

BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1 Diabetes Mellitus

2.1.1 Pengertian Diabetes Mellitus

Penyakit diabetes mellitus merupakan salah satu gangguan metabolik pada metabolisme karbohidrat, yakni kondisi glukosa yang kurang dimanfaatkan dan menyebabkan hiperglikemia (Balasubramanyam, 2006). Glukosa adalah unit satuan karbohidrat terkecil digunakan untuk membentuk energi.

Kusuma (2008), jika glukosa berlebihan dalam tubuh maka gula darah dapat diubah menjadi glikogen dalam bentuk cadangan di hepar, otot dan organ lainnya. Jika proses tersebut tidak berlangsung seimbang, maka kelebihan glukosa dalam tubuh akan menimbulkan penyakit yang dalam istilah medis dikenal dengan diabetes mellitus.

2.1.2 Gejala Diabetes Mellitus

Gejala klasik diabetes mellitus disebabkan oleh kelainan metabolisme glukosa. Kurangnya aktivitas insulin menyebabkan kegagalan pemindahan glukosa dari plasma ke dalam sel. Glukosa yang diserap ketika makan tidak dimetabolisme dengan kecepatan normal sehingga terkumpul di dalam darah (hiperglikemia) dan diekskresi ke dalam urin (glikosuria) sehingga menyebabkan diuresis osmotik dan berakibat peningkatan produksi urin (poliuria). Selain itu, kelainan metabolisme glukosa sebagai akibat kurangnya aktifitas insulin juga mengakibatkan kehilangan cairan dan merangsang pusat rasa haus (polidipsia) Misnadiarly (2006).

Misnadiarly (2006) menambahkan, selain gejala-gejala di atas kadang penderita DM mengalami gejala seperti kesemutan, kulit terasa panas, kram, mudah mengantuk, gatal-gatal, mata kabur, gigi mudah goyah, berat badan dan kemampuan seksual menurun.

2.1.3 Klasifikasi dan Kriteria Diabetes Mellitus

2.1.3.1 Klasifikasi Diabetes Mellitus

Balasubramanyam (2006) menyebutkan bahwa *Amerikan Diabetes Association* (ADA) mengklasifikasikan DM sebagai berikut:

1. Diabetes mellitus tipe 1 (IDDM)

Tipe ini disebabkan kerusakan sel beta pankreas sehingga tubuh kekurangan insulin atau tubuh sedikit menghasilkan insulin. Penyebab IDDM juga karena suatu gangguan autoimun, dimana sistem kekebalan tubuh melancarkan serangan pada sel-sel beta.

2. Diabetes mellitus tipe 2 (NIDDM)

Tipe ini disebabkan defisiensi insulin atau terjadi resistensi insulin karena reseptor insulin pada jaringan adiposa visceral berkurang atau strukturnya berubah sehingga tidak tanggap terhadap insulin.

3. Diabetes kehamilan

DM kehamilan yaitu diabetes yang diderita oleh wanita hamil. Penyakit ini umumnya terjadi pada trimester 3 dan akan kembali normal sesudah hamil.

2.1.3.2 Kriteria Diabetes Mellitus

Di dalam laporan Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus memodifikasi kriteria DM yang berasal dari National

Diabetes Data Group (NDDG) atau WHO menjadi sebagai berikut Balasubramanyam (2006):

1. Kadar glukosa darah sewaktu (tidak puasa) adalah $>$ atau $= 11,1 \text{ mmol/l}$ ($>$ atau $= 200 \text{ mg/dl}$),
2. Kadar glukosa darah pada saat puasa 8 jam adalah $>$ atau $= 126 \text{ mg/dl}$ ($>$ atau $= 7.0 \text{ mmol/l}$),
3. Kadar glukosa darah 2 jam setelah dilakukan tes toleransi glukosa adalah 75 gram $>$ atau $= 11,1 \text{ mmol/l}$ ($>$ atau $= 200 \text{ mg/dl}$).

2.1.3.3 Pengobatan Diabetes Mellitus

Ketika manusia itu diberi musibah seperti sakit hendaknya tidak boleh berputus asa, karena segala penyakit itu pasti ada obatnya. Manusia seharusnya berusaha dan berdoa agar penyakitnya dapat disembuhkan. Sebagaimana Firman Allah dalam surat asy-Syu'araa' (42):80,

وَإِذَا مَرَضْتُ فَبُهِتَ النَّاسُ
فَهُوَ يَشْفِينِ

“Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan”

Kata *wa idza maridhu* / *Dan apabila aku sakit*, terdapat kata *idza/apabila* mengandung makna besarnya kemungkinan bahkan kepastian terjadinya apa yang dibicarakan, dalam hal ini adalah sakit. Ini mengisyaratkan bahwa sakit fisik maupun non fisik merupakan salah satu keniscayaan hidup manusia. Namun demikian, dalam hal penyembuhan segala macam penyakit Allah SWT yang akan menyembuhkan, tetapi manusia juga harus berusaha dan berdoa agar penyakitnya dapat disembuhkan (Shihab, 2002).

Bentuk usaha manusia bermacam-macam untuk menyembuhkan penyakit yang dideritanya. Misalnya berobat ke dokter, minum ramuan herbal, dan mencoba berbagai macam alternatif. Berikut ini ada beberapa alternatif dalam penyembuhan penyakit DM.

a. Terapi Insulin

Menurut Ruslianti (2008), terapi insulin yang dianjurkan adalah saat pagi hari sebelum sarapan, dua jam setelah makan, dan malam hari sebelum tidur. Selain itu, diperlukan pula pengukuran pada saat tertentu, misalnya pengukuran yang lebih ketat jika terjadi hipoglikemi, saat sebelum olah raga, dan pada kehamilan. Pengobatan diabetes bisa dikatakan berhasil jika glukosa darah puasa adalah 80 sampai 109 mg/dl, kadar glukosa darah dua jam adalah 80 sampai 144 mg/dl, dan kadar HB A1c kurang dari tujuh persen. Pengukuran hemoglobin (Hb) terglukosilasi HBA1c (A1c) adalah cara yang paling akurat untuk menentukan tingkat ketinggian gula darah selama dua sampai tiga bulan terakhir.

b. Terapi Obat Hipoglikemik (OHO)

Obat-obat hipoglikemik oral terutama ditujukan untuk membantu penanganan pasien DM Tipe II. Berdasarkan cara kerjanya OHO dibagi menjadi 3 golongan yaitu (Basuki, 2004) :

- 1) Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan sulfonilureadan glinida (meglitinidatan turunan fenilalanin).
- 2) Sensitiser insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitifitas sel terhadap insulin), meliputi obat-obat hipoglikemik golongan biguanidatan tiazolidindion, yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara lebih efektif.

3) Inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain inhibitor α -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia post-prandial (post-meal hiperglycemia). Disebut juga “starch-blocker”.

c. Pola Hidup

Pola hidup yang harus sesuai dengan pemenuhan kebutuhan tubuh dapat dilakukan dengan makan yang seimbang antara yang dikonsumsi dan yang digunakan oleh tubuh, istirahat dan olahraga yang teratur. Makanan yang bergizi diperlukan oleh tubuh, seperti nasi, ikan, sayur dan buah segar. Mengonsumsi nasi kebutuhan karbohidrat akan terpenuhi, sedangkan ikan, sayur dan buah segar dapat bermanfaat untuk kebutuhan lemak, vitamin dan protein yang diperlukan oleh tubuh.

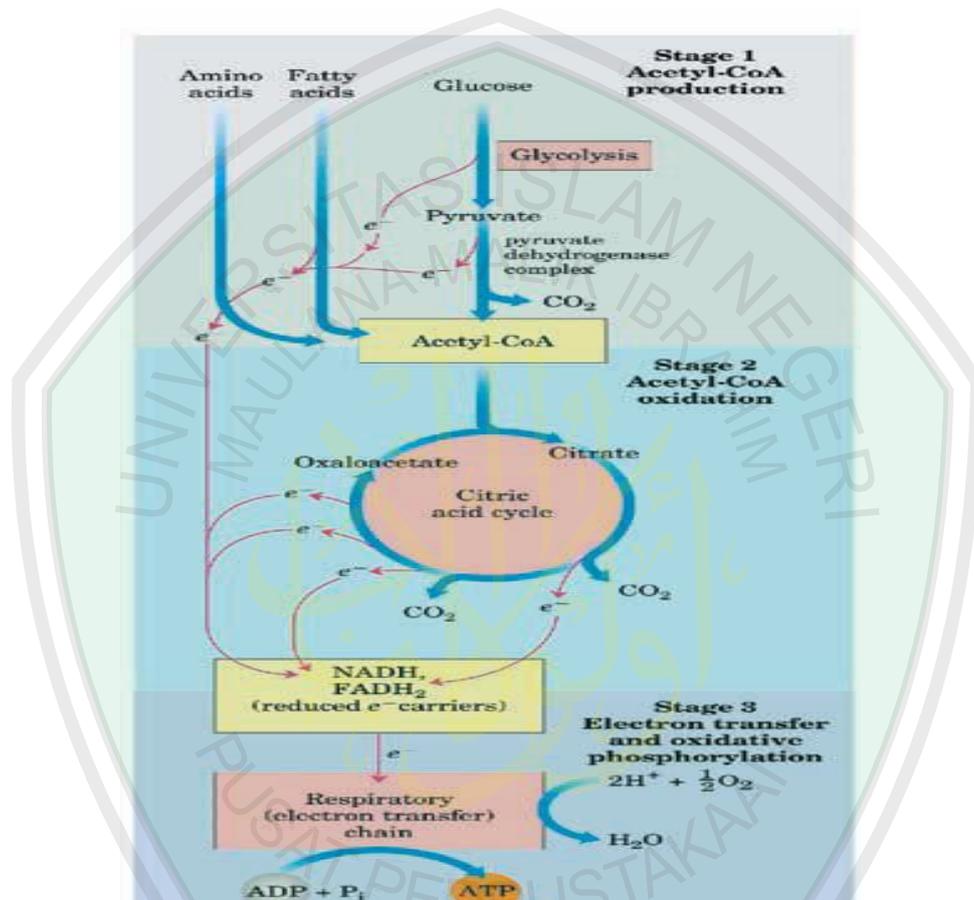
2.1.4 Metabolisme Glukosa

Karbohidrat glukosa merupakan karbohidrat terpenting dalam kaitannya dengan penyediaan energi di dalam tubuh. Hal ini disebabkan karena semua jenis karbohidrat baik monosakarida, disakarida maupun polisakarida yang dikonsumsi oleh manusia akan terkonversi menjadi glukosa di dalam hepar. Glukosa ini kemudian akan berperan sebagai salah satu molekul utama bagi pembentukan energi di dalam tubuh. Di bawah ini akan dijelaskan lebih lanjut mengenai tahap-tahap metabolisme glukosa sebagai berikut:

2.1.4.1 Glikolisis

Glikolisis merupakan suatu proses penguraian molekul glukosa yang memiliki 6 atom karbon dengan bantuan 10 reaksi enzimatik, untuk menghasilkan

dua molekul piruvat yang memiliki 3 atom karbon. Selama reaksi-reaksi glikolisis yang berurutan, banyak energi bebas yang diberikan oleh glukosa yang disimpan dalam bentuk ATP (Thenawijaya, 1982).



Gambar 2.1 Proses Metabolisme Glukosa (Irawan, 2007)

Pada proses Glikolisis yang terjadi di sitoplasma, 1 molekul glukosa yang memiliki 6 atom karbon pada rantainya ($C_6H_{12}O_6$) akan terpecah menjadi produk akhir berupa 2 molekul piruvat (*pyruvate*) yang memiliki 3 atom karbon ($C_3H_3O_3$). Proses ini berjalan melalui beberapa tahapan reaksi yang disertai dengan terbentuknya beberapa senyawa antara seperti *Glukosa 6-fosfat* dan *Fruktosa 6-fosfat* (Irawan, 2007).

Selain akan menghasilkan produk akhir berupa molekul piruvat, proses glikolisis ini juga akan menghasilkan molekul ATP serta molekul NADH (1 NADH3 ATP). Molekul ATP yang terbentuk ini kemudian akan diekstrak oleh sel-sel tubuh sebagai komponen dasar sumber energi. Melalui proses glikolisis ini 4 buah molekul ATP dan 2 buah molekul NADH (6 ATP) akan dihasilkan serta pada tahap awal prosesnya akan membutuhkan 2 buah molekul ATP sehingga total 8 buah ATP akan dapat terbentuk (Irawan, 2007).

2.1.4.2 Respirasi Seluler

Tahap metabolisme energi berikutnya akan berlangsung pada kondisi aerobik dengan menggunakan bantuan oksigen (O_2). Bila oksigen tidak tersedia maka molekul piruvat hasil proses glikolisis akan terkonversi menjadi asam laktat. Dalam kondisi aerobik, piruvat hasil proses glikolisis akan teroksidasi menjadi produk akhir berupa H_2O dan CO_2 di dalam tahapan proses yang dinamakan respirasi selular (*Cellular respiration*). Proses respirasi selular yang terjadi di mitokondria ini terbagi menjadi 3 tahap utama yaitu produksi *Acetyl-CoA*, proses oksidasi *Acetyl-CoA* dalam siklus asam sitrat (*Citric-Acid Cycle*) serta Rantai Transpor Elektron (*Electron Transfer Chain/Oxidative Phosphorylation*). Tahap kedua dari proses respirasi selular yaitu Siklus Asam Sitrat merupakan pusat bagi seluruh aktivitas metabolisme tubuh. Siklus ini tidak hanya digunakan untuk memproses karbohidrat namun juga digunakan untuk memproses molekul lain seperti protein dan juga lemak (Irawan, 2007).

Proses konversi molekul FADH dan NADH yang dihasilkan dalam siklus asam sitrat (*citric acid cycle*) 2 menjadi energi dikenal sebagai proses fosforilasi

oksidatif (*oxidative phosphorylation*) atau juga Rantai Transpor Elektron (*electron transport chain*). Di dalam proses ini, elektron-elektron yang terkandung didalam molekul NADH dan FADH₂ ini akan dipindahkan ke dalam aseptor utama yaitu oksigen (O₂). Pada akhir tahapan proses ini, elektron yang terdapat di dalam molekul NADH akan mampu untuk menghasilkan 3 buah molekul ATP sedangkan elektron yang terdapat dalam molekul FADH akan menghasilkan 2 buah molekul ATP (Irawan, 2007).

2.1.5 Patofisiologi Diabetes Mellitus

2.1.5.1 Pengaturan Glukosa oleh Insulin

Penyakit diabetes mellitus berhubungan erat dengan glukosa dan insulin. Pankreas yang disebut kelenjar ludah perut, adalah kelenjar penghasil insulin yang terletak di belakang lambung. Di dalamnya terdapat kumpulan sel yang berbentuk seperti pulau pada peta, karena itu disebut pulau-pulau Langerhans yang berisi sel beta yang mengeluarkan hormon insulin yang sangat berperan dalam mengatur kadar glukosa darah.

Dalam kondisi tubuh normal, glukosa ditimbun sebagai glikogen apabila ada kelebihan glukosa dan glikogen dipecah kembali menjadi glukosa bila diperlukan. Mekanisme sintesis glikogen (glikogenesis) atau sebaliknya katabolisme glikogen (glikogenolisis) melibatkan serangkaian fungsi enzim. Selain itu juga melibatkan hormon yang dihasilkan oleh pankreas, yaitu hormon insulin dan glukagon (Mayes, 2003).

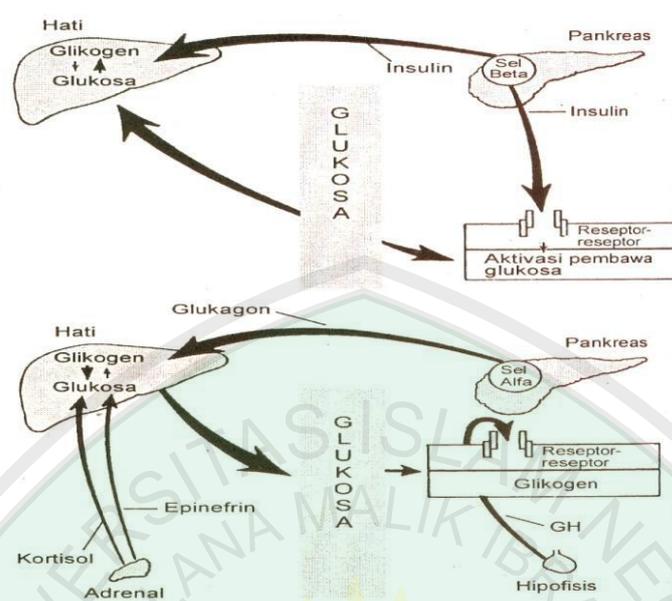
Campbell (2004) menyatakan, baik insulin dan glukagon mempengaruhi glukosa darah melalui berbagai mekanisme. Beberapa mekanisme tersebut adalah

- 1) Insulin menurunkan kadar glukosa dengan cara merangsang sel tubuh (kecuali

sel-sel otak) untuk mengambil glukosa dari darah, 2) memperlambat perombakan glikogen dalam hepar dan 3) menghambat perubahan asam amino dan asam lemak menjadi gula.

Proses penurunan glukosa darah oleh insulin yaitu memperlambat perombakan glikogen dengan cara menghambat *fosforilase* di hepar yang merupakan enzim utama yang berperan dalam memecah glikogen dalam hepar menjadi glukosa. Dengan demikian menurunlah pengeluaran glukosa oleh hepar (Guyton, 1997).

Peran insulin selanjutnya menurunkan pengeluaran glukosa oleh hepar dengan menghambat *glukoneogenesis*, yaitu perubahan asam amino menjadi glukosa di hepar. Insulin melakukan ini dengan dua cara yaitu, dengan menurunkan jumlah asam amino di dalam darah yang tersedia bagi hepar untuk *glukoneogenesis*, dan dengan menghambat enzim-enzim hepar yang diperlukan untuk mengubah asam amino menjadi glukosa (Sherwood, 2001). Beberapa mekanisme kerja insulin maupun glukagon dalam mengatur glukosa darah melibatkan dua organ utama yaitu pankreas dan hepar.



Gambar 2.2 Skema pengaturan glukosa darah. *GH*, *Growth hormon*
(dikutip dari Buku Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit Edisi
6. Jakarta : EGC)

Pada gambar 2.2, merupakan skema pengaturan glukosa baik di hepar maupun di pankreas. Proses dari keduanya diharapkan mampu memberikan keseimbangan pengaturan glukosa, sehingga tidak terjadi hiperglikemia. Peran insulin mempermudah masuknya glukosa ke dalam sebagian besar sel.

Ketika terjadi peningkatan glukosa darah di atas titik normal maka akan merangsang pankreas untuk mensekresikan insulin yang dihasilkan oleh sel beta pulau langerhans, sehingga memicu sel-sel hepar untuk segera mengambil kelebihan glukosa darah. Sel-sel hepar akan mengambil glukosa darah yang berlebihan jika insulin berikatan dengan reseptor (Campbell, 2004).

Insulin akan berikatan dengan reseptor, sebagai akibatnya kanal akan membuka sehingga dilewati oleh glukosa darah. Setelah glukosa darah masuk, terjadi fosforilasi awal yang menggunakan bantuan *enzim glukokinase*, dimana

glukosa akan terjerat sementara di dalam sel-sel hepar sehingga tidak dapat berdifusi kembali melewati membran sel. Setelah itu terjadi peningkatan aktivitas enzim-enzim sintesis glikogen, termasuk enzim *glikogen sintase*, yang bertanggung jawab untuk polimerisasi dari unit-unit monosakarida untuk membentuk molekul-molekul glikogen, sehingga glukosa darah akan normal kembali (Sherwood, 2001).

Apabila terjadi penurunan glukosa darah di bawah titik normal, maka pankreas akan merespons dengan cara mengeluarkan glukagon yang dihasilkan oleh sel alfa pulau langerhans. Glukagon akan mempengaruhi hepar untuk menaikkan glukosa darah dengan merombak glikogen menjadi glukosa dan dilepaskan kembali ke dalam aliran darah. Ketika kadar glukosa darah naik hingga titik normal stimulus untuk pelepasan glukagon berkurang.

Hormon yang diklasifikasikan sebagai hormon yang mampu meningkatkan glukosa darah adalah glukagon, epinefrin, glikokortikoid, dan *growth hormone*. Keempat hormon ini membentuk suatu mekanisme *counter-regulator* yang mencegah timbulnya hipoglikemia akibat pengaruh insulin. Glukagon adalah hormon polipeptida yang dihasilkan oleh sel α pankreas. Glukagon penting karena ikut melibatkan diri dalam mobilisasi glukosa dari hepar dan asam lemak dari jaringan adipose. Glukagon disekresikan jika tubuh hewan dalam keadaan hipoglikemia dan stres. Epinefrin disekresikan oleh medula adrenal dan jaringan kromatin (Muraay *et al.*, 2003; Shahib, 1984).

Glikogen dalam hepar dan otot dimetabolisme menjadi glukosa kembali melalui proses glikolisis dan trigliserida dimetabolisme menjadi asam lemak dan

gliserol (lipolisis) untuk diubah menjadi glukosa melalui proses glukoneogenesis. Hal ini terjadi ketika tingkat glukosa darah menurun, atau ketika jumlah glukosa yang masuk ke dalam sel tidak mencukupi dan cadangan glikogen terpakai habis (Ciappesoni, 2002).

Suharmiati (2006) menambahkan, pengaturan kadar glukosa yang stabil dalam darah adalah mekanisme homeostatik yang merupakan kesatuan proses ikut berperannya hepar, jaringan ekstra hepatic dan beberapa hormon. Pada kondisi kadar glukosa darah normal (80-100 mg/dL), hepar ternyata merupakan satu-satunya penghasil glukosa. Pada keadaan pasca absorpsi, kadar glukosa darah pada manusia bervariasi antara 80-100 mg/dL, sedangkan pada kondisi puasa, kadarnya menurun menjadi sekitar 60-70 mg/dL.

2.1.6 Hubungan Diabetes Mellitus dengan Radikal Bebas

Radikal Bebas Menurut Soematmaji (1998), yang dimaksud radikal bebas (*free radical*) adalah suatu senyawa atau molekul yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya. Adanya elektron yang tidak berpasangan menyebabkan senyawa tersebut sangat reaktif mencari pasangan, dengan cara menyerang dan mengikat elektron molekul yang berada di sekitarnya.

Sasaran utama reaksi radikal bebas di dalam sel adalah ikatan-ikatan rangkap dari lipida yang terdapat di dalam membran sel. Akibatnya fluiditas membran akan berkurang dan sederetan reseptor selular akan berkurang. Serangan radikal bebas juga dapat menimbulkan penumpukan kalsium dan lipofusin. Radikal bebas dapat pula menjadikan enzim dan protein thiol (-SH) tidak aktif

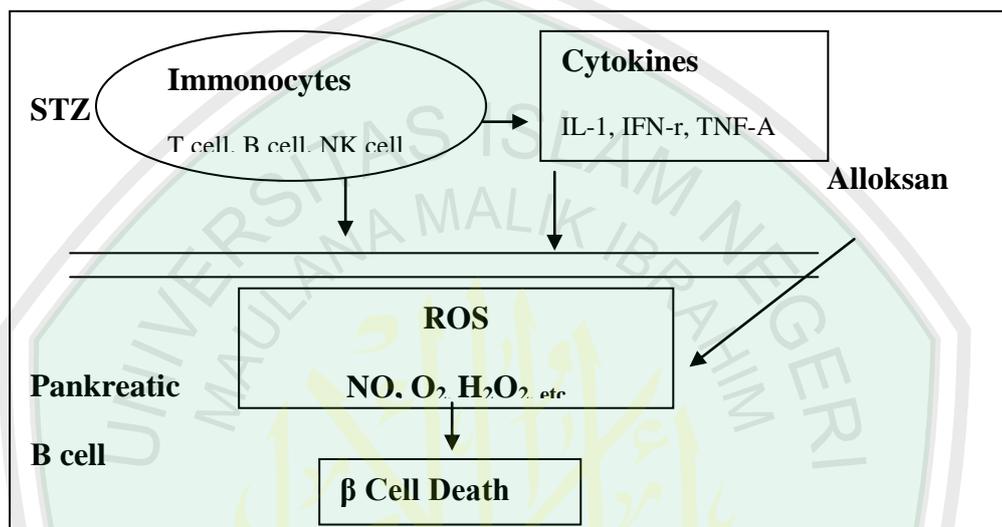
dengan cara pembentukan ikatan silang, maupun denaturasi. Akibatnya sintesis dan degradasi protein terganggu. Jika radikal bebas menyerang asam-asam nukleat, akan menimbulkan gangguan terhadap molekul DNA yang berakibat terbentuknya mutasi basa-basa nitrogen serta berakhir dengan pembentukan karsinogenesis (Harliansyah, 2005).

Apabila jumlah radikal bebas terus bertambah sedangkan antioksidan endogen jumlahnya tetap, maka kelebihan radikal bebas tidak dapat dinetralkan. Akibatnya radikal bebas akan bereaksi dengan komponen-komponen sel dan menimbulkan kerusakan sel (Arnelia 2002). Dampak reaktifitas senyawa radikal bebas bermacam-macam, mulai dari kerusakan sel atau jaringan, penyakit autoimun, penyakit degeneratif seperti kanker, aterosklerosis, penyakit jantung koroner (PJK), dan diabetes mellitus. Sauriasari (2006) menambahkan, keadaan stress oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas membawa pada kerusakan oksidatif mulai tingkat sel, jaringan hingga ke organ tubuh, menyebabkan terjadinya proses penuaan dan munculnya penyakit.

Diabetes mellitus dapat menyebabkan stress oksidatif sehingga radikal bebas dalam tubuh meningkat. Radikal bebas dapat merusak berbagai jaringan tubuh seperti sel hepar. Keadaan hiperglikemia pada DM memicu terjadinya autooksidasi glukosa, yang menghasilkan *reactive oxygen spesies* (ROS) (Fiqriyana, 2010).

DM tipe satu disebabkan oleh rusaknya sel β pankreas dikarenakan mekanisme autoimun. Di mana peristiwa autoimun menghasilkan radikal bebas yang kemudian menyerang sel beta pankreas. Hal tersebut dapat diketahui dari

penelitian dengan menggunakan hewan coba, yaitu dengan memberikan agen penghasil ROS, seperti streptozotosin dan aloksan. Di mana produksi radikal bebas tersebut tidak diimbangi dengan produksi antioksidan, sehingga sel beta pankreas mengalami kematian (Packer, 2000).



Gambar 2.3 Mekanisme pengrusakan sel β pankreas yang dikarenakan oksidatif stres dalam proses autoimun (Packer, 2000)

2.1.6.1 Tinjauan Umum tentang Radikal Bebas

Saurisari (2006), sebenarnya radikal bebas penting bagi kesehatan dan fungsi tubuh yang normal dalam memerangi peradangan, membunuh bakteri, dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah serta organ-organ dalam tubuh. Namun, bila dihasilkan melebihi batas kemampuan proteksi antioksidan seluler maka dia akan menyerang sel itu sendiri, sehingga struktur dan fungsi sel berubah yang menyebabkan munculnya berbagai penyakit.

Oleh karena itu, radikal bebas dalam tubuh harus seimbang sehingga diperlukan antioksidan untuk memerangi radikal bebas yang berlebihan. Sumber radikal bebas bisa berasal dari dalam dan luar tubuh manusia.

Secara umum sumber radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua, yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen dapat terbentuk melalui autoksidasi, oksidasi enzimatik, fagositosis dalam respirasi, transfer elektron di mitokondria dan oksidasi ion-ion logam transisi. Sedangkan radikal bebas eksogen berasal dari luar sistem tubuh, misalnya sinar UV. Di samping itu, radikal bebas eksogen dapat berasal dari aktifitas lingkungan. Menurut Supari (1996), aktifitas lingkungan yang dapat memunculkan radikal bebas antara lain radiasi, polusi, asap rokok, makanan, minuman, ozon dan pestisida.

Tipe radikal bebas turunan oksigen reaktif sangat signifikan dalam tubuh. Oksigen reaktif ini mencakup superoksida (O_2^-), hidroksil ($\cdot OH$), peroksil ($ROO\cdot$), hidrogen peroksida (H_2O_2), singlet oksigen (O_2), oksida nitrit ($NO\cdot$), peroksinitrit ($ONOO\cdot$) dan asam hipoklorit ($HOCl$) (Eslami, 2010).

Halliwell dan Gutteridge (1994) menambahkan radikal bebas terdiri dari berbagai jenis yaitu:

- 1) Senyawa radikal oksigen (*Oxygen-centered*, $R-O^*$)
- 2) Senyawa karbon (*Carbon-centered*, *carbonyl*, $R-C=C-C^*-R$)
- 3) Senyawa radikal sulfur (*Sulphur-centered*, *thiyl*, $R-S^*$)

Apabila sumber-sumber radikal bebas semakin bertambah di dalam tubuh, maka diperlukan penangkal yaitu antioksidan. Di mana peran antioksidan yaitu untuk mengurangi atau membersihkan radikal bebas yang berbahaya bagi tubuh.

Antioksidan dalam pengertian kimia adalah senyawa yang dapat menyumbangkan elektron atau pemberi elektron, sedangkan dalam ilmu biologi

merupakan semua senyawa yang dapat meredam dan atau menonaktifkan serangan radikal bebas dan ROS (*Reactive Oxygen Species*) yaitu hasil dari reaksi kimia dan proses metabolik yang terjadi di dalam tubuh (Suryohudoyo, 1993). Berbagai bukti ilmiah menunjukkan bahwa senyawa antioksidan mengurangi risiko terhadap penyakit kronis, seperti kanker dan penyakit jantung koroner (Amrun *et al.* 2007).

Ada berbagai mekanisme antioksidan dalam menangkal adanya radikal bebas di dalam tubuh. Mekanisme tersebut memerlukan enzim-enzim sehingga antioksidan mampu berperan dengan baik.

Secara garis besar, mekanisme penangkapan radikal bebas dapat dibedakan menjadi dua macam, yaitu secara enzimatik dan non-enzimatik. Enzim yang dapat berperan sebagai antioksidan adalah superoksida dismutase, katalase, glutathion peroksidase, dan glutathion reduktase (Winarsi, 2007).

Secara non-enzimatik, senyawa antioksidan bekerja melalui empat cara, yaitu sebagai berikut (Winarsi, 2007):

- a. penangkap radikal bebas, misalnya vitamin C dan vitamin E,
- b. pengkelat logam transisi, misalnya EDTA,
- c. inhibitor enzim oksidatif, misalnya aspirin dan ibuprofen, dan
- d. kofaktor enzim antioksidan, misalnya selenium sebagai kofaktor.

2.1.7 Aloksan sebagai Bahan Diabetogenik

Aloksan ($C_4H_2N_2O_4$) adalah suatu substrat yang secara struktural adalah derivat pirimidin sederhana. Nama aloksan diperoleh dari penggabungan kata allantoin dan oksalurea (asam oksalurik), (IUPAC) 2,4,5,6-tetraoxypyrimidin;

2,4,5,6-primidinetetron; 1,3-Diazinan-2,4,5,6-tetron dan asam Mesoxalylurea 5-oxobarbiturat.4,15. Aloksan murni diperoleh dari oksidasi asam urat oleh asam nitrat yang merupakan senyawa kimia tidak stabil juga senyawa hidrofilik dengan waktu paruh aloksan pada pH 7,4 dan suhu 37o C adalah 1,5 menit (Watkins, 2008., Lenzen, 2008).

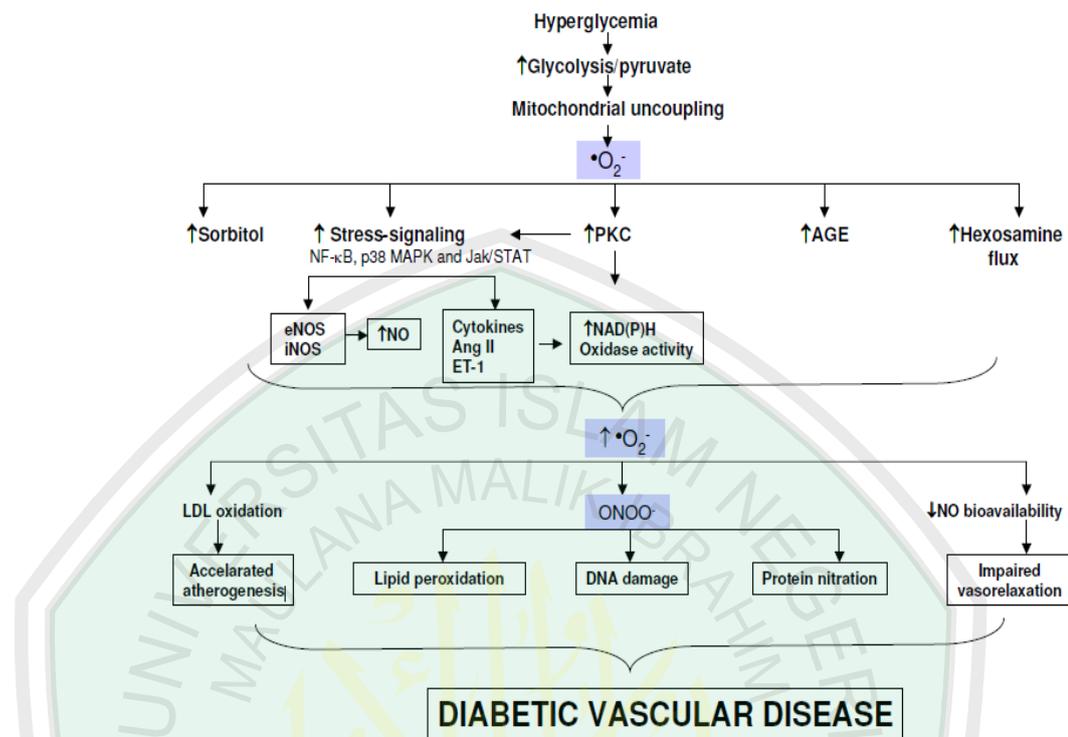
2.1.7.1 Pengaruh Aloksan terhadap Meningkatnya Glukosa Darah

Aloksan merupakan bahan kimia yang digunakan untuk menginduksi diabetes pada hewan coba. Pemberian aloksan adalah cara yang cepat untuk menghasilkan kondisi diabetik eksperimental (hiperglikemik) pada hewan coba (Suharmiati, 2003). Aloksan dapat diberikan secara intravena, intraperitoneal, atau subkutan pada hewan coba (Szkudelski, 2008). Aloksan dapat menyebabkan DM tergantung insulin hewan coba tersebut dengan karakteristik mirip dengan DM tipe 1 pada manusia. Zat ini bersifat toksik selektif terhadap sel beta pankreas yang memproduksi insulin karena terakumulasinya aloksan secara khusus melalui transporter glukosa yaitu GLUT2 (Watkins, 2008).

Efek aloksan terutama menyebabkan kerusakan sel beta pankreas melalui mekanisme oksidatif intraseluler, sehingga senyawa ini termasuk agen oksidan kuat yang menyebabkan kerusakan sel (Borg *et al.*, 1979). Penelitian terhadap mekanisme kerja aloksan secara invitro menunjukkan bahwa aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Keluarnya ion kalsium dari mitokondria mengakibatkan homeostasis yang merupakan awal dari matinya sel (Suharmiati, 2003).

Struktur senyawa ini mirip glukosa sehingga terjadi kompetisi selektif *uptake* senyawa oleh sel beta pankreas dengan perantara GLUT2 (Elsner M *et al.*,2006). Setelah itu, aloksan dan produknya yaitu asam dialurik membentuk senyawa radikal bebas superoksida (O_2^-), hidrogen peroksida (H_2O_2), dan hidroksil (OH^-). Aksi "*reactive oxygen species*"(ROS) yang disertai dengan pemasukan kalsium ke dalam sel yang menyebabkan kerusakan sel beta pankreas dengan cepat (Szkudelski, 2001). Akibatnya terjadi hiperglikemia dan ketoasidosis.

Mekanisme lain yang dapat menyebabkan terjadinya diabetes adalah menurut (Lenzen, 2007) aloksan memiliki bentuk molekul yang mirip dengan glukosa (glukomimetik). Sehingga pada saat aloksan diinduksikan ke tubuh tikus, maka glukosa transpoter GLUT 2 yang ada di dalam sel beta pankreas akan mengenali aloksan sebagai glukosa, dan aloksan akan dibawa menuju sitosol. Di dalam sitosol, aloksan akan mengalami reaksi redoks yang menghasilkan *Reactive Oxygen Species* (ROS). Terbentuknya ROS akan menyebabkan depolarisasi membran sel beta dan peningkatan Ca^{2+} , sehingga sitosol akan mengaktivasi berbagai enzim yang menyebabkan peroksidasi lipid, fragmentasi DNA, dan fragmentasi protein. Akibatnya sel beta pankreas menjadi nekrosis, sehingga fungsinya untuk sintesis dan sekresi insulin menurun.



Gambar 2.4 Mekanisme kerja spesies reaktif akibat diabetes (Johansen, 2005)

Penyakit vaskular yang terjadi akibat diabetes seperti gambar nomor 2.4, yaitu pada proses respirasi mitokondria merupakan salah satu sumber regenerasi spesies reaktif yang memicu sinyal stres, sorbitol, PKC, AGE, dan Hexosamine. Dimana nantinya akan berpengaruh terhadap kerusakan DNA, nitration protein, peroksidasi lipid dan kelainan vaskular yang lainnya yang diakibatkan oleh diabetes mellitus (Johansen, 2005).

$\bullet\text{O}_2^-$ akan mengaktifkan beberapa jalur pada diabetes termasuk pembentukan percepatan produk akhir glikasi (AGE), jalur poliol, jalur heksominase dan PKC, yang semua jalur tersebut telah terbukti terlibat dalam komplikasi penyakit makro atau mikrovaskuler. Selanjutnya $\bullet\text{O}_2^-$ dan H_2O_2 merangsang stres yang berhubungan dengan mekanisme sinyal seperti NF- κB , p38-MAPK dan STAT-JAK sehingga VSM berpindah dan berproliferasi. Di

dalam sel endotel H_2O_2 mengakibatkan sel mengalami apoptosis dan patologi angiogenesis (Taniyama, 2003).

Kemudian $\bullet O_2^-$ akan segera bereaksi dengan $\bullet NO$ menghasilkan sitotoksik ONOO⁻ dan reaksi ini menghasilkan beberapa dampak yang tidak baik. Pertama, ONOO⁻ sebagai fungsi biomolekul dengan nitrosasi protein dapat mengakibatkan peroksidasi lipid. Sebagai contoh, saluran kalium yang mengatur respon vasorelaksasi dihambat oleh nitrosasi. Seperti ditinjau oleh (Turko *et al*), peningkatan kadar nitrotirosin berhubungan dengan apoptosis miosit, sel endotel dan fibroblas pada diabetes. Kedua, ONOO⁻ mengakibatkan kerusakan untai tunggal DNA yang mengaktifkan enzim nuklir poli (ADP-ribose) polymerase (PARP). Ketiga, berkurangnya bioavailabilitas $\bullet NO$ menyebabkan gangguan relaksasi dan penghambatan antiproliferasi. Selanjutnya ONOO⁻ mengoksidasi tetrahidrobiopterin (BH₄), yaitu kofaktor penting untuk NOS dan menyebabkan uncoupling NOS, yang menghasilkan $\bullet O_2^-$ bukan dari $\bullet NO$. Peroksidasi lipid diinduksi oleh ROS mengubah struktur membran dan fluiditas membran yang akhirnya mempengaruhi fungsi. Semua perubahan patologi berkontribusi terhadap patologi disfungsi vaskular.

Pada penderita DM, salah satu sasaran dari ROS adalah DNA pulau pankreas, dimana fragmentasi terjadi di sel beta yang terinduksi oleh aloksan (Takasu *et al.* 1991, Sakurai and Ogiso 1995). Kerusakan DNA merangsang ADP-ribosilase, suatu proses yang berperan dalam memperbaiki kerusakan DNA. Beberapa penghambat poliADP-ribosilase dapat membatasi toksisitas aloksan. Pengaruh ini, bagaimanapun diharapkan mampu untuk membatasi radikal bebas di

poliADP-ribosilase yang terinduksi aloksan (Sandler and Swenne, 1983, LeDoux *et al.* 1988). Superoksida dismutase, katalase dan non enzimatis dapat menangkalkan radikal hidroksil dan juga melindungi toksisitas dari aloksan (Grankvist *et al.* 1979, Grankvist 1981, Jörns *et al.* 1999, Ebel *et al.* 2000).

Apabila aloksan sudah dapat merusak sel-sel beta pankreas, selanjutnya maka akan memberikan pengaruh terhadap pengeluaran insulin. Ketika insulin hanya sedikit yang disekresikan dapat mengakibatkan terjadinya hiperglikemia yang dapat berakibat pada penyakit vaskular.

2.2 Superoksida Dismutase (SOD)

2.2.1 Pengertian Superoksida Dismutase SOD

Antioksidan endogen utama pada sel-sel tubuh adalah enzim superoksida dismutase (SOD). Enzim SOD merupakan enzim antioksidan endogen yang mempunyai peranan penting secara langsung melindungi sel dari gangguan radikal bebas, dan secara tidak langsung memelihara keseimbangan oksigen yang bersifat toksik (Wresdiyati *et al.*, 2002). Pengukuran kandungan enzim antioksidan SOD merupakan cara untuk mengetahui kondisi pertahanan sel terhadap radikal bebas. Aktivitas SOD bervariasi pada beberapa organ. Aktivitas SOD tertinggi terdapat pada hepar, diikuti kelenjar adrenal, ginjal, darah, limpa, pankreas, otak, paru-paru, usus, ovarium, dan timus (Halliwell & Gutteridge 1999).

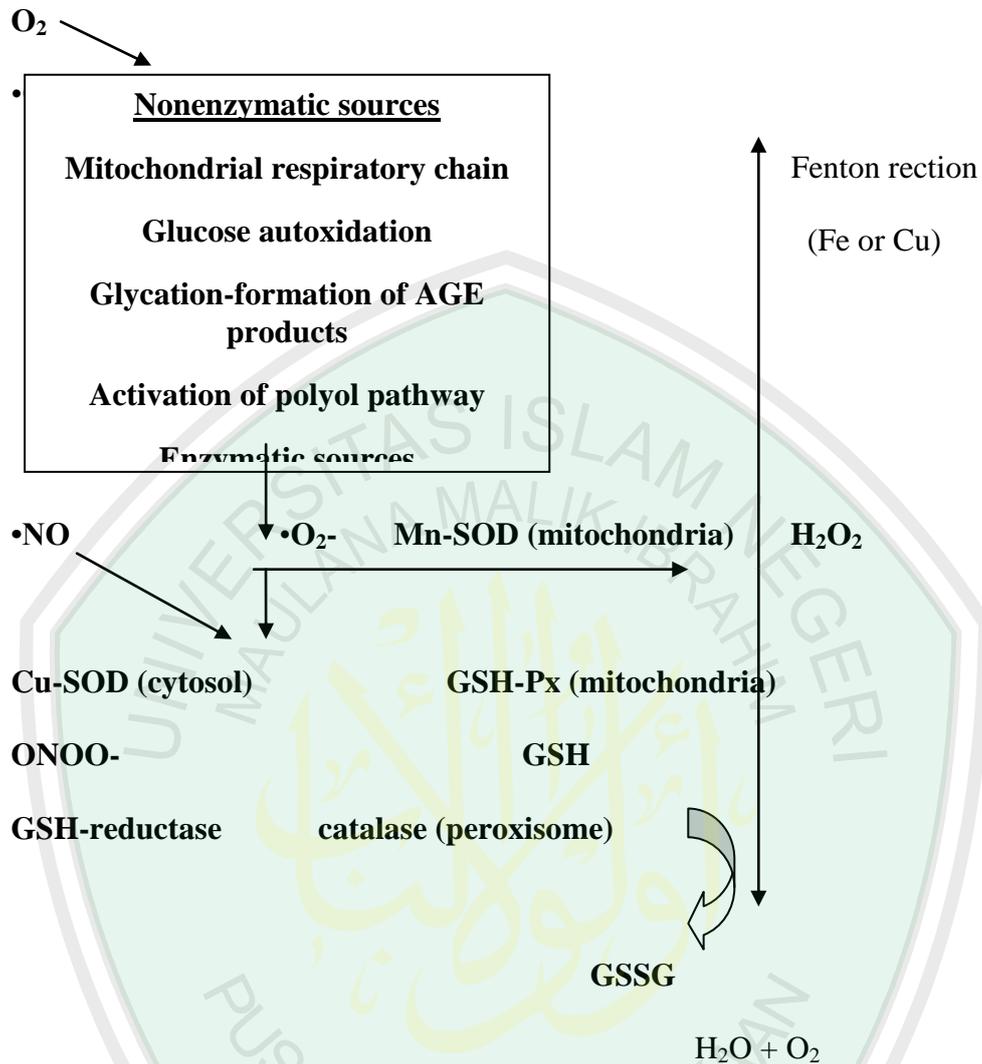
Superoksida dismutase (SOD) adalah antioksidan yang bekerja dengan cara membersihkan radikal bebas atau spesies oksigen reaktif (ROS) dengan reaksi enzimatik dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. SOD mengkatalisis reaksi dismutase radikal bebas anion superoksida (O_2^-) menjadi

hidrogen peroksida dan molekul oksigen sehingga tidak berbahaya bagi sel (Halliwell 2006). Jika SOD dalam tubuh normal atau meningkat, maka radikal bebas dalam tubuh dapat dikendalikan. Namun, jika SOD menurun mengakibatkan meningkatnya produksi radikal bebas di dalam tubuh sehingga menurunkan enzim-enzim antioksidan intrasel dan menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan sel dapat berakhir pada kematian sel sehingga terjadi percepatan timbulnya berbagai penyakit degeneratif.

SOD mengkatalis dismutasi radikal anion superoksida menjadi hidrogen peroksida



Aktivitas SOD dihambat oleh H_2O_2 maka dalam kerjanya SOD sangat membutuhkan katalase (Rice-Evan et al. 1991). Mekanisme dari SOD untuk mengkatalis oksigen reaktif.



Gambar 2.5 Mekanisme SOD mengkatalisis oksigen reaktif (Johansen, 2005)

Ada beberapa sumber stres oksidatif pada diabetes termasuk nonenzimatik, enzimatis, dan jalur mitokondria. Pertama, kita akan membahas dan menyimpulkan mekanisme dimulainya stres oksidatif dan komplikasi vaskular terkait diabetes.

Sumber enzimatik stres oksidatif berasal dari proses biokimia yakni oksidasi glukosa. Hiperglikemia dapat langsung menyebabkan peningkatan pembentukan ROS. Glukosa dapat mengalami autoksidasi dan menghasilkan $\bullet OH$.

Selain itu, glukosa bereaksi dengan protein dalam enzimatis yang mengarah ke pengembangan produk Amadori diikuti dengan pembentukan AGEs. Pada hiperglikemia, metabolisme glukosa ditingkatkan melalui jalur poliol (sorbitol) yang juga menghasilkan produksi dari $\bullet\text{O}_2^-$ (Turko, 2001).

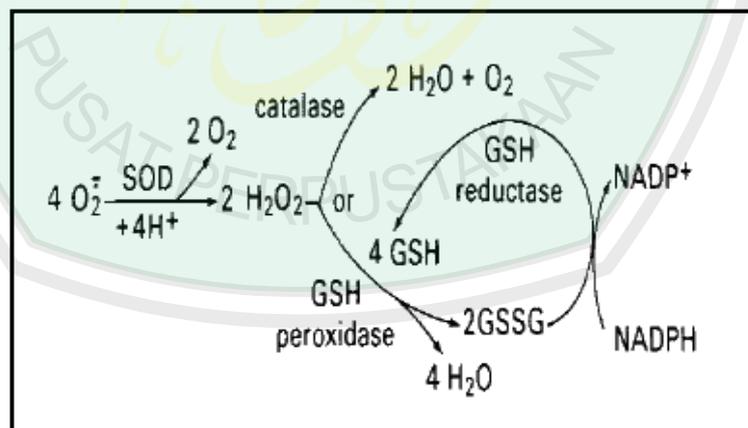
Sumber enzimatis stres oksidatif berasal dari regenerasi augmentasi pada diabetes termasuk NOS, NAD(P) Hoksidasedanxantinoksidase. Semua isoform dari NOS membutuhkan lima kofaktor / kelompok prostetik seperti flavin adenine dinukleotida (FAD), flavin mononukleotida (FMN), heme, BH₄ dan Ca²⁺. Jika NOS memiliki substrat L-argine atau salah satu dari kofaktornya, maka NOS dapat menghasilkan $\bullet\text{O}_2^-$ (Guzik, 2002).

Spesies reaktif dapat dihilangkan oleh sejumlah enzimatis dan mekanisme antioksidan nonenzimatis. Sebagaimana dibahas di atas, SOD segera mengkonversi $\bullet\text{O}_2^-$ untuk H₂O₂, yang kemudian diubah menjadi air oleh katalase dalam lisosom atau glutathione peroksidase dalam mitokondria (Gambar 2.5). Enzim lain yang penting adalah glutathione reduktase yang menghasilkan glutathion yang digunakan sebagai donor hidrogen selama penghapusan H₂O₂ (Maritim, 2003).

Mekanisme kerja SOD akan menangkap senyawa oksigen reaktif seperti superoksida anion (O_2^-) radikal menjadi hidrogen peroksida, lalu glutathion peroksidase mengubahnya menjadi air. Namun jika mekanisme pertahanan tubuh menurun atau dengan meningkatnya usia mengakibatkan penurunan jumlah kedua enzim tersebut dalam tubuh, sehingga radikal bebas tidak dapat seluruhnya ditangkap (Sibuea, 2003).

Dalam melawan radikal bebas, kerja enzim SOD dibantu oleh dua enzim lain, yaitu katalase dan glutathion (GSH) peroksidase. Enzim SOD secara spontan merubah radikal O^{2-} menjadi H_2O_2 dan oksigen dengan kecepatan reaksi sekitar $10^5 M^{-1} s^{-1}$ pada pH 7, reaksinya sebagai berikut : $O^{2-} + 2H^+ \longrightarrow O_2 + H_2O_2$. Reaksi tersebut berlangsung sangat cepat dan hanya dibatasi oleh frekuensi tumbukan SOD dengan superoksida. Hidrogen peroksida yang dihasilkan masih cukup berbahaya sehingga perlu pengubahan lebih lanjut oleh katalase menjadi air dan oksigen (Ariadini, 2007).

Enzim SOD memegang peranan penting sebagai antioksidan endogen. Berdasarkan mekanismenya, enzim ini digolongkan sebagai antioksidan primer yang berperan mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil. (Gambar 3) (Nurawati, 2002).



Gambar 2.6 Cara kerja enzim pertahanan tubuh terhadap radikal bebas (Nurawati, 2002).

Enzim SOD melindungi sel-sel tubuh dan mencegah terjadinya proses peradangan yang diakibatkan oleh radikal bebas. Sebenarnya enzim ini telah ada dalam tubuh, namun memerlukan bantuan zat-zat gizi mineral seperti mangan

(Mn), seng (Zn), dan tembaga (Cu) agar bisa bekerja. Oleh sebab itu, jika ingin menghambat timbulnya gejala penyakit degeneratif, mineral-mineral tersebut harus tersedia dalam jumlah yang cukup (Winarsi, 2007).

Penurunan kadar SOD berimplikasi pada beberapa kondisi dan penyakit seperti reumatid arthritis, anemia Fanconi, infeksi saluran pernafasan, katarak dan infertile. Jadi, pengukuran SOD dapat dipakai untuk membantu menegakkan diagnosis penyakit seperti kanker, jantung koroner, hepatitis, diabetes, distrofi muscular, abnormalitas hemoglobin, schizophrenia, depresi, dan *down syndrome* (Winarsi, 2007).

2.3 Tikus (*Rattus norvegicus*)

2.3.1 Tinjauan Umum

Hewan coba atau sering disebut hewan laboratorium adalah hewan yang khusus diternakkan untuk keperluan penelitian biologik. Hewan laboratorium tersebut digunakan sebagai model untuk penelitian pengaruh bahan kimia atau obat pada manusia. Beberapa jenis hewan dari yang ukurannya terkecil dan sederhana ke ukuran yang besar dan lebih kompleks digunakan untuk keperluan penelitian ini, yaitu: Mencit, tikus, kelinci, dan kera. Sebagaimana sabda Rasulullah SAW:

خَمْسٌ فَوَاسِقٌ يُفْتَلَنُ فِي الْحِلِّ وَالْحَرَمِ: الْحَيَّةُ وَالْعُرَابُ الْأَبْنَعُ وَالْفَأْرَةُ وَالْكَلْبُ الْعُقُورُ وَالْحُدْيَا

“Ada lima jenis binatang fasik yang boleh dibunuh di luar tanah haram maupun di tanah haram, yaitu : ular, burung gagak, tikus, anjing yang suka menggigit, dan burung elang” (HR. Bukhari no:1829 & 3314).

Kata **الْفَأْرَةُ** yang berarti tikus merupakan salah satu hewan yang dianjurkan untuk dibunuh. Semua hewan yang boleh dibunuh maka dia haram untuk dimakan dan hal itu menunjukkan pengharaman, karena perintah untuk membunuhnya.

Hadist di atas menjelaskan bahwa ular, burung gagak, tikus, anjing dan burung elang merupakan hewan yang Rasulullah SAW izinkan untuk membunuhnya tanpa melalui jalur penyembelihan yang syar'iyah. Namun, ketika hewan tersebut menjadi hewan coba dalam penelitian maka perlu memperhatikan *ethical clearance* dalam memperlakukan hewan tersebut. Hal ini dikarenakan tikus juga merupakan bagian ciptaan dari Allah SWT, sehingga harus diperlakukan sesuai dengan kode etik yang sudah ada.

Klasifikasi Tikus putih (*Rattus norvegicus*) menurut Jasin (1984) dan Boolootion (1991) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
 Phylum : Chordata
 Sub Phylum : Vertebrata
 Classis : Mammalia
 Ordo : Rodentia
 Famili : Muridae
 Genus : Rattus
 Spesies : *Rattus norvegicus*, L.

Tikus putih (*Rattus norvegicus*, L) merupakan salah satu hewan percobaan di laboratorium. Hewan ini dapat berkembang biak secara cepat, dan dalam jumlah yang cukup besar. Tikus putih ini berbeda dengan mencit, karena hewan ini memiliki ukuran tubuh yang lebih besar dari pada mencit. Dua sifat yang membedakan tikus dari hewan percobaan lain adalah tikus tidak mudah muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di tempat esophagus bermuara

ke dalam lambung dan tidak memiliki kantung empedu. Saat umur 2 bulan berat badan tikus dapat mencapai 200-300 gram. Berat badan tersebut dapat juga mencapai 500 gram, dengan ukuran yang relatif besar, tikus putih mudah dikendalikan atau dapat diambil darahnya dalam jumlah yang relatif besar pula (Kusumawati, 2004).

2.3.2 Hepar

2.3.2.1 Fungsi Hepar

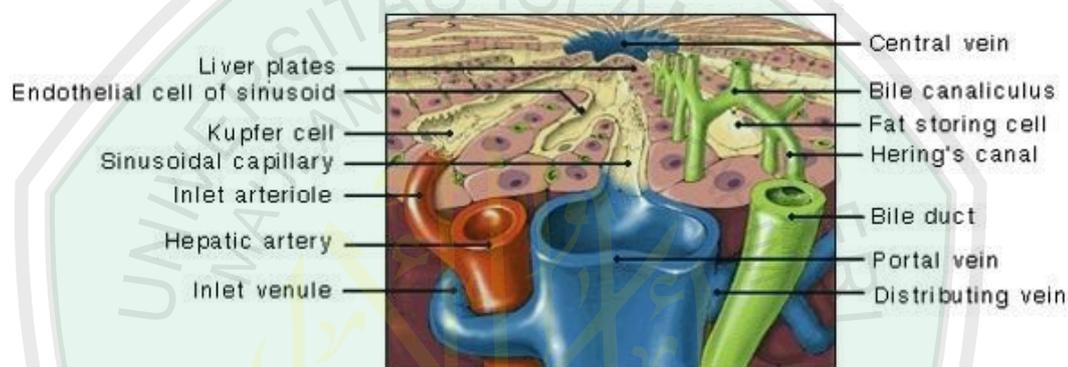
Fungsi hepar yang utama adalah membentuk dan mengekskresi empedu; saluran empedu mengangkut empedu sedangkan kandung empedu menyimpan dan mengeluarkan empedu ke usus halus sesuai kebutuhan. Hepar menyekresi sekitar 500 hingga 1000 ml empedu setiap hari. Hepar juga berperan penting dalam metabolisme karbohidrat, protein, dan lemak. Semua protein plasma (kecuali gama globulin) disintesis oleh hepar. Protein tersebut antara lain albumin, protrombin, dan faktor pembekuan lainnya (Guyton, 1997).

Selain itu sebagian besar degradasi asam amino dimulai dalam hepar melalui proses deaminasi. Hepar juga mempunyai fungsi lain, yaitu penimbunan vitamin, besi, tembaga, konjugasi, ekskresi steroid adrenal dan gonad, serta detoksifikasi sejumlah zat endogen dan eksogen. Fungsi detoksifikasi sangat penting dan dilakukan oleh enzim hepar melalui oksidasi, reduksi, hidrolisis, atau konjugasi zat yang dapat berbahaya dan mengubahnya menjadi zat yang secara fisiologis tidak aktif (Sylvia, 2006).

2.3.2.2 Histologi Hepar

Hepar merupakan organ parenkim yang paling besar hepar juga menduduki urutan pertama dalam hal jumlah, kerumitan, dan ragam fungsi. Hepar

sangat penting untuk mempertahankan fungsi hidup dan berperan dalam hampir setiap metabolisme tubuh dan bertanggung jawab atas lebih dari 500 aktivitas berbeda. Hepar memiliki kapasitas cadangan yang besar dan hanya membutuhkan 10-20 % jaringan yang berfungsi untuk tetap bertahan. Destruksi total atau pengangkatan hepar menyebabkan kematian dalam waktu kurang dari 10 jam. Proses regenerasi akan lengkap dalam waktu 4-5 minggu (Daglia, 2000).



Gambar 2.7 Histologi hepar (Lu, 1995)

Secara struktural organ hepar tersusun oleh hepatosit (sel parenkim hepar). Hepatosit bertanggung jawab terhadap peran sentral hepar dalam metabolisme. Sel-sel tersebut terletak di antara sinusoid yang terisi darah dan saluran empedu. Sel Kuffer melapisi sinusoid hepar dan merupakan bagian penting dari sistem retikuloendotelial tubuh. Darah dipasok melalui vena porta dan arteri hepatica, dan disalurkan melalui vena sentral dan kemudian vena hepatica ke dalam vena kava. Saluran empedu mulai berperan sebagai kanalikuli yang kecil sekali yang dibentuk oleh sel parenkim yang berdekatan. Kanalikuli bersatu menjadi duktula, saluran empedu interlobular, dan saluran hepar yang lebih besar. Saluran hepar utama menghubungkan duktus kistik dari kandung empedu dan membentuk saluran empedu biasa, yang mengalir ke dalam duodenum (Lu, 1995).

Hepatosit tersusun dalam rangkaian lempeng-lempeng yang secara radial bermula dari tepi lobulus klasik menuju ke vena sentralis sebagai pusatnya. Tebal lempeng biasanya hanya satu sel, kecuali pada tempat-tempat anastomosis dan percabangan. Hepatosit merupakan sel berbentuk polihedral, mempunyai permukaan 6 atau lebih, dengan membran sel yang jelas, inti bulat di tengah. Sel yang besar dengan inti besar atau inti 2 dapat ditemukan karena terjadi mitosis. Sitoplasma eosinofilik, karena banyaknya mitokondria dan retikulum endoplasma halus. Di dalam sitoplasmanya terdapat lisosom, peroksisom (mikrobodies), butirbutir glikogen (pengecatan khusus) serta tetes lemak (terutama setelah puasa atau makan makanan banyak lemak) (Daglia, 2000).

Sinusoid hepar adalah saluran darah yang berliku-liku dan melebar, dengan diameter tidak teratur, dilapisi sel endotel bertingkap tidak utuh, yang dipisahkan dari hepatosit di bawahnya oleh ruang perisinusoidal (dari Disse). Akibatnya, zat makanan yang mengalir di dalam sinusoid yang berliku-liku, menembus dinding endotel yang tidak utuh dan berkontak langsung dengan hepatosit. Hal ini memperlancar perpindahan zat antar darah dan hepatosit. Sedangkan vena sentralis merupakan pusat yang berada di tengah, dimana darah dari vena porta dan vena hepatica membawa darah menuju vena sentralis (Daglia, 2000).

Hepatosit tikus dan manusia yang terisolasi dalam suspensi atau dalam biakan, telah digunakan dalam berbagai penelitian biokimia. Dalam mempelajari efek toksikan terhadap sel hepar yang sedang membelah digunakan hepatosit dari

hewan yang sangat muda atau dari tumor hepar. Hepatosit yang diisolasi dapat digunakan untuk menentukan berbagai efek toksik (Lu, 1995).

2.4 Sirsak (*Annona muricata* L.)

2.4.1 Tinjauan Umum

Sirsak (*Annona muricata* L.) berasal dari wilayah Amerika yang beriklim tropis, terutama Amerika Tengah dan Selatan. Tanaman ini menyebar luas ke Asia di antaranya Thailand, Malaysia, dan Indonesia. Pada abad ke-19, tanaman sirsak mulai dibudidayakan di Malaysia dan Indonesia. Awalnya tanaman sirsak merupakan tanaman yang tumbuh liar, kemudian dikembangkan menjadi tanaman pekarangan (Verheij dan Coronel, 1997).



Gambar 2.8 Daun Sirsak (Purwatresna, 2012)

Tanaman sirsak berbuah sepanjang tahun. Oleh karena itu, komoditas ini berpotensi untuk dikembangkan dalam rangka pengembangan agroindustri dan agribisnis. Untuk mendukung pengembangan agroindustri buah sirsak diperlukan peningkatan mutu buah dan penyediaan bibit/benih yang mencukupi. Klasifikasi tanaman sirsak (*Annona muricata* L.) seperti dibawah ini :

Kingdom : Plantae

Division : Magnoliophyta

Class : Magnoliopsida

Order : Magnoliales
Family : Annonaceae
Genus : *Annona*
Spesies : *Annona muricata* L. (Arthur,1981)

2.4.2 Deskripsi

Buah sirsak berbentuk oval atau seperti jantung, kadang tidak teratur, berlekuk dan lonjong. Buah sirsak yang berukuran besar mempunyai biji sampai 200 biji/buah bahkan lebih (Morton, 1987). Ukuran biji sirsak beragam, panjangnya antara 1-2 cm, berat 0,33-0,59 g, warna hitam saat panen, kemudian menjadi coklat tua (Pinto, *et al.* 2005).

Buah sirsak terdiri atas bagian yang dapat dimakan 67%, kulit 20%, biji 8,50%, dan selebihnya bagian poros tengah. Setiap 100 g buah yang dapat dimakan mengandung vitamin B 0,07 mg, vitamin C 20 mg, sukrosa 2,54%, dekstrosa 5,05%, dan levulosa 0,04%. Buah sirsak juga mengandung nutrisi yang cukup tinggi dengan komposisi yang lengkap (Verheij dan Coronel, 1997).

Tanaman sirsak berbuah sepanjang tahun. Oleh karena itu, komoditas ini berpotensi untuk dikembangkan dalam rangka pengembangan agroindustri dan agribisnis. Untuk mendukung pengembangan agroindustri buah sirsak diperlukan peningkatan mutu buah dan penyediaan bibit/benih yang mencukupi (Fredika, 2002).

2.4.3 Manfaat Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Salah satu sifat Allah SWT adalah Maha Penyayang yang selalu diberikan kepada umat manusia. Allah SWT telah menunjukkan dalam al-Quran

bahwasannya telah menciptakan berbagai bahan keperluan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Misalnya bahan alam yang dapat digunakan oleh manusia yaitu yang terkandung dalam tumbuh-tumbuhan. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam surat asy-Syua'raa' (26):7 dibawah ini:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمَا أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”

Kata *ila / ke* pada firman-Nya diawal ayat : *awalam yara ila al ardh / apakah mereka tidak melihat bumi*, merupakan kata yang mengandung makna *batas akhir*. Dalam hal ini yang dimaksud batas akhir adalah Allah SWT mengarahkan pandangan hingga batas kemampuan manusia untuk melihat yang ada di bumi dengan aneka tanah dan manfaat yang terdapat pada berbagai tumbuhan (Shihab, 2002).

Kata *zauj* berarti *pasangan*, yang dimaksud ayat ini adalah pasangan tumbuh-tumbuhan, karena tumbuhan muncul di celah-celah tanah yang terhampar di bumi dengan kata lain bahwa tumbuh-tumbuhan memiliki pasangan-pasangan untuk pertumbuhan dan perkembangan. Karena itu, ayat di atas memulai dengan pertanyaan *apakah mereka tidak melihat*, pertanyaan yang mengandung unsur keheranan terhadap mereka yang tidak memfungsikan matanya untuk melihat berbagai macam tumbuh-tumbuhan (Shihab, 2002).

Kata *karim* antara lain digunakan untuk menggambarkan segala sesuatu yang baik setiap objek yang disifatinya. Dalam hal ini yang dimaksud adalah

tumbuhan yang baik, paling tidak dapat tumbuh subur dan bermanfaat (Shihab, 2002).

Salah satu tumbuhan yang terbukti dan bermanfaat untuk kesehatan yaitu daun sirsak (*Annona muricata* L.). Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan ekstrak daun sirsak (*Annona muricata* L.) sebagai bahan alam dalam upaya pencegahan dan pengobatan penyakit diabetes mellitus dengan cara meningkatkan aktivitas antioksidan

Sirsak (*Annona muricata* L.) merupakan tanaman tropis yang buahnya memiliki aroma dan rasa khas. Daging buahnya berwarna putih susu, rasanya manis asam dan berbiji kecil. Sirsak lebih dikenal sebagai tanaman buah. Namun, seiring dengan penelitian terhadap tanaman tersebut, kini populer sebagai tanaman obat. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa tanaman sirsak mengandung banyak khasiat terutama sebagai obat-obatan. Bagian tanaman sirsak, mulai dari daun, bunga, buah, biji, akar, sampai kulit batang dan akarnya dapat dimanfaatkan sebagai obat (Mardiana dan Ratnasari, 2011).

Seluruh bagian tanaman sirsak dapat digunakan sebagai obat tradisional, termasuk kulit kayu, daun, akar, buah, dan biji. Buah sirsak umumnya digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh cacing dan parasit, mengobati demam, meningkatkan produksi ASI pada ibu menyusui, dan untuk diare dan disentri. Biji yang dihancurkan dapat digunakan sebagai vermifug dan antelmintik terhadap internal dan eksternal parasit dan cacing (Taylor, 2002).

Bagian lain pada tanaman sirsak yang terkenal dapat digunakan sebagai obat-obatan adalah daun. Daun sirsak banyak dimanfaatkan sebagai obat herbal

seperti untuk penyakit kulit, rematik, batuk dan flu, serta antikanker (Orwa, *et al* 2009), dan hipertensi (Lans, 2006). Khasiat lain dari daun sirsak adalah sebagai antispasmodik dan memberi efek menenangkan. Daun sirsak biasa dikonsumsi dalam bentuk teh. Teh daun sirsak digunakan sebagai obat radang selaput lendir hidung. Rebusan daun sirsak juga efektif digunakan untuk kutu rambut dan kutu busuk. Daun segar yang dihaluskan mampu membantu penyembuhan luka pada kulit. (Taylor, 2002).

Daun *A.muricata* memiliki senyawa flavonoid, tanin, fitosterol, kalsium oksalat, alkaloid, asam lemak, mirisil alkohol dan anonol (Adjie, 2011; Artini, 2012; Asprey dan Thornton, 2000). Senyawa pada daun sirsak yang diduga memiliki khasiat antidiabetes adalah senyawa alkaloid dan flavonoid (Markham 1988).

Flavonoid memenuhi kriteria sebagai antioksidan. Mekanisme aksi flavonoid adalah sebagai berikut (Simamora, 2009):

1. Flavonoid menghambat kerja enzim yang terlibat dalam reaksi produksi anion superoksida, misalnya xantin oksidase dan protein kinase. Selain itu, flavonoid juga mengikat logam kelumit yang terlibat dalam reaksi yang menghasilkan radikal bebas. Logam kelumit seperti ion besi bebas dan tembaga bebas meningkatkan terjadinya oksidasi seperti yang ditampakkan pada pembentukan radikal OH dalam reaksi di bawah ini:



2. Flavonoid mempunyai nilai potensial reduksi yang rendah sehingga mudah mereduksi radikal superoksida, peroksil, alkoksil dan hidroksil. Mekanisme dijalankan melalui donasi atom H



Radikal aroksil (F1-O•) dapat bereaksi dengan radikal kedua menghasilkan struktur quinon yang stabil. Namun demikian radikal aroksil juga dapat bereaksi oksigen menghasilkan quinon dan anion superoksida (Simamora, 2009).

Kapasitas flavonoid sebagai antioksidan tidak hanya bergantung pada potensial reduksi F1-OH, tapi juga kemungkinan terjadinya reaksi samping pada radikal aroksil. Selain dengan cara memadamkan radikal, flavonoid dapat menstabilkan radikal-radikal bebas yang terlibat dalam proses oksidasi dengan cara berikatan kompleks dengan senyawa flavonoid (Simamora, 2009).

Flavonoid melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif, sehingga struktur membran sel dapat berfungsi dengan baik. Mekanisme flavonoid sebagai antioksidan adalah dengan menangkap radikal bebas secara langsung. Awalnya flavonoid teroksidasi dengan radikal kemudian berubah menjadi lebih stabil sebagai radikal yang kurang reaktif (Ardiani, 2011).

Berbagai riset terkait pemanfaatan *A.muricata* sudah banyak dilakukan. Adeyemi (2010), melaporkan pemberian *A.muricata* 100 mg/kgBB terhadap pankreas tikus wistar diabetes menyebabkan terjadinya regenerasi sel β pulau langerhans. Pada penelitian Artini (2012), pemberian *A.muricata* 200 mg/kgBB dapat menurunkan kadar asam urat tikus wistar. Sedangkan Adewole (2009), melaporkan bahwa ekstrak daun *A. muricata* dengan dosis 100 mg/kgBB

berpengaruh terhadap berat badan, glukosa darah dan SOD pada tikus Wistar diabetes yang diinduksi streptozotocin mampu mendekati nilai normal tikus kontrol.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menyebutkan bahwa ekstrak daun sirsak mampu menjadi agen antidiabetes secara *in vivo* melalui mekanisme penurunan stres oksidatif dan penurunan kadar glukosa darah (Adewole *et al.* 2006; Adeyemi *et al.* 2009). Salah satu cara menurunkan glukosa darah adalah dengan menunda kenaikan glukosa darah, yakni dengan mekanisme penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase. Alfa glukosidase adalah enzim yang mengkatalis pemotongan ikatan glikosidik pada oligosakarida. Senyawa dari ekstrak daun sirsak yaitu senyawa alkaloid dan flavonoid yang mampu menjadi agen antidiabetes dengan menjadi inhibitor enzim α -glukosidase (Lee, *et al.*, 2008). Pada penderita DM terhambatnya aktivitas enzim ini menyebabkan berkurangnya glukosa yang diserap oleh usus sehingga berkurang pula glukosa yang masuk ke dalam aliran darah. Peristiwa ini dapat menurunkan keadaan hiperglikemia (Purwatresna, 2012).

Selain itu ekstrak daun sirsak mempengaruhi penurunan GSH hepar dan meningkatkan GSSH hepar. Penurunan ini dikarenakan meningkatnya aktivitas SOD di dalam hepar dalam mengkatalisis stres oksidatif pada diabetes. Penurunan tajam MDA dan ROS dalam hepatosit tikus diabetes yang diobati ekstrak daun sirsak menunjukkan aktivitas flavonoid sebagai antioksidan yang melindungi jaringan dari efek perusakan peroksidasi lipid (Nicola *et al.*, 1996).

2.4.4 Ekstraksi Daun Sirsak

Pelarut paling umum digunakan dalam kehidupan sehari-hari adalah air. Pelarut lain yang juga umum digunakan adalah bahan kimia organik (mengandung karbon) yang juga disebut pelarut organik. Pelarut biasanya memiliki titik didih rendah dan lebih mudah menguap, meninggalkan substansi terlarut yang didapatkan. Untuk membedakan antara pelarut dengan zat yang dilarutkan, pelarut biasanya terdapat dalam jumlah yang lebih besar.

Ekstraksi daun sirsak ada yang menggunakan etanol dan ada yang menggunakan air sebagai pelarutnya. Masing-masing pelarut ini mempunyai kelebihan dan kekurangan dalam melarutkan ekstrak daun sirsak. Daun sirsak akan diekstraksi menggunakan air, karena senyawa flavonoid umumnya mudah larut dalam air, terutama bentuk glikosidanya, senyawa tersebut dapat diekstraksi menggunakan pelarut air. Sehingga pada penelitian yang akan dilakukan menggunakan air (Waji, 2009).

Flavonoid merupakan senyawa polar, maka umumnya flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetil-sulfoksida, dimetilformamida, air, dan lain-lain. Adanya gula yang terikat pada flavonoid (bentuk umum yang ditemukan) cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang baik untuk glikosida (Markham, 1988).