

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tingginya kejadian diabetes mellitus (DM) di dunia dan banyaknya morbiditas yang ditimbulkan sebagai komplikasinya, menjadikan diabetes sebagai salah satu penyakit yang memerlukan upaya dalam prevensi dan harus dikontrol. Menurut data World Health Organization (WHO), pada tahun 2019, diabetes mellitus menjadi penyebab utama kematian pada 1,5 juta kasus dan diperkirakan sebanyak 15 juta populasi global menderita diabetes tipe-2 (WHO, 2021). Sedangkan menurut data oleh Direktorat Pencegahan dan Pengendalian Penyakit Tidak Menular (P2PTM), prevalensi diabetes melitus di Indonesia mengalami peningkatan sebesar 1,2% dari rentang waktu 2007 hingga 2013 dan menduduki peringkat ke-6 dunia (Kemenkes, 2020).

Diabetes mellitus dapat dibagi menjadi 2 tipe. DM tipe 1 terjadi akibat defisiensi insulin absolut yang didasari oleh kelainan genetic yang menyebabkan mutasi pada gen HLA-DR3-DQ2 dan HLA-DR4-DQ8 pada kromosom 6. Mutasi ini menyebabkan limfosit B mengenali sel β pankreas sebagai autoantigen, diikuti pelepasan auto-antibodi terhadap sel β pancreas. Auto-antibodi ini merangsang terjadinya infiltrasi sel limfosit CD8⁺ ke dalam pankreas dan sitolisis pada sel β (Katsarou *et al.*, 2017).

Salah satu penyakit dengan pathogenesis dasar autoimun adalah DM tipe 1 (DMT1). Pada pasien dengan DMT1 dasar patofisiologi terletak pada kerusakan sel

beta yang bisa idiopatik atau imunologik. Pankreas tidak mampu memproduksi insulin dengan kuantitas dan/atau kualitas yang cukup, bahkan bisa terjadi tidak ada sama sekali sekresi insulin. Kerusakan pada DMT1 diperantarai oleh limfosit T yang bereaksi terhadap autoantigen sel β dan menyebabkan sitotoksitas pada sel tersebut. Limfosit T sitotoksik CD8⁺ merusak sel β dan juga menyekresi sitokin yang mengaktifkan makrofag. Autoantibodi tersebut bersifat reaktif dengan sejumlah antigen sel β , yang meliputi enzim glutamic acid decarboxylase (GAD). Saat ini penelitian mengenai cara mengatasi proses autoimun ini telah menjadi fokus utama untuk mengatasi diabetes tipe 1 (Katsarou *et al.*, 2017).

Di sisi lain, DM tipe 2 bukan disebabkan oleh gangguan pada produksi insulin oleh pankreas, namun karena penurunan resistensi insulin pada jaringan perifer menurun. Adanya proses dislipidemia mempromosikan terjadinya resistensi insulin dan hiperglikemia yang terjadi, akan menginduksi lipolisis yang menyebabkan disregulasi adipokine dengan keluarnya sitokin pro-inflamasi (tumor necrosis factor α) TNF- α dan leptin. Lipolisis juga akan meningkatkan asam lemak bebas yang akan bersirkulasi dan terakumulasi pada hepar menjadi perlemakan hati. Resistensi insulin yang berkepanjangan ini juga pada akhirnya akan diikuti oleh dekompensasi dari sel β - pancreas sebagai bentuk kompensasi untuk meregulasi kadar gula mencapai homeostasis dan memperparah kondisi hiperglikemia (Mohamed *et al.*, 2016; Goyal and Jialal 2021).

Diabetic cardiomyopathy menyerang setidaknya 26 juta orang di seluruh dunia dan prevalensi nya terus meningkat. Pada pasien dengan DMT2 prevalensi gagal jantung bekisar antara 9% - 22%, menunjukkan prevalensi 4 kali lebih tinggi

daripada populasi umum dan prevalensinya lebih tinggi pada pasien DM berusia 60 tahun atau lebih (ADA, 2021).

Diabetes mellitus memiliki berbagai dampak merugikan terhadap jantung, antara lain perubahan penggunaan substrat, metabolisme jaringan, stress oksidatif, dan inflamasi yang diyakini menyebabkan disfungsi myocard, dan berakhir pada gagal jantung. Berbagai bukti penelitian menunjukkan bahwa pasien dengan gangguan metabolisme glukosa beresiko mengalami *metabolic cardiomyopathy* (MC), yang tidak dipengaruhi oleh adanya penyakit arteri koroner, hipertensi, serta komorbiditas lain (Costantino *et al.*, 2019).

Stress oksidatif merupakan keadaan dimana terjadi ketidakseimbangan antara kadar radikal bebas dan antioksidan di dalam tubuh (Ayala, Munoz and Sandro, 2014). Hiperglikemia yang terjadi pada pasien DM akan diikuti dengan proses katabolisme glukosa aerobik menghasilkan molekul NADH dalam jumlah besar, disertai penurunan jumlah molekul NAD⁺. Ketidakseimbangan rasio NADH/NAD⁺ ini disebut kondisi pseudohipoksia yang membuat oksigen tidak bisa digunakan secara efektif. Pada kondisi ini enzim kompleks 1 pada system transport electron di mitokondria akan membentuk radikal superoksida (O_2^-) yang akan memicu terbentuknya *reactive oxygen species* (ROS) dan *reactive nitrogen species* (RNS) yang lain sehingga terjadi ketidakseimbangan antara pro-oksidan dan anti-oksidan dalam sel, menyebabkan kondisi stress oksidatif (Yan *et al.*, 2014).

Kandungan trigliserida TG pada myocardium juga meningkat pada pasien DMT2, dan berhubungan dengan gangguan fungsi diastolik ventrikel kiri, tanpa memandang usia, indeks masa tubuh, kecepatan nadi, lemak visceral, dan tekanan darah. Proporsi yang konsisten pada pasien dengan gagal jantung non-iskemik

menunjukkan kandungan berlebihan pada TG intra-myocardium serta perubahan ekspresi gen JunD yang berhubungan dengan disfungsi kontraktile yang diukur berdasarkan beberapa indikator antara lain massa otot ventrikel kiri, fraksi ejeksi ventrikel kiri, dan indeks performa myocardium. Akumulasi TG pada jantung, diikuti dengan oksidasi asam lemak bebas menyebabkan sintesis *de novo* malondialdehyde yang bisa menyebabkan kerusakan jantung terutama melalui stress oksidatif yang ditandai dengan akumulasi radikal bebas serta aktivasi jalur apoptosis (Costantino *et al.*, 2019).

Secara structural, metotreksat (MTX) merupakan asam 4-amino-N¹⁰ methyl pteroylglutamat yang sangat menyerupai asam folat. Tahun 1948 MTX dilaporkan berhasil mengobati leukemia pada anak. MTX bekerja dengan cara menjadi substrat untuk enzim dihidrofolat reductase, dan menghambatnya secara kompetitif sehingga menghambat produksi tetrahidrofolat terhambat. Hambatan sintesis tetrahidrofolat akhirnya akan menghambat sintesis Deoxyribonucleic Acid (DNA). Karena cara kerjanya tersebut, MTX dapat digunakan sebagai agen kemoterapi yang bersifat antimetabolit. MTX umumnya dipergunakan pada terapi pasien yang mengalami leukimia limfoblastik akut (ALL), kanker payudara, kanker paru, osteosarcoma, dan limfoma non-hodgkin. Selain itu, MTX juga memiliki aktivitas anti-inflamasi dan imuno-modulator yang telah digunakan dalam terapi rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, serta penyakit kulit seperti vasculitis jaringan ikat dan penyakit bulosa, serta gangguan lifoproliferatif (Wang *et al.*, 2018; Murniastuti *and* Danarti, 2019). Saat ini MTX telah dikenal sebagai salah satu obat hemat kortikosteroid yang sering digunakan dalam pengobatan kelainan mata

seperti uveitis, *panscleritis* dan pemphigoid membran mukosa okular, serta retinopati diabetik proliferaif lanjut (Wang *and* Peng, 2020).

Berdasarkan American Diabetes Association tahun 2015, terapi penggunaan methotrexat telah dikemukakan dapat memproteksi faktor resiko metabolik yang berkaitan dengan diabetes tipe 2. Methotrexat selama ini dikenal sebagai obat antiproliferaif dan immunosupresif yang digunakan untuk mengobati kondisi-kondisi seperti rheumatoid arthritis, *acute lymphoblastic leukemia* (ALL), dan psoriasis. Selain kedua fungsi tersebut, penelitian lain melaporkan bahwa pemberian methotrexat dapat meningkatkan *uptake* glukosa ke otot skeletal. Selain itu, penelitian lain menunjukkan pemberian methotrexat dosis rendah dikombinasi dengan siklosporin dapat diinjeksikan secara aman sebagai anti-diabetik pada pasien DM tipe 1, namun tidak menunjukkan kemampuan yang sama bila methotrexat diberikan sebagai obat tunggal. (Sobel et al., 2010; Pirkmajer et al., 2015).

Perkembangan MTX dalam terapi salah satunya dilaporkan bahwa MTX bersifat immunosupresif. Secara *in vitro* MTX dosis rendah dapat menginduksi apoptosis sel T didalam darah perifer. Aktivasi secara *in vitro*, limfosit didalam darah perifer yang diambil dari pasien rheumatoid arthritis setelah injeksi MTX menghasilkan apoptosis. Perkembangan ini menjadikan MTX berpotensi sebagai terapi pada penyakit-penyakit yang disebabkan oleh autoimun (Genestier *et al.*, 1998).

Methotrexat menunjukkan aktifitas hipoglikemik pada DM tipe 1 dengan cara menghambat aktivitas 5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide formyltransferase/inosine monophosphate cyclohydrolase (ATIC), sehingga

mampu mencegah pemecahan 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1- β -D-ribofuranosyl-5'-monophosphate (ZMP) dan 5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide (AICAR). AICAR merupakan molekul yang bisa mengaktifkan Adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK). AMPK akan menyebabkan translokasi glucose transporter 4 (GLUT4) ke membrane sel yang akan menyebabkan peningkatan uptake glukosa (Pirkmajer *et al.*, 2015).

Pemanfaatan antioksidan secara eksogen dapat dilakukan salah satunya dengan memanfaatkan ekstrak tumbuh-tumbuhan diantaranya daun kelor (*Moringa oleifera*) dan daun sambiloto (*Andrographis paniculata*). Studi sebelumnya mengungkapkan bahwa daun *Moringa oleifera* (MO) sangat kaya akan antioksidan sehingga dapat mencegah terjadinya komplikasi kerusakan pada jantung akibat diabetes melalui efek protektif terhadap stres oksidatif dan inflamasi sitokin. Ekstrak daun MO memiliki kandungan ORAC ($3652.14 \pm 113.32 \mu\text{mol TE/L}$), FRAP ($1736 \pm 3.08 \mu\text{mol AAE/L}$), TEAC ($96.09 \pm 1.58 \mu\text{mol TE/L}$), total Polyphenol ($2454 \pm 17.54 \mu\text{mol GAE/L}$), Flavonoid ($148.7 \pm 4.00 \text{ mg CE/L}$) (Omodanisi, Aboua and Oguntibeju, 2017). Selain itu, ekstrak daun *Andrographis paniculata* (AP) juga memiliki efek penurunan kadar serum kreatinin, urea nitrogen, ekskresi albumin urinaria (UAE), urea, dan gula darah. Kandungan yang dimiliki AP antara lain, Mannose, Fucose, Arabinose, dan Rhamnose (Xu *et al.*, 2012).

Penelitian menggunakan ekstrak MO pada tikus DM yang diinduksi dengan streptozotocin menunjukkan fungsi protektif MO terhadap jaringan myocardium ditandai dengan perbedaan signifikan pada gambaran histopatologi myocard, aktivitas enzim antioksidan myocard seperti superoxide dismutase, katalase,

glutathione peroxidase dan glutathione reductase. Penelitian ini juga menunjukkan penurunan kadar produk peroksidasi lipid berupa malondialdehyde, hydroperoxide, dan diene terkonjugasi dibandingkan dengan metformin dan atorvastatin sebagai terapi standar (Aju *et al.*, 2019).

Andrographolide pada *AP* menunjukkan efek kardio-protektif terhadap tikus yang mengalami DM melalui hambatan pada stress oksidatif dan inflamasi yang dimediasi oleh nuclear factor κ B (NF- κ B). *AP* juga menunjukkan aktifitas antihiperqlikemik serta antioksidan (Liang *et al.*, 2014; Alias *et al.*, 2015; Jaiyesimi *et al.*, 2020).

Dengan diketahui adanya kandungan senyawa tersebut pada ekstrak daun *MO* dan *AP*, maka peneliti ingin meneliti efek pemberian ekstrak daun *MO* dan *AP* terhadap kardiomyopati diabetik melalui perbedaan gambaran histologi jaringan miokardium dan aorta, kadar gula darah acak (GDA), serta kadar IL-6 jaringan miokardium dan aorta pada tikus *Wistar* jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi *Streptozotocin-Nicotinamide* (STZ-NA) dan *Metotrexat* (MTX).

1.2 Rumusan Masalah

Apakah terjadi peningkatan sitokin proinflamasi pada jaringan miokardium dan perubahan gambaran histologi pada jaringan miokardium dan aorta *Rattus norvegicus* jantan model hiperglikemia yang diinduksi dengan *Streptozotocin-Nicotinamide* setelah pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dan/ atau daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) dibandingkan dengan kelompok kontrol.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menganalisis pengaruh pemberian methotrexate, ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*), dan daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) terhadap jaringan miokardium dan aorta pada rattus norvegicus jantan model hiperglikemia yang diinduksi dengan streptozotocin-nicotinamide

1.3.2 Tujuan Khusus

Adapun tujuan khusus dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Menganalisis dan membandingkan perubahan berat badan hewan coba pada kelompok kontrol dan kelompok coba.
2. Menganalisis dan membandingkan perubahan kadar gula darah acak (GDA) hewan coba pada kelompok kontrol dan kelompok coba.
3. Menganalisis dan membandingkan kadar interleukin-6 (IL-6) jaringan miokardium hewan coba pada kelompok kontrol dan kelompok coba.
4. Menganalisis dan membandingkan skor nekrosis jaringan miokardium hewan coba pada kelompok kontrol dan kelompok coba.
5. Menganalisis dan membandingkan tebal tunika intima-media (*Intimal-Media Thickness/IMT*) pembuluh darah aorta hewan coba pada kelompok kontrol dan kelompok coba.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Penelitian ini diharapkan dapat membuktikan adanya efek terapi *potent* yang diberikan oleh methotrexat (MTX) melalui jalur immunosupresan sel limfosit T sehingga kerusakan sel β -pankreas dapat diinhibisi dan efek peningkatan penyerapan glukosa dalam sel, serta terapi *adjuvant* ekstrak daun kelor (*Moringa*

oleifera) dan/ atau ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) melalui komponen senyawa bioaktif quercetin dan andrographolide yang berfungsi sebagai agen antioksidan dan anti-inflamasi eksogen pada kasus DMT1 dengan kardiomiopati diabetik.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah terapi *potent* yang diberikan oleh methotrexat (MTX), serta terapi *adjuvant* ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dan/ atau ekstrak daun sambiloto (*Andrographis paniculata*) pada kasus DMT1 dengan kardiomiopati diabetik.