

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Diabetes Mellitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik utama yaitu hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau kedua-duanya (Petersmann *et al.*, 2018).

Berdasarkan laporan dari Magliano *et al.*, (2021) dalam Diabetes Atlas tahun 2021 menyampaikan jumlah penderita DM di dunia usia 20-79 tahun adalah 537,000,000 orang. Estimasi penderita DM di dunia pada tahun 2030 menjadi 643,000,000 orang dan pada tahun 2045 mencapai 783,000,000 (meningkat 46%). Lebih lanjut IDF menyatakan dalam tahun 2021 tersebut, Indonesia menempati urutan ke 5—setelah China, India, Pakistan, USA—dari 10 besar negara terbanyak penderita DM di dunia. Indonesia mempunyai jumlah penderita DM pada usia 20-79 tahun yaitu 19,465,100 orang (10,8%) dengan jumlah penduduk pada tahun 2021 tersebut adalah 273.879.750 jiwa.

Selain itu data Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) pada tahun 2018 menjelaskan prevalensi penderita DM berdasarkan diagnosis dokter pada penduduk umur > 15 tahun di Indonesia meningkat 0,5% dalam waktu 5 tahun dimana pada tahun 2013 prevalensi DM sebesar 1,5% menjadi 2% pada tahun 2018. Adapun Provinsi Jawa Timur juga mengalami peningkatan prevalensi DM sebesar 0,9% dalam waktu 5 tahun, dari 2,1% pada tahun 2013 menjadi 3% pada tahun 2018 dimana pada tahun 2018 tersebut Provinsi Jawa Timur menempati urutan ke-3 terbesar kasus DM tingkat nasional setelah Daerah Khusus Ibukota

Jakarta (DKI) dan Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY) (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Penyakit DM bila tidak diturunkan angka prevalensinya menimbulkan banyak masalah. DM tipe 1 maupun tipe 2, dalam kondisi hiperglikemia yang lama menyebabkan abnormalitas fungsional dan struktural yang *multiple* yang ditandai dengan kerusakan beberapa organ tubuh meliputi ginjal, saraf, jantung, mata dan ekstremitas bawah (Lotfy *et al.*, 2017). DM dan komplikasinya membawa kerugian ekonomi yang besar bagi penderita. Magliano *et al.*, (2021) dalam Diabetes Atlas tahun 2021 menyatakan rata-rata biaya pengeluaran individu untuk mengobati DM di negara Indonesia adalah 323,8 USD atau setara dengan Rp.4.857.000 (dengan kurs 1 dollar USD = Rp.15.000) dengan angka kematian penderita DM umur 20-79 tahun pada tahun tersebut adalah 236,711 orang. Selain itu DM juga menimbulkan masalah psikologis dan menurunkan tingkat kepuasan hidup (*Quality of Life*) pada penderitanya. Hasil telaah Trikkalinou *et al.*, (2017), menjelaskan DM akan memberikan pengaruh negatif kepada indikator kepuasan hidup (*Quality of Life*) dalam bentuk: (1) Aspek gangguan fisik seperti penderita DM dengan komplikasi gangguan ginjal, diabetik neuropati, retinopati, atau morbiditas; (2) Aspek psikologis seperti terjadinya depresi pada penderita DM 1 yang berusia muda; (3) Aspek sosial seperti gangguan dalam hubungan keluarga dan sahabat terdekat; dan (4) Aspek mental kognitif seperti terjadinya demensia.

Diketahui intervensi farmakologis untuk mengatasi kondisi hiperglikemia seperti meningkatkan sensitivitas insulin (*biguanides* dengan obat *metformin* dan *thiazolidinediones* dengan obat *pioglitazone*), meningkatkan sekresi insulin (*sulfonylureas* dengan obat *tolbutamide*, dan *meglitinides* dengan obat

repaglinide), meningkatkan konsentrasi GLP-1 dengan cara menghambat *Dipeptidyl Peptidase-4* atau DPP4 (dengan obat *sitagliptin*), GLP-1 reseptor agonis (dengan obat *liraglutide*) atau dengan menunda absorpsi glukosa di usus halus (*alpha-glucosidase* inhibitor) dengan obat *acarbose*. Namun intervensi farmakologis DM yang paling umum, seperti pemberian obat *metformin* menimbulkan efek samping yaitu diare, mual, defisiensi Vit B 12, toksik renal, edema dan ketidaknyamanan pada jantung sedangkan pemberian obat *tolbutamide*, menimbulkan efek samping peningkatan berat badan, hipoglikemia, alergi (Okayasu *et al.*, 2012; Ghadge dan Kuvalekar 2016; Kaur, *et al.*, 2017; Tanveer *et al.*, 2017).

DM Tipe 1 dan 2 yang didefinisikan sebagai hiperglikemia, disebabkan oleh defisiensi absolut atau relatif sel β pankreas. Hasil studi autopsi pada pasien DM Tipe 1 dan 2 memperlihatkan penurunan massa sel β pankreas masing-masing sekitar 70-100% dan 0-65%, dan pada hewan coba dikatakan mengalami DM bila mengalami kerusakan sel β pankreas sebesar 50% (Butler *et al.*, 2003; Matveyenko dan Butler 2008). Sehingga regenerasi sel β pankreas adalah suatu strategi terapeutik yang sangat penting dalam pemulihan fungsi sel β pankreas yang hilang pada pasien dengan diabetes.

Hasil penelitian menemukan bahwa lebih dari 30% pasien DM menggunakan pengobatan komplementer dan alternatif. Oleh karena itu, terapi berbasis herbal bisa menjadi alternatif pelengkap penatalaksanaan DM untuk menurunkan kadar glukosa darah dalam tubuh (Joseph dan Jini 2013; Medagama dan Bandara 2014; Naja *et al.*, 2015). Namun diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menemukan agen atau bahan hipoglikemik dari tanaman-buah dan sumber alam

lainnya yang aman dan lebih efektif dalam mengatasi masalah regulasi glukosa terutama penelitian tentang efek fitokimia bahan herbal terhadap proteksi dan proliferasi sel β pankreas.

Buah pare (*Momordica charantia* L), yang merupakan salah satu buah tanaman herbal yang mempunyai potensi sebagai antidiabetes (Saad *et al.*, 2017), termasuk dalam tanaman keluarga *cucurbitaceae*, dikenal dengan nama lain sebagai *bitter melon*, *bitter gourd*, *balsam pear*, *pare*, atau *karale*. Buah ini menjadi salah satu buah yang biasanya dikonsumsi sebagai sayuran di wilayah Asia, India, Afrika Timur, dan Amerika Selatan (Lucas *et al.*, 2010). Buah ini sudah terbukti sebagai salah satu makanan yang mempunyai manfaat menurunkan kadar glukosa darah (Krawinkel dan Keding 2006), yang digunakan sebagai pengobatan tradisional untuk pengobatan pada penderita DM (Chuang *et al.*, 2006). Indonesia memiliki banyak nama lokal dari buah pare ini, di Jawa: *paria*, *pare*, *pepareh*, di Sumatera adalah *pepare*, *kambah*, *paria*, di Nusa Tenggara: *paya*, *truwuk*, *paitap*, *paliak*, *pariak*, *pania* dan *pepule* selanjutnya di Sulawesi: *poya*, *pudu*, *pentu* dan *palia* (Dalimartha, 2008). Buah pare dikonsumsi oleh masyarakat Indonesia sebagai pengobatan tradisional bila mengalami kondisi hiperglikemia dan memperlihatkan terjadinya penurunan kadar glukosa darah (Kim *et al.*, 2010). Buah pare mengandung bahan bio aktif (fitokimia) seperti *saponin* (glikosida triterpen jenis *cucurbitane*), *triterpenoid*, protein (*polypeptide-p/p-insulin*), *cucurbitacine*, *charantin*, *momordicoside* Q, R, S dan T, serta asam linoleat terkonjugasi yang berpotensi sebagai anti diabetes (Agarwal dan Kamal 2013; Peter *et al.*, 2018). Selain itu buah pare juga mengandung bahan *polyphenols* yang merupakan bahan potensial sebagai antioksidan (Kubola dan

Siriamornpun, 2008; Ghasemzadeh dan Ghasemzadeh, 2011). Penelitian lanjutan tentang *Momordica charantia* L, ditemukan senyawa *polyphenols* tersebut yaitu kelompok senyawa *phenolic acid* yaitu *gallic acid* dan senyawa *flavonoid* yaitu: *kaempferol*, dan *quercetin* (Madala *et al.*, 2016; Kaurinovic dan Vastag, 2019).

Penelitian sebelumnya tentang buah pare dalam bentuk ekstrak etanol telah terbukti menurunkan kadar glukosa darah pada hewan coba tikus (Ismail *et al.*, 2017; Abdel-Rahman *et al.*, 2019). Namun belum jelas mekanisme penurunan glukosa darah setelah mengonsumsi buah pare tersebut secara biomolekuler dilihat dari aspek aktivitas antioksidan dan peningkatan proliferasi sel β pankreas.

Beberapa hasil penelitian dan observasi klinis menunjukkan bahwa kondisi hiperglikemia secara langsung atau tidak langsung berkontribusi dalam terjadinya stres oksidatif, terbentuknya formasi radikal bebas, penurunan ekspresi gen insulin, apoptosis sel β pankreas dan pada akhirnya penurunan sekresi insulin. Formulasi radikal bebas juga akan menimbulkan proses degeneratif dan inflamasi pada penderita DM (Kaneto dan Matsuoka 2012; Liguori *et al.*, 2018).

Kondisi hiperglikemia menimbulkan terjadinya stres oksidatif dalam sel, yang dimulai dari masuknya glukosa secara overload ke dalam sel β pankreas melalui *glucose transporter 2* (GLUT2) yang terletak dalam membran/dinding sel β pankreas. Selanjutnya dalam waktu yang singkat, glukosa intrasellular yang berlebihan menimbulkan peningkatan aliran ke dalam siklus *tricarboxylic acid* yang overload ke dalam mitokondria dengan elektron donor (NADH, FADH₂) dan meningkatkan potensial membran melalui akumulasi proton dalam ruang intermembran. Sehingga mengakibatkan transfer elektron terhenti pada puncak threshold, dan sebagian elektron berubah menjadi *superoxide radical* (O₂⁻).

Proses transport elektron dalam mitokondria sel β pankreas secara berlebihan ini menginduksi timbulnya stres oksidatif yang ditandai dengan banyaknya terbentuk radikal bebas (elektron yang tidak berpasangan). Kondisi hiperglikemia akan memicu reaksi *glycosylation* non enzimatis yang ditandai dengan terbentuknya basa *Schiff*, produk Amadori dan akhirnya “*advanced glycosylation end products*” (AGEs). AGEs selanjutnya berikatan dengan *receptor advanced glycosylation end products* (RAGE) yang selanjutnya akan menghasilkan radikal bebas melalui aktivasi NADPH oksidase (Kaneto dan Matsuoka 2012; Sharma *et al.*, 2012; Cepas *et al.*, 2020).

Reactive oxygen species (ROS) yang sudah terbentuk menyerang banyak makromolekul termasuk DNA sel, karbohidrat, protein dan lipid yang akan menimbulkan perubahan struktur dan fungsi dari sel, tidak terkecuali pada sel β pankreas. Lipid adalah bagian integral dari membran sel dan bila teroksidasi dengan ROS menimbulkan kerusakan pada membran sel yang disebut dengan *Lipid Peroxidation* (LPO). Adanya LPO merupakan salah satu gambaran dari diabetes kronis menghasilkan produk yang disebut *malondialdehyde* (MDA) (Sharma *et al.*, 2012; Habtemariam 2019). Selain menimbulkan kerusakan membran sel, ROS juga menimbulkan kerusakan DNA sel β pankreas sehingga sel β pankreas tidak melakukan proses proliferasi yang menyebabkan jumlah sel β yang mengekspresikan insulin menurun yang pada akhirnya menyebabkan kadar insulin dalam darah juga menurun (Kaneto dan Matsuoka 2012; Wang dan Wang 2017).

Bahan bioaktif flavonoid seperti *quercetin* dapat meningkatkan aktivasi *superoxide dismutase* (SOD) dan *glutathione* (GSH) (Xu *et al.*, 2019; Abdelmoaty

et al., 2010). *Quercetin* dapat mengaktifkan *nuclear factor erythroid 2-related factor 2* (Nrf2), yang selanjutnya ditransportasikan ke nukleus untuk berikatan dengan gen *antioxidant response element* (ARE). Ikatan Nrf2 dan ARE selanjutnya menginisiasi transkripsi enzim antioksidan dan enzim-enzim detoksifikasi fase II seperti SOD (Li, *et al.*, 2016; Oh dan Jun, 2018; Wang *et al.*, 2020). Enzim SOD merupakan enzim detoxifikasi ROS tingkat pertama dan sebagai antioxidant yang sangat kuat dalam sel. SOD dapat merubah 50% *superoxide anion* (O_2^-) menjadi *hydrogen peroxide* (H_2O_2) (Wang dan Wang 2017). Selanjutnya penelitian yang dilakukan oleh Coskun *et al.*, (2005) menemukan hasil bahwa pemberian *quercetin* (QE) dengan dosis 15 mg/kg bb dalam bentuk bahan isolasi aktif signifikan menurunkan MDA dan NO yang tinggi ($p < 0.05$), dan juga meningkatkan aktivitas enzim antioksidan ($p < 0.05$). Pemberian QE dengan dosis tersebut juga memberikan efek yang signifikan kepada peningkatan jumlah sel β pankreas, penurunan stres oksidatif yang ditandai dengan penurunan lipid peroksidasi/MDA).

Hasil uji *in silico* oleh Elekofehinti *et al.*, (2018) menemukan beberapa bahan bio aktif (fitokimia) dari buah pare yaitu *charantin*, *cucurbitacin*, *momordicoside D* dan *kuguacin H*, yang berpotensi meningkatkan ekspresi dan sekresi hormon *Glucagon-Like Peptide-1* (GLP-1). *Charantin* berikatan dengan enzim DPP-4 sebagai inhibitor di dalam sel L mukosa usus sehingga GLP-1 tidak cepat terurai. *Cucurbitacin* langsung menembus sel mukosa usus untuk berikatan dengan GLP-1 karena mempunyai nilai ikatan H dan interaksi hidropobic tertinggi sehingga GLP-1 menjadi meningkat ekspresinya melalui jalur aktivasi AMPK, sedangkan *momordicoside D* dan *kuguacin H* berfungsi sebagai molekul ligan

yang berikatan dengan *Takeda-G-Protein-Receptor-5* (TGR-5). Senyawa TGR5 yang merupakan reseptor asam empedu tipe membran (M-BAR), atau GPR131 adalah reseptor berpasangan dengan protein G dimana diaktifkan fungsinya oleh asam empedu. TGR5 ini berfungsi meningkatkan sekresi hormon GLP-1. Selanjutnya hasil penelitian Elekofehinti *et al.*, (2018) secara *in vivo* didapatkan bahwa setelah 72 jam pemberian tepung buah pare (*Momordica charantia* L.) dengan konsentrasi 20%, terbukti dapat meningkatkan ekspresi GLP-1 sebesar 295,7% dan menurunkan ekspresi DPP4 sebesar 87,2%. Selain itu, penelitian Bhat *et al.*, (2018) menemukan bahwa pemberian buah pare (*Momordica charantia* L.) dalam bentuk ekstrak air (*aqueous extract*) selama 28 hari terbukti meningkatkan sekresi dan ekspresi GLP-1 secara signifikan ($p < 0.01$) pada kelompok tikus wistar diabetik.

GLP-1 adalah hormon *incretin* yang berperan mengontrol sekresi insulin, glukagon, dan somatostatin untuk memfasilitasi pengolahan glukosa dalam sel dan juga meningkatkan proliferasi dan survival sel β pankreas pada hewan coba (Drucker, 2013). GLP-1 berikatan dengan *glucagon-like peptide-1 receptor* (GLP-1R), yang berbentuk tujuh-transmembran *guanine nucleotide-binding protein-coupled receptor* (GPCR). GLP-1R mempunyai struktur gugus α dan β . GLP-1R gugus α akan mengaktifasi *adenylate cyclase* (AC) yang selanjutnya akan mengaktifasi *cyclic AMP* (cAMP) (Drucker 2013; Gigoux dan Fourmy 2013; Rowlands *et al.*, 2018;). cAMP akan mengaktifasi jalur proliferasi sel β pankreas dengan mengaktifkan Protein kinase A (PKA) yang selajutnya mengaktifasi MEK1/2–ERK1/2. MEK1/2–ERK1/2 selanjutnya mengaktifasi *the mammalian or mechanistic target of rapamycin complex-1* (mTORC1) (Yabe dan Seino 2011;

Jiang *et al.*, 2018; Overgaard, *et al.*, 2018), sedangkan GLP-1R gugus s β mengaktivasi jalur proliferasi sel β pankreas melalui aktivasi pensinyalan fosforilasi enzim *phosphatidylinositol-3-kinase*, *phosphoinositide 3-kinase* (PI3K) yang selanjutnya akan mengaktivasi *phosphoinositide-dependent kinase-1* (PDK1) (Watanabe *et al.*, 2016; Rowlands *et al.*, 2018). Aktivasi PDK1 selanjutnya mengaktifkan *protein kinase B/serine/threonine kinase* (PKB/Akt). PKB selanjutnya mengaktifkan mTORC1 untuk terjadinya proliferasi sel β pankreas (Bernal-Mizrachi *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2018). Terjadinya peningkatan proliferasi sel β pankreas memicu peningkatan produksi insulin sehingga mendorong terjadinya penurunan glukosa dalam darah.

Berdasarkan penjelasan di atas perlu dilakukan penelitian untuk melihat ekspresi molekul SOD1, MDA, GLP1-R, PKB, PKA, mTORC1, dan jumlah sel β pankreas secara *invivo* (pada tikus model diabetes mellitus) setelah diberikan ekstrak etanol buah pare sehingga dapat menjelaskan mekanisme penurunan glukosa darah dari aspek peningkatan aktivitas antioksidan dan proliferasi sel β pankreas.

1.2.Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Apakah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan ekspresi SOD1 sel β pankreas tikus model diabetes mellitus?
2. Apakah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) menurunkan ekspresi MDA sel β pankreas tikus model diabetes mellitus?

3. Apakah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan ekspresi GLP1-R, sel β pankreas tikus model diabetes mellitus?
4. Apakah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan ekspresi PKB sel β pankreas tikus model diabetes mellitus?
5. Apakah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan ekspresi PKA sel β pankreas tikus model diabetes mellitus?
6. Apakah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan ekspresi mTORC1 sel β pankreas tikus model diabetes mellitus?
7. Apakah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan jumlah sel β pankreas tikus model diabetes mellitus?
8. Apakah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan kadar insulin darah tikus model diabetes mellitus?
9. Apakah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) menurunkan kadar glukosa darah puasa (GDP) tikus model diabetes mellitus?
10. Apakah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) menurunkan kadar glukosa darah 2 jam post prandial (GD2JPP) tikus model diabetes mellitus?
11. Bagaimanakah mekanisme penurunan kadar glukosa darah pada tikus model diabetes mellitus setelah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.)?

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Tujuan umum penelitian ini adalah menjelaskan mekanisme penurunan kadar glukosa darah pada tikus model diabetes mellitus setelah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.).

1.3.2. Tujuan khusus

1. Membuktikan pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan ekspresi SOD1 sel β pankreas tikus model diabetes mellitus.
2. Membuktikan pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) menurunkan ekspresi MDA sel β pankreas tikus model diabetes mellitus.
3. Membuktikan pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan ekspresi GLP1-R, sel β pankreas tikus model diabetes mellitus.
4. Membuktikan pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan ekspresi PKB sel β pankreas tikus model diabetes mellitus.
5. Membuktikan pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan ekspresi PKA sel β pankreas tikus model diabetes mellitus.
6. Membuktikan pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan ekspresi mTORC1 sel β pankreas tikus model diabetes mellitus.

7. Membuktikan pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan jumlah sel β pankreas tikus model diabetes mellitus.
8. Membuktikan pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) meningkatkan kadar insulin darah tikus model diabetes mellitus.
9. Membuktikan pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) menurunkan kadar glukosa darah puasa (GDP) pada tikus model diabetes mellitus.
10. Membuktikan pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) menurunkan kadar glukosa darah 2 jam post prandial (GD2JPP) pada tikus model diabetes mellitus.
11. Membuktikan pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.) menurunkan kadar glukosa darah (GDP dan GD2JPP) tikus model diabetes mellitus melalui jalur: GLP-1R - PKB & PKA-mTORC1-jumlah sel β pankreas-kadar insulin darah-GDP & GD2JPP dan melalui jalur: GLP-1R – SOD1-MDA-jumlah jumlah sel β pankreas-kadar insulin darah-GDP & GD2JPP.

1.4. Manfaat

1.4.1. Manfaat keilmuan

1. Memberikan informasi ilmiah tentang mekanisme penurunan kadar glukosa darah (GDP dan GD2JPP) setelah pemberian ekstrak etanol buah pare (*Momordica charantia* L.).

1.4.2. Manfaat praktis

1. Sebagai dasar pengembangan penanggulangan regulasi glukosa darah pada penderita Diabetes Melitus (DM).
2. Sebagai dasar dalam pembuatan obat herbal dengan menggunakan bahan bahan bio aktif (fitokimia) yang terdapat dalam buah pare (*Momordica charantia* L.).