

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Radikal Bebas

Radikal bebas adalah molekul yang kelebihan elektron. Elektron yang tidak berpasangan cenderung untuk membentuk pasangan, dan ini terjadi dengan menarik elektron dari senyawa lain sehingga terbentuk radikal baru. Jadi radikal bebas memiliki dua sifat, yaitu :

1. Reaktifitas tinggi, karena kecenderungan menarik elektron.
2. Dapat mengubah suatu molekul menjadi suatu radikal.

Karena reaktifitasnya yang tinggi, radikal bebas tidak stabil dan berumur sangat pendek sehingga sulit dideteksi kecuali dengan metoda – metoda khusus seperti pengukuran EPR (Elektron Paramagnetic Resonance). Walaupun reaktifitas radikal bebas pada umumnya cukup tinggi sehingga berumur pendek, namun ada beberapa jenis radikal bebas yang relatif stabil. Salah satu contoh adalah radikal bebas vitamin E. Berkat struktur molekulnya yang memungkinkan terjadinya resonansi, radikal vitamin E tidak terlalu reaktif sehingga dapat berfungsi sebagai peredam (quencher). (Suryohudoyo P, 2001)

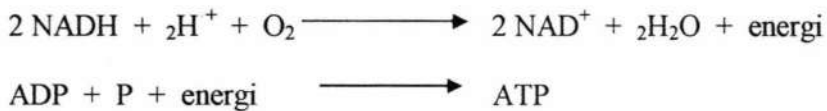
2.1.1. Macam – macam radikal bebas

Oksidan yang terlibat dalam berbagai proses patologis sebagian besar justru berasal dari proses – proses biologis alami dan melibatkan senyawa oksigen reaktif (Reactive Oxygen Compounds, ROC atau Reactive Oxygen Species, ROS). Sebagian diantaranya berbentuk radikal seperti radikal hidroksil

($\cdot\text{OH}$), radikal peroksil ($\cdot\text{OOH}$) dan ion superoksida ($\text{O}_2^{\cdot-}$) dan sebagian yang lain bukan radikal, seperti singlet oksigen (O_2), hidrogen peroksida (H_2O_2) dan ion hipoklorit (ClO^-). (Suryohudoyo P, 2001)

2.1.2. Pembentukan radikal bebas

Senyawa oksigen reaktif, berasal dari oksigen (O_2), senyawa yang diperlukan oleh semua organisme aerobik untuk menghasilkan ATP (sumber energi), melalui proses fosforilasi oksidatif yang terjadi di mitokondria. Proses tersebut secara sederhana dapat digambarkan sebagai berikut :



Pada proses tersebut terjadi reduksi O_2 menjadi H_2O yang secara sederhana dapat ditulis sebagai berikut :



Dari persamaan tersebut diatas terlihat bahwa reduksi oksigen menjadi H_2O merupakan pengalihan empat elektron (4 elektron transfer). Dalam keadaan tertentu pengalihan elektron tersebut berjalan kurang sempurna sehingga terjadi senyawa – senyawa oksigen reaktif yang sangat berbahaya, yang akan merusak sel apabila tidak diredam. Hal seperti itu terjadi dalam keadaan – keadaan yang disebut stres oksidatif (oxidative stress). (Suryohudoyo P, 2001)

Hidrogen peroksida (H_2O_2) terbentuk terutama karena aktivitas enzim – enzim oksidase yang terdapat dalam retikulum endoplasmik (mikrosom) dan peroksisom. H_2O_2 merupakan oksidan kuat dan dapat mengoksidasi berbagai senyawa yang terdapat didalam sel misalnya glutation. Daya rusak H_2O_2 bukan

hanya karena senyawa tersebut merupakan oksidan kuat, tetapi juga karena H_2O_2 dapat menghasilkan radikal hidroksil bila H_2O_2 bereaksi dengan logam transisi, Fe^{2+} dan Cu^+ . H_2O_2 juga dapat menghasilkan oksidan kuat yang lain, yaitu ion hipoklorit (ClO^-) melalui reaksi yang dikatalisis oleh enzim mieloperoksidase yang terdapat dalam sel-sel radang seperti granulosit, monosit dan makrofag (Suryohudoyo P, 2001).

Ion superoksida (O_2^-) terbentuk melalui beberapa cara antara lain :

a. Sebagai reaksi sampingan yang melibatkan Fe^{2+} seperti misalnya :

1. Proses Fasforilasi oksidatif
2. Proses Oksigenasi Hemoglobin
3. Proses Hidroksilasi oleh enzim mono – oksigenase
(sitokrom P_{450} dan sitokrom b_4)



b. Reaksi yang dikatalisis oleh NADH / NADPH oksidase yang terdapat dalam mitokondria dan granulosit.



c. Reaksi yang dikatalisis oleh enzim Xantin oksidase



(Xantin)

(asam urat)

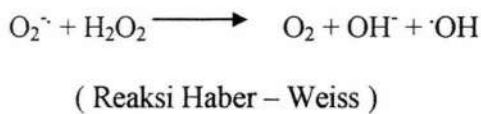
Dalam keadaan normal, enzim xantin oksidase tidak didapatkan pada sel mammalia. Enzim ini terbentuk dari enzim lain yaitu Xantin Dehidrogenase. Dalam keadaan iskemia atau hipoksemia, Xantin Dehidrogenase berubah menjadi enzim Xantin oksidase melalui proses proteolisis. Perubahan ini tak reversibel

sehingga apabila kemudian pasokan oksigen kembali normal, terbentuklah ion superoksida yang justru dapat merusak jaringan (jejas reperfusi), (Suryohudoyo P, 2001).

Radikal peroksil (\cdot OOH), seperti halnya radikal lain, radikal ini sangat reaktif dan akan membentuk radikal baru serta H_2O_2



Radikal hidroksil (\cdot OH), terbentuk bila terdapat ion superoksida dan H_2O_2 secara bersamaan.



Diantara senyawa – senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil adalah yang paling reaktif, oleh karena itu sangat berbahaya. Namun radikal hidroksil bukan merupakan produk primer proses biologik, tetapi berasal dari H_2O_2 dan $O_2^{\cdot -}$ (Suryohudoyo P, 2001).

Singletoksigen ($\cdot O_2$), merupakan bentuk oksigen yang jauh lebih reaktif dibanding oksigen “ biasa “ (oksigen dalam bentuk groundstate). Singlet oksigen terbentuk pada reaksi – reaksi yang dikatalisis oleh enzim – enzim tertentu, antara lain :

1. Enzim mono – oksigenase yang menggunakan sitokrom P_{450} , apabila enzim tersebut menggunakan suatu peroksida sebagai substrat



2. Enzim prostaglandin endoperoksida sintetase, suatu enzim yang berperan dalam pembentukan prostaglandin dari asam arakidonat



3. Reaksi yang dikatalisis oleh enzim mieloperoksidase apabila ion hipoklorit yang terjadi bereaksi dengan H_2O_2 yang kedua



Singlet oksigen dapat mengoksidasi berbagai senyawa



(Suryohudoyo P, 2001)

Nitrogen monoksida (Nitric Oxide, NO) adalah radikal bebas yang dihasilkan oleh Nitric Oxide Synthase (iNOS). Enzim ini mengatur respon fisiologi seperti vasodilatasi atau pemberian isyarat (signaling) otak. Pada proses peradangan, produksi NO oleh iNOS meningkat dan NO dapat bereaksi dengan superoksida menghasilkan peroxynitrite yang sangat toksik sehingga menyebabkan kerusakan (lester Packer *et al*, 2000).

Radikal bebas dihasilkan selama metabolisme oksidatif pembentukan energi dalam tubuh. Radikal bebas dihasilkan pada :

1. Reaksi yang dikatalisis enzim
2. Transport elektron di Mitokondria
3. Transduksi sinyal dan ekspresi gen
4. Aktifasi faktor transkripsi nukleus
5. Kerusakan oksidatif pada molekul, sel dan jaringan

6. Aktifitas antimikroba dari netrofil dan makrofag
7. Proses penuaan dan penyakit. (Lester Packer *et al*, 2000)

2.1.3. Faktor – faktor yang mempengaruhi pelepasan radikal bebas

Radikal bebas secara berkesinambungan dibuat oleh tubuh kita melalui :

1. Reaksi redok biokimiawi yang melibatkan oksigen, yang merupakan bagian dari metabolisme sel normal. Superoksida dibuat dengan menambahkan satu elektron pada molekul oksigen. Superoksida ini dibuat secara tidak sengaja, dimana banyak molekul dalam tubuh bereaksi langsung dengan oksigen untuk membentuk superoksida contohnya Katekolamin, Tetrahidrofolat dan lain – lain. Superoksida jenis ini tidak dapat dihindarkan.
2. Proses fagositosis, yang merupakan bagian dari reaksi inflamasi yang terkontrol. Proses fagositosis ini akan menghasilkan sejumlah besar superoksida sebagai bagian dari mekanisme yang bertujuan untuk membunuh mikroorganisme asing. Pada inflamasi kronis mekanisme perlindungan normal ini akan bersifat merusak.
3. Respons terhadap radiasi, sinar ultraviolet, polusi lingkungan, merokok, olah raga yang berlebihan dan iskemia. Radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang rendah (misalnya sinar gamma) dapat memecah air dalam tubuh untuk menghasilkan radikal hidroksil ($\cdot\text{OH}$), radikal ini akan menyerang molekul yang berdekatan dengannya, dan dapat menimbulkan reaksi berantai.



Jadi setiap radikal bebas yang terbentuk oleh tubuh dapat memulai suatu reaksi berantai yang akan terus berlanjut sampai radikal bebas itu dihilangkan oleh radikal bebas yang lain dan lebih penting oleh sistem antioksidan tubuh.

(Evan CR and Bruccdorfer KR, 1992, Wijaya A, 1996)

2.1.4. Dampak Negatif Radikal Bebas

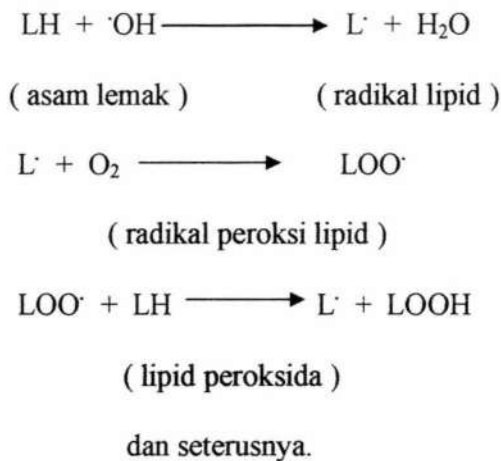
Dampak negatif senyawa oksigen reaktif timbul karena reaktivitasnya sehingga dapat merusak komponen – komponen sel yang penting untuk mempertahankan integritas dan kehidupan sel. Dampak aktifitas oksidan dapat sangat luas, dan sering mekanisme molekulernya masih belum diketahui secara luas. Pada dasarnya semua oksidan dapat bereaksi dengan semua senyawa yang dapat melepaskan elektron, tetapi yang paling penting adalah reaksinya terhadap tiga jenis senyawa yang berfungsi untuk mempertahankan integritas sel, yaitu :

1. Asam lemak, khususnya asam lemak tak jenuh jamak (Poly Unsaturated Fatty Acid, PUFA) yang merupakan komponen membran sel.
2. DNA yang merupakan perangkat genetik sel.
3. Protein yang melaksanakan berbagai peran penting seperti: enzim, reseptor, antibodi dan pembentuk matrik ekstrasel serta sitoskeleton

Diantara senyawa oksigen reaktif, radikal hidroksil merupakan senyawa yang paling reaktif, karena itu paling berbahaya dan dapat merusak tiga jenis senyawa yang penting untuk mempertahankan integritas sel (Evan CR, and Bruccdorfer KR, 1992; Wijaya A,1996; Suryohudoyo P, 2001)

a. Dampak negatif terhadap asam lemak tak jenuh jamak

Komponen terpenting membran sel adalah fosfolipid, glikolipid dan kolesterol. Dua komponen pertama mengandung asam lemak tak jenuh jamak (Poly Unsaturated Fatty Acid, PUFA). Justru asam lemak tak jenuh ini (asam linoleat, linolenat dan asam arakidonat) sangat rawan terhadap serangan radikal bebas, terutama radikal hidroksil. Radikal hidroksil dapat menimbulkan reaksi rantai yang dikenal dengan nama Peroksidasi Lipid.



Akibat akhir dari rantai reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi berbagai senyawa yang bersifat toksik terhadap sel, antara lain berbagai macam aldehida, seperti malondialdehida (MDA), 4 – hidroksi nonenal serta bermacam – macam hidrokanbon seperti etana (C₂H₆) dan pentana (C₅H₁₂).

Dapat pula terjadi ikatan silang (cross linking) antara dua rantai asam lemak atau antara asam lemak dan rantai peptida (protein) yang timbul karena reaksi dua radikal :



Semua itu menyebabkan kerusakan parah membran sel sehingga membahayakan kehidupan sel (Suryohudoyo P, 2001).

b. Dampak Negatif Terhadap DNA

Radikal bebas dapat menimbulkan berbagai perubahan pada DNA yang antara lain berupa : hidroksilasi basa timin dan sitosin, pembukaan cincin purin dan pirimidin, serta terputusnya rantai fosfodiester DNA.

Bila kerusakan tidak terlalu parah, maka masih bisa diperbaiki oleh sistem perbaikan DNA (DNA Repair System). Namun bila kerusakan terlalu parah misalnya rantai DNA terputus – putus diberbagai tempat, maka kerusakan tersebut tidak dapat diperbaiki dan replikasi sel akan terganggu, akibatnya sel mati. Susahnya, perbaikan DNA ini sering justru menimbulkan mutasi, karena dalam memperbaiki DNA sistem perbaikan DNA cenderung membuat kesalahan (error prone), dan apabila mutasi ini mengenai gen – gen tertentu, misalnya proto – onkogen atau anti onkogen, maka mutasi tersebut dapat menimbulkan kanker. (Suryohudoyo P, 2001).

c. Dampak Negatif Terhadap Protein

Senyawa oksigen reaktif dapat merusak protein karena dapat mengadakan reaksi dengan asam amino yang menyusun protein. Diantara asam – asam amino penyusun protein yang paling rawan adalah sistein. Sistein mengandung gugus sulfhidril (SH) dan gugusan inilah yang paling peka terhadap serangan radikal bebas seperti radikal hidroksil :





Pembentukan ikatan disulfida (- S - S) menimbulkan ikatan intra atau antar molekul sehingga protein kehilangan fungsi biologisnya, misalnya enzim kehilangan aktifitasnya. Protein dapat juga bereaksi dengan aldehid hasil peroksidasi lipid sehingga menimbulkan apa yang disebut AGE (Advanced Glycosylated Endproducts) yang dapat merusak fungsi biologis protein (Evan CR, and Brucdorfer KR, 1992; Wijaya A, 1996; Suryohudoyo P, 2001).

2.1.5. Mekanisme Kerusakan Jaringan Akibat Radikal Bebas

(Jarasch ED, *et al.*, 1981; Bruder G, *et al.*, 1982) didalam (Ward PA, 1988) mengatakan bahwa Xanthine Oksida terdapat dalam sel endotel dan sebagai sumber radikal superoksida anion (O_2^-). Kemudian O_2^- memerlukan besi dan bersama - sama dengan H_2O_2 menyebabkan kematian sel endotel melalui reaksi Fenton menghasilkan pembentukan radikal hidroksil ($\cdot OH$) yang dapat mengaktifkan neutrofil sehingga dapat meningkatkan kemampuan neutrofil untuk membunuh sel endotel.

Produk - produk oksigen yang dihasilkan menyebabkan pelepasan epitel dan sel endotel dari membran dasar yang menimbulkan kerusakan atau gangguan permeabilitas. (Harlan JM, *et al.*, 1981). Kemampuan makrofag untuk menghasilkan radikal oksigen dengan melepaskan sitokin interleukin (IL - 1) dan Tumor Nekrosis Faktor (TNF). IL - 1 dan TNF dapat secara langsung mengawali produksi oksidan. Sitokin ini akan meningkatkan radikal oksigen sebagai perantara kerusakan. Kontak sel endotel dengan IL - 1 dan TNF menyebabkan perubahan dalam sel endotel seperti peningkatan kepekaan terhadap

radikal oksigen sebagai perantara kerusakan jaringan dengan aktivasi neutrofil. Kerusakan sel endotel terjadi dengan adanya H_2O_2 dan besi. Kemampuan sitokin untuk mempengaruhi kepekaan sel endotel terhadap kerusakan karena makrofag mempunyai efek positif terhadap neutrofil yang secara bersamaan menyebabkan kerusakan jaringan. (Ward PA, *et al.*, 1988).

2.2. Stres Oksidatif

Apabila pertahanan antioksidan tubuh tidak betul-betul efektif, maka dapat menyebabkan peningkatan pembentukan radikal bebas. Hal ini akan mengakibatkan kerusakan jaringan yang sering dinyatakan sebagai Stres Oksidatif. Stres Oksidatif dapat ditimbulkan oleh panas, trauma, sinar ultraviolet, ultrasound, infeksi, radiasi, racun, olah raga berlebih, ischemia, yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan selanjutnya dapat menimbulkan :

1. Fagositosis dan aktivasi yang dapat menghasilkan :
 O_2^- , H_2O_2 , NO , $HOCl$
2. Pelepasan asam arakhidonat, pembentukan enzim peroksidase oleh aktivitas enzim lipoksigenase, siklooksigenase.
3. Pelepasan ion metal dari protein penyimpanan dan transport (Fe, Cu) akan merangsang pembentukan $\cdot OH$.
4. Pelepasan protein heme, yang akan bereaksi dengan peroksidase dan melepaskan ion Fe^{2+} .
5. Gangguan pada pertahanan antioksidan (misalnya kehilangan glutathion dari sel).

Stres oksidatif dapat merusak sel – sel, dan menimbulkan penyakit. Jadi kegagalan sistem antioksidan tubuh akan menyebabkan perlindungan terhadap serangan oksidan hilang (Wijaya A, 1996).

2.3. Anti – Oksidan

Senyawa – senyawa oksigen reaktif terjadi akibat proses – proses biologi normal, namun bila aktifitas senyawa – senyawa tersebut tidak diredam maka oksigen pembawa kehidupan organisme aerobik akan berbalik menjadi racun yang mematikan. Organisme aerobik dapat bertahan karena alam menyediakan sarana untuk meredam dampak negatif oksidan yaitu senyawa – senyawa antioksidan.

Dalam pengertian kimia, senyawa antioksidan adalah pemberi elektron (elektron donor). Dalam arti biologis, senyawa antioksidan adalah senyawa yang dapat meredam dampak negatif oksidan, termasuk enzim – enzim dan protein pengikat logam.

Dalam meredam dampak negatif oksidan diterapkan strategi dua lapis yaitu :

1. Mencegah tertimbunnya senyawa – senyawa oksidan secara berlebihan.
2. Mencegah reaksi rantai berlanjut.

Berdasarkan dua mekanisme pencegahan dampak negatif oksidan, antioksidan dapat dibagi menjadi dua golongan, yaitu :

1. Anti Oksidan Pencegah (Preventive Anti Oxidants)

Pada dasarnya tujuan antioksidan jenis ini mencegah terjadinya radikal hidroksil, yaitu radikal yang paling berbahaya. Untuk membentuk radikal hidroksil diperlukan tiga komponen, yaitu logam transisi Fe atau Cu, H₂O₂ dan O₂⁻.

Agar reaksi Fenton tidak terjadi, maka harus dicegah keberadaan ion Fe²⁺ atau Cu⁺ bebas. Untuk itu berperan beberapa protein penting, yaitu :

- Untuk Fe : Transferin atau Feritin.
- Untuk Cu : Seruloplasmin atau Albumin.

Penimbunan O₂⁻ dicegah oleh enzim Superoksid Dismutase (SOD) yang mengkatalisis reaksi dismutasi O₂⁻ :



Penimbunan H₂O₂ dicegah melalui aktifitas dua jenis enzim, yaitu :

- a. Katalase, yang mengkatalisis reaksi dismutasi H₂O₂ :



- b. Peroksidase, yang mengkatalisis reaksi sebagai berikut :



Diantara berbagai peroksidase, yang paling penting adalah Glutation Peroksidase (GSP_x), yang mengkatalisis reaksi :

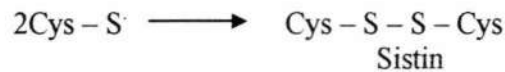


Apabila radikal hidroksil masih saja terbentuk, masih ada sarana lain untuk meredamnya, tanpa memberi kesempatan untuk memulai reaksi rantai dengan melibatkan senyawa – senyawa yang mengandung gugusan sulfhidril seperti glutation dan sistein :

Glutation (GSH) :



Sistein (Cys – SH)



2. Anti Oksidan Pemutus Reaksi Rantai (Chain – Breaking Anti Oxidants)

Dalam kelompok antioksidan ini termasuk vitamin E (Tokoferol), vitamin C (Asam Askorbat). β - karoten dan dua senyawa yang juga berperan sebagai antioksidan pencegah, yaitu glutation dan sistein.

Vitamin E dan β - karoten bersifat lipofilik, sehingga dapat berperan pada membran sel untuk mencegah peroksidasi lipid. Sebaliknya vitamin C, glutation dan sistein bersifat hidrofilik dan berperan dalam sitosol.

Vitamin E sebenarnya terdiri dari empat senyawa, yaitu Alfa, Beta, Gamma dan Delta Tokoferol. Karena keberadaannya

dalam membran sel, vitamin E (Toc - H) dapat bereaksi dengan radikal lipid (L[•]) dan radikal peroksilipid (LOO[•])

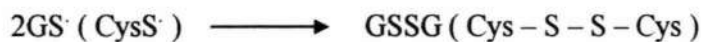


Radikal vitamin E (Toc[•]) tidak terlalu reaktif karena terjadinya resonansi. Meskipun demikian, radikal vitamin E perlu juga dihilangkan. Untuk ini ada tiga cara, yaitu :

- Radikal vitamin E mengalami reaksi - reaksi intramolekul menghasilkan senyawa non radikal.
- Setelah bergeser kearah permukaan molekul, radikal vitamin E bereaksi dengan vitamin C (ASc - H) dan menghasilkan radikal vitamin C (ASc[•])



- Radikal vitamin C kemudian dihilangkan melalui reaksi dismutasi yang menghasilkan vitamin C dan Dehidro - Asam Askorbat (DHAA). Radikal vitamin E dapat bereaksi dengan glutation atau sistein yang juga terdapat dalam sitosol.



Vitamin E hanya dapat berperan bila tekanan oksigen (PO₂) tinggi. Pada tekanan oksigen rendah, peranan vitamin E digantikan oleh β - karoten. Seperti halnya radikal vitamin E, radikal β - karoten

agak stabil karena adanya resonansi dalam molekulnya (Suryohudoyo P, 2001).

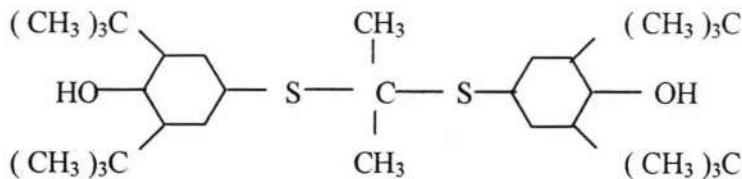
Pro – Oxidant	Anti – Oxidant
1. Hyperbaric oxygen	1. Antioxidant enzymes
2. Metals	- SOD, CAD, GP _x
- Overload	2. Antioxidant vitamins
- Decompartmentalization	A, C, E
3. Metabolik	3. Antioxidant lain
- Hiperglicemia	- Bilirubin
Glycation & AGE _s	- Glutathione
Polyol pathway activity	- Taurin
4. Immunological	- Ubiquinol
- Inflammation	- Urate
Complement activation	4. Metal sequestration
Autoimmune disease	- Albumin
- Phagocytosis	- Transferin
NADPH oxidase	- Ferritin
Mieloperoxidase	- Hemopexin
5. Drugs e xenobiotics	5. Faktor makanan
- Smoking	- Flavonoids
- Alcohol	- Micronutrients
	Selenium

Gambar 2.1 Beberapa Faktor Yang Menentukan Status Stress Oksidatif Dalam Sistem Biologi (Sumber : John W Baynes, *et al*, 2000)

2.4. Antioksidan Probuocol

2.4.1. Struktur kimia

Probuocol mengandung dua molekul tertiary butylatedhydroxytoluene yang dihubungkan dengan jembatan sulfur-carbon-sulfur, strukturnya dianalogkan dengan t.butyl-hydroxytoluene yang merupakan antioksidan BHT, umumnya digunakan sebagai food additive (Gilman G, 1995). Struktur Probuocol sebagai berikut :



Gambar 2.2 Struktur kimia Probuocol

(Sumber : Evan CR, *et al*, 1992; Gilman G, 1995)

2.4.2. Sifat kimia fisik

Probuocol berupa serbuk kristal putih, tidak larut dalam air tetapi larut dalam alkohol, spirtus, sangat larut dalam kloroform dan propil alkohol, dan harus terlindung dari sinar matahari (Reynolds JEF, 1993).

2.4.3. Mekanisme kerja

Penurunan kadar LDL dihubungkan dengan peningkatan kecepatan pembersihan LDL dari plasma. Pada individu normal pembersihan terjadi lewat reseptor LDL. Pembersihan LDL oleh Probuocol lewat mekanisme reseptor independen. Probuocol menginduksi perubahan komposisi LDL sehingga

menyebabkan peningkatan kecepatan pembersihan LDL. Efek penurunan kadar koleserol HDL oleh Probucol belum diketahui dengan jelas. Studi kinetik mengatakan bahwa Probucol menginduksi penurunan kecepatan produksi Apo A-1. Disamping itu Probucol juga meningkatkan jumlah dan aktivitas Cholesterol Ester Transfer Protein (CETP) yang mengakibatkan transfer ester koleserol HDL pada lipoprotein lain untuk masuk kedalam hati. Probucol meningkatkan pengangkutan koleserol roden yang disebut “ *Selective Uptake Pathway* “ yang memperantarai pengangkutan koleserol dari lipoprotein pada sel independen untuk uptake partikel lipoprotein (Gilman G, 1995).

Mekanisme dari Probucol menurunkan kadar HDL dan efeknya pada Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP) menunjukkan bahwa terapi dengan Probucol dapat meningkatkan kadar CETP mRNA dan aktivitas CET spesifik pada hCETP-CHO cel line, dan juga Probucol dapat meningkatkan pengeluaran koleserol dari hCETP-CHO yang dapat menyebabkan penurunan kadar koleserol interseluler (Ou J, Saku K, *et al.*, 1998).

2.4.4. Probucol sebagai antioksidan

Probucol adalah komponen antioksidan lipofilik yang poten. Perkembangan sebagai antioksidan digunakan dalam pabrik atau industri “ tires “, tetapi Probucol mempunyai aktivitas penurunan kadar koleserol dan mulai dipasarkan selama beberapa tahun ini untuk agen hipolipidemi. Potensinya sebagai antioksidan ditemukan sekitar tahun 1986 dan tahun 1987 dilaporkan bahwa Probucol dapat menghambat atherosklerosis pada kelinci. Efek

aktivitasnya sebagai antioksidan dihubungkan dengan kemampuannya menghambat atau melindungi LDL dari oksidasi (Gilman G, 1995).

Probucol dapat mengurangi oksidasi LDL yang dapat mengganggu sintesis dari PG12. Hasil ini menunjukkan bahwa Probucol dapat memberikan keuntungan dalam pencegahan atherosklerosis oleh adanya intervensi adhesi monosit pada sel endotel. Efek ini dihubungkan dengan pengaruh oksidasi LDL dalam menginduksi ekspresi P-selektin dan mencegah sintesis PG12 (Li LX, Chen JX, *et al.*, 1998).

Oksidasi LDL memainkan peran pada proses atherogenesis, mekanisme efek biologi dari oksidasi LDL ini secara *invivo* berhubungan dengan aktivasi dari faktor transkripsi nuklear kappa B dalam endotel, seperti juga ekspresi endotel pada intercelluler adhesion molekul-1. Pada pemberian injeksi LDL bersama dengan antioksidan Probucol menunjukkan adanya akumulasi apolipoprotein B di dalam arteri tetapi ekspresi dari oksidasi LDL-spesifik epitope mengalami penurunan dalam waktu 24 jam (Calara F, Dimayuga P, *et al.*, 1998).

Antioksidan Probucol tidak hanya mencegah oksidasi LDL tetapi LDL juga dapat menginduksi sekresi ET-1 pada sel endotel pembuluh darah. Peningkatan Ca^{2+} dari sel endotel akan membuka "voltage dependent Ca^{2+} channel", untuk menginduksi pelepasan ET-1 (Chen TH, Tseng HP, *et al.*, 1998).

Data terbaru menunjukkan bahwa pengobatan dengan Probucol dapat mencegah superoksida anion radikal yang dapat menginduksi inaktivasi EDRF dan menurunkan stress oksidatif melalui penurunan kadar anion radikal superoksida (Inoue N, Ohara Y, *et al.*, 1998).

2.4.5. Farmakokinetika

Absorpsi Probucol dipengaruhi oleh kandungan lemak dalam diet, konsentrasi puncak dalam darah meningkat jika obat diberikan bersama makanan. Probucol di transport kedalam celah hidrophobik partikel lipoprotein yang kaya partikel LDL. Dalam jaringan lemak Probucol sebagai partisi. Pemakaian selama 4 bulan tidak memperlihatkan peningkatan kadar puncak dalam plasma. Efek pada kadar lipoprotein khususnya HDL dapat dilihat selama 6 bulan. Ekskresinya sebagian besar lewat empedu. Probucol tersedia untuk pemberian oral, dose 500 mg 2X sehari bersama makanan (Reynolds JEF, 1993; Gilman G, 1995).

2.4.6. Penggunaan terapi

Probucol digunakan dalam pengobatan hiperkholesterolaemia dengan mekanisme kerjanya meningkatkan pembersihan (clearans) HDL dan LDL kholesterol dari sirkulasi tanpa mempengaruhi trigliserida dengan meningkatkan ekskresi kholesterol dari empedu. Probucol mempunyai efek antioksidan pada proses atherogenik karena oksidasi LDL dalam jumlah tinggi akan mudah masuk kedalam dinding arteri sehingga Probucol dapat menghambat ateroma dengan tidak tergantung efeknya pada lipid darah (Opia HL, 1991; Reynolds JEF, 1993; Gilman G, 1995).

Efek Probucol menurunkan kadar kholesterol plasma tanpa mempengaruhi kadar trigliserida, penurunan kadar kholesterol LDL cukup bervariasi, pada sebagian besar subyek penurunan antara 20% atau lebih. Penggunaan sebagai agen tunggal rata – rata penurunannya antara 10 – 15%. Sedangkan penurunan

kadar kolesterol HDL cukup konstan dan rata – rata penurunannya antara 20 – 30% (Gilman G, 1995).

2.5. Diabetes Melitus

Diabetes melitus adalah suatu kelompok penyakit metabolik yang disifati oleh adanya hiperglikemi yang disebabkan oleh kelainan sekresi insulin, gangguan kerja insulin, atau keduanya. Keadaan hiperglikemi yang kronik pada diabetes melitus dapat mengakibatkan terjadinya komplikasi kronik beberapa alat tubuh, terutama mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah. Sesuai dengan perkiraan WHO pada tahun 2000, jumlah penderita diabetes melitus di seluruh dunia akan mencapai 120 juta orang. Pada tahun 2025 diperkirakan jumlah penderita diabetes di seluruh dunia akan mencapai 300 juta orang, jumlah penderita yang meningkat terutama terjadi di benua Asia, Afrika dan Amerika Selatan (John MF Adam, 2001).

Tidak semua penderita diabetes melitus memberikan keluhan yang dapat membawa penderita mengunjungi dokter untuk berobat. Hampir 50% dari penderita diabetes melitus type II ditemukan secara kebetulan, yang tidak jarang pada saat ditemukan sudah disertai komplikasi kronik. Oleh karena itu deteksi dini penderita diabetes melitus merupakan salah satu cara untuk mengobati sedini mungkin dengan harapan dapat mencegah terjadinya komplikasi kronik (John MF Adam, 2001).

2.5.1. Klasifikasi dan kriteria diabetes melitus

Klasifikasi diabetes melitus berubah dari tahun ke tahun. Baru pada akhir tahun 1979, Nasional Diabetes Data Group (NDDG) membuat suatu klasifikasi baru (tabel 2.1). Pada tahun 1985 WHO merubah klasifikasi lama dengan menambahkan satu bentuk diabetes melitus yang baru dikenal dengan nama diabetes melitus malnutrisi (tabel 2.2).

Klasifikasi DM yang dipakai oleh Perkumpulan Endokrinologi Indonesia (PERKENI) saat ini mengacu pada klasifikasi American Diabetes Association 1997, yaitu :

1. Diabetes tipe 1

Destruksi sel beta, umumnya menjurus ke defisiensi insulin absolut.

2. Diabetes tipe 2

Bervariasi mulai yang terutama dominan resisten insulin disertai defisiensi insulin relatif sampai yang terutama defek sekresi insulin disertai resistensi insulin.

3. Diabetes tipe lain

A. Defek genetik fungsi sel beta

- Maturity Onset Diabetes of The Young (MODY)

- DNA mitokondria

B. Defek genetik kerja insulin

C. Penyakit eksokrin pankreas

Pankreatitis, Tumor / Pankreatektomi, Pankreatopati, Fibrokalkulus

D. Endokrinopati

Akromegali, Sindroma Cushing, Faeokromositoma, Hipertiroidism

E. Karena obat / zat kimia

Vacor, Pentamidin, Asam Nikotinat, Glukokortikoid, Hormon Tiroid

F. Infeksi

Rubella Kongenital, Cytomegalo Virus

G. Sebab imunologi yang jarang

Antibodi anti insulin

H. Sindroma genetik lain yang berkaitan dengan DM

Sindroma Down, Sindroma Klinefelter, Sindroma Turner, dll

4. Diabetes Melitus Gestational (Hendromartono, 2001).

Tabel 2.1 Klasifikasi Diabetes Melitus menurut NDDG 1979

- Diabetes Melitus
Diabetes Melitus tergantung insulin (DMTI = tipe 1)
Diabetes Melitus tidak tergantung insulin (DMTTI = tipe 2)
Diabetes Melitus bentuk lain
- Toleransi glukosa terganggu
- Diabetes Melitus Gestasional

Tabel 2.2 Klasifikasi Diabetes Melitus menurut WHO 1985

- Diabetes Melitus tergantung insulin
- Diabetes Melitus tidak tergantung insulin
- Diabetes Melitus Malnutrisi
- Diabetes Melitus bentuk lain
- Toleransi glukosa terganggu
- Diabetes Melitus Gestasional

Tabel 2.3 Klasifikasi Diabetes Melitus menurut American Diabetes Association 1997

- Diabetes Melitus tipe 1
 Autoimmun dan Idiopatik
- Diabetes Melitus tipe 2
- Diabetes Melitus tipe lain
- Diabetes Melitus Gestasional

Tabel 2.4 Kriteria Diagnosis Diabetes Melitus menurut American Diabetes Association 1997

1. Adanya keluhan atau tanda klinis khas diabetes melitus, cukup diperiksa kadar glukosa plasma sewaktu (plasma vena), dinyatakan diabetes melitus bila ≥ 200 mg / dl.
atau
2. Kadar glukosa plasma puasa (plasma vena) ≥ 126 mg / dl. Puasa berarti tidak ada masukan kalori sejak 10 jam terakhir.
atau
3. Kadar glukosa plasma ≥ 200 mg / dl pada 2 jam sesudah beban glukosa 75 gram pada Tes Toleransi Glukosa Oral.

Tabel 2.5 Kriteria Diagnosis Diabetes Melitus menurut WHO 1999

1. Adanya keluhan atau tanda klinis khas diabetes melitus, cukup diperiksa kadar glukosa plasma sewaktu (plasma vena), dinyatakan diabetes melitus bila ≥ 200 mg / dl.
atau
2. Kadar glukosa plasma puasa (plasma vena) ≥ 126 mg / dl. Puasa berarti tidak ada masukan kalori sejak 10 jam terakhir.
atau
3. Kadar glukosa plasma ≥ 200 mg / dl pada 2 jam sesudah beban glukosa 75 gram pada Tes Toleransi Glukosa Oral.

Tabel 2.6 Kelompok Resiko Tinggi Diabetes Melitus

- Semua orang dewasa berumur ≥ 45 tahun
- Riwayat keluarga Diabetes Melitus, terutama orang tua dan saudara kandung
- Obesitas, yaitu $> 20\%$ berat badan ideal atau $IMT > 27 \text{ Kg} / \text{m}^2$
- Sebelumnya pernah TGT atau GPPT
- Hipertensi, yaitu tekanan darah $\geq 140 / 90 \text{ mmHg}$
- Diabetes Melitus Gestasional sebelumnya atau pernah melahirkan bayi $> 4 \text{ Kg}$
- Dislipidemia, yaitu kadar HDL – kolesterol $\leq 35 \text{ mg} / \text{dl}$ dan atau trigliserida $\geq 250 \text{ mg} / \text{dl}$

2.5.2. Pengelolaan diabetes melitus

Tujuan pengelolaan jangka pendek pada penderita diabetes melitus adalah menghilangkan keluhan atau gejala diabetes melitus dan mempertahankan rasa nyaman dan sehat, sedangkan tujuan jangka panjangnya adalah mencegah penyakit, baik makroangiopati, mikroangiopati maupun neuropati, dengan tujuan akhir menurunkan morbiditas dan mortalitas diabetes melitus. Cara yang harus ditempuh untuk mencapai tujuan diatas adalah menormalkan kadar glukosa darah, lipid dan insulin disamping mengelola keadaan lain seperti hipertensi dan obesitas.

Secara garis besar pengelolaan diabetes melitus dibagi menjadi 5 (Pentalogi Diabetes Melitus), yaitu :

1. Pengaturan makan
2. Latihan fisik
3. Penyuluhan
4. Obat berkhasiat hipoglikemik
5. Cangkok pankreas

Dalam praktek sehari – hari, ternyata 15% penderita diabetes melitus dapat diregulasi dengan diet saja, 15% memerlukan insulin, sedangkan 70% memerlukan obat hipoglikemik oral disamping pengaturan makan dan latihan fisik (Hendromartono, 2001).

Berdasarkan cara kerjanya, obat hipoglikemik oral yang beredar di Indonesia dapat dibagi menjadi :

- a. Menurunkan absorpsi karbohidrat
 - Acarbose
 - Metformin
- b. Meningkatkan sekresi insulin
 - Sulfonilurea : glibenclamide, glipizide, gliclazide, gliquidone, glimepiride
 - Non Sulfonilurea : Nateglinide, Repaglinide
- c. Menurunkan produksi glukosa hepar
 - Metformin

- d. Meningkatkan ambilan glukosa perifer
- Sulfonilurea : glibenclamide, glipizide, gliclazide, gliquidone, glimepiride
 - Metformin
 - Thiazolidinediones (Hendromartono, 2001)

2.5.3 Sintesis insulin

Insulin disintesis pada Retikulum Endoplasma (RE) sel – sel β pulau langerhans, yaitu jaringan endokrin pada pankreas. Sintesis insulin dikendalikan oleh gen insulin yang terdiri dari dua intron dan tiga ekson. Insulin disintesis dalam bentuk pendahulu (precursor), yaitu preproinsulin. Segera setelah preproinsulin selesai disintesis, urutan pre dipotong oleh enzim yang disebut peptidase sinyal (signal peptidase). Hasilnya adalah proinsulin (urutan pre selalu terbentuk pada setiap protein yang disintesis pada retikulum endoplasmik). Setelah melalui perangkat golgi (golgi apparatus) akhirnya proinsulin tiba pada gelembung sekresi (sekretory vesicles). Dalam gelembung sekresi, proinsulin dipotong – potong oleh enzim peptidase : PCE₂, PCE₃ dan CPH menjadi insulin dan peptida sisa atau peptida C (PCE = Prohormon Converting Enzyme, CPH = Carboxy Peptidase Hormon).

Bila ada pemicu (misalnya glukosa darah yang meningkat), maka gelembung sekresi akan bergerak menuju membran plasma sel β , berfusi dan mengeluarkan insulin serta peptida C. Itulah sebabnya mengapa kadar peptida C dapat dipakai sebagai ukuran sekresi insulin (Guyton, 1991; Suryohodoyo P, 2001).

2.5.4 Transport glukosa

Glukosa adalah senyawa polar (larut dalam air) sehingga tidak dapat menembus membran plasma yang bersifat non polar (larut dalam minyak). Agar dapat menembus membran plasma, glukosa memerlukan suatu perangkat pengangkut (glucose transporter). Sampai saat ini diketahui ada lima jenis pengangkut glukosa yang dinamakan GLUT-1 sampai GLUT-5. GLUT-1 terdapat pada semua sel, sisanya hanya terdapat pada beberapa jenis sel saja. Yang penting peranannya adalah GLUT-2, merupakan pengangkut glukosa pada sel β pankreas dan GLUT-4 yang terdapat pada sel otot (miosit) dan sel lemak (liposit). Kedua jenis sel tersebut merupakan penyusun dua macam jaringan yang peka insulin (insulin sensitive).

Insulin diketahui meningkatkan jumlah GLUT-4 yang terpapar pada permukaan membran plasma miosit dan liposit. Jumlah GLUT-4 juga meningkat pada latihan (exercise). Itulah sebabnya penderita diabetes melitus dianjurkan berolah raga, karena latihan akan menurunkan kebutuhan insulin (Guyton, 1991; Suryohudoyo, 2001).

2.5.5 Sekresi insulin

Proses sekresi insulin berawal dari masuknya glukosa dengan bantuan GLUT-2. Setibanya di sitoplasma maka glukosa akan memasuki alur glikolisis dengan akibat meningkatnya kadar ATP (dan menurunnya kadar ADP) intrasel. Enzim pertama dalam sel β yang berperan dalam glikolisis adalah glukokinase. Rupanya enzim glukokinase merupakan enzim kunci dalam mekanisme sekresi insulin dan bertindak sebagai semacam sensor. Mutasi pada gen glukokinase,

diketahui merupakan penyebab MODY. ATP kemudian terikat pada suatu jenis saluran K^+ peka ATP (ATP-sensitive K^+ channel). Aktifasi ATP ini kemudian akan menutup saluran ion tersebut dengan akibat depolarisasi membran sel β (kadar K^+ intrasel lebih tinggi dari kadar K^+ ekstrasel, sehingga dalam keadaan “ biasa “ K^+ akan keluar sel). Depolarisasi membran sel selanjutnya akan membuka saluran Ca^{2+} peka voltase (voltage sensitive Ca^{2+} channel). Sebagai akibatnya, Ca^{2+} mengalir masuk kedalam sel (kadar Ca^{2+} ekstrasel lebih tinggi dari kadar Ca^{2+} intrasel). Kadar Ca^{2+} intrasel yang meningkat selanjutnya akan memicu pergerakan gelembung sekresi ke arah membran sel yang akhirnya menyebabkan sekresi insulin.

Ada beberapa catatan tambahan yang perlu diketahui, yaitu:

- a. Saluran K^+ peka ATP terhadap dua subunit, yaitu SUR (Sulfonyl Urea receptor) dan unit yang membentuk saluran, disebut Kir 6.2 (Kir berasal dari kata K inward rectifier channel, sedangkan angka 6.2 menunjukkan jenis Kir yang terdapat pada sel β). Sesuai dengan namanya SUR merupakan reseptor obat jenis sulfonyl urea. Obat jenis ini dapat menutup saluran Kir tanpa pengikatan ATP. Itulah sebabnya OHO (Obat Hipoglikemik Oral atau OAD Oral Antihyperglycemic Drug) jenis sulfonylurea dipakai untuk pengobatan DM T II.
- b. Pada manusia dan tikus (rat) sekresi insulin bersifat bifasik. Fase pertama langsung disebabkan oleh kenaikan kadar Ca^{2+}

intrasel akibat perubahan saluran Ca^{2+} , sedangkan fase kedua timbul karena kenaikan kadar Ca^{2+} intrasel meningkatkan kadar IP_3 (inositol trifosfat) yang selanjutnya melepaskan Ca^{2+} cadangan intrasel terutama retikulum endoplasma

c. Mekanisme pergerakan gelembung sekresi yang akhirnya menyebabkan sekresi insulin belum sepenuhnya diketahui tetapi diperkirakan analog dengan sekresi neurotransmitter pada sinapsis sel neuron. Yang sementara ini diketahui ialah bahwa proses ini memerlukan ATP (energi) dan melibatkan sejumlah protein tertentu yaitu :

- NSF (N – ethyl maleimide sensitive fusion protein)
- SNAP (Soluble NSF Attachment Protein)
- SNARE (SNAP Receptor)
- Rab (suatu monomeric G – protein).

(Guyton, 1991; Suryohudoyo P, 2001)

2.5.6 Aktifitas Insulin

Insulin diketahui mempengaruhi metabolisme karbohidrat, lipid dan protein. Pengaruh insulin pada metabolisme karbohidrat berupa pemicuan glikogenesis (sintesis glikogen) pada hati dan glikolisis pada jaringan otot dan lemak. Secara resiprokal, insulin menghambat proses – proses kebalikannya, yaitu proses – proses glikogenolisis (pembentukan glukosa dari glikogen) dan proses glukoneogenesis (pembentukan glukosa dari piruvat). Hiperglikemi pada DM

terjadi karena kekurangan insulin, dan hal ini memicu glikogenolisis dalam hati dan menghambat glikolisis dalam otot dan jaringan lemak.

Efek terhadap metabolisme lipid berupa pemicuan sintesis trigliserida (lipogenesis) dan menghambat hidrolisis trigliserida (lipolisis).

Efek insulin terhadap metabolisme karbohidrat dan lipid berlangsung melalui pengendalian enzim – enzim kunci yang berperan dalam masing – masing alur metabolisme. Pengendalian tersebut dapat berupa pengendalian aktifitas enzim atau pengendalian sintesisnya, serta dapat bersifat positif (memicu) atau negatif (menghambat).

Efek terhadap metabolisme protein pada umumnya bersifat memicu sintesis protein (efek anabolik) dengan beberapa pengecualian yaitu protein – protein tertentu sintesisnya justru dihambat (Guyton, 1991; Suryohudoyo P, 2001).

2.5.7 Mekanisme kerja insulin

Insulin adalah senyawa polar, sehingga tidak dapat menembus membran plasma. Agar insulin dapat melaksanakan aktifitasnya diperlukan suatu perangkat khusus berupa reseptor dan perangkat transduksi sinyal yang selanjutnya memberikan efek akhir (final effect).

Mekanisme kerja insulin secara garis besar dapat dibagi menjadi tiga bagian atau tahapan, yaitu tahap awal, tengah dan akhir.

Tahap awal dimulai dengan terikatnya insulin pada reseptornya. Reseptor insulin (IR, Insulin Receptor) terdapat dua subunit dan masing – masing subunit terdapat dua rantai peptida, yaitu peptida alfa (IR - α) yang mengikat insulin,

dan peptida beta (IR - β) yang meneruskan (mentransduksi) sinyal. Pengikatan insulin pada IR akan menimbulkan fosforilasi silang (cross phosphorylation) pada gugus – gugus tiroksin tertentu pada IR - β .

Tahap tengah. Pada tahap ini sinyal akan diteruskan (ditransduksi) melalui sejumlah protein tertentu yang sebagian merupakan enzim. Banyak yang belum jelas pada tahap ini. Fosforilasi gugus tiroksin pada IR - β menyebabkan aktifitas enzim seperti misalnya enzim Pi_3 – kinase (Fosfatidil – Inositol – 3 – kinase) dan PLC (fosfolipase – C), atau menyebabkan pengikatan protein lain. Transduksi sinyal yang paling lengkap diketahui adalah transduksi melalui protein ras. Alur ini melibatkan sejumlah protein, yaitu :

1. IRS – 1 (Insulin receptor – 1)
2. GRB – 2 (Growthfactor binding protein – 2)
3. GNRF (Guanin Nucleotide Releasing Factor) disebut juga SOS (Son Of Sevenless) berdasarkan nama yang diberikan pada saat ditemukan.
4. Ras : nama suatu onkogen yang kemudian ternyata menjadi suatu monomeric G – protein. G – protein dapat mengikat GTP (aktif) dan GDP (inaktif). Pacuan oleh GNRF menyebabkan aktifitas protein ras, karena protein ras melepaskan GDP dan menggantikannya dengan GTP.
5. Raf : suatu proto – onkogen yang kemudian ternyata menjadi suatu enzim dan disebut MAPKKK (MAP – kinase – kinase – kinase) pacuan oleh Ras GTP akan mengaktifkan protein Raf.

6. Mek, suatu proto – onkogen yang ternyata juga menjadi suatu enzim dan disebut MAPKK (MAP – kinase – kinase). Protein Raf yang telah teraktifasi akan memfosforilasi protein Mek dan mengaktifasinya.
7. MAPK (Mutagen Activated Protein Kinase).
8. Protein Mek yang telah teraktifasi akan memfosforilasi MAPK dan mengaktifasinya. MAPK yang telah teraktifasi selanjutnya mengaktifasi berbagai protein lain.

Tahap akhir, sebagian besar aktifitas insulin terjadi melalui proses fosforilasi – defosforilasi. Banyak enzim yang dipengaruhi insulin terdapat dalam dua bentuk, yaitu Enz – P (terfosforilasi) dan Enz (tak terfosforilasi). Salah satu diantaranya adalah bentuk aktif. Bila insulin memicu aktifitas bentuk Enz, maka aktifitas insulin akan memicu aktifitas suatu enzim fosfatase, sedangkan bila insulin memicu aktifitas enzim bentuk Enz – P maka aktifitas insulin akan memfosforilasi suatu protein kinase. Fosforilasi ini mungkin berlangsung dengan perantara MAPK atau suatu kinase lain yang dipengaruhi insulin melalui transduksi sinyal, seperti misalnya S6 kinase atau kasein kinase.

Efek terhadap translasi diperkirakan juga melalui proses fosforilasi eIF2B, suatu protein yang terlibat dalam proses inisiasi translasi (eIF2B = eukariotic initiation factor 2B). Sedangkan pengaruh terhadap proses transkripsi diperkirakan terjadi melalui fosforilasi suatu faktor transkripsi (TF, transcription factor). Bentuk terfosforilasi (TF.P) akan mengikat pada urutan pemicu (enhancer sequences) yang selanjutnya memicu transkripsi mRNA gen tertentu

atau mengikat pada urutan penekan (silencer sequences) yang akan menekan transkripsi (Guyton, 1991; Suryohudoyo P,2001).

2.6. Stres Oksidatif pada Diabetes Melitus

Banyak penelitian melaporkan bahwa kelebihan produksi senyawa oksigen reaktif (reactive oxigen species, ROS) berperan penting terhadap patogenesis penyakit pada manusia khususnya komplikasi pembuluh darah pada penderita Diabetes Melitus (Diabetic Vascular Complication). Retina, lensa, ginjal dan syaraf tepi adalah jaringan dimana pengambilan glukosa sangat tergantung insulin, karenanya jaringan tersebut lebih mudah terjadi Diabetic Vascular Complication. (Tjokroprawiro, 2001).

Diabetes Melitus telah diketahui menyebabkan peningkatan radikal bebas dan lipid peroksidasi, sehingga meningkatkan terjadinya stress oksidatif dan menimbulkan kerusakan jaringan. Menurut hypotesis Brownlee (2000), ada empat mekanisme terbesar yang menyebabkan kerusakan jaringan, yaitu :

1. Pembentukan Advanced Glication End Products (AGE Formation).
2. Pembentukan oksidan (Reactive Oxygen Species, ROS) melalui autooksidasi glukosa (Autogluco – Oxidation).
3. Pembentukan sorbitol melalui jalur Poliol (Poliol Pathway) yaitu aktivitas aldose Reduktase.
4. Aktivasi Diacylglycerol – Protein kinase C (DAG – PkC).

Lebih lengkap, hipotesa Tjokroprawiro (1999,2000) adalah ada tujuh efek toksik hiperglikemia pada penderita DM, yaitu :

1. Efek langsung dari hiperglikemia
2. Efek imunologi
3. efek Rheologi
4. Pelepasan sitokin
5. efek Glikasi
6. Pembentukan oksidan
7. Pembentukan sorbitol

Hiperglikemi dapat meningkatkan Diacylglycerol (DAG), selanjutnya terjadi aktivasi protein kinase C (PkC) terutama isoform β dan (Brownlee, 2000).

1. Aktifasi PkC meningkatkan produksi TGF β dan matriks ekstraseluler (collagen IV, Fibronectin), Penghambat Fibrinolisis (PAI - 1) dan ET - 1 sehingga terjadi Diabetic Vascular Complications.
2. PkC juga sebagai mediator aktifitas VEGF dan mengaktifasi P₅₃. Protein P₅₃ merangsang terjadinya kerusakan DNA dan diikuti dengan terjadinya apoptosis. Protein P₅₃ juga mengaktifasi P₂₁, yaitu protein yang bertanggung jawab pada pemberhentian siklus sel.

Kedua hal diatas berperan mempermudah terjadinya aterosklerosis pada DM. (Tjokroprawiro, 2001).

EFEK patologi dari AGE menurut hipotesa Tjokroprawiro (1999, 2000, 2001):

I. Efek Ikatan Protein

Ada enam macam ikatan AGE – protein :

1. p60 (AGE – R₁, 50 k D)
2. p90 (AGE – R₂, 80 k D)
3. Galectin – 3 (AGE – R₃, 32 kD)
4. RAGE (35 k D)
5. Scavenger Receptor Type I (220 k D)
6. Scavenger Receptor Type II (170 k D)

Ada 3 perbedaan fungsi pada ikatan AGE – protein :

1. Age uptake dan degradasi (p60, Scavenger Type I dan II)
2. Aktivasi sel (p90, Galectin – 3)
3. Aktivasi sel dan stres oksidatif (RAGE)

Hiperglikemi berhubungan dengan up – regulation Galectin – 3, dimana berpengaruh pada terjadinya Diabetic Vascular Complications, dengan perantara AGE – reseptor (AGE – R₃) dan memungkinkan terjadinya proses remodeling jaringan. Selanjutnya, ekspresi berlebih dari Galectin – 3 (AGE – R₃) berperan pada patogenesis kerusakan jaringan sasaran atau Diabetic Vascular Complications seperti yang terjadi pada patogenesis Nefropati Diabetik. (Pricci *et al*, 2000).

II. Efek Intrasel

AGE dapat merangsang endositosis makromolekul.

III. Interaksi molekul matriks

Interaksi sel<-> sel, matriks <-> matriks, matriks <-> sel.

IV. Efek ekstrasel

AGE dapat meningkatkan perlekatan monosit pada sel endotel.

Ada lima mekanisme stres oksidatif dalam menimbulkan hiperglikemi dan komplikasi Diabetik (vaskulopati, retinopati, neuropati dan nefropati). Stres oksidatif dapat menyebabkan :

1. Penurunan vasodilatasi yang tergantung NO, peningkatan Ca^{2+} sitosol, dan peningkatan proliferasi sel otot polos. Semua abnormalitas ini dipacu oleh stres oksidatif yang disebabkan oksidasi LDL dan bertanggung jawab pada terjadinya vaskulopati Diabetik.
2. Peningkatan oksidasi LDL yang distimulasi oleh efek ikatan AGE – protein dan efek AGE terhadap interaksi molekul matriks.
3. Perubahan Hemorheologi, aktivasi koagulasi dan hipoksia. Manifestasi ini juga distimulasi oleh efek ikatan AGE – protein dan efek AGE terhadap interaksi molekul matriks.
4. Penurunan Heparan Sulphate.
5. Penurunan konduksi syaraf (Nerve Conduction Velocity) dan penurunan aliran darah endoneural. (Giugliano *et al*, 1996)

Tabel 2.7 Ikatan AGE – Protein dan Lokasinya

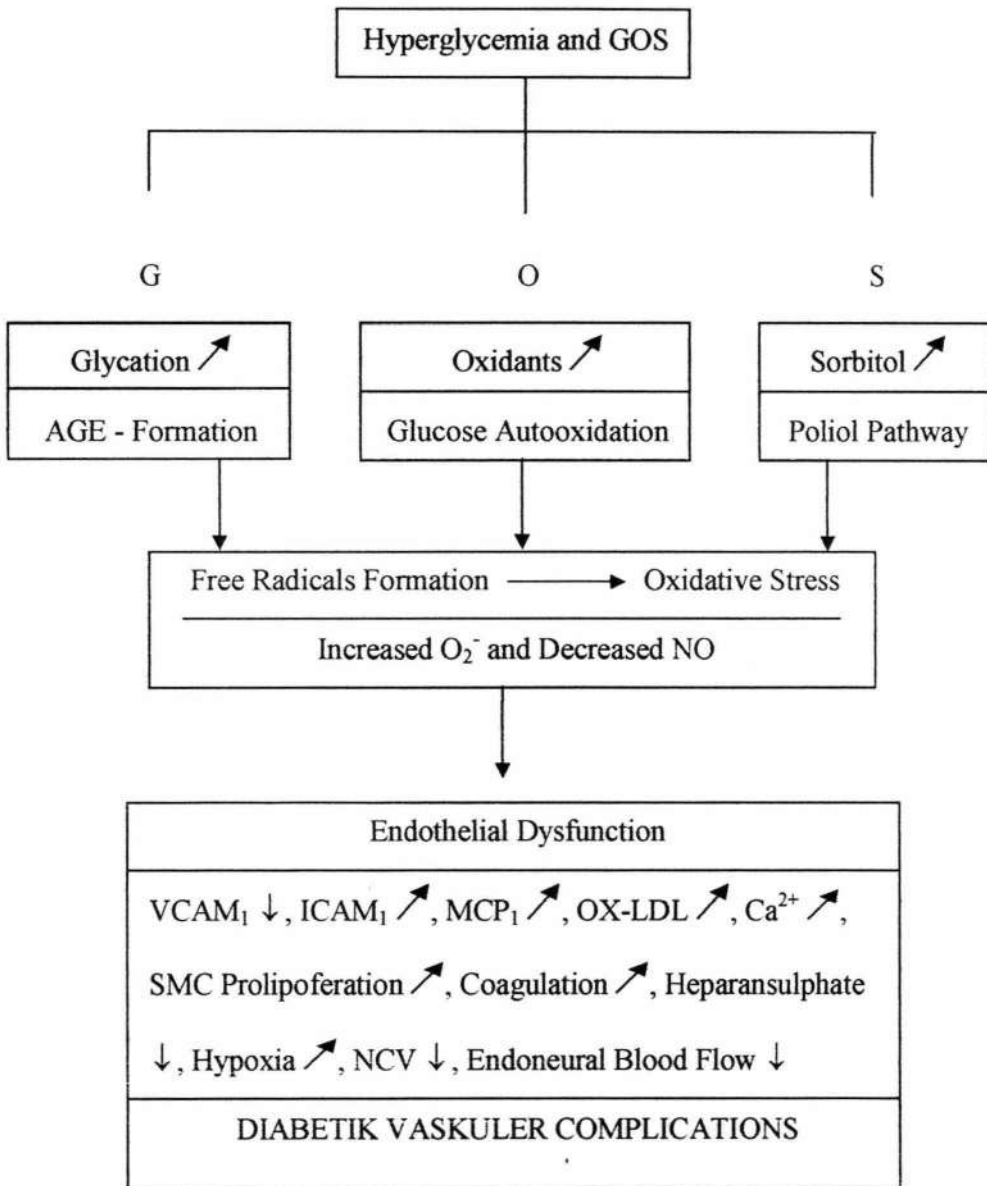
AGE binding proteins	Localization
1. AGE – R ₁ (OST – 48)	1. Monocytes / macrophages, endothelial cells, T Lymphocytes, mesangial cells, neurons
2. AGE – R ₂ (80 KH)	2. Monocytes / macrophages, endothelial cells, T Lymphocytes, Fibroblasts, mesangial cells, neurons
3. AGE – R ₃ (Galectin – 3 or GBP – 35)	3. Monocytes / macrophages, endothelial cells, T Lymphocytes
4. RAGE	4. Monocytes / macrophages, endothelial cells, smooth muscle cells, T Lymphocytes, mesangial cells, neurons, erythrocytes
5. Lactoferrin, Lysozyme	5. Endothelial cell
6. Fructosylline – spesifik binding protein	6. Monocytes
7. Macrophage scavenger receptor	7. Macrophages

(Sumber : Peter P Nawroth, *et al*, 2000)

Tabel 2.8 Peran AGE pada komplikasi diabetes

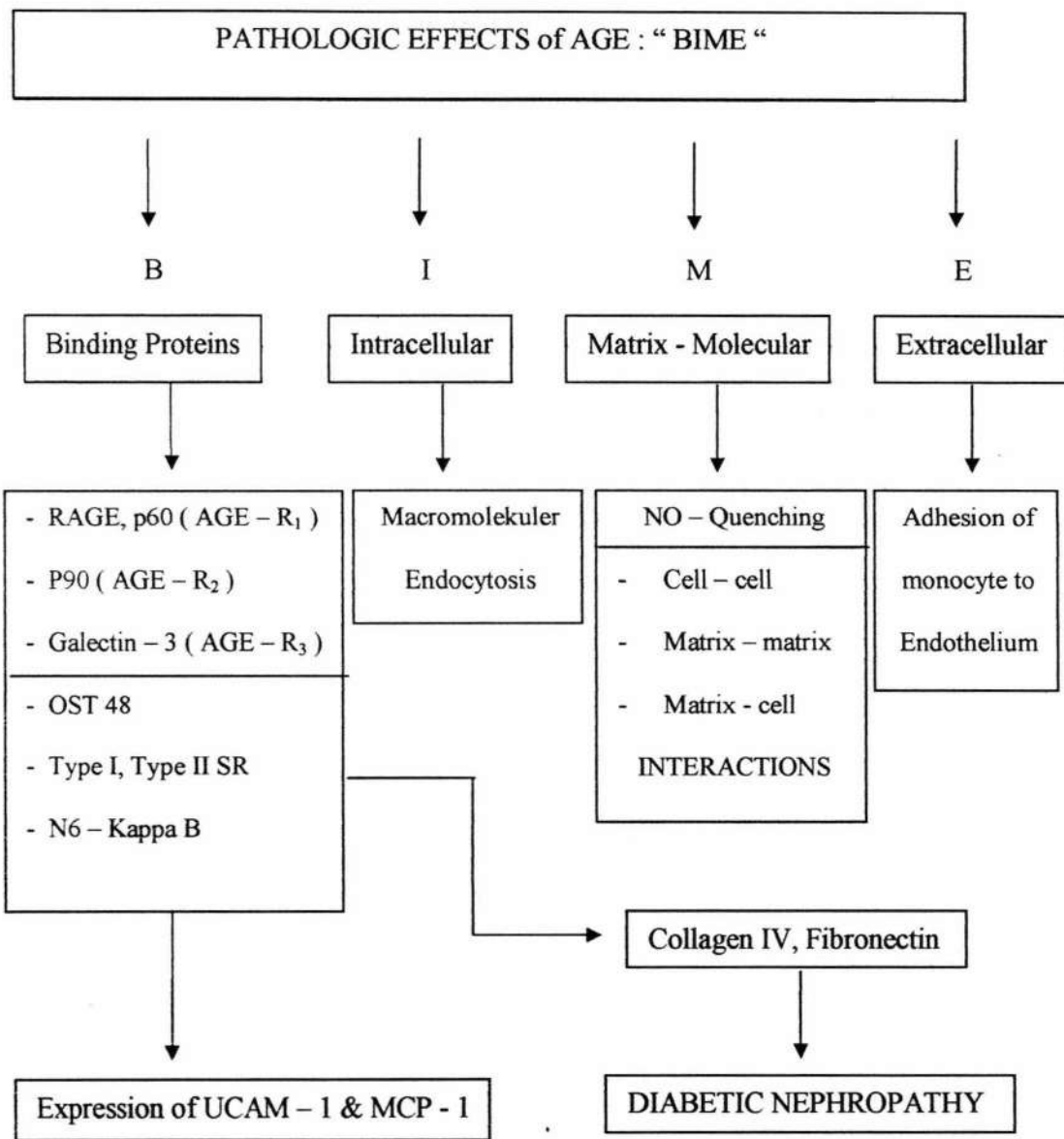
- Formation of HbA1c as a marker of production of AGE_s, poor glycemic control increases formation of AGE_s and AGE – dependent cell activation.
- Toxic effect of AGE_s on retinal endothelial cells and positive correlatoin between accumulation of AGE_s, expression on vascular endothelial growth factor, and nonproliferative and proliferative diabetic retinopathy.
- Inhibition of development of experimental diabetic retinopathy of aminoquanidine treatment.
- Excessive deposition of intra – and extracellular AGE_s in human diabetic peripheral nerve.
- Inhibition of AGE formation prevents diabetic peripheral nerve dysfunction.
- Accumulation of AGE_s in the Kidney of diabetic patients.
- Injection of AGE – albumin in normal rat induces symptoms of diabetic nephropathy.
- Blocking of AGE binding to RAGE reduces albuminuria.
- Inhibitor AGE_s reduces uriary albumin excretion, mesangial expansion and glomerular basement membrane thickening.

(Sumber : Peter P Nawroth, *et al*, 2000)

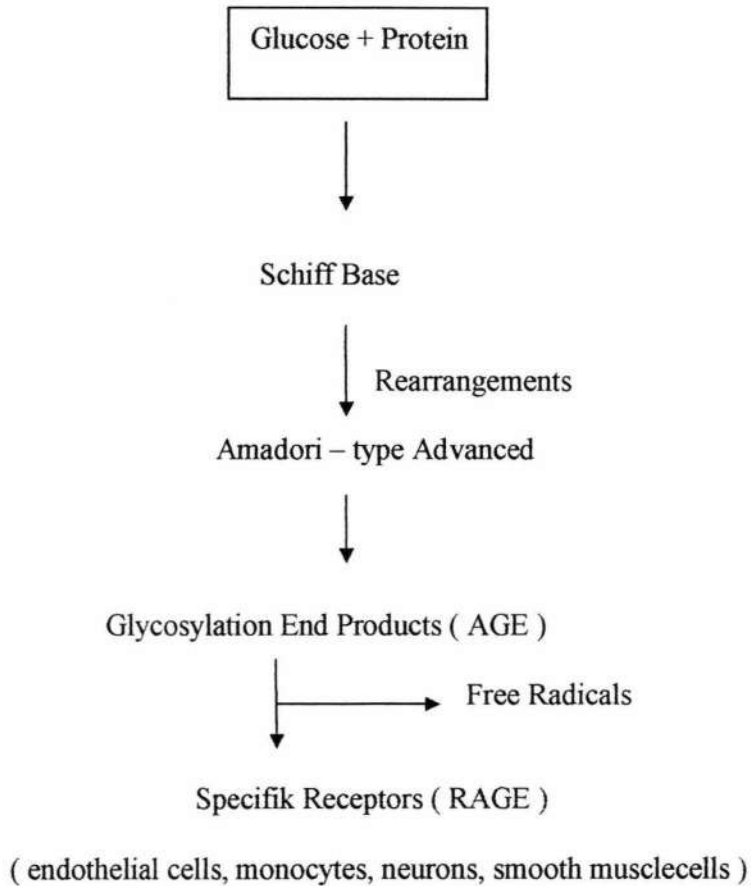


Gambar 2.3 Stres oksidatif dan komplikasi vaskuler diabetik

(Sumber : Tjokprawiro, 2001)

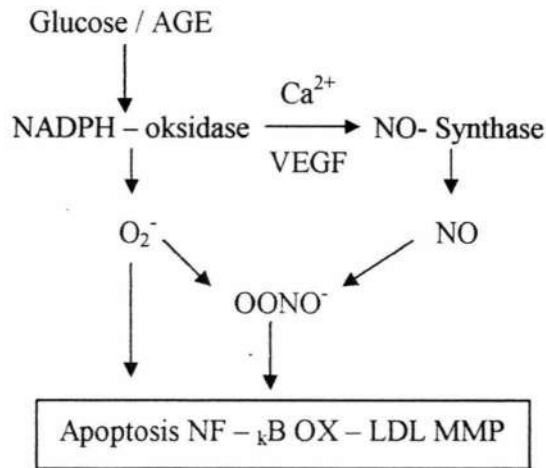


Gambar 2.4 Efek patologi AGE “ BIME “ (Sumber : Tjokroprawiro 2001)



Gambar 2.5 Produksi AGE interaksi AGE dengan reseptor spesifik (RAGE) membentuk radikal bebas
(Sumber : Kusterer, *et al*, 2000)

Glukosa dan protein menghasilkan produk glikosilasi berupa AGE. AGE akan berinteraksi dengan reseptor spesifik (RAGE) menghasilkan radikal bebas.



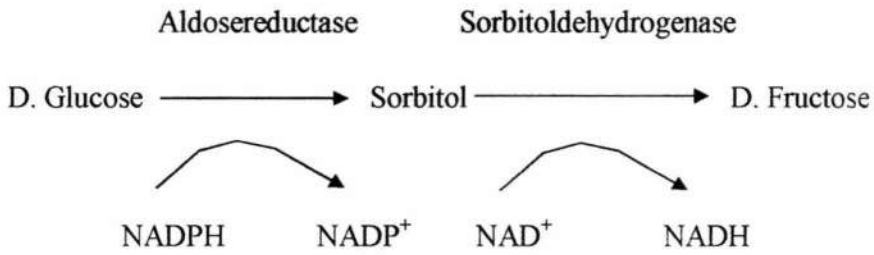
Gambar 2.6 Pembentukan senyawa oksigen reaktif

AGE	: Advanced Glycosylation End Products
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
OX - LDL	: Oxidation - LDL
NF - kB	: Nuklear transcription Factor kappa B
MMP	: Metalloproteinase

(Sumber : Peter Rosen, *et al*, 2000)

Hiperglikemi menyebabkan pembentukan AGE. Terjadi aktivasi NADH oksidase endotel sehingga menyebabkan pelepasan superoksida anion. Superoxide anion bereaksi dengan Nitric oxide membentuk peroxynitride. Peroxynitride mencegah terjadinya vasodilatasi dan menimbulkan efek sitotoksik pada vaskuler [aktivasi nuklear transcription Factor kappa - B (NF - kB)] dan induksi apoptosis.

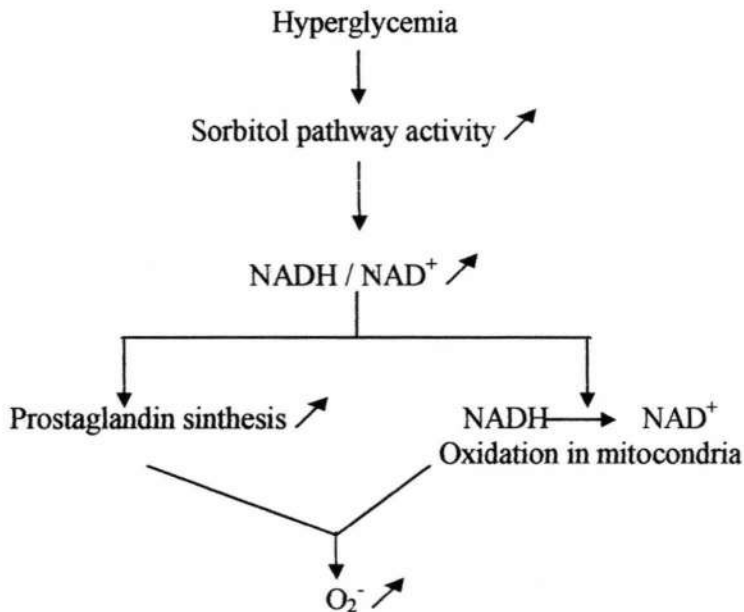
Peroxynitride juga meningkatkan terjadinya oksidasi LDL dan mengaktivasi metallo proteinase.



Gambar 2.7 Jalur Sorbitol

(Sumber : Kusterer, *et al*, 2000)

Glukosa diubah menjadi sorbitol oleh aldosereduktase. Sorbitol dioksidasi oleh sorbitol dehydrogenase menjadi fruktose bersamaan dengan reaksi reduksi NAD⁺ menjadi NADH di sitosol. Peningkatan rasio NADH / NAD⁺ berakibat pseudohipoksia.



Gambar 2.8 Hiperglikemi mengaktifkan jalur Sorbitol

(Sumber : Kusterer, *et al*, 2000)

Hiperglikemi mengaktifkan jalur Sorbitol. Oksidasi sorbitol meningkatkan rasio NADH / NAD⁺ di sitosol sehingga terjadi peningkatan sintesa prostaglandin yang berakibat produksi radikal bebas. Di Mitokondria terjadi oksidasi NADH melalui transport elektron dan terbentuk O₂⁻.

2.7 Nefropati Diabetik

Nefropati Diabetik adalah salah satu manifestasi mikroangiopati diabetik atau permulaan mikroangiopati diabetik pada ginjal, sebagai penyulit Diabetes Mellitus tipe I maupun tipe II, dengan tanda – tanda : mikroproteinuria intermiten kemudian persisten dan makroproteinuria yang kemudian disusul dengan penurunan fungsi ginjal yang bertahap dan hipertensi, yang perjalanannya progresif menuju ke stadium akhir dari gagal ginjal. (Bidaya dan Tjokropawiro, 1987).

Dalam pengertian patologi anatomi, Menurut Robbins, 1999, Ginjal merupakan sasaran utama diabetes melitus. Tiga lesi yang terjadi adalah 1) Lesi Glomerulus 2) Lesi Pembuluh Darah Ginjal terutama arteriolosklerosis dan 3) pyelonefritis.

Lesi glomerulus yang paling utama adalah penebalan basal membran kapiler glomerulus, glomerulosklerosis difusa dan glomerulosklerosis nodular. Perubahan penebalan basal membran kapiler glomerulus dapat dideteksi dengan mikroskop elektron pada diabetes yang onsetsnya belum terlalu lama, bahkan kadang tanpa disertai perubahan fungsi ginjal (Robbins, 1999).

Glomerulosklerosis difusa terjadi karena meningkatnya matriks mesangial yang disertai proliferasi sel mesangial dan selalu didahului dengan penebalan basal membran glomerulus. Hal ini didapatkan pada DM yang lebih dari 10 tahun. Apabila sudah terjadi glomerulosklerosis, penderita mengalami sindroma nefrotik yang ditandai dengan proteinuria, hipoalbuminemia dan edema. Deposisi matriks mesangial adalah PAS positif artinya bisa dideteksi dengan pengecatan PAS (Robbins,1999)

Glomerulosklerosis nodular disebut juga sebagai glomerulosklerosis interkapiler atau penyakit Kimmelstiel Wilson. Lesi glomerulus ditandai dengan adanya bentukan spherical dan masa hyalin pada tepi glomerulus. Nodul glomerulosklerosis adalah PAS positif dan mengandung lipid dan fibrin (Robbins, 1999).

Diabetes Mellitus, terutama yang tidak terkontrol dengan baik, dapat menimbulkan perubahan struktur dan fungsi ginjal. Kelainan patologik dari endotel, membrana basalis glomerulus dan mesangium akibat dari DM adalah sangat penting pada Nefropati Diabetik (Bidaya dan Tjokrowiro, 1987).

Penderita DM mempunyai kecenderungan sebanyak 17 kali lebih mudah mengalami gagal ginjal dibandingkan populasi normal. Dilaporkan 48 % penderita Juvenile Onset Diabetes yang meninggal dunia disebabkan karena penyakit ginjal. Sebanyak 20 % dari penderita DM yang telah diteliti mengalami uremia (Bidaya dan Tjokrowiro, 1987).

Patogenesis Nefropati Diabetik sejalan dengan patogenesis DM pada umumnya, dan mikroangiopati pada khususnya. Beberapa kejadian memegang

peranan penting, yaitu kelainan pada endotel, membrana basalis glomerulus dan mesangium, serta meningkatnya kompleks imun pada penderita DM (Bidaya dan Tjokropawiro, 1987).

Pada DM yang terawat jelek atau hiperglikemia, endotel akan membengkak akibat timbunan sorbitol dan fruktosa, sehingga faal endotel terganggu, dengan akibat celah endotel bertambah luas dan timbullah proteinuria. Disamping itu juga mudah timbul agregasi trombosit akibat sintesis Faktor VIII yang meningkat, PGI_2 (anti agregan) menurun dan aktivator plasminogen menurun (Bidaya dan Tjokropawiro, 1987).

Diabetes Mellitus juga menyebabkan terjadinya penebalan membrana basalis glomerulus sebagai akibat dari deposisi kolagen tipe I, III, IV dan glikoprotein, serta menurunnya kadar glikosaminoglikans dan sistein, sehingga menyebabkan hilangnya sifat anionik dari membrana basalis glomerulus yang mengakibatkan permeabilitasnya meningkat dan timbul albuminuria. Albuminuria akan meningkat bila tekanan intraglomerular meningkat, misalnya pada latihan dan hipertensi. Dikatakan, setelah 2 tahun mengidap DM, membrana basalis glomerulus menebal kurang lebih 15 %, sesudah 5 tahun 30 %, dan setelah 20 tahun penebalan menjadi dua kali lipat (Bidaya dan Tjokropawiro, 1987).

Pada Diabetes Mellitus, produksi matriks mesangium meningkat, sehingga pelebaran mesangium terjadi dengan akibat permukaan filtrasi efektif mengecil. Pada DM dengan gangguan faal ginjal yang lanjut, maka permukaan tersebut semakin mengecil dan akhirnya glomeruli tidak berfungsi lagi (Bidaya dan Tjokropawiro, 1987).

Sering dilaporkan bahwa kompleks imun (Ag – Ab) pada DM meningkat. Endapan kompleks Ag – Ab ini banyak didapatkan pada membrana basalis glomerulus dan mesangium. Dalam keadaan normal kompleks ini dibersihkan oleh fagosit (RES) dan sel – sel mesangium, sedangkan pada DM keadaan RES dan sel mesangium kurang mampu membersihkannya, dengan akibat matriks mesangium bertambah lebar dan permukaan filtrasi efektif bertambah sempit (Bidaya dan Tjokrowiro, 1987).

Kelebihan kompleks imun didalam darah juga akan merangsang sistem komplemen dan faktor – faktor koagulasi, sehingga memacu terjadinya mikroangiopati DM yang berarti Nefropati Diabetik akan timbul atau bertambah berat. Kompleks imun yang berlebihan pada DM juga akan merangsang sintesis Tromboksan A₂ di trombosit, sehingga mudah terjadi agregasi trombosit. (Bidaya dan Tjokrowiro, 1987).

Menurut Keen dan Viberti, perubahan ginjal akibat DM dapat dibagi dalam tiga fase :

1. Fase perubahan fungsional

Merupakan perubahan yang paling awal, dan terdiri dari :

- a. hiperperfusi
- b. mikroproteinuria
- c. nefromegali

Perubahan ini terjadi dalam minggu – minggu atau bulan – bulan pertama setelah permulaan DM.

2. Fase perubahan struktural

Pada fase ini telah terjadi perubahan histopatologik pada ginjal, berupa:

- a. penebalan membrana basalis
- b. pelebaran mesangium
- c. perubahan arterioler pada glomerulus

3. Fase klinik

Merupakan fase akhir yang akan memberi gejala klinik, berupa :

1. makroproteinuria
2. hipertensi
3. penurunan fungsi glomerulus
4. kegagalan ginjal progresif (Bidaya dan Tjokropawiro, 1987).

Perubahan pada fase 1 bersifat reversibel, pada fase 3 irreversibel, sedangkan reversibilitas fase 2 masih belum diketahui dengan pasti.

Pada umumnya akan terjadi progresi dari satu fase ke fase berikutnya.

Dikatakan, perpindahan dari fase 2 ke fase 3 hanya terjadi pada 30 % kasus. Faktor – faktor apa yang menentukan kecepatan perubahan ini belum diketahui dengan pasti (Bidaya dan Tjokropawiro, 1987).

Menurut kronologinya, Nefropati Diabetik dapat dibagi menjadi Nefropati Diabetik akut dan kronik, yang keduanya mempunyai patogenesis yang agak berbeda.

Sifat – sifat Nefropati Diabetik Akut :

- proses akut, dapat ditemukan pada penderita yang baru saja mengidap DM (bahkan baru 2 - 4 minggu mengidap DM)
- hipertrofi glomerulus (nefromegali) dengan permukaan filtrasi efektif yang bertambah luas.
- GFR meningkat
- permulaan penebalan membrana basalis glomerulus
- albuminuria
- retinopati : dengan funduskopi negatif, tetapi masih ditemukan (walaupun minimal) dengan Fundal Fluorescent Angiography.
- Reversibel

Sifat – sifat Nefropati Diabetik Kronik :

- proses kronik dari mikroangiopati DM (kebanyakan setelah mengidap DM lebih dari 2 tahun, tetapi untuk beberapa kasus dapat timbul sebelum 2 tahun)
- glomerulus mengecil
- GFR menurun
- Penebalan membrana basalis glomerulus
- Gangguan faal endotel
- Pelebaran mesangium, permukaan filtrasi efektif mengecil
- Albuminuria intermiten akhirnya persisten (mula – mula mikro kemudian makroproteinuria)
- Retinopati positif (dengan funduskopi dan FFA)

- Menurut patologi anatominya, dibagi :
 1. Glomerulosklerosis Noduler (Kimmelstiel – Wilson, 1936), suatu glomerulosklerosis interkapiler; bentuk noduler inilah yang khas untuk DM.
 2. Glomerulosklerosis Difus (Fahr, 1942), terutama menunjukkan penebalan membrana basalis glomerulus.
 3. Glomerulosklerosis Eksudatif (Spuhler – Zollinger, 1943), menunjukkan lesi eksudatif atau “ fibrin cap “ atau “ capsular drop “.

Adapun multifaktor yang diduga ikut berperan pada Nefropati Diabetik adalah : faktor genetik, hiperglikemia, hiperlipidemia, hipertensi, latihan, kompleks imun, nikotin, virus – bakteri, homosistein (Bidaya dan Tjokroprawiro, 1987).

2.8. Stress oksidatif pada nefropati diabetik

Secara klinis kelainan mikrovaskuler pada diabetes melitus dapat dicermati pada pembuluh darah retina (retinopati diabetik) serta ginjal (nefropati diabetik). Meningkatnya kadar glukosa darah yang persisten mengakibatkan peningkatan glukosa intraseluler, dan akan merusak jaringan tubuh. Hal tersebut disebabkan oleh meningkatnya diacylglycerol (DAG) yang mengaktivasi protein kinase C (PKC). Aktivasi PKC dalam sel endotel menyebabkan permeabilitas endotel terhadap albumin meningkat sehingga terjadi ekstravasasi molekul

protein, dan hal tersebut merupakan ciri khas yang dapat dilihat pada retinopati maupun nefropati diabetik (Hendromartono, 2001).

Hiperglikemi dapat menyebabkan perfusi darah retina dan laju filtrasi glomerular meningkat sehingga mengakibatkan kerusakan jaringan. Hiperglikemi dapat mengakibatkan terbentuknya ikatan molekul glukosa dengan protein plasma dan sel secara non enzimatis dan terbentuklah Advanced Glycosylation End Products (AGE_s) yang memberi dampak rusaknya jaringan karena ikatannya dengan protein dan terbentuknya mediator inflamasi. AGE_s merusak pembuluh darah melalui penebalan membrana basalis, selain itu membran tersebut dapat dirusak secara langsung oleh glukosa.

AGE_s pada pembuluh darah akan berikatan dengan reseptornya dan mengakibatkan terjadinya vasokonstriksi dan oklusi. AGE_s berikatan dengan reseptornya pada makrofag sehingga makrofag akan melepaskan TNF α serta interleukin-1. Sitokin ini akan merangsang proliferasi otot polos pembuluh darah mesangium serta endotel, sehingga berdampak buruk terhadap pembuluh darah. AGE_s yang berikatan dengan reseptornya pada endotel mengakibatkan produksi endotelin-1 meningkat sehingga terjadi vasokonstriksi. Selain itu vasokonstriksi dapat pula disebabkan secara langsung oleh hiperglikemi, karena hiperglikemia dapat menurunkan efek vasodilatasi asetilkolin. Hiperglikemi lewat aktivasinya terhadap PKC dapat menyebabkan meningkatnya produksi prostanoid (vasokonstriktor) sehingga dapat memperkuat terjadinya vasokonstriksi (Hendromartono, 2001).

Pada hiperglikemi, kadar radikal bebas akan meningkat akibat ikatan AGE_s dengan reseptornya. Hiperglikemi juga dapat meningkatkan radikal bebas melalui jalur polyol tanpa melalui AGE_s. Jalur ini banyak mengonsumsi NADPH (merupakan reduktor poten) sehingga aktivitas radikal bebas akan meningkat (Hendromartono, 2001).

Kerusakan makrovaskular akibat hiperglikemi juga berkaitan dengan efek hiperglikemi pada sel eritrosit, LDL, HDL, Fibrin, serta Platelet. Proses glikasi eritrosit akan mengurangi kelenturannya. Pada LDL akan menjadi LDL oksidasi sehingga sulit dikenali oleh reseptornya dan pada HDL menyebabkan berkurangnya daya transportasi kolesterolnya. Selain itu glikasi fibrin dan platelet akan merusak hemostasis vaskuler (Hendromartono, 2001).

N – epsilon Carboxymethyl Lysine (CML), salah satu varian AGE, dihasilkan pada proses glycoxidation (kombinasi non enzimatis glikasi dan oksidasi) dan peroksidasi lipid. CML dan pentosidine terakumulasi pada ginjal diabetik sehingga menimbulkan Stress oksidatif lokal yang menjadi penyebab diabetic glomerular lesions (Hendromartono, 2001).

CML juga terakumulasi pada kulit, paru – paru, jantung, usus halus, diskus intervertebralis, dan beberapa arteri. Pada ginjal diabetik, CML terutama terdapat di pembuluh darah, korteks renalis, area mesangial dan dasar membran glomerulus. Peningkatan CML pada serum penderita Diabetes Melitus & kadar AGE serum berkorelasi dengan progresifitas kerusakan ginjal (Hendromartono, 2001).

Pada percobaan binatang. Pemberian AGE_s jangka pendek dapat meningkatkan permeabilitas dan kebocoran pembuluh darah, gangguan relaksasi

endotel, penumpukan mononuclear pada subendotel, aktivasi NF - κ B dan ekspresi gen VCAM-1.

Aktivasi NF - κ B terjadi setelah fosforilasi dan degradasi proteolitik I - κ B (inhibitornya). Aktivasi NF - κ B menghasilkan RAGE, Cytokines (TNF - α , IL - 6 dan IL - 8), adhesion molecules (VCAM-1, ICAM-1, ELAM), reseptor untuk faktor koagulasi seperti procoagulan tissue factor endothelin-1, induksi NOS, induksi Cyclooxygenase, heme oxygenase type I dan 5 - lipoxygenase. (Peter P Nawroth, *et al*, 2000)

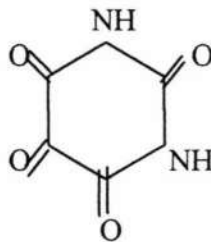
Pemberian AGE_s pada jangka panjang mengakibatkan penebalan dasar arteriol dan gangguan pembuluh darah, penebalan dasar membran glomerulus, perluasan mesangial, glomerulosclerosis dan proteinuria (Peter P Nawroth, *et al*, 2000).

2.9. Aloksan

Aloksan ditemukan oleh Liebig dalam ekskresi mukus selama disentri. Preparat diambil oleh Alloxantin melalui oksidasi langsung dari asam urat. Aloksan mempunyai sifat larut dalam air, alkohol, aceton, methanol dan glacial acetic acid tetapi tidak larut dalam eter. Dalam bentuk larutan akan terjadi warna merah bila kontak dengan kulit manusia dan bau yang tidak enak (Windholz, Berdavari, 1983).

Aloksan mempunyai rumus kimia $C_4H_2N_2O_4 - 2, 4, 5, 6 (1H, 3H) -$ pyrimidinetetrone, 2, 4, 5, 6 - tetraoxohexahydropyrimidine mesoxalycarbamide.

Mekanisme kerja aloksan pada sel beta belum dimengerti seluruhnya. Fragmentasi DNA memainkan peranan penting untuk timbulnya suatu diabetes (Okamoto, 1985). Pemecahan DNA adalah hasil akumulasi dari superoksida atau hidroksi radikal. Dengan memakai pankreas tikus di demonstrasikan bahwa aloksan merusak rangkaian DNA inti sel beta pankreas (Uchigata, *et al*, 1982; Yamamoto, *et al*, 1981). Kerusakan rangkaian DNA akan mengaktivasi enzim nuklear poly (adenosine diphosphate [ADP] – ribose) synthetase. Enzim ini menggunakan Nicotinamide Adenine Dinucleotida (NAD) seluler sebagai sumber ADP ribose untuk DNA repair. Penurunan konsentrasi NAD seluler akhirnya akan menyebabkan kematian sel – sel beta pankreas.



Gambar 2.9 Struktur Aloksan

Aloksan merupakan derivat pirimidin, jika disuntikan pada hewan coba akan merusak sel beta, sedangkan sel alfa tetap utuh, akibatnya timbul diabetes yang berat (Haznam, 1986). Pada dosis tertentu, aloksan akan mengubah sel beta pankreas menjadi nekrosis. Kerusakan secara umum pada gugusan aldehyde, shringkage sitoplasma, piknosis nukleus dan kehilangan daya kohesi interseluler sel beta merupakan gambaran setelah pemberian aloksan beberapa jam (Wellman, *et al*, 1987)