

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit kelainan metabolisme multisistem, yang diderita sekitar 6% dari populasi dunia. Penyakit DM dicirikan oleh kondisi hiperglikemia, yang disebabkan oleh kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya (*American Diabetes Association, 2011*). Salah satu faktor penyebab diabetes mellitus adalah obesitas akibat peningkatan kadar lemak di dalam tubuh, yang disebabkan karena kondisi hiperlipidemi dan peningkatan kadar kolesterol dalam darah (*Ricardi et al., 2004 dalam Husen et al., 2016*). Peningkatan kadar kolesterol darah dapat diikuti oleh peningkatan kadar asam lemak bebas, yang mengakibatkan peningkatan produksi superoksida oleh mitokondria, dan meningkatkan resiko terpaparnya sel oleh *reactive oxygen species* (ROS). Peningkatan produksi superoksida akan mengakibatkan peningkatan nitrit oksida (NO) yang disebabkan oleh induksi enzim NO sintase. Kondisi ini menyebabkan produksi *reactive nitrogen species* (RNS) yang mengoksidasi gugus sulfhidril protein, asam amino seperti tirosin, meningkatkan peroksidasi lipid dan menyebabkan kerusakan DNA yang dapat membahayakan sel sel yang terpapar ROS (*Adly, 2010; Novelli et al., 2010; Husen et al., 2016*).

Salah satu dampak negatif obesitas adalah terjadinya resistensi insulin, yaitu ketidakmampuan insulin untuk menghasilkan fungsi biologik secara normal, sehingga terjadi penurunan sensitivitas jaringan terhadap insulin (*Adly, 2010*;

Husen *et al.*, 2013). Resistensi insulin menyebabkan terjadinya gangguan terhadap translokasi *glucose transporter-4* (GLUT-4), ke permukaan membran sel otot maupun sel lemak. Penurunan GLUT-4 akan menyebabkan *uptake* glukosa ke dalam sel terganggu dan terjadi peningkatan kadar glukosa darah lebih lanjut (Mukherjee *et al.*, 2013).

Kondisi hiperglikemia yang berkepanjangan dapat mengaktivasi jalur poliol. Pada jaringan yang tidak sensitif insulin, aktivasi berlebih jalur poliol mengakibatkan banyak glukosa yang diubah menjadi sorbitol yang akan tertahan di dalam sel. Perubahan tersebut memaksa mitokondria di dalam sel untuk menghasilkan anion superoksida yang meningkatkan ROS, mengakibatkan stres oksidatif sel meningkat. Stres oksidatif ini akan memicu terjadinya peroksidasi lipid pada membran sel (Mohora *et al.*, 2007). Menurut Donne *et al.* (2006), stres oksidatif dalam tubuh juga dapat dilihat melalui pemeriksaan konsentrasi malondialdehid (MDA) yang merupakan suatu produk peroksidasi lipid yang telah diakui sebagai salah satu penanda biologis stres oksidatif yang *reliable*. Hal ini didukung dengan pernyataan Tiwari *et al.*, (2013), pengujian konsentrasi MDA dalam serum, plasma darah maupun jaringan merupakan suatu cara untuk mengetahui aktivitas antioksidan yang merupakan penanda utama potensi stres oksidatif pada penderita diabetes mellitus. Peningkatan produksi ROS yang melebihi kapasitas antioksidan sel menyebabkan peningkatan stres oksidatif yang diiringi dengan terjadinya disfungsi serta kerusakan sel β pada jaringan pankreas (Mohora *et al.*, 2007; Ridwan *et al.*, 2012), sehingga berakibat pada penurunan sekresi insulin. Kondisi hiperglikemia yang berkepanjangan, juga dapat

mengakibatkan terjadinya peningkatan kadar *reactive nitrogen species* (RNS). Peningkatan kadar *Reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS), secara langsung dapat mengoksidasi dan merusak DNA, protein, dan lipid, yang mengawali terjadinya kerusakan sel β pada pulau Langerhans kelenjar pankreas.

Antioksidan merupakan zat yang dapat menghambat dampak negatif dari radikal bebas, dengan memberikan elektron sehingga kerusakan lipid, membran sel, pembuluh darah, DNA, dan kerusakan lain yang diakibatkan oleh senyawa reaktif, seperti ROS dan RNS dapat dicegah. Pada dasarnya, tubuh mempunyai sistem pertahanan atau kekebalan yang digunakan untuk menghadapi radikal bebas, yaitu dengan dihasilkannya antioksidan endogen. Antioksidan endogen tersebut berupa *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GSH-x) dan *catalase* (CAT). *Superoxide dismutase* merupakan enzim yang berperan mengkatalisis dismutase superoksida seperti anion superoksida (O_2^{*-}) menjadi O_2 dan H_2O_2 . Kinerja antioksidan endogen yang telah diproduksi oleh tubuh tersebut, diaktifkan dengan cara menyumbangkan elektron-elektronnya (Clung, *et al.*, 2004; Lingga, 2012). Banyaknya ROS yang diproduksi oleh sel sel tubuh memungkinkan terjadinya ketidakseimbangan antara antioksidan endogen dengan kadar ROS di dalam sel tersebut. Ketidakseimbangan yang terjadi menyebabkan kadar antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase* (SOD), *glutathione peroxidase* (GSH-x) dan *catalase* (CAT) mengalami penurunan. Untuk mengurangi terjadinya efek buruk dari radikal bebas, dibutuhkan antioksidan tambahan dari luar (eksogen), seperti vitamin E, vitamin C maupun antioksidan

lain yang didapat dari mengonsumsi berbagai jenis buah dan sayur yang mengandung antioksidan tinggi. Selain vitamin E dan C, ada juga *Alpha-lipoic Acid* (ALA), polifenol dan flavonoid yang bisa digunakan sebagai antioksidan. Flavonoid serta polifenol merupakan salah satu antioksidan yang dapat digunakan untuk memperbaiki sensitivitas sel terhadap insulin (Evans *et al.*, 2003).

Salah satu jenis antioksidan yang sampai saat ini masih memberikan harapan, untuk mengatasi radikal bebas adalah *quercetin*, yang merupakan senyawa flavonoid yang terkandung di dalam biji buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* (L), Moench). Senyawa *quercetin* memiliki kemampuan yang signifikan untuk mengurangi ROS, hidrogen peroksida dan oksidasi protein, dengan cara mendonorkan atom hidrogen dan menstabilkan radikal bebas secara resonansi, yang tidak mudah berpartisipasi dalam reaksi radikal lain (Adelakun *et al.*, 2009; Sengkhamparn *et al.*, 2009). Di samping berfungsi menetralkan radikal bebas, antioksidan tersebut diharapkan mampu menurunkan stres oksidatif, utamanya pada berbagai sel terdampak akibat kondisi hiperglikemia yang berkepanjangan, seperti sel sel β Langerhans, hepatosit pada hepar dan sel sel proksimal tubuli ginjal (Husen *et al.*, 2017a).

Indonesia memiliki keaneka ragaman hayati yang sangat melimpah, yang di dalamnya terkandung berbagai potensi alam yang dapat dimanfaatkan, untuk pengobatan berbagai macam penyakit metabolik maupun degeneratif. Salah satu jenis tanaman yang saat ini memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai bahan baku obat adalah tanaman okra merah (*Abelmoschus esculentus* (L), Moench). Kandungan kimia dari tanaman okra merah diantaranya adalah

sebanyak 67,50% α -selulosa dan 15,40% hemiselulosa (Nilesh *et al.*, 2011), yang berperan sebagai *dietary fiber* baik terlarut maupun tidak terlarut. Serat terlarut ini memberikan banyak manfaat untuk kesehatan, dan merupakan salah satu bahan yang dapat digunakan untuk melakukan diet sehat. Senyawa tersebut di atas merupakan suatu senyawa yang dapat memperbaiki kadar glukosa darah, melalui penurunan kecepatan penyerapan makanan (karbohidrat) yang masuk ke dalam aliran darah, atau yang dikenal dengan *glycemic index* (GI) rendah. Indeks glikemik ini mempunyai skala dari 0-100. Makanan yang cepat diubah dan diserap masuk ke aliran darah mempunyai angka GI yang cukup tinggi. Hal ini dapat menyebabkan tingginya kadar glukosa darah. Apabila makanan yang lambat ketika dirombak dan diserap ke dalam tubuh dan mempunyai angka GI yang rendah, makanan tersebut dapat menurunkan kadar glukosa darah (King *et al.*, 2012). Kondisi hiperglikemia kronik menyebabkan berbagai komplikasi DM, antara lain nefropati, retinopati, neuropati dan kerusakan pembuluh darah kecil mikro maupun makro (Evans *et al.* 2003, dalam Husen *et al.*, 2013).

Okra merupakan salah satu tanaman yang banyak mengandung flavonoid dan juga membantu menurunkan kadar glukosa darah. Kandungan flavonoid pada tanaman ini sekitar 18-22% dari total fenolik. Flavonoid sering digunakan sebagai bahan obat bagi para penderita diabetes mellitus, karena mempunyai sifat farmokologi anti diabetes. *Quercetin* merupakan senyawa yang dihasilkan oleh flavonoid yang berperan sebagai antioksidan eksogen. Tanaman okra merah mempunyai kemampuan mengontrol keadaan glikemia, dengan cara menurunkan aktivitas α -glucosidase. Larutan kental yang dihasilkan oleh tanaman okra merah

ini, mempunyai kemampuan yang baik sebagai faktor mekanik yang digunakan untuk menunda pengosongan lambung dan penyerapan glukosa di dalam saluran pencernaan secara lambat (Ronald *et al.*, 2016). Di samping hal tersebut di atas, senyawa *quercetin* juga berperan dalam reaksi anti inflamasi, karena paparan ROS dan RNS. Paparan ROS dan RNS mampu merusak sel sel β Langerhans, sehingga terjadi penurunan sekresi hormon insulin yang mengakibatkan terganggunya transportasi glukosa ke dalam sel (Husen *et al.*, 2016).

Kandungan *quercetin* di dalam buah okra merah (*Abelmoschus esculentus* (L), Moench) paling banyak terdapat di dalam biji. Biji okra berlendir, rendah kalori namun kaya akan nutrisi dan sumber serat yang baik. Di samping hal tersebut, biji buah okra juga mengandung berbagai senyawa bioaktif yang penting, seperti karotin, asam folat, tiamin, riboflavin, niasin, vitamin C, asam oksalat, dan asam amino lainnya. Biji okra memiliki kadar lemak jenuh dan kolesterol yang rendah dan mengandung banyak mineral (Adelakun *et al.*, 2010). Berbagai rantai polisakarida di dalam biji buah okra mengandung galaktosa, rhamnosa, dan asam galakturonat dalam bentuk gum okra. Selain hal tersebut di atas, tumbuhan okra juga dilaporkan kaya akan senyawa polifenol. Terdapat *hiperoksida*, *quercetin*, *coumarin*, *scopoletin*, *uridine*, dan *fenilalanin* (Adelakun *et al.*, 2010). Di samping senyawa polifenolik, juga dilaporkan bahwa terdapat senyawa turunan *quercetin* dan *epigallocatechin* yang merupakan senyawa antioksidan yang terbanyak di dalam buah okra. 70% dari total aktivitas antioksidan buah okra berasal dari turunan *quercetin* (*quercetin 3-O-xylosyl (1''-2'')*) *glukosida*, *quercetin*

3-O-glukosil (1''-6'') glukosida, quercetin 3-O-glucosida, dan quercetin 3-O-(6''-O-maloni)-glukosida (Jo *et al.*, 2009).

Penggunaan buah okra merah untuk pengobatan DM dan menurunkan kadar kolesterol darah, selama ini hanya menggunakan *infuse water*. Sampai saat ini belum ada informasi ilmiah tentang pemanfaatan ekstrak buah okra di masyarakat, untuk pengobatan DM secara menyeluruh, baik untuk menurunkan kadar glukosa darah, kadar kolesterol darah, kadar MDA maupun kadar IRhoma, baik menggunakan ekstrak kasar (etanol) maupun fraksinasinya (non polar, semi polar dan polar). Pemanfaatan ekstrak buah okra merah untuk diabetes mellitus, dengan cara memperbaiki kerusakan sel-sel β Langerhans, meningkatkan transportasi GLUT-4 dari sitoplasma ke membran sel, menurunkan kadar malondialdehid (MDA), dan menurunkan kadar SOD pada serum darah, sampai saat ini belum pernah dilakukan.

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut di atas, sampai saat ini belum ada penjelasan ilmiah tentang potensi antioksidan ekstrak buah okra merah, yang dapat memperbaiki sel sel β Langerhans sehingga dapat menurunkan kadar glukosa darah, yang dikaitkan dengan peningkatan hormon insulin, aktivasi reseptor GLUT-4 pada permukaan sel sel otot lurik, penurunan kadar malondialdehid (MDA) dan peningkatan kadar SOD serum darah, serta peningkatan sensitivitas sel otot terhadap insulin. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang “ **Potensi Antioksidan Ekstrak Buah Okra Merah (*Abelmoschus esculentus* (L), Moench) Untuk Perbaikan Sensitivitas**

Jaringan Terhadap Insulin Pada Mencit Diabetik “ hasil induksi streptozotocin (STZ), berdasarkan Paradigma patofisiologi dan Histopatologi.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah tersebut di atas, rumusan masalah yang diajukan dalam penelitian ini adalah:

1. Berapakah nilai LD₅₀ ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah secara in vivo ?
2. Berapakah nilai IC₅₀ dari uji DPPH ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah secara in vitro ?
3. Bagaimana pengaruh ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah dalam memperbaiki sel β Langerhans kelenjar pankreas mencit yang rusak akibat induksi STZ ?
4. Bagaimana pengaruh ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah dalam meningkatkan kadar insulin serum darah dan menurunkan kadar glukosa darah puasa pada mencit diabetik ?
5. Bagaimana pengaruh ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah dalam meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar malondialdehid (MDA) serum darah mencit diabetik ?
6. Bagaimana pengaruh ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah dalam meningkatkan sensitivitas jaringan terhadap insulin dengan meningkatkan IRhoma pada mencit diabetik ?
7. Bagaimana pengaruh ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah dalam meningkatkan densitas GLUT-4 pada sitoplasma dan permukaan membran sel otot lurik pada mencit diabetik ?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk :

1. Mengetahui berapakah nilai LD₅₀ ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah secara in vivo,
2. Mengetahui berbagai nilai IC₅₀ antioksidan ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah secara in vitro dengan menggunakan metode DPPH,
3. Menganalisis bagaimana pengaruh senyawa antioksidan dari ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah, dalam memperbaiki sel β Langerhans dengan meningkatkan diameter pulau Langerhans kelenjar pankreas mencit yang rusak akibat induksi STZ,
4. Menganalisis bagaimana pengaruh senyawa antioksidan ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah, mampu meningkatkan kadar insulin serum dan menurunkan kadar glukosa darah mencit diabetik,
5. Menganalisis bagaimana pengaruh senyawa antioksidan ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah, dalam meningkatkan kadar SOD dan menurunkan kadar malondialdehid (MDA) serum darah mencit diabetik,
6. Menganalisis bagaimana pengaruh senyawa antioksidan ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah, peningkatan sensitivitas sel otot lurik terhadap insulin dan indeks IRhoma pada mencit diabetik ,
7. Menganalisis bagaimana pengaruh senyawa antioksidan ekstrak kasar dan berbagai fraksi ekstrak buah okra merah, dalam meningkatkan densitas GLUT- 4 pada sitoplasma dan permukaan sel otot lurik mencit diabetik,

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin didapatkan dari penelitian ini adalah untuk :

1. Meningkatkan kualitas hidup penderita diabetes mellitus dengan memanfaatkan sumber daya alam yang ada disekitar kita,
2. Meningkatkan nilai ekonomi sayur dan buah buahan tropis, khususnya buah okra yang berpotensi sebagai antioksidan ,
3. Memberikan tambahan wawasan bagi mahasiswa akan potensi bahan lokal yang ada di lingkungan sekitar. Indonesia memiliki keaneka ragaman hayati yang melimpah yang belum banyak diungkap melalui penelitian ilmiah, utamanya yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan dan penanggulangan berbagai macam penyakit metabolik dan penyakit degeneratif.