosylation menyebabkan penipisan NAD⁺ dan ATP seluler. Peningkatan defosforilasi ATP setelah pengobatan streptozotocin memasok substrat untuk xantin oksidase yang menghasilkan pembentukan radikal superoksida. Akibatnya, hidrogen peroksida dan radikal hidroksil juga dihasilkan. Selanjutnya, streptozotocin membebaskan sejumlah oksida nitrat beracun yang menghambat aktivitas aconitase dan berpartisipasi dalam kerusakan DNA. Sebagai hasil dari aksi streptozotocin, sel mengalami penghancuran oleh nekrosis. Pola histologis menunjukkan insulitis parah. Imunohistokimia insulin menunjukkan ekspresi lemah atau negatif (Novrial, 2018).

Streptozotocin (STZ) merupakan zat yang mudah digunakan untuk menginduksi diabetes di model hewan pengerat dan mempelajari regenerasi pankreas di dalamnya. Kedua STZ dosis rendah ganda (30–50 mg / kg berat badan)

dan STZ dosis tinggi tunggal (100-200 mg / kg berat badan) telah digunakan untuk menginduksi diabetes. Dosis tinggi STZ menginduksi nekrosis dan beberapa penyebab dosis rendah apoptosis pada garis sel. Beberapa meniru STZ dosis rendah diabetes tipe I atau Diabetes Mellitus Tergantung Insulin (IDDM). Sel mengambil STZ melalui transporter glukosa GLUT2 dan STZ ini kemudian menyebabkan penghancuran sel melalui alkilasi DNA (Mishra et al., 2018).

Diabetes tipe I, meskipun hanya menyumbang 5-10% dari total kasus diabetes, merupakan kekhawatiran yang meningkat di dunia saat ini. Penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa tidak adanya WDR13 pada mencit menghasilkan hiper-proliferasi sel pankreas. Juga, perbaikan fenotipe diabetes pada introgresi mutasi *Wdr13-nol* (*Wdr13-/0*) pada mencit diabetes genetik (*Leprdb/db*) (diabetes tipe II) diamati. Dengan demikian, menarik untuk melihat peran WDR13 dalam mediasi streptozotocin diabetes pada mencit, model untuk diabetes tipe I. Mencit *Wdr13-/0* bersama dengan tipe liarnya (mencit *Wdr13+/0*) adalah diberikan streptozotocin secara intraperitoneal selama 5 hari berturut-turut. Kadar glukosa darah dan berat badan ini mencit dipantau selama 5 minggu berikutnya dan kemudian mereka dikorbankan untuk fisiologis dan histologis analisis. Hasil menunjukkan bahwa mencit *Wdr13-/0* menunjukkan kadar insulin serum yang lebih tinggi, pembersihan glukosa yang lebih baik dan jumlah sel yang berproliferasi secara signifikan lebih tinggi; mengulangi temuan bahwa tidak adanya WDR13 membantu dalam hiperproliferasi sel dan pemulihan dari diabetes; lebih lanjut menggarisbawahi WDR13 sebagai molekul target utama untuk pengobatan diabetes/perbaikan (Mishra et al., 2018).

Hewan uji mencit diinduksi diabetes dengan pemberian satu injeksi intraperitoneal dari larutan yang baru disiapkan streptozotocin (65 mg/kg, bb) dalam buffer sitrat 0,1 M (pH 4,5). Hewan diberi larutan glukosa 5% untuk mengatasi hipoglikemia yang diinduksi obat. Diabetes dikonfirmasi setelah 48 jam dan kemudian pada hari ke-7 injeksi streptozotocin, sampel darah dikumpulkan melalui pleksus vena retroorbital di bawah anestesi ringan dan kadar glukosa plasma diperkirakan dengan metode kit diagnostik GODPAP (glucose oxidase peroxidase) enzimatis. Hewan uji mencit yang memiliki kadar glukosa plasma puasa (FPG) lebih dari 200 mg/dL dipilih dan digunakan untuk penelitian ini (Kumar et al., 2014).

Mencit dipuasakan semalaman (15 jam), diabetes diinduksi oleh injeksi intraperitoneal 210 mg/kg nikotinamid dan setelah 15 menit dengan streptozotocin 55 mg/kg 0,9% saline. Mencit kontrol disuntik dengan 0,9% saline. Mencit yang kadar glukosa darahnya > 230 mg/dl setelah 48 jam pengobatan ini digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antihiperghlikemik ekstrak/fraksi *Periploca aphylla* (Rashid & Khan, 2021).

Dosis tunggal STZ (60 mg/kg, baru disiapkan dalam 0,1 mmol/L buffer sitrat dingin, pH 4,5) disuntikkan secara intraperitoneal (ip). Hewan yang memiliki kadar glukosa darah puasa lebih besar dari 300 mg/dL lima hari pasca pengobatan STZ didiagnosis sebagai diabetes dan digunakan untuk lebih lanjut percobaan (Sachan et al., 2020).

Diabetes eksperimental diinduksi setelah puasa semalam, dengan intraperitoneal tunggal injeksi 60 mg/kg STZ yang baru dilarutkan dalam air suling.

Diketahui bahwa injeksi intraperitoneal STZ menyebabkan kerusakan sel di pulau pankreas. Ini menghasilkan defisiensi insulin dan peningkatan kadar glukosa darah. Hewan kontrol menerima 0,9% saline steril. Hiperglikemia adalah dikonfirmasi empat hari setelah injeksi dengan mengukur kadar glukosa darah vena ekor dengan Accu-Check Glukometer Kenyamanan Sensor (Roche, Mexico City, Meksiko). Hanya hewan dengan glukosa darah puasa tingkat 250 mg / dL dimasukkan dalam penelitian ini. Tidak ada satu pun mencit yang ditolak di tempat penelitian ini (Miranda-Osorio et al., 2016).

Penelitian perbedaan regional dalam transportasi Ca^{2+} mendasari perbedaan miosit ventrikel pemendekan di dinding yang sehat dan yang diobati ventrikel kiri pada mencit Wistar jantan (250 g) diabetes yang diinduksi dengan injeksi STZ intraperitoneal tunggal (60 mg/kg berat badan) (Smaill et al., 2016).

G. Ekspresi mRNA Gen PGC 1- α

Peroxisome proliferator-activated receptor- γ coactivator 1 α (PGC-1 α) memainkan peran sentral dalam regulasi metabolisme mitokondria dan biogenesis melalui aktivasi faktor transkripsi, seperti NRF1 dan NRF2, dan faktor transkripsi mitokondria A (Tfam). Perubahan ekspresi dan fungsi PGC-1 α sebelumnya telah dijelaskan dalam model penyakit Huntington dan Alzheimer. Selain itu, efek perlindungan PGC-1 α telah ditunjukkan pada model hewan amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Tingkat PGC-1 α berkorelasi dengan jumlah kelompok reseptor asetilkolin di otot. Ekspresi mRNA dan protein dari faktor yang diatur PGC-1 α dan PGC-1 α di sumsum tulang belakang dan jaringan otot tikus ALS dan pada pasien

ALS. Perubahan signifikan dalam ekspresi mRNA dari PGC-1 α dan faktor hilir dengan kemunculan paling awal di jaringan otot (Jan, 2012).

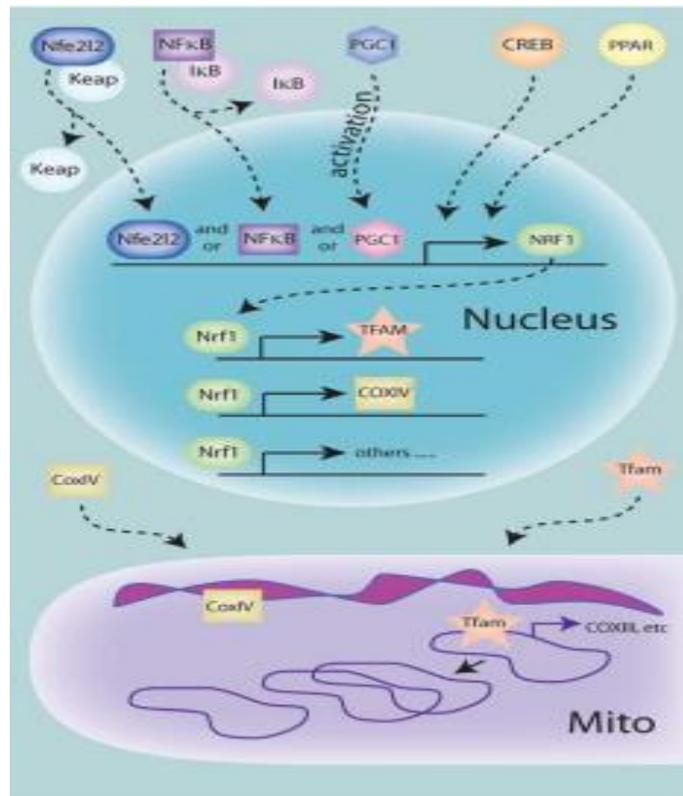
PGC 1- α sangat penting dalam fungsi mitokondria. Paparan timbal asetat (PbAc) menurunkan tingkat ekspresi PGC 1- α , meningkatkan tingkat intraseluler spesies oksigen reaktif (ROS), dan mengurangi tingkat ATP. PGC 1- α adalah faktor pelindung terhadap stres oksidatif yang diinduksi PbAc dan disfungsi metabolisme energi dalam sistem reproduksi tikus, sehingga memegang potensi untuk dikembangkan sebagai strategi pencegahan atau terapi terhadap gangguan yang disebabkan oleh paparan timbal (Liu et al., 2017).

Disfungsi mitokondria memainkan peran penting dalam patogenesis penyakit parkinson. PGC 1- α adalah faktor transkripsi yang kuat, berinteraksi dengan beberapa faktor transkripsi dan secara luas terlibat dalam regulasi biogenesis mitokondria, stres oksidatif, dan proses lainnya. Ekspresi berlebih dari PGC 1- α dapat meningkatkan potensial membran mitokondria, mengurangi pelepasan sitokrom C mitokondria, menghambat produksi H₂O₂, dan meningkatkan tingkat ATP dalam sel SH-SY5Y. Ekspresi berlebih dari PGC 1- α dapat menghambat kerusakan mitokondria yang diinduksi MPP⁺ pada sel SH-SY5Y, dan PGC 1- α dapat mewujudkan efek neuroprotektif melalui jalur ERR α , PPAR γ , dan NRF-1 (Ye et al., 2016).

Ekspresi PGC 1- α meningkatkan kadar gen yang terlibat dalam regulasi fungsi mitokondria dan biogenesis, dan meningkatkan kapasitas antioksidatif dan antiapoptosis. PGC 1- α yang rendah dapat menyebabkan disfungsi mitokondria dan mengganggu keseimbangan redoks seluler (Zhang et al., 2016).

Kadar cadmodulin-dependent protein kinase (Ca^{2+}), adenosine monophospat (AMP), nitri oxide (NO), dan rasio ATP/AMP intraseluler dimodulasi oleh aktivitas fisik, paparan suhu dingin, sitokin, dan stress mitokondria. Molekul pensinyalan tersebut akan mengaktifkan protein/enzim spesifik yang akan mengaktifasi berbagai jalur pensinyalan yang akan mempengaruhi *peroxisome proliferator-activated receptor γ* (PPAR γ) *coactivator 1- α* (PGC-1 α). Peningkatan ekspresi dan aktivitas PGC-1 α akan menstimulasi biogenesis mitokondria dengan mengaktifkan faktor transkripsi seperti nuclear respirasi faktor (NRF)-1, NRF-2, mitochondrial *transcription factor A* (mtTFA). Stres oksidatif menginduksi perubahan masa mitokondria dan jumlah kopi DNA mitokondria (X. Wang et al., 2014).

Induksi hulu Nrf-1 sebagian besar dikaitkan dengan aktivitas PGC1- α (reseptor yang diaktifkan proliferasi peroksisom) (PPAR)- γ koaktivator 1- α), faktor transkripsi nuklir yang sangat diatur oleh modifikasi pasca translasi termasuk, tetapi tidak terbatas pada, fosforilasi, asetilasi, dan sumoilasi. Baru-baru ini, beberapa transaktivator Nrf-1 lainnya telah diidentifikasi dalam sel nonneuronal, termasuk NF-kB, Creb, dan faktor terkait NFE2 Nfe2l2 (Gambar 5).



Gambar 5. Pensinyalan yang mengarah pada regulasi transkripsi biogenesis mitokondria. Berbagai jalur pensinyalan hulu dapat berkontribusi pada aktivasi program transkripsi yang diperlukan untuk biogenesis. Se jauh ini, PGC1- α (diaktifkan proliferasi peroksisom reseptor (PPAR)- γ koaktivator 1- α), faktor nuklir-kB (NF-kB), dan Nfe2l2 dapat mentranslokasi ke nukleus baik dengan disosiasi menambatkan protein atau modifikasi pascatranslasi, dan kemudian mampu mengikat ke wilayah promotor dan mempromosikan transkripsi faktor pernapasan nuklir 1 (NRF-1). Nrf-1 bisa mengikat dan mempromosikan transkripsi faktor transkripsi mitokondria A (TFAM) dan banyak protein mitokondria berkode nuklir lainnya, seperti subunit dari mesin transpor elektron. Protein ini kemudian diterjemahkan dan diimpor ke mitokondria. Tfam kemudian dapat mengikat dan memulai transkripsi genom mitokondria, yang mencakup mitokondria-encoded subunit dari mesin transpor elektron. Tfam, selain itu protein lain, juga bertindak dalam kontrol DNA mitokondria (mtDNA) nomor salinan, termasuk replikasi bila diperlukan (Anne Stetler et al., 2013).

Karena kompleksitasnya terlibat dalam regulasi (baik positif maupun negatif) nuklir faktor transkripsi dan aktivitas transaktivasinya, ini transaktivator dapat bekerja secara bersama-sama atau secara terpisah di bawah berbagai konteks. Dengan demikian, penilaian biogenesis mitokondria ditargetkan hanya pada tingkat ini menghasilkan interpretasi yang sangat terbatas. Namun, penilaian komposit sintesis target gen pada setiap langkah menghasilkan pandangan sekilas tentang kemungkinan induksi biogenesis. Jika tingkat biogenesis dapat dibedakan dari mitofag kompensasi atau sebaliknya, maka analisis sederhana produk gen konten adalah mungkin. Namun, keseimbangan antara biogenesis dan pembersihan mitokondria belum cukup mapan untuk membuat asumsi ini. Misalnya, jika biogenesis mitokondria terjadi, tetapi memicu induksi cepat proses mitofag untuk membersihkan komponen mitokondria yang lebih tua, lalu ekspresi total tingkat protein secara teoritis bisa tetap tidak berubah. Dengan demikian, beberapa peneliti telah mengusulkan untuk mengukur sintesis gen baru (atau lipid) produk menggunakan pelacak isotropik. Meskipun metode ini langsung menilai sintesis produk gen baru, itu juga terbatas dalam bahwa itu hanya dapat mengatasi lengan biogenesis mitokondria dinamis (Anne Stetler et al., 2013).

Stres oksidatif yang dimediasi mitokondria dalam respon terhadap glukosa tinggi diusulkan sebagai penyebab utama cedera neuron ganglia akar dorsal (DRG) dalam patogenesis neuropati diabetik. Dalam penelitian ini, kami melaporkan jumlah yang lebih besar dari mitokondria di kedua mielin dan akson akar dorsal yang tidak bermielin dalam model yang sudah mapan neuropati diabetes murine. Tidak ada perubahan serupa yang terlihat pada hewan diabetes yang lebih muda

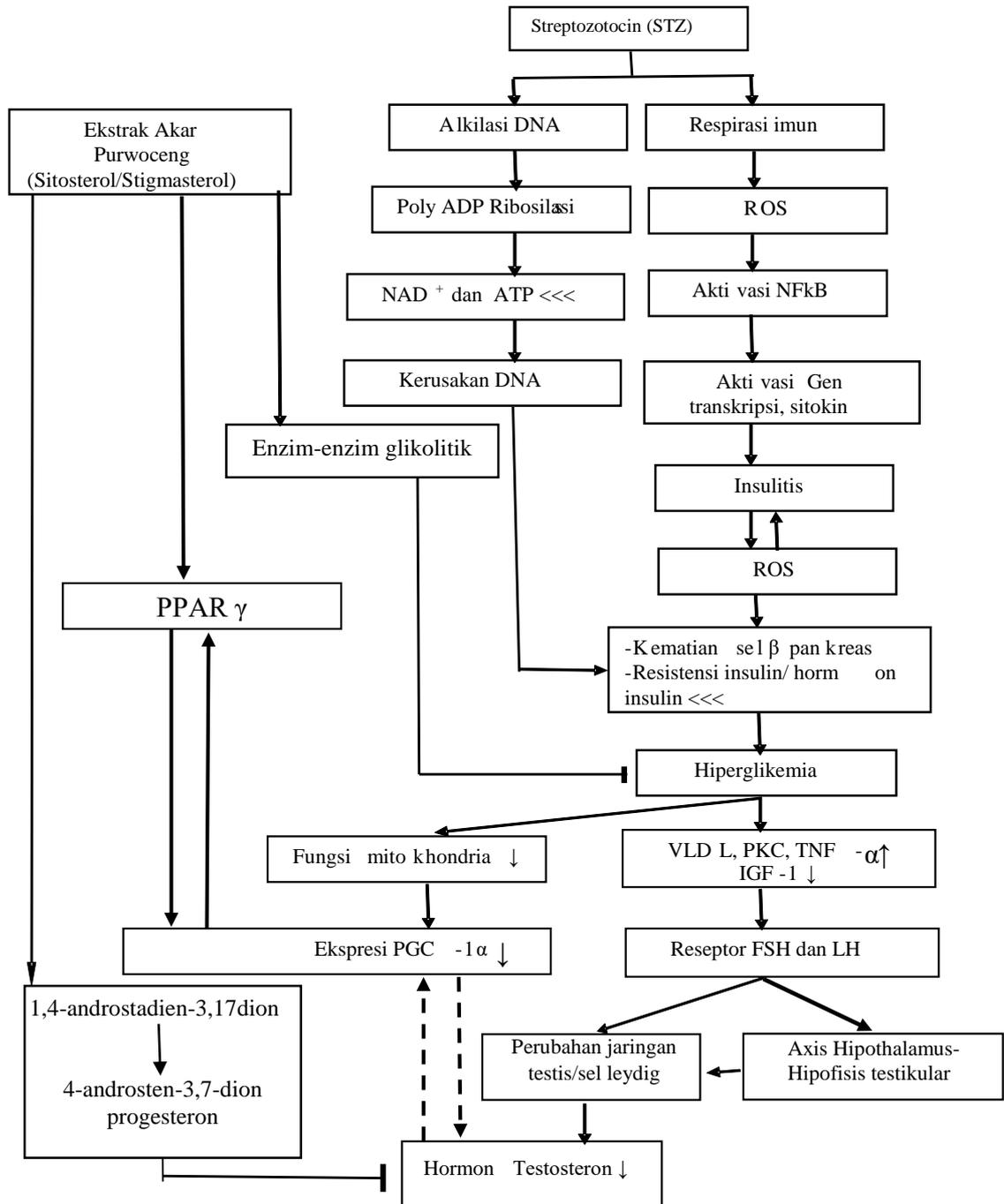
tanpa neuropati atau akar motorik ventral dari setiap hewan diabetes. Pemeriksaan biogenesis mitokondria dan fisi sebagai respons terhadap hiperglikemia pada neurit dari kultur neuron DRG. Kami mendemonstrasikan biogenesis mitokondria secara keseluruhan melalui peningkatan mitokondria faktor transkripsi dan peningkatan DNA mitokondria di kedua neuron DRG dan akson. Namun, proses ini terjadi selama periode waktu yang lebih lama daripada yang diamati dengan cepat peningkatan jumlah mitokondria dalam neurit DRG yang tampaknya menghasilkan, setidaknya sebagian, dari mitokondria pembelahan. Selama periode hiperglikemia akut, pembelahan mitokondria adalah respons yang menonjol, dan pembelahan mitokondria yang berlebihan dapat menyebabkan disregulasi produksi energi, aktivasi caspase 3, dan cedera neuron DRG berikutnya. Selama lebih lama hiperglikemia, ada bukti biogenesis mitokondria kompensasi di akson. Data menunjukkan bahwa ketidakseimbangan antara biogenesis dan fisi mitokondria mungkin memainkan peran dalam patogenesis neuropati diabetik (Vincent et al., 2010).

Stres oksidatif yang berkembang selama obesitas berkontribusi pada pembentukan peroksinitrit, yang menyebabkan kerusakan terkait sitokrom C di rantai transfer elektron dan meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS), yang berhubungan dengan perkembangan diabetes tipe 2. Stres oksidatif berkontribusi ke aktivitas nuklease matriks mitokondria, yang mengarah pada akumulasi fragmen yang dibelah dan peningkatan heteroplasm. Disfungsi mitokondria dan Variasi mtDNA selama resistensi insulin dapat dihubungkan dengan perubahan ATP tingkat, generasi ROS, pembelahan/fusi mitokondria dan

mitofag. Ulasan ini membahas peran utama mitokondria dalam pengembangan resistensi insulin, yang mengarah ke proses patologis pada jaringan yang bergantung pada insulin, dan mempertimbangkan potensi arah terapi berdasarkan modulasi biogenesis mitokondria. Di dalam hal, pengembangan obat yang ditujukan untuk pengaturan proses ini semakin meningkat perhatian. Perubahan nomor salinan mtDNA dapat membantu melindungi mitokondria dari kerusakan parah selama kondisi stres oksidatif meningkat. Mitokondria studi proteome dilakukan untuk mencari target terapi potensial. Penggunaan dari peptida mitokondria yang dikodekan oleh mtDNA juga mewakili pendekatan baru yang menjanjikan untuk terapi (Skuratovskaia et al., 2020).

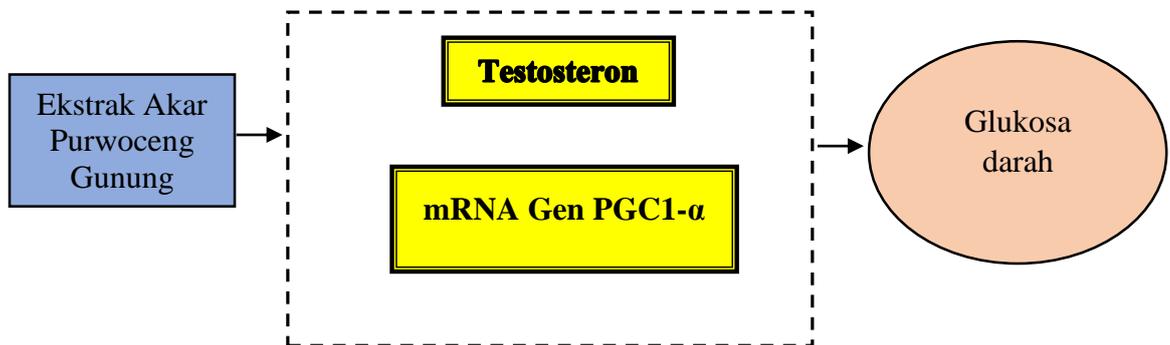
Biogenesis mitokondria adalah dasar proses untuk organisasi dan fungsi normal semua sel. Karena sebagian besar protein mitokondria adalah disintesis di sitosol, impor protein adalah yang utama mekanisme biogenesis mitokondria. Proses impor beberapa protein mitokondria ruang antar membran bergantung pada Impor Mitokondria dan Perakitan 40 dan Protein Esensial untuk respirasi dan pertumbuhan vegetatif 1 (Erv1) yang bersama-sama membentuk oksidatif ruang antar membran mitokondria. Proses baru melibatkan protein FADoksidase Erv1 (dengan Augmenter homolog manusia dari Regenerasi Hati) sebagai faktor anti-apoptosis pada sel mamalia (termasuk sel saraf) yang mengalami Apoptosis yang dipicu oleh Spesies Oksigen Reaktif. Peran yang berbeda dari protein ini sebagai faktor kunci dalam biogenesis mitokondria (Kallergi et al., 2014).

H. Kerangka Teori



Gambar 6. Bagan Kerangka Teori

I. Kerangka Konseptual



Gambar 7. Bagan Kerangka Konsep

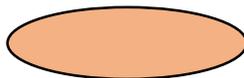
Keterangan:



= Variabel bebas



= Variabel antara



= Variabel tergantung

J. Hipotesis

Berdasarkan rumusan masalah dan tujuan penelitian, maka hipotesis yang dapat diajukan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung meningkatkan kadar testosteron pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia
2. Pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung meningkatkan ekspresi mRNA gen PGC 1- α pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia

3. Pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung menurunkan kadar glukosa pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia
4. Korelasi saling mempengaruhi antara kadar testosteron, ekspresi mRNA gen PGC 1- α dan kadar glukosa darah setelah pemberian ekstrak akar Purwoceng Gunung pada mencit Balb/c jantan hiperglikemia.

K. Definisi Operasional

1. Mencit Balb/c jantan dengan umur 12 minggu, berat badan 20 – 30gram dan sehat
2. Streptozotocin (STZ) diberikan secara intraperitoneal dengan dosis 50 mg/Kg berat badan selama 5 hari berturut-turut.
3. Ekstrak akar Purwoceng Gunung diperoleh melalui proses ekstraksi dengan metode maserasi. Ekstrak diberikan secara per oral dengan dosis berdasarkan konversi hasil kandungan stigmasterol pada ekstrak. Ekstrak disuspensikan dalam cmc-na 1%.
4. Kadar testosteron adalah hormon testosteron total di dalam sampel serum yang diambil pada malam hari yakni pukul 20.00 WITA dan kadarnya diukur menggunakan ELISA dengan satuan ng/mL
5. Ekspresi mRNA gen PGC 1- α diukur dengan menggunakan Teknik Real Time PCR dengan satuan *fold change* (fc)
6. Kadar glukosa diukur menggunakan alat glucometer dan hasilnya dinyatakan dalam satuan mg/dL.