

**PENGARUH EKSTRAK KUNYIT (*Curcuma longa*)  
TERHADAP KADAR GULA DARAH PUASA (GDP), KADAR  
MATRIKS METALLOPROTEINASE 9 (MMP-9) DAN KADAR  
INTERFERON GAMMA ( IFN- $\gamma$ )  
(Uji Eksperimental pada Tikus Galur Wistar dengan Diabetes  
Mellitus tipe II yang diinduksi Streptozotosin-Nicotinamide)**

Tesis

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Sarjana (S2)



Magister Ilmu Biomedik

Shafira Zahra Ovaditya

MBK19.14.01.0162

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG  
SEMARANG**

**2022**

**TESIS**  
**PENGARUH EKSTRAK KUNYIT (*Curcuma longa*) TERHADAP KADAR  
GULA DARAH PUASA (GDP), KADAR MATRIKS  
METALLOPROTEINASE 9 (MMP-9) DAN KADAR INTERFERON  
GAMMA (IFN- $\gamma$ )**  
**(Uji Eksperimental pada Tikus Galur Wistar dengan Diabetes Mellitus tipe  
II yang diinduksi Streptozotosin-Nicotinamide)**

Disusun oleh :

**Shafira Zahra Ovaditya**

**MBK19.14.01.0162**

Yang telah dipertahankan di depan Tim Penguji  
pada tanggal 1 April 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat untuk diterima

Menyetujui,  
Pembimbing

Pembimbing II

Pembimbing II

Dr. dr. Chodidjah, PA, M.Kes

NIK 210186023

Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes

NIK 220198045

Mengetahui  
Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik  
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung

Assoc. Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med  
NIK. 210199050

**PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan di dalamnya tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan lembaga pendidikan lainnya. Pengetahuan yang diperoleh dari hasil penerbitan maupun yang belum/ tidak diterbitkan, sumbernya dijelaskan di dalam tulisan dan daftar pustaka.



Semarang, 1 April 2022

(Shafira Zahra Ovaditya)

## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas

Nama : dr. Shafira Zahra Ovaditya  
 Tempat / tanggal lahir : Pati, 30 Oktober 1996  
 Agama : Islam  
 Jenis Kelamin : Perempuan

### B. Riwayat Pendidikan

1. SD Wijaya Kusuma Lasem : lulus tahun 2008
2. SMPN 2 Rembang : lulus tahun 2011
3. SMAN 1 Rembang : lulus tahun 2014
4. FK UNISSULA : lulus tahun 2020)
5. Magister Ilmu Biomedis FK UNISSULA (2019 - sekarang)

### C. Riwayat Pekerjaan

1. Tahun 2020 – 2021 : Dokter Internsip di RS Panti Wilasa Citarum
2. Tahun 2021 – sekarang : Tutor PSPK FK UNISSULA & Asisten Bagian Ilmu Kesehatan Anak PSPD UNISSULA

### D. Riwayat Keluarga

1. Nama Orang Tua
  - Ayah : dr. Eddy Susatyo, Sp.PD-FINASIM
  - Ibu : dr. Sri Soelistyaningsih
- Nama Suami : dr. Surya Pratama Brilliantika



## KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim,

Alhamdulillah, puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala nikmat, karunia, rahmat, dan hidayahNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini. Shalawat dan salam semoga tetap tercurahkan pada Nabi Muhammad SAW beserta para pengikutnya. Tesis ini berjudul “Pengaruh Ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap Kadar Gula Darah Puasa (GDP), Kadar Matriks Metalloproteinase 9 (MMP-9) Dan Kadar Interferon Gamma ( IFN-  $\gamma$ )” dan disusun demi memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh derajat Sarjana Magister Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung. Kami harapkan tesis ini dapat menambah khasanah Ilmu Pengetahuan pada umumnya dan Biomedis pada khususnya.

Keberhasilan penyelesaian skripsi ini tidak terlepas dari doa dan dukungan berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terimakasih yang tulus kepada :

1. Prof. Dr. H. Gunarto, S.H., M.H, selaku Rektor Universitas Islam Sultan Agung
2. Dr. dr. Setyo Trisnadi, SH, Sp.KF, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung
3. . Assoc.Prof. Dr. dr. Agung Putra, M.Si.Med, selaku Ketua Program Studi Magister Biomedis Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung



4. Dr. dr. Chodidjah PA, M.Kes, selaku dosen pembimbing I yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, saran, dan masukan dalam penyusunan tesis ini.
5. Dr. Ir. Titiek Sumarawati, M.Kes, selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan saran, kritik, dan dukungan dalam penyusunan tesis ini.
6. Dr. Drs. Israhnanto Israji, M.Si, yang telah meluangkan waktu sebagai penguji I dan memberikan saran serta kritik untuk tesis ini.
7. Dr. dr. Sri Priyantini, Sp.A, yang telah meluangkan waktu sebagai penguji II dan memberikan saran serta kritik untuk tesis ini.
8. Dr. Dra. Atina Husaana, M.Si. Apt, yang telah meluangkan waktu sebagai penguji III dan memberikan saran serta kritik untuk tesis ini.
9. Abi dan ummi (dr. Eddy Susatyo, SpPD dan dr. Sri Soelistyaningsih) dan suami saya (dr. Surya Pratama Brilliantika) atas semua doa, dukungan, dan motivasi yang telah diberikan.

Penulis menyadari atas segala kekurangan proposal tesis ini, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran membangun untuk kesempurnaan tesis ini. Semoga tesis ini bermanfaat untuk semuanya.

Semarang, 1 April 2022



(Shafira Zahra Ovaditya)

## Daftar Isi

PERNYATAAN.....	iii
RIWAYAT HIDUP.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
Daftar Isi.....	vii
Daftar Singkatan.....	x
Daftar Tabel .....	xiii
Daftar Gambar.....	xiii
Daftar Lampiran .....	xiv
ABSTRAK .....	xv
BAB I .....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Rumusan Masalah .....	3
1.3. Tujuan Penelitian .....	4
1.4. Orisinalitas penelitian.....	5
1.5. Manfaat Penelitian.....	7
BAB II.....	8
TINJUAN PUSTAKA .....	8
2.1. Gula Darah Puasa (GDP).....	8
2.2. Matriks Metalloproteinase 9 (MMP-9) .....	9
2.3. Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ).....	12
2.4. Diabetes Mellitus Tipe 2 .....	16
2.5. DMT2, Inflamasi dan Stres Oksidatif .....	32
2.6. Tanaman kunyit ( <i>Curcuma longa</i> ) .....	34
1.7. Efek <i>Curcumin</i> terhadap GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$ .....	42
1.8. Induksi Strepzotocin.....	48
BAB III.....	52
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS.....	52
3.1. Kerangka Teori.....	52
3.2. Kerangka konsep.....	54

3.3. Hipotesis.....	54
BAB IV .....	55
METODE PENELITIAN.....	55
4.1. Jenis dan rancangan penelitian .....	55
4.1.1. Penentuan Dosis .....	55
4.2. Populasi dan sampel penelitian .....	56
4.3. Variabel dan Definisi Operasional .....	57
4.3.5. Definisi operasional .....	58
4.3.5.1. Ekstrak kunyit .....	58
4.3.5.2. MMP-9 .....	58
4.3.5.3. IFN- $\gamma$ .....	59
4.4. Bahan/ Materi Penelitian.....	59
4.6. Prosedur penelitian.....	61
4.7. Alur penelitian.....	63
4.8. Teknik pengumpulan data.....	64
4.9. Analisis Data.....	64
4.10. Etika Penelitian .....	64
4.11. Tempat dan waktu penelitian .....	64
BAB V .....	65
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	65
5.1 Hasil Penelitian .....	65
5.1.1 Kadar Gula Darah Puasa (GDP) .....	67
5.1.2 Kadar Matriks Metalloproteinase 9 (MMP-9) .....	69
5.1.3 Kadar Interferon $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ).....	71
5.2 Pembahasan.....	73
5.3. Keterbatasan Penelitian.....	79
BAB VI .....	80
KESIMPULAN DAN SARAN.....	80
6.1 Kesimpulan.....	80
6.2 Saran .....	80
Penelitian lebih lanjut diharapkan dapat memeriksa kadar marker mikro dan makroangiopati MMP-9 dan IFN- $\gamma$ dengan menggunakan vaskuler masing-masing organ target .....	80
DAFTAR PUSTAKA .....	81



LAMPIRAN..... 87



## Daftar Singkatan

AGEs	: <i>Advanced End Glycation Products</i>
ALT	: <i>Alanine Aminotransferase</i>
AMP	: <i>Adenosin Monophosphat</i>
AMPK	: <i>AMP-activated Protein Kinase</i>
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
AST	: <i>Aspartate Transaminase</i>
BMI	: <i>Body Mass Index</i>
CMR	: <i>Chylomicrons Remnant</i>
CRP	: <i>C-Reactive Protein</i>
DAG	: <i>Diacylglycerol</i>
DM	: <i>Diabetes Mellitus</i>
DMT2	: <i>Diabetes Mellitus Tipe 2</i>
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
ECM	: <i>Extra Cellular Matrix</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
EMMPRIN	: <i>Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer</i>
ER	: <i>Endoplasmic Reticulum</i>
ET-1	: <i>Endothelin-1</i>
ETC	: <i>Electron Transport Chain</i>
FFA	: <i>Free Fatty Acid</i>
GDP	: <i>Gula Darah Puasa</i>
GDS	: <i>Gula Darah Sewaktu</i>
GLUT	: <i>Glucose Transporter</i>
GSH	: <i>Glutathione Peroksidase</i>
HbA1C	: <i>Haemoglobin A1C</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
IFN- $\gamma$	: <i>Interferon-gamma</i>
IGF	: <i>Insulin Growth Factor</i>
IL	: <i>Interleukin</i>

IOP	: <i>Islet Amyloid Polipeptida</i>
IR	: <i>Insulin Resistance</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
Lp(a)	: <i>Lipoprotein a</i>
LPS	: <i>Lipopolysaccharide</i>
MAPK	: <i>Mitogen-Activated Protein Kinase</i>
MCP	: <i>Monosit Chemoattractant Protein</i>
MDA	: <i>Malondialdehyde</i>
MES	: <i>Matriks Ekstra Seluler</i>
MetS	: <i>Metabolic Syndrome</i>
MHC	: <i>Major Histocompatibility Complex</i>
MMP	: <i>Matriks Metalloproteinase</i>
NADPH	: <i>Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate</i>
NF- $\kappa$ B Cells	: <i>Nuclear Factor Kappa-Light-Chain-Enhancer of Activated B Cells</i>
NGAL	: <i>Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin</i>
NK	: <i>Natural Killer</i>
NO	: <i>Nitrit Oxide</i>
NOX	: <i>NADPH Oxidase</i>
PGC 1 $\alpha$ alpha	: <i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-<math>\gamma</math> Coactivator 1</i>
PKC	: <i>Protein Kinase C</i>
RAGE	: <i>Receptor for Advanced end Glycation Product</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Spesies</i>
SERCA	: <i>Sarco / Retikulum Endoplasma Ca<sup>2+</sup> + ATPase</i>
SOD	: <i>Superoxide Dismutase</i>
STAT	: <i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
STZ-NA	: <i>Streptozotocin-Nicotinamide</i>
TG	: <i>Trigliserida</i>
Th1	: <i>T Helper-1</i>
TIMP-1	: <i>Tissue Inhibiting metalloproteinase</i>

TLRs	: <i>Toll-like Receptors</i>
TNF- $\alpha$	: <i>Tumor Necrosis Factor-alfa</i>
TTGO	: Tes Toleransi Glukosa Oral
uPA	: urokinase Plasminogen Aktivator
UPR	: <i>Unfolded Protein Response</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelias growth factor</i>
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>



## Daftar Tabel

Tabel 1.1 Orisinalitas Penelitian .....	5
Tabel 1.2. Dosis rekomendasi induksi STZ-NA .....	52
Tabel 5.1.1. Analisis diskriptif, Uji Normalitas, dan transformasi data .....	66
Tabel 5.1.2. Uji Non Parametrik Kruskal Wallis .....	67
Tabel 5.1.3. Hasil Uji Post hoc Rerata Kadar GDP .....	68
Tabel 5.1.4. Hasil Uji Post hoc Rerata Kadar MMP-9.....	71
Tabel 5.1.5. Hasil Uji Post hoc Rerata Kadar IFN- $\gamma$ .....	72





## Daftar Gambar

Gambar 2.1. Aktivasi dan pelepasan MMP-9 oleh neutrophil.....	11
Gambar 2.2 Disfungsi mitokondria dan kontribusi terhadap perkembangan DMT2. .....	29
Gambar 2.3 Efek stimulasi insulin pada jaringan adiposa yang sehat dan hipertrofik.....	31
Gambar 2.4 Vicious cycle pada Peradangan di Berbagai Organ Sasaran pada Diabetes Tipe 2. ....	34
Gambar 2.5. Mekanisme Resistensi insulin dan stres oksidatif.....	35
Gambar 2.6 Skematik mekanisme antiinflamasi dari kurkumin terhadap patofisiologi hiperglikemia pada pasien DMT2.....	39
Gambar 2.7. Patogenesis STZ-NA dalam induksi DMT2 .....	51
Gambar 3.1. Kerangka Teori.....	54
Gambar 3.2. Kerangka konsep .....	55
Gambar 4.1. Rancangan penelitian .....	56
Gambar 4.2. Skema Alur Penelitian.....	64
Gambar 5.1. Rerata Kadar GDP.....	69
Gambar 5.2. Rerata Kadar MMP-9 .....	70
Gambar 5.3. Rerata Kadar IFN- $\gamma$ .....	72



## Daftar Lampiran

Lampiran 1 Perhitungan Dosis Streptozotocin-Nicotinamide dan Metformin .....	87
Lampiran 2 Cara Pengukuran GDP, MMP-9, dan IFN- $\gamma$ .....	88
Lampiran 3 Hasil Analisis SPSS.....	90
Lampiran 4 Ethical Clearance .....	137
Lampiran 5 Surat Keterangan Pemakaian Fasilitas Laboratorium Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM .....	138
Lampiran 6 Surat Keterangan Bebas Peminjaman Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM .....	139
Lampiran 7 Surat Keterangan Selesai Penelitian Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM .....	140



## ABSTRAK

**Latar Belakang :** Kunyit (*Curcuma longa*) mengandung zat aktif kurkumin yang memiliki potensi sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Pemberian ekstrak kunyit dapat memperbaiki kadar glukosa darah dan menghambat komplikasi makro serta mikroangiopati pada Diabetes Mellitus Tipe 2. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak *Curcuma longa* terhadap kadar GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$  pada DM tipe 2 sebagai terapi tunggal maupun kombinasi dengan metformin.

**Metode :** Jenis penelitian adalah eksperimental dengan rancangan *Posttest Only Control Group Design* selama 14 hari. Sampel berupa 24 ekor tikus galur wistar berusia 2 bulan dengan berat 180-200 gram dan diadaptasi selama 2 hari, dibagi menjadi 4 kelompok secara acak yaitu : kelompok kontrol negatif yaitu tikus yang diinduksi STZ-NA (K1), kelompok kontrol positif yaitu tikus yang diinduksi STZ-NA dan diberi metformin 45mg/kgbb/hari (K2), kelompok yang diinduksi STZ-NA dan pemberian ekstrak kunyit 200mg/kgbb/hari (P1), serta kelompok yang diinduksi STZ-NA dan pemberian ekstrak kunyit 100mg/kgbb dan metformin 22,5 mg/kgbb/hari (P1). Pemeriksaan kadar GDP menggunakan spektrofotometri. Pemeriksaan MMP-9 dan IFN- $\gamma$  menggunakan metode ELISA.

**Hasil :** Didapatkan penurunan Rerata  $\pm$  SD kadar GDP pada kelompok K2, P1 dan P2 dibanding kelompok K1 (100.00  $\pm$  2.00, 98.04  $\pm$  3.00, 92.00  $\pm$  3.00 dibanding 277.00  $\pm$  4.00 mg/dl. Pada MMP-9 didapatkan penurunan kelompok pada K2, P1 dan P2 dibanding kelompok K1. (328.00  $\pm$  14.00, 156.00  $\pm$  4.00, 131.00  $\pm$  4.00 dibanding 653.09  $\pm$  18.00 ng/ml.) Pada IFN - $\gamma$ , didapatkan penurunan pada kelompok K2, P1 dan P2 dibanding K1 (85.00  $\pm$  3.00, 61.05  $\pm$  2.04, 49.00  $\pm$  1.09 dibanding 300  $\pm$  16.00 ng/ml). Uji *Kruskal Wallis* untuk kadar GDP, MMP-9, dan IFN - $\gamma$  menunjukkan adanya perbedaan bermakna di antara kelompok ( $p=0,004$ ,  $p=0,004$ , dan  $p=0,004$ ). Pada uji *post hoc*, didapatkan perbedaan signifikan antar kelompok penelitian dengan  $p=0.000$ .

**Kesimpulan :** Pemberian ekstrak kunyit dapat menurunkan kadar GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$  pada tikus DM tipe 2

**Kata Kunci :** ekstrak kunyit, Diabetes Mellitus Tipe 2, GDP, MMP-9, IFN- $\gamma$

## ABSTRACT

**Background :** Turmeric (*Curcuma longa*) contains curcumin as an active ingredient that has ability as a potent antioxidant and antiinflammation. Turmeric extract can improve glucose level and surpress micro and microangiopathy complication in Diabetes Mellitus Type 2. The aim of this study was to investigate the role of turmeric extract administration on fasting glucose level, MMP-9, and IFN- $\gamma$ .

**Method :** Experimental PostTest Only Control Group Design study was conducted. 24 wistar rats aged 2 months weighing 180-200 grams was adapted for 2 days, divided into 4 groups randomly : negative control group induced by STZ-NA only (P1), positive control group induced by STZ-NA and received metformin 45mg/kgBW/day (P2), treatment group induced by STZ-NA and received turmeric extract 200mg/kgBW/day (K1), and ), treatment group induced by STZ-NA and received combination of metformin 22,5mg/kgBW/day and turmeric extract 100mg/kgBW/day. The levels of fasting glucose serum was measured by spectrophotometric method, while the levels of MMP-9 and IFN- $\gamma$  were measured by ELISA.

**Result :** Mean + SD Fasting blood glucose level was decreased respectively from K1, K2, P1 and P2 (277.00 + 4.00, 100.00 + 2.00, 98.04 + 3.00, 92.00 + 3.00 mg/dl). MMP-9 level was decreased respectively from K1, K2, P1 and P2 (653.09 + 18.00, 328.00 + 14.00, 156.00 + 4.00, 131.00 + 4.00 ng/ml). IFN - $\gamma$  level was decreased respectively from K1, K2, P1 and P2 (300 + 16.00, 85.00 + 3.00, 61.05 + 2.04, 49.00 + 1.09 ng/ml.) Kruskal Wallis test for Fasting blood glucose, MMP-9, dan IFN - $\gamma$  shows signicant different among groups. (p=0,004, p=0,004, dan p=0,004). Using post hoc test, all groups are significant different each other with p=0.000.

**Conclusion :** The administration of turmeric extract improves fasting glucose level, MMP-9, and IFN- $\gamma$  in type 2 DM wistar rats

**Keywords :** turmeric extract, Type 2 Diabetes mellitus, fasting glucose level, MMP-9, IFN

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Diabetes mellitus merupakan penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah akibat defisiensi insulin absolut atau relatif, yang memiliki komplikasi kerusakan pada jantung, pembuluh darah, mata, ginjal, dan saraf. Pada patogenesis DM tipe 2, terdapat peningkatan sitokin proinflamasi seperti IL-18, IL-6, TNF- $\alpha$ , MMP-9, dan IFN- $\gamma$  yang memicu komplikasi mikro dan makrovaskular.<sup>1-5</sup> Hiperglikemia dan resistensi insulin pada DM tipe 2 juga meningkatkan produksi *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang memperberat komplikasi dari DM tipe 2.<sup>6</sup> Sesuai perhimpunan ahli endokrinologi di Indonesia, pilihan terapi farmakologis pertama dalam pengelolaan DM tipe 2 adalah metformin yang bekerja meningkatkan sensitifitas insulin.<sup>7-10</sup> Dengan pemberian metformin yang adekuat, ternyata proses pembentukan komplikasi mikro dan makrovaskular tetap berjalan. Hal ini berkaitan dengan fenomena '*metabolic memory*', dimana komplikasi akibat stress oksidatif jangka panjang akan tetap berjalan meskipun target glukosa darah sudah tercapai. Sehingga dibutuhkan baik obat kombinasi atau ajuvan yang sinergis dalam mengurangi komplikasi tersebut.<sup>11</sup> Kunyit atau *Curcuma longa* merupakan bahan alami yang sering digunakan sebagai obat tradisional dengan kandungan zat aktif *curcumin* yang memiliki efek menurunkan mediator proinflamasi, salah satunya pada pasien DM tipe 2.



Pada tahun 2019, prevalensi global diabetes mencapai 9.3% (462 juta penduduk), diprediksi meningkat menjadi 10.2% (578 juta penduduk) pada tahun 2030 dan 10.9% (700 juta penduduk) pada tahun 2045. Di Indonesia, prevalensi diabetes mencapai 5.7% populasi dengan 10.2% total penduduk dengan tes toleransi glukosa terganggu. Prevalensi diabetes Indonesia usia produktif adalah 4.6%, dengan 3.5% diantaranya *underdiagnosed*. Prevalensi DM dengan komorbiditas antara lain obesitas (68.4%), obesitas sentral (41.7%), hipertensi (41.4%), dyslipidemia (50%).<sup>10,13</sup>

Selain terapi farmakologis dasar yang di rekomendasikan oleh beberapa guideline (Perkeni, ADA), sedang banyak diteliti senyawa lain yang sinergis dalam pengendalian gula darah serta pencegahan komplikasi dari DM tipe 2 salah satunya adalah *curcumin*. *Curcuma longa* yang merupakan sumber dari zat aktif *curcumin* yang memiliki sifat antioksidan dan anti-inflamasi. *Curcuma longa* sudah diteliti sebelumnya dalam bentuk ekstrak rimpang, dapat berkhasiat untuk menurunkan beberapa parameter pada pasien DM. Riska *et al*, terdapat pengaruh ekstrak rimpang *Curcuma longa* terhadap penurunan parameter glukosa pada manusia (GDP dan HbA1C). Hal ini juga didukung oleh penelitian Hussain *et. al* bahwa pemberian ekstrak *Curcuma longa* 300mg/kgbb/hari pada tikus galur wistar dapat menurunkan kadar gula darah dalam waktu 8 minggu.<sup>14,15</sup>

Sitokin proinflamasi menjadi topik yang sedang banyak diteliti pada DM tipe 2. Dalam patofisiologi DM tipe 2, Interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) ditemukan banyak berperan dalam respon inflamasi mikroangiopati.<sup>16,17</sup>

IFN- $\gamma$  diketahui dapat merusak lapisan-lapisan di retina mata, glomerulus, dan ujung-ujung saraf perifer. Saat ini, IFN- $\gamma$  sedang banyak dikembangkan untuk menjadi marker progresivitas mikroangiopati DM. MMP-9 sendiri merupakan marker *atherogenic* dan *chemoattractant* mediator inflamasi makroangiopati. Kondisi DM dan hiperglikemia akan meningkatkan TGF- $\beta$ , TNF $\alpha$ , dan IL6 yang berperan dalam aktivasi ekspresi MMP-9.<sup>1,18,19</sup> Studi tentang pengaruh pemberian ekstrak *Curcuma longa* pada pasien DM terhadap parameter metabolic dan inflamasi seperti GDP, MMP-9 dan terutama IFN- $\gamma$  yang memicu komplikasi pada DM tipe 2 belum banyak diteliti. Kombinasi antara metformin dan *Curcuma longa* sebagai ajuvan juga belum pernah diteliti sebelumnya. Kandungan *curcumin* dalam penelitian ini diharapkan dapat menurunkan mediator pro-inflamasi pada tikus DM baik sebagai terapi tunggal maupun terapi kombinasi dengan metformin. Penelitian ini menggunakan ekstrak *Curcuma longa* dengan dosis 200 mg/kgbb/hari yang dikombinasikan dengan metformin 70 mg/kgbb/hari selama 14 hari. Berdasarkan uraian diatas, akan diteliti kadar GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$  pada tikus galur wistar yang diinduksi streptozotosin.<sup>20</sup>

## 1.2. Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak *Curcuma longa* dapat menurunkan kadar GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$  pada tikus DM tipe 2 sebagai terapi tunggal dan sebagai terapi kombinasi dengan metformin?

### 1.3. Tujuan Penelitian

#### 1.3.1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh pemberian ekstrak *Curcuma longa* terhadap kadar GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$  pada DM tipe 2 sebagai terapi tunggal dan sebagai terapi kombinasi dengan metformin.

#### 1.3.2. Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Curcuma*

*longa* dalam kapsul 200mg/kgbb terhadap kadar GDP pada tikus galur wistar yang diinduksi Streptozotosin-Nicotinamide

1.3.2.2 Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Curcuma*

*longa* dalam kapsul 200mg/kgbb terhadap kadar MMP-9 pada tikus galur wistar yang diinduksi Streptozotosin-Nicotinamide

1.3.2.3 Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Curcuma*

*longa* dalam kapsul 200mg/kgbb terhadap kadar IFN- $\gamma$  pada tikus galur wistar yang diinduksi Streptozotosin-Nicotinamide

1.3.2.4 Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak *Curcuma*

*longa* dalam kapsul 100mg/kgbb yang dikombinasikan dengan metformin dalam kapsul 22,5mg/kgbb terhadap kadar GDP, MMP-9, dan

IFN- $\gamma$  pada tikus galur wistar yang diinduksi  
Streptozotosin-Nicotinamide

#### 1.4. Orisinalitas penelitian

Penelitian ini berjudul “Pengaruh ekstrak Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap Kadar GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$ ”. Dosis ekstrak *Curcuma longa* yang digunakan adalah 200mg/kgbb/hari. Salah satu kelompok perlakuan juga diberikan kombinasi metformin 70mg/kgbb/hari. Penelitian dilakukan selama 14 hari.

Pada penelitian sebelumnya, belum ada studi yang membandingkan pengaruh *curcumin* ditambah metformin dalam menurunkan parameter tersebut. Menurut Zhen-Hong *et al.* 2019, pemberian ekstrak *Curcuma longa* terhadap tikus dengan DM, didapatkan penurunan GDP. Pada penelitian yang dilakukan oleh Saja *et al.*,<sup>20</sup> menggunakan cell line dari monocyte, terdapat penurunan ekspresi MMP-9 terhadap pemberian zat aktif *curcumin*. Selain itu, sampai saat ini penelitian pemberian *curcumin* terhadap DM tipe 2 dalam menurunkan kadar serum IFN- $\gamma$  dan MMP-9 yang berperan dalam komplikasi mikro dan makroangiopati DM tipe 2 belum dilakukan. Adapun penelitian-penelitian terkait *curcumin* terhadap DM tipe 2 yang pernah dilakukan adalah sebagai berikut:

Tabel 1.1 Orisinalitas Penelitian

Nama Penyusun dan Tahun	Judul	Metode	Hasil
Saja <i>et al.</i> 2007	<i>Anti-inflammatory effect of curcumin downregulation of MMP-9 in blood mononuclear cells</i> <sup>20</sup>	Transfeksi pada sel monosit dengan pemberian curcumin 0-20 micromol. MMP-9 menggunakan Electrophoretic mobility shift assay.	Analisis zymografi dan ELISA memperlihatkan ekspresi dari MMP-9. Dari hasil RT-PCR, didapatkan hambatan produksi MMP-9 RNA dan protein.
Jennie <i>et al.</i> 2010	<i>Effects of Curcuma longa (turmeric) on postprandial plasma glucose and insulin in healthy subjects</i> <sup>14</sup>	Pemberian ekstrak 6 gram <i>Curcuma longa</i> , dinilai serum insulin postprandial.	Konsumsi 6 g <i>Curcuma longa</i> berpengaruh terhadap insulin secara signifikan lebih tinggi 30 menit (P = 0,03) dan 60 menit (P = 0,041) setelah TTGO.
Hussain <i>et al.</i> 2002	<i>Hypoglycemic, Hypolipidemic And Antioxdant Properties Of Combination Of Curcumin From Curcuma Longa, Linn, And Partially Purified Product From Abroma Augusta, Linn. In Streptozotocin Induced Diabetes</i> <sup>12</sup>	Pemberian <i>aqueous extract Curcuma longa</i> dengan dosis pemberian oral 300 mg/kgbbb. Efek dari zat aktif curcumin pada glukosa darah, lipid peroksidase dan jaringan tikus wistar di evaluasi setelah 8 minggu.	Terjadi penurunan GDP setelah pemberian ekstrak <i>Curcuma longa</i> secara signifikan berawal 162 ±22 mg/dl menjadi 89.4 ± 6.22 mg/dl.
Zhen-Hong <i>et al.</i> 2019	<i>The Underlying Mechanisms of Curcumin Inhibition of Hyperglycemia and Hyperlipidemia in Rats Fed a</i>	26 tikus Sprague-Dawley secara random menjadi control, high fat diet+streptozotosin, high fat + streptozotosin	Dibandingkan dengan kelompok HF + STZ, kelompok HF + Cur + STZ menunjukkan penurunan glukosa darah puasa, kolesterol total, trigliserida, + <i>Low Density Lipoprotein-cholesterol</i> , High density



---

*High-Fat Diet curcumin. . lipoprotein kolesterol, alanine Combined With* Kelompok dengan aminotransferase, aspartate *STZ Treatment*<sup>17</sup> pemberian curcumin transaminase, serta koefisien 300 mg/kgbb selama hepar. 12 minggu

---

## 1.5. Manfaat Penelitian

### 1.5.1 Manfaat teoritis

Sebagai informasi untuk penelitian selanjutnya serta menjadi bahan pengembangan penelitian terkait pemberian ekstrak *Curcuma longa* pada tikus galur wistar yang diinduksi Streptozotosin-Nicatinamide terhadap kadar GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$ .

### 1.5.2 Manfaat Praktis

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi di bidang kedokteran dan masyarakat mengenai alternatif terapi dan atau adjuvan dengan *Curcuma longa* sebagai tatalaksana farmakologis DM tipe 2.



## BAB II

### TINJUAN PUSTAKA

#### 2.1. Gula Darah Puasa (GDP)

Diabetes Mellitus merupakan penyakit metabolik multifaktorial yang diagnosis nya dapat ditegakkan melalui beberapa pemeriksaan wajib, yaitu gula darah sewaktu dan gula darah puasa. Gula darah sewaktu (GDS), merupakan hasil pemeriksaan sesaat tanpa memperhatikan waktu makan terakhir, sedangkan Gula darah puasa (GDP), adalah pemeriksaan yang dilakukan dengan pasien kondisi puasa minimal 8 jam. Menurut *American Diabetic Association*, target dari GDP adalah 70 – 130 mg/dl, dan menurut *International Diabetes Federation* adalah <100 mg/dl. Menurut Perkeni, GDP normal adalah <100 mg/dl. Pada pasien dengan nilai 100 – 125 mg/dl, didapatkan kondisi prediabetes, dan diatas 126 mg/dl masuk kriteria diabetes. Sedangkan untuk GDS 140 – 199 mg/dl, merupakan Toleransi glukosa terganggu, dan diatas 200 mg/dl termasuk kriteria diabetes. <sup>5,15</sup>

Keadaan puasa dimulai pada akhir periode paska absorpsi (~10-12 jam setelah awal asupan makanan terakhir). Selama keadaan puasa, glukosa plasma dipertahankan pada tingkat mendekati normal melalui glukoneogenesis: glukosa yang berasal dari laktat, alanin, dan gliserol. Pemeriksaan GDP pagi sebelum sarapan adalah cerminan dari keadaan puasa yang sebenarnya, nilai pertengahan pagi dan 2 jam setelah makan siang dapat dianggap mencerminkan periode postprandial, dan akhirnya glukosa 5 jam setelah makan siang (nilai pasca makan siang yang

diperpanjang) adalah penanda dari fungsi absorptive. Sebaliknya, hiperglikemia puasa muncul sebagai kontributor utama hiperglikemia diurnal secara keseluruhan pada pasien dengan kondisi DM yang tidak terkontrol (A1C 9,3%).<sup>5,15</sup>

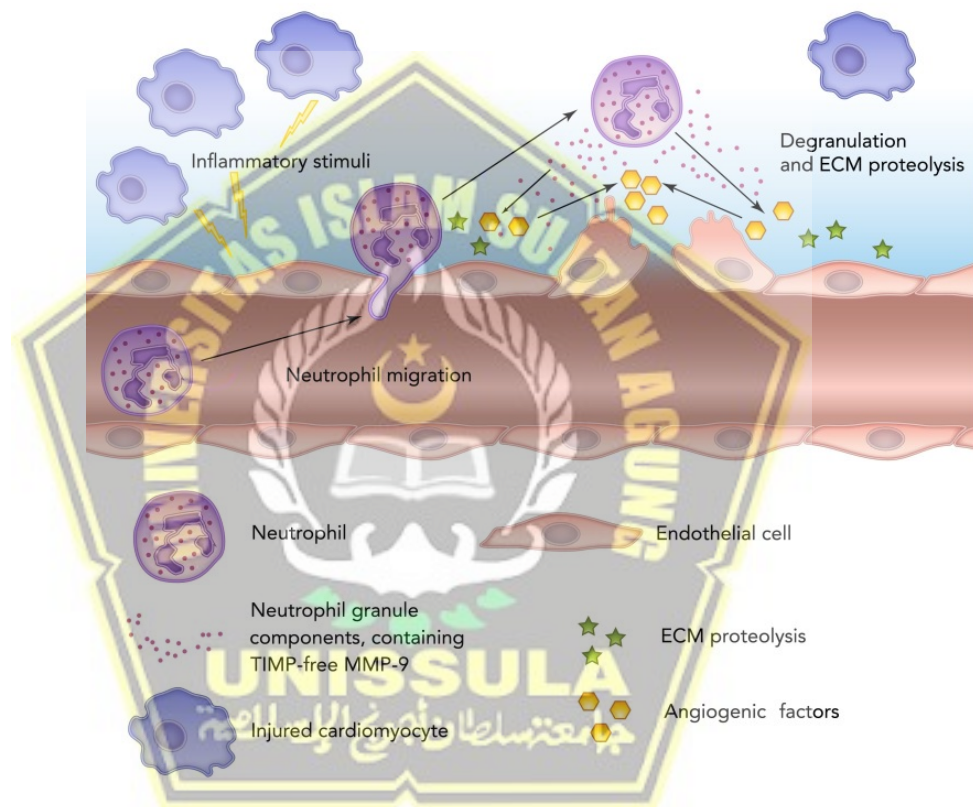
## 2.2. Matriks Metalloproteinase 9 (MMP-9)

Matriks metaloproteinase (MMP) adalah famili *Zn dependent* endopeptidase yang bertanggung jawab atas remodeling jaringan fisiologis dan patofisiologis. MMP melakukan metabolisme semua elemen struktural matriks ekstraseluler (MES), serta memproses berbagai substrat non-MES. MMP awalnya diberi nama deskriptif, berdasarkan spesifisitas substrat, dan diklasifikasikan menjadi lima kelompok: kolagenase, gelatinase, stromelysins, matrilysin, dan jenis membran.<sup>21-23</sup>

MMP berperan penting selama perkembangan jaringan fisiologis dan remodeling dan angiogenesis, serta berperan penting dalam kondisi patofisiologis seperti obesitas dan proses aterosklerotik. Selain itu, jumlah MMP yang bersirkulasi merupakan biomarker potensial penyakit kardiovaskular. MMP dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti resistensi insulin dan obesitas. Komponen berbeda dari sindrom metabolik telah diidentifikasi sebagai rangsangan untuk sintesis dan aktivitas MMP.<sup>21,23-26</sup>

Di sisi lain, sitokin pro-inflamasi dan anti-inflamasi, seperti leptin dan adiponektin, masing-masing, terkait dengan regulasi MMP.

Leptin menginduksi ekspresi MMP-2, MMP-9, dan *Tissue Inhibiting metalloproteinase* (TIMP) -1 dalam sel manusia. Adiponektin memiliki peran protektif dalam pecahnya plak melalui peningkatan ekspresi TIMP secara selektif. Manifestasi hepar dari sindrom metabolik adalah *NonAlcoholic Fatty Liver Disease* (NAFLD). MMP-2 dan MT1-MMP dapat merombak parenkim hepar selama proses fibrosis hepar dan dianggap sebagai enzim fibrogenik.<sup>22,23</sup>



**Gambar 2.1.** Aktivasi dan pelepasan MMP-9 oleh neutrofil

MMP-9, pertama disebut kolagenase tipe IV dengan ukuran 92-kDa atau gelatinase B, memainkan peran utama dalam degradasi MES dalam baik dalam proses fisiologi dan patologis yang melibatkan perombakan jaringan. Fungsi dari ekspresi MMP antara lain implantasi

embrio, dimulai dari invasi trofoblas pada masa awal kehamilan. MMP-9 melakukan diferensiasi jantung pada manusia. MMP-9 juga memainkan peran penting dalam neovaskularisasi melalui degradasi proteolitik dari protein lamina basal pembuluh darah dan pelepasan bentuk aktif biologis dari *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) 21-23

Pada gambar 2.1 dijelaskan bahwa MMP-9 disekresikan oleh banyak tipe sel, termasuk neutrofil, makrofag, dan fibroblas. Neutrofil mengandung banyak protease, seperti protease serin (*elastase*, *cathepsin G*, dan *proteinase 3*), MMPs (MMP-8 dan -9), dan urokinase plasminogen aktivator (uPA). Semua protease yang dilepaskan dari neutrofil mengaktifasi MMP-9. Dalam neutrofil, MMP-9 disintesis pada saat diferensiasi granulosit di sumsum tulang. MMP-9 mendegradasi MES dengan aktivasi lanjutan dari faktor proangiogenik utama seperti VEGF dan *Fibroblast Growth Factor-2* MMP-9 juga dibuktikan dapat mengatur fungsi leukosit melalui sejumlah mekanisme, termasuk aktivasi pro-IL-1 $\beta$  menjadi IL-1 $\beta$  dan aktivasi IL-8 menjadi bentuk yang lebih aktif. Hal ini akan memicu degranulasi MMP-9 dari neutrofil.<sup>7,9,11,15</sup>

### 2.2.1. MMP-9 dan aterosklerosis

Aterosklerosis adalah keadaan dimana terjadi penumpukan lemak dan kolesterol di dinding arteri, yang berkembang menjadi pembentukan plak. Plak aterosklerotik



mengandung kolagen tipe I, III, IV, V, XI, dan XVI. MMP-9 memiliki peran berbeda dalam pembentukan dan destabilisasi plak aterosklerotik. Pecahnya plak dikaitkan dengan peningkatan aktivitas proteolitik MMP-9. Remodelling arteri juga dikaitkan dengan peningkatan akumulasi dan degradasi kolagen I dan IV. Dalam plak, sumber utama MMP-9 adalah *foam cell* yang dibentuk dari makrofag. Peningkatan kadar MMP-9 sistemik sangat berkorelasi dengan mortalitas kardiovaskular pada pasien aterosklerosis.<sup>9,27</sup> Pada aterosklerosis, peningkatan kadar *plasminogen inhibitor aktivator* mempercepat proses dengan memungkinkan deposisi fibrin pada lesi yang berkembang. Pensinyalan MMP-9 dapat berkontribusi pada perubahan trombus yang semula stabil menjadi tidak stabil sehingga mudah ruptur. Trombus yang ruptur dapat sewaktu-waktu menyumbat pembuluh darah dan menyebabkan terjadinya angiopati.<sup>21-23</sup>

### 2.3. Interferon gamma (IFN- $\gamma$ )

Interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) merupakan sitokin pleotropik, yang telah terbukti penting untuk sel imun, respon imun bawaan dan adaptif. Sel T, sel NK, dan sel NKT adalah produsen utama IFN- $\gamma$ , dan memiliki efek dalam pertahanan host dan regulasi imun, termasuk aktivitas antivirus, aktivitas antimikroba, dan aktivitas antitumor.<sup>28</sup>

IFN- $\gamma$  terbukti berperan dalam fungsi dan pematangan beberapa sel imun. IFN- $\gamma$  penting untuk respon imun Th1 dan mengatur diferensiasi

sel T, aktivasi, ekspansi, dan homeostasis. Eradikasi patogen intraseluler membutuhkan produksi IFN- $\gamma$  oleh sel T. Generasi dan aktivasi Sel T regulator (Treg) membutuhkan IFN- $\gamma$ . IFN- $\gamma$  merangsang sel dendritik dan makrofag untuk meningkatkan regulasi molekul *Major Histocompatibility Complex* (MHC), meningkatkan presentasi antigen, dan meningkatkan ekspresi molekul ko-stimulator. Makrofag yang dirangsang IFN- $\gamma$  juga menghasilkan senyawa nitrogen reaktif. Sel NK mensekresi IFN- $\gamma$  pada awal infeksi inang, memfasilitasi rekrutmen dan aktivasi sel imun. IFN- $\gamma$  juga mengaktifkan sel NK, meningkatkan sitotoksitas dan respon imun yang diperantarai sel.<sup>2,18,19,29</sup>

IFN- $\gamma$  awalnya ditemukan sebagai agen yang mengganggu replikasi virus. IFN diklasifikasikan menjadi tipe I dan tipe II. IFN tipe I disekresikan pada tingkat rendah oleh hampir semua jenis sel, sel hematopoietik adalah produsen utama IFN- $\alpha$  dan IFN- $\omega$ , sedangkan fibroblas adalah sumber seluler utama IFN- $\beta$ . IFN- $\beta$  juga diproduksi oleh makrofag di bawah stimulus yang sesuai. Infeksi virus adalah stimulus klasik untuk ekspresi IFN- $\alpha$  dan IFN- $\beta$ . Selain itu, obat-obat glucocorticoid juga berperan dalam regulasi mediator tersebut.<sup>19</sup>

IFN- $\gamma$  adalah satu-satunya IFN tipe II. Pada tahap awal, diyakini bahwa limfosit CD4<sup>+</sup> T helper tipe 1 (Th1), limfosit sitotoksik CD8<sup>+</sup>, dan sel NK memproduksi IFN- $\gamma$ . Namun, sekarang terdapat bukti bahwa sel lain, seperti sel B, sel NKT, dan *antigen presenting cell* (APC) mengeluarkan IFN- $\gamma$ . Produksi IFN- $\gamma$  oleh APC [monosit/makrofag, sel dendritik (DC)] yang bekerja secara lokal dalam aktivasi sel dan aktivasi

sel di dekatnya. Sekresi IFN- $\gamma$  oleh sel NK dan APC penting dalam pertahanan awal host terhadap infeksi, sedangkan limfosit T menjadi sumber utama IFN- $\gamma$  dalam respon imun adaptif.<sup>19</sup>

Produksi IFN- $\gamma$  dikendalikan oleh sitokin yang disekresikan oleh APC, terutama interleukin (IL)-12 dan IL-18. Sitokin ini berfungsi sebagai jembatan untuk menghubungkan infeksi dengan produksi IFN- $\gamma$  dalam respon imun bawaan. Pengenalan makrofag dari banyak patogen menginduksi sekresi IL-12 dan kemokin. Kemokin ini menarik sel NK ke tempat inflamasi, dan IL-12 mendorong sintesis IFN- $\gamma$  di sel ini. Pada makrofag, sel NK dan T, kombinasi stimulasi IL-12 dan IL-18 semakin meningkatkan produksi IFN- $\gamma$ .<sup>19</sup>

### 2.3.1. DM dan IFN- $\gamma$

DM tipe 2 merupakan *immune related disease*. Sitokin dalam tubuh mempengaruhi sistem respon imun tubuh. Ekspresi dan sekresi dari sitokin ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti agen infeksi, kondisi hormonal, dan polimorfisme gen yang mengkode sitokin. IFN- $\gamma$  merupakan sitokin proinflamatori yang sedang banyak diteliti dalam mekanisme perkembangan DMT2. Penelitian yang dilakukan oleh Reza *et al.* tentang perbedaan IFN- $\gamma$  pada pasien dengan nefropathy antara DM dan non-DM, didapatkan perbedaan kadar IFN- $\gamma$  yang signifikan. Pada pasien DMT2 sendiri, terdapat perjalanan inflamasi kronis sistemik dalam tubuh, yang ditandai juga dengan aktivasi IFN- $\gamma$ . Sejalan dengan penelitian tersebut, didapatkan juga peningkatan kadar IL-6, IL-8 dan TNF alfa pada pasien dengan nefropati<sup>2,3,14,16</sup>

Faktor genetik dan lingkungan juga sangat berpengaruh dalam patogenesis DM tipe 2. Peneliti saat ini meyakini bahwa terjadi perubahan antara Th2 menjadi Th1 pada pasien DMT2. Polimorfisme genetik juga berperan dalam ekspresi sitokin pro inflamasi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kazemi *et al*, pada pasien DMT2. Dari penelitian tersebut didapatkan overekspresi pada gen yang mengkode IFN- $\gamma$ , dengan ditandainya shifting sistem imun ke Th1. Hal ini akan mengakibatkan penurunan IL-4 dan Th2. IL-4 dan Th-2 berfungsi sebagai imunitas seluler, Sedangkan IFN- $\gamma$  dan Th1 berperan sebagai agen sitolitik pada sel target.<sup>17,30,31</sup>

Pada komplikasi DMT2, IFN- $\gamma$  memiliki peranan penting dalam patogenesis terjadinya komplikasi. Pada pasien dengan nefropati, IFN- $\gamma$  merupakan prediktor penting dalam hal *inflammation state*. Pada pasien sindroma koroner akut, peningkatan IL-6 dan IFN- $\gamma$  memiliki nilai prognostik yang lebih rendah, terutama pada pasien dengan komorbiditas. Gangguan pensinyalan glukosa pada pasien dengan DMT2 menyebabkan hiperglikemia, yang merangsang sekresi insulin dan hiperinsulinemia fisiologis yang berkelanjutan mengaktifkan beberapa gen yang terlibat dalam peradangan, sehingga melepaskan berbagai sitokin proinflamasi. Sitokin-sitokin ini juga dapat menyebabkan perubahan sensitivitas insulin dan gangguan homeostasis glukosa<sup>9,11</sup>

Zone dan Lili *et al* melakukan studi tentang kadar IFN- $\gamma$  pada pasien diabetes dan menyimpulkan bahwa IFN- $\gamma$  lebih tinggi pada subjek

diabetes dibandingkan pada subjek sehat. Selain itu, IFN- $\gamma$  juga merusak sel beta Langerhans yang menyebabkan resistensi insulin, yang berkontribusi pada perkembangan diabetes. Line *et al* melakukan penelitian tentang IFN- $\gamma$  pada tikus diabetes dan hasilnya menunjukkan bahwa IFN- $\gamma$  pada kelompok diabetes lebih tinggi daripada pada tikus non diabetes, dan sitokin ini terlibat dalam perkembangan diabetes.<sup>32</sup>

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Mohammad Kazemi dkk tentang korelasi antara polimorfisme IL-4 dan IFN- $\gamma$  pada DMT2, didapatkan kesimpulan bahwa polimorfisme IFN- $\gamma$  berhubungan dengan diabetes, tetapi tidak ditemukan hubungan antara polimorfisme IL-4 dan diabetes. Dalam studi yang dilakukan oleh Tisavo *et al* tentang hubungan antara IFN- $\gamma$  dan diabetes, hasilnya menunjukkan bahwa IFN- $\gamma$  memainkan peran penting dalam perkembangan dan perkembangan diabetes, karena merusak sel beta pancreas dan menyebabkan resistensi insulin, yang berperan dalam progresivitas DMT2.<sup>2,33</sup>

## 2.4. Diabetes Mellitus Tipe 2

### 2.4.1. Pengertian

Diabetes Mellitus Tipe 2 (DMT2) adalah salah satu gangguan metabolisme yang paling umum di seluruh dunia dan perkembangannya terutama disebabkan oleh kombinasi dua faktor utama: sekresi insulin yang rusak oleh sel  $\beta$  pankreas dan ketidakmampuan jaringan sensitif insulin untuk merespons insulin.



Oleh karena itu, kerusakan pada salah satu mekanisme yang terlibat dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolik yang mengarah pada patogenesis DMT2.<sup>8</sup>

Menurut *World Health Organization* (WHO) diabetes mellitus adalah penyakit metabolik kronis yang ditandai dengan peningkatan kadar glukosa darah, yang seiring waktu memiliki komplikasi kerusakan pada jantung, pembuluh darah, mata, ginjal, dan saraf. Lebih dari 90% kasus diabetes melitus adalah DMT2, suatu kondisi yang ditandai dengan defisiensi sekresi insulin oleh sel  $\beta$  pancreas dan *insulin resistance* jaringan (IR). Perkembangan penyakit membuat sekresi insulin tidak dapat mempertahankan homeostasis glukosa, menyebabkan hiperglikemia. Pasien dengan DMT2 sebagian besar ditandai dengan obesitas atau memiliki persentase lemak tubuh yang lebih tinggi, terutama di daerah abdomen. Dalam kondisi ini, jaringan adiposa mendorong IR melalui berbagai mekanisme inflamasi, termasuk peningkatan pelepasan *Free fatty acid* (FFA) dan deregulasi adipokin. Penyebab utama peningkatan prevalensi DMT2 adalah peningkatan obesitas global, gaya hidup sedentary, diet tinggi kalori dan penuaan populasi, yang telah melipatgandakan insiden dan prevalensi DMT2. Organ yang terlibat dalam pengembangan DMT2 termasuk pankreas (sel  $\beta$  dan sel  $\alpha$ ), hepar, otot rangka, ginjal, otak, usus kecil, dan jaringan adiposa.<sup>5,8,10</sup>

### 2.4.2. Epidemiologi

Data epidemiologi menunjukkan jumlah pasien dengan DMT2 akan semakin meningkat setiap tahun. Menurut *International Diabetes Federation (IDF)* tahun 2019, diabetes menyebabkan kematian sejumlah 4.2 juta kematian, dengan 463 juta pasien dewasa muda usia 20 – 79 tahun hidup dengan diabetes, angka tersebut akan meningkat sampai 700 juta pada tahun 2045. Diabetes menjadikan beban morbiditas dan pengeluaran anggaran negara sebanyak 720 milyar USD pada tahun 2019. <sup>5,8,10</sup>

Fakta dari IDF menunjukkan bahwa 1 dari 3 pasien mengalami underdiagnosed DMT2 dengan jumlah 232 juta pasien. Prevalensi tertinggi pada usia 40 sampai 59 tahun. Insidensi DMT2 bervariasi berdasarkan lokasi geografis, dengan hampir 80% pasien DMT2 hidup pada daerah dengan pendapatan menengah kebawah. Pasien dengan DMT2 memiliki risiko 15% lebih tinggi untuk mengalami penyakit kardiovaskular. Epidemiologi DMT2 juga dipengaruhi baik genetic dan lingkungan. Faktor genetik akan memperkuat fenotip apabila terpapar dengan factor risiko lingkungan seperti gaya hidup sedentary dan jumlah intake kalori harian yang tinggi. <sup>5,8,10</sup>

### 2.4.3. Faktor Risiko

Faktor risiko DMT2 merupakan kombinasi kompleks antara faktor genetik, metabolik dan lingkungan yang saling berkaitan satu

sama lain. Meskipun kecenderungan individu terhadap DMT2 disebabkan oleh faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi (etnis dan riwayat keluarga / kecenderungan genetik), bukti dari studi epidemiologi menunjukkan bahwa banyak kasus DMT2 dapat dicegah dengan memperbaiki faktor risiko lain yang dapat dimodifikasi (obesitas, aktivitas fisik yang rendah dan pola makan yang tidak sehat) <sup>4,5</sup>

#### **2.4.3.1. Genetik, Etnis, Riwayat Keluarga**

Secara global, kejadian dan prevalensi DMT2 sangat bervariasi tergantung pada etnis dan wilayah geografis. Orang Jepang, Hispanik dan penduduk asli Amerika memiliki risiko tertinggi. Telah ditunjukkan tingkat kejadian yang lebih tinggi di Asia dibandingkan dengan populasi kulit putih Amerika, dan populasi kulit putih di Inggris, di mana risiko tertinggi adalah di antara populasi kulit hitam.

Kecenderungan genetik memainkan peran penting dalam risiko pengembangan DMT2. Selama dekade terakhir, beberapa studi asosiasi genom DMT2 telah menunjukkan sifat poligenik kompleks DMT2 dimana sebagian besar lokus ini meningkatkan risiko DMT2 melalui efek utama pada sekresi insulin. <sup>4,5,9,10</sup>

### 2.4.3.2. Obesitas, aktivitas fisik rendah dan *sedentary life*

Obesitas (indeks massa tubuh [BMI]  $\geq 30$  kg / m<sup>2</sup>) adalah faktor risiko terbesar untuk DMT2 dan dikaitkan dengan kelainan metabolik yang menyebabkan IR. Terdapat hubungan linier terbalik antara BMI dan usia saat diagnosis DMT2.<sup>9,10</sup> Gaya hidup sedentary adalah faktor risiko lain untuk DMT2 seperti yang ditunjukkan oleh Studi Kesehatan Wanita dan Studi Faktor Risiko Penyakit Jantung Iskemik Kuipio, yang menunjukkan penurunan 34% dan penurunan 56% dari DMT2 yang berkembang pada pasien yang berjalan 2-3 jam seminggu atau setidaknya masing-masing 40 menit seminggu. Ada tiga manfaat utama dari aktivitas fisik pada penundaan onset DMT2.<sup>4,5</sup>

Aktivitas fisik juga berpengaruh terhadap kejadian dan progresivitas DMT2. Pertama, kontraksi sel otot rangka menginduksi peningkatan aliran darah ke otot, meningkatkan pengambilan glukosa dari plasma. Kedua, aktivitas fisik mengurangi lemak intra-abdomen yang merupakan faktor risiko yang diketahui dapat memicu IR. Terakhir, olahraga dengan intensitas sedang telah terbukti meningkatkan pengambilan glukosa hingga 40%. Aktivitas fisik meningkatkan pengambilan glukosa dan sensitivitas insulin tetapi juga dapat meningkatkan atau bahkan

membalikkan peradangan dan stres oksidatif, yang merupakan faktor predisposisi DMT2.<sup>9,10</sup>

#### **2.4.4. Patofisiologi DM tipe 2**

Diabetes Mellitus tipe 2 disebabkan oleh kegagalan fungsi umpan balik antara kerja insulin dan sekresi insulin yang menyebabkan kadar glukosa dalam darah tinggi secara abnormal. Dalam kasus disfungsi sel  $\beta$ , sekresi insulin berkurang, membatasi kapasitas tubuh untuk mempertahankan kadar glukosa fisiologis. Di sisi lain, IR berkontribusi pada peningkatan produksi glukosa di hepar dan penurunan pengambilan glukosa baik di otot, hepar, dan jaringan adiposa. Bahkan jika kedua proses berlangsung di awal patogenesis dan berkontribusi pada perkembangan penyakit, disfungsi sel  $\beta$  biasanya lebih parah daripada IR. Namun, ketika disfungsi sel  $\beta$  dan IR hadir, hiperglikemia diperkuat yang mengarah ke progresi DMT2.<sup>9,34</sup>

Disfungsi sel  $\beta$  secara tradisional dikaitkan dengan kematian sel  $\beta$ . Namun, bukti terbaru menunjukkan bahwa disfungsi sel  $\beta$  dalam DMT2 disebabkan oleh interaksi yang lebih kompleks antara lingkungan dan jalur molekuler berbeda yang terlibat dalam biologi sel. Dalam keadaan nutrisi yang berlebihan, mirip dengan yang ditemukan pada obesitas, hiperglikemia dan hiperlipidemia sering muncul, menyebabkan IR dan peradangan kronis. Dalam keadaan ini, sel  $\beta$ , karena perbedaan dalam kerentanan genetiknya, tunduk



pada tekanan toksik termasuk peradangan, stres inflamasi, stres ER (*endoplasmic reticulum*), stres metabolik / oksidatif, stres amiloid, dengan potensi pada akhirnya menyebabkan hilangnya integritas islet.<sup>9,10</sup>

Lipotoksisitas, glukotoksisitas dan glukolipotoksisitas yang terjadi pada obesitas, menyebabkan stres metabolik dan oksidatif yang berujung pada kerusakan sel  $\beta$ . Stres yang berasal dari FFA jenuh tingkat tinggi dapat mengaktifkan jalur (*unfolded protein response*) UPR melalui beberapa mekanisme termasuk penghambatan sarco / retikulum endoplasma  $\text{Ca}^{2+}$  + ATPase (SERCA) yang bertanggung jawab atas mobilisasi ER  $\text{Ca}^{2+}$ ; aktivasi reseptor IP3 atau gangguan langsung dari homeostasis ER. Selain itu, kadar glukosa tinggi yang berkelanjutan meningkatkan biosintesis proinsulin dan islet amyloid polipeptida (IAAP) dalam sel  $\beta$ , yang mengarah ke akumulasi insulin dan IAAP yang gagal melipat dan meningkatkan produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang dimediasi pelipatan protein oksidatif (ROS). Efek ini mengubah mobilisasi ER  $\text{Ca}^{2+}$  fisiologis dan mendukung sinyal proapoptosis, degradasi mRNA proinsulin dan menginduksi pelepasan interleukin (IL) -1  $\beta$  yang merekrut makrofag dan meningkatkan peradangan sel islet lokal.<sup>4,5</sup>

## 2.4.5. Kondisi patologis yang memicu terjadinya DMT2

### 2.4.5.1. Nutrisi

Diet berkalori tinggi mengandung lemak dan karbohidrat dalam jumlah besar akan meningkatkan glukosa darah dan sirkulasi very low density lipoprotein (VLDL), *chylomicrons* (CM), dan *chylomicrons remnant* (CMR) yang kaya akan trigliserida (TG). Hal ini menyebabkan lonjakan konsentrasi ROS, sehingga menyebabkan pembentukan molekul inflamasi yang tidak normal. Oleh karena itu, lingkungan pro-oksidan menyebabkan disfungsi mitokondria, stres ER, aktivasi produksi NADPH oksidase (NOX) dan superoksida (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). Peningkatan produksi O<sub>2</sub><sup>-</sup> mengaktifkan lima jalur utama yang terlibat dalam patogenesis komplikasi diabetes: peningkatan jalur poliol, peningkatan pembentukan *advanced end glycation product* (AGEs), peningkatan ekspresi reseptor AGEs dan ligan pengaktifannya, aktivasi isoform protein kinase C (PKC), dan overaktivitas jalur heksosamin. Melalui jalur ini, peningkatan ROS intraseluler menyebabkan angiogenesis rusak sebagai respons terhadap iskemia, mengaktifkan sejumlah jalur proinflamasi, dan menyebabkan perubahan epigenetik jangka panjang yang mendorong ekspresi gen proinflamasi secara terus-menerus bahkan setelah glikemia dinormalisasi.<sup>4,5,9,10</sup>

#### 2.4.5.2. Aktivitas fisik

Berkurangnya aktivitas fisik dan olahraga, dan peningkatan perilaku menetap merupakan hubungan antara obesitas dan DMT2 dan dikaitkan dengan peningkatan penanda peradangan sistemik kronis. Dalam kondisi ini, molekul proinflamasi dilepaskan ke aliran darah dan di dalam jaringan seperti interleukin 6 (IL-6), C-Reactive Protein (CRP), tumor necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ) dan IL-1 untuk menginduksi inflamasi.<sup>9,11</sup> Keadaan ini dikenal sebagai peradangan metabolik. IL-1 terlibat dalam respon autoimun terhadap sel  $\beta$  di pankreas, penghambatan fungsi sel  $\beta$  dan aktivasi *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF- $\kappa$ B), sehingga menghambat fungsi sel  $\beta$  dan meningkatkan apoptosis.<sup>1,15,27</sup>

Hiperglikemia menginduksi pembentukan ROS oleh mitokondria, yang menimbulkan komplikasi DMT2, bahkan ketika kondisi hiperglikemia terkendali. Kerusakan kondisi stress oksidatif ini dapat dicegah ketika kontrol glikemik yang baik dimulai sangat awal. Pada tahap awal DMT2, terdapat hubungan antara hiperglikemia, peningkatan stres oksidatif, dan pembentukan AGE yang berlebih. Pada perkembangannya, terjadi glikasi protein yang persisten disertai dengan kerusakan DNA mitokondria. Efek dari ketidakseimbangan metabolik ini mengaktifkan proses inflamasi melalui pengikatan reseptor AGEs atau ROS yang dapat mengubah komposisi dan struktur matriks

ekstraseluler. Perubahan struktural ini dapat menyebabkan disfungsi endotel dan aterosklerosis<sup>4,5</sup>

*Low state inflammation*, yang terlibat dalam perkembangan DMT2 dan komplikasi vaskularnya, terbukti memediasi memori metabolik. Banyak faktor external seperti usia, obesitas, sedentarisme, dan diet, mendorong perkembangan DMT2 memicu respons inflamasi yang menyebabkan IR dan disfungsi endotel. Obesitas menyebabkan aktivasi NF- $\kappa$ B, yang memediasi ekspresi gen inflamasi, yang meningkatkan ikatan monosit ke sel otot polos endotel dan vascular. Hal ini diikuti diferensiasi monosit ke makrofag. Selain itu, aktivasi NF- $\kappa$ B menginduksi ekspresi sitokin inflamasi yang terlibat dalam peradangan vaskular.<sup>1,27</sup>

#### **2.4.5.3. Disfungsi mitokondria**

Pembentukan ROS merupakan kombinasi antara disfungsi mitokondria dan resistensi insulin. Produksi ROS berlangsung terutama di kompleks I dan kompleks III dari *Electron Transport Chain* (ETC) dan meningkat ketika ETC tidak mampu menyeimbangkan masukan elektron yang berlebihan. Dalam keadaan ini, sebagai akibat dari kelebihan nutrisi, suplai elektron ke ETC mitokondria meningkat dan kelebihan elektron dipindahkan ke oksigen yang menghasilkan O<sub>2</sub>- dan hidrogen peroksida berikutnya.

ROS yang dihasilkan di mitokondria mengoksidasi residu Cys dan Met dalam protein, merusak struktur protein dan berpengaruh terhadap fungsinya dan akhirnya menyebabkan kematian sel. ROS juga merusak DNA dan membran lipid, sehingga memicu disfungsi mitokondria. Selain itu, produksi berlebih ROS mengaktifkan jalur poliol, pembentukan AGEs, dan ekspresi reseptor AGEs serta ligan pengaktifannya. Hal ini juga akan mengaktifkan isoform PKC dan meningkatkan jalur heksosamin yang berkontribusi pada memburuknya DMT2. Singkatnya, pembangkitan ROS yang berlebihan oleh mitokondria berkontribusi pada perkembangan DMT2 yang dipercepat.<sup>9,10</sup>

Disfungsi mitokondria bersama dengan penurunan ekspresi protein oksidatif mitokondria, seperti kompleks ETC, menyebabkan penurunan oksidasi substrat. Akumulasi *Diacylglycerol* (DAG) berkontribusi pada disfungsi mitokondria yang terlihat pada IR.<sup>4,5</sup>

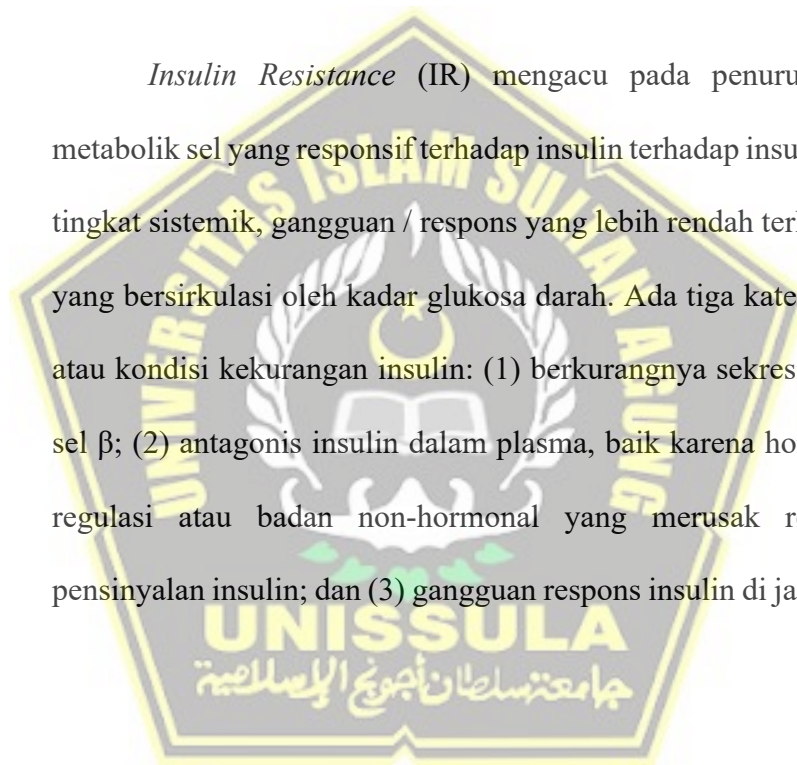
Defek dalam biogenesis mitokondria dapat dimediasi oleh penurunan regulasi dari *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\gamma$  Coactivator* PGC 1 $\alpha$  yang juga telah terdeteksi pada pasien DMT2. PGC 1 $\alpha$  adalah koaktivator transkripsi yang mengatur ekspresi gen kunci yang terlibat dalam biogenesis mitokondria, termogenesis adaptif, dan metabolisme substrat metabolik. Lebih lanjut, beberapa gen yang terlibat dalam

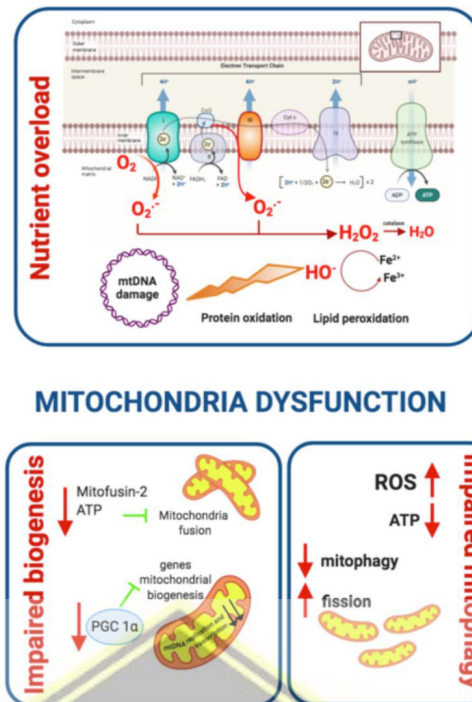


metabolisme oksidatif yang diturunkan regulasi pada individu dengan DMT2 berada di bawah kendali PGC 1 $\alpha$ . Mitofusin-2, pendorong utama dalam biogenesis mitokondria juga mengalami penurunan regulasi pada manusia dengan DMT2. Menariknya, tingkat mitofusin-2 meningkat saat penurunan berat badan yang menunjukkan bahwa kelebihan nutrisi dan energi menyebabkan disfungsi mitokondria. <sup>4,5</sup>

#### 2.4.6. Resistensi Insulin

*Insulin Resistance* (IR) mengacu pada penurunan respons metabolik sel yang responsif terhadap insulin terhadap insulin atau, pada tingkat sistemik, gangguan / respons yang lebih rendah terhadap insulin yang bersirkulasi oleh kadar glukosa darah. Ada tiga kategori besar IR atau kondisi kekurangan insulin: (1) berkurangnya sekresi insulin oleh sel  $\beta$ ; (2) antagonis insulin dalam plasma, baik karena hormon kontra-regulasi atau badan non-hormonal yang merusak reseptor atau pensinyalan insulin; dan (3) gangguan respons insulin di jaringan target.





**Gambar 2.2** Disfungsi mitokondria dan kontribusi terhadap perkembangan DMT2.

Kerja Insulin dipengaruhi oleh interaksi molekul tambahan termasuk hormon pertumbuhan dan IGF-1 dalam keadaan makan. Selama puasa, respon insulin diatasi oleh glukagon, glukokortikoid dan katekolamin untuk mencegah hipoglikemia yang diinduksi oleh insulin. Sementara katekolamin meningkatkan lipolisis dan glikogenolisis, glukokortikoid meningkatkan katabolisme otot, glukoneogenesis, dan lipolisis. Sekresi berlebihan dari hormon ini bertanggung jawab untuk menginduksi IR. Mengenai kategori terakhir, ada tiga organ ekstra-pankreas sensitif insulin yang memainkan peran utama dalam proses yang disebutkan di atas: otot rangka, jaringan adiposa, dan hepar. Kerja insulin yang rusak pada jaringan ini sering mendahului perkembangan IR sistemik, sehingga menyebabkan DMT2 secara progresif (dijelaskan pada gambar 2.2) <sup>9,10</sup>

IR otot rangka dianggap sebagai faktor ekstra-pankreas yang paling penting dalam perkembangan DMT2. Dalam kondisi fisiologis, insulin merangsang sintesis glikogen otot dengan meningkatkan uptake glukosa dari plasma. Ada tiga faktor pembatas kecepatan utama yang terlibat dalam pengambilan glukosa dan sintesis glikogen: sintase glikogen, heksokinase, dan transporter glukosa GLUT4. Setelah insulin mengikat reseptor insulin (INSR) dalam sel otot, GLUT4 berpindah dari kompartemen intraseluler (endosom awal, kompartemen daur ulang endosom (ERC) dan jaringan trans-Golgi (TGN)) ke membran plasma. Proses ini memungkinkan pengambilan glukosa dan mengurangi kadar glukosa yang bersirkulasi.<sup>4,5</sup>

Mutasi yang mengurangi ekspresi reseptor GLUT4, serta setiap disfungsi baik di jalur pensinyalan hulu atau hilir akan mengurangi asupan glukosa ke dalam otot yang mengakibatkan keadaan hiperglikemik. Aktivasi INSR tirosin kinase penting untuk fungsi insulin dalam metabolisme glukosa. Ikatan insulin ke subunit- $\alpha$  dari INSR menyebabkan fosforilasi subunit- $\beta$  pada beberapa residu tirosin dan memungkinkan pensinyalan yang dimediasi oleh insulin. Dengan demikian, mutasi di salah satu lokasi fosforilasi utama dapat mengganggu aktivitas INSR tirosin kinase, sehingga mengganggu kerja insulin pada otot rangka. Seperti disebutkan di atas, mutasi pada protein kunci jalur pensinyalan hilir seperti IRS-1 dan IRS-2 atau phosphoinositide 3-kinase (PI3K) juga mengganggu kerja insulin pada otot. Selain mutasi atau regulasi epigenetik yang rusak, faktor

lingkungan juga dapat memainkan peran penting dalam pengambilan glukosa oleh otot. Aktivitas fisik meningkatkan aliran darah ke sel otot rangka dan dengan demikian meningkatkan pemanfaatan glukosa. Obesitas, yang berhubungan dengan peradangan kronis, berkontribusi pada IR dan DMT2 (dijelaskan pada gambar 2.3) <sup>9,10</sup>



Endotel memainkan peran penting dalam regulasi tonus dan struktur vaskular melalui pelepasan yang seimbang dari faktor relaksasi dan kontraksi yang diturunkan dari endotel. Keseimbangan ini diubah pada DMT2 yang menyebabkan perubahan sifat fisikokimia dinding pembuluh darah melalui disfungsi endotel, stres oksidatif, hiperreaktivitas platelet, dan peradangan. Kelainan ini menyebabkan



peningkatan vasokonstriksi, perkembangan aterosklerosis, dan pembentukan thrombus.<sup>37-39</sup>

Sel endotel vaskular sangat rentan terhadap hiperglikemia intraseluler karena glukosa berdifusi secara pasif melalui membran plasma. Dalam DMT2, kelebihan glukosa dapat dimetabolisme di jalur sorbitol menjadi sorbitol dan fruktosa oleh aldosa reduktase, yang mengaktifkan jalur metabolik sekunder aldosa reduktase, dengan bersamaan oksidasi NADPH menjadi NADP + dan reduksi NAD + menjadi NADH. Deplesi NADPH dan peningkatan rasio sitosol NADH / NAD + menyebabkan perubahan potensial redoks yang mempercepat glikolisis dan meningkatkan sintesis de novo DAG. Akibatnya, protein kinase C (PKC) diaktifkan, nitrit oxide (NO) berkurang. Efek ini menyebabkan permeabilitas vaskular dan meningkatkan kontraktilitas. Secara bersamaan, peningkatan rasio NADH / NAD + juga menghasilkan produksi O<sub>2</sub><sup>-</sup>, oksidasi LDL yang lebih tinggi, produksi ROS dan efek sitotoksik pada sel endotel dan mengurangi ketersediaan NO, yang menyebabkan disfungsi endotel.<sup>37-39</sup>

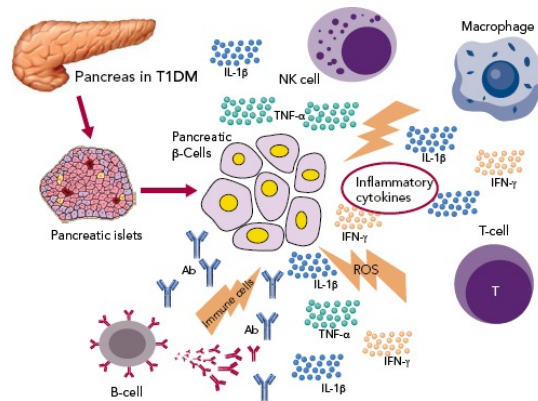
AGEs dikaitkan dengan beberapa molekul yang meningkatkan aktivitas oksidan dan akibatnya produksi ROS, yang meningkatkan stres oksidatif dan mencegah pelepasan NO, yang mengakibatkan lesi vaskular. AGEs juga dapat mengurangi bioavailabilitas dan aktivitas NO yang diturunkan dari endotel, yang selanjutnya mengganggu aktivitas vaskular. Selain itu, AGEs dapat memicu keadaan inflamasi dan pro-koagulan dan dapat menyebabkan aktivasi endotel melalui



induksi transkripsi gen yang dimediasi reseptor. AGE yang mengikat reseptor *Receptor for Advanced end Glycation Product* (RAGE), faktor transkripsi NF- $\kappa$ B diaktifkan yang mengarah ke transkripsi endotelin-1, VCAM-1, ICAM-1, E-selektin, trombomodulin, TF, faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF), IL- 1, IL-6, dan TNF- $\alpha$ . Peningkatan ekspresi molekul inflamasi dan adhesi memperkuat respons inflamasi dan memperburuk komplikasi vaskular diabetes. Sitokin pro-inflamasi ini merangsang ekspresi dan pelepasan molekul pro-koagulan dan menghambat ekspresi molekul anti-koagulan oleh sel endotel. Hal ini menyebabkan keadaan pro-koagulan di permukaan endotel dan meningkatkan produksi faktor pertumbuhan yang mengakibatkan penebalan membran basal, sehingga mendukung pengendapan protein dan lemak serta merusak vasodilatasi.<sup>40-42</sup>

### **2.5. DMT2, Inflamasi dan Stres Oksidatif**

Pada pasien DMT2, patogenesis pasien dan progresivitas dipengaruhi oleh resistensi insulin. Pasien pre-diabetes dan berisiko, pada fase awal memiliki kondisi resistensi insulin dengan kompensasi hipersekresi insulin dan sel beta. Kondisi tersebut akan terus berjalan dan berakhir dengan kegagalan sel beta untuk mensekresikan insulin. Ada beberapa hal yang mempengaruhi perjalanan penyakit DM. Dijelaskan pada gambar 2.4.<sup>16,27,36-38</sup>

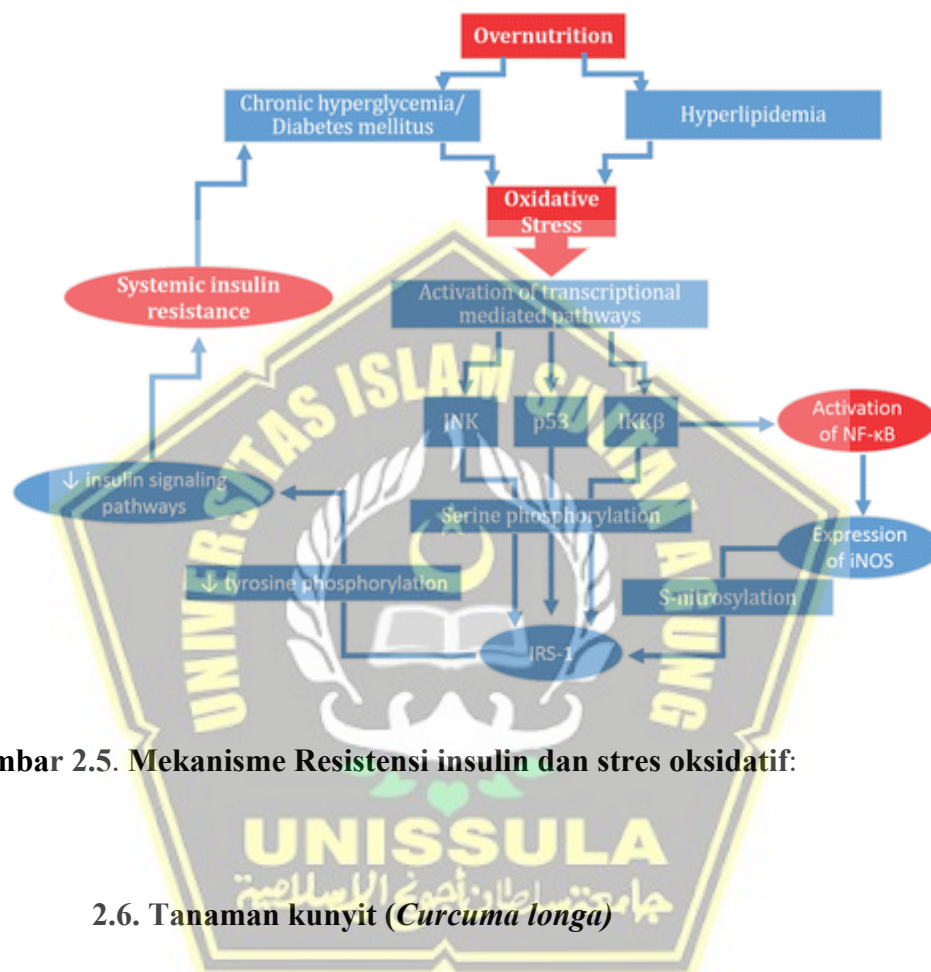


**Gambar 2.4** *Vicious cycle* pada Peradangan di Berbagai Organ Sasaran pada Diabetes Tipe 2.

Overnutrisi meningkatkan kelebihan glukosa seluler dan FFA yang pada gilirannya meningkatkan stres oksidatif. Jaringan perifer dan adiposa melindungi diri dari efek buruk dari stres oksidatif yang menghasilkan resistensi terhadap insulin dengan mencegah penetrasi glukosa dan FFA ke dalam sel. Stres oksidatif terjadi karena ketidakseimbangan antara produksi *Reactive oxygen species* (ROS) dan mekanisme pertahanan anti-oksidatif terhadap produksi ROS. Sel pulau pankreas, adiposit dan jaringan perifer lebih rentan terhadap efek merusak dari stres oksidatif. Beberapa mekanisme terlibat untuk mempengaruhi keseimbangan antara ROS dan mekanisme pertahanan anti-oksidan termasuk aktivasi jalur sinyal stres seperti jalur JNK dan jalur yang dimediasi transkripsi seperti NF-κB. Jalur JNK dan NF-κB menurunkan ambilan glukosa yang dimediasi insulin oleh jaringan dan pensinyalan insulin, yang pada akhirnya menginduksi IR.<sup>25,44</sup>

Selain itu, aktivasi jalur JNK dan NF-κB juga dikaitkan dengan upregulasi berbagai mediator proinflamasi seperti TNF-α, IL-6, dan CRP. Juga telah dilaporkan bahwa aktivasi jalur NF-κB yang dipicu oleh stres oksidatif juga dapat dikaitkan dengan disfungsi endotel yang dapat menyebabkan induksi IR, tetapi terapi anti-oksidan dapat bertindak sebagai strategi potensial untuk mencegah

induksi IR terkait dengan disfungsi endotel. Semakin banyak bukti menunjukkan bahwa stres oksidatif adalah faktor patogen umum yang mengarah pada pengembangan IR spesifik jaringan. Hasil studi eksperimental menunjukkan bahwa apa yang terjadi di jaringan perifer juga terjadi di sel pulau pankreas dan sel endotel untuk mengkompensasi stres oksidatif sistemik. (dijelaskan oleh gambar 2.5) <sup>25,44</sup>



**Gambar 2.5. Mekanisme Resistensi insulin dan stres oksidatif:**

## 2.6. Tanaman kunyit (*Curcuma longa*)

### 2.6.1. Klasifikasi tumbuhan

Kunyit merupakan tanaman rimpang, yang memiliki bagian umbi, daun, dan batang. Pada bagian umbi, terdapat akar nafas yang berstruktur *globulus*. Akar memproduksi rimpang berbentuk ellipsoid. Batanya bisa mencapai tinggi 1 – 2 meter, dengan pseudostem diselimuti batang berlapis. Daun

kunyit tersusun dari lapisan daun, batang dan helai. Helai mencapai 31 – 83 cm, dengan lebar daun sekitar 10 – 18 cm. Umbi yang dihasilkan, berbentuk rimpang dengan warna kuning tua dan jingga. Kunyit memiliki taxonomy sebagai berikut<sup>43-45</sup>

Kingdom : Plantae  
 Divisi : Spermatophyta  
 Sub-divisi : Angiospermae  
 Kelas : Monocotyledonae  
 Ordo : Zingiberales  
 Famili : Zingiberaceae  
 Genus : Curcuma  
 Species : *Curcuma longa*<sup>46</sup>

### 2.6.2. Kandungan

Khasiat curcuma sebagai obat, sebagai sumber *curcumin*, telah dikenal lama. Namun, kemampuan untuk menentukan mekanisme kerja yang tepat dan untuk menentukan komponen bioaktif sedang banyak diteliti. *Curcumin* (1,7-bis (4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione), disebut juga diferuloylmethane, merupakan polifenol alami utama yang terdapat pada rimpang *Curcuma longa* (curcuma) dan di tempat lain *Curcuma* spp. *Curcuma longa* telah digunakan secara tradisional di negara-negara Asia sebagai ramuan medis karena sifat antioksidan, anti-inflamasi, antimutagenik, antimikroba, dan antikanker.<sup>47-49</sup>

*Curcumin*, sebagai polifenol, telah terbukti menargetkan beberapa molekul pemberi sinyal sekaligus menunjukkan aktivitas di

tingkat sel, yang telah membantu mendukung berbagai manfaat kesehatan. *Curcumin* telah terbukti bermanfaat bagi kondisi inflamasi, sindrom metabolik, nyeri, dan membantu dalam menurunkan inflamasi dan degenerasi.<sup>47-49</sup>

### 1.6.3. Manfaat

#### 1.6.3.1. Antioksidan

Sifat antioksidan dan anti-inflamasi adalah dua mekanisme utama yang menjelaskan sebagian besar efek *curcumin* pada DMT2. *Curcumin* telah terbukti meningkatkan penanda sistemik stres oksidatif. *Curcumin* dapat meningkatkan aktivitas serum antioksidan seperti *superoksida dismutase* (SOD).<sup>49,50</sup> Sebuah tinjauan sistematis terbaru dan meta-analisis data RCT terkait dengan efektivitas suplementasi dengan *curcuminoid* yang dimurnikan pada parameter stres oksidatif dan didapatkan hasil berupa efek signifikan suplementasi *curcuminoid* pada semua parameter stres oksidatif termasuk aktivitas plasma SOD dan katalase, serum *glutathione peroksidase* (GSH) dan peroksida lipid.

52,53

Efek *curcumin* pada radikal bebas dilakukan dengan beberapa mekanisme berbeda. *Curcumin* dapat menetralkan berbagai bentuk radikal bebas, seperti oksigen reaktif dan spesies nitrogen (ROS dan RNS, masing-masing) dapat memodulasi aktivitas enzim GSH, katalase, dan SOD yang aktif dalam netralisasi



radikal bebas; juga, dapat menghambat enzim penghasil ROS seperti lipoksigenase / siklooksigenase dan xantin hidrogenase / oksidase. Selain itu, *curcumin* adalah senyawa lipofilik, yang membuatnya menjadi penetral radikal peroksil yang efisien, oleh karena itu, seperti vitamin E, *curcumin* juga dianggap sebagai antioksidan pemecah rantai ikatan kimia. <sup>47,48,50,51</sup>

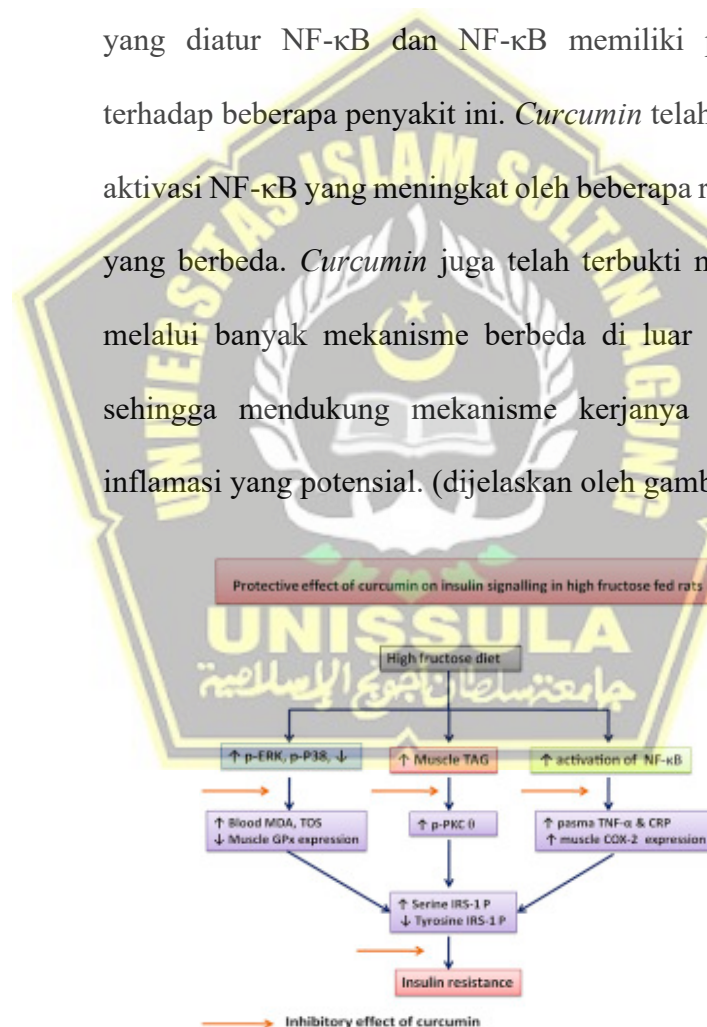
### 1.6.3.2. Antiinflamasi

Stres oksidatif telah terlibat dalam banyak penyakit kronis, dan proses patologisnya terkait erat dengan peradangan, di mana satu penyakit dapat dengan mudah dipicu oleh penyakit lain. Faktanya, diketahui bahwa sel-sel inflamasi membebaskan sejumlah spesies reaktif di tempat peradangan yang menyebabkan stres oksidatif. Selain itu, sejumlah spesies oksigen / nitrogen reaktif dapat memulai kaskade pensinyalan intraseluler yang meningkatkan ekspresi gen pro-inflamasi. <sup>47,49-51</sup> Peradangan telah diidentifikasi dalam perkembangan banyak penyakit dan kondisi kronis. Penyakit ini antara lain penyakit Alzheimer (AD), penyakit Parkinson, multiple sclerosis, epilepsi, cedera otak, penyakit kardiovaskular, sindroma metabolik, kanker, alergi, asma, bronkitis, radang usus besar, radang sendi, iskemia ginjal, psoriasis, diabetes, obesitas, depresi, kelelahan, dan sindrom defisiensi imun didapat AIDS. <sup>54,55</sup>

Tumor nekrosis faktor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) adalah mediator utama peradangan pada sebagian besar penyakit, dan efek ini diatur oleh

aktivasi faktor transkripsi, faktor nuklir (NF) - $\kappa$ B. Sedangkan TNF- $\alpha$  dikatakan sebagai penggerak NF- $\kappa$ B paling kuat, ekspresi TNF- $\alpha$  juga diatur oleh NF- $\kappa$ B.<sup>38,49</sup> Selain TNF- $\alpha$ , NF- $\kappa$ B juga diaktivasi oleh sebagian besar sitokin inflamasi; bakteri gram negatif; berbagai virus penyebab penyakit; polutan lingkungan; stres kimiawi, fisik, mekanis, dan psikologis; glukosa tinggi; asam lemak; radiasi ultraviolet; asap rokok; dan faktor penyebab penyakit lainnya.<sup>50,56</sup>

Oleh karena itu, agen yang menurunkan regulasi produk gen yang diatur NF- $\kappa$ B dan NF- $\kappa$ B memiliki potensi kemanjuran terhadap beberapa penyakit ini. *Curcumin* telah terbukti memblokir aktivasi NF- $\kappa$ B yang meningkat oleh beberapa rangsangan inflamasi yang berbeda. *Curcumin* juga telah terbukti menekan peradangan melalui banyak mekanisme berbeda di luar cakupan ulasan ini, sehingga mendukung mekanisme kerjanya sebagai agen anti-inflamasi yang potensial. (dijelaskan oleh gambar 2.6)<sup>37,47,48,54</sup>



**Gambar 2.6** Skematik mekanisme antiinflamasi dari kurkumin terhadap patofisiologi hiperglikemia pada pasien DMT2

### 1.6.3.3. Sindroma metabolic

Sindroma metabolic meliputi resistensi insulin, hiperglikemia, hipertensi, kolesterol lipoprotein densitas rendah (HDL-C), peningkatan kolesterol lipoprotein densitas rendah (LDL-C), peningkatan kadar trigliserida, dan obesitas, terutama obesitas visceral. *Curcumin* telah terbukti melemahkan beberapa aspek MetS dengan meningkatkan sensitivitas insulin, menekan adipogenesis, dan mengurangi tekanan darah tinggi, peradangan, dan stres oksidatif. Selain itu, ada bukti bahwa *curcuminoid* memodulasi ekspresi gen dan aktivitas enzim yang terlibat dalam metabolisme lipoprotein yang mengarah pada penurunan trigliserida dan kolesterol plasma serta meningkatkan konsentrasi HDL-C.<sup>38,49</sup> Baik kelebihan berat badan maupun obesitas terkait dengan peradangan kronis tingkat rendah; meskipun mekanisme pastinya tidak jelas, diketahui bahwa sitokin proinflamasi dilepaskan. Sitokin ini dianggap sebagai inti dari komplikasi yang terkait dengan diabetes dan penyakit kardiovaskular. Karena itu, mengatasi peradangan itu penting.<sup>50,56</sup>

Dalam uji coba *Randomised Controlled Trial double blind* dengan desain kelompok paralel, 117 subjek dengan MetS menerima 1 g *curcumin* ditambah 10 mg piperin untuk meningkatkan penyerapan atau plasebo ditambah 10 mg piperin selama delapan minggu. Analisis dalam kelompok menunjukkan penurunan yang signifikan dalam konsentrasi serum TNF- $\alpha$ , IL-6,

mengubah faktor pertumbuhan beta (TGF- $\beta$ ), dan *monosit chemoattractant protein-1* (MCP-1) setelah suplementasi *curcumin* ( $p < 0,001$ ).<sup>45</sup>

Selain IL-6, perubahan parameter lain tetap signifikan secara statistik setelah penyesuaian untuk pembaur potensial, termasuk perubahan kadar lipid serum dan glukosa, serta konsentrasi sitokin serum dasar. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa suplementasi *curcumin* secara signifikan menurunkan konsentrasi serum sitokin proinflamasi pada subjek dengan MetS. Selain itu, penelitian ini melihat sifat penurun kolesterol dan menemukan bahwa *curcumin* lebih efektif daripada plasebo dalam mengurangi LDL-C serum, non-HDL-C, kolesterol total, trigliserida, dan lipoprotein a (Lp (a)), selain meningkatkan konsentrasi HDL-C. Namun, perubahan kadar LDL-C serum ditemukan sebanding antara kelompok studi. Efek *curcumin* pada trigliserida, non-HDL-C, kolesterol total, dan Lp (a) tetap signifikan setelah penyesuaian untuk nilai dasar lipid dan indeks massa tubuh.<sup>37</sup>

Dari studi yang sama, penulis juga melaporkan penanda stres oksidatif. Ada peningkatan yang signifikan dalam aktivitas SOD serum ( $p < 0,001$ ) dan penurunan MDA ( $p < 0,001$ ) dan konsentrasi protein C-reaktif (CRP) ( $p < 0,001$ ) pada kelompok yang menerima *curcumin* dengan piperin dibandingkan dengan kelompok plasebo. Tujuan sekunder mereka adalah untuk melakukan meta-analisis data dari semua uji coba terkontrol secara acak untuk memperkirakan

ukuran efek *curcumin* pada konsentrasi CRP plasma. Sintesis data kuantitatif mengungkapkan efek signifikan dari *curcuminoid* vs plasebo dalam mengurangi konsentrasi CRP yang bersirkulasi. Para penulis menyimpulkan bahwa suplementasi jangka pendek dengan kombinasi *curcumin*-piperin secara signifikan meningkatkan status oksidatif dan inflamasi pada pasien dengan MetS. Oleh karena itu, *curcumin* dapat dianggap sebagai agen penurun CRP yang alami, aman, dan efektif<sup>37</sup>

Sitokin inflamasi juga diukur dalam penelitian di atas. Rata-rata serum IL-1 $\beta$  (p = 0,042), IL-4 (p = 0,008), dan faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF) (p = 0,01) ditemukan berkurang secara signifikan dengan terapi *curcumin*. Sebaliknya, tidak ada perbedaan signifikan yang diamati pada konsentrasi IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, faktor pertumbuhan *epidermal growth factor* (EGF), dan MCP-1. Para penulis menyarankan bahwa temuan menunjukkan bahwa *curcumin* dapat memberikan efek imunomodulator melalui perubahan konsentrasi IL-1 $\beta$ , IL-4, dan VEGF yang bersirkulasi.<sup>47,56</sup>

Dalam uji RCT plasebo double-blind, 36 orang dewasa obesitas menerima 1 g *curcumin* dan 10 mg piperine atau plasebo selama 30 hari diikuti dengan periode pencucian dua minggu, setelah itu mereka menerima pengobatan lain. Penurunan yang signifikan dalam konsentrasi trigliserida serum diamati, tetapi pengobatan tidak memiliki pengaruh yang signifikan terhadap



kolesterol total serum, LDL-C, HDL-C, dan konsentrasi protein C-reaktif sensitivitas tinggi (hs-CRP), maupun pada tubuh. indeks massa (BMI) dan lemak tubuh. Penulis menyarankan bahwa periode suplemen yang pendek, kurangnya kontrol diet, dan dosis suplemen yang rendah dapat menjelaskan mengapa hasil ini bertentangan dengan laporan sebelumnya.<sup>37,45,54</sup>

## 1.7. Efek *Curcumin* terhadap GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$

### 1.7.3. IFN- $\gamma$ terhadap DMT2

DMT2 merupakan *immune related disease*. Sitokin dalam tubuh mempengaruhi sistem respon imun tubuh. Ekspresi dan sekresi dari sitokin ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti agen infeksi, kondisi hormon dan polimorfisme gen yang mengkode sitokin. Walaupun sudah banyak dilaporkan bahwa peran resistensi insulin merupakan dasar patofisiologi dari DMT2, peran respon imun tubuh sedang banyak diteliti sebagai salah satu patofisiologi DMT2. IFN- $\gamma$  merupakan sitokin proinflamasi yang sedang banyak diteliti dalam mekanisme perkembangan DMT2. Reza *et al.* dengan penelitian membandingkan perbedaan IFN- $\gamma$  pada pasien dengan nefropathy antara DM dan non-DM, didapatkan perbedaan kadar IFN- $\gamma$  yang signifikan. Pada pasien DMT2 sendiri, terdapat perjalanan inflamasi kronis sistemik dalam tubuh, yang ditandai juga dengan aktivasi IFN- $\gamma$ . Sejalan dengan penelitian tersebut, didapatkan juga peningkatan kadar IL-6, IL-8 dan TNF alfa pada pasien dengan nefropati<sup>54-58</sup>

Faktor genetik dan lingkungan, berpengaruh dalam patogenesis DMT2. Peneliti saat ini meyakini bahwa terjadi perubahan antara Th2 menjadi Th1 pada pasien DMT2. Polimorfisme gen juga berperan dalam ekspresi sitokin pro inflamasi. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kazemi *et al*, pada pasien DM tipe 2, didapatkan overekspresi pada gene yang mengkode IFN- $\gamma$ , dengan ditandainya shifting sistem imun ke Th1. Hal ini akan mengakibatkan penurunan IL-4 dan Th2. <sup>54-58</sup>

Pada komplikasi DMT2, IFN- $\gamma$  memiliki peranan penting dalam patogenesis komplikasi DM. Pada pasien dengan nefropati, IFN- $\gamma$  merupakan prediktor penting *inflammation state*. Pada pasien sindroma koroner akut, peningkatan IL-6 dan IFN- $\gamma$  juga sedang banyak diteliti sebagai predictor prognostik, terutama pada pasien dengan komorbiditas. Selain itu, pada retinopati DM, IFN- $\gamma$  banyak ditemukan pada air mata, humor aquous, humor vitreus, dan retina mata yang menyebabkan progresivitas kerusakan retina mata.

Gangguan pensinyalan glukosa pada pasien dengan DMT2 menyebabkan hiperglikemia, yang merangsang sekresi insulin dan hiperinsulinemia fisiologis yang berkelanjutan mengaktifkan beberapa gen yang terlibat dalam peradangan, sehingga menghasilkan pelepasan berbagai sitokin proinflamasi yang kuat. Sitokin ini juga dapat menyebabkan perubahan sensitivitas insulin dan gangguan homeostasis glukosa <sup>54-58</sup>

Sitokin adalah sekelompok protein yang memainkan peran utama dalam respon inflamasi terhadap rangsangan patologis seperti peradangan dan kerusakan jaringan. Produksi sitokin diatur oleh berbagai stimulan fisiologis seperti olahraga. Sitokin yang diproduksi, diekspresikan dan dilepaskan dari serat otot disebut miokin, endokrin, dan autokrin, dimana sitokin bertanggung jawab untuk mentransmisikan pesan di antara sel. Hasil dari kehadiran sitokin adalah untuk mengubah perilaku sel, yang memiliki reseptor sitokin yang disekresikan, termasuk pertumbuhan, perubahan, atau kematian sel. Efek sitokin yang dihasilkan oleh satu sel lebih pada sel-sel di sekitar sel yang sama, tetapi dapat berpengaruh pada seluruh organisme<sup>54-58</sup>

Peradangan terjadi ketika sel-sel kekebalan tubuh mengeluarkan hormon yang disebut sitokin, yang merupakan reaksi normal terhadap penyakit. Namun, ketika sitokin disekresikan secara berlebihan, peradangan menjadi tidak terkendali dan menyebabkan kerusakan pada tubuh.<sup>54-58</sup>

#### **1.7.4. MMP-9 terhadap DMT2**

Stres oksidatif memainkan peran penting dalam patogenesis aterosklerosis. Selain itu, stres oksidatif juga mengatur ekspresi beberapa gen yang terkait dengan aterosclerosis, termasuk molekul adhesi sel vaskular-1, protein kemotaktik monosit-1, dan faktor perangsang koloni-monosit. didapatkan bahwa stres oksidatif terlibat dalam induksi MMP-9 oleh hiperglikemia.<sup>9,27</sup>

Beberapa jalur biokimia yang terkait dengan hiperglikemia meningkatkan produksi radikal bebas. Peningkatan aktivitas jalur poliol menghasilkan oksidasi sorbitol menjadi fruktosa yang digabungkan dengan reduksi  $\text{NAD}^+$  menjadi NADH. Peningkatan rasio  $\text{NADH} / \text{NAD}^+$  dapat mendukung produksi radikal bebas melalui beberapa jalur, antara lain peningkatan aktivasi xantin oksidase, auto-oksidasi NADH, dan inaktivasi CuZn-SOD.<sup>59</sup>

Stres oksidatif yang terkait dengan hiperglikemia dapat juga disebabkan oleh peningkatan konsentrasi AGEs. AGEs telah dibuktikan dapat berinteraksi dengan reseptor spesifik dan menginduksi stres oksidatif, meningkatkan ekspresi molekul-1 adhesi sel vaskular, dan meningkatkan daya rekat endotel untuk monosit.<sup>59</sup>

Regulasi MMP terjadi pada tingkat transkripsi gen dan pada aktivasi pro-MMP. Berbagai rangsangan, termasuk faktor pertumbuhan, sitokin, agen kimia (ester phorbol), dan stres mekanis, menginduksi ekspresi gen MMP. Wilayah promotor MMP-9 mengandung NF- $\kappa$ B, aktivator protein-1, protein stimulasi-1, dan ester phorbol Elemen – responsive. Temuan sebelumnya yang menunjukkan bahwa NF- $\kappa$ B dan aktivator protein-1 sensitif terhadap redoks menjelaskan mekanisme potensial di mana stres oksidatif yang diinduksi glukosa dapat mengatur transkripsi dan aktivitas MMP-9.<sup>9,27</sup>

Aktivitas proteolitik MMP dikontrol secara ketat selama aktivasi dari proenzimnya menjadi bentuk aktif dengan kombinasi aktivator endogen (misalnya, MMP tipe membran dan aktivator plasminogen

urokinase) dan inhibitor (misalnya,  $\alpha$ -makroglobulin dan inhibitor jaringan metaloproteinase). Mekanisme lain yang mungkin untuk aktivasi aktivitas MMP adalah modifikasi posttranslational oleh ROS<sup>20,58</sup>

MMP memiliki kemampuan untuk mendegradasi ECM, komponen non-ECM, protein trans-membran, reseptor permukaan sel dan mengurangi fungsi sitokin dan faktor pertumbuhan dengan menurunkan kadarnya. Gelatinase, yaitu gelatinase A (MMP-2) dan gelatinase B (MMP-9) memiliki spesifisitas yang lebih luas terhadap substrat sehingga menyebabkan peningkatan penipisan komponen ECM dan memperlambat proses angiogenesis.<sup>27</sup>

MMP-2 merangsang kerusakan laminin 332, meningkatkan migrasi keratinosit dan meningkatkan proses penyembuhan. Sitokin proinflamasi (Interleukin; IL1- $\alpha$ , IL1- $\beta$ , IL-2, IL-17, protein reaktif C, Insulin seperti Faktor Pertumbuhan-1, Transformasi Faktor Pertumbuhan- $\alpha$ ) merangsang pelepasan protein yang disebut *Neutrofil gelatinase* terkait *lipocalin* (NGAL). NGAL ini mengaktifkan MMP-9 dan membuat kompleks NGAL-MMP-9 yang dianggap sebagai penyebab lambatnya penyembuhan luka diabetes. Luka diabetes dilaporkan diperkaya dengan MMP-9, kompleks MMP-9-NGAL, NGAL dan neutrofil. Namun, situasinya menjadi sebaliknya ketika diberikan pengobatan insulin<sup>24</sup>

#### 1.7.5. *Curcumin* dan GDP

Dalam beberapa uji klinis *curcumin* telah terbukti menjadi agen terapeutik untuk pengobatan diabetes dan komplikasi Glukosa darah



tinggi. *Curcumin* sebagai agen antioksidan dan anti-inflamasi memiliki efek yang berbeda pada diabetes melalui pengurangan kerusakan sel beta, meningkatkan fungsinya dan mencegah resistensi insulin pada model hewan coba. *Curcumin* juga memiliki potensi terhadap penurunan berat badan.<sup>15,17,60</sup>

#### 1.7.6. *Curcumin* dan IFN- $\gamma$

*Curcumin* memiliki titik tangkap pada beberapa jalur persinyalan di dalam tubuh. *Toll like receptors* (TLRs) merupakan kompleks yang diketahui menjadi pertahanan imun melawan antigen microbial. *Curcumin* berperan dalam immunomodulasi dengan mengaktivasi TLRs melalui *pathogen associated molecular patterns*. Di samping itu, curcumin juga bertanggung jawab dalam regulasi faktor transkripsi seperti *nuclear factor k-beta* (NF- $\kappa$ B), *activator protein 1* (AP-1), *signal transducer and activator of transcription* (STAT). NF- $\kappa$ B merupakan kunci penting produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-2, IFN- $\gamma$  dalam sel T. Efek pleiotropik dari *curcumin* dalam menghambat IL-1, mensupresi aktivitas NF- $\kappa$ B melalui inhibisi fosforilasi dari I- $\kappa$ B kinase-a. Pretreatment dengan *curcumin* dilaporkan secara signifikan menghambat produksi IL-12 dengan menurunkan regulasi NF- $\kappa$ B dalam makrofag yang dirangsang LPS, yang mengakibatkan penghambatan produksi IFN- $\gamma$  dan peningkatan produksi IL-4 oleh sel T CD4+.<sup>15,17,60</sup>

*Curcumin* dapat menghambat produksi profil sitokin Th1 dalam sel T CD4+ dengan menekan produksi IL-12 dalam makrofag; oleh karena

itu, *Curcumin* mungkin memiliki efek terapeutik yang mungkin pada penyakit imunitas yang dimediasi Th1. *Curcumin* dilaporkan menurunkan ekspresi sitokin Th1 (IL-12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1) pada mukosa usus besar.<sup>15,17,60</sup>

### 1.7.7. *Curcumin* dan MMP-9

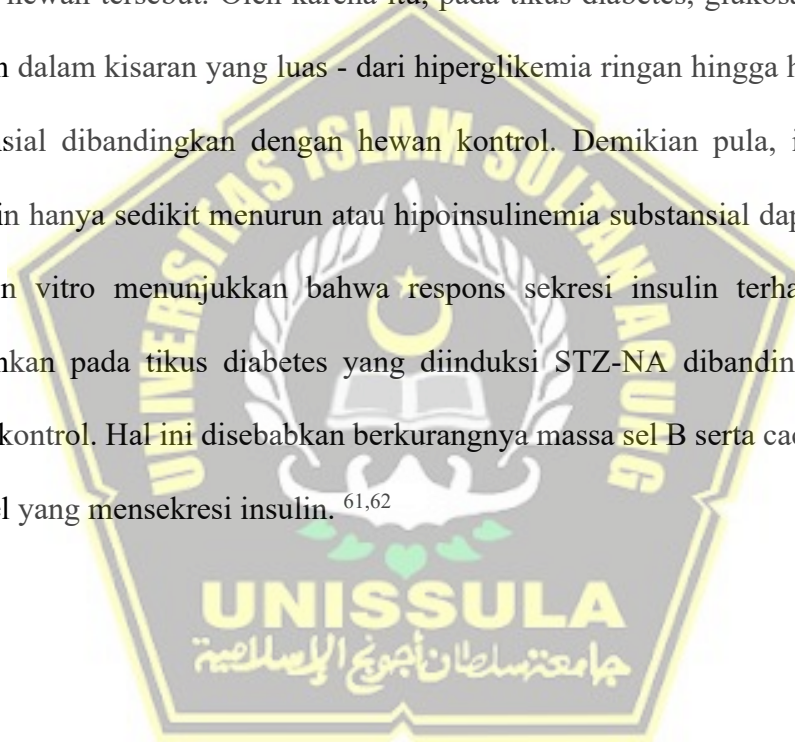
MMP-9 merupakan enzim yang berperan penting dalam proses remodeling dan degradasi matriks ekstraseluler saat inflamasi. Efek antiinflamasi dan antioksidan dari *curcumin* telah dipelajari secara invitro dan in vivo, termasuk dalam proses inflamasi kronis pasien DMT2. *Curcumin* berperan dalam menurunkan berbagai enzim MMP, termasuk MMP2 dan MMP-9 dengan *downregulasi* gen AP-1 dan NFkB. Pada penelitian yang dilakukan oleh Jiatian *et al*, *curcumin* dilaporkan menghambat *Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer* (EMMPRIN) dan MMP-9 melalui jalur pensinyalan AMPK-MAPK dan PKC *induced macrophage*.<sup>20,58</sup>

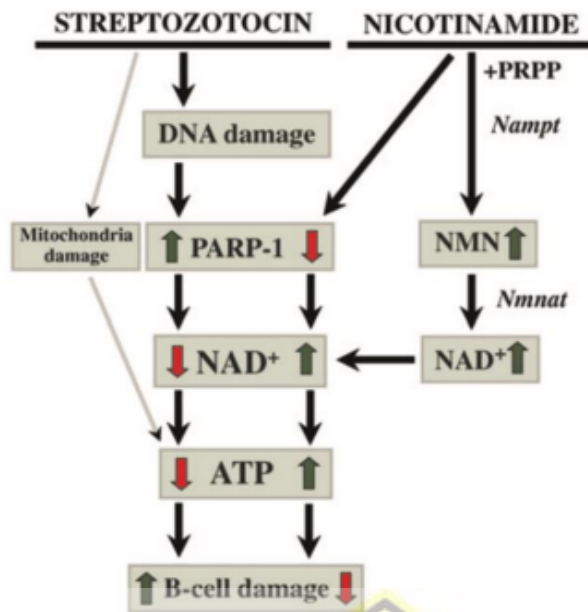
## 1.8. Induksi Strepzotocin

### 2.8.1. Mekanisme STZ – Nicotinamide menginduksi Diabetes Mellitus

Pemberian streptozotocin (STZ) dan nicotinamide (NA) telah diusulkan untuk menginduksi diabetes eksperimental pada tikus. STZ diketahui menyebabkan kerusakan sel B pankreas, sedangkan NA diberikan pada tikus untuk melindungi sebagian sel yang mensekresi insulin terhadap STZ. STZ diangkut ke sel B melalui transporter glukosa GLUT2 dan menyebabkan kerusakan DNA yang menyebabkan

peningkatan aktivitas poli(ADP-ribosa) polimerase (PARP-1) untuk memperbaiki DNA. Namun, aktivitas berlebihan dari enzim ini menghasilkan penipisan NAD(+) dan ATP intraseluler, dan sel-sel yang mensekresi insulin mengalami nekrosis. Tindakan protektif NA disebabkan oleh penghambatan aktivitas PARP-1. NA menghambat enzim ini, mencegah penipisan NAD(+) dan ATP dalam sel yang terpapar STZ. Selain itu, NA berfungsi sebagai prekursor NAD(+) dan dengan demikian meningkatkan kadar NAD(+) intraseluler. Tingkat keparahan diabetes pada tikus percobaan sangat tergantung pada dosis STZ dan NA yang diberikan kepada hewan tersebut. Oleh karena itu, pada tikus diabetes, glukosa darah dapat berubah dalam kisaran yang luas - dari hiperglikemia ringan hingga hiperglikemia substansial dibandingkan dengan hewan kontrol. Demikian pula, insulin darah mungkin hanya sedikit menurun atau hipoinsulinemia substansial dapat diinduksi. Studi *in vitro* menunjukkan bahwa respons sekresi insulin terhadap glukosa dilemahkan pada tikus diabetes yang diinduksi STZ-NA dibandingkan dengan hewan kontrol. Hal ini disebabkan berkurangnya massa sel B serta cacat metabolik pada sel yang mensekresi insulin.<sup>61,62</sup>





**Gambar 2.7. Patogenesis STZ-NA dalam induksi DMT2.** PARP-1= poly(adenosine triphosphate [ADP]-ribose) polymerase-1, PRPP= 5-phosphoribosylpyrophosphate, NMN= nicotinamide mononucleotide, Nampt= nicotinamide phosphoribosyltransferase, Nmnat= nicotinamide/ nicotinic acid mononucleotide adenylyltransferase, = meningkatkan/ aktivasi, = menurunkan/ inaktivasi.<sup>61,62</sup>



**Table 1** Induction of diabetes and blood glucose and insulin concentrations in control and STZ-NA-induced diabetic rats

Dose of STZ* and way of treatment	Dose of NA*	Body weight/age on the day of induction of diabetes	Blood glucose (mmol/L)	Blood insulin (ng/mL)	Time of examination after induction of diabetes	References
65 mg, iv	100 mg	220–230 g 10-week-old	C 6.6	C 2.20	4 weeks	8
			D 31.2	D 0.30	Non-fasted	
	180 mg	C 6.6	C 2.20			
	230 mg	D 10.4	D 1.56			
350 mg	230 mg	220–230 g 10-week-old	C 6.6	C 2.20		71
			D 8.5	D 1.94		
65 mg, iv	230 mg	220–230 g 10-week-old	C 6.6	C 2.20		78
			D 6.7	D 2.56		
60 mg, iv	290 mg	2–3 months	C 7.0	C 3.9	3–5 weeks	72
			D 8.8	D 3.3	Non-fasted	
60 mg, iv	270 mg	220–230 g	C 6.1	C 3.8	2 weeks	72
			D 7.5	D 2.8		
			C 7.1	–	3 months	
			D 9.3	–		
65 mg, iv	260 mg	220–240 g 10-week-old	C 5.4	C 4.36	23 days	87
			D 8.5	D 3.53	Fasted	
60 mg, iv	270 mg	2–3 months	C 6.7	–	5–8 weeks	77
			D 8.3	–	Non-fasted	
80 mg, ip	230 mg	200–250 g	C 5.4	–	4 weeks	101
			D 9.6	–	Non-fasted	
50 mg, iv	180 mg (30 min)	2-month-old	C 5.6	C 0.28	8 weeks	102
			D 8.7	D 0.27		
50 mg, iv	180 mg (30 min)	2-month-old	C 5.7	C 0.28	4 weeks	103
			D 8.6	D 0.25	8 weeks	
60 mg, ip	120 mg	250–280 g Overnight fasted	C 4.1	C 5.16	21 days	75
			D 13.3	D 2.18	Fasted	
60 mg, iv	120 mg	8–10 weeks Overnight fasted	C 4.3	–	2 weeks	55
			D 14.2	–		
60 mg, iv	200 mg	250–300 g	–	C 7.7	4 weeks	56
			–	D 7.8		
60 mg, iv	210 mg	2–3 months	C 5.9	C 1.87	2 weeks	104
			D 8.2	D 1.40		
45 mg, ip	110 mg	200–220 g Overnight fasted	C 4.8	C 0.41	30 days	92
			D 14.5	D 0.20	Overnight fasted	
65 mg, ip	230 mg	200–250 g Overnight fasted	C 6.5	–	5 days	97
			D 7.8	–		
50 mg, ip	110 mg	160–180 g 12 h fasted	C 5.3	C 0.56	37 days	89
			D 15.5	D 0.26	12 h fasted	
45 mg, ip	110 mg	180–220 g Overnight fasted	C 5.0	C 0.67	45 days	73
			D 15.5	D 0.25	Overnight fasted	
45 mg, ip	110 mg	180–220 g Fasted	C 5.2	C 0.51	45 days	99
			D 15.7	D 0.15	Fasted	
45 mg, ip	110 mg	180–220 g Overnight fast	C 4.7	C 0.54	48 days	90
			D 15.4	D 0.15	Overnight fasted	
50 mg, ip	110 mg	160–180 g 6-week-old	C 5.3	C 0.63	37 days	85
			D 17.7	D 0.14	Fasted	
45 mg, ip	110 mg	180–220 g 6-week-old	C 5.1	C 0.51	45 days	100
			D 14.9	D 0.16	Overnight fasted	
60 mg, ip	146 mg	200–225 g Fasted	C 4.4	C 0.65	24 h	59
			D 9.3	D 0.18		
	292 mg	D 8.2	D 0.40			
	439 mg (45 min)	D 6.6	D 0.52			
65 mg, ip	60 mg	150–200 g Overnight fasted	C 5.0	C 1.07	23 days	86
			D 23.0	D 0.39	Fasted	
45 mg, ip	110 mg	200–220 g Overnight fasted	C 5.5	C 0.67	45 days	94
			D 16.0	D 0.32	Fasted	

**Tabel 1.2.** Dosis rekomendasi induksi STZ-NA. Per kg berat badan. C, tikus kontrol; D, tikus diabetes; iv, pemberian intravena; ip, pemberian intraperitoneal. streptozotocin (STZ) diberikan dalam buffer sitrat 100 mmol/L, pH 4,5, sedangkan nikotinamida (NA) dilarutkan dalam salin dan diberikan secara intraperitoneal 15 menit sebelum STZ (dengan beberapa pengecualian, ditunjukkan dalam tanda kurung)



## BAB III

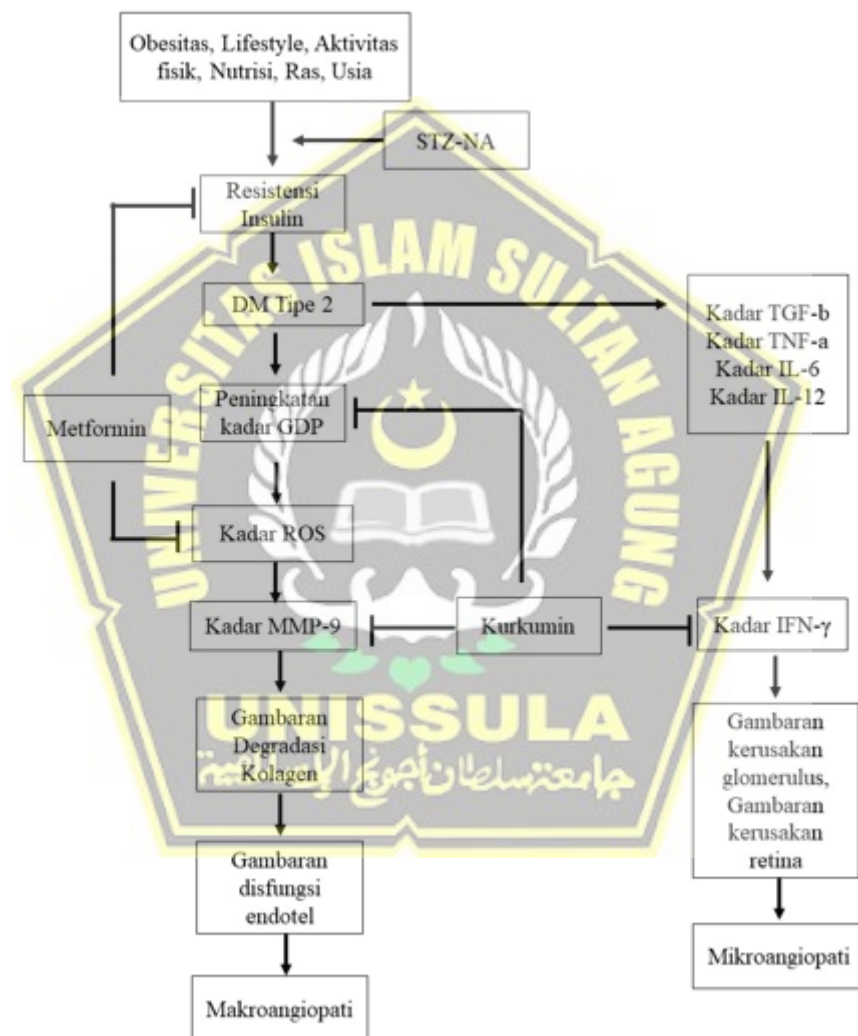
### KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, HIPOTESIS

#### 3.1. Kerangka Teori

Pada pasien DMT2, patogenesis pasien dan progresivitas dipengaruhi oleh resistensi insulin. Pasien pre-diabetes dan berisiko, pada fase awal memiliki kondisi resistensi insulin dengan kompensasi hipersekresi insulin dan sel beta. Kondisi tersebut akan terus berjalan dan berakhir dengan kegagalan sel beta untuk mensekresikan insulin. Ada beberapa hal yang mempengaruhi perjalanan penyakit DM, secara ringkas dibagi menjadi factor *modifiable* dan *non-modifiable*. Hiperglikemia akan mengaktifkan aktivasi jalur JNK dan NF- $\kappa$ B juga dikaitkan dengan upregulasi berbagai mediator proinflamasi seperti TNF- $\alpha$ , IL-6, dan CRP. Juga telah dilaporkan bahwa aktivasi jalur NF- $\kappa$ B yang dipicu oleh stres oksidatif juga dapat dikaitkan dengan disfungsi endotel yang dapat menyebabkan induksi IR.

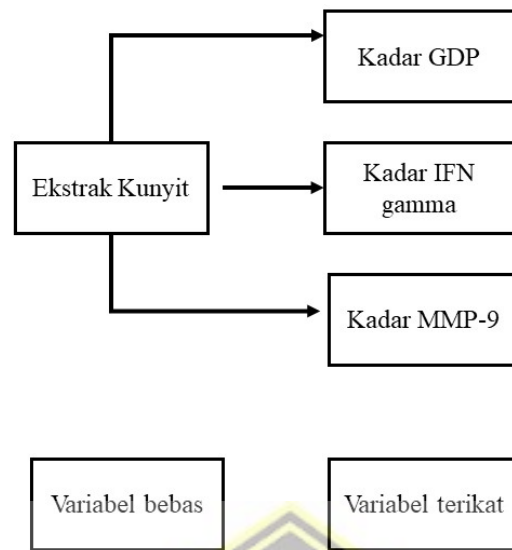
Lalu, pada pasien DMT2, akan memasuki beberapa jalur metabolisme. Pada jalur DAG, akan mengaktifkan PKC dan menstimulasi ET-1 dan VEGF. Kedua sitokin tersebut akan mengaktifkan pro-MMP9 menjadi MMP-9. Pada jalur AGE, akan meningkatkan ROS. Aktivasi ROS dari metabolit sekunder glukosa pada jalur ini, akan mengaktifkan factor transkripsi NF- $\kappa$ B yang kemudian akan meningkatkan MMP-9. Hiperglikemia sendiri akan meningkatkan kadar glutathione. Kondisi ini akan memicu kondisi pro-inflamasi berupa peningkatan TGFb, TNF-alfa, IL-6 dan 12 yang pada akhirnya akan menurunkan IFN gamma. Hasil akhir dari peningkatan status glikemik, MMP-9 dan IFN gamma adalah percepatan dari proses disfungsi endotel dan aterosklerosis.

Berdasarkan studi literatur, *curcumin* memiliki banyak titik tangkap, antara lain mengurangi ROS dan menghambat faktor transkripsi NF-kB sehingga keadaan pro-inflamasi pada DM akan terkontrol. *Curcumin* juga dilaporkan menghambat ET-1 dan VEGF sehingga aktivasi dari pro-MMP-9 akan terhambat. *Curcumin* sendiri juga memiliki efek antiinflamasi yang berperan dalam melindungi sel beta pancreas sehingga progresifitas dari DM2 akan lebih terkontrol dan kondisi hiperglikemia akan terkontrol.



**Gambar 3.1.** Kerangka Teori

### 3.2. Kerangka konsep



Gambar 3.2. Kerangka konsep

### 3.3. Hipotesis

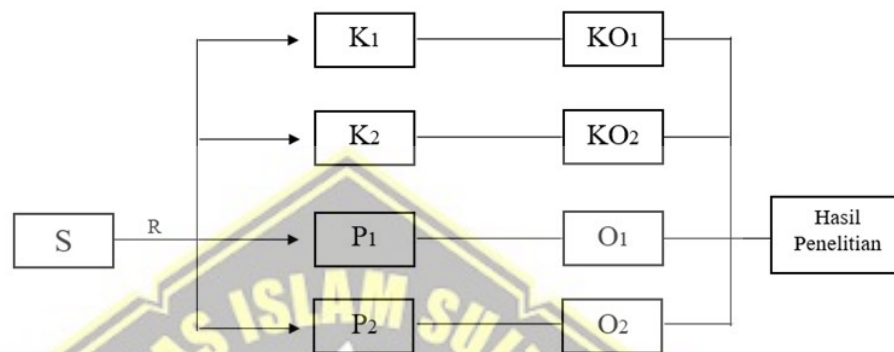
Pemberian ekstrak *Curcuma longa* dapat menurunkan nilai GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$  pada tikus galur wistar dengan Diabetes Mellitus tipe 2 yang diinduksi Streptozototin-Nicotinamide.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dilakukan menggunakan desain eksperimental laboratorik dengan pendekatan *The Posttest Only Controlled Group Design*.



Gambar 4.1. Rancangan penelitian

- S : Sample  
 R : Randomisasi  
 K1 : Kelompok kontrol negatif : kelompok tikus yang diinduksi STZ-NA dan tidak mendapat perlakuan selama 14 hari  
 K2 : Kelompok kontrol positif : kelompok tikus yang diinduksi STZ-NA dan pemberian metformin 45mg/kgbb/hari selama 14 hari  
 P1 : Kelompok perlakuan 2 : kelompok tikus yang diinduksi STZ-NA dan pemberian ekstrak kunyit dalam kapsul 200mg/kgbb/hari selama 14 hari  
 P2 : Kelompok perlakuan 3 : kelompok tikus yang diinduksi STZ-NA dan pemberian metformin 22,5mg/kgbb/hari + ekstrak kunyit dalam kapsul 100mg/kgbb/hari selama 14 hari  
 KO1 : Hasil pengamatan pada K1  
 KO2 : Hasil pengamatan pada K2  
 O1 : Hasil pengamatan pada P1  
 O2 : Hasil pengamatan pada P2

##### 4.1.1. Penentuan Dosis

Penelitian yang dilakukan oleh Peeyush *et. al* membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Curcuma longa* 60mg/kgbb/hari pada tikus DM yang diinduksi STZ dapat menurunkan kadar gula darah dan memperbaiki

resistensi insulin dalam 14 hari. Penelitian lain yang dilakukan oleh Hussain *et. al* membuktikan bahwa pemberian ekstrak *Curcuma longa* 300mg/kgbb/hari pada tikus galur wistar dapat menurunkan kadar gula darah dan meningkatkan hemoglobin dalam waktu 8 minggu.

Efek terapeutik *curcumin* terlihat dalam rentang dosis 20 mg – 1000 mg. Dengan mempertimbangkan kandungan *curcumin* yang terdapat dalam ekstrak kunyit sebanyak 5%, perkiraan dosis ekstrak kunyit yang memiliki efek terapeutik adalah pada rentang 400 mg hingga 20g per hari. Sehingga, peneliti menggunakan dosis ekstrak *Curcuma longa* 200mg/kgbb/hari pada tikus galur wistar selama 14 hari perlakuan.

Dasar penentuan dosis metformin pada kelompok perlakuan 1 adalah dengan mengkonversi dosis metformin 500mg pada manusia ke hewan uji tikus galur wistar. Sehingga, pada penelitian ini dosis metformin yang digunakan adalah 45mg/kgbb/hari.

#### **4.2. Populasi dan sampel penelitian**

Sampel penelitian diambil dari populasi secara acak dan memenuhi kriteria inklusi, eksklusi dan *drop out*.

##### **Kriteria Inklusi**

Tikus jantan galur wistar umur 2 bulan

Berat badan 180-200 gram

Sehat (tikus yang bergerak aktif)

Kadar gula darah awal <110mg/dl

Kadar glukosa darah puasa setelah diinduksi STZ-NA adalah  $\geq 200$ mg/dl.

##### **Kriteria Eksklusi**

Terdapat kecacatan anatomis pada tikus



**Kriteria *Drop Out***

Tikus mati saat penelitian

**Cara Sampling**

Sampling pada penelitian ini dilakukan secara randomisasi atau acak lengkap.

**Besar Sampel**

Besar sampel yang diperlukan dalam penelitian ini menggunakan rumus besar sampel eksperimental dari Federer (2000) dengan rumus penentuan besar sampel :

$$(t-1)(n-1) \geq 15$$

$$(4-1)(n-1) \geq 15$$

$$3n-3 \geq 18$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 6 ekor tikus tiap kelompok perlakuan. Sehingga total sampel adalah 24 ekor tikus jantan galur wistar.

**4.3. Variabel dan Definisi Operasional****4.3.1. Variabel bebas**

Ekstrak kunyit (*curcuma longa*)

**4.3.2. Variabel terikat**

Kadar serum GDP, Kadar serum IFN gamma, Kadar serum MMP-9 pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi STZ-NA

**4.3.3. Variabel pengganggu**

4.3.3.1 Variabel hewan coba: umur dan berat badan tikus.

4.3.3.2 Variabel pemeliharaan: semua tikus sebagai hewan coba yang dipelihara di dalam kandang, jenis pakan, jenis minuman, keadaan kandang.

#### **4.3.4. Variabel prakondisi**

Variabel prakondisi dalam penelitian ini adalah tikus dengan induksi Streptozotosin.

#### **4.3.5. Definisi operasional**

##### **4.3.5.1. Ekstrak kunyit**

Ekstrak kunyit adalah hasil pengeringan bahan segar kunyit yang kemudian dihaluskan hingga membentuk serbuk. Serbuk kemudian diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 96% sehingga menjadi ekstrak. Ekstrak kunyit dalam penelitian ini didapatkan dari PT. Industri Jamu dan Farmasi Sido Muncul Tbk dengan kemurnian 100% yang dikemas dalam kapsul lunak. Tiap kapsul berisi 500mg ekstrak kunyit dalam bentuk pasta yang mudah dilarutkan. Tiap kapsul ekstrak mengandung zat aktif curcumin sebanyak 100mg. Sehingga, untuk dosis 200mg/kgbb/hari dibutuhkan 200mg/hari ekstrak kunyit murni. Ekstrak kunyit dilarutkan dalam aquabides 2cc, lalu dilakukan pengadukan berkali-kali. Larutan diberikan melalui rute per oral sebanyak 1 kali per hari pada tikus jantan galur wistar selama 14 hari. Pemberian ekstrak kunyit dilakukan setelah tikus diinduksi STZ-NA.

##### **4.3.5.2. MMP-9**

MMP-9 adalah kadar yang diambil dari serum hewan coba sebanyak 0.5 cc dari sinus orbita, darah di sentrifuse selama 15 menit, diambil

serumnya, kemudian dilakukan pemeriksaan menggunakan metode ELISA dengan antibody *IgG anti-92kDa type IV collagenase*. Kadar MMP-9 dihitung dalam satuan pg/dl.

#### 4.3.5.3. IFN- $\gamma$

IFN- $\gamma$  adalah kadar yang diambil dari serum hewan coba sebanyak 0.5 cc dari sinus orbita, darah di sentrifuse selama 15 menit, diambil serumnya, kemudian dilakukan pemeriksaan menggunakan metode ELISA dengan *antibodi recombinant human IFN-gamma Met1-Gln144*. Kadar IFN- $\gamma$  dihitung dalam satuan pg/dl.

#### 4.3.5.4. GDP

GDP adalah kadar yang diambil dari serum hewan coba sebanyak 1-0.5 cc dari sinus orbita, darah di sentrifuse selama 15 menit, diambil serumnya, kemudian ddibaca dengan spektrofotometer dengan Panjang gelombang 532 nm. Dilakukan setelah hewan coba puasa selama minimal 8 jam. Kadar GDP dihitung dalam satuan mg/dl.

#### 4.4. Bahan/ Materi Penelitian

- Pakan standar BR-12
- STZ-NA
- Aquadest
- Ekstrak kunyit dalam bentuk kapsul

#### Peralatan Penelitian ( Instrumen Penelitian )

- Blender
- Oven
- Kertas saring Whatman no 42
- Ayakan 60 mesh

- Desikator
- Timbangan analitik
- Mikropipet
- Cawan aluminium
- Spektrofotometer UV–Vis
- Tabung reaksi
- Pipet volume 1 ml dan 5 ml
- Gelas beker 200 ml
- Erlenmeyer 200 ml
- Labu ukur
- Aluminium foil
- Kandang tikus lengkap dengan tempat dan minum
- Spuit 3 cc dengan sonde
- Mikrohematokrit untuk mengambil sampel darah tikus
- Sentrifuge Scientific
- Kapas Steril

#### 4.5. Cara Penelitian

Penelitian dimulai dengan pemilihan sampel hewan uji yaitu tikus jantan galur wistar yang disesuaikan dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Setelah sampel didapat, tikus akan diaklimatisasi selama 2 hari dan kemudian dibagi menjadi 4 kelompok secara acak. Kelompok kontrol negatif (K<sub>1</sub>) diinduksi dengan STZ-NA secara intra peritoneal. Kelompok kontrol positif (K<sub>2</sub>) akan diinduksi dengan STZ-NA dan diberi metformin 45mg/kgbb/hari selama 14 hari. Kelompok perlakuan 1 (P<sub>1</sub>) akan diinduksi dengan STZ-NA dan diberi ekstrak kunyit 200mg/kgbb/hari selama 14 hari. Kelompok perlakuan 2 (P<sub>2</sub>) akan diinduksi dengan STZ-NA dan diberi kombinasi antara metformin 22,5mg/kgbb/hari dan ekstrak kunyit 100mg/kgbb/hari selama 14 hari.

Selanjutnya, dilakukan pengambilan darah sebanyak 0.5 cc dari sinus orbitalis mata dan diakhiri dengan terminasi tikus pada hari ke 15. Kadar MMP-9 dan IFN- $\gamma$  diukur dengan metode ELISA sedangkan kadar GDP diukur dengan spektrofotometer UV.

#### 4.6. Prosedur penelitian

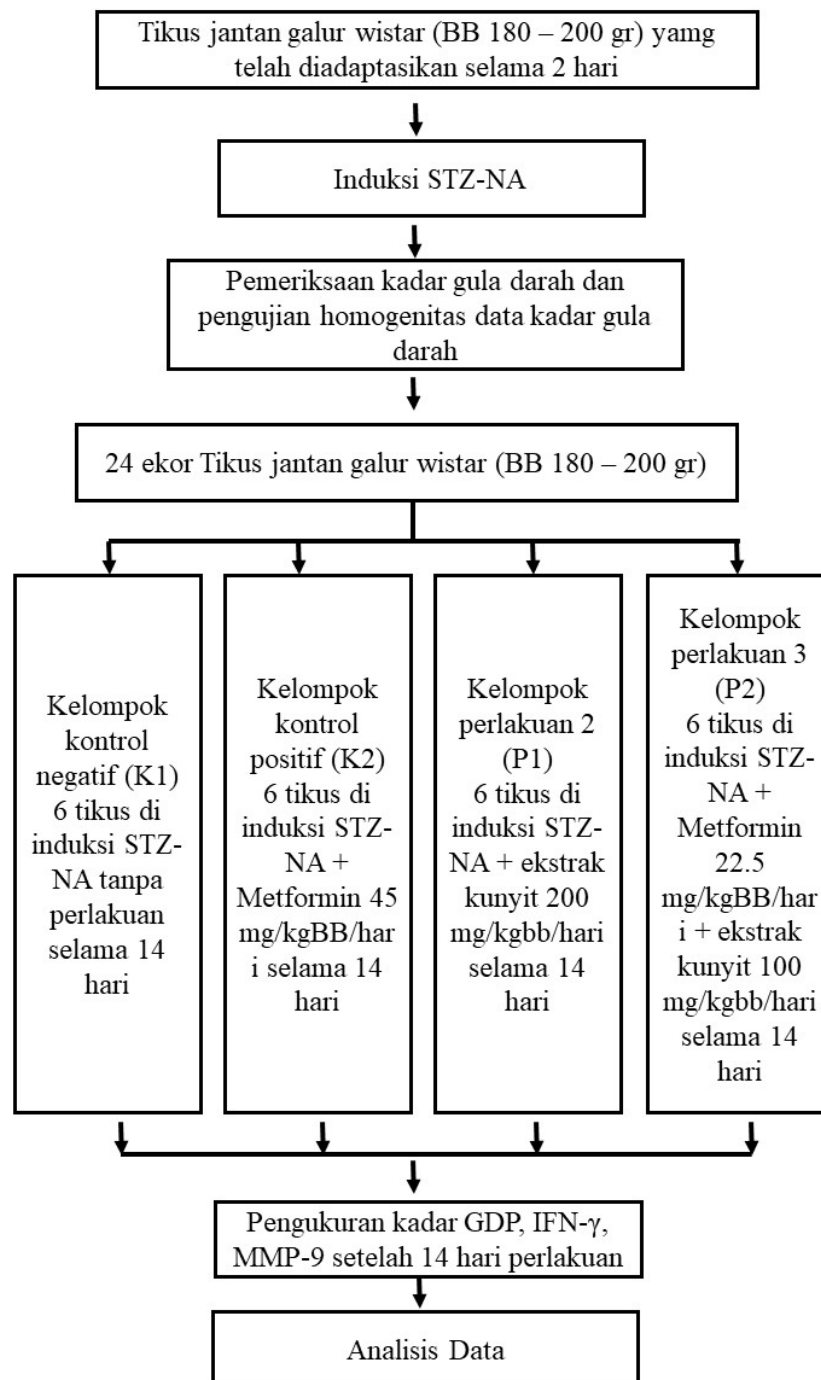
Adapun prosedur penelitian adalah sebagai berikut:

1. *Ethical Clearence* penelitian diajukan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung.
2. Menentukan dosis ekstrak kunyit yang digunakan pada kelompok perlakuan. Dosis yang diberikan 45mg/KgBB/hari. Rata-rata setiap tikus memiliki berat 180-200 gram.
3. Sampel berupa tikus putih jantan galur wistar sebanyak 24 ekor, hewan coba diadaptasikan terlebih dahulu selama 2 hari dengan lingkungannya agar terbiasa dan tidak mengalami stress yang dapat mempengaruhi hasil penelitian.
4. Tikus diinduksi dengan Streptozotocin dosis 45 mg/kgBB dan Nicotinamide 110 mg/kgBB secara intraperitoneal
5. Sampel dibagi menjadi 4 kelompok dan setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus putih jantan galur wistar. Adapun 4 kelompok sampel tersebut yaitu:
  1. K<sub>1</sub> : Kelompok kontrol positif : kelompok tikus yang diinduksi STZ-NA dan tidak mendapat perlakuan selama 14 hari



2. K<sub>2</sub> : Kelompok perlakuan 1 : kelompok tikus yang diinduksi STZ-NA dan pemberian metformin 45mg/kgbb/hari selama 14 hari
3. P<sub>1</sub> : Kelompok perlakuan 2 : kelompok tikus yang diinduksi STZ-NA dan pemberian ekstrak kunyit 200mg/kgbb/hari selama 14 hari
4. P<sub>2</sub> : Kelompok perlakuan 3 : kelompok tikus yang diinduksi STZ-NA dan pemberian metformin 22,5mg/kgbb/hari + ekstrak kunyit 100mg/kgbb/hari selama 14 hari
6. Setelah diberikan perlakuan, diperiksa kadar GDP, IFN- $\gamma$ , MMP-9 sebagai posttest.
7. Pengambilan darah sebanyak 0.5 cc melalui medial cantus sinus orbitalis dengan anestesi kombinasi ketamine – xylazine 40 – 80 mg/kgBB (k) intraperitoneal dan 5 – 10 mg/kgBB (x) intraperitoneal.
8. Setelah penelitian tikus akan diterminasi.

#### 4.7. Alur penelitian



Gambar 4.2. Skema Alur Penelitian

#### **4.8. Teknik pengumpulan data**

Perlakuan hewan coba dan pemeriksaan GDP, IFN- $\gamma$ , MMP-9 dilakukan di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada.

#### **4.9. Analisis Data**

Data yang terkumpul dilakukan pemeriksaan kelengkapan dan kebenaran data sebelum dianalisis. Kemudian dilakukan tabulasi dan diberi kode lalu untuk di masukan ke komputer. Analisis data menggunakan analisis deskriptif dan uji hipotesis.

Data rerata kadar gula darah, kadar MMP-9 dan kadar IFN- $\gamma$  disajikan dalam tabel/grafik. Kemudian data diuji normalitas dengan uji Shapiro-wilk atau Kolmogorof Smirnof dan diuji homogenitasnya dengan uji levene test..

Distribusi data tidak norma dan tidak homogen diuji dengan uji non parametrik uji Kruskall Wallis. Hasil uji Kruskal Wallis, bila didapatkan  $p < 0.05$ , maka disimpulkan terdapat perbedaan antar dua kelompok. Analisis data dimasukkan sebagai data komputer dan dilakukan uji statistik dengan perangkat lunak SPSS versi 21.0

#### **4.10. Etika Penelitian**

Protokol penelitian ini mendapatkan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan dan Kedokteran FK Unissula Semarang sebelum penelitian dilaksanakan.

#### **4.11. Tempat dan waktu penelitian**

Tempat: Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada.

Waktu: Februari – Maret 2022

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1 Hasil Penelitian

Penelitian dilakukan di Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta selama 14 hari. Selama perlakuan, tidak ada tikus yang *drop out* sampai akhir penelitian. Pada hari ke 15 paska perlakuan, dilakukan pemeriksaan kadar GDP, kadar MMP-9, dan kadar IFN- $\gamma$ . Hasil penelitian tersebut tertera pada tabel 5.1.1.

**Tabel 5.1.1. Analisis diskriptif, Uji Normalitas, dan transformasi data**

Variabel	Kelompok	Mean $\pm$ SD	Uji <i>Saphiro wilk</i>	Uji <i>Levene</i>
			p	p
GDP	K1	277.00 $\pm$ 4.00	0.000	0.000
	K2	100.00 $\pm$ 2.00	0.000	
	P1	98.04 $\pm$ 3.00	0.000	
	P2	92.00 $\pm$ 3.00	0.000	
MMP9	K1	653.09 $\pm$ 18.00	0.000	0.001
	K2	328.00 $\pm$ 14.00	0.000	
	P1	156.00 $\pm$ 4.00	0.000	
	P2	131.00 $\pm$ 4.00	0.000	
IFN- $\gamma$	K1	300 $\pm$ 16.00	0.000	0.001
	K2	85.00 $\pm$ 3.00	0.000	
	P1	61.05 $\pm$ 2.04	0.000	
	P2	49.00 $\pm$ 1.09	0.088*	

\*signifikan dengan  $p > 0.05$

Tabel tersebut memperlihatkan bahwa urutan rerata paling tinggi untuk variabel kadar GDP, kadar MMP-9, dan kadar IFN- $\gamma$  adalah kelompok K1. Urutan rerata kadar GDP dari paling tinggi ke rendah adalah sebagai berikut : K1, K2, P1, P2. Urutan rerata kadar MMP-9 dari paling tinggi ke rendah adalah sebagai berikut : K1, K2, P1, P2. Sedangkan untuk rerata kadar IFN- $\gamma$  paling tinggi ke paling rendah

Berdasarkan Uji Normalitas, menggunakan uji *saphiro wilk* ( $N < 50$ ) untuk masing – masing variabel numerik, didapatkan nilai normalitas  $p = 0.000$  pada semua variabel, kecuali IFN- $\gamma$  kelompok P2 ( $p = 0.088$ ) dengan kemaknaan  $p > 0.05$ . Pada data dengan distribusi tidak normal, dilakukan transformasi data menggunakan  $\text{Log}_{10}(\text{Variabel})$  pada masing – masing variabel (GDP, MMP-9, IFN - $\gamma$ ). Dari hasil transformasi, dilakukan uji normalitas ulang menggunakan Uji *Saphiro wilk*, didapatkan nilai normalitas dengan signifikansi  $p = 0.000$  pada semua variabel kecuali pada  $\text{Log}_{10}(\text{IFN}-\gamma)$  dengan kemaknaan  $p = 0.092$  ( $p > 0,05$ ). Sehingga didapatkan data berdistribusi tidak normal, kecuali variabel IFN - $\gamma$  pada kelompok P2.

Berdasarkan hasil Uji Homogenitas varian menggunakan uji *levene*, didapatkan nilai  $p$  pada variabel GDP, MMP-9 dan IFN - $\gamma$  adalah  $p = 0.000$ ,  $0.001$  dan  $0.001$ . untuk hasil transformasi data, dilakukan uji homogenitas varian, didapatkan nilai  $p$  pada variabel GDP, MMP-9 dan IFN - $\gamma$  adalah  $p = 0.000$ ,  $0.000$ , dan  $0.000$ . sehingga didapatkan data tidak homogen. Sehingga, untuk selanjutnya akan dilakukan uji non parametrik Kruskal – wallis untuk melihat perbedaan secara umum antar kelompok, yaitu antar kelompok K1, K2, P1, P2. Hasil analisis Uji Kruskal Wallis dapat dilihat pada table 5.1.2.



**Tabel 5.1.2. Uji Non Parametrik *Kruskal Wallis***

	Kelompok	N	Mean Rank	P
GDP	K1	6	21.00	0.000*
	K2	6	13.00	
	P1	6	10.00	
	P2	6	4.00	
	Total	24		
MMP9	K1	6	21.00	0.000*
	K2	6	15.00	
	P1	6	9.00	
	P2	6	3.00	
	Total	24		
IFN- $\gamma$	K1	6	21.00	0.000*
	K2	6	15.00	
	P1	6	9.00	
	P2	6	3.00	
	Total	24		

\*signikan dengan  $p < 0.05$

Dari hasil uji Kruskal-wallis menunjukkan bahwa analisis yang dilakukan bernilai signifikan pada semua variabel karena nilai  $p < 0,05$ . Hal menunjukkan setidaknya terdapat dua kelompok yang memiliki perbedaan bermakna, sehingga dilanjutkan dengan uji *post hoc* untuk mengetahui perbedaan antar kelompok. Hasil uji *post hoc* dijelaskan pada masing – masing variabel.

### 5.1.1 Kadar Gula Darah Puasa (GDP)

Berdasarkan hasil analisis drikriptif, didapatkan bahwa rerata kadar GDP pada tiap-tiap kelompok paling tinggi pada kelompok K1 dan paling rendah pada kelompok P2. Analisis normalitas distribusi data rerata kadar GDP yang dianalisis dengan uji *shapiro wilk* menunjukkan semua kelompok tidak terdistribusi normal ( $p < 0,05$ ). Hasil analisis homogenitas dengan uji *levene test* menunjukkan bahwa varian data heterogen dengan nilai  $p = 0.000$  ( $p < 0,05$ ) artinya terdapat perbedaan bermakna antar kelompok. Kebermaknaan perbedaan rerata kadar GDP antar

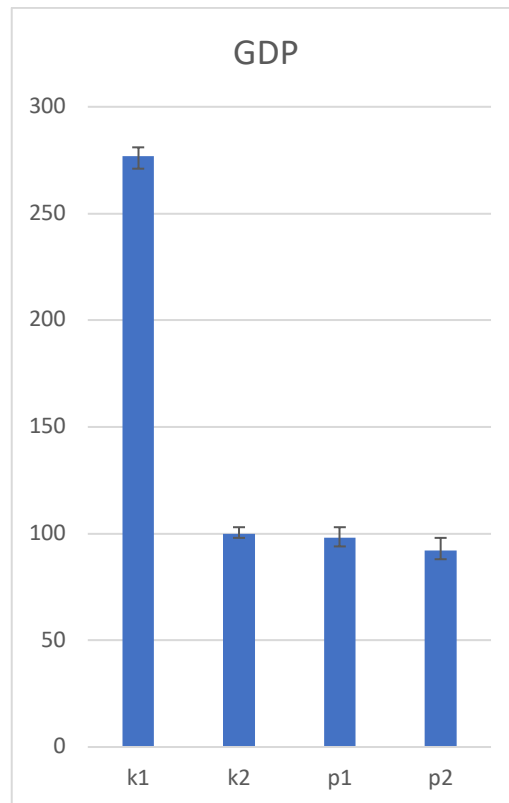
kelompok dilanjutkan dengan uji *post hoc* menggunakan uji Mann-Whitney. Hasil uji Mann-Whitney di jelaskan pada table 5.1.3.

**Tabel 5.1.3. Hasil Uji *Post hoc* Variabel GDP**

Variabel	K1	K2	P1	P2
K1		0.004*	0.004*	0.004*
K2	0.004*		0.000*	0.008*
P1	0.004*	0.000*		0.025*
P2	0.004*	0.008*	0.025*	

\*signikan dengan  $p < 0.05$

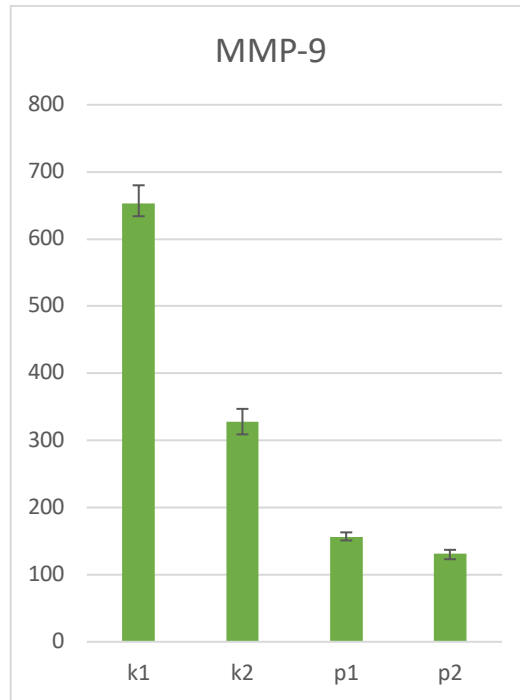
Hasil uji *post hoc* pada tabel menunjukkan bahwa ada perbedaan yang bermakna rerata kadar GDP pada masing – masing kelompok. Berdasarkan data di atas maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kunyit berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar GDP pada tikus jantan galur wistar yang diinduksi dengan STZ-NA. Hasil dijelaskan pada gambar 5.1.



Gambar 5.1. Rerata Kadar GDP

### 5.1.2 Kadar Matriks Metalloproteinase 9 (MMP-9)

Berdasarkan gambar 5.2 didapatkan bahwa rerata kadar MMP-9 pada tiap-tiap kelompok paling tinggi pada kelompok K1 dan paling rendah pada kelompok P2.



Gambar 5.2. Rerata Kadar MMP-9

Analisis normalitas distribusi data rerata kadar MMP-9 yang dianalisis dengan uji *shapiro wilk* menunjukkan semua kelompok tidak terdistribusi normal ( $p < 0,05$ ). Hasil analisis homogenitas dengan uji *levene test* menunjukkan bahwa varian data heterogen dengan nilai  $p = 0.000$  ( $p < 0,05$ ). Kebermaknaan perbedaan rerata kadar MMP-9 antar kelompok dilanjutkan dengan uji *post hoc* menggunakan uji Mann-Whitney.

Pada Uji *Post hoc* dan Grafik rerata pada variabel MMP-9, didapatkan nilai  $p < 0.05$  pada semua uji masing – masing kelompok K1, K2, P1 dan P2. Sehingga didapatkan bahwa terdapat penurunan nilai MMP-9 yang signifikan dengan urutan K1, K2, P1 dan P2 dengan P2 merupakan penurunan paling signifikan dengan  $p < 0.05$ . Berdasarkan data di atas maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kunyit berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar MMP-9 pada tikus

jantan galur wistar yang diinduksi dengan STZ-NA. Hasil uji *post hoc* dijelaskan pada table 5.1.4.

**Tabel 5.1.4. Hasil Uji *Post hoc* variable MMP-9**

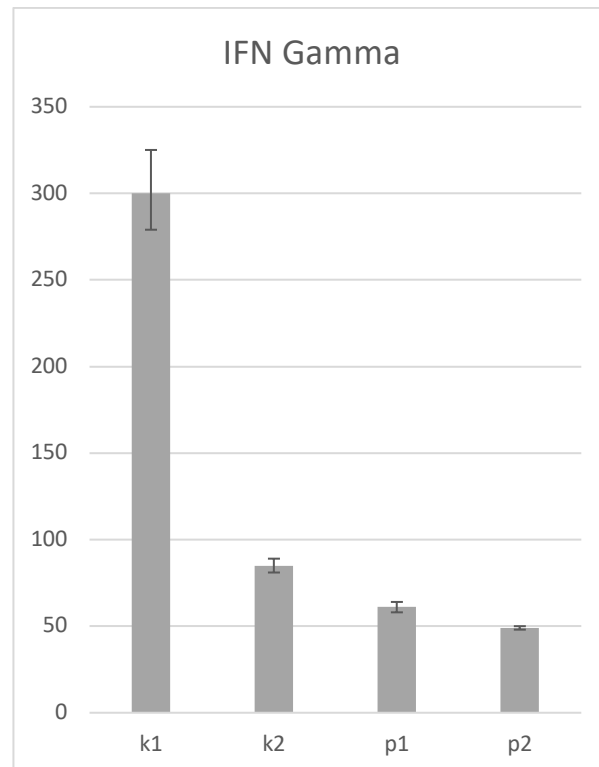
Variabel	K1	K2	P1	P2
K1		0.004*	0.004*	0.004*
K2	0.004*		0.004*	0.004*
P1	0.004*	0.004*		0.004*
P2	0.004*	0.004*	0.004*	

\*signikan dengan  $p < 0.05$

### 5.1.3 Kadar Interferon $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )

Berdasarkan gambar 5.3. didapatkan bahwa rerata kadar IFN- $\gamma$  pada tiap-tiap kelompok paling tinggi pada kelompok K1 dan paling rendah pada kelompok P2.





Gambar 5.3. Rerata Kadar IFN- $\gamma$

Analisis normalitas distribusi data rerata kadar IFN- $\gamma$  yang dianalisis dengan uji *shapiro wilk* menunjukkan semua kelompok tidak terdistribusi normal ( $p < 0,05$ ). Hasil analisis homogenitas dengan uji *levane test* menunjukkan bahwa varian data heterogen dengan nilai  $p = 0.000$  ( $p < 0,05$ ). Kebermaknaan perbedaan rerata kadar IFN- $\gamma$  antar kelompok dilanjutkan dengan uji *post hoc* menggunakan Uji Mann-Whitney Hasil Uji Post Hoc dipresentasikan pada table 5.1.5.

**Tabel 5.1.5. Hasil Uji *Post hoc* Rerata Kadar IFN- $\gamma$** 

Variabel	K1	K2	P1	P2
K1		0.004*	0.004*	0.004*
K2	0.004*		0.004*	0.004*
P1	0.004*	0.004*		0.004*
P2	0.004*	0.004*	0.004*	

\*signikan dengan  $p < 0.05$

Pada Uji *Post hoc* dan Grafik rerata pada variabel IFN- $\gamma$ , didapatkan nilai  $p < 0.05$  pada semua uji masing – masing kelompok K1, K2, P1 dan P2. Sehingga didapatkan bahwa terdapat penurunan nilai GDP yang signifikan dengan urutan K1, K2, P1 dan P2 dengan P2 merupakan penurunan paling signifikan dengan  $p < 0.05$ . Berdasarkan data di atas maka dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak kunyit berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar IFN- $\gamma$  pada tikus jantan galur wistar yang diberi diet STZ-NA.

## 5.2 Pembahasan

Penelitian ini menggunakan sampel 24 ekor tikus galur wistar usia 2 bulan dengan berat badan antara 180-200 gram. Sebelum perlakuan, kadar glukosa darah tikus diuji untuk memastikan bahwa kondisi awal tikus sehat. Semua tikus yang telah memenuhi kriteria inklusi, diadaptasikan selama 2 hari. Setelah diadaptasikan, tikus diinduksi dengan *Streptozotocin-Nicotinamide* (STZ-NA) dengan dosis STZ 45mg/kgbb dan NA 110 mg/kgbb. Selanjutnya, tikus dibagi menjadi 4 kelompok secara acak : kelompok kontrol negatif yaitu tikus yang diinduksi STZ-NA (K1), kelompok kontrol positif yaitu tikus yang diinduksi STZ-NA dan diberi metformin 45mg/kgbb/hari (K2), kelompok yang diinduksi STZ-NA dan pemberian ekstrak

kunyit 200mg/kgbb/hari (P1), serta kelompok yang diinduksi STZ-NA dan pemberian ekstrak kunyit 100mg/kgbb dan metformin 22,5 mg/kgbb/hari (P1). Pada hari ke 15 paska perlakuan, dilakukan pemeriksaan kadar GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$  dengan sampel yang di ambil dari sinus orbitalis tikus.

Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa pemberian ekstrak kunyit (*Curcuma longa*) dengan dosis 200 mg/kgbb/hari dapat menurunkan kadar GDP, kadar MMP-9, dan kadar IFN- $\gamma$  dalam 14 hari pada kelompok P1. Selain itu, kombinasi antara ekstrak kunyit 100 mg/kgbb/hari dan metformin 22,5 mg/kgbb/hari pada kelompok P2 menunjukkan penurunan kadar GDP, kadar MMP-9, dan kadar IFN- $\gamma$  yang lebih baik.

### **5.2.1 Pengaruh Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap Kadar GDP**

Penurunan kadar GDP terdapat pada kelompok K2, P1, dan P2 dengan penurunan paling signifikan terdapat pada kelompok P2. Pengaruh kunyit sebagai terapi tunggal DM tipe 2 tampak pada kelompok P1 yang diberikan ekstrak kunyit dengan dosis 200 mg/kgbb/hari.

Kandungan *curcumin* dalam ekstrak kunyit diketahui memiliki peran sebagai agen antioksidan dan anti-inflamasi melalui pengurangan kerusakan pada sel  $\beta$  pankreas. Pada penelitian yang dilakukan oleh Poolsup et.al. *Curcumin* memperbaiki homeostasis glukosa dengan meningkatkan aktivitas enzim glukokinase yang memiliki kemampuan untuk menyimpan glukosa dalam bentuk glikogen di hepar. Selain itu, *curcumin* juga meningkatkan ekspresi *glucose transporter-4* (GLUT-4) untuk meningkatkan penyimpanan glukosa perifer.<sup>63</sup>

Mekanisme lain dari *curcumin* adalah kemampuannya dalam mengaktifkan Peroxisome proliferasi-activated receptor gamma (PPAR- $\gamma$ ), yaitu sebuah protein yang berperan dalam sensitivitas insulin dalam jaringan adiposa. Aktivasi PPAR- $\gamma$  menghambat faktor transkripsi NF $\kappa$ B dan menurunkan ekspresi sejumlah gen sitokin proinflamasi. Efek yang ditimbulkan selanjutnya adalah peningkatan sekresi insulin, metabolisme lipid, dan ekspresi reseptor *free fatty acid*. Mekanisme inilah yang mendasari penurunan kadar glukosa darah.<sup>63</sup>

Studi terdahulu menyebutkan bahwa efek terapeutik *curcumin* sebagai terapi DM tipe 2 berada pada rentang 400 mg hingga 20 gr<sup>64</sup>. Hasil pada penelitian ini menunjukkan ekstrak *Curcuma longa* dapat menurunkan GDP, MMP-9, dan IFN- $\gamma$  dengan dosis 200 mg/kgbb/hari. Hal ini sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Sovia et. al dengan menggunakan ekstrak kunyit 50 mg/kgbb/hari pada tikus galur wistar dan mampu menurunkan kadar gula darah post prandial (GDPP).<sup>65</sup> Studi lain dengan menggunakan ekstrak kunyit 200 mg/kgbb/hari pada tikus galur wistar terbukti dapat menurunkan kadar gula darah, menurunkan berat badan, dan menekan ekspresi ROS.<sup>66</sup>

### **5.2.2 Pengaruh Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap Kadar MMP-9**

Penurunan kadar MMP-9 terdapat pada kelompok K2, P1, dan P2 dengan penurunan paling signifikan terdapat pada kelompok P2. Pengaruh kunyit sebagai terapi tunggal DM tipe 2 untuk menurunkan kadar MMP-9 tampak pada kelompok P1 yang diberikan ekstrak kunyit dengan dosis 200 mg/kgbb/hari. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kunyit yang mengandung zat aktif *curcumin* dapat

menekan enzim MMP-9 yang berperan dalam mendegradasi matriks ekstraseluler di endotel vaskuler.

DM tipe 2 dapat menyebabkan kerusakan endotel pembuluh darah dengan menyebabkan kondisi hiperglikemia, peningkatan *Free Fatty Acid* (FFA), penurunan *Nitrit Oxida* (NO), serta peningkatan endotelin I dan angiotensin II. Kerusakan endotel inilah yang dapat memicu terbentuknya plak aterosklerosis. Senyawa *Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer* (EMMPRIN) yang meningkat akibat peningkatan kadar ROS pada DM tipe II dapat memicu plak aterosklerosis yang awalnya bersifat stabil berubah menjadi tidak stabil dan lama kelamaan lepas. Selain itu senyawa EMMPRIN juga memberi sinyal peningkatan produksi MMP-9 lebih banyak menuju lokasi lesi. Plak yang lepas berbahaya apabila sewaktu-waktu menyumbat lumen pembuluh darah.

Dalam menghambat komplikasi DM tipe 2, *curcumin* bekerja melalui beberapa mekanisme. *Curcumin* menghambat EMMPRIN, yaitu sebuah glikoprotein yang meningkatkan perubahan plak yang awalnya stabil menjadi tidak stabil lalu lama-kelamaan ruptur<sup>58</sup>. Selain itu, *curcumin* juga mampu menghambat pensinyalan jalur NFκB yang kemudian akan menekan produksi MMP-9.<sup>20</sup> Mekanisme ini dibuktikan dengan penurunan kadar MMP-9 yang signifikan pada kelompok P1 yang mendapatkan pemberian ekstrak *Curcuma longa* dengan dosis 200 mg/kgbb/hari.

Berdasarkan studi literatur yang telah dilakukan, belum ada penelitian tentang efek pemberian *curcumin* terhadap kadar MMP-9 pada DM tipe 2. Namun, hasil dari penelitian ini sejalan dengan penelitian sejenis dengan subjek manusia,



yaitu pasien *Coronary Arterial Disease* (CAD) yang diintervensi menggunakan *curcumin* 80 nanomicelle/hari yang menunjukkan bahwa kadar MMP-2 dan MMP-9 menurun secara signifikan<sup>67</sup>.

### 5.2.3 Pengaruh Kunyit (*Curcuma longa*) Terhadap Kadar IFN- $\gamma$

Penurunan kadar IFN- $\gamma$  terdapat pada kelompok K2, P1, dan P2 dengan penurunan paling signifikan terdapat pada kelompok P2. Pengaruh kunyit sebagai terapi tunggal DM tipe 2 untuk menurunkan kadar IFN- $\gamma$  tampak pada kelompok P1 yang diberikan ekstrak kunyit dengan dosis 200 mg/kgbb/hari.

IFN merupakan sebuah sitokin *pleiotropic* yang memiliki berbagai macam fungsi. Dalam pathogenesis DM tipe II, IFN- $\gamma$  berperan sebagai sitokin proinflamasi yang penting dalam komplikasi mikroangiopati yang meliputi *diabetic retinopathy*, *diabetic nephropathy*, serta *diabetic neuropathy*. Dalam berbagai studi literatur, IFN- $\gamma$  disebutkan berkontribusi dalam *low grade inflammation* di lapisan-lapisan yang ada di retina mata. Kadar tertinggi IFN- $\gamma$  pada mata terletak pada kandungan air mata, humor aquous, humor vitreus, serta retina. Pada pasien DM tipe 2, IFN- $\gamma$  meningkatkan permeabilitas vaskuler mata, meningkatkan progresivitas edema makula, dan meningkatkan respon angiogenik mikrovaskuler di retina. Hal ini menyebabkan progresivitas kerusakan retina pada pasien DM tipe II yang signifikan.

*Curcumin* bertanggung jawab dalam regulasi faktor transkripsi seperti *nuclear factor k-beta* (NF-kB), *activator protein 1* (AP-1), *signal transducer and activator of transcription* (STAT). NF-kB merupakan kunci penting produksi sitokin proinflamasi seperti IL-1, IL-2, IFN- $\gamma$  dalam sel T.<sup>68</sup>

Meskipun hingga saat ini penelitian tentang pemberian *curcumin* terhadap kadar IFN- $\gamma$  pada DM tipe 2 belum banyak dilakukan, namun penelitian ini sejalan dengan studi yang dilakukan oleh Yang *et. al.* Hasil dari studi tersebut membuktikan bahwa pemberian *curcumin* dengan dosis 200 mg/kgbb/hari pada tikus dapat mencegah penipisan lapisan kornea.<sup>69</sup> IFN- $\gamma$  telah diketahui banyak berperan dalam kejadian *diabetic retinopathy* dengan merusak lapisan-lapisan pada retina.<sup>70</sup>

#### **5.2.4 Kunyit (*Curcuma longa*) Sebagai Terapi Adjuvan DM Tipe 2**

Penurunan kadar GDP, MMP-9, dan IFN- $\gamma$  secara berturut-turut semakin turun pada kelompok K2, P1, dan P2 dibandingkan dengan K0 yang tidak mendapatkan terapi apapun. Kelompok P2 yang mendapatkan terapi kombinasi antara ekstrak *Curcuma longa* dan metformin menunjukkan penurunan kadar GDP, MMP-9, dan IFN- $\gamma$  terendah.

Metformin sebagai Obat Hiperglikemia Oral (OHO) merupakan tatalaksana farmakologis pilihan utama pada penanganan DM tipe 2. Gomes *et. al* menyebutkan bahwa terapi pada pasien DM tipe 2 terbanyak saat ini adalah metformin monoterapi dan kombinasi metformin dengan OHO lain. Saat ini, terapi kombinasi metformin sedang banyak diteliti untuk mendapatkan hasil terbaik dalam penatalaksanaan DM tipe 2, baik untuk mengendalikan kadar gula darah maupun mencegah progresivitas komplikasi DM tipe 2<sup>71</sup>.

Metformin bekerja melalui mekanisme *direct* dan *indirect*. Melalui mekanisme *direct*, metformin menurunkan kadar gula darah dengan menghambat gluconeogenesis di hepar dan menghambat kerja enzim glucagon. Sedangkan

melalui mekanisme *indirect*, metformin mampu menekan kadar ROS baik di tingkat DNA maupun seluler. Hal ini menyebabkan resistensi insulin pada DM tipe 2 dapat diperbaiki<sup>72</sup>. Sedangkan *curcumin* sebagaimana disebutkan dalam pembahasan sebelumnya, dapat menurunkan kadar glukosa darah dan mencegah progresivitas komplikasi DM tipe 2 dengan menurunkan kadar GDP, MMP-9, dan IFN- $\gamma$ . Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa *curcumin* sebagai terapi adjuvan bersama dengan metformin 22,5 mg/kgbb/hari, *curcumin* dengan dosis 100mg/kgbb/hari juga mampu menurunkan kadar GDP, MMP-9, dan IFN- $\gamma$ .

Hasil pada penelitian ini sejalan dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Roxo *et.al.* yang menyebutkan bahwa kombinasi antara metformin dan *curcumin* bekerja secara sinergis dalam menurunkan kadar glukosa darah, menekan stress oksidatif, dan menghambat komplikasi pada DM tipe 2.<sup>73</sup> Penelitian lain yang dilakukan oleh Cao *et.al.* juga menunjukkan bahwa kombinasi metformin dan *curcumin* mampu menghambat apoptosis sel pada tikus dengan nefropati melalui penekanan pada jalur *Caspase-3* dan faktor apoptosis *Bax* dan meningkatkan jalur pensinyalan faktor anti apoptosis *Bcl-2*.<sup>74</sup>

### **5.3.Keterbatasan Penelitian**

- 5.3.1. Penelitian ini tidak memeriksa kadar marker mikro dan makroangiopati MMP-9 dan IFN- $\gamma$  dengan menggunakan vaskuler masing-masing organ target.
- 5.3.2. Penelitian ini tidak meneliti variasi dosis ekstrak *Curcuma longa*.

## BAB VI

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak *Curcuma longa* terhadap kadar GDP, MMP-9 dan IFN- $\gamma$  pada DM tipe 2, maka dapat disimpulkan bahwa:

- 6.1.1. Ekstrak kunyit (*Curcuma longa*) terbukti memiliki efek terhadap kadar GDP, kadar MMP-9, dan kadar IFN- $\gamma$  pada tikus DM tipe 2.
- 6.1.2. Ekstrak kunyit (*Curcuma longa*) terbukti dapat menurunkan kadar GDP pada tikus DM tipe 2.
- 6.1.3. Ekstrak kunyit (*Curcuma longa*) terbukti dapat menurunkan kadar MMP-9 pada tikus DM tipe 2.
- 6.1.4. Ekstrak kunyit (*Curcuma longa*) terbukti dapat menurunkan kadar IFN- $\gamma$  pada tikus DM tipe 2.
- 6.1.5. Kombinasi ekstrak kunyit (*Curcuma longa*) dan metformin terbukti dapat menurunkan kadar GDP, kadar MMP-9, dan kadar IFN- $\gamma$  pada tikus DM tipe 2.

#### 6.2 Saran

Penelitian lebih lanjut diharapkan dapat memeriksa kadar marker mikro dan makroangiopati MMP-9 dan IFN- $\gamma$  dengan menggunakan vaskuler masing-masing organ target. Penelitian lebih lanjut diharapkan meneliti variasi dosis ekstrak *Curcuma longa*.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Cozachenco D, Selles MC, Ribeiro FC. *IFN- $\gamma$  as a potential link between diabetes mellitus and dementia*. Journal of Neuroscience. 2019;39(24):4632–5.
2. Arababadi MK, Daneshmandi S, Asiabanha M. *Evaluation of relation between IL-4 and IFN- $\gamma$  polymorphisms and type 2 diabetes*. Eval Relat between IL-4 IFN- Polymorphisms Type 2 Diabetes. 2009;12(2):100–4.
3. Campbell IL, Kay TWH, Oxbrow L, Harrison LC. *Essential role for Interferon- $\gamma$  and interleukin-6 in autoimmune insulin-dependent diabetes in NOD/wehi mice*. Journal of Clinical Investigation. 1991;87(2):739–42.
4. Oguntibeju OO. *Type 2 diabetes mellitus, oxidative stress and inflammation: examining the links*. International Journal of Physiology, Pathophysiology, and Pharmacology. 2019;11(3):45–63.
5. Galicia-Garcia U, Benito-Vicente A, Jebari S, Larrea-Sebal A, Siddiqi H, Uribe KB, et al. *Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus*. Int J Mol Sci. 2020;21(17):1–34.
6. Matthew J. Callaghan, Daniel J. Ceradini And Gcg. *Hyperglycemia-Induced Reactive Oxygen Species and Impaired Endothelial Progenitor Cell Function*. Antioxid Redox Signal. 2005;7(6):1476–82.
7. Liu LL, Yi JP, Beyer J, Mayer-Davis EJ, Dolan LM, Dabelea DM, et al. *Type 1 and type 2 diabetes in Asian and Pacific Islander U.S. youth*. Diabetes Care. 2009;32(SUPPL. 2):133–40.
8. Punthakee Z, Goldenberg R, Katz P. *Definition , Classification and Diagnosis of Diabetes , Prediabetes and Metabolic Syndrome Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee*. Canadian Journal of Diabetes. 2018;42:S10–5.
9. Forbes JM, Cooper ME. *Mechanisms of diabetic complications*. Physiology Review. 2013;93(1):137–88.
10. Mihardja L, Soetrisno U, Soegondo S. *Prevalence and clinical profile of diabetes mellitus in productive aged urban Indonesians*. Journal of Diabetes Investigation. 2014;5(5):507–12.
11. Zhang K, Yang W, Dai H, Deng Z. *Cardiovascular risk following metformin treatment in patients with type 2 diabetes mellitus: Results from meta-analysis*. Diabetes Result Clinical Practice. 2020;160:108001.
12. Ali Hussain HEM. *Hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant properties of combination of Curcumin from Curcuma longa, Linn, and partially purified product from Abroma augusta, Linn. in streptozotocin induced diabetes*. Indian Journal of Clinical Biochemistry. 2002;17(2):33–43.
13. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. *Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition*. Diabetes Result Clinical Practice. 2019;157:107843.
14. Wickenberg J, Ingemansson SL, Hlebowicz J. *Effects of Curcuma longa (turmeric) on postprandial plasma glucose and insulin in healthy subjects*. Nutrition Journal. 2010;9(1):1–5.
15. Sirisha R, Paramjyothi P. *Effect of walking on Fasting Blood Sugar and*



- HbA1c in type 2 Diabetes Mellitus*. MedPulse International Journal of Physiol. 2019;10(3):47–9.
16. Abdel-Moneim A, Semmler M, Abdel-Reheim ES, Zanaty MI, Addaleel W. *Association of glycemic status and interferon- $\gamma$  production with leukocytes and platelet indices alterations in type2 diabetes*. Diabetes Metabolic Syndrome Clinical Result Review. 2019;13(3):1963–9.
  17. Xia ZH, Chen WB, Shi L, Jiang X, Li K, Wang YX, et al. *The underlying mechanisms of curcumin inhibition of hyperglycemia and hyperlipidemia in rats fed a high-fat diet combined with STZ treatment*. Molecules. 2020;25(2).
  18. Karshenase MS. *Evaluating the level of IFN Gamma in diabetic patients*. 2018;186–8.
  19. Nosratabadi R, Arababadi MK, Hassanshahi G, Yaghini N, Pooladvand V, Shamsizadeh A, et al. *Evaluation of IFN-gamma serum level in nephropatic type 2 diabetic patients*. Vol. 12, Pakistan journal of biological sciences PJBS. 2009. p. 746–9.
  20. Saja K, Babu MS, Karunakaran D, Sudhakaran PR. *Anti-inflammatory effect of curcumin involves downregulation of MMP-9 in blood mononuclear cells*. International Immunopharmacology. 2007;7(13):1659–67.
  21. Pustovrh MC, Jawerbaum A, Capobianco E, White V, López-Costa JJ, González E. *Increased matrix metalloproteinases 2 and 9 in placenta of diabetic rats at midgestation*. Placenta. 2005;26(4):339–48.
  22. Hernandez-Anzaldo S, Brglez V, Hemmeryckx B, Leung D, Filep JG, Vance JE, et al. *Novel role for matrix metalloproteinase 9 in modulation of cholesterol metabolism*. Journal of American Heart Association. 2016;5(10).
  23. Rysz J, Banach M, Stolarek RA, Mikhailidis DP, Cialkowska-Rysz A, Pokoca L. *Serum metalloproteinases MMP-2, MMP-9 and metalloproteinase tissue inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 in patients on hemodialysis*. Int Urol Nephrol. 2011;43(2):491–8.
  24. Yabluchanskiy A, Ma Y, Iyer RP, Hall ME, Lindsey ML. *Matrix metalloproteinase-9: Many shades of function in cardiovascular disease*. Physiology. 2013;28(6):391–403.
  25. Lewandowski KC, Banach E, Bieńkiewicz M, Lewiński A. *Matrix metalloproteinases in type 2 diabetes and non-diabetic controls: Effects of short-term and chronic hyperglycaemia*. Arch Med Sci. 2011;7(2):294–303.
  26. Hassanzadeh-Makoui R, Razi B, Aslani S, Imani D, Tabae SS. *The association between Matrix Metallo-proteinases-9 (MMP-9) gene family polymorphisms and risk of Coronary Artery Disease (CAD): A systematic review and meta-analysis*. BMC Cardiovasc Disord. 2020;20(1):1–15.
  27. Uemura S, Matsushita H, Li W, Glassford AJ, Asagami T, Lee KH. *Diabetes mellitus enhances vascular matrix metalloproteinase activity role of oxidative stress*. Circ Res. 2001;88(12):1291–8.
  28. Tau G, Rothman P. *Biologic functions of the IFN- $\gamma$  receptors*. Allergy Eur J Allergy Clin Immunol. 1999;54(12):1233–51.
  29. Wada T, Hoshino M, Kimura Y, Ojima M, Nakano T, Koya D. *Both type I and II IFN induce insulin resistance by inducing different isoforms of SOCS expression in 3T3-L1 adipocytes*. Am J Physiol - Endocrinol Metab. 2011;300(6):1112–23.
  30. Hao L, Liu YS, Liu N, Wang X, Qin AQ, Jiang WD. *Serum interleukin-6*

- and interferon-gamma are associated with the severity of coronary disease in patients with acute coronary syndrome and type-2 diabetes. *Int J Clin Exp Med*. 2016;9(11):22338–44.
31. Newby BN, Mathews CE. *Type I interferon is a catastrophic feature of the diabetic islet microenvironment*. *Frontier Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8(SEP).
  32. Yi\* Z, Li\* L, Garland\* A, He\* Q, , Haidong Wang†, Jonathan D Katz‡ R, Tisch\*. *IFN- $\gamma$  receptor deficiency prevents diabetes induction by diabetogenic CD4+ T cells but not CD8+ T cells*. *Bone*. 2008;23(1):1–7.
  33. Mohammadi A, Sahebkar A, Iranshahi M, Amini M, Khojasteh R, Ghayour-mobarhan M. *Ptr4715.Pdf*. 2012;(November 2011).
  34. Karter AJ, Schillinger D, Adams AS, Moffet HH, Liu J, Adler NE. Elevated rates of diabetes in pacific islanders and asian subgroups. *Diabetes Care*. 2013;36(3):574–9.
  35. Dongway AC, Faggad AS, Zaki HY, Abdalla BE. *C-reactive protein is associated with low-density lipoprotein cholesterol and obesity in type 2 diabetic Sudanese*. *Diabetes, Metab Syndr Obes Targets Ther*. 2015;8:427–35.
  36. Tuñón J, Bäck M, Badimón L, Bochaton-Piallat ML, Cariou B, Daemen MJ. *Interplay between hypercholesterolaemia and inflammation in atherosclerosis: Translating experimental targets into clinical practice*. *European Journal of Preventive Cardiology*. 2018;25(9):948–55.
  37. Panahi Y, Khalili N, Hosseini MS, Abbasinazari M, Sahebkar A. *Lipid-modifying effects of adjunctive therapy with curcuminoids-piperine combination in patients with metabolic syndrome: Results of a randomized controlled trial*. *Complement Ther Med*. 2014;22(5):851–7.
  38. Lin CF, Chang YH, Chien SC, Lin YH, Yeh HY. *Epidemiology of Dyslipidemia in the Asia Pacific Region*. *International Journal of Gerontology*. 2018;12(1):2–6.
  39. You YK, Huang XR, Chen HY, Lyu XF, Liu HF, Lan HY. *C-Reactive Protein Promotes Diabetic Kidney Disease in db/db Mice via the CD32b-Smad3-mTOR signaling Pathway*. *Sci Rep*. 2016;6(May):1–14.
  40. Devaraj S, Singh U, Jialal I. *Human C-reactive protein and the metabolic syndrome*. *Current Opinion Lipidology*. 2009;20(3):182–9.
  41. Paul S, Ali A, Katare R. *Molecular complexities underlying the vascular complications of diabetes mellitus – A comprehensive review*. *Journal of Diabetes Complications*. 2020;34(8):107613.
  42. Sproston NR, Ashworth JJ. *Role of C-reactive protein at sites of inflammation and infection*. *Frontier Immunology*. 2018;9(APR):1–11.
  43. Gustomi Rima MPL. *EKSTRAK RIMPANG KUNYIT MENURUNKAN KADAR LEMAK DARAH PASIEN HIPERLIPIDEMIA (Turmeric (Curcuma Longa Linn) Extract Toward Modification of Blood Lipid Level in Hyperlipidemia Patients)*. *Journals Ners Community*. 2015;6(Vol 6, No 1 (2015)):1–7.
  44. Júnior ASS, Aidar FJ, Silva AM de O e, Lima FB, Santos JL dos, Anderson CM. *Analysis of the Effects of Curcuma Longa Supplementation and Physical Exercise in Patients With Diabetes: Systematic Review*. *Preprints*. 2020;(June):1–15.

45. Kuptniratsaikul V, Dajpratham P, Taechaarpornkul W, Buntragulpoontawe M, Lukkanapichonchut P, Chootip C. *Efficacy and safety of Curcuma domestica extracts compared with ibuprofen in patients with knee osteoarthritis: A multicenter study*. *Clinical Intervention of Aging*. 2014;9:451–8.
46. Sirirugsa P, Larsen K, Maknoi C. *Distribution and Species Diversity of Curcuma in Thailand Gardens*. *Bull Singapore*. 2007;59(2):203–20.
47. Hewlings S, Kalman D. *Curcumin: A Review of Its Effects on Human Health*. *Foods Journal*. 2017;6(10):92.
48. Jurenka JS. *Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of Curcuma longa: A review of preclinical and clinical research*. *Altern Medical Review*. 2009;14(2):141–53.
49. Pagano E, Romano B, Izzo AA, Borrelli F. *The clinical efficacy of curcumin-containing nutraceuticals: An overview of systematic reviews*. *Pharmacology Result* 2018;134:79–91.
50. Adibian M, Hodaei H, Nikpayam O, Sohrab G, Hekmatdoost A, Hedayati M. *The effects of curcumin supplementation on high-sensitivity C-reactive protein, serum adiponectin, and lipid profile in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. *Phyther Result*. 2019;33(5):1374–83.
51. A. S. *Are curcuminoids effective C-reactive protein-lowering agents in clinical practice? evidence from a meta-analysis*. *Phyther Result*. 2014;28(5):633–42.
52. Guo J, Cao X, Hu X, Li S, Wang J. *The anti-apoptotic, antioxidant and anti-inflammatory effects of curcumin on acrylamide-induced neurotoxicity in rats*. *BMC Pharmacology Toxicology*. 2020;21(1):1–10.
53. Sahne F, Mohammadi M, Najafpour GD, Moghadamnia AA. *Extraction of bioactive compound curcumin from turmeric (Curcuma longa L.) via different routes: A comparative study*. *Pakistan Journal of Biotechnology*. 2016;13(3):173–80.
54. Ganjali S, Sahebkar A, Mahdipour E, Jamialahmadi K, Torabi S, Akhlaghi S. *Investigation of the effects of curcumin on serum cytokines in obese individuals: A randomized controlled trial*. *Science World Journal*. 2014;2014.
55. Midura-Kiela MT, Radhakrishnan VM, Larmonier CB, Laubitz D, Ghishan FK, Kiela PR. *Curcumin inhibits interferon- $\gamma$  signaling in colonic epithelial cells*. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal Liver Physiology*. 2012;302(1).
56. Badr AM, Sharkawy H, Farid AA, El-Deeb S. *Curcumin induces regeneration of  $\beta$  cells and suppression of phosphorylated-NF- $\kappa$ B in streptozotocin-induced diabetic mice*. *Journal of Basic Applicative Zoology*. 2020;81(1).
57. Panahi Y, Ahmadi Y, Teymouri M, Johnston TP, Sahebkar A. *Curcumin as a potential candidate for treating hyperlipidemia: A review of cellular and metabolic mechanisms*. *Journal of Cell Physiology*. 2018;233(1):141–52.
58. Abdollahi E, Momtazi AA, Johnston TP, Sahebkar A. *Therapeutic effects of curcumin in inflammatory and immune-mediated diseases: A nature-made jack-of-all-trades? Vol. 233*. *Journal of Cellular Physiology*. 2018. 830–848

- p.
59. Xie Z, Wu B, Shen G, Li X, Wu Q. *Curcumin alleviates liver oxidative stress in type 1 diabetic rats*. *Molecular Medicine Rep*. 2018;17(1):103–8.
  60. Kanmani S, Kwon M, Shin MK, Kim MK. *Association of C-Reactive Protein with Risk of Developing Type 2 Diabetes Mellitus, and Role of Obesity and Hypertension: A Large Population-Based Korean Cohort Study*. *Science Rep*. 2019;9(1):1–8.
  61. Ghasemi A, Khalifi S, Jedi S. *Streptozotocin-nicotinamide-induced rat model of type 2 diabetes (review)*. *Acta Physiology of Hungaria*. 2014;101(4):408–20.
  62. Dreanca AI, Sarpataki O, Sevastre B. *Experimental model of Streptozotocin-Nicotinamide induced Diabetes Mellitus type II in Sprague-Dawley rats : Step by step protocol and the encountered issues EXPERIMENTAL MODEL OF STREPTOZOTOCIN - NICOTINAMIDE INDUCED DIABETES MELLITUS TYPE II IN SPRAGUE-*. *Rev Rom Vet*. 2018;2(28):22–6.
  63. Poolsup N, Suksomboon N, Kurnianta PDM, Deawjaroen K. *Effects of curcumin on glycemic control and lipid profile in prediabetes and type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis*. *PLoS One*. 2019;14(4):1–18.
  64. Hussain Z, Thu HE, Amjad MW, Hussain F, Ahmed TA, Khan S. *Exploring recent developments to improve antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial efficacy of curcumin: A review of new trends and future perspectives*. *Mater Science English [Internet]*. 2017;77:1316–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.03.226>
  65. Sovia E, Sukandar EY, Sigit JI, Sasongko LDN. *Efek Rimpang Kunyit (Curcuma longa L.) dan Bawang Putih (Allium sativum L.) terhadap Sensitivitas Insulin pada Tikus Galur Wistar*. *Majalah Kedokteran Bandung*. 2011;43(4):153–9.
  66. Júnior ASS, Aidar FJ, Santos JL Dos, Estevam CDS, Dos Santos JDM, De Oliveira E Silva AM. *Effects of resistance training and turmeric supplementation on reactive species marker stress in diabetic rats*. *BMC Sports Science Medical Rehabilitation*. 2020;12(1):1–12.
  67. Mogharrabi M, Rahimi HR, Hasanzadeh S, Dastani M, Kazemi-Oskuee R, Akhlaghi S. *The effects of nanomicelle of curcumin on the matrix metalloproteinase (MMP-2, 9) activity and expression in patients with coronary artery disease (CAD): A randomized controlled clinical trial*. *ARYA Atherosclerosis*. 2020;16(3):1–10.
  68. Yue L, Yu P min, Zhao D hao, Wu D yan, Zhu G xing, Wu X yi,. *Determinants of quality of life in people with epilepsy and their gender differences*. *Epilepsy Behavior*. 2011;22(4):692–6.
  69. Yang F, Yu J, Ke F, Lan M, Li D, Tan K. *Curcumin alleviates diabetic retinopathy in experimental diabetic rats*. *Ophthalmic Result*. 2018;60(1):43–54.
  70. Li B-Y, Tan W, Zou J-L, He Y, Yoshida S, Jiang B. *Role of interferons in diabetic retinopathy*. *World Journal of Diabetes*. 2021;12(7):939–53.
  71. Gomes MB, Rathmann W, Charbonnel B, Khunti K, Kosiborod M, Nicolucci A. *Treatment of type 2 diabetes mellitus worldwide: Baseline patient characteristics in the global DISCOVER study*. *Diabetes Result Clinical*

- Practice [Internet]. 2019;151:20–32. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2019.03.024>
72. Rena G, Hardie DG, Pearson ER. *The mechanisms of action of metformin*. *Diabetologia*. 2017;60(9):1577–85.
  73. Roxo DF, Arcaro CA, Gutierrez VO, Costa MC, Oliveira JO, Lima TFO. *Curcumin combined with metformin decreases glycemia and dyslipidemia, and increases paraoxonase activity in diabetic rats*. *Diabetology Metabolic Syndrome*. 2019;11(1):1–8.
  74. Cao L, Zhi D, Han J, Kumar Sah S, Xie Y. *Combinational effect of curcumin and metformin against gentamicin-induced nephrotoxicity: Involvement of antioxidative, anti-inflammatory and antiapoptotic pathway*. *Journal of Food Biochemistry*. 2019;43(7):1–9.