



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

Jln. Palembang – Prabumulih KM. 32 Inderalaya Ogan Ilir  
Telepon. (0711) 580645, 580069, 580225, 580169, 580275 Faksimile (0711) 580644  
Laman : www.unsri.ac.id

**KEPUTUSAN  
REKTOR UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
NOMOR 0685/UN9/SK.BUK.KP/2020**

**TENTANG**

**PERSETUJUAN JUDUL DAN PENUNJUKAN  
TENAGA PENELITI BAGI DOSEN SKEMA UNGGULAN KOMPETITIF  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA TAHUN 2020**

**REKTOR UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

- Menimbang** :
- a. bahwa untuk kegiatan Penelitian Skema Unggulan Kompetitif Bagi Dosen Universitas Sriwijaya Tahun 2020 maka perlu adanya persetujuan Judul Penelitian dan Penunjukan Tenaga Pelaksana Peneliti;
  - b. bahwa mereka yang namanya tertera dalam lampiran Surat Keputusan ini dianggap mampu dan memenuhi syarat untuk ditunjuk sebagai tenaga peneliti, dengan judul penelitian, dan besaran biaya yang tercantum pada lampiran Surat Keputusan ini;
  - c. bahwa berdasarkan hasil evaluasi reviewer dan berdasarkan luaran yang dipersyaratkan, judul penelitian dalam lampiran surat keputusan ini layak didanai;
  - d. bahwa sehubungan dengan huruf a, b, dan c di atas perlu diterbitkan Surat Keputusan sebagai pedoman dan landasan hukumnya.
- Mengingat** :
1. Undang-Undang Nomor 20 Tahun 2003, tentang Sistem Pendidikan Nasional;
  2. Keputusan Menteri Keuangan RI Nomor 190/KMK.05/2009, tentang Penetapan Universitas Sriwijaya pada Depdiknas sebagai Instansi Pemerintahan yang Menetapkan PK-BLU;
  3. Peraturan Pemerintah Nomor 04 Tahun 2014, tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;
  4. Peraturan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 12 Tahun 2015, tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Sriwijaya;
  5. Peraturan Menteri Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 17 Tahun 2018, tentang Statuta Universitas Sriwijaya;
  6. Peraturan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 20 tahun 2018, tentang penelitian;
  7. Keputusan Menteri Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 32031/M/KP/2019, tentang Pemberhentian dan Pengangkatan Rektor Universitas Sriwijaya.

MEMUTUSKAN:

- Menetapkan : KEPUTUSAN REKTOR UNIVERSITAS SRIWIJAYA TENTANG PERSETUJUAN JUDUL DAN PENUNJUKAN TENAGA PENELITI SKEMA UNGGULAN KOMPETITIF BAGI DOSEN UNIVERSITAS SRIWIJAYA TAHUN 2020
- Kesatu : Menyetujui nama peneliti, judul penelitian, dan besaran biaya penelitian yang tercantum pada lampiran Surat Keputusan ini;
- Kedua : Segala biaya yang timbul sebagai akibat penerbitan Surat Keputusan ini dibebankan pada anggaran belanja Universitas Sriwijaya tahun 2020 atau dana khusus yang disediakan untuk itu;
- Ketiga : Memberi wewenang kepada Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Sriwijaya untuk menandatangani Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian;
- Keempat : Memberi wewenang kepada Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Universitas Sriwijaya untuk melaksanakan monitoring dan evaluasi terhadap pelaksanaan penelitian serta menyetujui laporan hasil penelitian;
- Kelima : **Penelitian skema Unggulan Kompetitif wajib melibatkan dosen dalam satu rumpun/lintas ilmu minimal tiga orang dan wajib melibatkan mahasiswa program doktor (S-3) dan/atau program magister (S-2) dan/atau program sarjana (S-1) minimal tiga orang;**
- Keenam : **Semua kewajiban luran penelitian ini, baik publikasi maupun luaran lain menjadi tanggung jawab ketua dan anggota tim peneliti;**
- Ketujuh : Keputusan Rektor Universitas Sriwijaya ini berlaku sejak tanggal ditetapkan;
- Kedelapan : Apabila terdapat kekeliruan dalam Surat Keputusan ini akan diadakan perbaikan.

Ditetapkan di: Indralaya  
Pada tanggal : 15 Juli 2020

REKTOR, 

  
ANIS SAGGAFF   
NIP 196210281989031002

Tembusan:

1. Kementerian Riset dan Teknologi/Badan Riset dan Inovasi Nasional;
2. Direktur Riset dan Pengabdian kepada Masyarakat Kementerian Riset dan Teknologi/Badan Riset dan Inovasi Nasional;
3. Wakil Rektor seluruh Bidang Universitas Sriwijaya;
4. Dekan Fakultas dalam lingkungan Universitas Sriwijaya;
5. Ketua Lembaga dalam lingkungan Universitas Sriwijaya;
6. Kepala Biro dalam lingkungan Universitas Sriwijaya;
7. Kepala Bagian Keuangan BUK Universitas Sriwijaya;
8. Yang bersangkutan.

No	Nama Ketua	Nama Anggota	Judul Penelitian	Fakultas	Dana yang disetujui (Rp)
1	Mukhtaruddin, S.E., M.Si., Ak.	1. Prof. Dr. Hj. Sulastri, M.Kom., M.E. 2. Dr. Luk Luk Fuadah, S.E., MBA, Ak.	Economic Value Added (EVA), Return on Investment (RoI), Arus Kas, Hutang dan Harga Saham pada Perusahaan Industri Property dan Real Estate di Bursa Efek Indonesia	Ekonomi	45.000.000
2	Drs. Bambang Bemby S., M.A., Ph.D.	1. Dr. Mukhlis, S.E., M.Si. 2. Abdul Bashir, S.E., M.Si.	Model Hubungan antara Pertumbuhan Ekonomi, Ekspansi Finansial, Keterbukaan Perdagangan dan Emisi Karbon Dioksida di Indonesia	Ekonomi	50.000.000
3	Dr. E. Yusnaini, S.E., M.Si., Ak.	1. Arista Hakiki, S.E., M.Acc., Ak. 2. Sri Maryati, S.E., M.Sc.	Orientasi Kognitif dan Sistem Insentif pada Kinerja Tim : Studi Eksperimen dalam Pengambilan Keputusan Akuntansi	Ekonomi	50.000.000
4	Yulia Saftiana, S.E., Ak., M.Si.	1. Drs. Harun DL., M.Si., Ak. 2. Umi Kalsum, S.E., M.Si.	Pengaruh Asimetri Informasi, Tingkat Disclosure, Kualitas Audit dan Kepemilikan Manajerial Terhadap Biaya Ekuitas (Studi Empiris Pada Perusahaan Tekstil dan Garment Yang Terdaftar di Bursa Efek Indonesia (Bei) Tahun 2015-2018)	Ekonomi	46.000.000
5	Dr. Yuliani, S.E., M.M.	1. Taufik, S.E., M.B.A. 2. Nyimas Dewi Murnila Saputri, S.E., M.S.M.	Assessment A Model of Financial Satisfaction Predictors: Examining The Mediate Effect of Financial Risk Attitude and Financial Behavior	Ekonomi	54.500.000
6	Dr. Hj. Zunaidah, S.E., M.Si.	1. Prof. Dr. H. Didik Susetyo, M.Si. 2. Dr. Muhammad Ichsan Hadjri, S.T., M.M.	Meningkatkan Kinerja Pegawai dan Kepuasan Kerja Melalui Manajemen Talenta, Self Efficacy: Studi Kasus Pada Pegawai Hotel Berbintang di Kota Palembang - Sumatera Selatan	Ekonomi	52.000.000
7	Dr. Yunisvita, S.E., M.Si.	1. Dr. Rosmiati Chodidjah S., M.Si. 2. Drs. Muhammad Teguh, M.Si.	Segregasi Okupasi dan Perbedaan Pendapatan Pekerja Berbasis Gender	Ekonomi	48.500.000
8	Hj. Rochmawati Daud, M.Si., Ak., CA.	1. Dr. Inten Meutia, S.E., Ak., M.Acc. 2. Emylia Yuniartie, S.E., M.Si., Ak.	Konsep Akuntabilitas dalam Pengelolaan Dana Pesantren pada Pesantren di Sumatera Selatan ( Suatu Pendekatan Interpretif)	Ekonomi	51.000.000
9	M. Abu Bakar Siddik, S.T., M.Eng., Ph.D.	1. M. Irfan Jambak, S.T., M.Eng., Ph.D. 2. Rizda Fitri Kurnia, S.T., M.Eng.	Peningkatan Kualitas Lihah Cair Kelapa Sawit Sebagai Material Isolasi Minyak Transformator dengan Penambahan Nano Silica Treated By Silane	Teknik	58.000.000
10	M. Irfan Jambak, S.T., M.Eng., Ph.D.	1. Dipl.-Ing Ir. Amrifan Saladin Mohrni, Ph.D. 2. Ir. Muhammad Ihsan Jambak, M.Sc.	Pemodelan Perilaku Pengguna Internet pada Local Area Network Universitas Sriwijaya Berbasis Metoda Process Mining	Teknik	58.000.000
11	Dendy Adanta, S.Pd., M.T.	1. Prof. Ir. H. Hasan Basri, Ph.D. 2. Ir. Zainal Abidin, M.T.	Karakterisasi Material Biokomposit Filamen 3d Printer Tipe FDM Berbasis Polylactic-Acid dan Magnesium untuk Fabrikasi Implan Perancah Tulang	Teknik	55.000.000
12	Irsyadi Yani, S.T., M.Eng., Ph.D.	1. Ir. Firmansyah Burlian, M.T. 2. H. Ismail Thamrin, S.T., M.T.	Rancang Bangun Sistem Sotir Sampah Botol Plastik Menggunakan Intelligent Computer Vision (ICV) Berbasiskan Mechanical Engineering Actuator/MEA	Teknik	55.000.000
13	Dr. Bhakti Yudho Suprpto, S.T., M.T.	1. Ir. Sariman, M.S. 2. Djulil Amri, S.T., M.T.	Pengembangan Kendali Lateral dengan Struktur Cascade pada Sistem Kendali Steering untuk Autonomous Electric Vehicle	Teknik	58.000.000
14	Dr. Ir. H. M. Faizal, DEA	1. Prof. Ir. H. Muhammad Said, M.Sc., Ph.D. 2. Enggal Nurisman, S.T., M.T.	Purifikasi Gas Sintetis Berbahan Baku Limbah Padat Fine Coal Hasil Gasifikasi Katalitik untuk Bahan Bakar Ramah Lingkungan	Teknik	55.000.000
15	Dr. Saloma, S.T., M.T.	1. Dr. Arie Putra Usman, S.T., M.T. 2. Dr. Siti Aisyah Nurjannah, S.T., M.T.	Durabilitas Lightweight Geopolymer Concrete Terhadap Serangan Sulfat	Teknik	60.000.000
16	Dr. Herlina, S.T., M.T.	1. Dr. Ir. H. Syamsuri Zaini, M.M. 2. Wirawan Adipradana, S.T., M.T.	Peningkatan Luaran Generator Magnet Permanen dengan Optimasi Disain Dan Reduksi Torsi Cogging	Teknik	57.000.000
17	Amir Arifin, S.T., M.Eng.	1. Gunawan, S.T., M.T. 2. Budi Santoso, S.T., M.T.	Karakterisasi Sifat Fisik dan Mekanik Sambungan Las dengan Metode Friction Welding	Teknik	58.000.000

No	Nama Ketua	Nama Anggota	Judul Penelitian	Fakultas	Dana yang disetujui (Rp)
18	Dipl.-Ing. Ir. Amrifan Saladin Mohruni, Ph.D.	1. Muhammad Yanis, S.T., M.T. 2. M. A. Ade Saputra, S.T., M.T.	Machining of Aerospace Materials Using Cryogenic and Minimum Quantity Lubrication (MQL)-System	Teknik	60.000.000
19	Ir. H. Yakni Idris, M.Sc.	1. Dr. Ir. H. Maulid M. Iqbal, M.S. 2. Yulindasari, S.T., M.Eng.	Analisis Peningkatan Kapasitas Dukung Pondasi Folded Plate pada Tanah Lempung	Teknik	57.000.000
20	Dr.Eng. Ir. Joni Arliansyah, M.T.	1. Dr. Yusuf Hartono, M.Sc. 2. Aztri Yuli Kurnia, S.T., M.Eng.	Kajian Pergerakan Transportasi di Kota Palembang Akibat Pengaruh Adanya Moda Angkutan Online, Moda LRT Serta Meningkatnya Penggunaan Angkutan Pribadi	Teknik	57.000.000
21	Dr. Ir. H. Marwan Asof, DEA	1. Ir. Hj. Farida Ali, DEA 2. Rosihan Pebrianto, ST., M.T.	Rancangan Pengolahan Air Asam Tambang dengan Metode Aerasi Fly Ash Insitu	Teknik	56.000.000
22	Dr. Ir. Diah Kusuma Pratiwi, M.T.	1. Jimmy Deswidawansyah, S.T., M.T. 2. Nurhabibah Paramitha Eka Utami, S.T., M.T.	Prilaku Mekanik dan Fisik Coran Aluminium Skrap Menggunakan Menggunakan Bahan Cetak yang Berbeda	Teknik	58.000.000
23	Gunawan, S.T., M.T.	1. Amir Arifin, S.T., M.Eng. 2. M. Ihsan Riady, S.T., M.T.	Pengembangan Biokeramik Hidroksiapatit Berpori dengan Menggunakan Proses Sintering Dingin	Teknik	56.000.000
24	Heni Fitriani, S.T., M.T., Ph.D.	1. Citra Indriyati, S.T., M.T. 2. Aditya Rachmadi, S.T., M.Eng.	Analisis Integrasi Building Information Modeling (BIM) Terhadap Kinerja Penggunaan Energi pada Bangunan Gedung	Teknik	55.000.000
25	Muhammad Yanis, S.T., M.T.	1. Arie Yudha Budiman, S.T., M.T. 2. Nova Yuliasari, M.Si.	Optimasi Prediksi Ketelitian Kekasaran Permukaan pada Pemesinan Hijau Menggunakan Artificial Neural Networks	Teknik	55.000.000
26	Yulindasari, S.T., M.Eng.	1. Ir. Sutanto Muliawan, M.Eng. 2. Ratna Dewi, S.T., M.T.	Pemodelan Perkuatan Menggunakan Bahan Bambu untuk Daya Dukung Pondasi Dangkal di Atas Tanah Gambut	Teknik	58.000.000
27	Sabri Sudirman, S.Pi., M.Si.	1. Ferdinand Hukama Taqwa, S.Pi., M.Si. 2. ELSA FITRIA APRIANI, M.Farm., Apt.	Analisis Secara In Vitro Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa-Amilase Serta Alfa-Glukosidase Ekstrak Tanaman Apu-Apu (Pistia Stratiotes)	Pertanian	53.000.000
28	Dr. Ir. Suwandi, M.Agr.	1. Dr. Ir. A. Muslim, M. Agr. 2. Arsi, S.P., M.Si.	Pengendalian Terpadu Hama an Penyakit Cabai Berbasis Aplikasi Biostimulan Hasil Fermentasi	Pertanian	60.000.000
29	Dr. Ir. Gatot Priyanto, M.S.	1. Prof. Dr. Sriati, MS 2. Dr. Budi Santoso, S.TP., M.Si.	Pembuatan Tapai Ubi Kayu Beralkohol Rendah dengan Fermentasi Parsial	Pertanian	55.000.000
30	Asep Indra Munawar Ali, S.Pt., M.Si.	1. Riswandi, S.Pt., M.Si. 2. Dr. Sofia Sandi, S.Pt., M.Si.	Pengembangan Kerbau Rawa di Lahan Rawa Lebak: Potensi Akumulasi Logam Berat dan Pengaruh Air Minum dengan Kemasaman Hijau Yang Tinggi	Pertanian	58.000.000
31	Dr. Susilawati, S.P., M.Si.	1. Dr. Irmawati, S.P., M.Si. 2. Ir. Sri Sukarmi, M.P.	Keragaan dan Analisis Pertumbuhan Bawang Merah Varietas Bima Brebes di Lahan Pasang Surut Provinsi Sumatera Selatan	Pertanian	55.000.000
32	Shanti Dwita Lestari, S.Pi., M.Sc.	1. Wulandari, M.Si. 2. Dr. Shery Ridhowati Nata Imam, S.TP., M.Si.	Evaluasi Karakteristik Kandidat Probiotik Enterococcus Faecalis Asal Rusip Pasca Mikroenkapsulasi	Pertanian	55.000.000
33	Dr. Ir. Yulia Pujiastuti, M.S.	1. Ir. Bambang Gunawan, M.Si. 2. Arsi, S.P., M.Si.	Studi Dampak Perlakuan Sinar Matahari dan Curah Hujan Terhadap Efektivitas Bioinsektisida Berbasis Bacillus Thuringiensis Terhadap Mortalitas Serangga Hama dan Pertumbuhan Tanaman Hortikultura	Pertanian	60.000.000
34	Dr. Momon Sodik Imanudin, S.P., M.Sc.	1. Dr. Ir. Muh. Bambang Prayitno, M. Agr. Sc. 2. Dr. Ir. Satria Jaya Priatna, M.S.	Model Drainase Terkendali di Daerah Rawa Pasang Surut Tipologi C Delta Telang I Banyuasin untuk Budidaya Tanaman Padi	Pertanian	58.000.000
35	Dr. Budi Santoso, S.TP., M.Si.	1. Dr. Ir. Gatot Priyanto, M.S. 2. Hermanto, S.TP., M.Si.	Pembentukan Edible Film Berbasis Pati Ganyong dengan Penambahan Senyawa Fungsional Alami	Pertanian	58.000.000

No	Nama Ketua	Nama Anggota	Judul Penelitian	Fakultas	Dana yang disetujui (Rp)
36	Herpandi, S.Pi., M.Si., Ph.D.	1. Wulandari, M.Si. 2. Indah Widiastruti, S.Pi., M.Si., Ph.D.	Kombinasi Pengawet Alami Kitosan dan Asap Cair dengan Pengemasan Vakum untuk Memperpanjang Umur Simpan Pemppek pada Suhu Ruang	Pertanian	55.000.000
37	Dr. Ir. Dwi Setyawan, M.Sc.	1. Ir. Teguh Achadi, M.P. 2. Dr. Herlina Hanum, M.Si.	Model Pengelolaan Tanaman Revegetasi untuk Pengendalian Kesuburan Tanah Pascatambang Batubara di Tanjung Enim	Pertanian	50.000.000
38	Ferdinand Hukama Taqwa, S.Pi., M.Si.	1. Dr. Dade Jubaidah, S.Pi., M.Si. 2. Tanbiyaskur, S.Pi., M.Si.	Peningkatan Produksi Budidaya Ikan Selincah (Belontia Hasselti) Melalui Rekayasa Transportasi Sistem Tertutup dan Rezim Pakan Alami Pascatransportasi di Lahan Suboptimal	Pertanian	56.000.000
39	Dr. Ir. Kiki Yulianti, M.Sc.	1. Prof. Dr. Ir. Basuni Hamzah, M.Sc. 2. Ruth Samantha Hamzah, S.E., M.Si.	Analisis Kelayakan Finansial Proyeksi Usaha Pengolahan Gulo Puan Menjadi Chocolate Bar di Kabupaten Pampangan, Ogan Komering Ilir, Sumatera Selatan	Pertanian	50.000.000
40	Dr. Merynda Indriyani Syafutri, S.TP., M.Si.	1. Prof. Ir. Filli Pratama, M.Sc., (Hons) Ph.D. 2. Friska Syaiful, S.TP., M.Si.	Modifikasi Tepung Beras Merah dengan Metode Heat Moisture Treatment dan Autoclaving-Cooling	Pertanian	58.000.000
41	Dr. Ace Baehaki, S.Pi., M.Si.	1. Dr. Muhammad Hendri, S.T., M.Si. 2. Dr. Rinto, S.Pi., M.P.	Karakteristik Susu Nabati dari Biji Lotus (Nelumbo Nucifera) dan Biji Teratai (Nymphaea Stellata)	Pertanian	55.000.000
42	Dr. Ir. Suparman SHK	1. Ir. Bambang Gunawan, M.Si. 2. Dr. Ir. Yulia Pujiastuti, M.S.	Pengendalian Penyakit Kuning Keriting pada Cabai Berbasis Epidemiologi di Sumatera Selatan	Pertanian	58.000.000
43	Dr. Rinto, S.Pi., M.P.	1. Puspa Ayu Pitayati, S.Pi., M.Si. 2. Dwi Indah Sari, S.Pi., M.Si.	Kajian Bioproses dan Waktu Pemasakan Bekasam Instan	Pertanian	58.000.000
44	Dr. Mochamad Syaifudin, S.Pi., M.Si.	1. Danang Yonarta, S.St.Pi., M.P. 2. Dr. Dade Jubaidah, S.Pi., M.Si.	Dna Autentikasi Ikan Belida (Chitala Lopis) Hasil Tangkap dan Domestikasi	Pertanian	58.000.000
45	Dr. rer. nat. Indra Yustian, M.Si.	1. Drs. Enggar Patriono, M.Si. 2. Dr. Arum Setiawan, M.Si.	Perilaku Bersuara Tarsius (Cephalopachus Bancanus Ssp. Bancanus) di Way Canguk Taman Nasional Bukit Barisan Selatan	MIPA	50.000.000
46	Doni Setiawan, S.Si., M.Si.	1. Dr. Zazili Hanafiah, M.Sc. 2. Drs. Hanifa Marisa, M.S.	Analisis Ketersediaan Pakan Sebagai Daya Dukung Habitat Gajah Sumatera (Elephas Maximus Sumatranus) dan Potensi Lainnya di Kawasan Rawa Gambut Wilayah Resort Xv. Plg Sm. Padang Sugihan Guna Mendukung Upaya Konservasi	MIPA	48.000.000
47	Dr. Arum Setiawan, M.Si.	1. Drs. Arwingsyah, M.Kes. 2. Dr. rer. nat. Indra Yustian, M.Si.	Eksplorasi Biodiversitas (Akuatik) Potensial di Daerah Aliran Sungai (DAS) Sungai Jeruju Kecamatan Cengal Kabupaten Ogan Komering Ilir Sumatera Selatan	MIPA	51.000.000
48	Hermansyah, Ph.D.	1. Drs. Almunady T. Panagan, M.Si. 2. Dra. Fatma, M.S.	Pemanfaatan Isolat Yeast Air Kelapa dalam Upaya Peningkatan Produksi Etanol dari Tandan Kosong Kelapa Sawit	MIPA	53.000.000
49	Dr. rer. nat. Risfidian Mohadi	1. Nurlisa Hidayati, M.Si. 2. Prof. Dr. Aldes Lesbani, S.Si, M.Si, Ph.D.	Sintesis Mikrokomposit Selulosa-TiO2 Serta Aplikasinya Sebagai Adsorben dan Fotokatalis	MIPA	48.000.000
50	Dr. Fitri Maya Puspita, M.Sc.	1. Drs. Robinson Sitepu, M.Si. 2. Yunita, S.Si., M.Cs.	Skema Pembiayaan Berbasis Flat Fee, Usage Based, Two Part Tariff Pada Model Improved Internet Pembebanan Reverse (IRC) Model Jaringan Wireless Multiple Link QoS	MIPA	52.000.000
51	Dr. Muhammad Said, M.T.	1. Fahma Riyanti, M.Si. 2. Widia Purwaningrum, M.Si.	Metode Fotodegradasi Oksidasi Lanjut untuk Pengolahan Limbah Zat Warna Sintetis	MIPA	52.000.000
52	Dr. Bambang Yudono, M.Sc.	1. Dr. Ir. Parwiyanti, M.P. 2. Dra. Sriptiwati Estuningsih, M.Si.	Pengolahan Limbah Pabrik Minyak Kelapa Sawit dengan Metode Kombinasi Bioremediasi Menggunakan Bakteri Indigen dan Elektrokoagulasi	MIPA	51.000.000
53	Dr. M. Yusuf Nur Khakim, M.Si.	1. Drs. Pradanto P, DEA 2. Dr. Supardi, S.Pd., M.Si.	Pemodelan Struktur Bawah Permukaan dan Analisis Seismisitas Serta Implikasinya Terhadap Deformasi Menggunakan Metode Tomografi Seismik dan SAR Interferometri.	MIPA	50.000.000

No	Nama Ketua	Nama Anggota	Judul Penelitian	Fakultas	Dana yang disetujui (Rp)
54	Dr. Laila Hanum, M.Si.	1. Dra. Nita Aminasih, M.P. 2. Singgih Tri Wardana, S.Si., M.Si.	Analisis Genetik Duku ( <i>Lansium Domesticum</i> Corr.) Sumatera Selatan Berdasarkan DNA Barcoding Matk Sebagai Upaya Pemanfaatan Sumber Daya Genetik Secara Berkelanjutan	MIPA	50.000.000
55	Dr. Mikusanti, M.Si.	1. Dina Permata Wijaya, S.Far., M.Si., Apt. 2. Indah Solihah, S.Farm, M.Sc., Apt.	Pengembangan Film Coating Probiotik dan Prebiotik Berbasis Pati Ubi Jalar	MIPA	52.000.000
56	Dr. Fauziyah, S.Pi.	1. Fitri Agustriani, M.Si. 2. Ellis Nurjuliasti Ningsih, S.Kel., M.Si.	Valuasi Ekonomi Jasa Ekosistem Mangrove di Taman Nasional Sembilang Kabupaten Banyuwangi	MIPA	52.000.000
57	Fitrya, M.Si, Apt.	1. Prof. Dr. Elfita, M.Si. 2. Annisa Amriani, M.Farm., Apt.	Uji Aktifitas Imunomodulator Ekstrak Etanol Kulit Buah Petai ( <i>Parkia Speciosa</i> ) dan Kajian Tokisitas Akut-Subkronis Ekstrak Aktif	MIPA	44.000.000
58	Fahma Riyanti, M.Si.	1. Dra. Fatma, M.S. 2. Prof. Dr. Poedji Loekitowati, M.Si.	Fotodegradasi Zat Warna Anionik Menggunakan Nanomagnetik ( $\text{NiFe}_2\text{O}_4$ , $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )-Peg 4000	MIPA	52.000.000
59	Dr. Nirwan Syarif, M.Si.	1. Dr. Dedi Rohendi, M.T. 2. Nurlisa Hidayati, M.Si.	Aplikasi Karbon Bintiknano Binchotan Kayu Gelam pada Foto-Oksidasi Metana Menjadi Metanol	MIPA	52.000.000
60	Dr. Salni, M.Si.	1. Drs. Hanifa Marisa, M.S. 2. Dra. Harmida, M.Si.	Senyawa Antioksidan dari Benalu Duku ( <i>Dendrothoe Pentandra</i> )	MIPA	50.000.000
61	Dr. Hary Widjajanti, M.Si.	1. Prof. Muharni, M.Si. 2. Dr. Elisa Nurnawati, S.Si., M.Si.	Potensi Fungi Endofit Tumbuhan Gelam ( <i>Melaleuca Cjuputi</i> Powell) Sebagai Sumber Antioksidan dan Optimasi Produksinya	MIPA	50.000.000
62	Dr. Fiber Monado, S.Si., M.Si.	1. Dr. Idha Royani, S.Si., M.Si. 2. Dr. Menik Ariani, S.Si., M.Si.	Desain Konseptual Teras Reaktor PLTN Generasi-IV Berukuran Besar Berbasis Skema Burnup Breed & Burn	MIPA	50.000.000
63	Dr. Hasanudin, M.Si.	1. Budi Santoso, S.T., M.T. 2. Dr. Fitri Hadiah, S.T., M.T.	Desain Katalis Komposit Logam Phospida ( <i>Nip, Mop, Cop</i> )-Monmorillonit Terpillar $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{ZrO}_2$ Sebagai Katalisator Reforming Syngas Menjadi Metanol	MIPA	50.000.000
64	Dr. dr. Mgs. H. M. Irsan Saleh, M.Biomed.	1. dr. Ella Amalia 2. dr. Nita Parisa, M.Bmd.	Efektivitas Anti Inflamasi Daun Karamunting ( <i>Rhodomertus Tomentosa</i> (Ait.) Hassk) Terhadap Kerusakan Sel Beta Pankreas dan Efek Protektif Terhadap Komplikasi Nefropati Diabetika Melalui Hambatan RAGE (Receptor Advanced Glycation end Product)	Kedokteran	55.000.000
65	Dr. dr. Rizma Adlia Syakurah, MARS	1. dr. Andika Okparasta, S.Ps. 2. dr. Tri Hari Irfani	Peran Peer Mentoring pada Pengenalan Kehidupan Perkuliahan dan Kemampuan Komunikasi Interpersonal Mahasiswa	Kedokteran	50.000.000
66	dr. Hj. Mariatul Fadillah, MARS, Ph.D.	1. Drs. Eddy Roflin, M.Si. 2. dr. Emma Novita, M.Kes.	Analisis Hubungan Pelaksanaan Program Stbm Terhadap Penurunan Faktor Risiko Stunting Pada Anak Bawah Dua Tahun (Baduta) di Kota Palembang	Kedokteran	50.000.000
67	Dr. Iche Andriyani Liberty, S.KM., M.Kes.	1. dr. Muhammad Aziz, MARS 2. Pariyana, SKM, M.Kes.	Kombinasi Surrogate Resistensi Insulin dan Indeks Kualitas Diet Sebagai Marker Prognosis Konversi Status Prediabetes	Kedokteran	48.000.000
68	Dr. Yenny Anwar, M.Pd.	1. Dra. Djunaidah Zen, M.Pd. 2. Safira Permata Dewi, S.Pd., M.Pd.	Penggunaan Asesmen Formatif Berbasis Daring untuk Meningkatkan Keterampilan Berfikir Kritis dan Kreatif Mahasiswa dalam Menghadapi Era Revolusi Industri 4.0	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	50.000.000
69	Dr. Ida Sriyanti, S.Pd., M.Si.	1. Jaidan Jauhari, M.T. 2. Dr. Leni Marlina, S.Pd., M.Si.	Pembuatan Penutup Luka Antibakteri dari Komposit Nanofiber Polivinilpirolidon/Selulosa Asetat dan Ekstrak Daun Kopasanda ( <i>Chromolaena Odorata</i> L)	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	52.000.000
70	Syuhendri, S.Pd., M.Pd., Ph.D.	1. Nely Andriani, S.Pd., M.Si. 2. Saparini, S.Pd., M.Pd.	Pengembangan Teks Perubahan Konseptual Materi Astronomi Dasar Berbasis Teori Perubahan Konseptual untuk Remediasi Miskonsepsi Mahasiswa pada Mata Kuliah Ilmu Pengetahuan Bumi Antariksa	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	48.000.000
71	Dr. Santi Oktarina, S.Pd., M.Pd.	1. Dra. Sri Indrawati, M.Pd., Ph.D. 2. Dr. Adeng Slamet, M.Si.	Uji Kepraktisan dan Uji Efektivitas Multimedia Interaktif Pembelajaran Menulis Akademik Berbasis Moodle pada Mata Kuliah Bahasa Indonesia di Universitas Sriwijaya	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	48.000.000

No	Nama Ketua	Nama Anggota	Judul Penelitian	Fakultas	Dana yang disetujui (Rp)
72	Dr. Ermayanti, S.Pd., M.Si.	1. Drs. Didi Jaya Santri, M.Si. 2. Safira Permata Dewi, S.Pd., M.Pd.	Pengembangan Panduan Praktikum Mikroteknik Tumbuhan Berbasis Creative Thinking Skills untuk Meningkatkan Keterampilan Berpikir Kreatif Mahasiswa Pendidikan Biologi	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	48.000.000
73	Ernalida, S.Pd., M.Hum., Ph.D.	1. Akhmad Rizqi Turama, M.Pd., M.A. 2. Dr. Santi Oktarina, S.Pd., M.Pd.	Pengembangan Konten E-Learning Schoology untuk Pembelajaran Menulis Kreatif bagi Guru dan Siswa di Sekolah Menengah Kota Palembang	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	43.000.000
74	Dra. Umi Chotimah, M.Pd., Ph.D.	1. Ermanovida, S.Sos., M.Si. 2. Kurnisar, S.Pd., M.H.	Analisis Nilai Karakter Mahasiswa dalam Pembelajaran Berbasis Hots dan Unit Kegiatan Mahasiswa (UKM) Universitas Sriwijaya (Studi Kasus Pada Pembelajaran PKn dan Kegiatan Ektrakurikuler)	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	50.000.000
75	Dr. Leni Marlina, S.Pd., M.Si.	1. Jaidan Jauhari, M.T. 2. Dr. Ida Sriyanti, S.Pd., M.Si.	Implementasi Lesson Study dalam Meningkatkan Profesionalitas Guru IPA SMP Kota Palembang pada Pembelajaran Fisika Berbasis Keterampilan Berpikir Kritis	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	50.000.000
76	Dr. Yosef, M.A.	1. Sigit Dwi Sucipto, M.Pd. 2. Fadhilina Rozzaqyah, S.Pd., M.Pd.	Pengembangan Instrumen Pengukuran Efikasi Multikultur Mahasiswa Program Studi Sarjana Bimbingan dan Konseling	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	50.000.000
77	Dr. Hudaidah, S.Pd., M.Pd.	1. Dr. L.R. Retno Susanti, M.Hum. 2. Dian Sri Andriani, S.Pd., M.Sc.	Pengembangan Electronic Document Management System (EDMS) Warisan Kebudayaan Goa Harimau dan Goa Putri di Kabupaten OKU: Upaya Membangun Karakter Cinta Budaya	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	50.000.000
78	Drs. Syafruddin Yusuf, M.Pd., Ph.D.	1. Aulia Novemy Dhita Surbakti, M.Pd. 2. Drs. H. Alian, M.Hum.	Pengembangan Digital Encyclopedia Seni, Budaya dan Pariwisata Palembang Berbasis Digital Contents	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	45.000.000
79	Dr. Ketang Wiyono, M.Pd.	1. Drs. Abidin Pasaribu, M.M. 2. Saparini, S.Pd., M.Pd.	Implementasi Pembelajaran Fisika Berbasis E-Learning untuk Mengembangkan Keterampilan Tingkat Tinggi Peserta Didik Sekolah Menengah Atas	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	46.000.000
80	Dr. Muhammad Yusup, S.Pd., M.Pd.	1. Drs. Abidin Pasaribu, M.M. 2. Dr. Kistiono, M.T.	Pengembangan Perkuliahan Asesmen Pembelajaran Fisika untuk Meningkatkan Literasi Asesmen	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	45.000.000
81	Drs. Muslih, M.L.I.S.	1. Dra. Tuty Khairunnisayah, M.A. 2. Soni Mirizon, M.A., Ed.D.	Pengembangan Asesmen Membaca Bahasa Inggris Berbasis Higher Order Thinking Skills (HOTS) dalam Konteks Indonesia untuk Peserta Didik Sekolah Menengah Atas	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	45.000.000
82	Dra. Indaryanti, M.Pd.	1. Dra. Cecil Hiltrimartin, M.Si., Ph.D. 2. Dr. Yusuf Hartono, M.Sc.	Pengembangan Pedoman Penyusunan Indikator Pencapaian Kompetensi Matematika Berbasis Kikuduko	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	48.000.000
83	Dr. Yusuf Hartono, M.Sc.	1. Dra. Cecil Hiltrimartin, M.Si., Ph.D. 2. Jeri Araiku, S.Pd., M.Pd.	Pengembangan Perangkat Pembelajaran Berbasis Pembuktian untuk Mengukur Kemampuan Representasi, Koneksi, Komunikasi dan Penalaran Matematis	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	47.000.000
84	Dr. Darmawijoyo, M.Si., M.Sc.	1. Dr. Somakim, M.Pd. 2. Ruth Helen Simarmata, S.Pd., M.PMat., M.Pd.	Analisis Proposisi Matematika Melalui Pengintegrasian Teknik Membaca dalam Pembelajaran Matematika: Studi Kasus pada Mata Kuliah Kalkulus	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	48.000.000
85	Apit Fathurohman, S.Pd., M.Si., Ph.D.	1. Samsuryadi, M.Kom., Ph.D. 2. Esti Susiloningsih, S.Pd., M.Si.	Efektivitas Penggunaan App Mobile Learning Materi Fisika SMA Berbasis STEM Sebagai Sumber Belajar Siswa Indonesia Terhadap Hasil Belajar	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	42.000.000
86	Dr. Diah Kartika Sari, S.Pd., M.Pd.	1. Drs. K. Anom W., M.Si. 2. Maefa Eka Haryani, S.Pd., M.Pd.	Pengembangan Instrumen Penilaian Otentik Berbasis Keterampilan Berpikir Kreatif untuk Menilai Pengetahuan dan Psikomotor Pada Mata Kuliah Praktikum Biokimia	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	43.000.000
87	Dr. Rita Inderawati, M.Pd.	1. Dr. Ismail Petrus, M.A. 2. Eryansyah, S.Pd., M.A., Ph.D.	Pengembangan Buku Teks Bahasa Inggris Berbasis Kompetensi Abad Ke-21 untuk SMK Jurusan Pariwisata Kota Palembang	Keguruan dan Ilmu Pendidikan	43.000.000
88	Deris Stiawan, M.T., Ph.D.	1. Dian Palupi Rini, S.Si., M.Kom., Ph.D. 2. Ahmad Heryanto, S.Kom., M.T.	Investigasi Serangan Cyber pada Serangan Remote to Local (R2L) di Layanan Infrastruktur Public Cloud	Fasilkom	59.000.000
89	Dr. Ir. Bambang Tutuko, M.T.	1. Prof. Dr. Ir. Siti Nurmaini, M.T. 2. Rossi Passarella, S.T., M.Eng.	Perancangan Sistem Pendeteksi Abnormalitas Jantung Secara Online dengan Platform Internet of Thing (IoT) Berbasis Artificial Intelligence	Fasilkom	52.000.000

No	Nama Ketua	Nama Anggota	Judul Penelitian	Fakultas	Dana yang disetujui (Rp)
90	Dr. Erwin, S.Si., M.Si.	1. Prof. Drs. Saparudin, MT., Ph.D 2. dr. Hadrians Kesuma Outra, Sp. OG.	Rancang Bangun Sistem Klasifikasi Penyakit Berdasarkan Citra Retina Menggunakan Konvolusi Neural Network	Fasilkom	55.000.000
91	Firdaus, S.T., M.Kom.	1. Dinda Lestari, S.Si., M.T. 2. Sarifah Putri Raflesia, S.Si., M.T.	Analisis Jaringan Co-Authorship Data Publikasi Indonesia	Fasilkom	44.000.000
92	Dian Palupi Rini, S.Si., M.Kom., Ph.D.	1. Deris Stiawan, M.T., Ph.D 2. Alvi Syahrini Utami, M.Kom.	Pemetaan Wilayah Produktivitas Tanaman Pangan di Sumatera Selatan Menggunakan Algoritma Fuzzy C-Means dan Artificial Bee Colony	Fasilkom	52.000.000
93	Sarifah Putri Raflesia, S.Si., M.T.	1. Dinda Lestari, S.Si., M.T. 2. Firdaus, S.T., M.Kom.	Perancangan Purwarupa Sistem Evakuasi Kebakaran pada Gedung Bertingkat berbasis Real-Time Ant Colony Optimization	Fasilkom	52.000.000
94	Jaidan Jauhari, M.T.	1. Dr. Leni Marlina, S.Pd., M.Si. 2. Dr. Ida Sriyanti, S.Pd., M.Si.	Pengembangan Material Elektroda, Elektrolit Separator untuk Superkapasitor Sebagai Komponen Komputer Berbasis Nanoserat Menggunakan Teknik Electrospinning	Fasilkom	55.000.000
95	Reza Firsandaya Malik, S.T., M.T., Ph.D.	1. Dr. Erwin, S.Si., M.Si. 2. Firdaus, S.T., M.Kom.	Sistem Pemantauan Kualitas Tanah Perkebunan Menggunakan Jaringan Sensor Nirkabel Bekerjasama Dengan Drone Sebagai Mobile Gateway	Fasilkom	50.000.000
96	Dr. rer. med. H. Hamzah Hasyim, S.KM., M.KM.	1. Dr. Misnaniarti, S.KM., M.KM. 2. Rahmat Izwan Heroza, S.T., M.T.	Optimalisasi Sistem Informasi Surveilans Malaria (SISMAL) Melalui Aplikasi Sismal Android Mobile Geospatial Information System (GIS) di Daerah Endemis Kabupaten Lahat Provinsi Sumatera Selatan	FKM	55.000.000
97	Dr. Misnaniarti, S.KM., M.KM.	1. Dr. Haerawati Idris, S.KM., M.Kes. 2. Indah Yuliana, S.Gz., M.Si.	Pengaruh Media Pendidikan Kesehatan Ibu dan Anak dalam Peningkatan Kemampuan Kader Posyandu	FKM	50.000.000
98	Dr. Haerawati Idris, S.KM., M.Kes.	1. Dr. dr. Rizma Adlia Syakurah, MARS 2. Dian Safriantini, S.K.M., M.PH.	Pengembangan Model Peningkatan Kepatuhan Hand Hygiene Di Rumah Sakit Mohammad Hosein Palembang	FKM	46.000.000
99	Asmaripa Ainy, S.Si., M.Kes	1. Iwan Stia Budi, S.KM., M.Kes. 2. Dian Safriantini, S.K.M., M.PH.	Model Inovasi Program Puskesmas untuk Perbaikan Gizi Balita	FKM	48.000.000
100	Mery Yanti, S.Sos., M.A.	1. Indra Tamsyah, S.IP., M.Hub. Int. 2. Dra. Yumnaini, M.Si.	Kontributor Adopsi Internet di Kalangan Digital Migran di Indonesia	FISIP	45.000.000
101	Dr. Yunindyawati, S.Sos., M.Si.	1. Dra. Hj. Eva Lidya, M.Si. 2. Dr. Hj. Lili Erina, M.Si.	Model Pengembangan Kapasitas Kelembagaan Pesantren dalam Meningkatkan Kewirausahaan di Kalangan Santri (Studi di Pondok Pesantren Ittifaqiah Kabupaten Ogan Ilir Sumatera Selatan)	FISIP	45.000.000
102	Dr. Andy Alfatih, MPA	1. Randi, S.Sos., M.Sos. 2. Dra. Dyah Hapsari Eko Nugraheni, M.Si.	Dampak Implementasi Kebijakan Pendirian Bumdes (Studi di Beberapa Bumdes di Kabupaten Musi Rawas, Sumsel)	FISIP	48.000.000
103	Dr. Ridhah Taqwa, M.Si.	1. Abdul Kholek, S.Sos., M.A. 2. Yosi Arianti, S.Pd., M.Si.	Hiper-Realitas Dunia Politik di Media Sosial: Kasus Calon Anggota DPD Sumatera Selatan pada Pemilu 2019	FISIP	48.000.000
104	Dr. Dadang Hikmah Purnama, M.Hum.	1. Dr. Mulyanto, M.A. 2. Yulasteriyani, M.Sos.	Lanskap Budaya Arsitektur Vernakular Rumah Limas Palembang	FISIP	50.000.000
105	Dr. Ardiyan Saptawan, M.Si.	1. Ermanovida, S.Sos., M.Si. 2. Aulia Utami Putri, S.I.P., M.Si.	Keefektifan Strategi Implementasi Kebijakan UMKM dalam Menumbuhkan Iklim Usaha Pengrajin di Kabupaten Ogan Ilir	FISIP	48.000.000
106	Dr. Andries Lionardo, S.IP., M.Si.	1. Dr. Muhammad Husni Thamrin, M.Si. 2. Sylvie Agustina, S.I.P., M.A.P.	Pengaruh Kualitas Pelayanan Tanda Tangan Berbasis Digital Terhadap Kinerja Pemerintahan Kecamatan Alang Alang Lebar Kota Palembang Provinsi Sumatera Selatan	FISIP	43.000.000

No	Nama Ketua	Nama Anggota	Judul Penelitian	Fakultas	Dana yang disetujui (Rp)
107	Dr. Raniasa Putra, S.I.P., M.Si.	1. Prof. Dr. Kiagus Muhammad Sobri, M.Si. 2. Azhar, S.H., MSc., LL.M., LL.D.	Model Pengaruh Efektifitas Pengawasan Account Representative Berbasis Local Wisdom Terhadap Kualitas Pelayanan Pembayaran PPH Pasal 25/29 Berbasis Digital oleh Wajib Pajak Badan di Wilayah Kerja Kantor Pelayanan Pajak Pratama Palembang	FISIP	42.000.000
108	Nurhidayatulloh, S.H.I., S.Pd., S.H., LL.M., M.H., M.H.I.	1. Rd. Muhammad Ikhsan, S.H., M.H. 2. Helena Primadianti, S.H., M.H.	Transboundary Haze-Free Asean by 2020 An Implementation on The Development of The Athp	HUKUM	50.000.000
109	Dr. Febrian, S.H., M.S.	1. Vegitya Ramadhani Putri, S.H., S.Ant., M.A., LL.M. 2. Lusi Apriyani, S.H., LL.M.	Evaluasi Terhadap Pembentukan Peraturan Desa Sebagai Wujud Self-Governing dalam Implementasi Desentralisasi di Sumatera Selatan	HUKUM	52.000.000
110	Dr. Hj. Annalisa Y, S.H., M.Hum.	1. Drs. H. Murzal, S.H., M.Hum. 2. Dr. M. Syaifuddin, S.H., M.Hum.	Kepastian Hukum Kewenangan Notaris: Model Reformulasi Hukum Pembuatan Surat Kuasa Memasang Hipotek dan Akta Hipotek Pesawat Udara	HUKUM	50.000.000
111	Dr. Mada Apriandi, S.H., MCL	1. Zulhidayat, S.H., M.H. 2. Vegitya Ramadhani Putri, S.H., S.Ant., M.A., LL.M.	Konflik Agraria Struktural pada Sektor Perkebunan di Sumatera Selatan	HUKUM	52.000.000
<b>Jumlah</b>					<b>5.725.000.000</b>



Rektor

ANIS SAGGAFF  
NIP 196210281989031002

**PROPOSAL**

**HIBAH UNGGULAN KOMPETITIF  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**



**EFEKTIVITAS ANTI INFLAMASI DAUN KARAMUNTING (*Rhodomirtus tomentosa (Ait.) Hassk*) TERHADAP KERUSAKAN SEL BETA PANKREAS DAN EFEK PROTEKTIF TERHADAP KOMPLIKASI NEFROPATI DIABETIKA MELALUI HAMBATAN RAGE (RECEPTOR ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS) PADA TIKUS MODEL DIABETES**

**Tim Peneliti:**

**Dr. dr. Muhammad Irsan Saleh, M.Biomed  
NIP. 196609291996011001**

**dr. Nita Parisa, M.Bmd  
NIP. 198812132014042001**

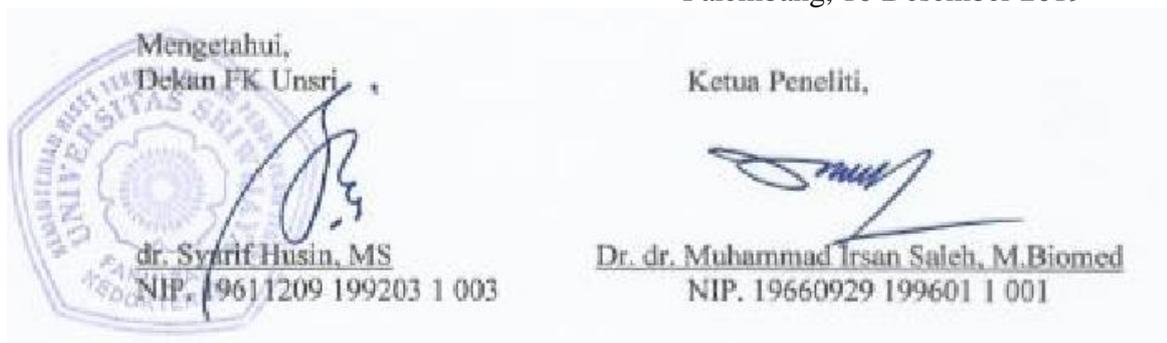
**dr. Ela Amalia, M.Kes  
NIP. 198410142010122007**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2019**

## HALAMAN PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : Efektivitas Anti Inflamasi Daun Karamunting (*Rhodomyrtus Tomentosa (Ait.) Hassk*) Terhadap Kerusakan Sel Beta Pankreas Dan Efek Protektif Terhadap Komplikasi Nefropati Diabetika Melalui Hambatan Ages (*Receptor Advanced Glycation Endproducts*) Pada Tikus Model Diabetes
2. Bidang Penelitian : Kedokteran
3. Ketua Peneliti
  - a. Nama Lengkap : Dr. dr. Muhammad Irsan Saleh, M.Biomed
  - b. Jenis Kelamin : Laki-laki
  - c. NIP : 196609291996011001
  - d. Pangkat dan Golongan : Penata Tingkat I /III/d
  - e. Jabatan Struktural : Wakil Dekan II FK Unsri
  - f. Jabatan Fungsional : Lektor
  - g. Perguruan Tinggi : Universitas Sriwijaya
  - h. Fakultas/Jurusan : Kedokteran/ Biomedik
  - i. Alamat Kantor : Jln. Dr. Moh. Ali Komp. RSMH Palembang 30126
  - j. Telpon/Fax : 0711 352342
  - k. Alamat Rumah : Jl. Sukabangun I Kompleks Sarjana Blok B No. 1263
  - l. Telpon/HP/Faks/E-mail : [081219191635/irsan\\_saleh\\_hasani@yahoo.com](mailto:081219191635/irsan_saleh_hasani@yahoo.com)
4. Jangka Waktu Penelitian : 2 tahun
5. Jumlah Biaya Dusulkan : Rp 150.000.000,-
  - i. Tahun Pertama : Rp 75.000.000,-
  - ii. Tahun Kedua : Rp 75.000.000,-

Palembang, 10 Desember 2019



Menyetujui,  
Ketua LPPM Unsri

Prof. Dr. Ir. H. Muhammad Said, M.Sc  
NIP. 19610812 198703 1 003

## IDENTITAS DAN URAIAN UMUM PENELITIAN

1. Judul Penelitian : Efektivitas Anti Inflamasi Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) Terhadap Kerusakan Sel Beta Pankreas Dan Efek Protektif Terhadap Komplikasi Nefropati Diabetika Melalui Hambatan AGEs (*Receptor Advanced Glycation Endproducts*) Pada Tikus Model Diabetes

2. Tim Penelitian :

No	Nama Peneliti	Jabatan	Bid. Keahlian	Institusi Asal	Alokasi Waktu
1.	M. Irsan Saleh	Ketua Peneliti	Farmakologi	FK Unsri	5 jam/mg
2.	Nita Parisa	Anggota	Farmakologi	FK Unsri	5 jam/mg
3.	Ela Amalia	Anggota	Mikrobiologi	FK Unsri	5 jam/mg

3. Objek Penelitian : Pankreas, Ginjal, Plasma Darah Tikus

4. Waktu Penelitian : 8 (delapan) bulan

5. Lokasi Penelitian : Laboratorium Bioteknologi FK Unsri  
Laboratorium Animal FK Unsri

6. Temuan yang ditargetkan : Modalitas Terapi Baru dalam Tatalaksana DM

7. Kontribusi : Pengembangan Obat Baru

8. Jurnal Sasaran : Jurnal Internasional

9. Luaran Tambahan : Prosiding

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Diabetes adalah kondisi kronis yang terjadi ketika kadar glukosa darah di atas batas normal. Ini terjadi jika Pankreas tidak menghasilkan cukup insulin atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya (WHO, 2012). Insulin adalah hormon protein yang mengatur gula darah dan dihasilkan oleh sel beta Pankreas. Kondisi hiperglikemia jika dibiarkan dalam jangka panjang, dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai organ tubuh seperti penyakit kardiovaskular, neuropati, nefropati dan gangguan pada retina mata berupa retinopati dan kebutaan.

WHO memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 akan menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. *International Diabetes Federation* (IDF) memprediksi adanya kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 9,1 juta orang pada tahun 2014 menjadi 14,1 juta pada tahun 2035. Data Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 menunjukkan prevalensi diabetes sebesar 10,9%, meningkat dari Riskesdas tahun 2013 dan 2016 masing masing sebesar 6,9% dan 8,5%. Berdasarkan data *International Diabetes Federation* (IDF) tahun 2014, Indonesia menempati peringkat ke-5 di dunia, atau naik dua peringkat dibandingkan dengan tahun 2013 dengan 7,6 juta orang penyandang DM (Decroli, 2019). Saat ini penyakit DM tipe 2 merupakan salah satu penyebab kematian yaitu sekitar 80% pada negara berkembang (Nentwich *et al.*, 2015; David *et al.*, 2017).

Persatuan Ahli Endokrinologi Indonesia (PERKENI) tahun 2016 dan *American Diabetes Association* (ADA) tahun 2019 mengklasifikasi DM menjadi Diabetes mellitus tipe-1, Diabetes mellitus tipe-2, Diabetes mellitus gestasional, dan Diabetes mellitus tipe lain yang dapat terjadi karena defek genetik fungsi sel beta, defek genetik kerja insulin, penyakit endokrin pankreas, endokrinopati, infeksi, imunologi, serta karena obat-obat atau zat kimia dan sindrom genetik (Shahab, 2017).

Sintesis dan sekresi insulin terjadi di dalam sel beta. Proses ini melibatkan beberapa komponen yang berperan dalam sintesis untuk menghasilkan insulin dan menyekresikannya ke luar sel. Pada keadaan tertentu komponen-komponen tersebut dapat mengalami disfungsi dan

mengakibatkan terjadinya penyakit. Masalah yang dapat terjadi pada sintesis insulin antara lain: 1) ketidakmampuan pulau-pulau Langerhans untuk menghasilkan insulin dan 2) adanya stres pada RE yang melibatkan *the un-folded protein response* (UPR). Ketidakmampuan pulau-pulau Langerhans untuk menghasilkan insulin mengakibatkan insulin yang keluar dari sel beta dan beredar di dalam darah berkurang atau bahkan tidak ada sama sekali (Banjarnahor, 2012).

Penurunan fungsi Pankreas menyebabkan berkurangnya produksi insulin. Hal tersebut akan menyebabkan peningkatan glukosa di luar sel dan menyebabkan ketidakmampuan glukosa untuk masuk ke dalam sel sehingga menimbulkan hiperglikemia. Peningkatan glukosa yang terus menerus di luar sel akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif pada sel yang diaktivasi oleh produk glikosilasi glukosa pada sel-sel yang dikenal sebagai *advanced glycation endproducts* atau disingkat AGEs yang berikatan pada reseptornya yang disebut *Receptor Advanced Glycation Endproducts* (RAGE), termasuk pada sel beta Pankreas. Stress oksidatif akan menyebabkan aktivasi dari *cascade* inflamasi, berupa aktivasi sitokin proinflamasi; TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ , yang akan diikuti oleh aktivasi berbagai sitokin dan kemokin, sehingga akan menyebabkan aktivasi *death receptor* dan akan diikuti dengan aktivasi apoptosis sel. Apoptosis (kematian sel secara terprogram) sel akan menyebabkan semakin berkurangnya produksi sel beta Pankreas, yang selanjutnya akan diikuti dengan berkurangnya produksi insulin. Pendekatan untuk memutus rantai stress oksidatif dan inflamasi merupakan potensi *promising* untuk dikembangkan sebagai modalitas terapi baru guna mencegah tahap kerusakan lebih lanjut dari Diabetes melitus.

Pemahaman akan mekanisme kerusakan sel beta Pankreas akibat AGEs pada penderita DM, dapat mengantarkan kepada perlunya tatalaksana pemberian anti oksidan sebagai terapi farmakologis dan upaya pengembangan antibodi terhadap reseptor AGEs yang dapat melakukan *blocking* terhadap RAGE sehingga mencegah dan menghambat kerusakan sel beta Pankreas sehingga dapat mempertahankan fungsi Pankreas untuk menghasilkan insulin. Antioksidan alami tersedia melimpah di Indonesia salah satunya adalah tanaman perdu Karamunting.

Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hsck.) merupakan tanaman yang tumbuh dengan panjang hingga 12 kaki, bunganya berwarna putih pucat, berdiameter 2,5-3 cm, dan setiap bunga memiliki 5 kelopak (Hamid, 2017), telah digunakan masyarakat Kalimantan dan Thailand Selatan untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti Diabetes mellitus, diare, luka bakar, dan sakit perut (Hasibuan *et al.*, 2015).

Tumbuhan Karamunting ini mengandung senyawa triterpenoid/steroid, alkaloid, dan flavonoid, karbohidrat, dan saponin (Geetha *et al.*, 2012). Kandungan metabolit sekunder yang

berhasil diisolasi dari karamunting antara lain flavonoid berupa senyawa combetrol, cyanidin 3-galaktosa, quercetin, myricetin, dan lain sebagainya (Hamid *et al.*, 2017).

Pemberian ekstrak air daun Karamunting pada dosis 100 mg/kg memberikan efek terbaik dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes yang diinduksi aloksan (Hasibuan *et al.*, 2015). Sedangkan penelitian pada fraksi air daun Karamunting terhadap mencit model diabetes yang diberikan secara oral dengan dosis 10, 20, dan 40 mg/kgBB menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah secara bermakna ( $p < 0,005$ ) dan dapat memperbaiki berat badan serta volume urine mencit diabetes (Sinata, 2016).

Metabolit sekunder flavonoid memiliki efek sebagai antidiabetik melalui fungsinya sebagai antioksidan. Flavonoid dapat melakukan aktivitas antioksidannya dengan mekanisme mengikat radikal bebas dan/atau dengan menghambat sistem enzimatis yang bertanggung jawab untuk pembentukan radikal bebas. Penelitian Lukacinova *et al.*, 2008 memperlihatkan bahwa senyawa Quercetin yang juga merupakan salah satu flavonoid yang ditemukan dalam Karamunting dapat meningkatkan sekresi insulin melalui mekanisme kerjanya sebagai antioksidan yang menangkal radikal bebas.

Pada penelitian sebelumnya peneliti telah mengembangkan antibodi poliklonal anti RAGE merupakan antibodi anti RAGE yang diproduksi secara biomolekular dan bersifat antagonis terhadap RAGE. Inaktivasi RAGE terbukti mampu menghambat komplikasi retinopati pada tikus Wistar model diabetes (Saleh I, 2018). Pemberian antibodi anti RAGE diharapkan mampu menghambat aktivasi stress oksidatif dan *cascade* inflamasi pada Pankreas sehingga menghambat progresifitas perjalanan penyakit Diabetes. Penelitian ini merupakan penelitian tahun pertama yang berupaya untuk eksplorasi peran RAGE pada sel beta pankreas tikus putih model Diabetes, sekaligus mengeksplorasi pengaruh ekstrak air daun Karamunting terhadap kadar glukosa dan kadar insulin plasma.

## **1.2. Rumusan Masalah**

1. Apakah fraksi air daun Karamunting (*Rhodomirtus tomentosa (Ait.) Hassk.*) efektif dibandingkan Glibenclamide terhadap penurunan kadar gula darah dan meningkatkan kadar insulin tikus diabetes?
2. Apakah terdapat pengaruh antibodi anti RAGE terhadap ekspresi ROS pada Pankreas tikus putih model diabetes?
3. Apakah terdapat pengaruh antibodi anti RAGE terhadap ekspresi sitokin proinflamasi (TNF Alpha dan IL-6) pada Pankreas tikus putih model diabetes?

4. Apakah terdapat pengaruh antibodi anti RAGE terhadap ekspresi AGEs pada ginjal tikus putih model diabetes?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan Umum**

Mengetahui efektivitas fraksi air daun Karamunting (*Rhodomertus tomentosa* (Ait.) Hassk.) terhadap kadar glukosa dan insulin serta mengetahui peran AGEs dalam kerusakan Pankreas.

#### **1.3.2. Tujuan Khusus**

- a. Mengukur kadar glukosa sebelum dan setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomertus tomentosa* (Ait.) Hassk.)
- b. Menilai dosis efektif fraksi air daun Karamunting (*Rhodomertus tomentosa* (Ait.) Hassk.) terhadap kadar glukosa plasma pada tikus putih jantan model diabetes.
- c. Mengukur kadar insulin plasma sebelum dan setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomertus tomentosa* (Ait.) Hassk.)
- d. Menilai dosis efektif fraksi air daun Karamunting (*Rhodomertus tomentosa* (Ait.) Hassk.) terhadap kadar insulin plasma pada tikus putih jantan model diabetes
- e. Mengukur kadar AGEs sebelum dan setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomertus tomentosa* (Ait.) Hassk.)
- f. Membandingkan ekspresi RAGE pada ginjal tikus putih setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomertus tomentosa* (Ait.) Hassk.)
- g. Mengukur kadar TNF alfa dan IL-6 sebelum dan setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomertus tomentosa* (Ait.) Hassk.)
- h. Membandingkan ekspresi RAGE pada ginjal tikus putih setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomertus tomentosa* (Ait.) Hassk.)

### **1.4. Manfaat Penelitian**

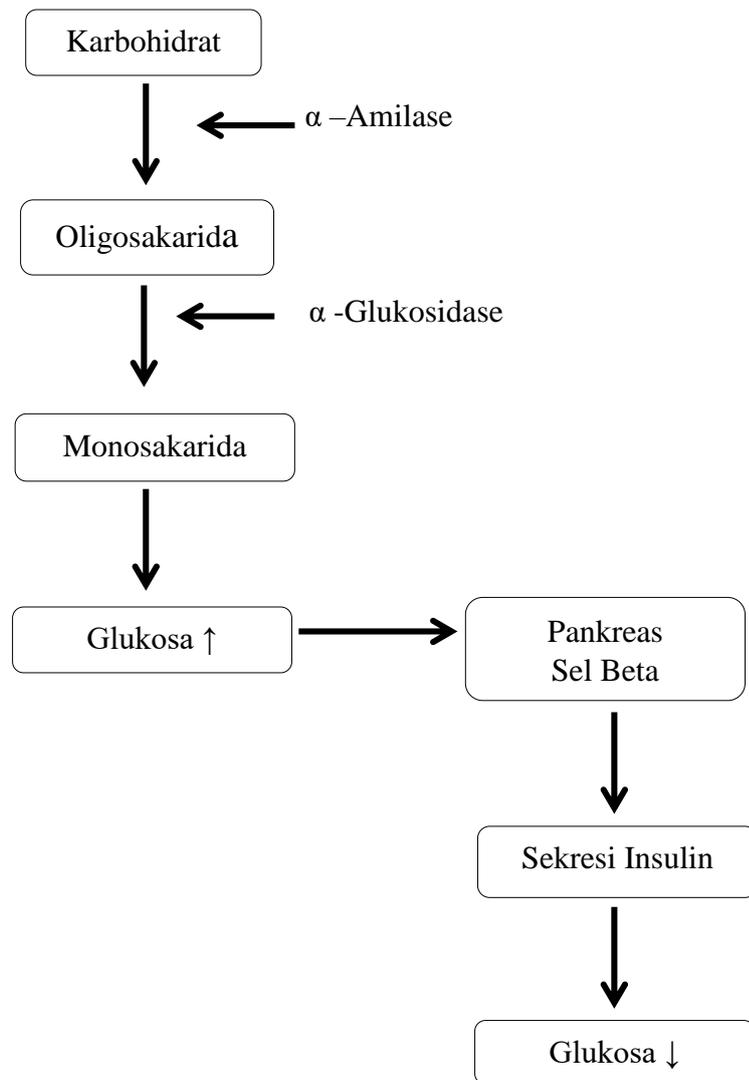
#### **1.5.1. Manfaat Teoritis**

Memberikan dasar ilmiah dari penggunaan daun karamunting sebagai obat Diabetes Mellitus

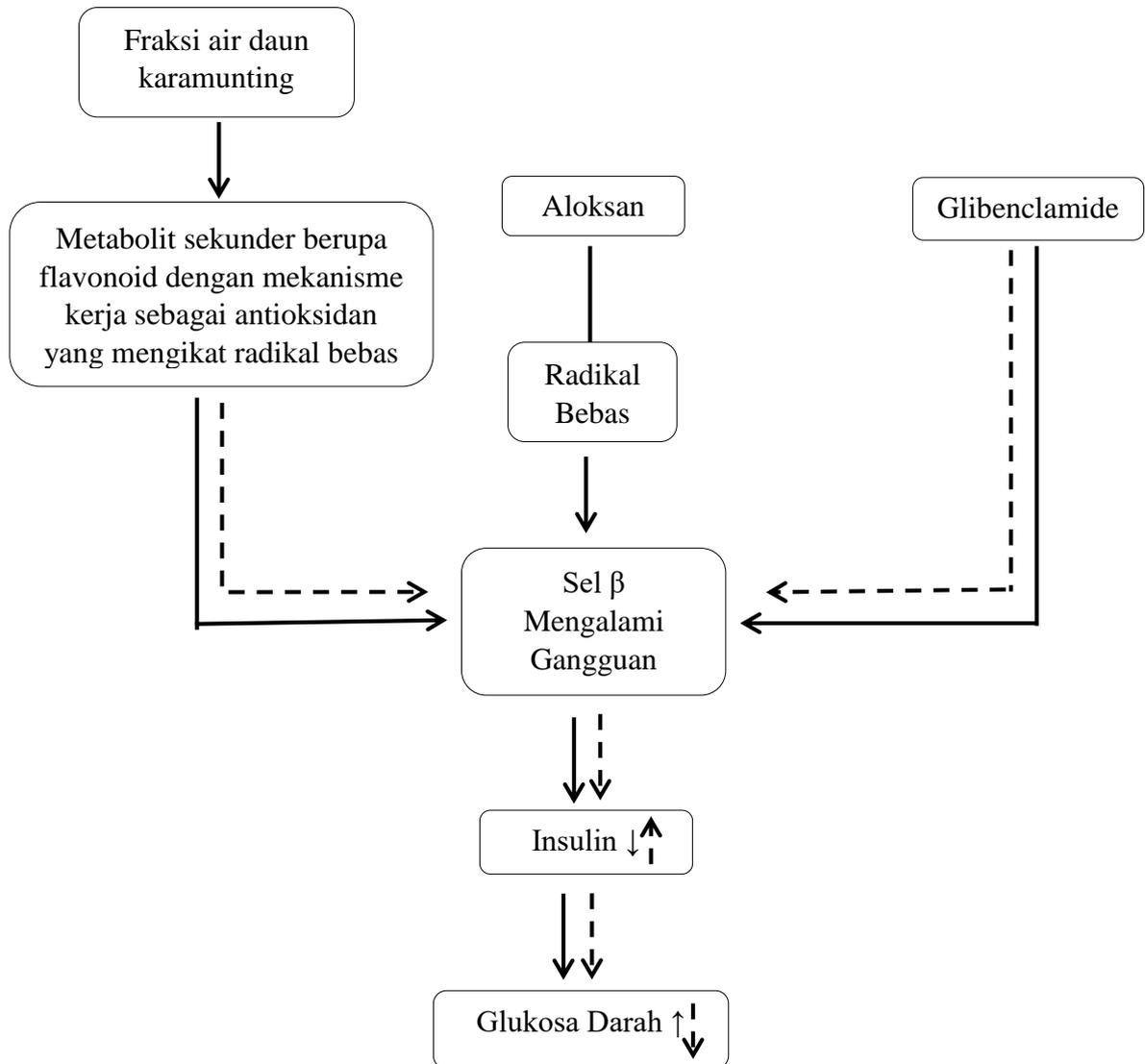
#### **1.5.2. Manfaat Praktis**

Memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat tanaman yang dipakai sebagai pengobatan alternatif pada Diabetes Mellitus

## Kerangka Teori



## Kerangka Konsep



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Diabetes Mellitus**

##### **2.1.1 Definisi Diabetes Mellitus**

Diabetes mellitus selanjutnya disingkat DM merupakan sekelompok metabolik kronik progresif yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah (hiperglikemia) dengan etiopatologi heterogen meliputi defek sekresi, aksi insulin atau keduanya (WHO, 2019; ADA, 2019). Penyakit ini dapat ditandai dengan gejala antara lain: poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan. Apabila kadar gula darah sewaktu  $>200$  mg/dl dan kadar gula darah puasa  $\geq 126$  mg/dl, maka sudah cukup untuk dijadikan patokan dalam menegakkan diagnosa Diabetes mellitus.

##### **2.1.2 Klasifikasi Diabetes**

###### **2.1.2.1 Diabetes Mellitus tipe-1 / Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM)**

Diabetes mellitus tipe-1 adalah penyakit autoimun endokrin yang menyebabkan kerusakan pada sel beta pankreas, sehingga terjadi defisiensi insulin secara absolut. Penyakit ini terjadi pada 5-10% pada semua kasus diabetes. Pada DM tipe-1 ini diperlukan hormon pengganti insulin eksternal untuk menormalkan kembali kadar glukosa darah. Manifestasi klinik yang timbul dari penyakit ini adalah terjadinya hiperglikemia dan ketoasidosis. Selain karena autoimun, DM tipe 1 ini juga dapat disebabkan oleh virus, diantaranya virus *Cocksakie*, *Rubella*, *Cytomegalo virus*, *Herpes*, dan lain sebagainya (WHO, 2019).

###### **2.1.2.2 Diabetes Mellitus Tipe 2 / Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM)**

Pada diabetes mellitus tipe 2, patofisiologi utama yang mendasarinya adalah resistensi insulin dan disfungsi sel beta pankreas. Insulin tidak dapat bekerja secara optimal di sel otot, lemak, dan hati sehingga memaksa pankreas untuk memproduksi insulin lebih banyak. Ketika produksi insulin oleh sel beta pankreas tidak adekuat guna mengkompensasi peningkatan resistensi insulin, maka kadar glukosa darah akan meningkat, pada saatnya akan terjadi hiperglikemia kronik (WHO, 2019; Decroli, 2019).

Secara klinis, makna resistensi insulin adalah adanya konsentrasi insulin yang lebih tinggi dari normal yang dibutuhkan untuk mempertahankan kondisi normoglikemia. Pada tingkat seluler, resistensi insulin terlihat dari kemampuan yang tidak adekuat dari *insulin signaling* mulai dari pre-reseptor, reseptor, dan post reseptor. Secara molekuler beberapa faktor

yang diduga terlibat dalam patogenesis resistensi insulin antara lain, perubahan pada protein kinase B, mutasi protein *Insulin Receptor Substrate* (IRS), peningkatan fosforilasi serin dari protein IRS, *Phosphatidylinositol 3 Kinase* (PI3 Kinase), protein kinase C, dan mekanisme molekuler dari inhibisi transkripsi gen IR (*Insulin Receptor*) (Decroli, 2019)

Sebelum diagnosis DM tipe-2 ditegakkan, sel beta Pankreas masih dapat memproduksi insulin secukupnya untuk mengkompensasi peningkatan resistensi insulin. Pada saat diagnosis DM tipe-2 ditegakkan, sel beta Pankreas tidak dapat memproduksi insulin yang adekuat untuk mengkompensasi peningkatan resistensi insulin oleh karena pada saat itu fungsi sel beta Pankreas yang normal tinggal 50%.

Sel beta pankreas merupakan sel yang sangat penting diantara sel lainnya seperti sel alfa, sel delta, dan sel jaringan ikat pada pankreas. Disfungsi sel beta pankreas terjadi akibat kombinasi faktor genetik dan faktor lingkungan. Jumlah dan kualitas sel beta pankreas dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain proses regenerasi dan kelangsungan hidup sel beta itu sendiri, mekanisme selular sebagai pengatur sel beta, kemampuan adaptasi sel beta ataupun kegagalan mengkompensasi beban metabolik dan proses apoptosis sel.

Pada orang dewasa, sel beta memiliki waktu hidup 60 hari. Pada kondisi normal, 0,5 % sel beta mengalami apoptosis namun hal ini diimbangi dengan proses replikasi dan neogenesis. Dalam keadaan normal, jumlah sel beta relatif konstan sehingga jumlah sel beta dipertahankan pada kadar optimal selama masa dewasa. Seiring dengan bertambahnya usia, jumlah sel beta akan menurun karena proses apoptosis melebihi replikasi dan neogenesis. Hal ini menjelaskan mengapa orang tua lebih rentan terhadap terjadinya DM type 2. Selain itu ada beberapa organ yang berperan dalam menimbulkan gangguan toleransi glukosa pada Diabetes mellitus tipe-2 antara lain jaringan lemak (meningkatnya lipolisis), gastrointestinal (defisiensi incretin), sel alfa pankreas (hiperglukagonemia), ginjal (peningkatan absorpsi glukosa), dan otak (resistensi insulin).

Patogenesis DM tipe-2 secara umum dapat disebabkan oleh 8 hal (*ominous octet*) sebagai berikut :

1. Kegagalan sel beta pankreas:

Pada saat diagnosis DM tipe-2 ditegakkan, fungsi sel beta sudah sangat berkurang. Obat anti diabetik yang bekerja melalui jalur ini adalah sulfonilurea, meglitinid, GLP-1 agonis dan DPP-4 inhibitor.

2. Liver:

Pada penderita DM tipe-2 terjadi resistensi insulin yang berat dan memicu gluconeogenesis sehingga terjadi peningkatan produksi glukosa dalam keadaan basal oleh liver yang disebut

sebagai *hepatic glucose production* (HGB). Obat yang bekerja melalui jalur ini adalah metformin, yang menekan proses glukoneogenesis.

### 3. Otot:

Pada penderita DM tipe-2 didapatkan gangguan kinerja insulin yang multipel di intramioselular, akibat gangguan fosforilasi tirosin sehingga timbul gangguan transpor glukosa dalam sel otot, penurunan sintesis glikogen, dan penurunan oksidasi glukosa. Obat yang bekerja di jalur ini adalah metformin, dan tiazolidindion.

### 4. Sel lemak:

Sel lemak yang resisten terhadap efek antilipolisis dari insulin, menyebabkan peningkatan proses lipolisis dan kadar asam lemak bebas (FFA=*Free Fatty Acid*) dalam plasma. Peningkatan FFA akan merangsang proses glukoneogenesis, dan mencetuskan resistensi insulin di *liver* dan otot. FFA juga akan mengganggu sekresi insulin. Gangguan yang disebabkan oleh FFA ini disebut sebagai *lipotoxocity*. Obat yang bekerja di jalur ini adalah tiazolidindion.

### 5. Usus:

Glukosa yang ditelan memicu respon insulin jauh lebih besar dibanding kalau diberikan secara intravena. Efek yang dikenal sebagai efek incretin ini diperankan oleh 2 hormon GLP-1 (*glucagon-like polypeptide-1*) dan GIP (*glucose-dependent insulinotropic polypeptide* atau disebut juga *Gastric Inhibitory Polypeptide*). Pada penderita DM tipe-2 didapatkan defisiensi GLP-1 dan resisten terhadap GIP. Disamping hal tersebut incretin segera dipecah oleh keberadaan enzim DPP-4, sehingga hanya bekerja dalam beberapa menit. Obat yang bekerja menghambat kinerja DPP-4 adalah kelompok DPP-4 inhibitor.

Saluran pencernaan juga mempunyai peran dalam penyerapan karbohidrat melalui kinerja enzim alfa-glukosidase yang memecah polisakarida menjadi monosakarida yang kemudian diserap oleh usus dan berakibat meningkatkan glukosa darah setelah makan. Obat yang bekerja untuk menghambat kinerja enzim alfa-glukosidase adalah *Acarbose*.

### 6. Sel alfa Pankreas:

Sel- $\alpha$  pancreas merupakan organ ke-6 yang berperan dalam hiperglikemia dan sudah diketahui sejak 1970. Sel- $\alpha$  berfungsi dalam sintesis glukagon yang dalam keadaan puasa kadarnya di dalam plasma akan meningkat. Peningkatan ini menyebabkan HGP dalam keadaan basal meningkat secara signifikan dibandingkan individu yang normal. Obat yang menghambat

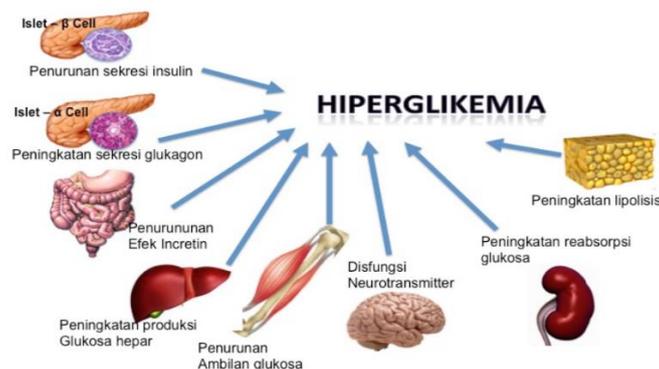
sekresi glucagon atau menghambat reseptor glukagon meliputi GLP-1 agonis, DPP-4 inhibitor dan *Amylin*.

### 7. Ginjal:

Ginjal merupakan organ yang diketahui berperan dalam patogenesis DM tipe-2. Ginjal melakukan filtrasi sekitar 163 gram glukosa per-hari. Sembilan puluh persen dari glukosa terfiltrasi ini akan diserap kembali melalui peran SGLT-2 (*Sodium Glucose co- Transporter*) pada bagian *convulated tubulus proksimal*. Sedang 10% sisanya akan di absorpsi melalui peran SGLT-1 pada tubulus desenden dan ascenden, sehingga akhirnya tidak ada glukosa dalam urine. Pada penderita DM terjadi peningkatan ekspresi gen SGLT-2. Obat yang menghambat kinerja SGLT-2 ini akan menghambat penyerapan kembali glukosa di tubulus ginjal sehingga glukosa akan dikeluarkan lewat urin. Obat yang bekerja di jalur ini adalah SGLT-2 inhibitor. Dapaglifozin adalah salah satu contoh obatnya.

### 8. Otak :

Insulin merupakan penekan nafsu makan yang kuat. Pada individu yang obes baik yang DM maupun non-DM, didapatkan hiperinsulinemia yang merupakan mekanisme kompensasi dari resistensi insulin. Pada golongan ini asupan makanan justru meningkat akibat adanya resistensi insulin yang juga terjadi di otak. Obat yang bekerja di jalur ini adalah GLP-1 agonis, Amylin dan Bromokriptin (Perkeni, 2015).



Gambar 2.1 *The Ominous Octet*, 8 organ yang berperan pada pathogenesis DM tipe-2 (Perkeni, 2015).

### 2.1.2.3 Diabetes Mellitus Gestational

Diabetes Mellitus Gestasional (GDM) atau *Gestational Diabetes Mellitus* adalah keadaan diabetes atau intoleransi glukosa yang timbul selama masa kehamilan, dan biasanya berlangsung hanya sementara atau temporer. Sekitar 4-5% wanita hamil diketahui menderita GDM, dan umumnya terdeteksi pada atau setelah trimester kedua. Diabetes dalam masa

kehamilan, walaupun umumnya kelak dapat pulih sendiri beberapa saat setelah melahirkan, namun dapat berakibat buruk terhadap bayi yang dikandung. Akibat buruk yang dapat terjadi antara lain malformasi kongenital, peningkatan berat badan bayi ketika lahir dan meningkatnya risiko mortalitas perinatal. Disamping itu, wanita yang pernah menderita GDM akan lebih besar risikonya untuk menderita lagi diabetes di masa depan. Kontrol metabolisme yang ketat dapat mengurangi risiko-risiko tersebut.

### **2.1.3 Terapi Obat Hipoglikemik**

Pada Diabetes mellitus tipe-1, terapi insulin merupakan satu keharusan. Adanya kerusakan pada sel-sel  $\beta$  Langerhans kelenjar Pankreas, sehingga tidak lagi dapat memproduksi insulin. Sebagai penggantinya, maka penderita DM tipe-1 harus mendapat insulin eksogen untuk membantu agar metabolisme karbohidrat di dalam tubuhnya dapat berjalan normal. Walaupun sebagian besar penderita DM tipe 2 pada awalnya tidak memerlukan terapi insulin, namun hampir 30% ternyata memerlukan terapi insulin di samping terapi obat hipoglikemik oral.

Obat-obat hipoglikemik oral terutama ditujukan untuk membantu penanganan pasien DM tipe-2. Pemilihan obat hipoglikemik oral yang tepat sangat menentukan keberhasilan terapi diabetes. Bergantung pada tingkat keparahan penyakit dan kondisi pasien, farmakoterapi hipoglikemik oral dapat dilakukan dengan menggunakan satu jenis obat atau kombinasi dari dua jenis obat. Pemilihan dan penentuan regimen hipoglikemik yang digunakan harus mempertimbangkan tingkat keparahan diabetes (tingkat glikemia) serta kondisi kesehatan pasien secara umum termasuk penyakit-penyakit lain dan komplikasi yang ada (Katzung, 2017).

#### **2.1.3.1 Penggolongan Obat Hipoglikemik Oral**

Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat hipoglikemik oral (OHO) dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu:

- a) Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan Sulfonilurea dan Glinida (Meglitinida dan turunan Fenilalanin).
- b) Sensitiser insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitifitas sel terhadap insulin), meliputi obat-obat hipoglikemik golongan Biguanida dan Tiazolidindion, yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara lebih efektif.

- c) Inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain inhibitor  $\alpha$ -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia post-prandial (*post-meal hyperglycemia*). Disebut juga “*starch-blocker*”.

#### **2.1.3.1.1 Golongan Sulfonilurea**

Sulfonilurea telah digunakan untuk pengobatan DM tipe-2 sejak tahun 1950-an. Obat ini digunakan sebagai terapi farmakologis pada awal pengobatan diabetes dimulai, terutama bila konsentrasi glukosa darah tinggi. Obat yang tersedia meliputi Sulfonilurea generasi pertama (Asetoheksimid, Klorpropramid, Tolbutamid, Tolazamid), generasi kedua (Glipizid, Glikazid, Glibenklamid, Glikuidon, Gliklopiramid), dan generasi ketiga (Glimepiride).

Sulfonilurea generasi pertama sudah sangat jarang digunakan karena efek hipoglikemi yang terlalu hebat. Obat golongan sulfonilurea mempunyai efek hipoglikemi yang tidak sama. Hal ini tergantung pada kekuatan ikatan antara obat dengan reseptornya di membran sel, contohnya Glibenklamid; efek hipoglikemi dan ikatan antara Glibenklamid dengan reseptornya lebih kuat daripada golongan Glimepiride oleh karena ikatan Glimepirid dengan reseptornya tidak sekuat ikatan glibenklamid (Decroli, 2019).

Golongan Sulfonilurea generasi II dan generasi III yang mempunyai waktu paruh pendek dan metabolisme lebih cepat. Meski masa paruhnya pendek, yaitu 3-5 jam, efek hipoglikeminya berlangsung 12-24 jam. Sehingga cukup diberikan satu kali sehari. Karena hampir semua Sulfonilurea dimetabolisme di hepar dan diekskresi melalui ginjal, sediaan ini tidak boleh diberikan pada pasien DM tipe-2 dengan gangguan fungsi hepar atau gangguan fungsi ginjal yang berat. Glikuidon mempunyai efek hipoglikemi sedang dan jarang menimbulkan serangan hipoglikemi. Glikuidon diekskresi melalui empedu dan usus, maka dapat diberikan pada pasien DM tipe-2 dengan gangguan fungsi hati dan gangguan fungsi ginjal yang tidak terlalu berat (Decroli, 2019).

#### **2.1.3.1.2 Golongan Biguanida**

Obat hipoglikemik oral golongan Biguanida bekerja langsung pada hati (hepar), menurunkan produksi glukosa hati. Senyawa-senyawa golongan biguanida tidak merangsang sekresi Insulin, dan hampir tidak pernah menyebabkan hipoglikemia. Satu-satunya senyawa Biguanida yang masih dipakai sebagai obat hipoglikemik oral saat ini adalah Metformin. Metformin masih banyak dipakai di beberapa negara termasuk Indonesia, karena frekuensi terjadinya asidosis laktat cukup sedikit asal dosis tidak melebihi 1700 mg/hari dan tidak ada gangguan fungsi ginjal dan hati (Katzung, 2017).

Pada pasien diabetes yang gemuk, Metformin dapat menurunkan BB. Metformin akan diabsorpsi di usus kemudian masuk ke dalam sirkulasi, di dalam sirkulasi Metformin tidak terikat protein plasma, ekskresinya melalui urin dalam keadaan utuh. Masa paruhnya adalah sekitar 2 jam. Penggunaan Metformin aman pada usia lanjut karena tidak mempunyai efek hipoglikemi. Namun metformin dikontraindikasikan pada pasien dengan gangguan fungsi ginjal dengan LFG  $\leq$  30 mL/min/1.73 m (Decroli, 2019).

#### **2.1.3.1.3 Golongan Inhibitor Alpha Glukosidase**

Senyawa-senyawa inhibitor  $\alpha$ -glukosidase bekerja menghambat enzim alfa glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Enzim-enzim  $\alpha$ -glukosidase (Maltase, Isomaltase, Glukomaltase dan Sukrase) berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida, pada dinding usus halus. Inhibisi kerja enzim ini secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa *post prandial* pada penderita diabetes. Senyawa inhibitor  $\alpha$ -glukosidase juga menghambat enzim  $\alpha$ -amilase Pankreas yang bekerja menghidrolisis polisakarida di dalam lumen usus halus. Obat ini merupakan obat oral yang biasanya diberikan dengan dosis 150-600 mg/hari. Obat ini efektif bagi penderita dengan diet tinggi karbohidrat dan kadar glukosa plasma puasa kurang dari 180 mg/dl. Obat-obat inhibitor  $\alpha$ -glukosidase dapat diberikan sebagai obat tunggal atau dalam bentuk kombinasi dengan obat hipoglikemik lainnya. Obat ini umumnya diberikan dengan dosis awal 50 mg dan dinaikkan secara bertahap sampai 150-600 mg/hari. Dianjurkan untuk memberikannya bersama suap pertama setiap kali makan.

Efek samping obat ini adalah perut kurang enak, lebih banyak flatus dan kadang-kadang diare, yang akan berkurang setelah pengobatan berlangsung lebih lama. Obat ini hanya mempengaruhi kadar glukosa darah pada waktu makan dan tidak mempengaruhi kadar glukosa darah setelah itu. Bila diminum bersama-sama obat golongan Sulfonilurea (atau dengan Insulin) dapat terjadi hipoglikemia yang hanya dapat diatasi dengan glukosa murni, jadi tidak dapat diatasi dengan pemberian gula pasir. Obat ini umumnya diberikan dengan dosis awal 50 mg dan dinaikkan secara bertahap, serta dianjurkan untuk memberikannya bersama suap pertama setiap kali makan (Ditjen Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2005). Obat-obatan yang termasuk dalam golongan alpha glukosidase inhibitor ini antara lain Acarbose dan Maglitol (Katzung, 2017).

#### **2.1.3.1.4 Golongan Tiazolidinedion**

Tiazolidinedion menurunkan produksi glukosa di hepar dan menurunkan kadar asam lemak bebas di plasma. Tiazolidinedion dapat menurunkan kadar HbA1c (1-1.5 %), meningkatkan HDL, efeknya pada trigliserida dan LDL bervariasi. Pada pemberian oral, absorpsi tidak dipengaruhi oleh makanan. Efek samping Tiazolidinedion antara lain peningkatan berat badan, edema, menambah volume plasma, dan memperburuk gagal jantung kongestif. Edema sering terjadi pada penggunaan kombinasi Tiazolidinedion bersama Insulin. Selain pada pasien dengan penyakit hepar, penggunaan Tiazolidinedion juga tidak dianjurkan pada pasien dengan gagal jantung kongestif kelas 3 dan 4 menurut klasifikasi *New York Heart Association*.

Pemakaian Glitazone juga dikontraindikasikan pada pasien dengan gangguan hati berat, sehingga penggunaannya dihentikan apabila terdapat kenaikan enzim hati lebih dari tiga kali nilai normal. Penggunaannya pada usia lanjut tidak dianjurkan (Decroli, 2019). Senyawa golongan Tiazolidinedion bekerja meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin dengan jalan berikatan dengan PPAR $\gamma$  (*peroxisome proliferator activated receptor-gamma*) di otot, jaringan lemak, dan hati untuk menurunkan resistensi insulin. Senyawa-senyawa TZD juga menurunkan kecepatan glikoneogenesis. Rosiglitazone dan Pioglitazon adalah contoh obat hipoglikemik oral golongan tiazolidinedion (Katzung, 2017).

#### **2.1.3.1.4 Golongan Meglitinida dan Turunan Fenilalanin**

Obat-obat hipoglikemik oral golongan Glinida ini merupakan obat hipoglikemik generasi baru yang cara kerjanya mirip dengan golongan Sulfonilurea. Kedua golongan senyawa hipoglikemik oral ini bekerja meningkatkan sintesis dan sekresi insulin oleh kelenjar Pankreas. Umumnya senyawa obat hipoglikemik golongan Meglitinida dan turunan Fenilalanin ini dipakai dalam bentuk kombinasi dengan obat-obat antidiabetik oral lainnya. Contoh obat antidiabetik oral golongan ini adalah Repaglinida dan Nateglinida (Katzung, 2017).

#### **2.1.4 Terapi Non Farmakologis**

Pada pengelolaan pasien DM tipe-2 sejak awal harus direncanakan terapi non farmakologis dan pertimbangan terapi farmakologis. Hal yang paling penting pada terapi non farmakologis adalah monitor sendiri kadar glukosa darah dan pendidikan berkelanjutan tentang penatalaksanaan diabetes pada pasien. Latihan jasmani secara teratur (3-4 kali seminggu selama 30 menit/kali), merupakan salah satu pilar dalam pengelolaan DM tipe-2. Kegiatan

sehari-hari seperti berjalan kaki ke pasar, menggunakan tangga, dan berkebun harus tetap dilakukan.

Latihan jasmani selain untuk menjaga kebugaran juga dapat menurunkan berat badan dan memperbaiki sensitivitas insulin sehingga akan memperbaiki kendali glukosa darah. Latihan jasmani yang dianjurkan adalah berupa latihan jasmani yang bersifat aerobik seperti jalan kaki, bersepeda santai, jogging, dan berenang. Latihan jasmani sebaiknya disesuaikan dengan umur dan status kesegaran jasmani. Untuk mereka yang relatif sehat, intensitas latihan jasmani bisa ditingkatkan. Sementara bagi mereka yang sudah mengalami komplikasi DM, intensitas latihan jasmani dapat dikurangi.

Terapi nutrisi medis dilaksanakan dalam beberapa tahap. Pengenalan sumber dan jenis karbohidrat, pencegahan dan penatalaksanaan hipoglikemia harus dilakukan terhadap pasien. Terapi nutrisi medis ini bersifat individu. Secara umum, terapi nutrisi medis meliputi upaya-upaya untuk mendorong pola hidup sehat, membantu kontrol gula darah, dan membantu pengaturan berat badan (Decroli, 2019).

## **2.2 Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait) Hassk)**

### **2.2.1 Morfologi Karamunting dan Klasifikasi**

Tumbuhan Karamunting merupakan perdu berkayu dengan tinggi mencapai 4 meter, menyerupai semak. Letak daun bersilang berhadapan dan tulang daun tiga dari pangkal, bentuk daun oval, ujung dan pangkal meruncing, tepi daun rata, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun kasar karena memiliki rambut-rambut halus. Panjang daun 5-7 cm dan lebarnya sekitar 2 -3 cm. Bunga berwarna merah muda keunguan, bentuk majemuk dengan kelopak berlekatan, mahkota bunga lima, putik satu dan kepala putik berbintik hijau. Buah muda berwarna hijau dengan bagian atas dihiasi helai menyerupai kelopak dengan warna yang senada dan bakal buah dengan ruang empat sampai enam. Setelah matang, buah akan berubah menjadi ungu dengan rasa yang manis. Sistem perakaran tunggang, kokoh di bawah permukaan tanah (Sutomo *et al.*, 2010).

#### **Klasifikasi Tumbuhan Karamunting (Tanjung, 2018)**

Kingdom:     Plantae  
Division:    Spermatophyta  
Kelas:       Magnoliopsida  
Ordo:        Mytrales  
Famili:       Myrtaceae  
Genus:       Rhodomyrtus

Spesies: *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk



(A)

(B)

Gambar 2.6 Daun dan Bunga Karamunting (A), Daun dan Buah Karamunting (B) (Hasibuan, 2017).

### 2.2.2 Kandungan Kimia

Tumbuhan Karamunting mengandung senyawa triterpenoid/steroid, alkaloid dan flavonoid (Geetha *et al.*, 2012). Selain itu, dilaporkan juga bahwa simplisia daun Karamunting mengandung katekol, tannin, dan aleuron (Sutomo, 2010). Sedangkan pada simplisia buah karamunting yang diekstrak dengan metanol kemudian dilakukan pemurnian lebih lanjut menggunakan HPLC dan kromatografi kolom menghasilkan identifikasi enam *anthocyanin* utama, termasuk cyanidin-3-O-glukosida, peonidin-3-O-glukosida, malvidin-3-O-glukosida, petunidin-3-O-glukosida, delphinidin-3-O-glukosida, dan pelargonidin-3-O-glukosida, selain itu ekstrak karamunting juga mengandung metabolit sekunder rhodomyrtoson, tomentoson, cyanidin, myricetin dan quercetin (Hamid *et al.*, 2017).

### 2.2.3 Khasiat Tumbuhan Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk)

Sebagai antidiare, antidiabetes, obat luka bakar, dan sakit perut (Sutomo, 2010), mengobati gangguan kulit, menstruasi, sebagai antiinflamasi, dan anti malaria (Hasibuan, 2015), antibakteri, antioxidant (Hamid *et al.*, 2017).

## 2.3 Insulin

Protein Insulin manusia tersusun atas 51 asam amino dengan berat molekul 5808 Da yang berbentuk dimer dalam dua rantai (A dan B) dihubungkan oleh jembatan disulfida (Katzung, 2017).

Gen yang menyandi protein insulin yang terletak pada kromosom 11. Gen ini sudah diekspresikan di dalam sel beta Pankreas dan terbentuk dari untaian DNA yang mencakup daerah ekson dan intron. Pada manusia gen insulin memiliki tiga ekson yang terpisah oleh dua intron. Ekson 1 dan 2 mengode bagian mRNA yang tidak mengalami translasi, ekson 2 mengode sinyal peptida (P) dan rantai B, ekson 2 dan 3 mengode peptida C, dan ekson 3 mengode rantai A ditambah bagian mRNA yang tidak mengalami translasi.

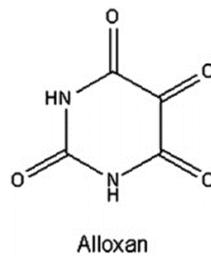
Sekresi insulin dari sel-sel beta pulau Langerhans diatur oleh sejumlah faktor, tetapi sinyal stimulasi yang dominan ialah peningkatan glukosa darah yang terjadi dengan mengonsumsi makanan yang mengandung karbohidrat. Selain glukosa yang merangsang terjadinya sekresi insulin pada sel beta secara langsung, hal ini dimungkinkan juga oleh fungsi potensial dari efektor lainnya seperti asam lemak bebas, asam amino, dan hormon inkretin (glucagon-like peptide-1, GLP-1). Kesemuanya ini memerlukan tingkat ambang glukosa tertentu (biasanya 6 mM) untuk dapat berefek. Peningkatan glukosa darah menginduksi peningkatan metabolisme glukosa dalam sel beta, sehingga terjadi peningkatan produksi ATP melalui beberapa sumber: glikolisis, oksidasi glukosa mitokondria, dan pengangkutan aktif ekuivalen reduksi dari sitosol ke rantai transpor elektron mitokondria (Banjarnahor, 2012).

#### **2.4 Aloksan**

Aloksan merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil secara cepat dapat merusak pankreas. Mekanisme kerjanya diawali pengambilan cepat oleh sel beta Pankreas. Selanjutnya, aloksan mengalami siklus reduksi menjadi asam dialurat yang kemudian teroksidasi menjadi aloksan. Aloksan dan asam dialurat ini menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida yang selanjutnya mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida yang reaksinya berjalan spontan dan kemungkinan dikatalisis oleh superoksida dismutase. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas Selain itu akibat aloksan, terjadi gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler.

Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas pada sel beta pankreas yang melalui mekanisme influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, dan eliminasi yang terbatas dari sitoplasma. Influks kalsium mengakibatkan depolarisasi sel beta Pankreas yang kemudian membuka kanal kalsium dan semakin menambah masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain kedua faktor tersebut di atas, aloksan juga diduga

berperan dalam penghambatan glukokinase dalam proses metabolisme energi (Ighodaro *et al.*, 2017).



Gambar 2.6 Struktur Kimia *Alloxan* (Lenzen, 2008).

## 2.5 Peranan RAGE Pada Diabetes

Hiperglikemia bertanggung jawab untuk 3 mekanisme patogenik dalam pembentukan produk akhir glikasi lanjut atau *advanced glycation endproducts* (AGEs), meningkatkan diasilgliserol, dan meningkatkan stress oksidatif, semuanya bertanggung jawab dalam peningkatan protein kinase C (PKC). AGEs adalah molekul yang terbentuk dari reaksi non enzimatis untuk mengurangi gula dengan kelompok bebas amino dari protein, lipid, dan asam nukleat. Produk awal tersebut (misal, prekursor AGE) bersifat reversibel, tergantung pada konsentrasi glukosa.

Konsentrasi glukosa yang tinggi akan menyebabkan pembentukan AGEs yang ireversibel, yang menimbulkan kerusakan seluler karena dapat berikatan silang dengan protein lain (protein *membrane basement*, protein matriks seluler, dan komponen dinding pembuluh darah), mengubah fungsi protein. Selain itu, AGE dapat berikatan dengan beberapa reseptor, menyebabkan *reuptake* ke dalam sel atau memulai aktivasi seluler dan peristiwa inflamasi oksidatif. PKC juga menstimulasi produksi faktor pertumbuhan mirip insulin, yang berhubungan dengan kerusakan mikrovaskuler dan, merusak sawar darah retina (Gadd *et al.*, 2010).

Bersamaan atau setelah, terjadinya aktivasi PKC maka akan terjadi stimulasi VEGF, yang penting untuk angiogenesis, selain meningkatkan permeabilitas vaskuler. Perlu diperhatikan, VEGF adalah suatu komponen endogen yang sangat menguntungkan. Efeknya secara normal diseimbangkan oleh faktor antiangiogenik. Kondisi diabetik mendestabilisasi keseimbangan antar kekuatan tersebut, yang memuluskan jalan untuk dimulainya neovaskularisasi. VEGF meningkat dalam cairan okuler pasien dengan penyakit yang

mempunyai ciri hiperpermeabilitas dan neovaskularisasi, seperti pada retinopati diabetik (Amano *et al.*, 2003).

Hipoksia menstimulasi produksi VEGF mRNA. Pada beberapa model binatang untuk iskemia, ekspresi VEGF berkorelasi dengan neovaskularisasi. VEGF merupakan salah satu mediator kunci dari hiperpermeabilitas vaskuler dan neovaskularisasi. VEGF menstimulasi protein kinase C (PKC) dalam kondisi iskemia. PKC juga terstimulasi oleh beberapa mekanisme patogenetika lain dalam kondisi hiperglikemik, terciptanya AGE, peningkatan diasilgliserol, dan peningkatan stress oksidatif. PKC adalah bagian dari sistem pembawa pesan kedua seluler, yang menghasilkan perubahan ekspresi gen dan fungsi protein (Amano *et al.*, 2003).

Hiperglikemia menyebabkan aktivasi jalur polioliol, peningkatan formasi *advanced glycation end products* (AGEs), aktivasi diasilgliserol dari protein kinase C, dan peningkatan perlintasan glukosa pada jalur heksosamin. Mekanisme yang sama dapat terjadi di otak dan menimbulkan perubahan pada fungsi kognitif yang terdeteksi pada pasien dengan diabetes. Mencit diabetik (HbA1c 32% vs. 12% pada mencit kontrol) yang menunjukkan gangguan kognitif ditemukan mengalami peningkatan ekspresi RAGE pada neuron dan sel glial serta kerusakan pada substansia alba dan myelin, menunjukkan kemungkinan adanya peran RAGE dalam perkembangan disfungsi serebral (Waisbourd *et al.*, 2011).

Hiperglikemia akibat diabetes memindahkan glukosa ke arah produksi khitin, maka kemungkinan akumulasi molekul tersebut dapat berperan pada abnormalitas kognisi. Hiperglikemia juga menyebabkan kerusakan organ akhir melalui peningkatan pada spesies oksigen reaktif (ROS), terutama superoksida, yang kemudian dapat mengakibatkan peningkatan aktivasi jalur polioliol, peningkatan formasi AGE, aktivasi protein kinase C, dan peningkatan perlintasan glukosa pada jalur heksosamin. Faktor transkripsi faktor nuklir B, sebuah penanda gen proinflamasi yang di-up-regulasi oleh AGE, dan protein S-100, suatu penanda cedera otak yang dapat berikatan dengan RAGE, keduanya di-up-regulasi di dalam hipokampus pada percobaan binatang. Data menunjukkan bahwa stress oksidatif dapat memicu kaskade kerusakan neuronal (Jampol *et al.*, 2012).

Mekanisme inflamasi yang mendasari patologi vaskuler pada DM terjadi pada vaskular perifer dan sistem saraf pusat. Pembentukan produk akhir glikasi lanjut (AGEs) melalui glikasi protein darah merupakan konsekuensi dari hiperglikemia, dan mengakibatkan penurunan fungsi ginjal dan patologi pembuluh darah kecil. Akumulasi AGE dapat menginduksi inflamasi vaskuler melalui interaksi antara AGE dan reseptor spesifik AGE (RAGE). Aktivasi AGE dari RAGE endotel mendorong upregulasi molekul adhesi endotel termasuk molekul adhesi sel

vaskuler-1 (VCAM-1) dan mengaktifkan faktor transkripsi faktor inti- B (NF-KB). VCAM-1 meningkatkan adhesivitas monosit dan permeabilitas vaskuler sedangkan NF-KB meregulasi berbagai gen target proinflamatorik dan proatherosklerotik pada sel endotel dan sel otot polos vaskuler juga pada makrofag (Bhitsitkul *et al.*, 2012).

Glikasi non enzimatis antara glukosa dan asam amino akan membentuk akumulasi *advanced glycation endproducts* (AGE). Adanya peningkatan 1% AGE akan memberi peluang terjadinya komplikasi mikrovaskuler sebesar 37%.

*Advanced glycation end products* akan menghasilkan berbagai efek merugikan melalui berbagai mekanisme. Pertama, pembentukan AGEs yang terjadi pada matriks ekstraseluler akan menyebabkan terjadinya ekspansi matriks dan selanjutnya akan menyempitkan lumen pembuluh darah. Kedua, pembentukan AGEs yang terjadi pada intraseluler akan menginduksi stres oksidatif dan meningkatkan produksi anion superoksida pada mitokondria. Ketiga, AGEs yang berinteraksi dengan reseptornya (RAGE) akan mengaktifkan kaskade proinflamasi, protrombosis dan profibrosis (Waisbourd *et al.*, 2011). Akumulasi AGE dalam jaringan akan menimbulkan berbagai efek merugikan, terutama jika AGEs berikatan dengan ligannya yaitu RAGE (Waisbourd *et al.*, 2011).

Pembentukan AGEs yang cepat dan terus meningkat merupakan salah satu kelainan biokimia utama awal mula kelebihan pembentukan oksigen reaktif dari induksi hiperglikemia mitokondria pada species. AGEs berinteraksi dengan RAGE, *menginduksi pro-inflammatory, pro-adhesive*, dan signal perangsang pertumbuhan. Kerusakan pembuluh darah retina dalam diabetes mencerminkan perubahan permanen baik pada aktivitas transkripsi endothelial-born serta pada konsekuensi *intimate cellular cross-talk* dengan *pericytes* seperti pada respon terhadap luka ketika aktivasi glial. Dengan demikian, regulasi seluler pembentukan RAGE dalam diabetes dapat menyebabkan konsekuensi langsung pada komunikasi antar sel, termasuk peristiwa proliferasi dan apoptosis (Bhitsitkul *et al.*, 2012; Nentwich MM, 2015 ; David JB, 2010)

Ikatan AGEs-RAGE mampu menginduksi disfungsi endotelium dan menyebabkan hiperpermeabilitas. Pada tingkat seluler, ikatan AGEs-RAGE dapat menginduksi aktivasi dan translokasi nuklear dari NF-KB, merupakan faktor transkripsi yang mampu merespon terhadap molekul adhesi pada endotel ataupun leukosit, yang akan menginisiasi terjadinya atherosklerosis dan gangguan vaskuler lainnya. Aktivasi NF-KB juga akan menginduksi aktivasi dari sitokin-sitokin proinflamasi. Aktivasi NF-KB juga berperan pada terjadinya apoptosis, karena menyebabkan peningkatan faktor proapoptosis *bax (bax-caspase protease pathway)*. Ekspresi RAGE tergantung dengan jumlah NF-KB, yang merupakan respon umpan

balik positif terhadap peningkatan ekspresi RAGE melalui interaksi AGE-RAGE (Bhitsitkul *et al.*, 2012).

## 2.6 Peranan VEGF Pada Diabetes

*Vascular Endothelial Growth Factors* (VEGF) adalah bagian dari *Growth Factor* yang berfungsi sebagai sinyal protein untuk kedua vaskulogenesis (pembentukan *de novo* dari sistem peredaran darah embrio) dan angiogenesis (pertumbuhan pembuluh darah dari pembuluh darah yang sudah ada). VEGF disekresikan terutama dari epitel pigmen retina sel, pericytes, astrosit, sel Müller, sel glial, dan sel-sel endotel. VEGF memiliki beberapa anggota termasuk VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D dan *placental growth factors* (PGF). Sekresi VEGF terutama dipicu oleh keadaan hipoksia atau iskemia jaringan pada retina yang diakibatkan oleh mikroangiopati pada penderita DM.

Semua anggota VEGF merangsang respon seluler dengan mengikat reseptor kinase tirosin pada permukaan sel endotel, yang menjadikan molekul-molekul VEGF berdimerisasi dan menjadi aktif melalui jalur transfosforilasi. VEGF-A memiliki dua jenis reseptor: VEGF reseptor 1 (VEGFR-1 atau Flt-1) dan 2 (VEGFR-2 atau KDR). Pada manusia, VEGFR-1 adalah protein yang dikodekan oleh gen Flt-1 dan VEGFR-2 adalah *Kinase Domain Receptors* (KDR, tipe III reseptor tirosin kinase) yang dikodekan oleh gen KDR. VEGFR-2 tampaknya menjadi reseptor utama yang berperan dalam hampir semua respon seluler untuk VEGF-A. Reseptor VEGF memiliki tiga bagian: bagian yang ekstraseluler terdiri dari tujuh domain yang menyerupai imunoglobulin, satu rentang transmembran tunggal yang bersifat hidrofobik, dan bagian intraseluler mengandung sebuah pecahan domain tyrosine kinase. Ketika molekul VEGF mengikat bagian ekstraseluler dari reseptor VEGF, bagian intraseluler menyebabkan fosforilasi residu asam amino tirosin dan sinyal seluler tertransduksi. transduksi pada gilirannya ini menyebabkan riam jalur sinyal intraselular. Salah satu jalur yang diinduksi dalam sel dengan VEGF adalah protein kinase C (PKC) jalur. Jalur lainnya berkontribusi angiogenesis oleh sintesis oksida nitrat dan induksi proliferasi sel (Bhitsitkul *et al.*, 2012).

VEGF merupakan faktor penting patogenesis PDR dan DME, mempengaruhi permeabilitas kapiler retina dengan meningkatkan fosforilasi protein yang terlibat dengan *tight-junction* seperti seperti zonula occludens. Induksi VEGF mangaktifkan *mitogen-activated protein* (MAP), yang mengakibatkan proliferasi sel endotel. Kaskade ini bertepatan dengan aktivasi jalur *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3)/Akt setelah induksi VEGFR-2.

VEGF-A merangsang sel-sel endotel untuk melepaskan matriks metaloproteinase (MMP) dan urokinase-type plasminogen activator, yang mengakibatkan degradasi membran basement dan membuat migrasi sel memungkinkan. Sel endotel yang diaktifkan menghasilkan

integrin seperti  $\alpha\beta3$  dan  $\alpha\beta5$ , yang membantu dalam migrasi melalui matriks yang terdegradasi. Proliferasi dan migrasi sel endotel yang diikuti oleh sintesis membran basement untuk membentuk kapiler baru. Stabilitas kapiler ini dicapai dengan perekrutan pericytes dan sel-sel otot polos yang diatur oleh *platelet-derived growth factor* (PDGF) (Petrovic *et al.*, 2005).

## **2.7. Mekanisme Biologis AGEs**

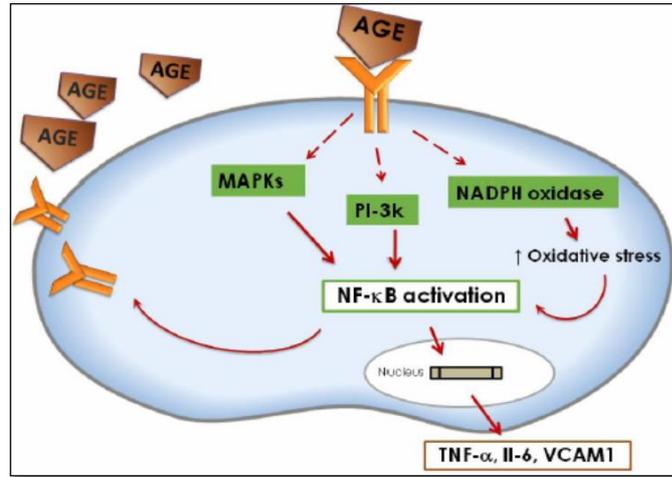
Penelitian menunjukkan bahwa AGEs, endogen maupun eksogen, bersifat merusak. Efek biologis AGEs terjadi melalui 2 mekanisme yang berbeda. Pertama adalah reaksi yang tidak tergantung reseptor, yaitu secara langsung menyebabkan perubahan struktur dan fungsi protein plasma dan matriks ekstraselular. Kedua adalah melalui reseptor yang disebut RAGE, yang akan meningkatkan stres oksidatif dan reaksi inflamasi (Ramprasad *et al.*, 2007).

AGEs/ALEs dapat memodifikasi kolagen dan protein lain dengan membentuk ikatan silang. Protein yang berumur panjang, seperti protein matriks ekstraselular dan membran basal pembuluh darah, paling rentan terhadap modifikasi AGEs. Penelitian telah menunjukkan bahwa penuaan manusia berhubungan dengan kekakuan jaringan yang kaya matriks ekstraselular dan protein berumur panjang, seperti otot rangka, tendon, sendi, tulang, jantung, arteri, paru, kulit, lensa mata dan myelin saraf. Pembentukan ikatan silang ini akan mengganggu kapasitas mekanik dari jaringan-jaringan ini (Olmos *et al.*, 2000).

## **2.8. Peran AGEs dan RAGE**

AGEs meningkatkan stres oksidatif dan reaksi inflamasi melalui ikatan dengan reseptor AGEs, yang disebut Reseptor-AGE (RAGE). RAGE adalah suatu molekul immunoglobulin pada permukaan sel yang merupakan *multiligand receptor*, yang ditemukan pada banyak jaringan tubuh. RAGE paling banyak ditemukan di jantung, paru dan otot rangka. Jalur signal RAGE dapat diaktivasi oleh banyak *ligand* proinflamasi, termasuk *N-Carboxymethyl-lysine* (CML). Interaksi AGE dengan RAGE akan menyebabkan aktivasi jalur *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs) dan *phosphatidylinositol-3 kinase* (PI3-K), yang kemudian akan mengaktivasi faktor transkripsi *nuclear factor kappa betha* (NFKB).

Setelah aktivasi, NFKB bergerak ke nucleus dan mengaktifkan transkripsi gen-gen untuk sitokin-sitokin, faktor-faktor pertumbuhan dan molekul-molekul adhesif, seperti TNF- $\alpha$ , IL-6 dan VCAM1. Aktivasi NFKB akan meningkatkan ekspresi RAGE, yang selanjutnya akan merangsang siklus yang meningkatkan produksi faktor-faktor pencetus inflamasi, sehingga terjadi inflamasi berkepanjangan (Sugasthalakshmi *et al.*, 2006).



Gambar 4. Proses selular dan sitokin-sitokin yang teraktivasi dengan adanya interaksi AGEs-RAGE.

Interaksi AGE-RAGE juga akan mengaktivasi NADPH oksidase, suatu kompleks enzim yang menghasilkan superoksida. Peningkatan aktivitas kompleks enzim ini akan meningkatkan stress oksidatif intraselular. Peningkatan stress oksidatif oleh NADPH oksidase selanjutnya juga akan mengaktifkan NFKB. Ekspresi RAGE pada jaringan normal adalah rendah, dan akan meningkat pada tempat-tempat dimana ada akumulasi ligand. Ekspresi RAGE yang berkepanjangan oleh sel-sel otot polos, endothelium, sel-sel mononuklear, dan sel-sel lain yang berada disekitar ligand, mengakibatkan aktivasi kronik inflamasi, disfungsi selular berkepanjangan, kerusakan jaringan dan pada akhirnya penyakit (Awata *et al.*, 2002).

## 2.9 Terapi Anti – AGEs

Akibat buruk dari AGEs dapat dihindari dengan mencegah penumpukan AGEs di jaringan dan mengatasi reaksi inflamasi dan oksidatif stress yang ditimbulkan oleh AGEs. Restriksi kalori, diet rendah glikotoksin, dan penggunaan bahan-bahan yang bekerja sebagai AGE inhibitor dan AGE breaker, dapat mencegah pembentukan dan penumpukan AGEs di jaringan tubuh.

Aminoguanidin adalah AGE-inhibitor yang pertama dan paling dikenal. Aminoguanidin menghambat gugus karbonil reaktif dari gula pereduksi dan sebagai *scavenger* senyawa intermediat  $\alpha$ -dikarbonil. Aminoguanidin juga mencegah terjadinya *cross-linking*, tapi aktivitas hambatannya terhadap pembentukan AGE *post-amadori* hanya sedikit.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa efek inhibisi antioksidan dalam pembentukan AGE terutama karena efek pencegahan terhadap jalur auto-oksidasi. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa konsumsi polifenol, terutama kelompok flavonoid, dapat menurunkan risiko penyakit-penyakit kronik, termasuk keganasan, penyakit kardiovaskular dan neurodegenerasi (Lorenzi *et al.*, 2007). Hong Y dan Song C melakukan penelitian dimana 30-40% peningkatan ekspresi RAGE dan VEGF dapat mempengaruhi komplikasi dari retinopati diabetik. Untuk mengurangi komplikasi pada retinopati diabetik maka untuk mengetahui

### Peta Jalan Penelitian

#### “ Peran RAGE (*Receptor Advanced Glycation Endproducts*) Terhadap Respons Inflamasi dan Stres Oksidatif Pankreas Pada Tikus Putih Model Diabetes Melitus “

2020-2022					Uji Safety dan Formulasi
2020-2021				Penelitian Hibah Unggulan Kompetitif “Peran anti RAGE untuk Diabetes Melitus”	
2018-2019			Penelitian Hibah Unggulan Kompetitif “Peran anti RAGE terhadap Inflamasi Retinopati”		
2017		Penelitian Hibah Unggulan Kompetitif “Peran anti RAGE untuk Retinopati”			
2016	Penelitian Hibah Unggulan Kompetitif “Produksi Anti RAGE”				
<b>Luaran</b>	Publikasi Jurnal Nasional Terakreditasi	Publikasi Jurnal Internasional	Publikasi Jurnal Internasional	<b>Publikasi Internasional</b>	Prosiding Seminar Int'l

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test only with control group design* untuk menilai Efektivitas Anti Inflamasi Daun Karamunting (*Rhodomirtus tomentosa (Ait.) Hassk*) Terhadap Kerusakan Sel Beta Pankreas Dan Efek Protektif Terhadap Komplikasi Nefropati Diabetika Melalui Hambatan AGEs (*Receptor Advanced Glycation Endproducts*) Pada Tikus Model Diabetes

#### **3.2 Tempat dan Waktu Peneliti**

Penelitian ini dilakukan pada tikus model diabetes dan diteruskan pemeriksaan parameter laboratorik yang akan dilaksanakan pada bulan Februari-September 2020. Penelitian dilakukan di Laboratorium Animal, Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya Palembang.

#### **3.3 Sampel Penelitian**

##### **3.3.1 Populasi dan Sampel**

Populasi adalah tikus jantan *Rattus norvegicus strain* Wistar. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

- Kriteria inklusi:
  - tikus wistar jantan umur minimal 2 bulan
  - berat badan 180 – 200 gram
  - sehat dan bersih.
  - dikeluarkan oleh lembaga yang bersertifikat
- Kriteria eksklusi :
  - tikus dengan kelainan anatomi
  - tikus yang tampak sakit/sekarat
  - tikus yang mati sebelum penelitian.

### 3.3.2 Besar Sampel Penelitian

Pengambilan subjek penelitian sebanyak 30 ekor tikus yang dilakukan secara *random sampling*. Jumlah sampel dan tiap kelompok perlakuan akan dihitung menggunakan rumus Federer  $(n-1)(t-1) \geq 15$ .

dengan

n = jumlah sampel

t = jumlah kelompok

maka :

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$N \geq 4,25$$

$$N \approx 5 \text{ ekor/kelompok}$$

### 3.3.3 Cara Pengambilan Sampel

Pada penelitian ini, cara pengambilan sampel yang dipakai adalah dengan cara acak dari tikus yang telah diinduksi dengan Alloxan.

## 3.4 Variabel Penelitian

### 1. Variabel Dependent

- kadar gula darah preinduksi
- Kadar Insulin plasma
- Kadar TNF- $\alpha$  dan IL-6
- Kadar AGEs
- Ekspresi RAGE di Ginjal, Pankreas dan Otak

### 2. Variabel Independent

- Kontrol negatif (-) Na CMC
- Kontrol positif (+) Glibenclamide
- Fraksi Air Daun karamunting dosis 100mg/kgBB
- Fraksi Air Daun karamunting dosis 200mg/kgBB
- Fraksi Air Daun karamunting dosis 400mg/kgBB
- Antibodi RAGE

### 3.5 Definisi operasional

No.	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Kadar glukosa darah	Kadar gula darah yang diukur dari darah yang diambil dari ekor tikus	Glucod-DR	Tes gula darah menggunakan tes strip	mg/dL	Rasio
2.	Kadar insulin plasma	Kadar insulin plasma yang diukur dari darah yang diambil dari arteri orbitalis tikus	ELISA	Insulin diukur dari plasma darah tikus	U/mg	Rasio
3.	Kadar TNF- $\alpha$	Kadar TNF- $\alpha$ plasma yang diukur dari darah yang diambil dari arteri orbitalis tikus	ELISA	TNF- $\alpha$ diukur dari plasma darah tikus	U/mg	Rasio
		Kadar TNF- $\alpha$ Pankreas diukur dari jaringan Pankreas Tikus	IHK	TNF- $\alpha$ diukur dari homogenat jaringan Pankreas yang diekstraksi	Digital Image Analysis dengan software ImageJ	Ratio
4.	Kadar IL-6	Kadar IL-6 plasma yang diukur dari darah yang diambil dari arteri orbitalis tikus	ELISA	IL-6 diukur dari plasma darah tikus	U/mg	Rasio
		Kadar IL-6 Pankreas diukur dari jaringan Pankreas Tikus	IHK	IL-6 diukur dari homogenat jaringan Pankreas yang diekstraksi	Digital Image Analysis dengan software ImageJ	Ratio
5.	Kadar AGEs	Kadar AGEs plasma yang diukur dari	ELISA	AGEs berupa diukur dari	U/mg	Rasio

		darah yang diambil dari arteri orbitalis tikus		plasma darah tikus		
6.	Ekspresi RAGE Pankreas	Kadar RAGE diukur dari Pankreas tikus	IHK	RAGE diukur dari homogenat jaringan Pankreas yang diekstraksi	Digital Image Analysis dengan software ImageJ	Rasio
7.	Ekspresi RAGE Ginjal	Kadar RAGE diukur dari Ginjal tikus	IHK	RAGE diukur dari homogenat jaringan Ginjal yang diekstraksi	Digital Image Analysis dengan software ImageJ	Rasio
8.	Ekspresi RAGE Otak	Kadar RAGE diukur dari Ginjal tikus	IHK	RAGE diukur dari homogenat jaringan Ginjal yang diekstraksi	Digital Image Analysis dengan software ImageJ	Rasio

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 3.6.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah : elisa reader, ELISA Kit Insulin Plasma, TNF- $\alpha$  dan IL-6, Gluco-DR, seperangkat alat *Rotary evaporator*, alat timbangan tikus, spuit, kapas, tisu, sarung tangan, masker, Erlemeyer glass, Beker glass, dll.

#### 3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah :

- a. Daun karamunting yang di ambil di daerah Palembang.
- b. Aloksan Monohidrat
- c. Glibencamide murni yang didapat dari PT. Dexamedica Palembang
- d. Air suling
- e. Etanol 70%
- f. Na CMC

### **3.7 Prosedur kerja**

#### **3.7.1 Pemeliharaan Hewan Coba**

Pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Eksperimental Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya dengan memperhatikan:

1. Tikus dipelihara dalam ruangan yang berventilasi cukup, dikandang masing-masing 2 ekor tikus dengan kandang berukuran 30 x 20 x 20 cm dialaskan dengan serbuk gergaji kayu dilengkapi dengan tempat makan dan tempat minum.
2. Suhu ruangan berkisar 28°-32°C
3. Makanan 2x sehari dan minuman diberikan secara *ad libitum* dalam bentuk pellet dan pakan tikus. Makanan tikus yang baik mengandung protein 20-25%, 5% lemak, karbohidrat 45-45%, serat kasar 5%, abu 4-5%, ditambah vitamin dan mineral setiap hari tikus dewasa diberi makan 12-20gr (Smith, 1988).

#### **3.7.2 Prosedur Pembuatan Fraksi Air Daun Karamunting**

Sebanyak 500 g daun Karamunting di bersihkan dan dicuci sebentar untuk menghilangkan debu yang menempel pada daun. Kering kan, lalu daun karamunting diekstraksi dengan etanol. Kemudian ekstrak etanol daun karamunting di fraksinasi dengan n-heksan dan air dalam corong pisah. Kocok secukupnya, kemudian sampel dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan n-heksan dan air. Lakukan sebanyak 3 kali.

Kemudian lapisan air di fraksinasi dengan etil-asetat, lakukan sebanyak 3 kali sehingga di peroleh lapisan air dan etil-asetat. Setelah itu, ambil semua fraksi air, kemudian diuapkan secara *in vacuo*.

#### **3.7.3 Dosis Pada Fraksi Air Daun Karamunting**

Takaran konversi dosis untuk manusia dengan berat badan 70kg pada tikus dengan BB 200gr menurut tabel konversi Laurance & Bacharah 1964 adalah 0,018, sehingga perhitungan dosis sebagai berikut:

##### **- Dosis Glibenclamide**

Dosis terapi Glibenclamide pada manusia adalah 5 mg. Takaran konversi dosis untuk manusia dengan BB 70 kg pada tikus dengan BB 200 gr adalah 0,018, maka dosis yang dipakai untuk tikus 200 gr adalah  $5 \text{ mg} \times 0,018 = 0,09 \text{ mg}/200 \text{ gr BB}$

- **Dosis fraksi air daun Karamunting 0,1 g/kgBB**

Dosis fraksi air daun Karamunting 250 mg/kgBB untuk tikus 200 gr

$$200/1000 \times 100 = 20 \text{ mg}/200 \text{ gr BB}$$

- **Dosis fraksi air daun Karamunting 0,2 g/kgBB**

Dosis fraksi air daun Karamunting 250 mg/kgBB untuk tikus 200 gr maka  $200/1000 \times 100 =$

$$40 \text{ mg}/200\text{gr BB}$$

- **Dosis fraksi air daun Karamunting 0,4 g/kgBB**

Dosis fraksi air daun Karamunting 250 mg/kgBB untuk tikus 200 gr maka  $200/1000 \times 400 =$

$$80 \text{ mg}/200\text{grBB}$$

- **Dosis Aloksan untuk menimbulkan keadaan tikus diabetes adalah 110 mg/kg BB**

Dosis pada tikus 200gr =  $110 \times 200/1000 \text{ mg} = 22\text{mg}/ 200\text{gr BB}$

### **3.7.4 Pembuatan Larutan Natrium Carboxy Methyl Cellulose (Na CMC) 1%**

- Timbang 2000 mg Na CMC, lalu gerus
- Masukkan air hangat ke dalam mortir (20 x 2 gram = 40 ml)
- Taburkan Na CMC di atas air hangat tadi lalu biarkan sampai mengembang, lalu gerus sampai homogen.

### **3.7.5 Pembuatan Suspensi Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.)**

- Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) 100mg/kg BB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB:
- Timbang masing-masing 120 mg, 240 mg dan 480mg Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) gerus homogen
- Tambahkan larutan Na CMC 1% sedikit demi sedikit
- Gerus homogen sampai terbentuk suspensi masing-masing 50 ml

### **3.7.6 Dosis Induksi aloksan**

Pada penelitian ini untuk menginduksi hiperglikemia pada hewan coba digunakan aloksan. Aloksan yang diberikan merupakan aloksan monohidrat yang akan diinjeksikan dengan cara intraperitoneal. Dosis pemberian aloksan sebanyak 110 mg/kg BB.

### 3.7.7 Suspensi Glibenclamide

Kontrol positif pada penelitian ini menggunakan glibenclamide sebagai obat pembanding dengan dosis 195 mg/kgBB (dosis ini diambil berdasarkan penelitian terdahulu dimana dosis ini dapat menurunkan kadar gula).

Cara Pembuatan Suspensi glibenclamide (0,1%):

Sediaan yang dibuat 50 ml, maka glibenclamide yang dibutuhkan adalah:

- 1) Timbang 50 mg Glibenclamide
- 2) Campurkan massa Na-CMC 1% ke dalam massa Glibenclamide sedikit demi sedikit gerus ad homogen
- 3) Pindahkan kedalam alat ukur 50 ml kemudian tambahkan aquadest sedikit demi sedikit sampai tanda dan dikocok/diaduk sampai homogen.

Prosedur kerjanya sebagai berikut:

- 1) Tikus dipuasakan selama  $\pm 8$ jam tetapi tetap diberi minum
- 2) Dilakukan pengambilan darah setiap kelompok untuk mengetahui kadar glukosa darah puasa normal tikus
- 3) Dilakukan Pengukuran kadar insulin plasma pada darah tikus menggunakan ELISA kit insulin plasma
- 4) Disuntikkan diabetogen berupa aloksan monohidrat dengan dosis 110 mg/kg BB secara intraperitoneal pada setiap kelompok tikus kecuali kelompok 5
- 5) Setelah 3 hari pemaparan, ukur kadar glukosa darah puasa setiap tikus yang diinduksi aloksan. Hewan uji dengan kadar glukosa darah puasa lebih besar dari 180 mg/dl digunakan untuk perlakuan selanjutnya.
- 6) Tikus dengan kadar gula darah puasa lebih dari 180 mg/dl dibiarkan selama 2 minggu dengan akses minum dan makan secara bebas. Pada hari ke-14, diukur kembali kadar gula darah puasa dan kadar insulinnya.
- 7) Kemudian diberi suspensi ekstrak air daun kersen secara oral sebagai berikut:
  - a) Kelompok I diberi suspensi glibenclamide 195 mg/kgBB
  - b) Kelompok II diberi suspensi Fraksi Air Daun Karamunting dengan dosis 100 mg/kgBB
  - c) Kelompok III diberi suspensi Fraksi Air Daun Karamunting dengan dosis 200 mg/kgBB
  - d) Kelompok IV diberi suspensi Fraksi Air Daun Karamunting dengan dosis 400 mg/kgBB

e) Kelompok V hanya diberi suspensi Na CMC 1%

### 3.8 Cara pemeriksaan kadar gula darah 2 jam post prandial

Tikus yang dipuasakan diberikan gula dextrose 10% dan kemudian setelah makan diukur kadar gula darah 2 jam postprandial, hari ke 15 perlakuan

- a. Tikus diinduksi dengan ketamine 10% cc intramuskular
- b. Darah vena diambil dari sinus orbitalis sekitar 1ml dengan menggunakan tabung dan mikro kapiler.
- c. Darah yang keluar ditampung pada tabung dan dilakukan sentrifuge 3000 rpm selama 20 menit. Serum bagian atas diambil 100  $\mu$ l, lalu diperiksa dengan alat Spektrophotometer dengan menggunakan metode GOD-PAP dan didapatkan kadar gula darah tikus putih dengan satuan mg/dl.

### 3.9 Cara pemeriksaan Kadar Insulin plasma

Kadar insulin plasma dinilai setelah proses pengambilan darah dari arteri a tikus dilakukan. Metode yang akan dilakukan adalah ellisa dengan menggunakan elisa kit untuk insulin plasma. Tahapan pemeriksaan sampel:

- a. Pada *well* 1 masukkan 100  $\mu$ l standard solution dan 50  $\mu$ l standard dilution buffer. Pada *well* 2 masukkan 100  $\mu$ l solution dari *well* 1 ditambahkan dengan 50  $\mu$ l standard *dilution buffer*. Selanjutnya 50  $\mu$ l solution dari *well* 2 dibuang. Pada *well* 3 masukkan 50  $\mu$ l *solution* dari *well* 2 ditambah 50  $\mu$ l standard dilution buffer. Pada *well* 4 masukkan 50  $\mu$ l *solution* dari *well* 3 ditambah dengan 50  $\mu$ l *solution* dari *well* 4 kemudian 50  $\mu$ l standar *dilution buffer* lalu dilakukan pembuangan sebanyak 50  $\mu$ l. Setiap pencampuran dilakukan dengan menggunakan *shaker*.
- b. Masukkan 40  $\mu$ l sampel *dilution buffer* dan 10  $\mu$ l (supernatan jaringan) tanpa menyentuh dinding *well*. Lakukan pencampuran dengan mode shaking.
- c. Tutup *plate* dengan pelapis yang sudah tersedia, lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
- d. Lakukan pengenceran dengan *washing buffer* dengan akuadest 30 kali.
- e. Pencucian dilakukan setelah tutup membrane dibuka, lalu dicuci dengan menggunakan *washer ellisa plate* pencucian dilakukan dalam 30 detik setelah pengisian larutan *washing buffer*. Proses pencucian dilakukan sebanyak 5kali.

### 3.10 Evakuasi Pankreas Hewan Coba

Pisahkan kepala tikus putih dari tubuh. Buat insisi pada costa XII. Buka tulang *costae* hewan coba secara hati-hati, jangan sampai merusak jaringan sekitar. Evakuasi Pankreas hewan coba, kemudian masukkan ke dalam PBS dengan volume 10 x dari volume guna dibuat sediaan histologis blok parafin.

### 3.11 Pembuatan Sediaan Histologis

Pembuatan sediaan histologis melalui empat proses yaitu dehidrasi, *clearing embedding*, dan *sectioning*. Proses dehidrasi dilakukan secara bertahap dengan menggunakan alkohol bertingkat, dimulai dari alkohol pada konsentrasi 70%, 80%, 95% hingga sampai ke tingkat alkohol absolut (99%) dan alkohol-toluene.

Volume alkohol sepuluh kali volume jaringan. Pada masing-masing konsentrasi, jaringan sampel dimasukkan selama 15 menit, masing-masing konsentrasi diulang sebanyak 3 kali. Proses *clearing* menggunakan larutan *Xylol (Xylene)*. Jaringan sampel dimasukkan ke dalam larutan *xylol* selama 30 menit hingga jaringan sampel berubah warna menjadi agak kekuningan.

Selanjutnya, jaringan sampel dimasukkan ke toluene-parafin jenuh selama 12 jam, kemudian masukkan ke parafin cair, lalu dilakukan *embedding*. Pemotongan jaringan sampel dilakukan dengan *rotary sectioning*.

### 3.12 Pemeriksaan Imunohistokimia TNF alpha, IL-6 dan ROS

Adapun langkah untuk imunohistokimia :

#### I. Deparafinisasi

- Xylene                      2 x 10 menit
- Ethanol absolut        2 x 5 menit
- Ethanol 90%            1 menit
- Ethanol 80%            1 menit
- Ethanol 70%            1 menit

#### II. Bloking peroksidase

- 0,3% peroksida        15 menit
- Cuci dengan akuades
- Cuci dengan PBS      3 x 5 menit

#### III. Antigen Retrieval

- Antigen retrieval dengan pemanasan dalam citric buffer 4 x 5 menit
  - Dinginkan sampai mencapai suhu kamar
  - Cuci dengan PBS 3 x 5 menit
- IV. Bloking non spesifik binding
- Ultra V Blok 10 menit
- V. IHC staining proper
- Antibodi primer anti VEGF dan RAGE 1:1000 dalam PBS 10 menit
  - Cuci dengan PBS 3 x 5 menit
  - Biotynilated link antibody 10 menit
  - Cuci dengan PBS 3 x 5 menit
  - Streptavidine peroksidase 10 menit
  - Cuci dengan PBS 3 x 5 menit
- VI. Pewarnaan
- DAB chromogen (1:50 dalam substrate) 15 menit
  - Cuci dengan akuadest
- VII. Counterstain
- Hematoxylin selama 15-20 detik
  - Cuci dengan air mengalir
- VIII. Dehidrasi
- Ethanol 50%
- Ethanol 70%
- Ethanol 80%
- Ethanol 90%
- Ethanol 95%
- Ethanol absolute
- Xylene I,II,III selama 3 x 3 menit
- IX. Mounting

### 3.13 Penilaian Aktivitas Sitokin Inflamasi dan Stres Oksidatif dengan *Digital Image Analysis*

Aktivitas akan dinilai pada area retina dengan imunohistokimia. *Digital image analysis* digunakan untuk menganalisis aktivitas protein dengan program imagej. Selanjutnya, akan dilakukan penilaian persentase area yang terwarnai oleh TNF alpha, IL-6, dan ROS.

### 3.14 Analisis Statistika

Analisis statistika dilakukan dengan program SPSS 16. Untuk analisis ekspresi TNF alpha, IL-6, dan AGEs, efektivitas fraksi air karamunting dilakukan dengan secara bivariat dan multivariat dengan signifikansi  $P < 0,05$ . Penentuan keberhasilan model tikus diabetes dilakukan dengan cara menguji rerata kadar gula darah puasa sebelum dan sesudah induksi aloksan pada masing-masing kelompok dengan menggunakan uji T berpasangan (paired t test). Untuk melihat ada tidaknya perbedaan efektifitas antara glibenclamide dan ekstrak air daun Karamunting menggunakan uji T tidak berpasangan. Untuk mengetahui efektifitas dari Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomirtus tomentosa* (Ait.) Hssk.) menggunakan Paired T Test. Untuk menguji efektifitas kelima kelompok bersamaan dilakukan One Way Anova. Uji kesesuaian dosis antara ekstrak dan obat dilakukan dengan post Hoc Test. Untuk mempermudah menganalisa data menggunakan spss versi 18.

Uji efektivitas Fraksi Air Daun Karamunting dibanding Glibenclamide

Variabel	100mg/200grBB			200mg/200grBB			400mg/200grBB			glibenclamide			
	b	a	p*	p**									
GDP													
Insulin													
TNF- $\alpha$													
IL-6													

b = before

p\* = uji T berpasangan,  $p = 0,05$

a = after

p\*\* = uji T berpasangan,  $p = 0,05$

Uji kesesuaian dosis Fraksi Air Daun Karamunting dibanding glibenclamide

Variabel	Dosis kecil	Dosis sedang	Dosis besar	glibenclamide
Dosis kecil				
Dosis sedang				
Dosis besar				
Glibenclamide				

Post Hoc Test,  $p = 0,05$

### **3.15 Parameter Keberhasilan**

#### **3.15.1 Keberhasilan Tikus Model Diabetes**

Parameter keberhasilan induksi model diabetes jika terjadi perbedaan signifikan kadar gula darah puasa sebelum dan sesudah diinduksi aloksan.

#### **3.15.2 Keberhasilan Perlakuan**

Parameter keberhasilan pengujian efektifitas Fraksi Air Daun Karamunting adalah apabila terjadi penurunan secara signifikan persen rerata kadar gula darah puasa *posttest* dibanding dengan rerata persen kadar gula darah puasa *pretest*. Perbedaan secara signifikan kadar rerata insulin plasma, kadar TNF- $\alpha$ , IL-6, AGEs, ekspresi RAGE tiap kelompok tikus setelah perlakuan.



## Daftar Pustaka

Amano S, Yamagishi S, Koda Y, Tsuneoka M, Kimura H. Polymorphism of sorbitol dehydrogenase (SDH) gene and susceptibility to diabetic retinopathy. *Medical Hypotheses*. 2003; 60(4): 550-551.

American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2019. *Diabetes Care* 2019; 42(Suppl.1):S13-S28

Andi Early Febrinda, Made Astawan., Tutik Wardiyati., Nancy Dewi Yuliana. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 2013; 24(2):161-167

Awata T, et al. A Common Polymorphism in the 5'-Untranslated Region of the VEGF Gene is Associated With Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2002; 5:1635-1639.

Banjarnahor E, Wangko S. Sel Beta Pankreas Sintesis dan Sekresi Insulin. *Jurnal Biomedik* 2012; 4(3):156-162.

Bhitsitkul RB. Alternative anti VEGF treatment regiment in exudative ARMD. <http://www.medscape.com/viewarticle/734224>.

David J Browning. *Diabetic Retinopathy: Evidence-Based Management*. Springer New york. 2010; 1:12-105.

Decroli Eva. 2019. *Diabetes Mellitus type 2*. Pusat Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam. Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.

Gadd S. What is VEGF. <http://www.wisegeek.com/what-is-anti-vegf.htm>.

Geetha, Kannoth Mukundan., Vinaykumar Patil., Vedigounder Murugan. *Hepatoprotective Activity of Aqueous Alcoholic (70%) Extract of Rhodomyrtus tomentosa (Aiton.) Hssk.) Against Antitubercular Drugs Induced Hepatic Damage*. *International Journal of Green Pharmacy*, 2012; 6(4):295-298

Hamid, Hazrulrizawati Abd., Senait Sileshi Zeyohannes Roziyahira Mutazah., Mashitah M Yusoff. *Rhodomyrtus tomentosa: A Phytochemical and Pharmacological Review*. *Asian J Pharm Clin Res* 2017;10(1):10-16.

Hasibuan, Rosmidah., Syafruddin Ilyas., Saleha Hanum. 2015. *Effect of Leave Extract Haramonting (Rhodomyrtus tomentosa) to Lower Blood Sugar Level in Mice Induced Alloxan*. *International Journal of Pharmtech Research* 2015; 8(6) 284-291

Ighodaro, Osasenaga Macdonald., Abiola Mohammed Adeosun., Oluseyi Adeboye Akinloye. 2017. Alloxan Induced Diabetes, a Common Model for Evaluating The Glycemic-Control Potential of Therapeutic Compounds and Plants Extract in Experimental Studies. *Medicina* 2017; 53(6):365-374.

Jampol L M. Debate over the use of Anti VEGF therapy in retinal disease. <http://www.medscape.org/viewarticle/518884>.

Katzung, B. G. *Basic and Clinical Pharmacology*. 14-th edition, 2017. Mc Graw Hill Lange

Lenzen, S.. The Mechanisms of Alloxan and Streptozotocin Induced Diabetes. *Diabetologia* 2008; 51:216-226.

Lukacinova *et al.* 2008. Preventive Effect of Flavonoid on Alloxan Induced Diabetes Mellitus in Rats. *ACTA VET. BRNO* 2008; 77:175-182.

Nentwich MM, Ulbig MW. Diabetic retinopathy–ocular complications of diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes* 2015; 6(3):489-499.

Olmos P, et al. (AC)23 (2-2) Polymorphism of the aldose reductase gene and fast progression of Retinopathy in Chilea type 2 Diabetics. *Diabetes Res. Clin-Pract.* 2000; 47:169-176.

Perkeni, 2015. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus tipe 2 di Indonesia.* Penerbit PB. PERKENI.

Petrovič MG, Borut Peterlin, Marko Hawlina, Daniel Petrovič. Aldose Reductase (AC) gene polymorphism and susceptibility to diabetic retinopathy in type 2 diabetes in Caucasians. *J Diabetes Complicat.* 2005; 19:70-73.

Ramprasad S, et al. Rege gene promoter polymorphism and diabetic retinopathy in a clinic-based population from South India. *Eye.* 2007; 21:395-401.

Saleh Irsan Mgs, Parisa N, Maristka Z. The Development of Prototype Polyclonal Antibody of Receptor Advanced Glycation of Endproducts (RAGE). *Bio Sc Med* 2018; 2(1):34-40,

Shahab, Alwi. 2017. *Dasar-Dasar Endokrinologi.* Penerbit Rayyana Komunikasindo.

Sinata, Novia., Helmi Arifin. Antidiabetes dari Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hsck.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Diabetes. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* 2016; 3 (1):72-78.

Sugasthalakshmi B, et al. Association of VEGF and eNOS gene polymorphism in type 2 diabetic retinopathy. *Mol. Vis.* 2006; 12:336-341.

Sutomo, Arnida., Febri Hernawati., M. Yuwono. 2010. *Kajian Farmakognostik Simplisia Daun Karamunting (Rhosomyrtus tomentosa) Asal Pelaihari Kalimantan Selatan.* Sains dan Kimia Terapan 2010; 4(1): 38 – 50

Waisbourd M, Goldstein M, Loewenstein. Treatment of diabetic retinopathy with anti VEGF drugs. *J Acta Ophthalmol,* 2011. Vol 89: 2003-7. <http://www.retinalphysician.com/articleviewer.aspx?articleid=1018> 98 Accessed May15, 2012.

WHO. 2012. *Diabetes Fact Sheet.* Department of Sustainable Development and Healthy Environment.

WHO. 2019. *Classification of Diabetes Mellitus: Geneva; 2019.* Cataloguing inPublication data, <http://apps.who.int/iris> erl

## ANGGARAN

### I. Bahan Penelitian

No.	Nama Barang	Jumlah	Harga Satuan (Rp)	Total Harga (Rp)
1.	Rat Insulin ELISA kit	30	800.000	24.000.000
2.	Gluco DR	120	50.000	6.000.000
3.	Rat AGEs ELISA kit	30	600.000	18.000.000
4.	Rat IHC TNF- $\alpha$ kit	30	600.000	18.000.000
5.	Parafin Blok Kit Assay	30	70.000	2.100.000
TOTAL				68.100.000

### II. ATK

No.	Nama Barang	Jumlah	Harga Satuan (Rp)	Total Harga (Rp)
1.	Kertas HVS A4	2 RIM	50.000	100.000
2.	Tinta Printer Black	2 buah	250.000	500.000
3.	Tinta Printer Color	1 buah	300.000	300.000
TOTAL				900.000

### III. Publikasi

No.	Nama Barang	Jumlah	Harga Satuan (Rp)	Total Harga (Rp)
	Publikasi	1	6.000.000	6.000.000
TOTAL				6.000.000

**Total : Rp. 75.000.000 (Tujuh Puluh Lima Juta Rupiah)**

## JADWAL KEGIATAN

Kegiatan	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Aug	Sep	Okt	Nop	Des
Pengumuman Proposal	■											
Revisi Proposal	■											
Pengumpulan Data		■	■	■	■	■						
Pengolahan dan Data Analisis						■	■					
Penyusunan Laporan								■			■	■
Monitoring-Evaluasi								■			■	■
Seminar									■	■		

## **LAPORAN AKHIR PENELITIAN**

### **HIBAH UNGGULAN KOMPETITIF UNIVERSITAS SRIWIJAYA**



#### **EFEKTIVITAS ANTI INFLAMASI DAUN KARAMUNTING (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) TERHADAP KERUSAKAN SEL BETA PANKREAS DAN EFEK PROTEKTIF TERHADAP KOMPLIKASI NEFROPATI DIABETIKA MELALUI HAMBATAN RAGE (RECEPTOR ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS) PADA TIKUS MODEL DIABETES**

**Tim Peneliti:**

**Dr. dr. Muhammad Irsan Saleh, M.Biomed**

**NIP. 196609291996011001**

**dr. Nita Parisa, M.Bmd**

**NIP. 198812132014042001**

**dr. Ela Amalia, M.Kes**

**NIP. 198410142010122007**

Penelitian ini didanai Dana Penelitian Skema Unggulan Kompetitif Dibebankan Kepada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Badan Layanan Umum (BLU) Universitas Sriwijaya Tahun Anggaran 2020 Nomor SP DIPA-023.17.2.677515/2020, Revisi ke 01 tanggal 16 Maret 2020, sesuai dengan Kontrak Penelitian Skema Unggulan Kompetitif Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Sriwijaya Tahun Anggaran 2020 Nomor 0179.063/UN9/SB3.LPPM/2020 tanggal 28 Juli 2020 dan Surat Keputusan Rektor Universitas Sriwijaya Nomor 0683/UN9/SK.BUK.KP/2020 tanggal 15 Juli 2020

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SRIWIJAYA  
2020**

## IDENTITAS DAN URAIAN UMUM PENELITIAN

1. Judul Penelitian : Efektivitas Anti Inflamasi Daun Karamunting (*Rhodomirtus tomentosa (Ait.) Hassk*) Terhadap Kerusakan Sel Beta Pankreas Dan Efek Protektif Terhadap Komplikasi Nefropati Diabetika Melalui Hambatan AGEs (*Receptor Advanced Glycation Endproducts*) Pada Tikus Model Diabetes

2. Tim Penelitian :

No	Nama Peneliti	Jabatan	Bid. Keahlian	Institusi Asal	Alokasi Waktu
1.	M. Irsan Saleh	Ketua Peneliti	Farmakologi	FK Unsri	5 jam/mg
2.	Nita Parisa	Anggota	Farmakologi	FK Unsri	5 jam/mg
3.	Ela Amalia	Anggota	Mikrobiologi	FK Unsri	5 jam/mg

3. Objek Penelitian : Pankreas, Ginjal, Plasma Darah Tikus

4. Waktu Penelitian : 8 (delapan) bulan

5. Lokasi Penelitian : Laboratorium Bioteknologi FK Unsri  
Laboratorium Animal FK Unsri

6. Temuan yang ditargetkan : Modalitas Terapi Baru dalam Tatalaksana DM

7. Kontribusi : Pengembangan Obat Baru

8. Jurnal Sasaran : Jurnal Internasional

9. Luaran Tambahan : HAKI

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Diabetes adalah kondisi kronis yang terjadi ketika kadar glukosa darah di atas batas normal. Ini terjadi jika Pankreas tidak menghasilkan cukup insulin atau ketika tubuh tidak dapat secara efektif menggunakan insulin yang dihasilkannya (WHO, 2012). Insulin adalah hormon protein yang mengatur gula darah dan dihasilkan oleh sel beta Pankreas. Kondisi hiperglikemia jika dibiarkan dalam jangka panjang, dapat menyebabkan kerusakan pada berbagai organ tubuh seperti penyakit kardiovaskular, neuropati, nefropati dan gangguan pada retina mata berupa retinopati dan kebutaan.

WHO memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8,4 juta pada tahun 2000 akan menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030. *International Diabetes Federation* (IDF) memprediksi adanya kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 9,1 juta orang pada tahun 2014 menjadi 14,1 juta pada tahun 2035. Data Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 menunjukkan prevalensi diabetes sebesar 10,9%, meningkat dari Riskesdas tahun 2013 dan 2016 masing masing sebesar 6,9% dan 8,5%. Berdasarkan data *International Diabetes Federation* (IDF) tahun 2014, Indonesia menempati peringkat ke-5 di dunia, atau naik dua peringkat dibandingkan dengan tahun 2013 dengan 7,6 juta orang penyandang DM (Decroli, 2019). Saat ini penyakit DM tipe 2 merupakan salah satu penyebab kematian yaitu sekitar 80% pada negara berkembang (Nentwich *et al.*, 2015; David *et al.*, 2017).

Persatuan Ahli Endokrinologi Indonesia (PERKENI) tahun 2016 dan *American Diabetes Association* (ADA) tahun 2019 mengklasifikasi DM menjadi Diabetes mellitus tipe-1, Diabetes mellitus tipe-2, Diabetes mellitus gestasional, dan Diabetes mellitus tipe lain yang dapat terjadi karena defek genetik fungsi sel beta, defek genetik kerja insulin, penyakit endokrin pankreas, endokrinopati, infeksi, imunologi, serta karena obat-obat atau zat kimia dan sindrom genetik (Shahab, 2017).

Sintesis dan sekresi insulin terjadi di dalam sel beta. Proses ini melibatkan beberapa komponen yang berperan dalam sintesis untuk menghasilkan insulin dan menyekresikannya ke

luar sel. Pada keadaan tertentu komponen-komponen tersebut dapat mengalami disfungsi dan mengakibatkan terjadinya penyakit. Masalah yang dapat terjadi pada sintesis insulin antara lain: 1) ketidakmampuan pulau-pulau Langerhans untuk menghasilkan insulin dan 2) adanya stres pada RE yang melibatkan *the un-folded protein response* (UPR). Ketidakmampuan pulau-pulau Langerhans untuk menghasilkan insulin mengakibatkan insulin yang keluar dari sel beta dan beredar di dalam darah berkurang atau bahkan tidak ada sama sekali (Banjarnahor, 2012).

Penurunan fungsi Pankreas menyebabkan berkurangnya produksi insulin. Hal tersebut akan menyebabkan peningkatan glukosa di luar sel dan menyebabkan ketidakmampuan glukosa untuk masuk ke dalam sel sehingga menimbulkan hiperglikemia. Peningkatan glukosa yang terus menerus di luar sel akan menyebabkan terjadinya stress oksidatif pada sel yang diaktivasi oleh produk glikosilasi glukosa pada sel-sel endotel menghasilkan produk yang dikenal sebagai *advanced glycation endproducts* atau disingkat AGEs yang berikatan pada reseptornya yang disebut *Receptor Advanced Glycation Endproducts* (RAGE), termasuk pada sel beta Pankreas. Stress oksidatif akan menyebabkan aktivasi dari *cascade* inflamasi, berupa aktivasi sitokin proinflamasi; TNF- $\alpha$  dan IL-1 $\beta$ , yang akan diikuti oleh aktivasi berbagai sitokin dan kemokin, sehingga akan menyebabkan aktivasi *death receptor* dan akan diikuti dengan aktivasi apoptosis sel. Apoptosis (kematian sel secara terprogram) sel akan menyebabkan semakin berkurangnya produksi sel beta Pankreas, yang selanjutnya akan diikuti dengan berkurangnya produksi insulin. Pendekatan untuk memutus rantai stress oksidatif dan inflamasi merupakan potensi *promising* untuk dikembangkan sebagai modalitas terapi baru guna mencegah tahap kerusakan lebih lanjut dari Diabetes melitus.

Pemahaman akan mekanisme kerusakan sel beta Pankreas akibat AGEs pada penderita DM, dapat mengantarkan kepada perlunya tatalaksana pemberian anti oksidan sebagai terapi farmakologis dan upaya pengembangan antibodi terhadap reseptor AGEs yang dapat melakukan *blocking* terhadap RAGE sehingga mencegah dan menghambat kerusakan sel beta Pankreas sehingga dapat mempertahankan fungsi Pankreas untuk menghasilkan insulin. Antioksidan alami tersedia melimpah di Indonesia salah satunya adalah tanaman perdu Karamunting.

Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hsck.) merupakan tanaman yang tumbuh dengan panjang hingga 12 kaki, bunganya berwarna putih pucat, berdiameter 2,5-3 cm, dan setiap bunga memiliki 5 kelopak (Hamid, 2017), telah digunakan masyarakat Kalimantan dan Thailand

Selatan untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti Diabetes mellitus, diare, luka bakar, dan sakit perut (Hasibuan *et al.*, 2015).

Tumbuhan Karamunting ini mengandung senyawa triterpenoid/steroid, alkaloid, dan flavonoid, karbohidrat, dan saponin (Geetha *et al.*, 2012). Kandungan metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari karamunting antara lain flavonoid berupa senyawa combetrol, cyanidin 3-galaktosa, quercetin, myricetin, dan lain sebagainya (Hamid *et al.*, 2017).

Pemberian ekstrak air daun Karamunting pada dosis 100 mg/kg memberikan efek terbaik dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus diabetes yang diinduksi aloksan (Hasibuan *et al.*, 2015). Sedangkan penelitian pada fraksi air daun Karamunting terhadap mencit model diabetes yang diberikan secara oral dengan dosis 10, 20, dan 40 mg/kgBB menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah secara bermakna ( $p < 0,005$ ) dan dapat memperbaiki berat badan serta volume urine mencit diabetes (Sinata, 2016).

Metabolit sekunder flavonoid memiliki efek sebagai antidiabetik melalui fungsinya sebagai antioksidan. Flavonoid dapat melakukan aktivitas antioksidannya dengan mekanisme mengikat radikal bebas dan/atau dengan menghambat sistem enzimatis yang bertanggung jawab untuk pembentukan radikal bebas. Penelitian Lukacinova *et al.*, 2008 memperlihatkan bahwa senyawa Quercetin yang juga merupakan salah satu flavonoid yang ditemukan dalam Karamunting dapat meningkatkan sekresi insulin melalui mekanisme kerjanya sebagai antioksidan yang menangkal radikal bebas.

Pada penelitian sebelumnya peneliti telah mengembangkan antibodi poliklonal anti RAGE merupakan antibodi anti RAGE yang diproduksi secara biomolekular dan bersifat antagonis terhadap RAGE. Inaktivasi RAGE terbukti mampu menghambat komplikasi retinopati pada tikus Wistar model diabetes (Saleh I, 2018). Pemberian antibodi anti RAGE diharapkan mampu menghambat aktivasi stress oksidatif dan *cascade* inflamasi pada Pankreas sehingga menghambat progresifitas perjalanan penyakit Diabetes. Penelitian ini merupakan penelitian tahun pertama yang berupaya untuk eksplorasi peran RAGE pada sel beta pankreas tikus putih model Diabetes, sekaligus mengeksplorasi pengaruh ekstrak air daun Karamunting terhadap kadar glukosa dan kadar insulin plasma.

## **1.2. Rumusan Masalah**

1. Apakah fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) efektif dibandingkan Glibenclamide terhadap penurunan kadar gula darah dan meningkatkan kadar insulin tikus diabetes?
2. Apakah terdapat pengaruh antibodi anti RAGE terhadap ekspresi ROS pada Pankreas tikus putih model diabetes?
3. Apakah terdapat pengaruh antibodi anti RAGE terhadap ekspresi sitokin proinflamasi (TNF Alpha dan IL-6) pada Pankreas tikus putih model diabetes?
4. Apakah terdapat pengaruh antibodi anti RAGE terhadap ekspresi AGEs pada ginjal tikus putih model diabetes?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Mengetahui efektivitas fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) terhadap kadar glukosa dan insulin serta mengetahui peran antibodi anti RAGE dalam melindungi kerusakan Pankreas akibat AGEs.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

- a. Mengukur kadar glukosa sebelum dan setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.)
- b. Menilai dosis efektif fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) terhadap kadar glukosa plasma pada tikus putih jantan model diabetes.
- c. Mengukur kadar insulin plasma sebelum dan setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.)
- d. Menilai dosis efektif fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) terhadap kadar insulin plasma pada tikus putih jantan model diabetes
- e. Mengukur kadar AGEs sebelum dan setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.)
- f. Membandingkan ekspresi RAGE pada ginjal tikus putih setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.)
- g. Mengukur kadar TNF alfa dan IL-6 sebelum dan setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.)
- h. Membandingkan ekspresi RAGE pada ginjal tikus putih setelah pemberian fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.)

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

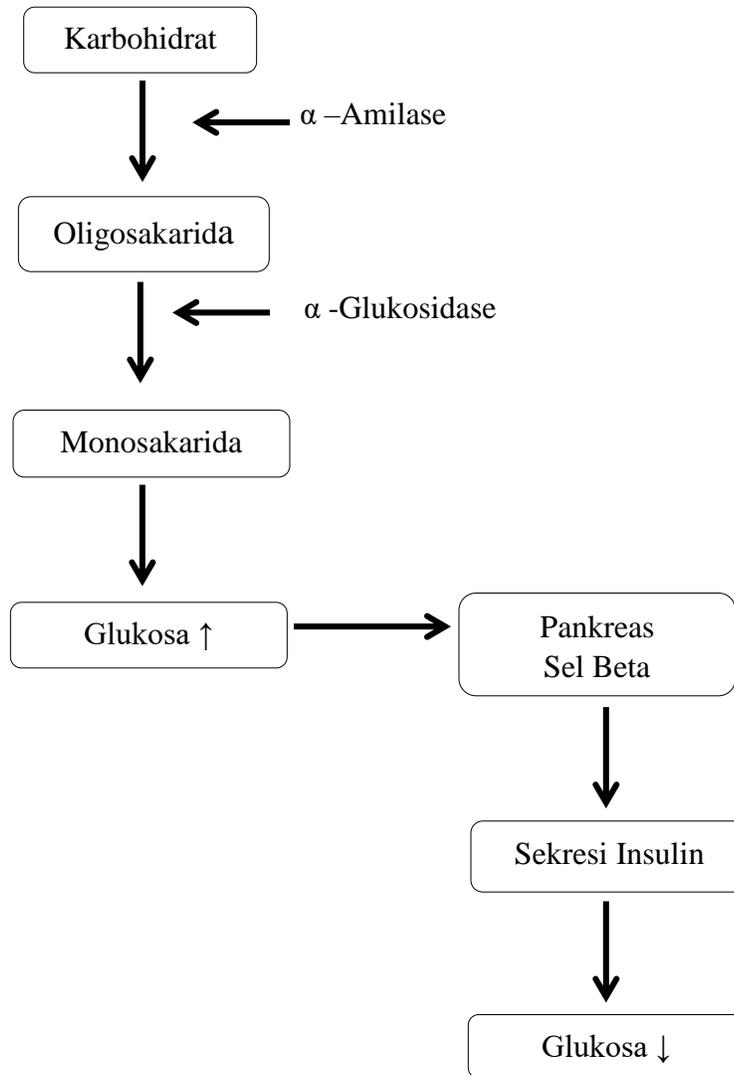
##### **1.5.1. Manfaat Teoritis**

Memberikan dasar ilmiah dari penggunaan daun karamunting sebagai obat Diabetes Mellitus

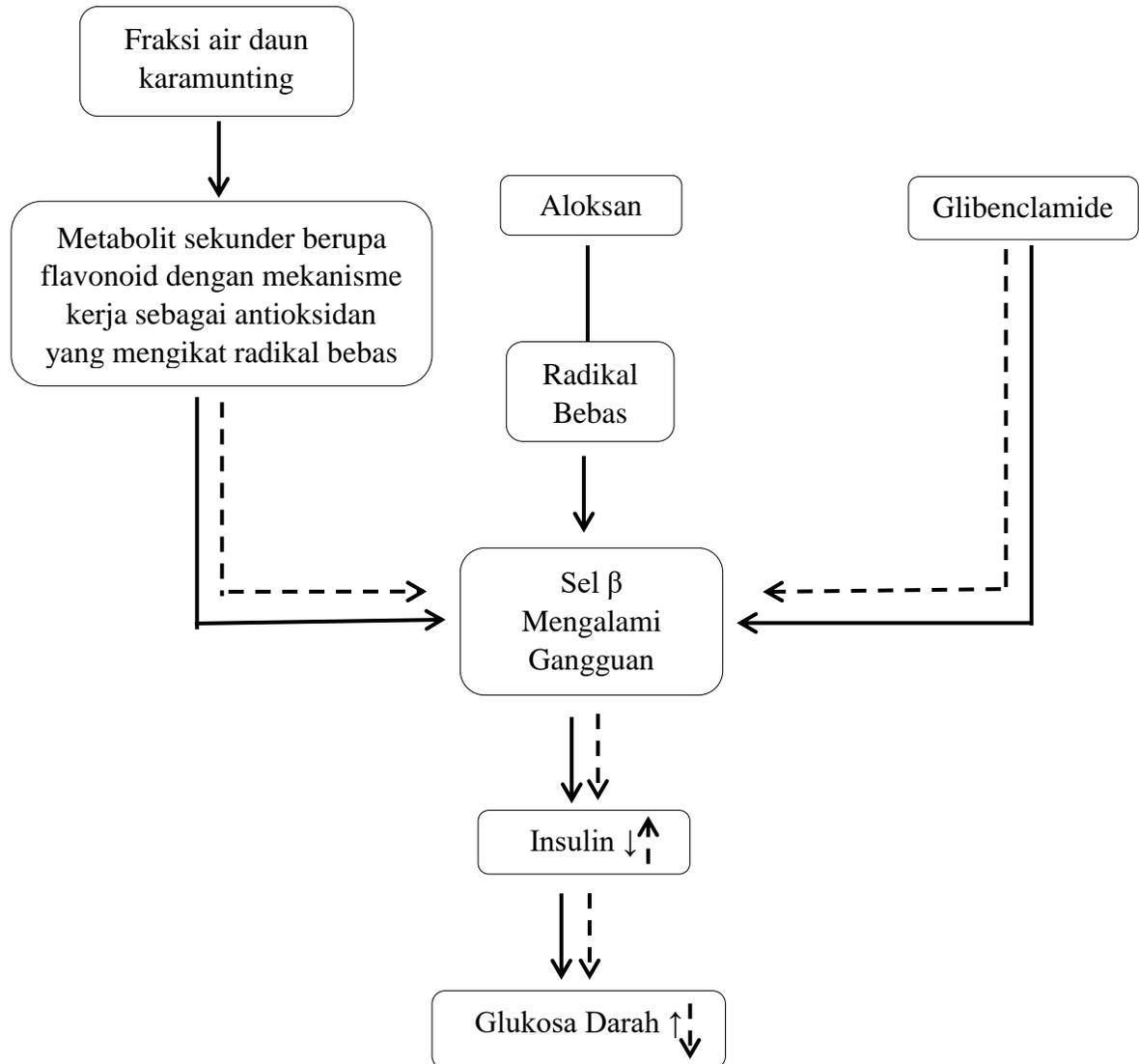
##### **1.5.2. Manfaat Praktis**

Memberikan informasi kepada masyarakat tentang manfaat tanaman yang dipakai sebagai pengobatan alternatif pada Diabetes Mellitus

## Kerangka Teori



## Kerangka Konsep



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Diabetes Mellitus**

##### **2.1.1 Definisi Diabetes Mellitus**

Diabetes mellitus selanjutnya disingkat DM merupakan sekelompok metabolik kronik progresif yang ditandai dengan tingginya kadar gula darah (hiperglikemia) dengan etiopatologi heterogen meliputi defek sekresi, aksi insulin atau keduanya (WHO, 2019; ADA, 2019). Penyakit ini dapat ditandai dengan gejala antara lain: poliuria, polidipsia, polifagia, dan penurunan berat badan. Apabila kadar gula darah sewaktu  $>200$  mg/dl dan kadar gula darah puasa  $\geq 126$  mg/dl, maka sudah cukup untuk dijadikan patokan dalam menegakkan diagnosa Diabetes mellitus.

##### **2.1.2 Klasifikasi Diabetes**

###### **2.1.2.1 Diabetes Mellitus tipe-1 / Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM)**

Diabetes mellitus tipe-1 adalah penyakit autoimun endokrin yang menyebabkan kerusakan pada sel beta pankreas, sehingga terjadi defisiensi insulin secara absolut. Penyakit ini terjadi pada 5-10% pada semua kasus diabetes. Pada DM tipe-1 ini diperlukan hormon pengganti insulin eksternal untuk menormalkan kembali kadar glukosa darah. Manifestasi klinik yang timbul dari penyakit ini adalah terjadinya hiperglikemia dan ketoasidosis. Selain karena autoimun, DM tipe 1 ini juga dapat disebabkan oleh virus, diantaranya virus *Cocksakie*, *Rubella*, *Cytomegalo virus*, *Herpes*, dan lain sebagainya (WHO, 2019).

###### **2.1.2.2 Diabetes Mellitus Tipe 2 / Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus (NIDDM)**

Pada diabetes mellitus tipe 2, patofisiologi utama yang mendasarinya adalah resistensi insulin dan disfungsi sel beta pankreas. Insulin tidak dapat bekerja secara optimal di sel otot, lemak, dan hati sehingga memaksa pankreas untuk memproduksi insulin lebih banyak. Ketika produksi insulin oleh sel beta pankreas tidak adekuat guna mengkompensasi peningkatan resistensi insulin, maka kadar glukosa darah akan meningkat, pada saatnya akan terjadi hiperglikemia kronik (WHO, 2019; Decroli, 2019).

Secara klinis, makna resistensi insulin adalah adanya konsentrasi insulin yang lebih tinggi dari normal yang dibutuhkan untuk mempertahankan kondisi normoglikemia. Pada tingkat seluler,

resistensi insulin terlihat dari kemampuan yang tidak adekuat dari *insulin signaling* mulai dari pre-reseptor, reseptor, dan post reseptor. Secara molekuler beberapa faktor yang diduga terlibat dalam patogenesis resistensi insulin antara lain, perubahan pada protein kinase B, mutasi protein *Insulin Receptor Substrate* (IRS), peningkatan fosforilasi serin dari protein IRS, *Phosphatidylinositol 3 Kinase* (PI3 Kinase), protein kinase C, dan mekanisme molekuler dari inhibisi transkripsi gen IR (*Insulin Receptor*) (Decroli, 2019)

Sebelum diagnosis DM tipe-2 ditegakkan, sel beta Pankreas masih dapat memproduksi insulin secukupnya untuk mengkompensasi peningkatan resistensi insulin. Pada saat diagnosis DM tipe-2 ditegakkan, sel beta Pankreas tidak dapat memproduksi insulin yang adekuat untuk mengkompensasi peningkatan resistensi insulin oleh karena pada saat itu fungsi sel beta Pankreas yang normal tinggal 50%.

Sel beta pankreas merupakan sel yang sangat penting diantara sel lainnya seperti sel alfa, sel delta, dan sel jaringan ikat pada pankreas. Disfungsi sel beta pankreas terjadi akibat kombinasi faktor genetik dan faktor lingkungan. Jumlah dan kualitas sel beta pankreas dipengaruhi oleh beberapa hal antara lain proses regenerasi dan kelangsungan hidup sel beta itu sendiri, mekanisme selular sebagai pengatur sel beta, kemampuan adaptasi sel beta ataupun kegagalan mengkompensasi beban metabolik dan proses apoptosis sel.

Pada orang dewasa, sel beta memiliki waktu hidup 60 hari. Pada kondisi normal, 0,5 % sel beta mengalami apoptosis namun hal ini diimbangi dengan proses replikasi dan neogenesis. Dalam keadaan normal, jumlah sel beta relatif konstan sehingga jumlah sel beta dipertahankan pada kadar optimal selama masa dewasa. Seiring dengan bertambahnya usia, jumlah sel beta akan menurun karena proses apoptosis melebihi replikasi dan neogenesis. Hal ini menjelaskan mengapa orang tua lebih rentan terhadap terjadinya DM tipe 2. Selain itu ada beberapa organ yang berperan dalam menimbulkan gangguan toleransi glukosa pada Diabetes mellitus tipe-2 antara lain jaringan lemak (meningkatnya lipolisis), gastrointestinal (defisiensi incretin), sel alfa pankreas (hiperglukagonemia), ginjal (peningkatan absorpsi glukosa), dan otak (resistensi insulin).

Patogenesis DM tipe-2 secara umum dapat disebabkan oleh 8 hal (*ominous octet*) sebagai berikut :

1. Kegagalan sel beta pankreas:

Pada saat diagnosis DM tipe-2 ditegakkan, fungsi sel beta sudah sangat berkurang. Obat anti diabetik yang bekerja melalui jalur ini adalah sulfonilurea, meglitinid, GLP-1 agonis dan DPP-4 inhibitor.

2. Liver:

Pada penderita DM tipe-2 terjadi resistensi insulin yang berat dan memicu gluconeogenesis sehingga terjadi peningkatan produksi glukosa dalam keadaan basal oleh liver yang disebut *sebagai hepatic glucose production (HGB)*. Obat yang bekerja melalui jalur ini adalah metformin, yang menekan proses glukoneogenesis.

3. Otot:

Pada penderita DM tipe-2 didapatkan gangguan kinerja insulin yang multipel di intramioselular, akibat gangguan fosforilasi tirosin sehingga timbul gangguan transpor glukosa dalam sel otot, penurunan sintesis glikogen, dan penurunan oksidasi glukosa. Obat yang bekerja di jalur ini adalah metformin, dan tiazolidindion.

4. Sel lemak:

Sel lemak yang resisten terhadap efek antilipolisis dari insulin, menyebabkan peningkatan proses lipolisis dan kadar asam lemak bebas (FFA=*Free Fatty Acid*) dalam plasma. Peningkatan FFA akan merangsang proses glukoneogenesis, dan mencetuskan resistensi insulin di *liver* dan otot. FFA juga akan mengganggu sekresi insulin. Gangguan yang disebabkan oleh FFA ini disebut sebagai *lipotoxocity*. Obat yang bekerja di jalur ini adalah tiazolidindion.

5. Usus:

Glukosa yang ditelan memicu respon insulin jauh lebih besar dibanding kalau diberikan secara intravena. Efek yang dikenal sebagai efek incretin ini diperankan oleh 2 hormon GLP-1 (*glucagon-like polypeptide-1*) dan GIP (*glucose-dependent insulinotrophic polypeptide* atau disebut juga *Gastric Inhibitory Polypeptide*). Pada penderita DM tipe-2 didapatkan defisiensi GLP-1 dan resisten terhadap GIP. Disamping hal tersebut incretin segera dipecah oleh keberadaan enzim DPP-4, sehingga hanya bekerja dalam beberapa menit. Obat yang bekerja menghambat kinerja DPP-4 adalah kelompok DPP-4 inhibitor.

Saluran pencernaan juga mempunyai peran dalam penyerapan karbohidrat melalui kinerja enzim alfa-glukosidase yang memecah polisakarida menjadi monosakarida yang kemudian diserap oleh usus dan berakibat meningkatkan glukosa darah setelah makan. Obat yang bekerja untuk menghambat kinerja enzim alfa-glukosidase adalah *Acarbose*.

#### 6. Sel alfa Pankreas:

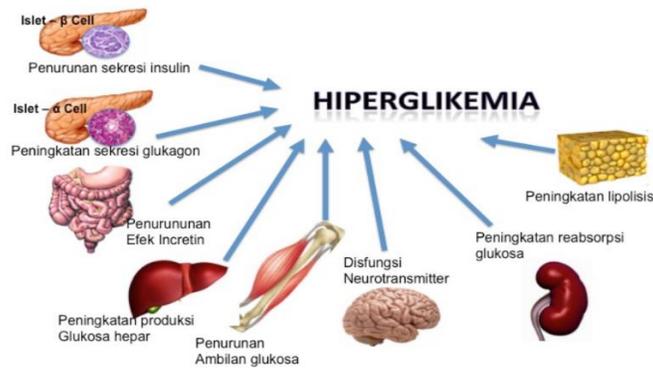
Sel- $\alpha$  pancreas merupakan organ ke-6 yang berperan dalam hiperglikemia dan sudah diketahui sejak 1970. Sel- $\alpha$  berfungsi dalam sintesis glukagon yang dalam keadaan puasa kadarnya di dalam plasma akan meningkat. Peningkatan ini menyebabkan HGP dalam keadaan basal meningkat secara signifikan dibandingkan individu yang normal. Obat yang menghambat sekresi glukagon atau menghambat reseptor glukagon meliputi GLP-1 agonis, DPP-4 inhibitor dan *Amylin*.

#### 7. Ginjal:

Ginjal merupakan organ yang diketahui berperan dalam patogenesis DM tipe-2. Ginjal melakukan filtrasi sekitar 163 gram glukosa per-hari. Sembilan puluh persen dari glukosa terfiltrasi ini akan diserap kembali melalui peran SGLT-2 (*Sodium Glucose co-Transporter*) pada bagian *convulated tubulus proksimal*. Sedang 10% sisanya akan di absorpsi melalui peran SGLT-1 pada tubulus desenden dan asenden, sehingga akhirnya tidak ada glukosa dalam urine. Pada penderita DM terjadi peningkatan ekspresi gen SGLT-2. Obat yang menghambat kinerja SGLT-2 ini akan menghambat penyerapan kembali glukosa di tubulus ginjal sehingga glukosa akan dikeluarkan lewat urin. Obat yang bekerja di jalur ini adalah SGLT-2 inhibitor. Dapaglifozin adalah salah satu contoh obatnya.

#### 8. Otak:

Insulin merupakan penekan nafsu makan yang kuat. Pada individu yang obes baik yang DM maupun non-DM, didapatkan hiperinsulinemia yang merupakan mekanisme kompensasi dari resistensi insulin. Pada golongan ini asupan makanan justru meningkat akibat adanya resistensi insulin yang juga terjadi di otak. Obat yang bekerja di jalur ini adalah GLP-1 agonis, *Amylin* dan *Bromokriptin* (Perkeni, 2015).



Gambar 2.1 *The Ominous Octet*, 8 organ yang berperan pada pathogenesis DM tipe-2 (Perkeni, 2015).

### 2.1.2.3 Diabetes Mellitus Gestational

Diabetes Mellitus Gestasional atau *Gestational Diabetes Mellitus* (GDM) adalah keadaan diabetes atau intoleransi glukosa yang timbul selama masa kehamilan, dan biasanya berlangsung hanya sementara atau temporer. Sekitar 4-5% wanita hamil diketahui menderita GDM, dan umumnya terdeteksi pada atau setelah trimester kedua. Diabetes dalam masa kehamilan, walaupun umumnya kelak dapat pulih sendiri beberapa saat setelah melahirkan, namun dapat berakibat buruk terhadap bayi yang dikandung. Akibat buruk yang dapat terjadi antara lain malformasi kongenital, peningkatan berat badan bayi ketika lahir dan meningkatnya risiko mortalitas perinatal. Disamping itu, wanita yang pernah menderita GDM akan lebih besar risikonya untuk menderita lagi diabetes di masa depan. Kontrol metabolisme yang ketat dapat mengurangi risiko-risiko tersebut.

### 2.1.3 Terapi Obat Hipoglikemik

Pada Diabetes mellitus tipe-1, terapi insulin merupakan satu keharusan. Adanya kerusakan pada sel-sel  $\beta$  Langerhans kelenjar Pankreas, sehingga tidak lagi dapat memproduksi insulin. Sebagai penggantinya, maka penderita DM tipe-1 harus mendapat insulin eksogen untuk membantu agar metabolisme karbohidrat di dalam tubuhnya dapat berjalan normal. Walaupun sebagian besar penderita DM tipe 2 pada awalnya tidak memerlukan terapi insulin, namun hampir 30% ternyata memerlukan terapi insulin di samping terapi obat hipoglikemik oral.

Obat-obat hipoglikemik oral terutama ditujukan untuk membantu penanganan pasien DM tipe-2. Pemilihan obat hipoglikemik oral yang tepat sangat menentukan keberhasilan terapi diabetes. Bergantung pada tingkat keparahan penyakit dan kondisi pasien, farmakoterapi hipoglikemik oral dapat dilakukan dengan menggunakan satu jenis obat atau kombinasi dari dua

jenis obat. Pemilihan dan penentuan regimen hipoglikemik yang digunakan harus mempertimbangkan tingkat keparahan diabetes (tingkat glikemia) serta kondisi kesehatan pasien secara umum termasuk penyakit-penyakit lain dan komplikasi yang ada (Katzung, 2017).

### **2.1.3.1 Penggolongan Obat Hipoglikemik Oral**

Berdasarkan mekanisme kerjanya, obat-obat hipoglikemik oral (OHO) dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu:

- a) Obat-obat yang meningkatkan sekresi insulin, meliputi obat hipoglikemik oral golongan Sulfonilurea dan Glinida (Meglitinida dan turunan Fenilalanin).
- b) Sensitiser insulin (obat-obat yang dapat meningkatkan sensitifitas sel terhadap insulin), meliputi obat-obat hipoglikemik golongan Biguanida dan Tiazolidindion, yang dapat membantu tubuh untuk memanfaatkan insulin secara lebih efektif.
- c) Inhibitor katabolisme karbohidrat, antara lain inhibitor  $\alpha$ -glukosidase yang bekerja menghambat absorpsi glukosa dan umum digunakan untuk mengendalikan hiperglikemia post-prandial (*post-meal hyperglycemia*). Disebut juga “*starch-blocker*”.

#### **2.1.3.1.1 Golongan Sulfonilurea**

Sulfonilurea telah digunakan untuk pengobatan DM tipe-2 sejak tahun 1950-an. Obat ini digunakan sebagai terapi farmakologis pada awal pengobatan diabetes dimulai, terutama bila konsentrasi glukosa darah tinggi. Obat yang tersedia meliputi Sulfonilurea generasi pertama (Asetoheksimid, Klorpropramid, Tolbutamid, Tolazamid), generasi kedua (Glipizid, Glikazid, Glibenklamid, Glikuidon, Gliklopiramid), dan generasi ketiga (Glimepiride).

Sulfonilurea generasi pertama sudah sangat jarang digunakan karena efek hipoglikemi yang terlalu hebat. Obat golongan sulfonilurea mempunyai efek hipoglikemi yang tidak sama. Hal ini tergantung pada kekuatan ikatan antara obat dengan reseptornya di membran sel, contohnya Glibenklamid; efek hipoglikemi dan ikatan antara Glibenklamid dengan reseptornya lebih kuat daripada golongan Glimepiride oleh karena ikatan Glimepirid dengan reseptornya tidak sekuat ikatan glibenklamid (Decroli, 2019).

Golongan Sulfonilurea generasi II dan generasi III yang mempunyai waktu paruh pendek dan metabolisme lebih cepat. Meski masa paruhnya pendek, yaitu 3-5 jam, efek hipoglikeminya berlangsung 12-24 jam. Sehingga cukup diberikan satu kali sehari. Karena hampir semua

Sulfonilurea dimetabolisme di hepar dan diekskresi melalui ginjal, sediaan ini tidak boleh diberikan pada pasien DM tipe-2 dengan gangguan fungsi hepar atau gangguan fungsi ginjal yang berat. Glikuidon mempunyai efek hipoglikemi sedang dan jarang menimbulkan serangan hipoglikemi. Glikuidon diekskresi melalui empedu dan usus, maka dapat diberikan pada pasien DM tipe-2 dengan gangguan fungsi hati dan gangguan fungsi ginjal yang tidak terlalu berat (Decroli, 2019).

#### **2.1.3.1.2 Golongan Biguanida**

Obat hipoglikemik oral golongan Biguanida bekerja langsung pada hati (hepar), menurunkan produksi glukosa hati. Senyawa-senyawa golongan biguanida tidak merangsang sekresi Insulin, dan hampir tidak pernah menyebabkan hipoglikemia. Satu-satunya senyawa Biguanida yang masih dipakai sebagai obat hipoglikemik oral saat ini adalah Metformin. Metformin masih banyak dipakai di beberapa negara termasuk Indonesia, karena frekuensi terjadinya asidosis laktat cukup sedikit asal dosis tidak melebihi 1700 mg/hari dan tidak ada gangguan fungsi ginjal dan hati (Katzung, 2017).

Pada pasien diabetes yang gemuk, Metformin dapat menurunkan BB. Metformin akan diabsorpsi di usus kemudian masuk ke dalam sirkulasi, di dalam sirkulasi Metformin tidak terikat protein plasma, ekskresinya melalui urin dalam keadaan utuh. Masa paruhnya adalah sekitar 2 jam. Penggunaan Metformin aman pada usia lanjut karena tidak mempunyai efek hipoglikemi. Namun metformin dikontraindikasikan pada pasien dengan gangguan fungsi ginjal dengan LFG  $\leq$  30 mL/min/1.73 m (Decroli, 2019).

#### **2.1.3.1.3 Golongan Inhibitor Alpha Glukosidase**

Senyawa-senyawa inhibitor  $\alpha$ -glukosidase bekerja menghambat enzim alfa glukosidase yang terdapat pada dinding usus halus. Enzim-enzim  $\alpha$ -glukosidase (Maltase, Isomaltase, Glukomaltase dan Sukrase) berfungsi untuk menghidrolisis oligosakarida, pada dinding usus halus. Inhibisi kerja enzim ini secara efektif dapat mengurangi pencernaan karbohidrat kompleks dan absorpsinya, sehingga dapat mengurangi peningkatan kadar glukosa *post prandial* pada penderita diabetes. Senyawa inhibitor  $\alpha$ -glukosidase juga menghambat enzim  $\alpha$ -amilase Pankreas yang bekerja menghidrolisis polisakarida di dalam lumen usus halus. Obat ini merupakan obat oral yang biasanya diberikan dengan dosis 150-600 mg/hari. Obat ini efektif bagi penderita dengan diet

tinggi karbohidrat dan kadar glukosa plasma puasa kurang dari 180 mg/dl. Obat-obat inhibitor  $\alpha$ -glukosidase dapat diberikan sebagai obat tunggal atau dalam bentuk kombinasi dengan obat hipoglikemik lainnya. Obat ini umumnya diberikan dengan dosis awal 50 mg dan dinaikkan secara bertahap sampai 150-600 mg/hari. Dianjurkan untuk memberikannya bersama suap pertama setiap kali makan.

Efek samping obat ini adalah perut kurang enak, lebih banyak flatus dan kadang-kadang diare, yang akan berkurang setelah pengobatan berlangsung lebih lama. Obat ini hanya mempengaruhi kadar glukosa darah pada waktu makan dan tidak mempengaruhi kadar glukosa darah setelah itu. Bila diminum bersama-sama obat golongan Sulfonilurea (atau dengan Insulin) dapat terjadi hipoglikemia yang hanya dapat diatasi dengan glukosa murni, jadi tidak dapat diatasi dengan pemberian gula pasir. Obat ini umumnya diberikan dengan dosis awal 50 mg dan dinaikkan secara bertahap, serta dianjurkan untuk memberikannya bersama suap pertama setiap kali makan (Ditjen Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan, 2005). Obat-obatan yang termasuk dalam golongan alpha glukosidase inhibitor ini antara lain Acarbose dan Maglitol (Katzung, 2017).

#### **2.1.3.1.4 Golongan Tiazolidinedion**

Tiazolidinedion menurunkan produksi glukosa di hepar dan menurunkan kadar asam lemak bebas di plasma. Tiazolidinedion dapat menurunkan kadar HbA1c (1-1.5 %), meningkatkan HDL, efeknya pada trigliserida dan LDL bervariasi. Pada pemberian oral, absorpsi tidak dipengaruhi oleh makanan. Efek samping Tiazolidinedion antara lain peningkatan berat badan, edema, menambah volume plasma, dan memperburuk gagal jantung kongestif. Edema sering terjadi pada penggunaan kombinasi Tiazolidinedion bersama Insulin. Selain pada pasien dengan penyakit hepar, penggunaan Tiazolidinedion juga tidak dianjurkan pada pasien dengan gagal jantung kongestif kelas 3 dan 4 menurut klasifikasi *New York Heart Association*.

Pemakaian Glitazone juga dikontraindikasikan pada pasien dengan gangguan hati berat, sehingga penggunaannya dihentikan apabila terdapat kenaikan enzim hati lebih dari tiga kali nilai normal. Penggunaannya pada usia lanjut tidak dianjurkan (Decroli, 2019). Senyawa golongan Tiazolidindion bekerja meningkatkan kepekaan tubuh terhadap insulin dengan jalan berikatan dengan PPAR $\gamma$  (*peroxisome proliferator activated receptor-gamma*) di otot, jaringan lemak, dan hati untuk menurunkan resistensi insulin. Senyawa-senyawa TZD juga menurunkan kecepatan

glikoneogenesis. Rosiglitazone dan Pioglitazon adalah contoh obat hipoglikemik oral golongan tiazolidinedion (Katzung, 2017).

#### **2.1.3.1.4 Golongan Meglitinida dan Turunan Fenilalanin**

Obat-obat hipoglikemik oral golongan Glinida ini merupakan obat hipoglikemik generasi baru yang cara kerjanya mirip dengan golongan Sulfonilurea. Kedua golongan senyawa hipoglikemik oral ini bekerja meningkatkan sintesis dan sekresi insulin oleh kelenjar Pankreas. Umumnya senyawa obat hipoglikemik golongan Meglitinida dan turunan Fenilalanin ini dipakai dalam bentuk kombinasi dengan obat-obat antidiabetik oral lainnya. Contoh obat antidiabetik oral golongan ini adalah Repaglinida dan Nateglinida (Katzung, 2017).

#### **2.1.4 Terapi Non Farmakologis**

Pada pengelolaan pasien DM tipe-2 sejak awal harus direncanakan terapi non farmakologis dan pertimbangan terapi farmakologis. Hal yang paling penting pada terapi non farmakologis adalah monitor sendiri kadar glukosa darah dan pendidikan berkelanjutan tentang penatalaksanaan diabetes pada pasien. Latihan jasmani secara teratur (3-4 kali seminggu selama 30 menit/kali), merupakan salah satu pilar dalam pengelolaan DM tipe-2. Kegiatan sehari-hari seperti berjalan kaki ke pasar, menggunakan tangga, dan berkebun harus tetap dilakukan.

Latihan jasmani selain untuk menjaga kebugaran juga dapat menurunkan berat badan dan memperbaiki sensitivitas insulin sehingga akan memperbaiki kendali glukosa darah. Latihan jasmani yang dianjurkan adalah berupa latihan jasmani yang bersifat aerobik seperti jalan kaki, bersepeda santai, jogging, dan berenang. Latihan jasmani sebaiknya disesuaikan dengan umur dan status kesegaran jasmani. Untuk mereka yang relatif sehat, intensitas latihan jasmani bisa ditingkatkan. Sementara bagi mereka yang sudah mengalami komplikasi DM, intensitas latihan jasmani dapat dikurangi.

Terapi nutrisi medis dilaksanakan dalam beberapa tahap. Pengenalan sumber dan jenis karbohidrat, pencegahan dan penatalaksanaan hipoglikemia harus dilakukan terhadap pasien. Terapi nutrisi medis ini bersifat bersifat individu. Secara umum, terapi nutrisi medis meliputi upaya-upaya untuk mendorong pola hidup sehat, membantu kontrol gula darah, dan membantu pengaturan berat badan (Decroli, 2019).

## 2.2 Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait) Hassk)

### 2.2.1 Morfologi Karamunting dan Klasifikasi

Tumbuhan Karamunting merupakan perdu berkayu dengan tinggi mencapai 4 meter, menyerupai semak. Letak daun bersilang berhadapan dan tulang daun tiga dari pangkal, bentuk daun oval, ujung dan pangkal meruncing, tepi daun rata, permukaan atas daun mengkilap sedangkan permukaan bawah daun kasar karena memiliki rambut-rambut halus. Panjang daun 5-7 cm dan lebarnya sekitar 2 -3 cm. Bunga berwarna merah muda keunguan, bentuk majemuk dengan kelopak berlekatan, mahkota bunga lima, putik satu dan kepala putik berbintik hijau. Buah muda berwarna hijau dengan bagian atas dihiasi helai menyerupai kelopak dengan warna yang senada dan bakal buah dengan ruang empat sampai enam. Setelah matang, buah akan berubah menjadi ungu dengan rasa yang manis. Sistem perakaran tunggang, kokoh di bawah permukaan tanah (Sutomo *et al.*, 2010).

Klasifikasi Tumbuhan Karamunting (Tanjung, 2018)

Kingdom: Plantae  
Division: Spermatophyta  
Kelas: Magnoliopsida  
Ordo: Mytrales  
Famili: Myrtaceae  
Genus: *Rhodomyrtus*  
Spesies: *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk



(A)

(B)

Gambar 2.6 Daun dan Bunga Karamunting (A), Daun dan Buah Karamunting (B) (Hasibuan, 2017).

### 2.2.2 Kandungan Kimia

Tumbuhan Karamunting mengandung senyawa triterpenoid/steroid, alkaloid dan flavonoid (Geetha *et al.*, 2012). Selain itu, dilaporkan juga bahwa simplisia daun Karamunting mengandung katekol, tannin, dan aleuron (Sutomo, 2010). Sedangkan pada simplisia buah karamunting yang diekstrak dengan metanol kemudian dilakukan pemurnian lebih lanjut menggunakan HPLC dan kromatografi kolom menghasilkan identifikasi enam *anthocyanin* utama, termasuk cyanidin-3-O-glukosida, peonidin-3-O-glukosida, malvidin-3-O-glukosida, petunidin-3-O-glukosida, delphinidin-3-O-glukosida, dan pelargonidin-3-O-glukosida, selain itu ekstrak karamunting juga mengandung metabolit sekunder rhodomyrtoson, tomentoson, cyanidin, myricetin dan quercetin (Hamid *et al.*, 2017).

### 2.2.3 Khasiat Tumbuhan Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk)

Sebagai antidiare, antidiabetes, obat luka bakar, dan sakit perut (Sutomo, 2010), mengobati gangguan kulit, menstruasi, sebagai antiinflamasi, dan anti malaria (Hasibuan, 2015), antibakteri, antioxidant (Hamid *et al.*, 2017).

## 2.3 Insulin

Protein Insulin manusia tersusun atas 51 asam amino dengan berat molekul 5808 Da yang berbentuk dimer dalam dua rantai (A dan B) dihubungkan oleh jembatan disulfida (Katzung, 2017).

Gen yang menyandi protein insulin yang terletak pada kromosom 11. Gen ini sudah diekspresikan di dalam sel beta Pankreas dan terbentuk dari untaian DNA yang mencakup daerah ekson dan intron. Pada manusia gen insulin memiliki tiga ekson yang terpisah oleh dua intron. Ekson 1 dan 2 mengode bagian mRNA yang tidak mengalami translasi, ekson 2 mengode sinyal peptida (P) dan rantai B, ekson 2 dan 3 mengode peptida C, dan ekson 3 mengode rantai A ditambah bagian mRNA yang tidak mengalami translasi.

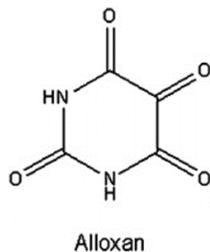
Sekresi insulin dari sel-sel beta pulau Langerhans diatur oleh sejumlah faktor, tetapi sinyal stimulasi yang dominan ialah peningkatan glukosa darah yang terjadi dengan mengonsumsi makanan yang mengandung karbohidrat. Selain glukosa yang merangsang terjadinya sekresi insulin pada sel beta secara langsung, hal ini dimungkinkan juga oleh fungsi potensial dari efektor lainnya seperti asam lemak bebas, asam amino, dan hormon inkretin (glucagon-like peptide-1,

GLP-1). Kesemuanya ini memerlukan tingkat ambang glukosa tertentu (biasanya 6 mM) untuk dapat berefek. Peningkatan glukosa darah meng-induksi peningkatan metabolisme glukosa dalam sel beta, sehingga terjadi peningkatan produksi ATP melalui beberapa sumber: glikolisis, oksidasi glukosa mitokondria, dan pengangkutan aktif ekuivalen reduksi dari sitosol ke rantai transpor elektron mitokondria (Banjarnahor, 2012).

## 2.4 Aloksan

Aloksan merupakan senyawa hidrofilik dan tidak stabil secara cepat dapat merusak pankreas. Mekanisme kerjanya diawali pengambilan cepat oleh sel beta Pankreas. Selanjutnya, aloksan mengalami siklus reduksi menjadi asam dialurat yang kemudian teroksidasi menjadi aloksan. Aloksan dan asam dialurat ini menentukan siklus redoks untuk membangkitkan radikal superoksida yang selanjutnya mengalami dismutasi menjadi hidrogen peroksida yang reaksinya berjalan spontan dan kemungkinan dikatalisis oleh superoksida dismutase. Salah satu target dari oksigen reaktif adalah DNA pulau Langerhans pankreas Selain itu akibat aloksan, terjadi gangguan pada homeostatis kalsium intraseluler.

Aloksan dapat meningkatkan konsentrasi ion kalsium bebas pada sel beta pankreas yang melalui mekanisme influks kalsium dari cairan ekstraseluler, mobilisasi kalsium dari simpanannya secara berlebihan, dan eliminasi yang terbatas dari sitoplasma. Influks kalsium mengakibatkan depolarisasi sel beta Pankreas yang kemudian membuka kanal kalsium dan semakin menambah masuknya ion kalsium ke sel. Pada kondisi tersebut, konsentrasi insulin meningkat sangat cepat, dan secara signifikan mengakibatkan gangguan pada sensitivitas insulin perifer dalam waktu singkat. Selain kedua faktor tersebut di atas, aloksan juga diduga berperan dalam penghambatan glukokinase dalam proses metabolisme energi (Ighodaro *et al.*, 2017).



Gambar 2.6 Struktur Kimia *Alloxan* (Lenzen, 2008).

## 2.5 Peranan RAGE Pada Diabetes

Hiperglikemia bertanggung jawab untuk 3 mekanisme patogenik dalam pembentukan produk akhir glikasi lanjut atau *advanced glycation endproducts* (AGEs), meningkatkan diasilgliserol, dan meningkatkan stress oksidatif, semuanya bertanggung jawab dalam peningkatan protein kinase C (PKC). AGEs adalah molekul yang terbentuk dari reaksi non enzimatis untuk mengurangi gula dengan kelompok bebas amino dari protein, lipid, dan asam nukleat. Produk awal tersebut (misal, prekursor AGE) bersifat reversibel, tergantung pada konsentrasi glukosa.

Konsentrasi glukosa yang tinggi akan menyebabkan pembentukan AGEs yang ireversibel, yang menimbulkan kerusakan seluler karena dapat berikatan silang dengan protein lain (protein *membrane basement*, protein matriks seluler, dan komponen dinding pembuluh darah), mengubah fungsi protein. Selain itu, AGE dapat berikatan dengan beberapa reseptor, menyebabkan *reuptake* ke dalam sel atau memulai aktivasi seluler dan peristiwa inflamasi oksidatif. PKC juga menstimulasi produksi faktor pertumbuhan mirip insulin, yang berhubungan dengan kerusakan mikrovaskuler dan, merusak sawar darah retina (Gadd *et al.*, 2010).

Bersamaan atau setelah, terjadinya aktivasi PKC maka akan terjadi stimulasi VEGF, yang penting untuk angiogenesis, selain meningkatkan permeabilitas vaskuler. Perlu diperhatikan, VEGF adalah suatu komponen endogen yang sangat menguntungkan. Efeknya secara normal diseimbangkan oleh faktor antiangiogenik. Kondisi diabetik mendestabilisasi keseimbangan antar kekuatan tersebut, yang memuluskan jalan untuk dimulainya neovaskularisasi. VEGF meningkat dalam cairan okuler pasien dengan penyakit yang mempunyai ciri hiperpermeabilitas dan neovaskularisasi, seperti pada retinopati diabetik (Amano *et al.*, 2003).

Hipoksia menstimulasi produksi VEGF mRNA. Pada beberapa model binatang untuk iskemia, ekspresi VEGF berkorelasi dengan neovaskularisasi. VEGF merupakan salah satu mediator kunci dari hiperpermeabilitas vaskuler dan neovaskularisasi. VEGF menstimulasi protein kinase C (PKC) dalam kondisi iskemia. PKC juga terstimulasi oleh beberapa mekanisme patogenik lain dalam kondisi hiperglikemik, terciptanya AGE, peningkatan diasilgliserol, dan peningkatan stress oksidatif. PKC adalah bagian dari sistem pembawa pesan kedua seluler, yang menghasilkan perubahan ekspresi gen dan fungsi protein (Amano *et al.*, 2003).

Hiperglikemia menyebabkan aktivasi jalur poliol, peningkatan formasi *advanced glycation end products* (AGEs), aktivasi diasilgliserol dari protein kinase C, dan peningkatan perlintasan glukosa pada jalur heksosamin. Mekanisme yang sama dapat terjadi di otak dan menimbulkan

perubahan pada fungsi kognitif yang terdeteksi pada pasien dengan diabetes. Mencit diabetik (HbA1c 32% vs. 12% pada mencit kontrol) yang menunjukkan gangguan kognitif ditemukan mengalami peningkatan ekspresi RAGE pada neuron dan sel glial serta kerusakan pada substansia alba dan myelin, menunjukkan kemungkinan adanya peran RAGE dalam perkembangan disfungsi serebral (Waisbourd *et al.*, 2011).

Hiperglikemia akibat diabetes memindahkan glukosa ke arah produksi khitin, maka kemungkinan akumulasi molekul tersebut dapat berperan pada abnormalitas kognisi. Hiperglikemia juga menyebabkan kerusakan organ akhir melalui peningkatan pada spesies oksigen reaktif (ROS), terutama superoksida, yang kemudian dapat mengakibatkan peningkatan aktivasi jalur poliol, peningkatan formasi AGE, aktivasi protein kinase C, dan peningkatan perlintasan glukosa pada jalur heksosamin. Faktor transkripsi faktor nuklir B, sebuah penanda gen proinflamasi yang di-up-regulasi oleh AGE, dan protein S-100, suatu penanda cedera otak yang dapat berikatan dengan RAGE, keduanya di-up-regulasi di dalam hipokampus pada percobaan binatang. Data menunjukkan bahwa stress oksidatif dapat memicu kaskade kerusakan neuronal (Jampol *et al.*, 2012).

Mekanisme inflamasi yang mendasari patologi vaskuler pada DM terjadi pada vaskular perifer dan sistem saraf pusat. Pembentukan produk akhir glikasi lanjut (AGEs) melalui glikasi protein darah merupakan konsekuensi dari hiperglikemia, dan mengakibatkan penurunan fungsi ginjal dan patologi pembuluh darah kecil. Akumulasi AGE dapat menginduksi inflamasi vaskuler melalui interaksi antara AGE dan reseptor spesifik AGE (RAGE). Aktivasi AGE dari RAGE endotel mendorong upregulasi molekul adhesi endotel termasuk molekul adhesi sel vaskuler-1 (VCAM-1) dan mengaktifkan faktor transkripsi faktor inti- B (NF-KB). VCAM-1 meningkatkan adhesivitas monosit dan permeabilitas vaskuler sedangkan NF-KB meregulasi berbagai gen target proinflamatorik dan proatherosklerotik pada sel endotel dan sel otot polos vaskuler juga pada makrofag (Bhitsitkul *et al.*, 2012).

Glikasi non enzimatis antara glukosa dan asam amino akan membentuk akumulasi *advanced glycation endproducts* (AGE). Adanya peningkatan 1% AGE akan memberi peluang terjadinya komplikasi mikrovaskuler sebesar 37%.

*Advanced glycation end products* akan menghasilkan berbagai efek merugikan melalui berbagai mekanisme. Pertama, pembentukan AGEs yang terjadi pada matriks ekstraseluler akan menyebabkan terjadinya ekspansi matriks dan selanjutnya akan menyempitkan lumen pembuluh

darah. Kedua, pembentukan AGEs yang terjadi pada intraseluler akan menginduksi stres oksidatif dan meningkatkan produksi anion superoksida pada mitokondria. Ketiga, AGEs yang berinteraksi dengan reseptornya (RAGE) akan mengaktifasi kaskade proinflamasi, protrombosis dan profibrosis (Waisbourd *et al.*,2011). Akumulasi AGE dalam jaringan akan menimbulkan berbagai efek merugikan, terutama jika AGEs berikatan dengan ligannya yaitu RAGE (Waisbourd *et al.*,2011).

Pembentukan AGEs yang cepat dan terus meningkat merupakan salah satu kelainan biokimia utama awal mula kelebihan pembentukan oksigen reaktif dari induksi hiperglikemia mitokondria pada species. AGEs berinteraksi dengan RAGE, *menginduksi pro-inflammatory, pro-adhesive*, dan signal perangsang pertumbuhan. Kerusakan pembuluh darah retina dalam diabetes mencerminkan perubahan permanen baik pada aktivitas transkripsi endothelial-born serta pada konsekuensi *intimate cellular cross-talk* dengan *pericytes* seperti pada respon-terhadap-luka ketika aktivasi glial. Dengan demikian, regulasi seluler pembentukan RAGE dalam diabetes dapat menyebabkan konsekuensi langsung pada komunikasi antar sel, termasuk peristiwa proliferasi dan apoptosis (Bhitsitkul *et al.*,2012; Nentwich MM, 2015 ; David JB, 2010)

Ikatan AGEs-RAGE mampu menginduksi disfungsi endotelium dan menyebabkan hiperpermiabilitas. Pada tingkat seluler, ikatan AGEs-RAGE dapat menginduksi aktivasi dan translokasi nuklear dari NF-KB, merupakan faktor transkripsi yang mampu berespon terhadap molekul adhesi pada endotel ataupun leukosit, yang akan menginisiasi terjadinya atherosklerosis dan gangguan vaskuler lainnya. Aktivasi NF-KB juga akan menginduksi aktivasi dari sitokin-sitokin proinflamasi. Aktivasi NF-KB juga berperan pada terjadinya apoptosis, karena menyebabkan peningkatan faktor proapoptosis bax (*bax-caspase protease pathway*). Ekspresi RAGE tergantung dengan jumlah NF-KB, yang merupakan respon umpan balik positif terhadap peningkatan ekspresi RAGE melalui interaksi AGE-RAGE (Bhitsitkul *et al.*, 2012).

## **2.6 Peranan VEGF Pada Diabetes**

*Vascular Endothelial Growth Factors* (VEGF) adalah bagian dari *Growth Factor* yang berfungsi sebagai sinyal protein untuk kedua vaskulogenesis (pembentukan *de novo* dari sistem peredaran darah embrio) dan angiogenesis (pertumbuhan pembuluh darah dari pembuluh darah yang sudah ada). VEGF disekresikan terutama dari epitel pigmen retina sel, pericytes, astrosit, sel Müller, sel glial, dan sel-sel endotel. VEGF memiliki beberapa anggota termasuk VEGF-A,

VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D dan *placental growth factors* (PGF). Sekresi VEGF terutama dipicu oleh keadaan hipoksia atau iskemia jaringan pada retina yang diakibatkan oleh mikroangiopati pada penderita DM.

Semua anggota VEGF merangsang respon seluler dengan mengikat reseptor kinase tirosin pada permukaan sel endotel, yang menjadikan molekul-molekul VEGF berdimerisasi dan menjadi aktif melalui jalur transfosforilasi. VEGF-A memiliki dua jenis reseptor: VEGF reseptor 1 (VEGFR-1 atau Flt-1) dan 2 (VEGFR-2 atau KDR). Pada manusia, VEGFR-1 adalah protein yang dikodekan oleh gen Flt-1 dan VEGFR-2 adalah *Kinase Domain Receptors* (KDR, tipe III reseptor tirosin kinase) yang dikodekan oleh gen KDR. VEGFR-2 tampaknya menjadi reseptor utama yang berperan dalam hampir semua respon seluler untuk VEGF-A. Reseptor VEGF memiliki tiga bagian: bagian yang ekstraseluler terdiri dari tujuh domain yang menyerupai imunoglobulin, satu rentang transmembran tunggal yang bersifat hidrofobik, dan bagian intraseluler mengandung sebuah pecahan domain tyrosine kinase. Ketika molekul VEGF mengikat bagian ekstraseluler dari reseptor VEGF, bagian intraseluler menyebabkan fosforilasi residu asam amino tirosin dan sinyal seluler tertransduksi. transduksi pada gilirannya ini menyebabkan riam jalur sinyal intraselular. Salah satu jalur yang diinduksi dalam sel dengan VEGF adalah protein kinase C (PKC) jalur. Jalur lainnya berkontribusi angiogenesis oleh sintesis oksida nitrat dan induksi proliferasi sel (Bhitsitkul *et al.*, 2012).

VEGF merupakan faktor penting patogenesis PDR dan DME, mempengaruhi permeabilitas kapiler retina dengan meningkatkan fosforilasi protein yang terlibat dengan *tight-junction* seperti seperti zonula occludens. Induksi VEGF mangaktifkan *mitogen-activated protein* (MAP), yang mengakibatkan proliferasi sel endotel. Kaskade ini bertepatan dengan aktivasi jalur *phophatidylinositol 3-kinase* (PI3)/Akt setelah induksi VEGFR-2.

VEGF-A merangsang sel-sel endotel untuk melepaskan matriks metaloproteinase (MMP) dan urokinase-type plasminogen activator, yang mengakibatkan degradasi membran basement dan membuat migrasi sel memungkinkan. Sel endotel yang diaktifkan menghasilkan integrin seperti  $\alpha\beta3$  dan  $\alpha\beta5$ , yang membantu dalam migrasi melalui matriks yang terdegradasi. Proliferasi dan migrasi sel endotel yang diikuti oleh sintesis membran basemen untuk membentuk kapiler baru. Stabilitas kapiler ini dicapai dengan perekrutan pericytes dan sel-sel otot polos yang diatur oleh *platelet-derived growth factor* (PDGF) (Petrovic *et al.*, 2005).

## 2.7. Mekanisme Biologis AGEs

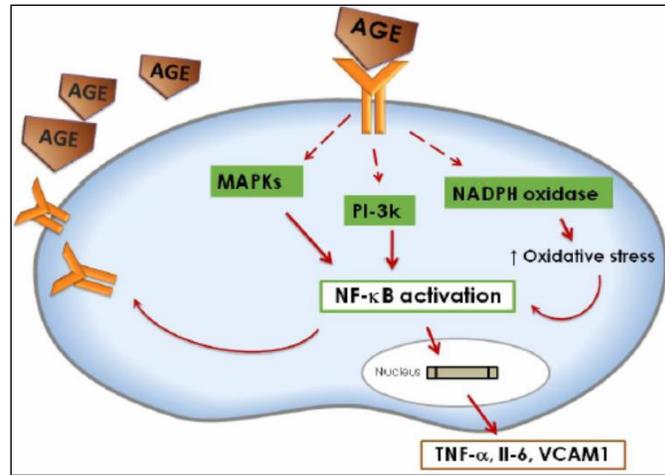
Penelitian menunjukkan bahwa AGEs, endogen maupun eksogen, bersifat merusak. Efek biologis AGEs terjadi melalui 2 mekanisme yang berbeda. Pertama adalah reaksi yang tidak tergantung reseptor, yaitu secara langsung menyebabkan perubahan struktur dan fungsi protein plasma dan matriks ekstraselular. Kedua adalah melalui reseptor yang disebut RAGE, yang akan meningkatkan stres oksidatif dan reaksi inflamasi (Ramprasad *et al.*, 2007).

AGEs/ALEs dapat memodifikasi kolagen dan protein lain dengan membentuk ikatan silang. Protein yang berumur panjang, seperti protein matriks ekstraselular dan membran basal pembuluh darah, paling rentan terhadap modifikasi AGEs. Penelitian telah menunjukkan bahwa penuaan manusia berhubungan dengan kekakuan jaringan yang kaya matriks ekstraselular dan protein berumur panjang, seperti otot rangka, tendon, sendi, tulang, jantung, arteri, paru, kulit, lensa mata dan myelin saraf. Pembentukan ikatan silang ini akan mengganggu kapasitas mekanik dari jaringan-jaringan ini (Olmos *et al.*, 2000).

## 2.8. Peran AGEs dan RAGE

AGEs meningkatkan stres oksidatif dan reaksi inflamasi melalui ikatan dengan reseptor AGEs, yang disebut Reseptor-AGE (RAGE). RAGE adalah suatu molekul immunoglobulin pada permukaan sel yang merupakan *multiligand receptor*, yang ditemukan pada banyak jaringan tubuh. RAGE paling banyak ditemukan di jantung, paru dan otot rangka. Jalur signal RAGE dapat diaktivasi oleh banyak *ligand* proinflamasi, termasuk *N-Carboxymethyl-lysine* (CML). Interaksi AGE dengan RAGE akan menyebabkan aktivasi jalur *mitogen-activated protein kinases* (MAPKs) dan *phosphatidylinositol-3 kinase* (PI3-K), yang kemudian akan mengaktivasi faktor transkripsi *nuclear factor kappa betha* (NFkB).

Setelah aktivasi, NFkB bergerak ke nucleus dan mengaktifkan transkripsi gen-gen untuk sitokin-sitokin, faktor-faktor pertumbuhan dan molekul-molekul adhesif, seperti TNF- $\alpha$ , IL-6 dan VCAM1. Aktivasi NFkB akan meningkatkan ekspresi RAGE, yang selanjutnya akan merangsang siklus yang meningkatkan produksi faktor-faktor pencetus inflamasi, sehingga terjadi inflamasi berkepanjangan (Sugasthalakshmi *et al.*, 2006).



Gambar 4. Proses selular dan sitokin-sitokin yang teraktivasi dengan adanya interaksi AGEs-RAGE.

Interaksi AGE-RAGE juga akan mengaktivasi NADPH oksidase, suatu kompleks enzim yang menghasilkan superoksida. Peningkatan aktivitas kompleks enzim ini akan meningkatkan stress oksidatif intraselular. Peningkatan stress oksidatif oleh NADPH oksidase selanjutnya juga akan mengaktifkan NFKB. Ekspresi RAGE pada jaringan normal adalah rendah, dan akan meningkat pada tempat-tempat dimana ada akumulasi ligand. Ekspresi RAGE yang berkepanjangan oleh sel-sel otot polos, endothelium, sel-sel mononuklear, dan sel-sel lain yang berada disekitar ligand, mengakibatkan aktivasi kronik inflamasi, disfungsi selular berkepanjangan, kerusakan jaringan dan pada akhirnya penyakit (Awata *et al.*, 2002).

## 2.9 Terapi Anti – AGEs

Akibat buruk dari AGEs dapat dihindari dengan mencegah penumpukan AGEs di jaringan dan mengatasi reaksi inflamasi dan oksidatif stress yang ditimbulkan oleh AGEs. Restriksi kalori, diet rendah glikotoksin, dan penggunaan bahan-bahan yang bekerja sebagai AGE inhibitor dan AGE breaker, dapat mencegah pembentukan dan penumpukan AGEs di jaringan tubuh.

Aminoguanidin adalah AGE-inhibitor yang pertama dan paling dikenal. Aminoguanidin menghambat gugus karbonil reaktif dari gula pereduksi dan sebagai *scavenger* senyawa intermediat  $\alpha$ -dikarbonil. Aminoguanidin juga mencegah terjadinya *cross-linking*, tapi aktivitas hambatannya terhadap pembentukan *AGE post-amadori* hanya sedikit.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa efek inhibisi antioksidan dalam pembentukan AGE terutama karena efek pencegahan terhadap jalur auto-oksidasi. Studi

epidemiologi menunjukkan bahwa konsumsi polifenol, terutama kelompok flavonoid, dapat menurunkan risiko penyakit-penyakit kronik, termasuk keganasan, penyakit kardiovaskular dan neurodegenerasi (Lorenzi *et al.*, 2007). Hong Y dan Song C melakukan penelitian dimana 30-40% peningkatan ekspresi RAGE dan VEGF dapat mempengaruhi komplikasi dari retinopati diabetik. Untuk mengurangi komplikasi pada retinopati diabetik maka untuk mengetahui

### Peta Jalan Penelitian

#### “Peran RAGE (*Receptor Advanced Glycation Endproducts*) Terhadap Respons Inflamasi dan Stres Oksidatif Pankreas Pada Tikus Putih Model Diabetes Melitus“

2020-2022					Uji Safety dan Formulasi
2020-2021				Penelitian Hibah Unggulan Kompetitif “Peran anti RAGE untuk Diabetes Melitus ”	
2018-2019			Penelitian Hibah Unggulan Kompetitif “Peran anti RAGE terhadap Inflamasi Retinopati ”		
2017		Penelitian Hibah Unggulan Kompetitif “Peran anti RAGE untuk Retinopati”			
2016	Penelitian Hibah Unggulan Kompetitif “Produksi Antibody anti RAGE“				
Luaran	Publikasi Jurnal Nasional Terakreditasi	Publikasi Jurnal Internasional	Publikasi Jurnal Internasional	Publikasi Internasional	Prosiding Seminar Int'l

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test only with control group design* untuk menilai Efektivitas Anti Inflamasi Daun Karamunting (*Rhodymyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) Terhadap Kerusakan Sel Beta Pankreas Dan Efek Protektif Terhadap Komplikasi Nefropati Diabetika Melalui Hambatan AGEs (*Receptor Advanced Glycation Endproducts*) Pada Tikus Model Diabetes

#### **3.2 Tempat dan Waktu Peneliti**

Penelitian ini dilakukan pada tikus model diabetes dan diteruskan pemeriksaan parameter laboratorik yang akan dilaksanakan pada bulan Februari-September 2020. Penelitian dilakukan di Laboratorium Animal, Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Bioteknologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya Palembang.

#### **3.3 Sampel Penelitian**

##### **3.3.1 Populasi dan Sampel**

Populasi adalah tikus jantan *Rattus norvegicus strain* Wistar. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan yang memenuhi kriteria sebagai berikut:

- Kriteria inklusi:
  - tikus wistar jantan umur minimal 2 bulan
  - berat badan 180 – 200 gram
  - sehat dan bersih.
  - dikeluarkan oleh lembaga yang bersertifikat
- Kriteria eksklusi :
  - tikus dengan kelainan anatomi
  - tikus yang tampak sakit/sekarat
  - tikus yang mati sebelum penelitian.

### 3.3.2 Besar Sampel Penelitian

Pengambilan subjek penelitian sebanyak 30 ekor tikus yang dilakukan secara *random sampling*. Jumlah sampel dan tiap kelompok perlakuan akan dihitung menggunakan rumus Federer  $(n-1)(t-1) \geq 15$ .

dengan

n = jumlah sampel

t = jumlah kelompok

maka :

$$(5-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$4n-4 \geq 15$$

$$4n \geq 19$$

$$N \geq 4,25$$

$$N \approx 5 \text{ ekor/kelompok}$$

### 3.3.3 Cara Pengambilan Sampel

Pada penelitian ini, cara pengambilan sampel yang dipakai adalah dengan cara acak dari tikus yang telah diinduksi dengan Alloxan.

## 3.4 Variabel Penelitian

### 1. Variabel Dependent

- kadar gula darah preinduksi
- Kadar Insulin plasma
- Kadar TNF- $\alpha$  dan IL-6
- Kadar AGEs
- Ekspresi RAGE di Ginjal, Pankreas dan Otak

### 2. Variabel Independent

- Kontrol negatif (-) Na CMC
- Kontrol positif (+) Glibenclamide
- Fraksi Air Daun karamunting dosis 100mg/kgBB

- Fraksi Air Daun karamunting dosis 200mg/kgBB
- Fraksi Air Daun karamunting dosis 400mg/kgBB
- Antibodi RAGE

### 3.5 Definisi operasional

No.	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
1.	Kadar glukosa darah	Kadar gula darah yang diukur dari darah yang diambil dari ekor tikus	Spektrofotometri	Glukosa diukur dari plasma menggunakan Kit tes GOD/PAP	mg/dL	Rasio
2.	Kadar insulin plasma	Kadar insulin plasma yang diukur dari darah yang diambil dari arteri orbitalis tikus	ELISA	Insulin diukur dari plasma darah tikus	U/mg	Rasio
3.	Kadar TNF- $\alpha$	Kadar TNF- $\alpha$ plasma yang diukur dari darah yang diambil dari arteri orbitalis tikus  Kadar TNF- $\alpha$ Pankreas diukur dari jaringan Pankreas Tikus	ELISA  IHK	TNF- $\alpha$ diukur dari plasma darah tikus  TNF- $\alpha$ diukur dari homogenat jaringan Pankreas yang diekstraksi	U/mg  Digital Image Analysis dengan software ImageJ	Rasio  Ratio
4.	Kadar IL-6	Kadar IL-6 plasma yang diukur dari darah yang diambil dari arteri orbitalis tikus	ELISA	IL-6 diukur dari plasma darah tikus	U/mg	Rasio

		Kadar IL-6 Pankreas diukur dari jaringan Pankreas Tikus	IHK	IL-6 diukur dari homogenat jaringan Pankreas yang diekstraksi	Digital Image Analysis dengan software ImageJ	Ratio
5.	Kadar AGEs	Kadar AGEs plasma yang diukur dari darah yang diambil dari arteri orbitalis tikus	ELISA	AGEs berupa diukur dari plasma darah tikus	U/mg	Rasio
6.	Ekspresi RAGE Pankreas	Kadar RAGE diukur dari Pankreas tikus	IHK	RAGE diukur dari homogenat jaringan Pankreas yang diekstraksi	Digital Image Analysis dengan software ImageJ	Rasio
7.	Ekspresi RAGE Ginjal	Kadar RAGE diukur dari Ginjal tikus	IHK	RAGE diukur dari homogenat jaringan Ginjal yang diekstraksi	Digital Image Analysis dengan software ImageJ	Rasio
8.	Ekspresi RAGE Otak	Kadar RAGE diukur dari Ginjal tikus	IHK	RAGE diukur dari homogenat jaringan Ginjal yang diekstraksi	Digital Image Analysis dengan software ImageJ	Rasio

### 3.6 Alat dan Bahan

#### 3.6.1 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah : elisa reader, ELISA Kit Insulin Plasma, TNF- $\alpha$  dan IL-6, Gluco-GOD/PAP, seperangkat alat *Rotary evaporator*, alat timbangan tikus, spuit, kapas, tisu, sarung tangan, masker, Erlemeyer glass, Beker glass, dll.

### 3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah :

- a. Daun karamunting yang di ambil di daerah Palembang.
- b. Aloksan Monohidrat
- c. Glibencamide (Sigma Aldrich)
- d. Air suling
- e. Etanol 70%
- f. Na CMC

### 3.7 Prosedur kerja

#### 3.7.1 Pemeliharaan Hewan Coba

Pemeliharaan hewan coba dilakukan di Laboratorium Animal House Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya dengan memperhatikan:

1. Tikus dipelihara dalam ruangan yang berventilasi cukup, dikandang masing-masing 2 ekor tikus dengan kandang berukuran 30 x 20 x 20 cm dialaskan dengan serbuk gergaji kayu dilengkapi dengan tempat makan dan tempat minum.
2. Suhu ruangan berkisar 28°-32°C
3. Makanan 2x sehari dan minuman diberikan secara *ad libitum* dalam bentuk pellet dan pakan tikus. Makanan tikus yang baik mengandung protein 20-25%, 5% lemak, karbohidrat 45-45%, serat kasar 5%, abu 4-5%, ditambah vitamin dan mineral setiap hari tikus dewasa diberi makan 12-20gr (Smith, 1988).

#### 3.7.2 Prosedur Pembuatan Fraksi Air Daun Karamunting

Sebanyak 500 g daun Karamunting di bersihkan dan dicuci sebentar untuk menghilangkan debu yang menempel pada daun. Daun Karamunting dikeringkan, lalu diekstraksi dengan etanol. Kemudian ekstrak etanol daun karamunting di fraksinasi dengan n-heksan dan air dalam corong pisah. Kocok secukupnya, kemudian sampel dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan n-heksan dan air. Lakukan sebanyak 3 kali.

Kemudian lapisan air di fraksinasi dengan etil-asetat, lakukan sebanyak 3 kali sehingga di peroleh lapisan air dan etil-asetat. Setelah itu, ambil semua fraksi air, kemudian diuapkan secara *in vacuo*.

### 3.7.3 Dosis Pada Fraksi Air Daun Karamunting

Takaran konversi dosis untuk manusia dengan berat badan 70kg pada tikus dengan BB 200gr menurut tabel konversi Laurance & Bacharah 1964 adalah 0,018, sehingga perhitungan dosis sebagai berikut:

#### - Dosis Glibenclamide

Dosis terapi Glibenclamide pada manusia adalah 5 mg. Takaran konversi dosis untuk manusia dengan BB 70 kg pada tikus dengan BB 200 gr adalah 0,018, maka dosis yang dipakai untuk tikus 200 gr adalah  $5 \text{ mg} \times 0,018 = 0,09 \text{ mg}/200 \text{ gr BB}$

#### - Dosis fraksi air daun Karamunting 0,1 g/kgBB

Dosis fraksi air daun Karamunting 250 mg/kgBB untuk tikus 200 gr  
 $200/1000 \times 100 = 20 \text{ mg}/200 \text{ gr BB}$

#### - Dosis fraksi air daun Karamunting 0,2 g/kgBB

Dosis fraksi air daun Karamunting 250 mg/kgBB untuk tikus 200 gr maka  $200/1000 \times 100 = 40 \text{ mg}/200\text{gr BB}$

#### - Dosis fraksi air daun Karamunting 0,4 g/kgBB

Dosis fraksi air daun Karamunting 250 mg/kgBB untuk tikus 200 gr maka  $200/1000 \times 400 = 80 \text{ mg}/200\text{grBB}$

#### - Dosis Alozan untuk menimbulkan keadaan tikus diabetes adalah 110 mg/kg BB

Dosis pada tikus 200gr =  $110 \times 200/1000 \text{ mg} = 22\text{mg}/ 200\text{gr BB}$

### 3.7.4 Pembuatan Larutan Natrium Carboxy Methyl Cellulose (Na CMC) 1%

- Timbang 2000 mg Na CMC, lalu gerus
- Masukkan air hangat ke dalam mortir ( $20 \times 2 \text{ gram} = 40 \text{ ml}$ )
- Taburkan Na CMC di atas air hangat tadi lalu biarkan sampai mengembang, lalu gerus sampai homogen.

### 3.7.5 Pembuatan Suspensi Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.)

- Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.)Hassk.) 100mg/kg BB, 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB:

- Timbang masing-masing 120 mg, 240 mg dan 480mg Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodymyrtus tomentosa (Ait.) Hassk.*) gerus homogen
- Tambahkan larutan Na CMC 1% sedikit demi sedikit
- Gerus homogen sampai terbentuk suspensi masing-masing 50 ml

### **3.7.6 Dosis Induksi aloksan**

Pada penelitian ini untuk menginduksi hiperglikemia pada hewan coba digunakan aloksan. Aloksan yang diberikan merupakan aloksan monohidrat yang akan diinjeksikan dengan cara intraperitoneal. Dosis pemberian aloksan sebanyak 110 mg/kg BB.

### **3.7.7 Suspensi Glibenclamide**

Kontrol positif pada penelitian ini menggunakan glibenclamide sebagai obat pembanding dengan dosis 195 mg/kgBB (dosis ini diambil berdasarkan penelitian terdahulu dimana dosis ini dapat menurunkan kadar gula.

Cara Pembuatan Suspensi glibenclamide (0,1%):

Sediaan yang dibuat 50 ml, maka glibenclamide yang dibutuhkan adalah:

- 1) Timbang 50 mg Glibenclamide
- 2) Campurkan massa Na-CMC 1% ke dalam massa Glibenclamide sedikit demi sedikit gerus ad homogen
- 3) Pindahkan kedalam alat ukur 50 ml kemudian tambahkan aquadest sedikit demi sedikit sampai tanda dan dikocok/diaduk sampai homogen.

Prosedur kerjanya sebagai berikut:

- 1) Tikus dipuasakan selama  $\pm$  8 jam tetapi tetap diberi minum
- 2) Dilakukan pengambilan darah setiap kelompok untuk mengetahui kadar glukosa darah puasa normal tikus
- 3) Dilakukan Pengukuran kadar insulin plasma pada darah tikus menggunakan ELISA kit insulin plasma
- 4) Disuntikkan diabetogen berupa aloksan monohidrat dengan dosis 110 mg/kg BB secara intraperitoneal pada setiap kelompok tikus kecuali kelompok 5

- 5) Setelah 3 hari pemaparan, ukur kadar glukosa darah puasa setiap tikus yang diinduksi aloksan. Hewan uji dengan kadar glukosa darah puasa lebih besar dari 180 mg/dl digunakan untuk perlakuan selanjutnya.
- 6) Tikus dengan kadar gula darah puasa lebih dari 180 mg/dl dibiarkan selama 2 minggu dengan akses minum dan makan secara bebas. Pada hari ke-14, diukur kembali kadar gula darah puasa dan kadar insulinnya.
- 7) Kemudian diberi suspensi ekstrak air daun kersen secara oral sebagai berikut:
  - a) Kelompok I diberi suspensi glibrnclamide 195 mg/kgBB
  - b) Kelompok II diberi suspense Fraksi Air Daun Karamunting dengan dosis 100 mg/kgBB
  - c) Kelompok III diberi suspensi Fraksi Air Daun Karamunting dengan dosis 200 mg/kgBB
  - d) Kelompok IV diberi suspensi Fraksi Air Daun Karamunting dengan dosis 400 mg/kgBB
  - e) Kelompok V hanya diberi suspensi Na CMC 1%

### **3.8 Cara pemeriksaan kadar gula darah 2 jam post prandial**

Tikus yang dipuasakan diberikan gula Dextrose 10% dan kemudian setelah makan diukur kadar gula darah 2 jam postprandial, hari ke 15 perlakuan

- a. Tikus diinduksi dengan ketamine 10% cc intramuskular
- b. Darah vena diambil dari sinus orbitalis sekitar 1ml dengan menggunakan tabung dan mikro kapiler.
- c. Darah yang keluar ditampung pada tabung dan dilakukan sentrifuge 3000 rpm selama 20 menit. Serum bagian atas diambil 100 µl, lalu diperiksa dengan alat Spektrophotometer dengan menggunakan metode GOD-PAP dan didapatkan kadar gula darah tikus putih dengan satuan mg/dl.

### **3.9 Cara pemeriksaan Kadar Insulin plasma**

Kadar insulin plasma dinilai setelah proses pengambilan darah dari arteri a tikus dilakukan. Metode yang akan dilakukan adalah ellisa dengan menggunakan elisa kit untuk insulin plasma. Tahapan pemeriksaan sampel:

- a. Pada *well* 1 masukkan 100 µl standard solution dan 50 µl standard dilusion buffer. Pada *well* 2 masukkan 100 µl solution dari *well* 1 ditambahkan dengan 50 µl standard *dilusion buffer*. Selanjutnya 50 µl solution dari *well* 2 dibuang. Pada *well* 3 masukkan 50 µl *solution* dari

*well 2* ditambah 50  $\mu$ l standard dilution buffer. Pada *well 4* masukkan 50  $\mu$ l *solution* dari *well 3* ditambah dengan 50  $\mu$ l *solution* dari *well 4* kemudian 50  $\mu$ l standar *dilution buffer* lalu dilakukan pembuangan sebanyak 50  $\mu$ l. Setiap pencampuran dilakukan dengan menggunakan *shaker*.

- b. Masukkan 40  $\mu$ l sampel *dilution buffer* dan 10  $\mu$ l (supernatan jaringan) tanpa menyentuh dinding *well*. Lakukan pencampuran dengan mode *shaking*.
- c. Tutup *plate* dengan pelapis yang sudah tersedia, lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C.
- d. Lakukan pengenceran dengan *washing buffer* dengan akuadest 30 kali.
- e. Pencucian dilakukan setelah tutup *membrane* dibuka, lalu dicuci dengan menggunakan *washer ellisa plate* pencucian dilakukan dalam 30 detik setelah pengisian larutan *washing buffer*. Proses pencucian dilakukan sebanyak 5kali.

### **3.10 Evakuasi Pankreas Hewan Coba**

Pisahkan kepala tikus putih dari tubuh. Buat insisi pada *costa XII*. Buka tulang *costae* hewan coba secara hati-hati, jangan sampai merusak jaringan sekitar. Evakuasi Pankreas hewan coba, kemudian masukkan ke dalam PBS dengan volume 10 x dari volume guna dibuat sediaan histologis blok parafin.

### **3.11 Pembuatan Sediaan Histologis**

Pembuatan sediaan histologis melalui empat proses yaitu dehidrasi, *clearing embedding*, dan *sectioning*. Proses dehidrasi dilakukan secara bertahap dengan menggunakan alkohol bertingkat, dimulai dari alkohol pada konsentrasi 70%, 80%, 95% hingga sampai ke tingkat alkohol absolut (99%) dan alkohol-toluene.

Volume alkohol sepuluh kali volume jaringan. Pada masing-masing konsentrasi, jaringan sampel dimasukkan selama 15 menit, masing-masing konsentrasi diulang sebanyak 3 kali. Proses *clearing* menggunakan larutan *Xylol (Xylene)*. Jaringan sampel dimasukkan ke dalam larutan *xylol* selama 30 menit hingga jaringan sampel berubah warna menjadi agak kekuningan.

Selanjutnya, jaringan sampel dimasukkan ke toluene-parafin jenuh selama 12 jam, kemudian masukkan ke parafin cair, lalu dilakukan *embedding*. Pemotongan jaringan sampel dilakukan dengan *rotary sectioning*.

### 3.12 Pemeriksaan Imunohistokimia TNF alpha, IL-6 dan ROS

Adapun langkah untuk imunohistokimia :

#### I. Deparafinisasi

- Xylene 2 x 10 menit
- Ethanol absolut 2 x 5 menit
- Ethanol 90% 1 menit
- Ethanol 80% 1 menit
- Ethanol 70% 1 menit

#### II. Bloking peroksidase

- 0,3% peroksida 15 menit
- Cuci dengan akuades
- Cuci dengan PBS 3 x 5 menit

#### III. Antigen Retrieval

- Antigen retrieval dengan pemanasan dalam citric buffer 4 x 5 menit
- Dinginkan sampai mencapai suhu kamar
- Cuci dengan PBS 3 x 5 menit

#### IV. Bloking non spesifik binding

- Ultra V Blok 10 menit

#### V. IHC staining proper

- Antibodi primer anti VEGF dan RAGE 1:1000 dalam PBS 10 menit
- Cuci dengan PBS 3 x 5 menit
- Biotynilated link antibody 10 menit
- Cuci dengan PBS 3 x 5 menit
- Streptavidine peroksidase 10 menit
- Cuci dengan PBS 3 x 5 menit

#### VI. Pewarnaan

- DAB chromogen (1:50 dalam substrate) 15 menit
- Cuci dengan akuadest

#### VII. Counterstain

- Hematoxylin selama 15-20 detik

- Cuci dengan air mengalir

#### VIII. Dehidrasi

Ethanol 50%

Ethanol 70%

Ethanol 80%

Ethanol 90%

Ethanol 95%

Ethanol absolute

Xylene I,II,III selama 3 x 3 menit

#### IX. Mounting

### **3.13 Penilaian Aktivitas Sitokin Inflamasi dan Stres Oksidatif dengan *Digital Image Analysis***

Aktivitas akan dinilai pada area retina dengan imunohistokimia. *Digital image analysis* digunakan untuk menganalisis aktivitas protein dengan program imagej. Selanjutnya, akan dilakukan penilaian persentase area yang terwarnai oleh TNF alpha, IL-6, dan ROS.

### **3.14 Analisis Statistika**

Analisis statistika dilakukan dengan program SPSS 16. Untuk analisis ekspresi TNF alpha, IL-6, dan AGEs, efektivitas fraksi air karamunting dilakukan dengan secara bivariat dan multivariat dengan signifikansi  $P < 0,05$ . Penentuan keberhasilan model tikus diabetes dilakukan dengan cara menguji rerata kadar gula darah puasa sebelum dan sesudah induksi aloksan pada masing-masing kelompok dengan menggunakan uji T berpasangan (paired t test). Untuk melihat ada tidaknya perbedaan efektifitas antara glibenclamide dan ekstrak air daun Karamunting menggunakan uji T tidak berpasangan. Untuk mengetahui efektivitas dari Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hssk.) menggunakan Paired T Test. Untuk menguji efektivitas kelima kelompok bersamaan dilakukan One Way Anova. Uji kesesuaian dosis antara ekstrak dan obat dilakukan dengan post Hoc Test. Untuk mempermudah menganalisa data menggunakan SPSS versi 18.

### **3.15 Parameter Keberhasilan**

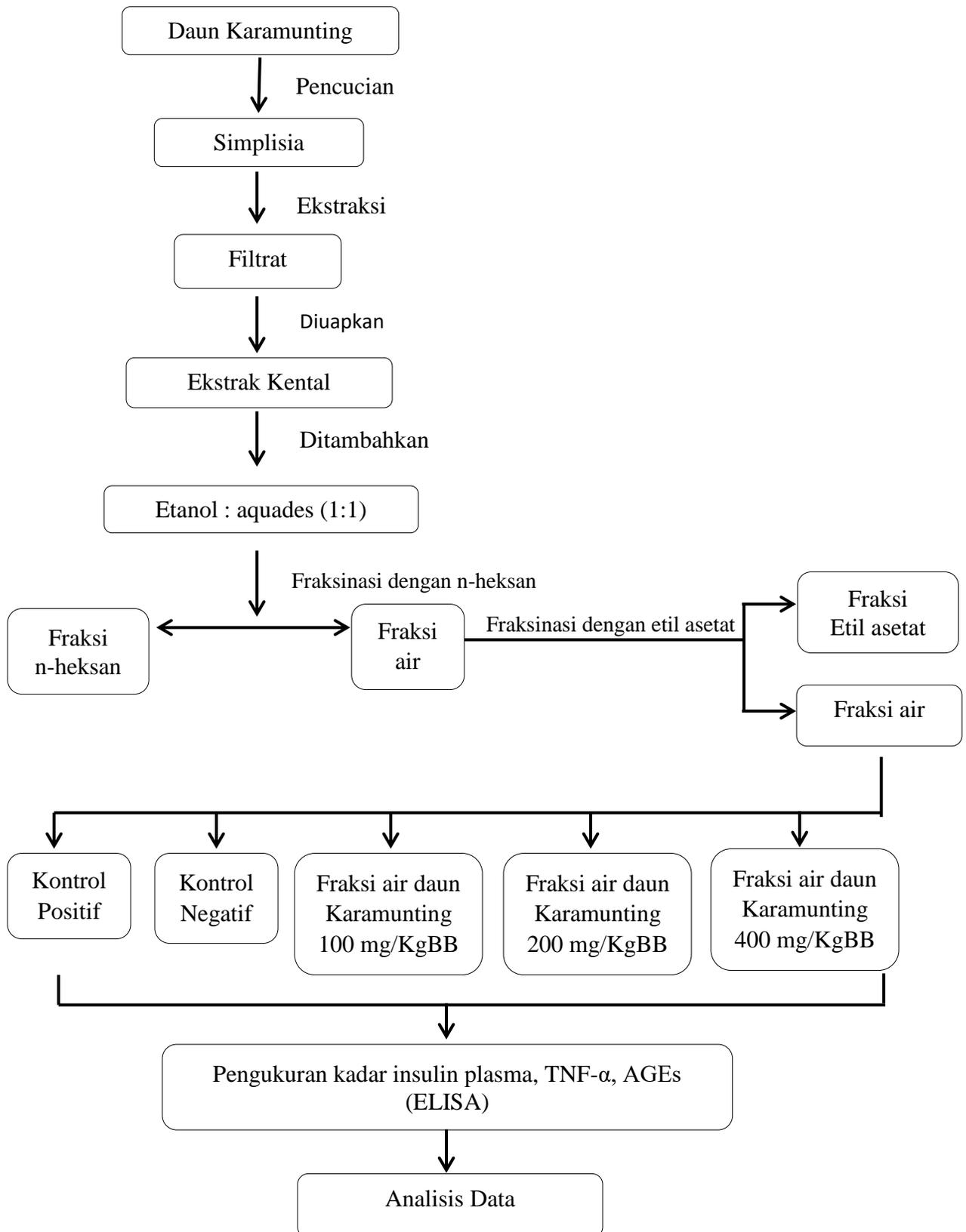
#### **3.15.1 Keberhasilan Tikus Model Diabetes**

Parameter keberhasilan induksi model diabetes jika terjadi perbedaan signifikan kadar gula darah puasa sebelum dan sesudah diinduksi aloksan.

#### **3.15.2 Keberhasilan Perlakuan**

Parameter keberhasilan pengujian efektifitas Fraksi Air Daun Karamunting adalah apabila terjadi penurunan secara signifikan persen rerata kadar gula darah puasa *posttest* dibanding dengan rerata persen kadar gula darah puasa *pretest*. Perbedaan secara signifikan kadar rerata insulin plasma, kadar TNF- $\alpha$ , IL-6, AGEs, ekspresi RAGE tiap kelompok tikus setelah perlakuan.

## Alur Penelitian



## **BAB IV HASIL PENELITIAN**

Telah dilakukan penelitian untuk: 1) menilai efektivitas fraksi air daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) terhadap penurunan kadar gula darah dan meningkatkan kadar insulin tikus diabetes dibandingkan Glibenclamide, 2) menilai pengaruh pemberian fraksi air daun Karamunting terhadap kadar HbA1c, AGEs, dan TNF-pada tikus putih model diabetes, 3) menilai pengaruh pemberian fraksi air daun Karamunting pada gambaran histopatologi ginjal tikus model diabetes.

### **1. Efektivitas Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk.) Terhadap Kadar Gula Darah dan Insulin Dibandingkan Glibenclamide Pada Tikus Putih Model Diabetes**

Tikus Wistar jantan dengan berat rata-rata  $224 \pm 12,4$  mg diinduksi mengalami hiperglikemia dengan memberikan Streptozotocin (STZ) dengan dosis 55 mg/kg BB dalam bentuk solution STZ dalam citrate buffer (0.1 M, pH 4.5) dan diinjeksikan intraperitoneal. Kelompok kontrol non-diabetes disuntik intraperitoneal dengan citrate buffer (0.1 M, pH 4.5). Setelah tujuh hari diinduksi dengan STZ dilakukan pengukuran kadar gula darah puasa yang diukur dengan Spectrophotometer (Biorad). Tikus putih yang kadar glukosa darah lebih dari 200 g/dL dikategorikan sebagai tikus diabetes.

Potensi pengaruh fraksi air daun Karamunting terhadap pengeturan gula darah, hemoglobin terglukosilasi (HbA1c) dan sekresi Insulin dari Pankreas dapat dilihat di tabel 1.

Tabel 1. Efek Fraksi Air Daun Karamunting Terhadap Regulasi Glukosa Pada Tikus Wistar Model Diabetes

Group	Glukosa Darah (mg//dL)		HbA1c (ug/mL)		Insulin (uIU/mL)	
	Hari-1	Hari-30	Hari-1	Hari-30	Hari-1	Hari-30
1	89.9±6.87	87.8±5.37	3.9±0.17	3.8±0.27	188.2±15.32	188.1±16.65
2	389.9±26.71	399.9±28.27	12.8±0.82	12.9±0.65	32.8±0.11	32.9±0.13
3	382.2±21.13	181.3±11.27*	12.5±0.76	7.8±0.23*	32.4±0.21	123.1±10.12*
4	384.3±23.21	299.2±24.57*	12.3±0.43	10.1±0.95*	32.3±0.12	87.8±4.65*
5	383.2±27.97	197.3±16.47*	12.9±0.68	7.9±0.44*	32.1±0.22	124.3±10.12*
6	386.6±26.57	169.9±10.22*	12.6±0.77	6.9±0.33*	32.3±0.23	132.9±11.22*

\*ANOVA, Post hoc Bonferroni,  $p < 0,05$  terhadap Group 2

Keterangan:

Kelompok 1: kelompok tikus putih non diabetes

Kelompok 2: kelompok tikus putih yang diinduksi menjadi diabetes tanpa pengobatan

Kelompok 3: kelompok tikus putih yang diinduksi menjadi diabetes dan mendapat Glibenclamide 5 mg/kgBB selama 30 hari

Kelompok 4: kelompok tikus putih yang diinduksi menjadi diabetes dan mendapat fraksi Karamunting dosis 5 mg/kgBB selama 30 hari

Kelompok 5: kelompok tikus putih yang diinduksi menjadi diabetes dan mendapat fraksi Karamunting dosis 10 mg/kgBB selama 30 hari

Kelompok 6: kelompok tikus putih yang diinduksi menjadi diabetes dan mendapat fraksi Karamunting dosis 20 mg/kgBB selama 30 hari

Tabel 1 memperlihatkan potensi fraksi Karamunting dalam mempengaruhi pengaturan kadar gula darah tikus putih galur Wistar. Pengaruh yang sama juga terlihat pada perbedaan kadar hemoglobin terglukosilasi (HbA1c). Pada pengukuran sekresi Insulin tampak terjadi peningkatan yang berkorelasi dengan pengaturan kadar glukosa darah pada tikus putih model diabetes.

## 2. Pengaruh Pemberian Fraksi Air Daun Karamunting Terhadap Ekspresi AGEs dan TNF-Alfa Pada Ginjal Tikus Putih Model Diabetes.

Karamunting juga mempunyai kemampuan menghambat perikatan AGEs dan menekan ekspresi TNF-alfa di nefron ginjal tikus putih Wistar model diabetik sebagaimana terlihat pada tabel 2.

Tabel 2. Efek Ekstrak Daun Karamunting Terhadap Ekspresi AGEs dan TNF-alfa

Kelompok Perlakuan	AGEs (pg//mL)	TNF-alfa (pg//mL)
Kelompok 1	17.7±1.37	89.9±7.76
Kelompok 2	989.9±58.74	1221.4±87.65
Kelompok 3	198.3±16.23*	453.6±32.23*
Kelompok 4	249.6±21.27*	567.8±43.15*
Kelompok 5	193.3±15.57*	447.2±40.41*
Kelompok 6	169.9±13.92*	398.8±34.93*

\*ANOVA, pos hoc Bonferroni,  $p < 0,05$  VS Group 2

### Keterangan:

Kelompok 1: kelompok tikus putih non diabetes

Kelompok 2: kelompok tikus putih yang diinduksi menjadi diabetes tanpa pengobatan

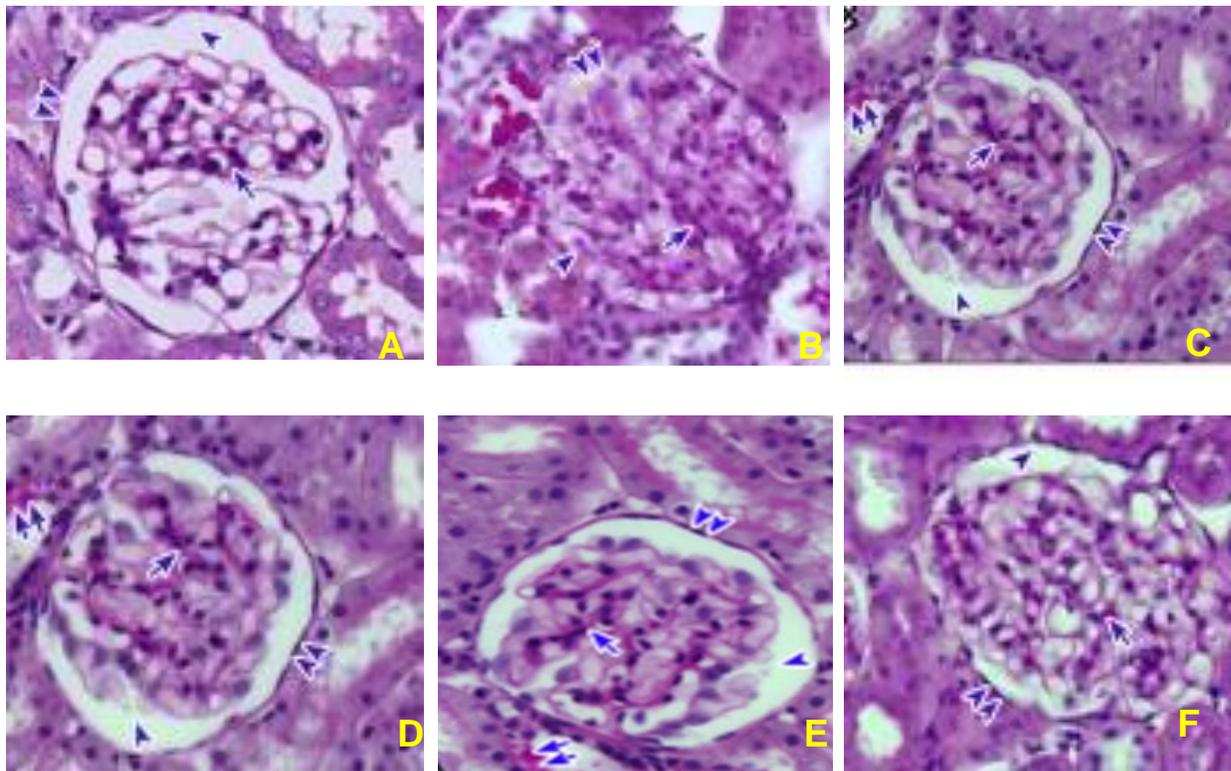
Kelompok 3: kelompok tikus putih yang diinduksi menjadi diabetes dan mendapat Glibenclamide 5 mg/kgBB selama 30 hari

Kelompok 4: kelompok tikus putih yang diinduksi menjadi diabetes dan mendapat fraksi Karamunting dosis 5 mg/kgBB selama 30 hari

Kelompok 5: kelompok tikus putih yang diinduksi menjadi diabetes dan mendapat fraksi Karamunting dosis 10 mg/kgBB selama 30 hari

Kelompok 6: kelompok tikus putih yang diinduksi menjadi diabetes dan mendapat fraksi Karamunting dosis 20 mg/kgBB selama 30 hari

Perbandingan Gambaran Histopatologi Glomerulus, Kapsula Bowman dan Sel Mesangial Tikus Putih Galur Wistar Model Non Diabetes, Diabetes dengan Terapi Glibenclamide dan Karamunting



Gambar 1. Histological overview of kidney tissue. PAS Staining. A: group 1, B: group 2, C: group 3, D: group 4, E: group 5, F: group 6. Glycogen deposition (double arrows), Bowman's capsule (double arrowheads), Bowman's space (arrowhead), mesangial area (arrow). 400x magnification.

Pada gambaran histopatologi tampak fraksi Karamunting dapat mencegah deposisi AGEs di jaringan ginjal yang pada akhirnya mencegah terjadinya peradangan dan kerusakan ginjal lebih lanjut

Tabel 3. Fitokimia Fraksi Karamunting

Test Material	Saponin	Alkaloid	Triterpenoid	Steroid	Flavonoid
Fraksi Air	+	+	+	+	+++

Fraksi air Karamunting banyak mengandung flavonoid yang diketahui mempunyai

potensi sebagai antioksidan yang potensial. Flavonoid merupakan metabolit primer dan sekunder yang diprediksi berperan dalam menghambat inflamasi dan oksidan yang diinduksi akumulasi AGEs pada berbagai jaringan yang berakibat terjadinya komplikasi DM.

## Daftar Pustaka

Amano S, Yamagishi S, Koda Y, Tsuneoka M, Kimura H. Polymorphism of sorbitol dehydrogenase (SDH) gene and susceptibility to diabetic retinopathy. *Medical Hypotheses*. 2003; 60(4): 550-551.

American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2019. *Diabetes Care* 2019; 42(Suppl.1):S13-S28

Andi Early Febrinda, Made Astawan., Tutik Wardiyati., Nancy Dewi Yuliana. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan* 2013; 24(2):161-167

Awata T, et al. A Common Polymorphism in the 5'-Untranslated Region of the VEGF Gene is Associated With Diabetic Retinopathy in Type 2 Diabetes. *Diabetes*. 2002; 5:1635-1639.

Banjarnahor E, Wangko S. Sel Beta Pankreas Sintesis dan Sekresi Insulin. *Jurnal Biomedik* 2012; 4(3):156-162.

Bhitsitkul RB. Alternative anti VEGF treatment regiment in exudative ARMD. <http://www.medscape.com/viewarticle/734224>.

David J Browning. *Diabetic Retinopathy: Evidence-Based Management*. Springer New york. 2010; 1:12-105.

Decroli Eva. 2019. *Diabetes Mellitus type 2*. Pusat Penerbitan Bagian Ilmu Penyakit Dalam. Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang.

Gadd S. What is VEGF. <http://www.wisegeek.com/what-is-anti-vegf.htm>.

Geetha, Kannoth Mukundan., Vinaykumar Patil., Vedigounder Murugan. *Hepatoprotective Activity of Aqueous Alcoholic (70%) Extract of Rhodomyrtus tomentosa (Aiton.) Hssk.) Against Antitubercular Drugs Induced Hepatic Damage*. *International Journal of Green Pharmacy*, 2012; 6(4):295-298

Hamid, Hazrulrizawati Abd., Senait Sileshi Zeyohannes Roziasyahira Mutazah., Mashitah M Yusoff. *Rhodomyrtus tomentosa: A Phytochemical and Pharmacological Review*. *Asian J Pharm Clin Res* 2017;10(1):10-16.

Hasibuan, Rosmidah., Syafruddin Ilyas., Saleha Hanum. 2015. *Effect of Leave Extract Haramonting (Rhodomyrtus tomentosa) to Lower Blood Sugar Level in Mice Induced Alloxan*. *International Journal of Pharmtech Research* 2015; 8(6) 284-291

Ighodaro, Osasenaga Macdonald., Abiola Mohammed Adeosun., Oluseyi Adeboye Akinloye. 2017. *Alloxan Induced Diabetes, a Common Model for Evaluating The Glycemic-Control Potential of Therapeutic Compounds and Plants Extract in Experimental Studies*. *Medicina* 2017; 53(6):365-374.

Jampol L M. Debate over the use of Anti VEGF therapy in retinal disease. <http://www.medscape.org/viewarticle/518884>.

- Katzung, B. G. Basic and Clinical Pharmacology. 14-th edition, 2017. Mc Graw Hill Lange
- Lenzen, S.. The Mechanisms of Alloxan and Streptozotocin Induced Diabetes. *Diabetologia* 2008; 51:216-226.
- Lukacinova *et al.* 2008. Preventive Effect of Flavonoid on Alloxan Induced Diabetes Mellitus in Rats. *ACTA VET. BRNO* 2008; 77:175-182.
- Nentwich MM, Ulbig MW. Diabetic retinopathy–ocular complications of diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes* 2015; 6(3):489-499.
- Olmos P, et al. (AC)23 (2-2) Polymorphism of the aldose reductase gene and fast progression of Retinopathy in Chilea type 2 Diabetics. *Diabetes Res. Clin-Pract.* 2000; 47:169-176.
- Perkeni, 2015. *Konsensus Pengelolaan dan Pencegahan Diabetes Mellitus tipe 2 di Indonesia*. Penerbit PB. PERKENI.
- Petrovič MG, Borut Peterlin, Marko Hawlina, Daniel Petrovič. Aldose Reductase (AC) gene polymorphism and susceptibilty to diabetic retinopathy in type 2 diabetes in Caucasians. *J Diabetes Complicat.* 2005; 19:70-73.
- Ramprasad S, et al. Rege gene promoter polymorphism and diabetic retinopathy in a clinic-based population from South India. *Eye.* 2007; 21:395-401.
- Saleh Irsan Mgs, Parisa N, Maristka Z. The Development of Prototype Polyclonal Antibody of Receptor Advanced Glycation of Endproducts (RAGE). *Bio Sc Med* 2018; 2(1):34-40,
- Shahab, Alwi. 2017. *Dasar-Dasar Endokrinologi*. Penerbit Rayyana Komunikasindo.
- Sinata, Novia., Helmi Arifin. Antidiabetes dari Fraksi Air Daun Karamunting (*Rhodomlyrtus tomentosa* (Ait.) Hssk.) Terhadap Kadar Glukosa Darah Mencit Diabetes. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis* 2016; 3 (1):72-78.
- Sugasthalakshmi B, et al. Association of VEGF and eNOS gene polymorphism in type 2 diabetic retinopathy. *Mol. Vis.* 2006; 12:336-341.
- Sutomo, Arnida., Febri Hernawati., M. Yuwono. 2010. *Kajian Farmakognostik Simplisia Daun Karamunting (Rhosomyrtus tomentosa) Asal Pelaihari Kalimantan Selatan*. *Sains dan Kimia Terapan* 2010; 4(1): 38 – 50
- Waisbourd M, Goldstein M, Loewenstein. Treatment of diabetic retinopathy with anti VEGF drugs. *J Acta Ophthalmol*, 2011. Vol 89: 2003-7. [http://www.retinalphysician.com/articleviewer.aspx?articleid=1018\\_98](http://www.retinalphysician.com/articleviewer.aspx?articleid=1018_98) Accessed May15, 2012.
- WHO. 2012. *Diabetes Fact Sheet*. Department of Sustainable Development and Healthy Environment.
- WHO. 2019. *Classification of Diabetes Mellitus: Geneva; 2019*. Cataloguing inPublication data, <http://apps.who.int/iris>

## ANGGARAN

### I. Bahan Penelitian

No.	Nama Barang	Jumlah	Harga Satuan (Rp)	Total Harga (Rp)
1.	Rat Insulin ELISA kit	30	800.000	16.100.000
2.	Gluco DR	120	50.000	6.000.000
3.	Rat AGEs ELISA kit	30	600.000	15.000.000
TOTAL				37.100.000

### II. ATK

No.	Nama Barang	Jumlah	Harga Satuan (Rp)	Total Harga (Rp)
1.	Kertas HVS A4	2 RIM	50.000	100.000
2.	Tinta Printer Black	2 buah	250.000	500.000
3.	Tinta Printer Color	1 buah	300.000	300.000
TOTAL				900.000

### III. Publikasi

No.	Nama Barang	Jumlah	Harga Satuan (Rp)	Total Harga (Rp)
	Publikasi	1	17.000.000	17.000.000
TOTAL				17.000.000

**Total : Rp. 55.000.000 (Lima Puluh Lima Juta Rupiah)**

## JADWAL KEGIATAN

Kegiatan	Jan	Feb	Mar	Apr	Mei	Jun	Jul	Aug	Sep	Okt	Nop	Des
Pengumuman Proposal												
Revisi Proposal												
Pengumpulan Data												
Pengolahan dan Data Analisis												
Penyusunan Laporan												
Monitoring-Evaluasi												
Seminar												

## LUARAN YANG DIHASILKAN

No	Luaran	Capaian
1.	Jurnal Internasional Terindeks Scopus Q2	Under Reviewed
2.	HAKI	Draft
3.	International Seminar	Submit