



Dr. dr. Jekson Martiar Siahaan, M.Biomed., AIFO-K
Tengku Muhammad Fauzi, S.Si., M.Kes., AIFO
Prof. Dr. dr. Hadyanto Lim, M.Kes., Sp.FK., FESC., FIBA., FAHA

MONOGRAF

Khasiat Labu Siam Mengobati Diabetes



Editor

Prof. Dr. dr. Gusbakti Rusip, MSc., Sp KKLK., PKK., AIFM., AIFO-K

Dr.dr. Endi Juli Anto, M.KT., AIFO-K

Dr.dr. Hendrika A. Silitonga, M.Kes., AIFO-K

dr. Eka Samuel P. Hutasoit, Sp.OG., M.M

MONOGRAF

KHASIAT LABU SIAM

MENGOBATI DIABETES

Penulis

Dr.dr. Jekson Martiar Siahaan, M.Biomed.,AIFO-K
Tengku Muhammad Fauzi, S.Si., M.Kes., AIFO
Prof. Dr. dr. Hadyanto Lim, M.Kes., Sp.FK., FESC., FIBA., FAHA

Editor

Prof. Dr. dr. Gusbakti Rusip, MSc., Sp KKLK., PKK., AIFM., AIFO-K
Dr.dr. Endi Juli Anto, M.KT., AIFO-K
Dr.dr. Hendrika A. Silitonga, M.Kes., AIFO-K
dr. Eka Samuel P. Hutasoit, Sp.OG., MM



Penerbit Yayasan Wiyata Bestari Samasta
Cirebon, 2022

Monograf Khasiat Labu Siam Mengobati Diabetes

vii + 90 hlm; 15,5 x 23 cm

ISBN: 978-623-88297-3-6

Penulis : Jekson Martiar Siahaan, Tengku Muhammad Fauzi, Hadyanto Lim

Editor : Gusbakti Rusip, Endi Juli Anto, Hendrika A. Silitonga, Eka Samuel P. Hutasoit

Tata Letak : Fidy Arie Pratama

Desain Sampul : Farhan Saefullah

Cetakan 1 : November 2022

Copyright © 2022 by Penerbit Yayasan Wiyata Bestari Samasta
All rights reserved

Hak Cipta dilindungi Undang-Undang No 19 Tahun 2002.

Dilarang memperbanyak atau memindahkan sebagian atau seluruh isi buku ini dalam bentuk apapun, baik secara elektris maupun mekanis, termasuk memfotocopy, merekam atau dengan sistem penyimpanan lainnya, tanpa izin tertulis dari Penulis dan Penerbit.

Isi di luar tanggung jawab percetakan

Penerbit Yayasan Wiyata Bestari Samasta
Anggota IKAPI

Jl. Sumadinata 22 Cirebon – Jawa Barat Indonesia 45151

Cirebon Telp. 085724676697

e-mail: wbsamasta@gmail.com

Web : <http://wbs-indonesia.com/>

KATA PENGANTAR

Segala pujian dan syukur, penulis panjatkan kepada Adonai pencipta langit dan bumi atas kasih setiaNya sehingga kami diberikan berkat pengetahuan untuk menyelesaikan buku **“Monograf Khasiat Labu Siam Mengobati Diabetes”** sebagai luaran wajib hibah DRTPM tahun 2022 dengan judul proposal **“Efektifitas Antiapoptosis dan Sekresi Insulin Buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) Sebagai Kandidat Bahan Baku Obat”** dengan nomor kontrak **057/LL1/lt/k/2022, 453/N/LPPM-UMI/2022** dapat diselesaikan dengan baik.

Monograf ini disusun sistematis, ringkas dan sederhana berdasarkan hasil penelitian yang sudah dilakukan agar pembaca baik kalangan medis maupun non medis dapat memahami dampak penggunaan Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) untuk menurunkan kadar gula darah dengan berbagai mekanisme biomolekuler yang sedang diteliti, dimana penggunaan bahan alam yang mengandung zat aktif yang memiliki efek farmakologis juga perlu menjadi perhatian agar dapat diteliti lebih lanjut sehingga dapat menjadi kandidat bahan baku obat yang nantinya menjadi fitofarmaka. Harapan kami dengan terpublikasinya buku ini maka semakin bertambah khazanah ilmu pengetahuan sekaligus menjadi stimuli bagi rekan - rekan dosen untuk mengikuti hibah bersaing sebab penting untuk mendukung kinerja sebagai dosen. Apalagi jika yang diberikan dalam kelas adalah hasil penelitian dosen tersebut, yang akan menambah percaya diri dosen dalam melaksanakan tridarma pengajaran.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan buku ini. Semangat dan cinta yang hangat, kami dapatkan dari orangtua, keluarga dan civitas akademika Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia Medan sehingga kami memiliki suplai energi yang cukup untuk menyelesaikan penelitian sampai publikasi luaran wajib maupun tambahan. Ucapan terimakasih sebesar-besarnya kepada **Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian Masyarakat (DRTPM) Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi**, yang mendanai penelitian sampai kami mempublikasi buku ini, Bapak Rektor Universitas Methodist Indonesia **Drs. Humuntal Rumapea, M. Kom**, Ibu Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) **Marlyna Infryanty Hutapea, S.Kom., M.Kom** dan akhir kata semoga buku ini bermanfaat bagi para pembaca. Tuhan memberkati.

Medan, November 2022

Tim Penulis

SAMBUTAN DEKAN

Puji dan Syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan berkat dan kasih karunia sehingga Buku Monograf ini dapat diselesaikan dengan baik.

Tridarma Perguruan tinggi penting dilaksanakan sebaik - baiknya agar nyata peran universitas dalam mengembangkan pendidikan dan memajukan masyarakat khususnya di dunia kesehatan. Pembuatan buku ini adalah upaya dalam mengembangkan ilmu pengetahuan, harapannya semakin banyak buku - buku rujukan hasil penelitian yang dapat dimanfaatkan oleh khalayak ramai.

Buku ini menarik untuk dibaca karena disusun dengan sistematis dan terinci sehingga mudah untuk dipahami, sangat cocok dibaca oleh mahasiswa kedokteran bahkan mencari landasan penelitian selanjutnya.

Buku ini membahas penggunaan tanaman berkhasiat yang memiliki bahan aktif. Tentunya dengan lahirnya buku ini, akan membuka kembali semangat "back to nature" yang sesuai dengan kaidah-kaidah ilmiah.

Akhirnya saya sebagai dekan Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia merasa bangga kepada penulis, semoga semakin banyak karya yang dihasilkan dan berguna bagi masyarakat. Terimakasih.

Medan, November 2022

Dekan FK Methodist

dr. Eka P. Samuel Hutasoit, Sp.OG., M.M

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II DESAIN KONSEP PENELITIAN	4
2.1 Pembuatan Ekstrak	6
2.2. Induksi dengan Menggunakan HFD	7
2.3 Induksi Hiperglikemia	7
2.4 Pemeriksaan Elisa	7
2.5 Analisis Data	9
2.6 Jadwal Penelitian	9
BAB III MENGENAL DIABETES MELITUS	11
3.1 Pengertian Diabetes Melitus	11
3.2 Klasifikasi	11
3.3 Penyebab Diabetes Melitus	12
3.4 Faktor Resiko Diabetes Melitus	13
3.5 Partogenesis	13
3.6 Diagnosis	14
3.6.1 Gejala Klinis	14
3.6.2 Cara Pelaksanaan TTGO	15
3.6.3 Pemeriksaan Penyaringan	16
3.6.4 Penatalaksanaan Diabetes Melitus	17
3.7 Pencegahan Diabetes Melitus	19
3.7.1 Pencegahan Primer terhadap Diabetes Melitus Tipe 2	19
3.7.2 Pencegahan Sekunder terhadap Komplikasi Diabetes Melitus	19
3.7.3 Pencegahan Tersier	19
3.8 Komplikasi Diabetes Melitus	20

BAB IV APOPTOSIS SEL B PANKREAS	21
4.1 Definisi	21
4.2 Stimulus Apoptosis	22
4.2.1 Sitokin	22
4.2.2 Lipotoksisitas	25
4.2.3 Glukotoksisitas	29
4.3 Jalur Apoptosis	32
4.3.1 Jalur Ekstrinsik	32
4.3.2 Jalur Intrinsik	33
4.4 Mekanisme Apoptosis Sel β Pankreas pada DM Tipe 1	34
4.5 Mekanisme Apoptosis Sel β Pankreas pada DM Tipe 2	38
4.6 Cell Apoptosis Stimuli and Signaling - Thomas Mandrup-Poulse	42
4.7 Pro-Apoptosis Sel B Pankreas	43
4.7.1 Apoptosis Pada Diabetes Tipe 1	43
4.7.2 Apoptosis Pada Diabetes Tipe 2	47
4.8 Anti-Apoptosis Sel B Pankreas	55
4.9 Autofagi	64
4.10 Nekroptosis	66
4.11 Piroptosis	67
4.12 Labu Siam	68
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	69
5.1 Hasil	69
5.2 Pembahasan	72
DAFTAR PUSTAKA	75
PROFIL PENULIS	91
PROFIL EDITOR	94

BAB I

PENDAHULUAN

Diabetes Mellitus (DM) merupakan salah satu gangguan metabolik yang ditandai dengan keadaan hiperglikemia persisten yang akhirnya akan berdampak terjadinya komplikasi multiorgan (Siahaan, et al., 2021). DM tipe 1 (DMT1) dan DM tipe 2 (DMT2), keduanya dikarakteristikan dengan adanya disfungsi progresif dari sel β pankreas, dimana proses autoimun menjadi dasar kerusakan sel β pankreas pada DMT1, sementara patogenesis pada DMT2 lebih bervariasi yang juga menyebabkan kegagalan fungsi sel β pankreas. Pada DMT1, ditemukan terjadi penurunan massa sel β pankreas sebesar 70-80% pada saat diagnosis ditegakkan dan diperkirakan penurunan massa ini terjadi secara progresif lambat selama bertahun-tahun. Pada kedua tipe DM, apoptosis sel β pankreas disebabkan karena adanya, stress oksidatif dan mediator inflamasi, baik yang diaktivasi oleh proses autoimun maupun sebagai konsekuensi dari status hiperglikemik dan tingginya asam lemak dengan faktor yang disekresikan oleh adiposit. Jalur ini secara bersinergis dalam perkembangan penyakit ini (Cnop et al., 2005; Siahaan et al., 2019).

DMT2 memiliki karakteristik hiperglikemia, gangguan kinerja dan sekresi insulin. Gangguan kinerja ini muncul akibat adanya resistensi insulin yang bekerja di post reseptor dimana sel kurang sensitif terhadap glukosa darah (Lin Y, 2010). Mekanisme resistensi insulin dan kegagalan metabolisme karbohidrat, lipid maupun protein dalam tubuh memicu terjadinya DM yang didasari oleh disfungsi

sel β pankreas sehingga mengganggu sekresi insulin yang berakibat terganggunya penurunan glukosa darah. Mekanisme yang mendasari keadaan tersebut belum sepenuhnya diketahui namun diduga disebabkan oleh banyak faktor seperti genetik, lingkungan (malnutrisi dan obesitas) dan gangguan metabolik (resistensi insulin, lipotoksisitas, dan inflamasi) (Holt, 2004; Kaku, 2010).

Apoptosis sel β memiliki peran penting dalam remodeling dan perkembangan endokrin pankreas normal. Sel β mengalami apoptosis saat lahir, yang diikuti dengan proliferasi yang diatur oleh ekspansi massa sel β paska lahir. Selama kehidupan, replikasi dan kematian sel β pankreas secara ketat diatur oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik yang mengontrol massa sel β untuk memenuhi kebutuhan metabolik (Johnson & Luciani, 2010).

Perlindungan terhadap sel β pankreas dan regenerasinya merupakan tujuan utama dalam penelitian yang dilakukan untuk memberikan intervensi terbaik pada DM. Dengan mengetahui mekanisme dan patogenesis terjadinya apoptosis sel β pankreas yang menjadi karakteristik penting dalam perkembangan penyakit ini, kita dapat menggunakan target alternatif dalam penatalaksanaan DM. Obat konvensional yang ada sekarang ini, memiliki keterbatasan dalam hal keamanan, efektifitas, harga relatif mahal membuat pasien kurang patuh meminum obat sehingga diperlukan adanya terapi komplementer yang memiliki efektifitas dan keamanan yang baik serta ekonomis (Bagonza, et al., 2015). Kelemahan tersebut dapat diatasi dengan terapi komplementer, salah satunya berasal dari tumbuhan buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz). Potensi tersebut sudah diteliti sejak tahun 2016, dimana tumbuhan tersebut mengandung senyawa flavonoid yang

memiliki potensi sebagai antioksidan, antihiperqlikemia, antihiperlipidemia, antiobesitas dan mencegah resistensi insulin. Potensi sebagai antiapoptosis juga sudah diteliti namun sampai saat ini mekanisme yang bekerja dalam proses menurunkan destruksi sel β belum sepenuhnya diketahui (Siahaan et al., 2016a, 2016 b; Siahaan, 2017; Siahaan et al., 2019a, 2019b; Siahaan, 2020; Siahaan et al., 2020; Siahaan et al., 2021a, 2021b, 2021c; Hutagalung et al., 2021). Dari sekian banyak potensi yang dimiliki buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz), diharapkan dapat digunakan sebagai terapi komplementer yang aman, mudah didapat dan relatif murah. Permasalahan yang utama dalam penelitian ini adalah adanya peningkatan prevalensi DMT2 namun belum ditemukannya obat yang memiliki efektifitas yang baik dalam segi keamanan, dan harga yang relatif mahal. Tujuan khusus penelitian ini untuk membuktikan efek farmakologis Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) dalam menghambat apoptosis sel β pankreas. Urgensi penelitian ini sangat penting, dimana ditemukan model/formula bahan alam yang memiliki efek farmakologis yang diharapkan mampu mengatasi mekanisme yang mendasari DMT2. Penelitian ini memiliki relevansi dengan **Rencana Induk Riset Nasional (RIRN) 2017-2045** dalam bidang Kesehatan, Pada Tema Teknologi Kemandirian Bahan baku Obat. Kemudian sesuai dengan **Prioritas Riset Nasional (PRN) 2020-2024** pada tema bahan baku obat - obatan dan obat - obatan alami. Penelitian ini juga sejalan dengan Fokus **Renstra Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia (FK-UMI) 2021-2025** dengan bidang unggulan Penemuan dan Pengembangan Obat Herbal. Penelitian ini merupakan penelitian payung sesuai dengan roadmap peneliti..

BAB II

DESAIN KONSEP PENELITIAN

Jenis penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan rancangan penelitian *posttest only controlled group design* pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus sp.*) DMT2 yang diinduksi dengan *High Fatty Diet (HFD)* - Streptozotocin (STZ) - Nicotinamide (NA). Dengan rancangan ini, memungkinkan peneliti mengukur pengaruh perlakuan (intervensi) pada kelompok eksperimen dengan cara membandingkan kelompok eksperimen dengan kelompok kontrol, tetapi rancangan ini tidak memungkinkan peneliti untuk menentukan sejauh mana atau seberapa besar perubahan itu terjadi, sebab tes dilakukan pada akhir perlakuan (tidak untuk menentukan data awal).

Ekstrak berasal dari buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) yang diambil dari halaman warga desa Pagar Batu, Kecamatan Sipoholon, Kabupaten Tapanuli Utara, Sumatera Utara. Penelitian ini ingin mengetahui apoptosis sel β pankreas dengan menggujur aktivitas Caspase-3, Caspase 8, Bcl-2 dan Bcl-X. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia FK-UMI Medan untuk pembuatan ekstrak etanol Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz). Proses aklimatisasi, pemberian *high fatty diet* (HFD) dan penanganan sampai pembedahan hewan coba di *animal house* FK-UMI. Laboratorium Terpadu FK-UMI Medan untuk pemeriksaan Caspase-3, Caspase 8, Bcl-2 dan Bcl-X. Dimana penelitian ini dilakukan tahun 2022 berkisar \pm 5 bulan.

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus jantan putih wistar sesuai dengan kriteria inklusi : Umur 2,5 - 3 bulan, Berat badan 180 - 220 gram, kondisi sehat (aktif dan tidak cacat). Kriteria eksklusi pada penelitian ini adalah : Tikus putih jantan tidak bergerak aktif, tikus mati selama masa penelitian, KGD <250 mg/dl.

Perkiraan besar sampel menggunakan formula Federer, dengan perhitungan sebagai berikut:

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

$$(n - 1) (6 - 1) \geq 15$$

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

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$N \geq 4$, ditambah 1 ekor per kelompok menjaga kematian hewan coba

Keterangan :

n = besar sampel

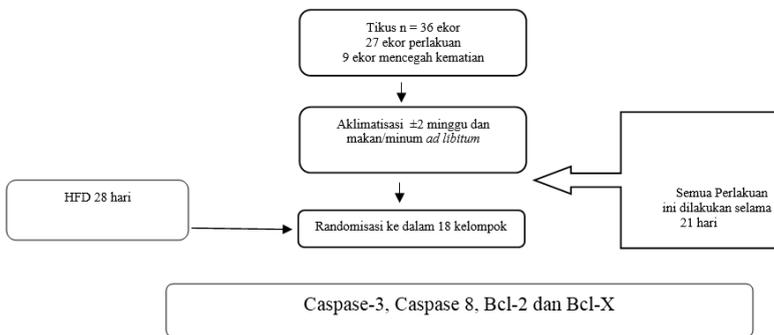
t = jumlah perlakuan

maka didapatkan jumlah seluruh sampel sebanyak $5 \times 6 = 30$ ekor, yang dibagi menjadi 6 kelompok :

- a. Kelompok 1, kontrol normal tidak diberikan perlakuan apapun, layaknya tikus normal pada umumnya yang diberikan makan dan minum secara berlebih (*ad libitum*) di dalam kandangnya.
- b. Kelompok 2, kontrol negatif, diinduksi HFD + STZ 55 mg/kgBB + NA 120 mg/kg
- c. Kelompok 3, kontrol positif, diinduksi HFD + STZ 55 mg/kgBB + NA 120 mg/kg + Metformin 500 mg/kgBB
- d. Kelompok 4, kelompok perlakuan yang diinduksi HFD + STZ 55 mg/kgBB + NA 120 mg/kg dengan ekstrak etanol buah labu siam 50 mg/kgBB, p.o.

- e. kelompok 5, kelompok perlakuan yang diinduksi HFD + STZ 55 mg/kgBB + NA 120 mg/kg dengan ekstrak etanol buah labu siam 100 mg/kgBB, p.o.
- f. kelompok 6, kelompok perlakuan yang diinduksi HFD + STZ 55 mg/kgBB + NA 120 mg/kg dengan ekstrak etanol buah labu siam 150 mg/kgBB, p.o.

Alur penelitian dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Alur penelitian

2.1 Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) dilakukan secara maserasi menggunakan etanol 96%. Masukkan 10 bagian simplisia ke dalam wadah berwarna gelap. Tuang 75 bagian cairan penyari, tutup, biarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk, serkai, peras, cuci ampas dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Pindahkan ke dalam bejana tertutup, biarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya, selama 2 hari. Menuangkan cairan yang jernih agar tidak terbuang endapannya. Maserat diuapkan dengan rotary evaporator pada temperatur $\pm 40^{\circ}\text{C}$ sampai diperoleh ekstrak kental.

2.2 Induksi dengan Menggunakan HFD

Hewan coba diberikan HFD dengan komposisi sesuai penelitian Siahaan et al., 2021 yakni 4 liter minyak kelapa, hati sapi 7 kg, lemak sapi 7 kg, butter 20 kg, 1 cc telur puyuh. Cara membuatnya :

1. Panaskan minyak kelapa lalu goreng lemak sapi
2. Ambil minyak dari penggorengan lemak sapi
3. Rebus hati sapi, lalu diblender bersama kuah rebusan
4. Campurkan minyak dan hasil blenderan hati sapi
5. Setiap pengecekan berikan 2 cc larutan yang dibuat tadi ditambahkan 1 cc telur puyuh yang diberikan 2x sehari

2.3 Induksi Hiperglikemia

Hewan coba diberikan NA (120 mg/kg) setelah penyuntikan NA 15 menit dilanjutkan dengan penyuntikan 55 mg/kgbb streptozotocin dingin dalam Nacl 0.9 % secara Intraperitoneal. Tikus Winstar DM bila kadar gula darah (KGD) >250 mg/dl setelah 72 jam dilakukan induksi

2.4 Pemeriksaan Elisa

Penelitian ini menggunakan elisa kit dari Bioassay Technology Laboratory, Shanghai China. Pada prinsipnya metode pemeriksaan baik Caspase-3, Caspase 8, Bcl-2 dan Bcl-X dengan menggunakan elisa kit Bioassay adalah sama yakni adanya interaksi antigen dan antibodi suatu sampel yang dibantu oleh enzim sebagai indikator dalam reaksi. Perbedaannya hanya pada antibodi yang digunakan (lihat tanda # pada cara kerja). Berikut adalah cara kerjanya :

1. Sampel yang akan digunakan adalah darah yang berupa bagian serum.

2. Darah diambil dari jantung tikus, kemudian dimasukkan ke dalam tabung kuning yang berisi gel.
3. Setelah selesai disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit, serum darah diambil dimasukkan ke dalam microtube 2 ml.
4. Untuk dapat menjaga kesegaran sampel maka dilakukan penyimpanan pada suhu 2-80C untuk sampel yang akan digunakan dalam waktu 5 hari. Sementara itu untuk sampel yang akan digunakan pada waktu 1 bulan - 1 tahun akan disimpan pada suhu -400C.
5. Persiapkan seluruh reagen yang akan digunakan, larutan standar dan sampel.
6. Semua reagen yang akan digunakan diletakkan pada suhu ruang terlebih dahulu sebelum digunakan.
7. Tentukan jumlah strip yang akan digunakan untuk pengujian dan masukan strip pada frame yang akan digunakan.
8. Ambil larutan standar sebanyak 50 μ L dan sampel sebanyak 40 μ L ke dalam lubang *microplate*
9. Tambahkan 10 μ L antibodi (#dalam hal ini sesuai dengan pemeriksaan, misal jika yang diperiksa adalah Caspase 3 maka antibodi caspase 3 yang digunakan) ditambahkan dalam sampel.
10. Selanjutnya tambahkan 50 μ L streptavidin-HRP dalam sampel dan standar lalu tutup *microplate* dan dihomogenkan.
11. Inkubasi pada suhu 370C selama 60 menit.
12. Angkat *microplate* dari alat inkubasi elisa ke washer letakkan kemudian setting 5 kali untuk pencucian dengan menggunakan buffer selama 30 menit.

13. Tunggu 1 menit untuk setiap 1x pencucian dan keringkan dengan tissue atau bahan penyerap.
14. Lalu pada lubang *microplate* dilakukan penambahan substrat *Solution A* sebanyak 50 μ L dan substrat *Solution B* sebanyak 50 μ L.
15. Selanjutnya penutupan *microplate* dan diinkubasi pada suhu 37 $^{\circ}$ C selama 10 menit dalam kondisi gelap.
16. Selanjutnya dilakukan penambahan *Stop Solution* dan akan terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning.
17. Tunggu 10 menit lalu penentuan nilai OD (*Optical Density*) menggunakan *microplate reader* dengan panjang gelombang 450 nm dalam waktu 10 menit setelah penambahan *Stop Solution*.
18. Kemudian baca hasil dan kurva regresi di alat elisa menggunakan program komputer

2.5 Analisis Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dicatat dan dipresentasikan dalam bentuk rata-rata \pm simpangan baku (rata-rata \pm SD). Dilakukan uji normalitas dan homogenitas data. Jika data berdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji ANOVA. Semua analisa data dilakukan dengan menggunakan software SPSS. Dalam penelitian ini untuk keputusan uji statistik diambil taraf nyata 5% ($p = 0,05$) yang dianggap bermakna atau signifikan.

2.6 Jadwal Penelitian

Keseluruhan kegiatan penelitian dari persiapan hingga penulisan hasil penelitian dilakukan selama \pm 7 bulan. Adapun urutan kegiatan jadwal pelaksanaan secara lengkap dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

Tabel 2.1 Jadwal kegiatan penelitian

<i>No</i>	<i>Kegiatan</i>	<i>Bulan</i>						
		1	2	3	4	5	6	7
1	Pembelian Labu Siam	√	√					
2	Pembelian Kit	√	√	√				
3	Bahan Penelitian dan Bahan Habis Pakai		√	√				
4	Pembuatan Ekstrak Etanol			√				
5	Pembelian tikus			√				
6	Pelaksanaan Penelitian			√	√			
7	Pengumpulan data dan analisis				√			
8	Luaran Wajib dan Luaran Tambahkan					√	√	√

BAB III

MENGENAL DIABETES MELITUS

3.1 Pengertian Diabetes Melitus

Hiperglikemia adalah suatu kondisi medis berupa peningkatan KGD melebihi normal yang menjadi karakteristik beberapa penyakit terutama DM di samping berbagai kondisi lainnya. DM saat ini menjadi salah satu ancaman kesehatan global (PERKENI, 2019). Pendidikan dan dukungan manajemen mandiri pasien sangat penting untuk mencegah komplikasi akut dan mengurangi resiko penggunaan jangka panjang. Ada bukti signifikan yang mendukung berbagai intervensi untuk meningkatkan hasil diabetes (ADA, 2018).

3.2 Klasifikasi

Diabetes dapat diklasifikasikan ke dalam kategori umum berikut:

- a. DMT 1. Penyakit gangguan metabolik yang ditandai dengan kenaikan KGD karena kerusakan sel β pankreas, biasanya menyebabkan defisiensi insulin yang tidak ada sama sekali.
- b. DMT 2. Penyakit gangguan metabolik yang ditandai oleh kenaikan KGD karena hilangnya sekresi insulin sel β pankreas secara progresif yang sering disebabkan oleh resistensi insulin.
- c. Gestational diabetes mellitus (GDM). Penyakit gangguan metabolik yang ditandai oleh kenaikan KGD yang ditemukan pada trimester kedua atau ketiga kehamilan dan belum pernah terdiagnosa sebelumnya.

- d. Jenis diabetes tertentu karena penyebab lain, misalnya, sindrom diabetes monogenik (seperti diabetes neonatal dan *maturity-onset diabetes of the young* (MODY)), penyakit eksokrin pankreas (seperti fibrosis kistik dan pankreatitis), dan obat-obatan. Diabetes karena bahan kimia (seperti penggunaan glukokortikoid, dalam pengobatan HIV/AIDS, atau setelah transplantasi organ) (ADA, 2018).

3.3 Penyebab Diabetes Melitus

Penyakit DM banyak dikenal orang sebagai penyakit yang erat kaitannya dengan asupan makanan. Asupan makanan seperti karbohidrat/gula, protein, lemak, dan energi yang berlebihan dapat menjadi faktor resiko awal kejadian DM. Semakin berlebihan asupan makanan maka semakin besar pula kemungkinan akan menyebabkan DM. Karbohidrat akan dicerna dan diserap dalam bentuk monosakarida, terutama gula. Penyerapan gula menyebabkan peningkatan KGD dan mendorong peningkatan sekresi hormon insulin untuk mengontrol KGD. Penyakit DM merupakan penyakit degeneratif yang dapat dikendalikan dengan empat pilar penatalaksanaan. Diet menjadi salah satu hal penting dalam empat pilar penatalaksanaan DM dikarenakan pasien tidak memperhatikan asupan makanan yang seimbang. Meningkatnya gula darah pada pasien DM berperan sebagai penyebab dari ketidak seimbangan jumlah insulin, oleh karena itu diet menjadi salah satu pencegahan agar gula darah tidak meningkat, dengan diet yang tepat dapat membantu mengontrol gula darah (Susanti & Bistara, 2018).

3.4 Faktor Resiko Diabetes Melitus

Peningkatan jumlah penderita DM yang sebagian besar DMT2, berkaitan dengan beberapa faktor yaitu faktor risiko yang tidak dapat diubah, faktor risiko yang dapat diubah dan faktor lain. Menurut *American Diabetes Association* (ADA) bahwa DM berkaitan dengan faktor risiko yang tidak dapat diubah meliputi riwayat keluarga dengan DM (*first degree relative*), umur ≥ 45 tahun, etnik, riwayat melahirkan bayi dengan berat badan lahir bayi >4000 gram atau riwayat pernah menderita DM gestasional dan riwayat lahir dengan berat badan rendah ($<2,5$ kg). Faktor risiko yang dapat diubah meliputi obesitas berdasarkan IMT $\geq 25\text{kg}/\text{m}^2$ atau lingkar perut ≥ 80 cm pada wanita dan ≥ 90 cm pada laki-laki, kurangnya aktivitas fisik, hipertensi, dislipidemi dan diet tidak sehat (Bhatt et al., 2016).

Beberapa faktor risiko telah dikaitkan dengan diabetes tipe 2 dan meliputi riwayat keluarga diabetes, kegemukan, diet tidak sehat, aktivitas fisik yang rendah, bertambahnya usia, tekanan darah tinggi, etnis, *impaired Glukose Tolerance* (IGT), riwayat diabetes gestasional, gizi buruk selama kehamilan (International Diabetes Federation 9th Edition, 2019).

3.5 Patogenesis

Resistensi insulin pada otot dan liver serta kegagalan sel β pankreas telah dikenal sebagai patofisiologi kerusakan sentral dari DMT2. Belakangan diketahui bahwa kegagalan sel β terjadi lebih dini dan lebih berat daripada yang diperkirakan sebelumnya. Selain otot, liver dan sel β , organ lain seperti: jaringan lemak (meningkatnya lipolisis), gastrointestinal (defisiensi inkretin), sel alpha pankreas (hiperglukagonemia), ginjal (peningkatan absorpsi glukosa), dan otak (resistensi insulin), semuanya ikut berperan dalam

menimbulkan terjadinya gangguan toleransi glukosa pada DMT2. Delapan organ penting dalam gangguan toleransi glukosa ini (*ominous octet*) penting dipahami karena dasar patofisiologi ini memberikan konsep tentang:

1. Pengobatan harus ditujukan guna memperbaiki gangguan patogenesis, bukan hanya untuk menurunkan HbA1c saja
2. Pengobatan kombinasi yang diperlukan harus didasari atas kinerja obat pada gangguan multipel dari patofisiologi DMT2.
3. Pengobatan harus dimulai sedini mungkin untuk mencegah atau memperlambat progresivitas kegagalan sel β yang sudah terjadi pada penyandang gangguan toleransi glukosa (Soelistijo, 2019).

DeFronzo pada tahun 2009 menyampaikan, bahwa tidak hanya otot, liver dan sel β pankreas saja yang berperan sentral dalam patogenesis penderita DMT2 tetapi terdapat organ lain yang berperan yang disebutnya sebagai *the ominous octet*.

Secara garis besar patogenesis DM tipe-2 disebabkan oleh delapan hal (*omniuous octet*) yaitu: kegagalan sel β pankreas, liver, otot, sel lemak, usus, sel alpha pankreas, ginjal, dan otak. (PERKENI, 2019).

3.6 Diagnosis

3.6.1 Gejala Klinis

Penegakkan diagnosa DM dilakukan dengan pengukuran KGD. Pemeriksaan KGD yang dianjurkan adalah pemeriksaan secara enzimatik dengan menggunakan bahan plasma darah vena. Kriteria diagnosis DM meliputi 4 hal, yaitu:

1. Pemeriksaan glukosa plasma puasa ≥ 126 mg/dl. Puasa adalah kondisi tidak ada asupan kalori selama minimal 8 jam.
2. Pemeriksaan glukosa plasma ≥ 200 mg/dl 2 jam setelah Tes Toleransi Glukosa Oral (TTGO) dengan beban glukosa 75 gram.
3. Pemeriksaan glukosa plasma sewaktu ≥ 200 mg/dl dengan keluhan klasik.
4. Pemeriksaan HbA1c $\geq 6,5\%$ dengan menggunakan metode yang terstandardisasi oleh *Nasional Glychohaemoglobin Standardization Program* (NGSP).

Hasil pemeriksaan yang tidak memenuhi kriteria normal maupun kriteria DM maka digolongkan kedalam kelompok prediabetes yang terdiri dari Toleransi Glukosa Terganggu (TGT) dan Glukosa Darah Puasa Terganggu (GDPT), GDPT terjadi ketika hasil pemeriksaan glukosa plasma puasa antara 100-125 mg/dl dan pemeriksaan TTGO glukosa plasma 2 jam <140 mg/dl. TGT terpenuhi jika hasil pemeriksaan glukosa plasma 2 jam setelah TTGO antara 140-199 mg/dl dan glukosa plasma puasa <100 mg/dl (Kemenkes RI, 2020).

3.6.2 Cara Pelaksanaan TTGO

Dalam tiga hari sebelum pemeriksaan, pasien tetap makan seperti kebiasaan sehari-hari dan tetap melakukan kegiatan jasmani seperti biasa. Pasien diharuskan berpuasa paling sedikit 8 jam (mulai malam hari) sebelum pemeriksaan. Minum air putih tanpa gula tetap diperbolehkan. Setelah diperiksa KGD puasa, penderita diberikan glukosa 75 gram yang dilarutkan dalam air 250 mL, kemudian penderita berpuasa kembali sampai

pengambilan sampel darah 2 jam setelah minum larutan glukosa (PERKENI, 2021).

3.6.3 Pemeriksaan Penyaringan

Pemeriksaan penyaring ditujukan pada mereka yang mempunyai risiko DM namun tidak menunjukkan adanya gejala klasik DM. Pemeriksaan penyaring bertujuan untuk menemukan pasien dengan DM, TGT maupun GDPT, sehingga dapat ditangani lebih dini. Pasien dengan TGT dan GDPT juga disebut sebagai pasien prediabetes. Prediabetes ini merupakan tahapan sementara menuju DM. Pemeriksaan penyaring dapat dilakukan dengan pemeriksaan KGD sewaktu atau KGD puasa. Apabila pada pemeriksaan penyaring didapatkan hasil peningkatan kadar glukosa darah sesuai dengan kriteria diagnosis diabetes, maka perlu dilakukan pemeriksaan lanjutan untuk mengkonfirmasi dengan pemeriksaan glukosa plasma puasa ulang atau dengan tes toleransi glukosa oral (TTGO).

Kelompok yang dilakukan pemeriksaan penyaring itu adalah :

1. Kelompok dengan berat badan lebih ($IMT \geq 23 \text{ kg/m}^2$) yang disertai dengan satu atau lebih faktor resiko sebagai berikut :
 - a. Aktifitas fisik yang kurang
 - b. First degree relative DM (terdapat faktor keturunan DM dalam keluarga)
 - c. Kelompok ras/etnis tertentu.
 - d. Perempuan yang memiliki riwayat melahirkan bayi dengan BBK > 4 kg atau mempunyai riwayat DMG
 - e. Hipertensi ($\geq 140/90 \text{ mmHg}$ atau sedang mendapat mendapat terapi untuk hipertensi)
 - f. HDL < 35 mg/dl dan atau trigliserida > 250 mg/dl
 - g. Wanita dengan sindrom polikistik ovarium

- h. Riwayat prediabetes
 - i. Obesitas berat, akantosis nigricans
 - j. Riwayat penyakit kardiovaskuler
2. Usia > 45 tahun tanpa faktor risiko di atas.

Catatan : Kelompok risiko tinggi dengan hasil pemeriksaan glukosa plasma normal sebaiknya diulang setiap 3 tahun kecuali pada kelompok prediabetes diulang tiap 1 tahun. (PERKENI, 2021)

3.6.4 Penatalaksanaan Diabetes Melitus

- i. Langkah penatalaksanaan umum
Tujuan penatalaksanaan secara umum adalah meningkatkan kualitas hidup penyandang diabetes. Tujuan jangka pendek untuk menghilangkan keluhan DM, memperbaiki kualitas hidup, dan mengurangi risiko komplikasi akut. Tujuan jangka panjang untuk mencegah dan menghambat progresivitas penyulit mikroangiopati dan makroangiopati. Tujuan akhir pengelolaan adalah turunya morbititas dan mortalitas DM (Soelistijo, 2019).
- ii. Langkah penatalaksanaan khusus
Penatalaksanaan dilakukan dengan menerapkan pola hidup sehat (terapi nutrisi medis dan aktivitas fisik) bersamaan dengan intervensi farmakologis dengan obat anti hiperglikemia secara oral dan/atau suntikan (PERKENI, 2019).
 - a. Edukasi
Perilaku hidup sehat bagi penyandang DM adalah memenuhi anjuran:
 - Pola makan sehat
 - Meningkatkan kegiatan jasmani dan latihan jasmani yang teratur

- Memakai obat DM dan obat lainya pada keadaan khusus secara aman dan teratur
- Melakukan Pemantauan Glukosa Darah Mandiri (PGDM) dan memnafaatkan hasil pemantauan untuk menilai keberhasilan pengobatan
- Perawatan kaki secara berkala
- Bergabung dengan kelompok penyandnag DM serta mengajak keluarga untuk mengerti pengelolaan penyandang DM
- Mampu memanfaatkan fasilitas pelayanan kesehatan yang ada (PERKENI, 2019).

b. Terapi nutrisi medis

Makanan yang seimbang dan sesuai dengan kebutuhan kalori dan zat gizi masing-masing individu.

c. Latihan fisik

Latihan fisik secara teratur dilakukan 3-5 hari seminggu selama sekitar 30-45 menit, dengan total 150 menit per minggu, dengan jeda antar latihan tidak lebih dari 2 hari berturut-turut (PERKENI, 2019).

d. Terapi farmakologis

a) Obat antihiperqlikemia oral

Berdasarkan cara kerjanya dibagi menjadi 6 golongan, yaitu: pemacu sekresi insulin (*insulin secretagogue*) seperti sulfonilurea, glinid; peningkat sensitivitas terhadap insulin seperti metformin, tiazolidinedoin; penghambat alfa glukosidase; penghambat enzim *Dipeptidyl Peptidase-4* (DPP-4 inhibitor); dan penghambat enzim *Sodium Glukose co-Transporter 2* (SGLT-2 inhibitor) (PERKENI, 2019).

b) Obat antihiperqlikemia suntik

Termasuk anti hiperqlikemia suntik, yaitu insulin, agonis GLP-1 dan kombinasi insulin dan agonis GLP-1 (PERKENI, 2019).

c) Terapi kombinasi

Hal utama dalam penatalaksanaan DM merupakan pengaturan diet dan kegiatan jasmani, bila diperlukan dapat dilakukan bersamaan dengan pemberian obat antihiperqlikemia oral tunggal atau kombinasi sejak dini (PERKENI, 2019).

3.7 Pencegahan Diabetes Melitus

3.7.1 Pencegahan Primer Terhadap Diabetes Melitus Tipe 2

Pencegahan primer adalah upaya yang ditunjukkan pada kelompok yang memiliki faktor risiko, yakni mereka yang belum terkena, tetapi berpotensi untuk menderita DMT2 dan intoleransi glukosa (Soelistijo, 2019).

3.7.2 Pencegahan Sekunder Terhadap Komplikasi Diabetes Melitus

Pencegahan sekunder adalah upaya mencegah atau menghambat timbulnya penyulit pada pasien yang telah terdiagnosis DM. Tindakan pencegahan sekunder dilakukan dengan pengendalian kadar glukosa sesuai target terapi serta pengendalian faktor risiko penyulit yang lain dengan pemberian pengobatan yang optimal. Melakukan deteksi dini adanya penyulit merupakan bagian dari pencegahan sekunder. Penyuluhan dilakukan sejak pertemuan pertama dan perlu selalu diulang pada pertemuan berikutnya (Soelistijo, 2019).

3.7.3 Pencegahan Tersier

Pencegahan tersier ditujukan pada kelompok penyandang diabetes yang telah mengalami penyulit dalam upaya mencegah terjadinya kecacatan lebih lanjut serta meningkatkan kualitas hidup. Upaya rehabilitasi pada

pasien dilakukan sedini mungkin, sebelum kecacatan menetap. Pada upaya pencegahan tersier tetap dilakukan penyuluhan pada pasien dan keluarga. Materi penyuluhan termasuk upaya rehabilitasi yang dapat dilakukan untuk mencapai kualitas hidup yang optimal (Soelistijo, 2019).

3.8 Komplikasi Diabetes Melitus

Orang dengan DM memiliki risiko lebih tinggi untuk sejumlah masalah kesehatan yang serius. Kadar glukosa darah yang tinggi secara konsisten dapat menyebabkan penyakit serius yang mempengaruhi jantung dan pembuluh darah, mata, ginjal, saraf, dan gigi. Selain itu, penderita DM juga memiliki risiko lebih tinggi terkena infeksi. Di hampir semua negara, DM adalah penyebab utama penyakit kardiovaskular, kebutaan, gagal ginjal, dan amputasi tungkai bawah (International Diabetes Federation 9th Edition, 2019).

BAB IV

APOPTOSIS SEL B PANKREAS

4.1 Definisi

Kematian sel yang terprogram (*programmed cell death* [PCD]) dibagi menjadi tiga tipe, yaitu apoptosis (PCD tipe 1), autofagi (PCD tipe 2), dan nekrosis (PCD tipe 3). Ketiganya memiliki patomekanisme yang berbeda, dimana apoptosis berhubungan dengan heterofagi, tipe 2 merupakan kematian sel yang dimediasi dengan autofagi dan tipe 3 berhubungan dengan kematian sel tanpa adanya fagositosis (Berchtold et al., 2016).

Terminologi apoptosis pertama kali dipakai oleh Kerr, dkk untuk mendeskripsikan pola morfologi spesifik yang terjadi saat kematian sel. Pola yang dimaksud adalah sebagai berikut: perubahan pada morfologi nukleus dimana terjadi kondensasi dan fragmentasi kromatin, pengerutan sel yang diikuti dengan 'blebbing' dari membran plasma, dan pemisahan fragmen sel. Struktur-struktur ini disebut juga dengan badan apoptosis, sitoplasma, sisa nukleus dan kumpulan organela intak selama proses 'budding'. Badan apoptosis akan difagositosis oleh sel fagosit tanpa adanya aktivasi dari respon inflamasi secara *in vivo*. Perubahan morfologi ini merupakan hasil dari jalur sinyal intraselular yang melibatkan beberapa molekul dan reaksi biomolekular yang dirangsang oleh berbagai stimulus dan kondisi fisiologis ataupun patologis. Karakter biokimia dari apoptosis termasuk pembelahan DNA oligonukleosoma, eksternalisasi fosfatidilserin, dan aktivasi dari protease spesifik (Berchtold et al., 2016; Rojas et al., 2018).

4.2 Stimulus Apoptosis

Defisit sel β pankreas akibat apoptosis dapat terjadi pada DM tipe 1 dan tipe 2. Pada DM tipe 1, dasar kelainannya adalah reaksi imunologis (autoimun) yang mendestruksi sel β pankreas sedangkan pada DMT2 didasari oleh kelainan metabolisme mengakibatkan disfungsi dan kehilangan massa sel β pankreas (Thomas et al., 2009; Lee et al., 2020). Kematian sel β melalui apoptosis akan menyebabkan defisiensi insulin (Le May et al., 2006). Ada 3 stimulus utama proapoptosis yakni sitokin, lipotoksisitas dan glukotoksisitas (Hui et al., 2004)

Banyak faktor yang berperan sebagai sinyal proapoptosis sel β pankreas. Penelitian secara *in vitro*, membuktikan bahwa sitotoksik langsung yang dimediasi oleh Sel T dan sitokin tidak langsung, Nitrit Oksida (NO), radikal bebas dan mekanisme bergantung ligan Fas bertanggungjawab terhadap proses apoptosis. Sampai saat ini, sudah diketahui bahwa ada 3 stimulus utama apoptosis sel β pankreas yakni sitokin proinflamasi yang diproduksi secara insitu dengan infiltrasi leukosit saat insulinitis, peningkatan asam lemak bebas (*Free Fatty Acid/FFA*) bersifat lipotoksisitas, dan hiperglikemia kronis bersifat glukotoksisitas yang berhubungan dengan stres, menjadi stimulus gangguan fungsi sel β pankreas dan kejadian apoptosis (Hui et al., 2004; Diaz-Ganete et al., 2021).

4.2.1 Sitokin

Sitokin proinflamasi sangat penting dalam progresi DM tipe 1, dimana sel islet β pankreas rusak melalui proses apoptosis autoimun sehingga produksi insulin berkurang sedangkan progresi DMT2, disfungsi dan hilangnya massa sel β pankreas akibat meningkatnya sitokin dan asam lemak bebas atau *free fatty acid (FFA)* dengan hiperglikemia

persisten. Paparan mediator tersebut yang berlama - lama menginduksi produksi berlebihan reactive oxygen species (ROS) dan teraktivasinya caspase yang menghambat sekresi insulin dan mendorong apoptosis sel β pankreas (Wang et al., 2010)

Sekresi sitokin seperti IL-1 β , TNF- α , dan IFN- γ oleh infiltrasi sel (limfosit T CD4p dan CD8p, limfosit B, NK dan makrofag) pada islet pankreas berperan penting dalam patogenesis DM tipe 1. Pada tahap awal penyakit terjadi infiltrasi limfosit dan makrofag ke sel islet β pankreas dan mensekresikan sitokin inflamasi, menghasilkan konsentrasi sitokin yang tinggi di dimana sel islet β pankreas. Paparan yang lama IL-1 β , TNF- α , dan IFN- γ pada sel islet akhirnya akan menginduksi disfungsi sel islet dan apoptosis sel β pankreas. Penelitian yang menggunakan mencit tidak obese, menunjukkan bahwa makrofag merupakan sel inflamasi pertama yang menginfiltrasi islet pankreas, dengan menelan sel β pankreas yang mengalami apoptosis. Respon imun ini dimediasi oleh limfosit T subset T Helper-1 (Th1), sedangkan efek protektif dimediasi oleh subset T helper-2 (TH2). Sel Th1 dan Th2 memiliki pola sitokin yang berbeda, dimana sel Th1 akan mensekresikan interleukin 2 (IL-2), Interferon gamma (IFN- γ), Transforming Growth Factor- β (TGF- β) dan *cell mediated immunity* sedangkan sel Th2 mensekresikan sel interleukin 4 (IL-4), interleukin 5 (IL-5), interleukin 6 (IL-6), interleukin 9 (IL-9), interleukin 10 (IL-10) dan interleukin 13 (IL-13) serta merangsang kekebalan humoral (Hui et al., 2004; Wang et al., 2010).

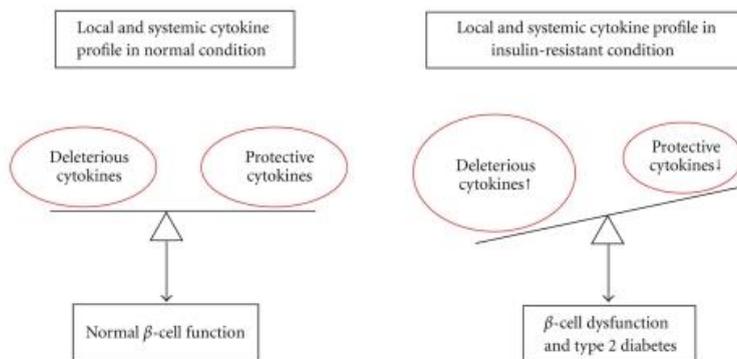
Sitokin yang berperan penting dalam perkembangan disfungsi sel β pankreas DMT2 yakni 1 β , leptin, resistin, dan adiponektin. Adinopektin merupakan istilah umum dari sitokin spesifik seperti leptin, resistin, adinopektin, visfatin

dan omentin dan sitokin spesifik nonadiposa seperti IL-6, IL-1 β , and TNF- α . Baru-baru ini, faktor PANcreatic DERived (PANDER, FAM3B), protein seperti sitokin, telah terbukti menjadi pengatur fungsi sel pankreas (wang et al., 2010).

Peristiwa molekuler apoptosis yang diinduksi sitokin melibatkan :

1. Pengikatan pada reseptor spesifik
2. Transduksi sinyal oleh cytosolic kinases (terutama Mitogen - and stress-activated protein kinases) dan atau fosfatase, seperti c-Jun NH2- terminal kinase (Interleukin-1b (IL1-b) menginduksi fosforilasi p38 mitogen-activated protein kinase) dan mitogen- and stress-activated protein kinase 1 (MSK1), keduanya pada sel insulin-producing RINm5F tikus
3. Mobilisasi beragam faktor transkripsi dengan nuclear factor kappaB (NF- kappaB), AP-1, dan STAT-1 yang mungkin memainkan peran kunci untuk apoptosis sel β
4. Upregulation atau downregulation transkripsi gen. IFN-gamma dan tumor necrosis factor (TNF)-alpha secara sinergis menginduksi ekspresi MHC kelas II pada sel insulinoma melalui induksi MHC class II transactivator (CIITA) (Hui et al., 2004).

Sitokin secara luas terlibat dalam regulasi fungsi sel pankreas. Pada keadaan resistensi insulin, kadar sitokin yang merusak dalam sel islet dan plasma meningkat, sedangkan kadar sitokin protektif menurun. Perubahan abnormal pada sitokin lokal dan sirkulasi ini memainkan peran penting dalam memicu disfungsi sel dan DMs tipe 2 seperti yang dapat dilihat pada gambar 4.1 (Wang et al., 2010).



Gambar 4.2 Peran penting sitokin pada disfungsi sel β . Sumber : Wang C, Guan Y, Yang J (2010). Cytokines in the Progression of Pancreatic β -Cell Dysfunction. *Int J Endocrinol.* 515136. doi: 10.1155/2010/515136. Epub 2010 Nov 14. PMID: 21113299; PMCID: PMC2989452.

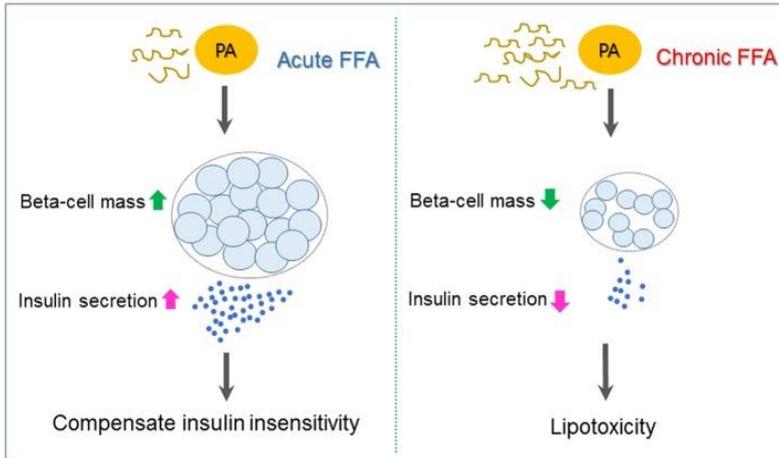
Gambar 4.1 menjelaskan keseimbangan sitokin yang terganggu antara sitokin destruktif dan protektif di islet dan plasma memainkan peran penting dalam pengembangan dan perkembangan disfungsi sel dan diabetes tipe 2. Mengembalikan profil sitokin normal dalam sel dan plasma mungkin sangat menjanjikan untuk pengobatan disfungsi sel dan diabetes tipe 2 (Wang et al., 2010).

4.2.2 Lipotoksitas

Kadar asam lemak bebas merupakan nutrien yang terlibat dalam metabolisme energi sebagian besar organisme dan diketahui penting untuk keseimbangan sel β pankreas. Oksidasi asam lemak diperlukan untuk stimulasi sekresi insulin. Long-chain acyl-CoA (LC-CoA) mengontrol beberapa aspek fungsi sel β termasuk aktivasi beberapa jenis protein kinase C (PKC), memodulasi saluran ion, asilasi protein, ceramide dan/atau NO (NO)-mediated apoptosis,

dan berikatan dengan *nuclear transcriptional factors*. Kelebihan asam lemak bebas dalam otot skeletal menyebabkan insulin resisten; pada Miokardium menyebabkan gangguan fungsi jantung dan di sel islet pankreas menyebabkan disfungsi sel β pankreas, apoptosis dan diabetes (Hui et al., 2004; Oh et al., 2018).

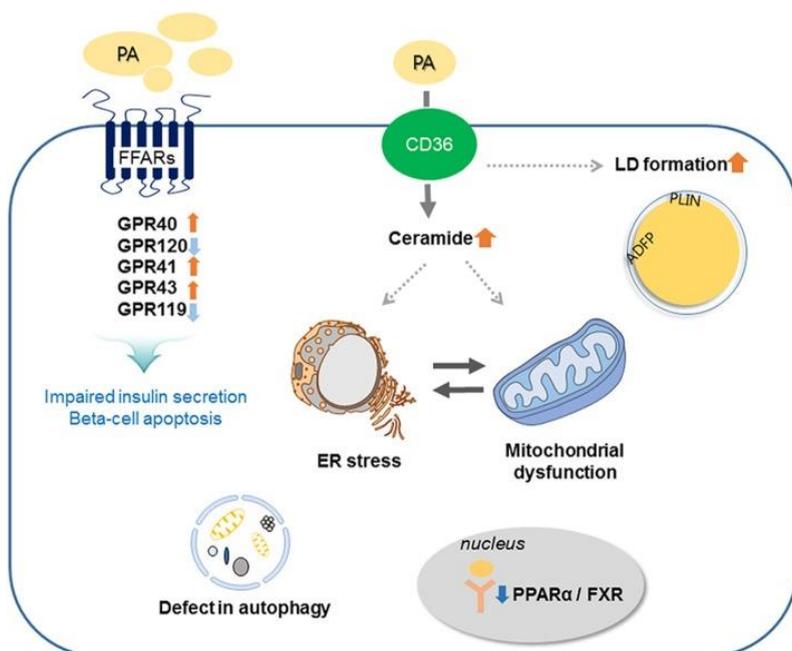
Peningkatan konsentrasi asam lemak bebas puasa dan postprandial meningkatkan risiko diabetes tipe 2 dan obesitas. Ketika terjadi resistensi insulin, peningkatan asam lemak bebas secara akut justru meningkatkan massa sel β pankreas dan sekresi insulin untuk mengkompensasi ketidakmampuan menggunakan insulin (insensitivitas insulin) namun peningkatan kadar asam lemak bebas plasma mengakibatkan gangguan regulasi metabolisme lipid, yang berkontribusi pada penurunan fungsi dan viabilitas sel β (lipotoksisitas), dan akibatnya menginduksi DMT2 seperti yang dijelaskan pada gambar 4.2 dimana peningkatan asam lemak bebas seperti asam palmitat (PA), secara akut meningkatkan sel β pankreas dan sekresi insulin sedangkan secara kronik akibat lipotoksisitas menyebabkan disfungsi sel β pankreas, apoptosis sehingga terjadi DMT2 (Oh et al., 2018).



Gambar 4.2 Mekanisme disfungsi sel β akibat lipotoksitas. Sumber : Oh YS, Bae GD, Baek DJ, Park EY, Jun HS. (2018). Fatty Acid-Induced Lipotoxicity in Pancreatic Beta-Cells During Development of Type 2 Diabetes. *Front Endocrinol* (Lausanne). 16;9:384. doi: 10.3389/fendo.2018.00384. PMID: 30061862; PMCID: PMC6054968.

Paparan asam lemak berkepanjangan sel islet atau sel β yang mensekresikan insulin dikaitkan dengan penghambatan *glucose-stimulated insulin secretion* (GSIS), reduksi ekspresi gen, secara signifikan meningkatkan apoptosis sel β pankreas (Hui et al., 2004; Oh et al., 2018).

Paparan lipid atau asam lemak bebas mengaktifkan reseptor asam lemak bebas dan respons stres sel termasuk pembentukan ceramide, pembentukan lipid droplet (LD), stres retikulum endoplasma, disfungsi mitokondria, dan autofagi, dan respons ini mengakibatkan kerusakan sel β dan gangguan sekresi insulin seperti yang dijelaskan pada gambar 4.3 (Oh et al., 2018).



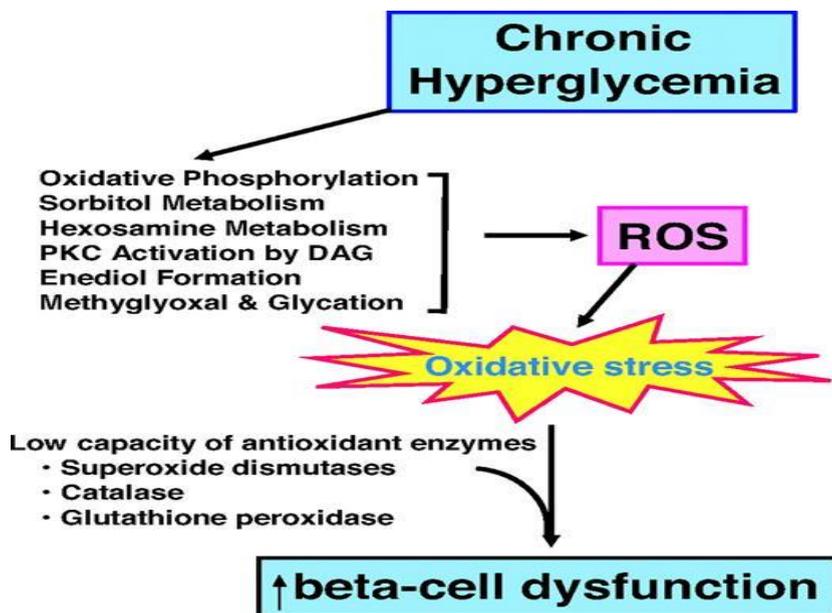
Gambar 4.3 Mekanisme Gangguan sekresi insulin dan apoptosis sel β . Sumber : Oh YS, Bae GD, Baek DJ, Park EY, Jun HS. (2018). Fatty Acid-Induced Lipotoxicity in Pancreatic Beta-Cells During Development of Type 2 Diabetes. *Front Endocrinol* (Lausanne). 16;9:384. doi: 10.3389/fendo.2018.00384. PMID: 30061862; PMCID: PMC6054968.

Gambar 4.3 menjelaskan bahwa mekanisme yang terlibat pada gangguan sekresi insulin dan apoptosis sel β dalam kondisi lipotoksik. Asam palmitate (PA) mengaktifkan reseptor CD36 atau reseptor FFA (FFARs) dan respons stres sel termasuk pembentukan ceramide, pembentukan lipid droplet (LD), stres retikulum endoplasma, disfungsi mitokondria, dan autofagi. Respon ini mengakibatkan kerusakan sel β dan gangguan sekresi insulin (Oh et al., 2018).

Kematian sel islet diblokir oleh penghambatan capase hulu, sebagian dicegah dengan penghambatan sintesis ceramide atau aktivitas protease serin sedangkan penghambatan sintesis NO tidak berpengaruh. Sel islet yang dikultur diberikan asam lemak bebas akan mengalami penurunan nyata ekspresi bcl-2 mRNA. Dengan demikian paparan asam lemak bebas yang berkepanjangan memiliki efek sitostatik dan pro-apoptosis pada sel β pankreas manusia. Efek sitostatik kemungkinan disebabkan oleh berkurangnya metabolisme glukosa intraislet yang diinduksi asam lemak bebas dan efek pro-apoptosis yang terutama dimediasi caspase, sebagian bergantung pada jalur ceramide, dan mungkin diatur oleh Bcl-2 (Hui et al., 2004).

4.2.3 Glukotoksisitas

Glukosa dapat mengatur ekspresi gen islet dan selanjutnya mengubah status sel dalam kondisi fisiologis atau patofisiologis (Hui et al., 2004). Hiperglikemia bersifat glukotoksisitas yang merangsang timbulnya stress oksidatif menimbulkan disfungsi sel β seperti yang dapat dilihat pada gambar 4.4



Gambar 4.4 Hiperglikemia menimbulkan stress oksidatif yang menginduksi terjadinya disfungsi sel β pankreas. Sumber : Poitout, V., & Robertson, R. P. (2008). Glucolipotoxicity: Fuel Excess and β -Cell Dysfunction. *Endocrine Reviews*, 29(3), 351-366.doi:10.1210/er.2007-0023

Gambar 4.4 menjelaskan bahwa Jalur biokimia hiperglikemia membentuk kadar reactive oxygen species (ROS) berlebihan, yang menyebabkan stres oksidatif dan menyebabkan disfungsi sel. Dalam keadaan normoglikemik, metabolit glukosa mengalir terutama melalui fosforilasi oksidatif, tetapi selama paparan hiperglikemia berkepanjangan, metabolit juga meluap ke jalur alternatif. Sel mengandung enzim antioksidan yang sangat rendah dan akibatnya sangat sensitif terhadap ROS sehingga merusak sel (Poitout & Robertson, 2008).

Pada tikus hiperglikemia yang dilakukan pankreatektomi parsial, setelah 4 minggu pada islet ditemukan berbagai gen pelindung yang diregulasi oleh meningkatnya genes heme oxygenase-1 glutathione peroxidase, anti-apoptotic gene A20, Cu/Zn-superoxide dismutase (SOD), Mn-SOD, faktor-kappaB nuklir dan Bcl-2, sedangkan beberapa gen stres lainnya (katalase, heat-shock protein 70, dan p53) tidak berubah. Respon awal ekspresi gen c-Myc sel β pankreas tikus dirangsang oleh hiperglikemia, bergantung pada Ca^{2+} dan AMP. Efek glukosa tinggi ini dihasilkan oleh depolarisasi yang diinduksi oleh kalium tinggi atau dibutyryl-cAMP dan dihambat oleh agen yang menurunkan konsentrasi Ca^{2+} atau cAMP sitosol. Paparan hiperglikemia in vitro islet non-diabetes mengakibatkan peningkatan produksi dan pelepasan IL-1beta, diikuti oleh aktivasi NF-kappaB, peningkatan regulasi Fas upregulation, aktivasi caspases-8 dan -3, penurunan ekspresi FADD-like IL1b-converting enzyme (FLICE)-inhibitory proteins (FLIP), fragmentasi DNA, dan gangguan fungsi sel β . Pada DM tipe II, hiperglikemia kronis merusak sel β pankreas, menyebabkan gangguan sekresi insulin. Beberapa penelitian baru-baru ini menyelidiki efek toksisitas glukosa pada kelangsungan hidup sel β . Secara keseluruhan, studi ini menunjukkan bahwa toksisitas glukosa mungkin memainkan peran dalam memfasilitasi apoptosis sel β manusia sebagai konsekuensi dari peningkatan ekspresi sinyal pro-apoptosis, jalur ekstrinsik (FasL) dan intrinsik (Bad, Bid). Beberapa, tetapi tidak semua, berkumpul untuk mengubah potensial membran mitokondria. Peran glukotoksitas sehubungan dengan apoptosis sel menyangkut jalur metabolisme glukosa yakni metabolisme heksosamin adalah kandidat kuat karena

sensitivitas khas sel β terhadap jalur metabolisme glukosa ini, selain itu juga glikosilasi non-enzimatik dengan sintesis produk AGE. Beberapa faktor lain juga telah ditemukan memainkan peran kecil dalam apoptosis sel β pankreas. Human amylin (HA) menginduksi apoptosis melalui stimulasi ekspresi dan aktivasi c-Jun. Co-ekspresi dan dimerisasi c-Jun dan c-fos atau ATF-2 mungkin penting untuk aktivasi proses apoptosis hilir (Hui et al., 2004).

4.3 Jalur Apoptosis

Gangguan pada regulasi apoptosis dapat menyebabkan berbagai status patologis dimana apoptosis yang berlebihan dapat menyebabkan hilangnya sel β pankreas yang mendasari terjadinya diabetes melitus tipe 1 dan 2 sedangkan apoptosis yang inadkuat berkontribusi menyebabkan tumor endokrin pankreas (*Pancreatic endocrine tumors / PETs*) (Tomita, 2016).

Jalur apoptosis dapat melalui intrinsik dan ekstrinsik. Jalur ekstrinsik yang dimediasi oleh reseptor diaktivasi melalui ligasi dari reseptor pada permukaan sel yang selanjutnya mengaktivasi efektor yang dikendalikan oleh caspase (protease sistein). Di sisi lain, jalur intrinsik akan dimediasi oleh mitokondria sel tersebut ((Thomas et al., 2009; Tomita, 2016).

4.3.1 Jalur Ekstrinsik

Contoh prototipe dari sinyal kematian melalui jalur ekstrinsik adalah reseptor Fas, yang menginduksi berkumpulnya *death-inducing signaling complex* (DISC), yang merupakan kompleks multiprotein sitoplasma dari reseptor Fas, protein adaptor *Fas-associated death domain-containing protein* (FADD) dan procaspase-8. Caspase-3 merupakan titik temu dari jalur apoptosis, dan inhibitor peptida ini

mencegah apoptosis sel serta meningkatkan fungsi dari graft sel β pankreas. Caspase merupakan protease spesifik asam aspartat yang mengandung sistein sebagai zymogens dalam sitoplasma solubel, retikulum endoplasma (RE), ruang intermembran mitokondria dan matriks nuklear. Apoptosis diinduksi oleh ligasi dari reseptor permukaan sel seperti Fas (CD95) atau reseptor *tumor necrosis factor* (TNF). Ikatan ligan dengan reseptor menyebabkan berkumpulnya protein dari *death-inducing signaling complex* (DISC), yang mengaktifasi caspase apikal, yaitu procaspase-8. Hal ini akan menyebabkan kaskade dimana caspase-8 menginduksi aktivasi dari caspase-3. Salah satu protein ini adalah endonuklease bergantung caspase (*caspase-activated DNase* [CAD]) yang dibebaskan dari inhibitorynya (ICAD) oleh caspase-3 dan memotong DNA menjadi fragmen oligonukleosom (180-bp) (Tomita, 2016; Wali et al., 2013).

4.3.2 Jalur Intrinsik

Jalur intrinsik diaktivasi oleh berbagai macam stres selular dan berhubungan dengan keseimbangan komponen pro-apoptosis dan anti-apoptosis dari kelompok Bcl-2 yang meregulasi jalur ini. Kelompok pro-apoptosis hanya memiliki satu domain homolog Bcl-2 dan disebut sebagai protein BH3. Faktor yang termasuk dalam kelompok antara lain Bim, Puma, Noxa, DP5, Bid dan masih banyak lagi. Tipe stress selular yang berbeda mengaktifasi protein BH3 yang berbeda pula. Yang termasuk anti-apoptosis termasuk Bcl-2, Bcl-xl, Bcl-w dan Mcl-1. Stres selular mengaktifasi kelompok proapoptosis Bcl-2 dan menurunkan faktor anti-apoptosis, yang selanjutnya menyebabkan translokasi dari Bax dan Bak menuju bagian luar membran mitokondria dan menyebabkan pembentukan pori-pori. Hal ini menyebabkan pelepasan sitokrom c ke sitoplasma, yang selanjutnya

menyebabkan apoptosis dengan aktivasi caspase-9, diikuti oleh aktivasi caspase-3, 6, dan 7 (Wali et al., 2013). Kelompok Bcl-2 memiliki kemampuan untuk mengatur permeabilitas membran luar mitokondria. Kelompok ini dapat bersifat proapoptosis maupun anti-apoptosis. Efek ini bergantung pada aktivasi atau inaktivasi dari pori transisi permeabilitas membran dalam mitokondria, yang dipengaruhi oleh regulasi dari Ca^{2+} matriks, pH dan tegangannya. Caspase-3 diaktivasi pada kedua jalur apoptosis - intrinsik dan ekstrinsik - dimana pada jalur intrinsik caspase-3 diproses oleh sitokrom C bersamaan dengan caspase-9, *apoptosis-activating factor* (Apaf-1) dan ATP, sedangkan pada jalur ekstrinsik, protein ini mengaktivasi kaskade caspase. (Tomita, 2016).

4.4 Mekanisme Apoptosis Sel β Pankreas pada DM tipe 1

Terdapat beberapa molekul yang dianggap sebagai efektor pada mekanisme apoptosis sel β pankreas, antara lain: perforin, Fas Ligand (FasL), *tumor necrosis factor* (TNF)- α , interleukin (IL)-1, interferon (IFN)- γ dan nitrit oksida (NO). STAT1 (*signal transducer and activator of transcription-1*) difosforilasi oleh IFN- γ dan memodulasi transduksi sinyal dari kombinasi IFN- γ /TNF- α dan IFN- γ /IL-1. NF- κ B (*nuclear factor- κ B*) dapat diaktivasi pula oleh TNF- α sehingga berperan sebagai anti-apoptosis sedangkan oleh IL-1 menyebabkan kematian sel (Kim & Lee, 2010). FasL (CD178) merupakan protein yang terikat pada membran dan di-up-regulasi oleh sel T yang teraktivasi. Ekspresi dari antibodi netralisir terhadap Fas menghambat terjadinya apoptosis secara signifikan, menyebabkan fungsi sel β lebih adekuat, memperlambat perkembangan penyakit diabetes melitus tipe 1 (Tomita, 2016).

Pada diabetes melitus tipe 1, sel β pankreas merupakan target dari autoimun yang menginvasi pulau Langerhans oleh sel mononuklear sebagai reaksi inflamasi. Reaksi inflamasi atau yang disebut juga sebagai insulinitis menyebabkan rusaknya sel β oleh karena kontak langsung dengan makrofag dan sel T yang aktif dan/atau paparan dari mediator solubel yang disekresikan oleh sel tersebut seperti sitokin, nitrit oksida (NO) dan radikal bebas oksidatif. Apoptosis ini diatur, diaktivasi dan/atau dimodifikasi oleh sinyal ekstraseluler, kadar ATP intraseluler, kaskade fosforilasi dan ekspresi gen proapoptosis dan anti-apoptosis (Cnop et al., 2005).

Sitokin inflamasi dapat menginduksi ekspresi dari gen yang merespon terhadap stress yang efeknya dapat bersifat protektif ataupun merusak sel β . IL-1 β mengaktivasi NF- κ B pada sel pulau Langerhans pada model tikus dan manusia. Aktivasi ini berperan penting dalam mengontrol banyak gen regulator yang mempengaruhi diferensiasi sel β dan homeostasis Ca²⁺, menarik dan mengaktivasi sel imun dan secara langsung berkontribusi pada apoptosis sel β . Apabila aktivasi NF- κ B dihambat oleh I κ B (*inhibitory* κ B), hal ini dapat melindungi sel β pankreas dari apoptosis yang diinduksi oleh sitokin. Secara *in vitro*, paparan terhadap IL-1 β saja pada sel β tidak menimbulkan apoptosis. Namun apabila dilakukan paparan bersamaan IL-1 β dengan IFN- γ akan bersinergi dalam menimbulkan apoptosis. IFN- γ akan berikatan dengan reseptor permukaan sel dan mengaktivasi kinase tirosin JAK1 dan JAK2 yang selanjutnya akan memfosforilasi STAT-1. Aktivasi yang berlebihan dari STAT juga diregulasi oleh *feedback* negatif seperti defosforilasi JAK dan reseptor sitokin oleh SHP dan inhibisi aktivitas

enzimatik JAK oleh kelompok SOCS (*suppressor of cytokine signaling*) (Cnop et al., 2005).

Autoimunitas pada sel β pankreas yang menyebabkan apoptosis dimulai dari adanya presentasi antigen oleh APC (*antigen presenting cell*) kepada limfosit T dan B. Terdapat ketidakmampuan dalam membedakan mana yang asing dan tidak dalam autoimunitas, yang selanjutnya menyebabkan perkembangan dan ekspansi dari sel efektor yang reaktif terhadap sel tubuh sendiri. Pada diabetes melitus tipe 1, infiltrasi yang progresif dari sel imun (*innate* dan adaptif) pada pulau Langerhans menyebabkan insulinitis (Rojas et al., 2018; Siahaan, 2020).

Hal ini dimulai sejak pengenalan autoantigen oleh APC seperti sel dendritik (DCs) dan makrofag. Molekul yang dapat berperan sebagai autoantigen dapat berupa insulin, glutamat dekarboksilase (GAD), tirosin fosfatase protein, *insulinoma-associated antigen-* (IA-) 2, dan IA-2b yang dihasilkan melalui kematian sel β pankreas melalui mekanisme fisiologis atau oleh karena infeksi virus. Selanjutnya APC akan bermigrasi menuju nodus limfatik pankreas dimana mereka akan mengaktivasi imunitas adaptif (limfosit T CD4) melalui pelepasan IL-12. Hal ini juga merangsang perubahan limfosit B menjadi sel plasma, yang menghasilkan antibodi terhadap autoantigen tersebut. Sel T akan berdiferensiasi menjadi Th1 CD4+ yang mensekresikan IL-2 dan IFN- γ , yang akan menstimulasi DC dan makrofag untuk mensekresikan sitokin seperti IL-1 β dan TNF- α . Kedua sitokin ini menginduksi migrasi dari sel T sitotoksik CD8 yang menyebabkan akumulasi dari sel ini dalam pulau Langerhans. Sitokin-sitokin ini juga menyebabkan ekspresi dari molekul MHC-I pada sel β pankreas dan MHC-II pada APC, yang selanjutnya

meningkatkan suseptibilitas sel β pankreas terhadap serangan dari limfosit T yang reaktif sehingga menyebabkan kematian sel (Rojas et al., 2018).

Jalur ekstrinsik dari mekanisme apoptosis sel β pankreas pada DM tipe 1 dimulai saat FasL dan Fas berikatan dan sinyal apoptosis ditransmisikan melalui Fas DD menuju protein adaptif yang berhubungan dengan domain kematian sel (FADD). FADD menyebabkan rekrutmen dari procaspase-8, pembentukan kompleks sinyal yang dikenal dengan DISC. DISC akan menyebabkan perubahan procaspase-8 menjadi bentuk aktifnya, yaitu caspase-8, yang menyebabkan aktivasi dari caspase lain seperti caspase-3 dalam mengeksekusi sinyal apoptosis dan kematian sel β pankreas (Rojas et al., 2018).

Terdapat kemungkinan mekanisme lain yang dapat menyebabkan apoptosis sel β pankreas selain melalui ekspresi gen yang diaktivasi oleh sitokin, seperti:

1. Aktivasi dari protein kinase c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) yang diaktivasi oleh stress, p38 MAPK (*mitogen-activated protein kinase*), dan ERK (*extracellular signal-regulated kinase*). Sel β pankreas yang terpapar IL-1 β memiliki peningkatan aktivitas dari JNK yang dipotensiasi oleh IFN- γ atau TNF- α . p38 MAPK dan ERK juga diaktivasi oleh sitokin dan inhibisinya dapat mencegah kematian sel β .
2. Merangsang stress retikulum endoplasma (RE). Hal ini dapat terjadi oleh karena perubahan dalam konsentrasi Ca²⁺ dalam retikulum endoplasma, yang selanjutnya akan merangsang akumulasi dari protein dan aktivasi dari respon stres spesifik yang dikenal dengan respon stress RE. Respon ini nantinya akan mengembalikan homeostasis RE, up-regulasi dari

pendamping RE, dan degradasi dari protein *misfolded*. Apabila hal ini berlangsung berkepanjangan, apoptosis akan dilakukan oleh faktor transkripsi CHOP, MAPK JNK dan capsase-12.

3. Pelepasan dari sinyal kematian dari mitokondria. Mitokondria merupakan organela sel yang memiliki peran penting dalam merangsang apoptosis. Kelompok protein Bcl-2 meregulasi respon mitokondrial dalam bentuk sinyal pro-apoptosis, mencegah pelepasan protein mitokondria seperti sitokrom c, yang apabila dilepaskan dalam sitosol akan mengaktivasi caspase-9 dan -3 dan memicu kematian sel. Ekspresi yang berlebihan dari Bcl-2 ditemukan melindungi sel β pankreas dari kematian sel yang diinduksi sitokin pada tikus maupun manusia (Cnop et al., 2005).

4.5 Mekanisme Apoptosis Sel β Pankreas pada DMT2

Defisiensi insulin yang terjadi pada diabetes melitus tipe 2 dapat disebabkan oleh penurunan produksi insulin dari sel β dan/atau berkurangnya massa sel β . Penurunan massa sel β ini merupakan hasil dari apoptosis atau kematian sel β pankreas. Resistensi insulin sering kali dihubungkan dengan obesitas dan hal ini merupakan faktor risiko utama untuk terjadinya diabetes melitus tipe 2 (Cnop et al., 2005; Kim & Lee, 2010).

Selain insulin, konsentrasi dari beberapa molekul seperti peningkatan TNF- α atau AGE (*advanced glycation end-products*) dapat menyebabkan kerusakan pada fungsi dan viabilitas sel β dalam jangka panjang. Hal lain yang berkontribusi dalam proses apoptosis ini juga dapat disebabkan oleh amilin yang disekresikan bersamaan dengan insulin, stress retikulum endoplasma yang terjadi

sebagai akibat dari usaha memproduksi insulin berkepanjangan, atau oleh molekul lipid seperti *free fatty acids* (FFA). Asam lemak bebas memiliki peran dalam mekanisme disfungsi atau kematian sel β pankreas yang disebut sebagai lipotoksisitas. Asam lemak bebas yang dilepaskan dari lemak viseral dari pasien dengan obesitas berkontribusi dalam patogenesis resistensi insulin yang selanjutnya berkembang menjadi diabetes melitus tipe 2. Namun, peran asam lemak bebas dalam patogenesis apoptosis sel β pankreas secara molekuler masih belum jelas. Beberapa penelitian menyatakan bahwa lipoapoptosis ini dapat dimediasi oleh ceramide ataupun aktivasi c-Jun N-terminal kinase (JNK) oleh lipid. DAG (*diacylglycerol*), TG (*trigliserida*), atau metabolit lain yang merupakan hasil dari oksidasi β tidak sempurna dari asam lemak bebas juga didapati berimplikasi sebagai efektor akhir dalam resistensi insulin yang diinduksi oleh FFA atau lipotoksisitas. Mekanisme lain yang diperkirakan menjadi mediator lipotoksisitas adalah stres retikulum endoplasma yang disebabkan oleh asam lemak tersaturasi seperti palmitat dalam sel β pankreas. Hal ini menyebabkan degradasi dari karboksipeptidase E yang dimediasi oleh Ca^{2+} , dimana enzim ini berperan dalam pengubahan proinsulin menjadi insulin matur. Penurunan dari enzim ini menginduksi stress RE yang bergantung pada CHOP dan apoptosis sel β pankreas secara *in vitro* dan *in vivo*. Mekanisme kedua yang dipertimbangkan juga adalah adanya peningkatan konsentrasi ROS, seperti yang sudah disebutkan sebelumnya. Perlu diketahui bahwa efek asam lemak pada sel β pankreas bergantung pada panjang dan derajat saturasi dari rantai karbonnya (Johnson & Luciani, 2010; Kim & Lee, 2010; Rojas et al., 2018).

Keadaan hiperglikemia atau yang disebut juga dengan glukotoksisitas juga berkontribusi dalam patogenesis apoptosis sel β pankreas pada diabetes melitus tipe 2, walaupun tidak menjadi penyebab utama dalam penurunan GIIS (*glucose-induced insulin secretion*). Keadaan hiperglikemia pada sel β tikus memiliki efek yang negatif yang menyebabkan perubahan dalam ekspresi gen, pertumbuhan dan pertahanan sel serta *glucose stimulus-secretion coupling*. Hal ini juga dimediasi oleh sitokin, stress oksidatif, ataupun stress retikulum endoplasma secara tidak langsung dalam akumulasi glikogen. Penelitian *in vitro* pada sel β pankreas manusia yang berikan paparan glukosa yang tinggi ditemukan bahwa ekspresi gen Bad meningkat dalam keadaan ini. Hal serupa juga terjadi pada gen protein Bid dan Bik. Anti-apoptosis Bcl2 tidak dipengaruhi oleh keadaan glukosa yang tinggi, tidak seperti gen pro-apoptosis. Hal ini menandakan bahwa paparan kronik glukosa yang tinggi secara *in vitro* dapat mengganggu keseimbangan antara pro-apoptosis dan anti-apoptosis yang mengarah pada kematian sel atau apoptosis. Apoptosis hanya dapat terjadi apabila konsentrasi dari protein Bcl pro-apoptosis melebihi protein anti-apoptosis di membran mitokondria pada jalur intrinsik. Glukotoksisitas menyebabkan disfungsi dari sel β pankreas oleh karena stres oksidatif. Hal ini terjadi akibat produksi berlebihan dari radikal bebas oleh transport elektron rantai mitokondria yang menurunkan aktivitas dari *glycolytic enzyme glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase* (GADPH). Hal ini dapat memicu peningkatan konsentrasi dari komponen glikolitik intermediat dan meningkatkan kadara intraseluler dari metabolit pertama pada jalur glikolitik. Substrat pada jalur poliol akan meningkat dan aldose reductase akan menurunkan konsentrasi NADPH yang mana akan menyebabkan penurunan kemampuan

antioksidan dari sel β pankreas. Keadaan hiperglikemia kronik ini menyebabkan peningkatan sintesis insulin dan menyebabkan akumulasi dari protein *unfolded* pada interior retikulum endoplasma, yang menginduksi aktivasi dari mekanisme pertahanan yang disebut dengan *unfolded protein response* (UPR). Namun, aktivasi yang berlebihan dapat menimbulkan mekanisme molekular yang menyebabkan kematian sel (Cnop et al., 2005; Rojas et al., 2018; Tomita, 2016).

Deposit amyloid pada pulau Langerhans merupakan temuan khas pada diabetes melitus tipe 2. IAPP merupakan polipeptida hormon pankreas yang dibentuk oleh 37 asam amino dan disintesis, disimpan, dan disekresi bersama insulin oleh sel β pankreas. IAPP (*islet amyloid polypeptide*) secara bersamaan disekresikan dengan insulin dari sel β pankreas menuju aliran darah sebagai respon dari GIIS. Pada keadaan fisiologis, kadar dari IAPP ini lebih rendah dari insulin, namun dalam perkembangan diabetes melitus tipe 2, produksinya meningkat sebagai kompensasi dari hiperinsulinemia yang merupakan tanda dari resistensi insulin. Hal ini menimbulkan stres retikulum endoplasma yang selanjutnya mengaktifasi mekanisme UPR yang serupa pada keadaan glukotoksik. Tiga kunci sensor UPR yang memediasi fungsi yang tepat dari retikulum endoplasma berupa *activating transcription factor 6* (ATF6), *inositol-requiring enzyme 1* (IRE1), dan *PKR-like ER kinase* (PERK). Ketiganya akan mengaktifasi jalur regulasi yang menyebabkan dekongesti dan renormalisasi dari aktivitas retikulum endoplasma. Ketika hal ini tidak dapat dicapai, akan terjadi apoptosis. Stres kronik pada retikulum endoplasma akan mengaktifasi ketiga kunci UPR yang akan mengaktifasi transkripsi protein *CCAT-enhancer-binding*

yang homolog (CHOP) yang dalam kadar berlebihan akan ditranslokasi menuju nukleus dan menginduksi fragmentasi DNA dan menghentikan siklus sel. Studi menunjukkan bahwa kematian dari sel β ini disebabkan oleh akumulasi dari amiloid pada intrasel dan ekstrasel, yang selanjutnya membentuk oligomer toksik yang mampu mengganggu stabilitas struktur dan fungsi dari membran selular. Menurut teori toksisitas oligomer, sel β pankreas pada DMT2 mengalami apoptosis akibat kerusakan membran sel β yang diinduksi oleh IAPP. Oligomer toksik ini membentuk hasil akhir dari β -sheets yang mengandung IAPP, $A\beta$, sinuklein, transtirenin, dan protein prion yang memiliki epitop yang mirip. IAPP intermediat memiliki efek toksik pada sel β namun tidak memberikan efek toksik pada sel σ , γ , dan PP dimana sel non- β tidak memiliki IAPP endogen yang cukup (Rojas et al., 2018; Tomita, 2016).

4.6 Cell Apoptosis Stimuli and Signaling - Thomas Mandrup-Poulsen

Apoptosis, atau kematian sel terprogram, adalah mode fisiologis remodeling jaringan selama organogenesis tetapi juga terlibat dalam fisiologi di kemudian hari, misalnya, dalam kaitannya dengan involusi timus (Mandrup-Poulsen, 2001).

Kematian sel apoptosis adalah proses yang membutuhkan energi melibatkan sintesis protein de novo. Proses ini ditandai dengan perubahan morfologi termasuk kondensasi kromatin inti, penyusutan sel, membran blebbing, dan pembentukan badan apoptosis yang merupakan konstituen seluler yang dikelilingi membran dan menjalani fagositosis sebelum kebocoran isi intraseluler, sehingga terhindar dari stimulasi sistem imun respon. Pada banyak penyakit degeneratif kronis, apoptosis menyebabkan

kematian sel yang tidak tepat. Kaskade apoptosis dapat ditimbulkan oleh sejumlah rangsangan yang bervariasi, termasuk peristiwa intraseluler, seperti ketidakseimbangan metabolisme, gangguan siklus sel, atau kerusakan DNA, dan faktor ekstraseluler, seperti aktivasi reseptor kematian (Fas dan reseptor tumor necrosis factor (TNF) dan penarikan faktor pertumbuhan, faktor metabolik, hormon tertentu, serta mediator inflamasi seperti sitokin. Sinyal intraseluler melibatkan ceramide; peningkatan kalsium intraseluler; oksigen bebas dan radikal oksida nitrat (NO); dan protein kinase seperti mitogen-activated protein kinase (MAPK), stress-activated protein kinase (SAPK), dan protein kinase C. Pada akhirnya, jalur efektor yang umum adalah aktivasi sistein protease (caspases) dan endonuklease yang membelah DNA inti menjadi fragmen oligosomal. Ada semakin banyak bukti bahwa apoptosis adalah cara utama kematian sel yang menyebabkan diabetes tipe 1 (Mauricio et al, 1998) tetapi ada juga beberapa bukti, terutama dari model hewan, bahwa sel mengalami apoptosis pada diabetes tipe 2 (Shimabukuro et al., 1998)

4.7 Pro-Apoptosis Sel B Pankreas

4.7.1 Apoptosis Pada Diabetes Tipe 1

Diabetes Melitus tipe 1 (DMT1) adalah penyakit autoimun evolusi kronis di mana proses yang bertanggung jawab atas kematian sel β pankreas atau *pancreatic beta cell* (PBC) berlangsung selama bertahun-tahun. Gejala klinis DMT1 muncul ketika lebih dari 70% massa PBC hancur (Reichert, 2011). Mekanisme penghancuran PBC di DMT1 belum sepenuhnya diklarifikasi; namun, hal yang sangat penting telah dikaitkan dengan mekanisme berikut (Pirrot et al., 2008): (1) ekspresi fragmen perangsang apoptosis (Fas) dan ligan Fas-L pada permukaan sel CD8⁺ yang diaktifkan T

dan PBC, masing-masing; (2) sekresi sitokin proinflamasi seperti IL-1 β , TNF- α , dan IFN- γ oleh sel imun berbeda yang diinfiltrasi di pulau Langerhans; (3) produksi spesies oksigen reaktif (ROS) seperti oksida nitrat (NO) oleh makrofag, DC, dan PBC. Semua mekanisme ini bertemu dalam induksi jenis kematian sel terprogram yang dikenal sebagai apoptosis (Rojas et al., 2016). Ini adalah bentuk utama kematian yang diamati melalui biopsi pulau tikus dan manusia dengan DM1 (Lightfoot, 2012).

Islet pada manusia kurang sensitif terhadap efek penghancur dari sitokin, tetapi paparan mereka selama beberapa hari terhadap IL-1 β plus TNF- α plus IFN- γ menginduksi kerusakan fungsi sel dan kematian oleh apoptosis (Eizirik et al., 1997). Menariknya, baik IL-1 β maupun IFN- γ saja tidak menginduksi apoptosis pada sel manusia, sedangkan kombinasi sitokin ini secara langsung menginduksi kematian sel (Delaney et al., 1997). Efek tidak langsung potensial dari sitokin adalah peningkatan regulasi reseptor Fas sel, meningkatkan kerentanan sel-sel ini terhadap apoptosis yang dimediasi oleh ligan Fas (FasL), yang diekspresikan pada permukaan sel T dan makrofag yang mengikuti (Yamada et al., 1996). Data terbaru menunjukkan bahwa ekspresi Fas dan apoptosis juga terdapat pada sel manusia pada tahap awal diabetes tipe 1 (Stassi et al., 1997; Amrani et al., 2000.)

Apoptosis tampaknya merupakan cara utama kematian sel pada tikus NOD (14). Pada spesies ini, apoptosis sel mendahului infiltrasi sel T massif (O'Brien et al., 1997.), memperkuat peran diduga mediator inflamasi yang dihasilkan oleh sel infiltrasi awal seperti makrofag dan sel dendritik. Sejalan dengan kemungkinan ini, ekspresi IL-1 α , IFN- γ , dan bentuk terinduksi dari nitric oxide synthase

(iNOS) telah terdeteksi di pankreas endokrin tikus NOD prediabetes (Rabinovitch, 1998). Selain itu, TNF membran, yang dibawa oleh sel CD8+ teraktivasi, memediasi diabetes autoimun tanpa adanya perforin atau Fas (Herrera, 2000).

Apoptosis adalah bentuk kematian sel yang sangat diatur, dipengaruhi oleh sinyal penginduksi ekstraseluler dan level ATP intraseluler, kaskade fosforilasi, dan ekspresi gen dan protein apoptosis dan antiapoptosis (Lemasters et al., 1999). Pengamatan ini menekankan bahwa kejadian pada tingkat sel akan menentukan kelangsungan hidup atau kematian mereka pada awal diabetes tipe 1. Sel yang diobati dengan sitokin memodifikasi ekspresi mereka dari beberapa gen yang berpotensi terlibat dalam kelangsungan hidup atau kematian sel. Ulasan terbaru berurusan dengan morfologi, metode deteksi, dan efektor dari apoptosis sel di bawah kondisi *in vivo* atau *in vitro* (Eizirik, 1999).

Studi pada beberapa model hewan dari diabetes yang dimediasi kekebalan telah menunjukkan bahwa apoptosis mungkin merupakan cara utama penghancuran sel (4-6). Telah ditetapkan bahwa makrofag serta sel T CD4+ dan CD8+ diperlukan untuk menghasilkan insulinitis dan diabetes pada model hewan. Oleh karena itu, ada beberapa kemungkinan teoretis tentang bagaimana sistem imun dapat menimbulkan apoptosis:

- Sel T CD8+ menyebabkan destruksi sel melalui jalur perforin/granzim, yang melibatkan penyisipan kompleks perforin tubulus ke dalam membran sel dan kematian sel osmotik, yaitu bentuk kematian non-apoptosis. Namun, penjelasan ini sangat dipertanyakan pada tikus NOD transgenik reseptor sel T yang kekurangan perforin, yang memperburuk diabetes bahkan lebih sering daripada mereka yang kompeten perforin (Amrani et al., 1999).

•Sel CD4+ dan CD8+T yang teraktivasi mengekspresikan FasL, yang setelah berikatan dengan reseptor Fas dapat menyebabkan apoptosis sel. Dalam mendukung hipotesis ini, penelitian *in vitro* telah menunjukkan bahwa sitokin, seperti interleukin (IL)-1 meningkatkan regulasi ekspresi Fas pada sel dengan cara yang bergantung pada NO (Stassi et al., 1997). Selanjutnya, ekspresi Fas berkorelasi dengan destruksi sel pada tikus NOD. Namun, hasil yang bertentangan telah dilaporkan dari studi *in vivo*. Dengan demikian, tikus NOD yang kekurangan Fas resisten terhadap diabetes spontan dan sel T diabetogenik. Sebaliknya, pulau dari tikus NOD yang kekurangan Fas hanya dilindungi sedikit dari serangan kekebalan ketika dicangkokkan ke tikus diabetes. Selain itu, antibodi anti-FasL gagal menghambat diabetes. Baru-baru ini, bagaimanapun, kontroversi yang jelas diselesaikan dengan temuan bahwa tikus NOD yang kekurangan Fas memiliki sel limfoid mengekspres FasL abnormal yang mengerahkan apoptosis pada limfosit yang ditransfer secara adopsi dan dengan demikian menghambat perkembangan diabetes (Lee et al., 2000). Secara keseluruhan, temuan ini secara serius mempertanyakan peran sistem perforin dan Fas/FasL dalam penghancuran sel . Sebaliknya, peran sel CD4+ dan CD8+ adalah untuk mengaktifkan umpan balik makrofag pada stimulasi antigen dan kostimulasi; makrofag yang diaktifkan ini memfasilitasi penghancuran pulau oleh jalur yang bergantung pada sintesis NO. Implikasi mediator humoral dalam penghancuran sel yang dimediasi imun digaribawahi oleh pengamatan bahwa insulinitis dan penghancuran sel dapat berlanjut tanpa adanya pengenalan antigen permukaan sel pulau oleh sel T pada tikus chimeric, di mana tulang sel penyaji antigen yang diturunkan dari

sumsum tulang, tetapi bukan sel pulau, mampu menyajikan antigen ke sel T (Sarukhan, Lechner and von Boehmer, 2000).

•Terlepas dari sintesis NO yang bergantung pada makrofag, makrofag dan sel T dapat mempengaruhi viabilitas sel melalui sitokin proinflamasi IL-1, TNF- α , dan -interferon (IFN- γ). Ada banyak bukti bahwa sitokin ini menyebabkan kerusakan sel in vitro (18), termasuk di pulau islet. Terdapat studi in vivo baru-baru ini untuk mendukung konsep ini. (1) Reseptor sirkulasi dan antibodi penetral terhadap IL-1 mencegah diabetes tipe 1 tanpa efek yang jelas pada sistem kekebalan sel T. (2) Tikus NOD transgenik yang mengekspresikan reseptor TNF terlarut yang menghasilkan netralisasi TNF atau tikus NOD yang kekurangan untuk reseptor TNF tipe 1 dilindungi terhadap diabetes (22-24). (3) Antibodi anti-IFN- γ mencegah diabetes pada tikus BB, dan diabetes pada tikus NOD dicegah dengan mutasi rantai reseptor IFN- γ atau pada tikus yang kekurangan IFN- γ .

Secara keseluruhan, studi yang ditinjau di atas menunjukkan bahwa penghancuran sel dan diabetes tipe 1 bergantung pada interaksi antara makrofag, sel CD4+, dan sel T CD8+ yang membentuk lesi inflamasi kronis, di mana mediator terlarut seperti NO dan sitokin molekul efektor penting (Nicoletti et al., 1997).

4.7.2 Apoptosis Pada Diabetes Tipe 2

Diabetes tipe 2 didefinisikan secara klinis ketika sel β tidak dapat mengkompensasi resistensi insulin dengan peningkatan pelepasan insulin. Pada sebagian besar model hewan diabetes tipe 2, kompensasi sel dicapai dengan hiperplasia sel. Pada manusia, tidak jelas apakah sel β berkurang secara progresif setelah penegakkan diagnosis diabetes. Beberapa penelitian telah menemukan sel β yang normal atau berkurang pada pasien diabetes tipe 2. Dalam

konteks ini, harus diingat bahwa sel β yang normal bila dibandingkan dengan individu non-resisten insulin nondiabetes mungkin sebenarnya menunjukkan pengurangan relatif dibandingkan dengan hiperplasia yang diharapkan diperlukan untuk kompensasi pada individu yang resisten insulin obesitas (Thörn, Hovsepian & Bergsten, 2010).

Seperti yang ditunjukkan oleh Sempoux et al., ada pengurangan massa sel pada pasien diabetes tipe 2 yang diobati dengan insulin. Dapat dikatakan bahwa ini adalah konsekuensi dari pemberian insulin karena hiperinsulinemia hipoglikemik yang berat, misalnya, pada hewan yang ditransplantasikan dengan insulinoma menyebabkan pengurangan massa sel (Hirota et al., 2006.). Namun, perlu dicatat bahwa peningkatan fungsi sel umum terjadi pada pasien diabetes tipe 1 onset baru yang diobati dengan insulin dan cukup untuk mempertahankan remisi yang tidak memerlukan insulin pada ~ 20% dari diabetes tipe 1 onset baru-baru ini. Secara bersama-sama, meskipun masih merupakan masalah yang belum terselesaikan, beberapa penelitian menunjukkan pengurangan massa sel sebagai kontributor dekompensasi sel pada diabetes tipe 2 manusia (Šrámek et al., 2021).

a. Free Fat Acid (FFA)

High fat diet (HFD) atau diet tinggi lemak menyebabkan penurunan jumlah sel fungsional karena apoptosis pada hewan percobaan. Temuan ini mengkonfirmasi keberadaan apoptosis yang diinduksi Fatty Acid (FA) dalam sel *in vivo* dan dengan demikian melegitimasi penelitian komprehensif tentang mekanisme molekulernya secara *in vitro*. Pengaruh berbagai spesies FA pada sel β tergantung pada panjang rantai karbon dan

tingkat kejenuhan. FA yang dominan dalam serum darah adalah PA jenuh (asam palmitat) dan SA (asam stearat) dan POA tak jenuh (asam palmitoleat), OA (asam oleat) dan LOA (asam linoleat) (Lagerstedt et al., 2001).

PA dan SA jenuh menyebabkan kematian sel tikus primer, serta sel pada tikus terisolasi dan pulau islet pada manusia, dan garis sel. SA tampaknya lebih efektif daripada PA pada sel dan pulau manusia. Namun, PA biasanya diuji sebagai perwakilan FA jenuh. Menariknya, FA jenuh dengan panjang rantai lebih pendek dari 16 karbon, misalnya, oktanoat (8 karbon) dan miristat (14 karbon), tidak efektif sebagai penginduksi kematian sel (Lagerstedt et al., 2001).

Berbeda dengan PA dan SA, POA dan OA tak jenuh memiliki efek pro-apoptosis yang lebih rendah atau tidak ada secara signifikan pada sel. Menariknya, memberi makan tikus C57BL/6J dengan diet yang berbeda juga menunjukkan bahwa HFD yang mengandung minyak zaitun extra virgin, yaitu diet dengan kandungan FA tak jenuh tunggal yang tinggi, tidak menginduksi apoptosis sel, berbeda dengan HFD berbasis lemak babi, yaitu diet dengan kandungan tinggi FA jenuh (Jurado-Ruiz et al., 2019). Namun demikian, beberapa penelitian menunjukkan efek merusak juga dalam kasus FA tak jenuh. Biasanya, efek pro-apoptosis ini kurang terasa (Šrámek et al., 2021).

Terdapat bukti yang lebih meyakinkan dari penelitian pada hewan bahwa apoptosis mungkin terlibat dalam kegagalan sel β pada diabetes tipe 2. Jadi, pada tikus diabetes Zucker lemak fa/fa, pulau-pulau kecil mengandung kadar asam lemak bebas/free fat acid (FFA) 100 kali lipat lebih tinggi daripada yang ada pada tikus tanpa lemak. Kultur pulau tikus pradiabetes Zucker dalam 1 mmol/l FFA menyebabkan peningkatan apoptosis empat

kali lipat. Efek ini dikaitkan dengan peningkatan ceramide produk sphingomyelinase, dan memblokir sintesis ceramide mencegah apoptosis yang diinduksi FFA. Situs sebenarnya di mana pensinyalan pro-apoptosis yang diinduksi FA berasal belum terungkap. Ini sesuai dengan fakta bahwa sifat efek diferensial dari FA jenuh dan tak jenuh pada viabilitas sel juga tidak jelas. Namun, lokalisasi titik awal dalam sitoplasma mudah dipercaya, karena keterlibatan FA dalam berbagai jalur metabolisme dan biosintetik. FA jenuh dengan konformasi rantai asil yang kaku dan lurus menurunkan fluiditas membran setelah penggabungannya ke dalam lapisan ganda lipid (Maulucci et al., 2016). Pensinyalan proapoptosis terinduksi FA jenuh dapat, dengan demikian, berasal dari membran sel, karena peningkatan kekakuannya, yang, pada dasarnya, dapat mempengaruhi aktivitas protein terkait membran yang relevan. Hal ini, pada gilirannya, menyebabkan transmisi sinyal ke jalur sinyal tertentu, yang dapat mengakibatkan efek pro-apoptosis, dan sebaliknya: peningkatan kekakuan membran juga dapat memblokir aktivasi protein terkait membran yang relevan, yang mengarah pada penghambatan jalur pensinyalan pro-survival tertentu. Jalur pro-survival Akt dan ERK atau pro-apoptosis p38 MAPK dan PKC δ , yang diatur oleh FA dalam sel dapat mewakili jalur pensinyalan tersebut. Hipotesis ini akan sejalan dengan pandangan bahwa perkembangan diabetes melitus tipe 2 didasarkan pada penurunan fluiditas membran karena kelebihan FA jenuh dalam makanan (Pilon, 2016).

Menariknya, FFA juga menginduksi ekspresi NO sintase dan peningkatan produksi NO empat kali lipat. Adanya inhibitor inducible NO synthase (iNOS) meminimalkan hilangnya sekresi insulin. Selanjutnya, faktor

antiapoptosis Bcl-2 sangat direduksi oleh FFA dan menghilang di pulau α/α yang dikultur dalam asam lemak. Penekanan Bcl-2 ini dicegah oleh leptin, yang dengan demikian mencegah apoptosis di pulau-pulau ini (Tuei et al., 2011).

Menariknya, inkubasi jangka panjang dengan sulfonilurea memicu apoptosis sel pankreas di pulau tikus ob/ob dengan cara yang bergantung pada kalsium efek yang juga ditemukan ketika mengekspos sel hepatoblastoma manusia ke sulfonilurea. Konsentrasi glukosa yang tinggi telah ditemukan menyebabkan disfungsi sel dan desensitisasi glukosa dan bahkan menginduksi apoptosis di pulau tikus ob/ob (Choi et al., 2007), meskipun glukosa juga dapat memberikan tindakan protektif. Akhirnya, polipeptida amiloid pulau menginduksi apoptosis pada sel cloning (Choi et al., 2007),

Dengan demikian, ada banyak bukti dari studi model in vitro dan hewan bahwa faktor metabolik yang terlibat dalam patofisiologi diabetes tipe 2 dan faktor farmakologis yang digunakan untuk mengobati diabetes tipe 2 dapat menyebabkan apoptosis sel .

b. Nitrogen Oksida (NO)

Peran NO dalam sel yang dimediasi autoimun dan sitokin destruksi sel β telah ditinjau secara ekstensif. Pada sel tikus, tampaknya peningkatan produksi NO, karena induksi iNOS melalui nucleus faktor (NF κ B), merupakan sinyal penting dalam kematian sel yang diinduksi oleh sel mediator sitokin. NO dapat menyebabkan toksisitas sel melalui mekanisme yang berbeda (Sauter et al., 2008).1) NO menonaktifkan enzim siklus Krebs aconitase dengan nitrosilasi gugus Fe-S, sehingga mencegah oksidasi glukosa mitokondria dan pembentukan ATP; 2) NO merusak DNA

seluler dengan menyebabkan putusnya untai DNA, sehingga mengaktifkan mekanisme perbaikan DNA termasuk enzim poli(ADP-ribosa) polimerase, yang dapat menyebabkan kematian sel melalui penipisan nicotinamide adenine dinucleotide (NAD⁺) seluler; 3) pemutusan untai DNA yang diinduksi NO mungkin cukup untuk menginduksi apoptosis melalui aktivasi protein penekan tumor p53 (dan/atau p73); dan 4) NO dapat berfungsi sebagai mediator redoks dalam jalur apoptosis yang diinduksi sitokin (Sarnyai et al., 2019).

Meskipun peningkatan produksi NO tampaknya diperlukan tetapi tidak cukup untuk kematian sel yang diinduksi IL-1 β dari sel tikus, percobaan dengan pulau islet menunjukkan bahwa kematian sel yang diinduksi sitokin mungkin tidak tergantung pada generasi NO (Yang et al., 2016). Oleh karena itu, dalam sel manusia, dibutuhkan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme induksi apoptosis sel β melalui sitokin mediator. Meskipun ada bukti in vivo bahwa peroksinitrit, jenis oksidan yang sangat reaktif yang dihasilkan oleh reaksi radikal bebas superoksida dan NO, dapat dideteksi dalam sel di pulau islet tikus NOD diabetes akut, dan meskipun tikus transgenik mengekspresikan iNOS secara berlebihan di pankreas. sel mengalami diabetes tipe 1 tanpa insulinitis. Secara keseluruhan, data ini menunjukkan bahwa meskipun NO mampu membunuh sel pulau pankreas, masih ada kekurangan bukti yang mendukung yang berhubungan dengan mekanisme destruksi sel β (Qi, 2012).

c. Mitogen- and stress-activated protein kinase (MAPK/SAPK)

MAPK/SAPK adalah kelompok kinase spesifik serin/treonin yang diaktifkan oleh fosforilasi ganda pada

residu treonin dan tirosin sebagai respons terhadap berbagai rangsangan ekstraseluler. MAPK/SAPK merupakan sistem transduksi sinyal seluler yang sangat terkonservasi yang sangat penting untuk mengatur pertumbuhan sel, diferensiasi, dan respons protektif terhadap rangsangan ekstraseluler, serta kematian sel.

Terdapat tiga kelompok utama MAPK/SAPK: 1) extracellular signal-regulated kinase (ERKs), 2) c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK) atau SAPK, dan 3) kelompok p38 dari protein kinase. Beberapa isoform dari famili MAPK/SAPK telah diidentifikasi (ERK-1, -2, -3, -4, -5, dan -7); p38 α , β , dan γ) serta total 12 isoform yang diturunkan dari tiga gen JNK (JNK-1, -2, dan -3).

Jalur MAPK klasik yang melibatkan ERK terutama diaktifkan oleh faktor pertumbuhan dan mitogen, namun juga oleh banyak stresor seluler. Jalur JNK dan p38 terutama diaktifkan oleh stres seluler, termasuk sitokin seperti IL-1, IL-2, IL-7, IL-17, IL-18, dan TNF- α , MAPK/SAPK memfosforilasi sejumlah substrat, dimana umum untuk tiga kelas kinase, dan banyak faktor transkripsi atau prekursor faktor transkripsi. Keseimbangan antara jalur ERK dan JNK/p38 menentukan apakah respons terhadap stimulus ekstraseluler menghasilkan pertumbuhan dan diferensiasi atau respons stres hingga akhirnya apoptosis. Jadi, dalam beberapa sistem sel, aktivasi dominan dan berkepanjangan dari sel target JNK/p38 menyebabkan apoptosis, sedangkan aktivasi selektif ERK mencegah apoptosis dan memastikan kelangsungan hidup sel. Namun perlu ditekankan bahwa perbedaan peran MAPK tidaklah mutlak. Secara umum diyakini bahwa JNK/p38 mengeksekusi apoptosis melalui kaskade kaspase. Pentingnya pemanfaatan MAPK/SAPK sebagai target obat,

baik natural maupun inhibitor farmakologis telah ditemukan. Jadi, heat shock protein 72, estrogen, selenite, inhibitor kuinon reduktase dicumarol, dan senyawa Cephalon 1347 semuanya secara tidak langsung menghambat aktivasi JNK. Demikian pula, penghambat aktivasi ERK di bagian hulu (protein penghambat Raf kinase dan protein Akt), serta senyawa Parke-Davis (PD) sintetis, menghambat aktivitas ERK melalui efek pada bagian hulu Raf-mitogen yang diaktifkan protein eksternal. Jalur kinase teregulasi sinyal akhir (Raf-MEK). Transmisi sinyal yang efektif dari kinase hulu ke MAPK/SAPK dapat difasilitasi oleh pembentukan kompleks scaffolding yang memastikan interaksi efektif oleh komponen kaskade. Protein scaffolding JNK seperti islet brain 1 (IB-1) dan JNK interacting protein-3 (JIP-3) (51) juga telah diidentifikasi dalam sel penghasil insulin (Cnop et al., 2001). Domain pengikatan JNK dari protein scaffolding berfungsi sebagai penghambat JNK yang spesifik dan efektif. Menariknya, protein IB-1 baru-baru ini ditemukan terlibat dalam regulasi ekspresi mRNA insulin dan menjadi mutasi missense yang terletak di wilayah pengkodean protein yang terpisah dengan diabetes tipe 2 dalam satu famili. In vitro, mutasi ini dikaitkan dengan kemampuan IB-1 untuk mencegah apoptosis yang diinduksi oleh aktivasi jalur JNK. Seperti disebutkan di atas, ceramide telah terlibat sebagai sinyal penting dari apoptosis yang dimediasi TNF. Analog ceramide ditunjukkan untuk meniru efek IL-1 pada pelepasan insulin pulau islet pada fetal dan sintesis DNA. Studi ini mendorong Welsh untuk menyelidiki peristiwa pensinyalan hilir yang disebabkan oleh ceramide. IL-1 menginduksi peningkatan sementara yang cepat (2-3 menit) pada ceramide, dan analog ceramide sintetis menginduksi JNK dan mengaktifkan aktivitas faktor

transkripsi-2 (ATF-2). Disarankan bahwa pembentukan ceramide yang dirangsang oleh IL-1 mungkin berkontribusi pada aktivasi faktor transkripsi JNK-1 dan ATF-2, dimana melalui NFkB, mungkin diperlukan tetapi tidak cukup untuk induksi sel NO sintesis (Li et al., 2010). Meski demikian, terdapat pertanyaan pada penelitian lain mengenai peran ceramide dalam kematian sel yang diinduksi sitokin. Salah satu studi menyelidiki pentingnya ERK dan p38 kinase dalam regulasi sintesis NO sel. Pada penelitian tersebut, menariknya, glukosa didapati sebagai sinyal aktivitas ERK dan p38 kinase, dan beberapa secretagogues menghambat fosfatase protein treonin serin yang berkontribusi pada sinyal MAPK yang berkepanjangan. Pengamatan ini mungkin relevan untuk memahami toksisitas glukosa pada diabetes tipe 2 (Zhu et al., 2019).

4.8 Anti-Apoptosis Sel B Pankreas

Sel-sel endokrin pankreas mampu berkembang biak selama seluruh kehidupan individu. Hal ini memastikan pergantian fisiologis sel-sel ini serta kapasitas pankreas endokrin untuk memenuhi permintaan insulin dalam kondisi fisiologis dan patologis yang berbeda (Anon, 1976). Setelah lahir, pertumbuhan dan pembaruan pulau diperkirakan sebagian besar bergantung pada replikasi sel pulau yang telah berdiferensiasi sebelumnya (Anon, 1976). Baru-baru ini, jalur kedua untuk diferensiasi sel β telah diidentifikasi, dan kumpulan sel β tambahan telah ditunjukkan berasal dari sel prekursor yang ada di dalam epitel duktus pankreas [4]. Diferensiasi sel prekursor (proses yang disebut pulau neogenesis) telah dilaporkan terjadi pada model yang berbeda dari eksperimen diabetes (Anon, 1997.). Kegagalan mekanisme kompensasi untuk

meningkatkan massa sel β pulau diyakini memainkan peran penting dalam patogenesis diabetes. Pemahaman mengenai mekanisme dan peran faktor-faktor yang terlibat dalam pertumbuhan dan diferensiasi sel β , atau disebut juga anti-apoptosis sel β pankreas, dapat menjadi sangat berguna dalam merancang strategi terapeutik yang bertujuan untuk mempromosikan neogenesis sel β serta melindungi sel β yang ada dari kerusakan dan kematian. Faktor pertumbuhan dan reseptornya mungkin memainkan peran penting dalam proses ini, tetapi identitas dan hubungan fisiologisnya hanya diketahui sebagian (Bonner-Weir et al., 1993).

a. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1)

Peranan penting dari GLP-1, hormon incretin terkenal, baru-baru ini telah disarankan dalam mempromosikan pertumbuhan sel endokrin pankreas (Tourrel et al., 2001). GLP-1 disintesis oleh sel-L intestine dan diketahui merangsang pelepasan insulin dalam keadaan postprandial. Mekanisme penurunan glukosa lainnya dari GLP-1 termasuk penghambatan pelepasan glukagon dan penurunan laju pengosongan lambung dan sekresi asam. Sebagai tambahan untuk aksi yang lebih dalam lagi, sifat novel dari GLP-1 baru-baru ini telah diidentifikasi. Pada tikus Wistar yang tidak toleran glukosa, mekanisme dimana GLP-1 membalikkan kelainan sel β yang bergantung pada usia termasuk aktivasi transkripsi gen insulin, GLUT-2 dan glukokinase. Hal ini terkait dengan perluasan massa sel β melalui neogenesis sel pulau. Temuan serupa telah diperoleh dengan menggunakan agonis reseptor GLP-1 exendin-4 pada tikus yang diberikan diabetes dengan subpankreatektomi parsial. Diferensiasi sel prekursor pankreas yang bergantung pada GLP-1 menjadi sel β matur juga telah diusulkan. Akhirnya, efek penghambatan pada

apoptosis sel pulau telah diamati pada model hewan diabetes serta sel β yang dikultur (Hui et al., 2003).

Temuan terbaru dan menarik ini telah mengungkap sifat trofik agonis GLP-1, yang secara substansial memperkaya pemahaman umum tentang peran GLP-1 dalam fisiologi pankreas endokrin. Pengamatan ini selanjutnya dapat mendukung penelitian yang bertujuan untuk mengembangkan agonis reseptor GLP-1 sebagai calon agen dalam pengobatan diabetes. GLP-1 telah terbukti mampu memodulasi ekspresi gen spesifik sel pulau β secara *in vivo* dan *in vitro*. Hal ini menunjukkan bahwa selain mengatur homeostasis glukosa, GLP-1 juga berperan dalam aktivitas fungsional sel β secara keseluruhan. Peningkatan ekspresi gen proinsulin telah terbukti sebagai hasil dari paparan sel yang diperpanjang terhadap GLP-1 [16] dan peningkatan kadar mRNA insulin telah ditunjukkan pada pankreas hewan pengerat yang mengalami 48 jam infus GLP-1 (Wang et al., 1997).

Berbagai penelitian yang dilakukan dalam beberapa tahun terakhir telah menyarankan bahwa mekanisme potensial untuk modulasi GLP-1 ekspresi gen spesifik sel pulau β melibatkan faktor transkripsi homeodomain IDX-1 (juga dikenal sebagai Pdx-1, IPF-1), IUF-1, dan Stf-1). Telah diketahui dengan baik bahwa IDX-1 sangat penting untuk perkembangan pankreas dini dan, pada hewan dewasa, mengatur transkripsi gen insulin yang responsif terhadap glukosa serta transkripsi gen spesifik sel β lainnya seperti GLUT-2, glukokinase dan polipeptida amiloid pulau. Independensi efek anti-apoptosis GLP-1 dari aktivitas penurun glukosanya telah ditunjukkan dalam eksperimen *in vitro*, di mana GLP-1 mampu menghambat hydrogen apoptosis yang bergantung pada peroksida (Hui et al., 2003).

GLP-1 mengurangi fragmentasi DNA dan meningkatkan kelangsungan hidup sel. Ini dimediasi oleh peningkatkan ekspresi protein anti-apoptosis bcl-2 dan bcl-xL. GLP-1 juga mencegah pembelahan yang bergantung pada hidrogen peroksida dari poli-(ADP-ribosa)-polimerase (PARP). Tindakan anti-apoptosis GLP-1 dimediasi oleh jalur pensinyalan yang bergantung pada cAMP dan PI3K. Dalam penelitian lain, para peneliti menunjukkan bahwa tingkat apoptosis pada sel-sel tikus yang diurutkan yang diinkubasi dengan exendin-4 dan kombinasi sitokin, yang meliputi IL-1 β , TNF- α , dan IFN- γ selama 18 jam menurun sebesar 44% dibandingkan dengan kontrol. Tindakan anti-apoptosis exendin-4 ini dikaitkan dengan penurunan ekspresi caspase-3, caspase-8, dan caspase-9 dan penurunan pelepasan sitokrom c dari mitokondria. Sel-sel juga menunjukkan kadar PKB/Akt dan b-catenin, substrat caspase-3 yang diawetkan. Kombinasi efek ini menghasilkan peningkatan viabilitas sel dari waktu ke waktu. Baru-baru ini, Farilla et al. menyelidiki apakah aksi anti-apoptosis GLP-1 dapat bermanfaat bagi pelestarian massa dan fungsi pulau manusia yang baru diisolasi (Farilla et al., 2003) Mereka menunjukkan bahwa GLP-1 menunda perubahan morfologi yang terjadi pada pulau manusia dalam budaya, seperti yang ditunjukkan oleh pelestarian struktur tiga dimensi yang lebih tahan lama, dengan pemeliharaan membran non-seluler yang mengelilingi pulau manusia yang sehat. GLP-1 mempromosikan peningkatan tergantung waktu dalam ekspresi protein Bcl-2 anti-apoptosis dan penurunan regulasi tingkat intraseluler dari bentuk aktif caspase-3. Efek serupa diamati pada tingkat mRNA untuk Bcl-2 dan caspase-3. Mereka juga menunjukkan bahwa dengan meningkatkan viabilitas sel, mereka mampu menunjukkan perbaikan yang

signifikan dari fungsi sel pulau. Memang, pulau manusia yang diobati dengan GLP-1 mengandung lebih banyak insulin dan mampu menghasilkan sekresi insulin yang lebih bergantung pada glukosa (Farilla et al., 2003).

Identifikasi properti baru GLP-1 ini selanjutnya dapat mendukung penyelidikan klinis untuk penggunaan hormon ini dalam pengobatan diabetes pada manusia (Perfetti and Hui, 2004).

b. NO

Massa sel β pankreas diatur oleh setidaknya empat cara independen, yaitu, replikasi sel β , ukuran sel β , neogenesis sel β , dan apoptosis sel β (Rhodes, 2005). Di antara mereka, peningkatan apoptosis sel β dianggap sebagai faktor paling penting yang berkontribusi terhadap timbulnya dan/atau perkembangan DM tipe 1 dan tipe 2 (Cnop, et al., 2005). Sama halnya dengan regulasi sekresi insulin, NO menunjukkan efek ganda pada regulasi apoptosis sel β dengan cara yang bergantung pada konsentrasi: efek anti-apoptosis dan pro-apoptosis pada konsentrasi rendah dan tinggi, masing-masing. Pada DM tipe 1, sel- β dihancurkan oleh autoimunitas melalui aksi sitokin pro-inflamasi: interleukin (IL)-1 β per se atau dalam kombinasi dengan interferon (IFN)- γ mengaktifkan faktor transkripsi faktor nuklir (NF)- κ B, yang mengatur banyak gen dalam sel β termasuk yang mengkode NOS2. Jumlah besar NO yang dihasilkan oleh NOS2 merupakan salah satu mediator yang terlibat dalam apoptosis sel β pada DM tipe 1. Apoptosis sel β yang diinduksi NO telah dilaporkan pada beberapa garis sel β , INS-1, RINm5F (35), dan MIN6. NO menginduksi apoptosis sel β dengan cara yang tidak bergantung pada cGMP: NO atau RNS yang terbentuk dari NO meningkatkan stabilitas dan aktivitas transkripsi p53,

yang menginduksi ekspresi protein pro-apoptosis seperti Bax dan PUMA (Oltval, et al 1993). Di sisi lain, mekanisme p53-independen juga telah disarankan di mana NO menghambat Ca²⁺-ATPase dari retikulum endoplasma (ER), sehingga menginduksi stres ER. Penurunan massa sel β juga diamati pada DMT2. Namun, hiperglikemia atau hiperlipidemia pada DMT2 tampaknya tidak menginduksi ekspresi IL-1b atau aktivasi NF-kB dalam sel- β . Dengan demikian, mekanisme kematian sel β pada DM tipe 1 dan tipe 2 diduga berbeda dan NO tidak mungkin terlibat dalam onset DMT2. Sebaliknya, NO konsentrasi rendah, yang diasumsikan diproduksi oleh cNOS, telah terbukti menunjukkan efek anti-apoptosis pada sel β . Konsentrasi rendah dari donor NO menghambat sinyal apoptosis yang diinduksi oleh deprivasi serum, seperti pelepasan sitokrom c dari mitokondria, aktivasi caspase-3, dan penurunan regulasi Bcl-2 di jalur sel β RINm5F. Jalur pelindung ini tampaknya melibatkan aktivasi c-Src, phosphatidylinositol 3-kinase, dan Akt1. Kami juga menunjukkan bahwa donor NO DETA/NO pada konsentrasi rendah melindungi sel β dari apoptosis yang diinduksi oleh stres ER (Rhodes, 2005), yang terlibat dalam glukotoksisitas dan lipotoksisitas selama perkembangan DMT2. Efek anti-apoptosis NO konsentrasi rendah telah dilaporkan dalam beberapa sistem, mekanisme yang dibagi menjadi dua, yaitu, cGMP-dependent dan -independen, dan kemungkinan tipe sel spesifik. Dalam sel β , efek anti-apoptosis NO kemungkinan dimediasi oleh mekanisme cGMP-independen (Kaneko, 2013).

c. Cyclyc AMP (cAMP)

Meskipun cyclic AMP (cAMP) ditemukan pada akhir 1950-an, peran cAMP dalam mengatur kematian sel telah dipelajari jauh lebih sedikit daripada tindakan lain, seperti

pengaturan metabolisme dan berbagai respons fisiologis. Beberapa penelitian telah menilai dampak cAMP pada nekrosis, tetapi ada minat baru-baru ini terkait dengan cAMP dan autophagy-mekanisme di mana sel mengirimkan protein yang salah lipatan dan ada di mana-mana untuk degradasi oleh lisosom, dalam tertentu sebagai sarana untuk memasok makromolekul dalam pengaturan kekurangan nutrisi. Tindakannya dalam pengaturan seperti itu telah mengarah pada proposal bahwa autophagy terutama merupakan mekanisme untuk kelangsungan hidup sel daripada kematian sel (Levine, 2005). Sejumlah penelitian mengimplikasikan cAMP dalam regulasi autophagy dalam sel mamalia dan eukariota yang lebih rendah dan menyarankan bahwa komponen seluler yang terlibat dalam autophagy dapat mempengaruhi transduksi sinyal yang dimediasi cAMP (Houslay et al. 2010).

Agen yang meningkatkan cAMP (misalnya, hormon endogen atau neurotransmitter, forskolin, inhibitor PDE atau analog cAMP) menumpulkan apoptosis di berbagai jenis neuron, sel epitel, di sel β pulau pankreas dan banyak jenis sel lainnya (Houslay et al. 2010).

Mekanisme molekuler yang berbeda memediasi pro-apoptosis dan anti-apoptosis yang dipromosikan cAMP. Dalam beberapa kasus, ini mencerminkan penggunaan garis sel yang berbeda yang berasal dari jaringan yang sama, mungkin mencerminkan perbedaan dalam kapasitas jenis sel tertentu dalam jaringan tertentu untuk menjalani pro atau anti-apoptosis sebagai respons terhadap cAMP atau penggunaan pendekatan eksperimental yang berbeda, misalnya, apakah apoptosis spontan dinilai atau jika agen pro-apoptosis ditambahkan sebelum menilai dampak cAMP endogen atau analog cAMP. Analog cAMP permeabel sel

yang tahan terhadap penghambatan PDE dapat menyebabkan aktivasi PKA berkelanjutan dan regulasi target hilir. Peningkatan cAMP endogen oleh aktivasi reseptor umumnya menghasilkan aktivasi PKA yang lebih sementara karena desensitisasi reseptor dan degradasi cAMP yang dimediasi PDE. Dengan demikian, respons yang berbeda, baik secara kualitatif maupun kuantitatif, dapat terjadi dengan dua cara peningkatan cAMP ini. Informasi yang berkaitan dengan kemampuan peningkatan cAMP untuk mempromosikan atau memblokir apoptosis dapat memberikan peluang untuk pendekatan terapeutik baru. Apoptosis diinginkan dalam beberapa pengaturan, (misalnya, pembunuhan sel neoplastik) tetapi berbahaya pada orang lain (misalnya, hilangnya sel- β pankreas yang menyebabkan diabetes mellitus atau neuron, miosit jantung atau sel epitel setelah cedera). Dengan demikian, seseorang akan berusaha untuk meningkatkan apoptosis yang dipromosikan cAMP/PKA pada kanker, tetapi menumpulkan apoptosis tersebut atau meningkatkan anti-apoptosis yang dipromosikan cAMP/Epac dalam pengaturan untuk mempertahankan integritas jaringan. Agen yang menargetkan PKA akan kemungkinan memiliki efek samping yang tidak diinginkan karena ekspresinya yang luas. Pendekatan alternatif untuk mengeksploitasi peran pro-apoptosis PKA adalah dengan berusaha mencapai spesifisitas dalam pensinyalan PKA, misalnya dengan menargetkan subunit PKA R atau C (katalitik) yang diekspresikan secara selektif atau dilokalisasi secara subseluler, protein penahan A kinase (AKAPs) atau target fosforilasi dari PKA (Insel et al., 2012).

Pengembangan obat atau agen yang diarahkan pada Epac yang diarahkan pada target Epac adalah pendekatan

alternatif yang dapat menghasilkan cara baru untuk mengubah apoptosis yang diatur cAMP, terutama jika digunakan bersama dengan peningkatan cAMP pada jenis sel tertentu atau kompartemen seluler atau yang akan mengatur mitra Epac dan PKA (Gao et al., n.d.). Mungkin pendekatan yang meningkatkan cAMP bersama dengan yang menghambat Epac dapat memberikan terapi kombinasi untuk melengkapi jenis agen anti-neoplastik lainnya meskipun seseorang harus berhati-hati karena peningkatan cAMP dapat menumpulkan apoptosis oleh agen tersebut pada kanker sel (Safa et al., 2010).

d. Bcl-2

Protein B-sel limfoma/leukemia 2 (Bcl-2) adalah protein mitokondria pertama yang terbukti memblokir kematian sel terprogram apoptosis. Sejak penemuan Bcl-2, sejumlah protein berbagi homologi struktural dan terlibat dalam kontrol apoptosis telah ditandai (Aouacheria et al., 2005). Anggota famili Bcl-2 adalah protein globular yang terstruktur dalam -heliks, yang memiliki setidaknya satu domain homologi Bcl-2 (BH). Namun, tidak semua anggota famili Bcl-2 memiliki fungsi anti-apoptosis yang sama. Bcl-2, Bcl-xL dan Mcl-1 bersifat anti-apoptosis; mereka mengandung empat domain BH dan domain transmembran (TM). Protein Bax dan Bak, yang juga mengandung empat domain BH dan domain TM, bersifat pro-apoptosis. Kelompok kedua protein pro-apoptosis yang hanya memiliki satu domain BH terdiri dari Bik dan Hrk (dengan domain TM) dan Bad dan Bid (tanpa domain TM) (Chipuk et al., 2010).

Bcl-2, seperti anggota anti-apoptosis lainnya, mampu membentuk heterodimer dengan protein pro-apoptosis, seperti Bax. Ini mencegah permeabilisasi membran

mitokondria luar dan kemudian pelepasan sitokrom C ke dalam sitosol, yang bertanggung jawab untuk aktivasi kaskade kaspase (Oltval et al, 1993). Setelah tekanan seluler, penekan tumor p53, yang merupakan perwakilan lain dari protein pro-apoptosis, membatasi pertumbuhan sel dengan menginduksi penghentian siklus sel dan apoptosis. Sejak p53 memediasi apoptosis melalui jalur yang melibatkan Bax, aktivitasnya dapat diblokir oleh anggota famili Bcl-2 anti-apoptosis. Sejumlah penelitian menunjukkan peran NT dalam regulasi apoptosis melalui aktivasi protein famili Bcl-2 (Devader et al., 2013).

4.9 Autofagi

Autofagi merupakan tipe kematian sel yang bergantung pada aktivitas lisosom yang secara fisiologis berfungsi untuk mendegradasi dan mendaur ulang komponen sel seperti organela dan protein unfolded. Tipe kematian sel ini digambarkan dengan akumulasi dari vesikel-vesikel lipid pada sitosol sel β pankreas. Dari berbagai macam stresor yang mengaktifasi mekanisme ini, yang paling penting adalah stres oksidatif dan retikulum endoplasma. Proses autofagi ini dimulai dengan adanya pembentukan dan ekspansi dari membran isolasi berbentuk konus yang disebut sebagai preautofagosom. Preautofagosom ini akan membungkus komponen sitoplasmik dan membentuk autofagosom yang akan berfusi dengan lisosom yang kaya akan enzim hidrolitik yang akan mendegradasi komponen sel. Ada lima komponen molekular yang terlibat dalam mekanisme ini yang disebut dengan autophagy-related proteins (ATG) seperti: kompleks aktivasi UNC-51-like kinase (ULK1)/ATG1, kompleks Beclin/PI3K (VPS34), dua protein transmembran (ATG9 dan VMPL), dua sistem konjugasi seperti ubikuitin (ATG12-

ATG5 dan ATG8/LC3), serta lima protein yang memediasi penggabungan antara fagosom dan lisosom. Autofagi ini akan diinhibisi oleh aktivasi dari kompleks mTORC1 yang merupakan modulator yang diaktivasi selama jalur insulin atau keadaan cukup nutrisi. Terdapat tiga tahapan dari proses autofagi, yang dimulai dengan proses aktivasi oleh defosforilasi yang dilakukan oleh kompleks ULK - mengandung ATG13, FIP200, dan ATG101). Target pada tahap ini adalah AMBRA1 (autophagy/beclin-1 regulator 1). Setelah fosforilasi, AMBRA1 melepaskan beclin-1/PI3K kelas III sitoskeleton yang menyebabkan inisiasi dari proses autofagi ini. Tahap selanjutnya adalah proses nukleasi dimana kompleks ULK akan mengaktivasi beclin-1/PI3K kelas III untuk aktivasi alosterik PI3K yang menginisiasi pembentukan PIP3 (phosphatidylinositol-3-phosphate). PIP3 akan menyebabkan pembentukan omegasom melalui FYVE domain-containing protein (DFCP1). Dan akhirnya, terjadi proses elongasi dan ekspansi yang diinisiasi dengan konjugasi dari ATG12-ATG5 bersama dengan ATG7 dan ATG10 membentuk kompleks ATG12-ATG5-ATG10 yang berperan sebagai ligase E3 untuk LC3. Hal ini akan membentuk LC3i (bentuk solubel) untuk membentuk vesikel autofagi (LC3ii) yang akan memakan konten intraseluler yang selanjutnya akan bergabung dengan lisosom (mengandung enzim hidrolitik) yang akan mendegradasi materi yang telah difagosit. Pada diabetes melitus, terutama tipe 2 yang mengalami resistensi insulin, adanya peningkatan kadar asam lemak bebas dapat bertindak sebagai aktivator dan potensiator dari terjadinya autofagi pada sel β pankreas. Hal ini dilakukan melalui aktivasi dari JNK1 dan tidak dipengaruhi oleh stres oksidatif maupun retikulum endoplasma. Namun, jika terjadi paparan asam

lemak secara kronik dapat terjadi gangguan pada proses autofagi yang ditandai dengan penurunan lisosom dengan efek toksik intraseluler. Pada beberapa kondisi, degradasi dari komponen seluler dapat menyebabkan kematian sel β pankreas. Aktivitas autofagi yang berlebihan dapat menyebabkan kehilangan massa pankreas. Aktivitas ini ditandai dengan adanya kematian sel β pankreas yang disertai dengan akumulasi vakuola yang berlebihan tanpa adanya kondensasi kromatin. Autofagi juga dapat merangsang kematian sel dengan mengubah sinyal anti-apoptosis menjadi pro-apoptosis. Pada penelitian *in vitro* dan *in vivo* dengan menggunakan sel insulinoma pada tikus yang defisiensi PDX1, sebelum adanya proses apoptosis, terjadi proses autofagi (Rojas et al., 2018).

4.10 Nekroptosis

Proses ini bertanggung jawab pada eksekusi sinyal kematian pada sel yang dimediasi oleh kompleks IIB atau disebut juga dengan nekrosom. Pembentukan kompleks ini diatur oleh protein fosforilasi RIP1 dan RIP3, yang merupakan bagian dari kompleks ini bersamaan dengan ubiquinasi. Nekrosom akan melepaskan berbagai mekanisme molekular yang diinisiasi oleh TNF- α yang berperan dalam eksekusi necroptosis dengan menginduksi produksi dari ROS dan fragmentasi DNA. Produksi ROS tersebut terjadi dengan beberapa mekanisme seperti: RIP3 dengan alosterik mengaktifasi GLUL (glutamate-ammonia ligase atau glutamine synthetase) dan enzim GLUD1 (glutamate dehydrogenase). Keduanya mengintervensi pada proses glutaminolisis dimana terjadi pembentukan α -cetoglutarate. Peningkatan influks metabolit terjadi bersamaan dengan peningkatan reaksi reduksi-oksidasi pada rantai respirasi dan menyebabkan peningkatan kadar

ROS yang dapat merusak sel β pankreas. TNF- α juga menstimulasi produksi ROS melalui degradasi ferritin yang dimediasi oleh c-Jun NH₂-terminal kinase (JNK). Hal ini menyebabkan peningkatan molekul besi yang labil sehingga menghasilkan ROS melalui reaksi Fenton. Reaksi ini akan menghasilkan banyak radikal hidroksil (-OH) yang berpartisipasi dalam peroksidasi membran sel. Selama proses ini terjadi, peningkatan konsentrasi ROS menginisiasi siklus berbahaya yang menyebabkan kerusakan sel. Selain itu, lipid peroksidasi mendorong pembukaan pori mitokondria yang menyebabkan translokasi dari protein apoptosis-inducing factor (AIF) menuju nukleus. Di nukleus, protein ini membentuk kompleks dengan histon H2AX dan siklofilin A (CypA). Hal ini menginduksi terjadinya fragmentasi DNA dalam jumlah besar dan tidak dipengaruhi dengan adanya caspase atau tidak. Pembentukan nekrosom ini juga menghasilkan seramid yang mengaktivasi calpains dan fosfolipase sitosolik A₂, yang mampu untuk menginduksi peroksidasi lipid melalui mobilisasi dari asam arakidonar sebagai substratnya. Spingosin (SPH), calpain, dan hidroperoksidase menginduksi permease dari membran lisosom dan menyebabkan migrasi dari enzim hidrolitik yang mendegradasi protein penting dalam sel β pankreas (Rojas et al., 2018).

4.11 Piroptosis

Piroptosis merupakan tipe kematian sel terprogram yang secara morfologi dan mekanisme berbeda dari tipe-tipe kematian sel yang sudah disebutkan sebelumnya. Proses ini ditandai dengan adanya proinflamasi dan dimediasi oleh IL-1 β . Mekanisme kematian sel diatur melalui aktivasi caspase-1 dan pembentukan kompleks makromolekular yang

disebut dengan inflamasom. Inflamasom merupakan kompleks protein yang mendeteksi PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) atau DAMPs (damage-associated molecular patterns). Aktivasi caspase 1 ini akan menyebabkan pemisahan dan aktivasi dari IL-1 β yang merupakan sitokin inflamasi yang berhubungan dengan resistensi insulin dan fungsi dari sel β pankreas. Sitokin ini menyebabkan edema, pembentukan pori dan lisis selular (Rojas et al., 2018).

4.12 Labu siam

Labu siam/ *Sechium edule* (Jacq.) Swartz adalah tanaman herba abadi dengan sulur dan akar umbi, dibudidayakan sejak zaman pra-Kolombia di Meksiko (Cadena-Iñiguez et al., 2007).

Penelitian Siahaan, 2020 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat 45 mg/KgBB lebih baik menurunkan Berat Badan Mencit bila dibandingkan dengan fraksi etil yang 100 mg/KgBB dan 150 mg/kgBB bahkan dengan kelompok terapi lain dan kontrol. Fraksinasi etil asetat 100 mg/KgBB mampu menurunkan KGD pembebanan 2 jam lebih baik dibandingkan dengan kelompok terapi yang lain. Fraksinasi etil asetat 45 mg/KgBB mampu meningkatkan aktivitas antioksidan endogen SOD bila dibandingkan dengan kelompok terapi yang lain. Ekstrak etanol 45 mg/KgBB mampu menurunkan sensitifitas insulin bila dibandingkan dengan kelompok terapi yang lain (Siahaan et al., 2020)

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Hasil

Hasil penelitian ini disediakan dalam bentuk tabel seperti dibawah ini :

Tabel 5.1 Kadar Caspase-3

No.	Kelompok	Caspase-3 level (ng/mL) ± SEM
1.	Kelompok I (kontrol normal)	2,347 ± 0,021
2.	Kelompok II (kontrol negatif/tikus diabetes)	5,392 ± 0,033*
3.	Kelompok III (kontrol positif/metformin)	2,559 ± 0,022#
4.	Kelompok IV (dosis 50 mg/KgBB)	4,253 ± 0,031
5.	Kelompok V (dosis 100 mg/KgBB)	3,364 ± 0,028
6.	Kelompok V (dosis 100 mg/KgBB)	2,159 ± 0,021#

Data dipresentasikan dalam Mean ± SEM. *(p < 0,05) berbeda signifikan dengan kelompok normal. #(p < 0,05) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol.

Tabel 5.1 menunjukkan bahwa kelompok kontrol yang diberikan CMC memiliki kadar caspase 3 sebesar 2,347 ± 0,021 ng/mL, sementara itu kelompok tius diabetes memiliki kadar 5,392 ± 0,033 ng/mL, yang secara statistik lebih tinggi (p<0,05) dibandingkan dengan kontrol. Sebaliknya kelompok perlakuan dengan dosis 150 mg/kgbb **menunjukkan penurunan** yang nyata (p<0,05) dibandingkan kelompok negatif, demikian juga dengan kelompok positif . Hal ini penting untuk menganalisis kadar

caspase-3 sebagai penanda apoptosis untuk menjelaskan pencegahan jalur farmakologis DMT2 dengan ekstrak

Tabel 5. 2 Kadar caspase-8

No.	Group	Caspase-8 level (ng/mL) ± SEM
1.	Kelompok I (kontrol normal)	10,498 ± 2,811
2.	Kelompok II (kontrol negatif/tikus diabetes)	15,338 ± 4,192*
3.	Kelompok III (kontrol positif/metformin)	9,249 ± 1,937#
4.	Kelompok IV (dosis 50 mg/KgBB)	8,833 ± 1,837
5.	Kelompok V (dosis 100 mg/KgBB)	7,566 ± 1,562
6.	Kelompok V (dosis 100 mg/KgBB)	5,719 ± 1,611#

Data dipresentasikan dalam Mean ± SEM. *(p < 0,05) berbeda signifikan dengan kelompok normal. #(p < 0,05) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol.

Tabel 5.2 menunjukkan bahwa kelompok kontrol yang diberikan CMC secara oral memiliki kadar caspase 8 sebesar $2,347 \pm 0,021$ ng/mL, sedangkan pada kelompok tikus diabetes menunjukkan kadar caspase 8 sebesar $15,338 \pm 4,192$ ng/mL yang secara statistik lebih tinggi ($p < 0,05$) dibandingkan kontrol. Sebaliknya kelompok perlakuan dengan dosis 150 mg/kgbb menunjukkan **penurunan yang nyata** ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok negatif, demikian juga dengan kelompok positif.

Tabel 5.3 Kadar Bcl-xl

No.	Group	Bcl-xl (ng/mL) ± SEM
1.	Kelompok I (kontrol normal)	4,722 ± 0,711
2.	Kelompok II (kontrol negatif/tikus diabetes)	8,485 ± 1,563
3.	Kelompok III (kontrol positif/metformin)	5,257 ± 0,892
4.	Kelompok IV (dosis 50 mg/KgBB)	6,822 ± 1,433

No.	Group	Bcl-xl (ng/mL) ± SEM
5.	Kelompok V (dosis 100 mg/KgBB)	5,569 ± 0,813
6.	Group VI (treatment III)	5,216 ± 0,562

Data dipresentasikan dalam Mean ± SEM. *(p < 0,05) berbeda signifikan dengan kelompok normal. #(p < 0,05) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol.

Table 5.3 menunjukkan bahwa kelompok kontrol yang diberikan CMC secara oral memiliki kadar bcl-xl sebesar 4,722 ± 0,711 ng/mL, sedangkan pada kelompok tikus diabetes menunjukkan kadar bcl-xl sebesar 8,485 ± 1,563 ng/mL yang secara statistik lebih tinggi (p<0,05) dibandingkan dengan kontrol. Sebaliknya kelompok perlakuan dengan dosis 150 mg/kgbb menunjukkan **penurunan bermakna** (p<0,05) dibandingkan kelompok negatif, demikian juga dengan kelompok positif. Bcl-xl sebagai parameter pro-apoptosis memiliki peran penting untuk mengatur aktivasi jalur apoptosis.

Tabel 5.4 Kadar Bcl-2

No.	Group	Bcl-2 (ng/mL) ± SEM
1.	Kelompok I (kontrol normal)	9,502 ± 1,76
2.	Kelompok II (kontrol negatif/tikus diabetes)	5,06 ± 0,87*
3.	Kelompok III (kontrol positif/metformin)	10,04 ± 1,98#
4.	Kelompok IV (dosis 50 mg/KgBB)	7,954 ± 1,71
5.	Kelompok V (dosis 100 mg/KgBB)	8,459 ± 1,92
6.	Group VI (treatment III)	9,216 ± 2,01#

Data dipresentasikan dalam Mean ± SEM. *(p < 0,05) berbeda signifikan dengan kelompok normal. #(p < 0,05) berbeda signifikan dengan kelompok kontrol.

Table 5.4 menunjukkan bahwa kelompok kontrol yang diberikan CMC secara oral menunjukkan kadar bcl-2 sebesar $9,502 \pm 1,76$ ng/mL, sedangkan pada kelompok tikus diabetes menunjukkan kadar bcl-2 sebesar $5,06 \pm 0,87$ ng/mL yang secara statistik lebih rendah ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol. Sebaliknya kelompok perlakuan dengan dosis 150 mg/kgbb menunjukkan **peningkatan yang nyata** ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kelompok negatif, demikian juga dengan kelompok positif. Bcl-2 memiliki peran vital sebagai gen antiapoptosis, sehingga dalam penelitian ini ditemukan bahwa kelompok yang diberi perlakuan ekstrak dan metformin meningkatkan antiapoptosis seperti bcl-2.

5.2 Pembahasan

Banyak investigasi *in vitro* menyatakan bahwa apoptosis sel tergantung pada jalur apoptosis melalui jalur caspase. Konsentrasi glukosa yang tinggi menyebabkan sel-sel islet manusia yang dikultur meningkatkan regulasi Fas, sebuah reseptor yang memulai jalur apoptosis ekstrinsik. Hal ini menunjukkan bahwa sel-sel ini mengalami apoptosis sebagai respons. Selain itu, ditemukan bahwa induksi apoptosis akibat penghambatan Fas dan meningkatnya proliferasi sel oleh karena c-Flip, yakni protein yang diekspresikan oleh sel, berperan mencegah apoptosis yang dimediasi caspase-8 (Ramezani, 2019).

Adanya apoptosis sel islet juga telah ditunjukkan dalam investigasi *in vivo* menggunakan tikus diabetes nonobese (NOD) dan tikus BB/S yang rentan diabetes menggunakan terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL). Caspase hulu yang terlibat dalam jalur ekstrinsik dan intrinsik, masing-masing, adalah caspase-8 dan caspase-9 (Wang et al., 2019). Rute kedua Caspase efektor di hilir termasuk caspase-3, -6, dan -7.

Fungsi fisiologis caspases individu in vivo telah dipelajari dengan bantuan teknik penargetan gen, menunjukkan betapa pentingnya caspase dalam proses apoptosis tetapi juga dalam proses seluler penting lainnya (Amin et al., 2015). Caspase-3 dan caspase-9 sangat penting untuk mengembangkan apoptosis neuron. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa aktivitas caspase-3 dan caspase 8 meningkat pada kelompok kontrol diabetes yang berhubungan dengan progresi apoptosis sel β pankreas. Streptozotocin adalah molekul glukosamin nitrosourea alami yang pertama kali ditemukan sebagai antibiotik dan dapat menyebabkan kerusakan DNA pada sel-sel pulau pankreas pada mamalia (Kahya et al., 2017). Apoptosis adalah mekanisme di mana organisme multiseluler menjalani kematian sel yang direncanakan. Selain signifikansinya sebagai fenomena biologis, proses apoptosis yang salah telah dikaitkan dengan banyak penyakit (Nna et al., 2019)

Kemampuan ekstrak etanol Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) dalam melindungi sel β pankreas dapat dilihat dengan menurunnya aktivitas caspase-3, caspase-8 dan Bcl-xl sedangkan Bcl-2 meningkat menunjukkan ekstrak Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz) memiliki potensi sebagai antiapoptosis sel β pankreas. Peran bahan aktif flavonoid sebagai penghambat apoptosis seluler dengan menurunkan aktivitas caspase-3 pada sel β pankreas dan sel islet manusia yang terpapar hiperglikemia kronis. Efek protektif ini juga berhubungan dengan meningkatnya pensinyalan cAMP, ekspresi protein Akt dan antiapoptosis Bcl-2 serta sekresi dan sintesis insulin dalam sel (Vinayam & Xu, 2015). Penelitian ini sejalan dengan Zang dimana Kaempferol flavonol yang dengan dosis 10 μ M terbukti

mereduksi aktivitas caspase-3 pada sel β pankreas manusia yang terpapar hiperglikemia berkepanjangan (Zang & Liu, 2011). Selain itu Ola juga menemukan bahwa flavonoid memiliki potensi antiapoptosis dengan kadar caspase-3 dan meningkatkan kadar Bcl-2 pada tikus yang mengalami retinopati diabetikum (Ola et al., 2015).

Bahan aktif alkaloid juga memiliki peran antiapoptosis dengan mereduksi aktivitas caspase-3. Alkaloid mempengaruhi apoptosis berbagai organ termasuk ginjal sebagai dampak peningkatan kontrol glikemik oleh harmine. Harmine adalah senyawa alkaloid trisiklik dalam keluarga β -karbolin dan awalnya berasal dari tanaman herbal *P. harmala* L (Kajbaf et al., 2020). Bahan aktif saponin yang berasal dari ekstrak alfalfa (*Medicago sativa*) dengan dosis 25 and 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ menurunkan ekspresi caspase-3, caspase-9 dan Bax dalam sel, dan meningkatkan ekspresi gene Bcl-2 (Cui et al., 2020).

DAFTAR PUSTAKA

- ADA. (2018). Updates to the Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care*, 41(9), 2045-2047. <https://doi.org/10.2337/dc18-su09>
- Amin, A. H., El-Missiry, M. A., & Othman, A. I. (2015). Melatonin ameliorates metabolic risk factors, modulates apoptotic proteins, and protects the rat heart against diabetes-induced apoptosis. *European journal of pharmacology*, 747, 166-173.
- Amrani, A., Verdaguer, J., ... B.A.-T.J. of, et al. (1999). Perforin-independent β -cell destruction by diabetogenic CD8+ T lymphocytes in transgenic nonobese diabetic mice. *Am Soc Clin Investig*, [Online] Available from: <https://www.jci.org/articles/view/6266> [Accessed 09/09/2022].
- Amrani, A., Verdaguer, J., (2000).investigation, S.T.-... clinical, et al. IL-1 α , IL-1 β , and IFN- γ mark β cells for Fas-dependent destruction by diabetogenic CD4+ T lymphocytes. *Am Soc Clin Investig*, [Online] Available from: <https://www.jci.org/articles/view/8185> [Accessed 09/09/2022].
- Aouacheria, A. et al. Phylogenomics of life-or-death switches in multicellular animals: Bcl-2, BH3-Only, and BNip families of apoptotic regulators. *academic.oup.com*, [Online] Available from: <https://academic.oup.com/mbe/article-abstract/22/12/2395/1009539> [Accessed 09/09/2022].

- Bagonza J, Rutebemberwa E, Bazeyo W. (2015). Adherence to anti diabetic medication among patients with diabetes in eastern Uganda; A cross sectional study Health systems and services in low and middle income settings. *BMC Health Serv Res*,15(1):1-7.
- Berchtold, L. A., Prause, M., Størling, J., & Mandrup-Poulsen, T. (2016). Cytokines and Pancreatic β -Cell Apoptosis. *Advances in Clinical Chemistry*, 75, 99-158. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2016.02.001>
- Bhatt, H., Saklani, S., & Upadhayay, K. (2016). Anti-oxidant and anti-diabetic activities of ethanolic extract of *Primula Denticulata* Flowers. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 27(2), 74-79. <https://doi.org/10.14499/indonesianjpharm27iss2pp74>
- Bonner-Weir, S. et al. (1993). A second pathway for regeneration of adult exocrine and endocrine pancreas: a possible recapitulation of embryonic development. *Am Diabetes Assoc*, [Online] Available from: <https://diabetesjournals.org/diabetes/article-abstract/42/12/1715/8382> [Accessed 09/09/2022].
- Cadena-Iñiguez, J.; Arévalo-Galarza, L.; Avendaño-Azzarate, C.H.; Soto-Hernández, M.; Ruiz-Posadas, L.M.; Santiago, O.E.; Acosta, R.M.; Cisneros-Solano, V.M.; Aguirre-Medina, J.F.; Ochoa, M.D. (2007). Production, genetics and postharvest management of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Invited review. *Fresh Produce Journal*, v.1, p.41-53, 2007.
- Choi, S. et al. Involvement of Ca^{2+} -mediated apoptotic signals in palmitate-induced MIN6N8a beta cell death. *Elsevier*, [Online] Available from:

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303720707001542> [Accessed 09/09/2022].
- Chipuk, J.E. et al. (2010) The BCL-2 Family Reunion. *Molecular Cell*, 37(3), pp. 299–310.
- Cnop, M., Welsh, N., Jonas, J., Jo, A., & Lenzen, S. (2005). Many Differences, Few Similarities. *American Diabetes Association*, 6, 97–107.
- Cui Y, Liu B, Sun X, Li Z, Chen Y, Guo Z et al. (2020). Alfalfa saponins plays protective roles in oxidative stress-induced apoptotic cells, PREPRINT (Version 1) available at Research Square [https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-40613/v1]
- Delaney, C. et al. (1997) Cytokines induce deoxyribonucleic acid strand breaks and apoptosis in human pancreatic islet cells. *academic.oup.com*, [Online] Available from: <https://academic.oup.com/endo/article-abstract/138/6/2610/2987962> [Accessed 09/09/2022].
- Devader, C. et al. (2013) The anti-apoptotic role of neurotensin. *Cells*, 2(1), pp. 124–135.
- Diaz-Ganete, A.; Quiroga-de-Castro, A.; Mateos, R.M.; Medina, F.; Segundo, C.; Lechuga-Sancho, A.M. (2021). Toxicity Induced by Cytokines, Glucose, and Lipids Increase Apoptosis and Hamper Insulin Secretion in the 1.1E7 Beta Cell-Line. *Int. J. Mol. Sci.* 22, 2559. <https://doi.org/10.3390/ijms22052559>
- Eizirik, D., reviews, D.P.-D. and 1997, undefined Is there a role for nitric oxide in β -cell dysfunction and damage in IDDM? *Wiley Online Library*, [Online] Available from: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/\(SICI\)1099-0895\(199712\)13:4%3C293::AID-DMR195%3E3.0.CO;2-4](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/(SICI)1099-0895(199712)13:4%3C293::AID-DMR195%3E3.0.CO;2-4) [Accessed 09/09/2022].

- Eizirik, D., Biology, A.H.-A. in M. and C. and 1999, undefined β -cell dysfunction and death. *Elsevier*, [Online] Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569255808600880> [Accessed 09/09/2022].
- Farilla, L. et al. Glucagon-like peptide 1 inhibits cell apoptosis and improves glucose responsiveness of freshly isolated human islets. *academic.oup.com*, [Online] Available from: <https://academic.oup.com/endo/article-abstract/144/12/5149/2880380> [Accessed 09/09/2022].
- Gao, N. et al. A-kinase-interacting protein 1 (AKIP1) acts as a molecular determinant of PKA in NF- κ B signaling. *ASBMB*, [Online] Available from: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(19\)89138-X/abstract](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(19)89138-X/abstract) [Accessed 09/09/2022].
- Perfetti, R. and Hui, H. (2004) The role of GLP-1 in the life and death of pancreatic beta cells. *Hormone and Metabolic Research*, 36(11–12), pp. 804–810.
- Herrera, P., Sciences, D.H.-... A. of and 2000, undefined A mouse CD8 T cell-mediated acute autoimmune diabetes independent of the perforin and Fas cytotoxic pathways: possible role of membrane TNF. *National Acad Sciences*, [Online] Available from: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.97.1.279> [Accessed 09/09/2022].
- Hirota, N. et al. Sequential activation of caspases and synergistic β -cell cytotoxicity by palmitate and anti-Fas antibodies. *Elsevier*, [Online] Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320506003274> [Accessed 09/09/2022].

- Holt, Richard I. G. (2004). Diagnosis, epidemiology and pathogenesis of DM: an update for psychiatrists. *British Journal of Psychiatry*. 184 (suppl.47), pp.s55 - s63
- Houslay, M., Autophagy, F.C.- and 2010, undefined (2010) p62 (SQSTM1) forms part of a novel, reversible aggregate containing a specific conformer of the cAMP degrading phosphodiesterase, PDE4A4. *Taylor & Francis*, 6(8), pp. 1198-1200.
- Hui, H., Dotta, F., Mario, U. D., & Perfetti, R. (2004). Role of caspases in the regulation of apoptotic pancreatic islet beta-cells death. *Journal of Cellular Physiology*, 200(2), 177-200. doi:10.1002/jcp.20021
- Hui, H. et al. (2003). Glucagon-like peptide-1 inhibits apoptosis of insulin-secreting cells via a cyclic 5'-adenosine monophosphate-dependent protein kinase A-and a. *academic.oup.com*, [Online] Available from: <https://academic.oup.com/endo/article/144/4/1444/2880916> [Accessed 09/09/2022].
- Hutagalung SB, Siahaan JM, Silitonga HA. (2021). The Effectiveness of Ethanol Extract, Chayote (*Sechium Edule* (Jacq.) Swartz) Fraction, and Juice on Pancreatic β -Cell Diameter of Male White Rats Wistar Strain with Type 2 Diabetes Mellitus. *Indones J Med*. 06(03): 239-245. <https://doi.org/10.26911/theijmed.-2021.06.03.01>.
- International Diabetes Federation 9th Edition. (2019). Global Diabetes Data Report 2010-2045. *Journal IDF*, 9(9), 1. <https://diabetesatlas.org/data/en/world/>
- Insel, P.A. et al. (2012) Cyclic AMP is both a pro-apoptotic and anti-apoptotic second messenger. *Acta Physiologica*, 204(2), pp. 277-287.

- Johnson, J. D., & Luciani, D. S. (2010). Mechanisms of pancreatic β -cell apoptosis in diabetes and its therapies. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 654, 447–462. https://doi.org/10.1007/978-90-481-3271-3_19
- Lemasters, J. et al. (1999) Mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of necrotic and apoptotic cell death. *Springer*, 31(4), pp. 305–319.
- Kaku, K. (2010). Pathophysiology of Type 2 DM and Its treatment Policy. *JMAJ*. 53(1): 41–46
- Kahya, M. C., Nazıroğlu, M., & Övey, İ. S. (2017). Modulation of diabetes-induced oxidative stress, apoptosis, and Ca²⁺ entry through TRPM2 and TRPV1 channels in dorsal root ganglion and hippocampus of diabetic rats by melatonin and selenium. *Molecular neurobiology*, 54(3), 2345-2360.
- Kajbaf, F., Oryan, S., Ahmadi, R., & Eidi, A. (2020). Harmine, a natural β -carboline alkaloid, ameliorates apoptosis by decreasing the expression of caspase-3 in the kidney of diabetic male Wistar rats. *Gene Reports*, 21, 100863.doi:10.1016/j.genrep.2020.100
- Kaneko, Y., sciences, T.I.-J. of pharmacological and 2013, undefined (2013) Dual role of nitric oxide in pancreatic β -cells. *jstage.jst.go.jp*, 123(4), pp. 295–300.
- Kemenkes RI. (2020). *Infodatin : Tetap Produktif, Cegah, dan Atasi Diabetes Melitus* (pp. 1–6).
- Kim, K. A., & Lee, M. S. (2010). Role and mechanism of pancreatic β -cell death in diabetes: The emerging role of autophagy. *Journal of Diabetes Investigation*, 1(6), 232–238. <https://doi.org/10.1111/j.2040-1124.2010.00054.x>

- Lagerstedt, S. et al. Quantitative determination of plasma c8-c26 total fatty acids for the biochemical diagnosis of nutritional and metabolic disorders. *Elsevier*, [Online] Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096719201931701> [Accessed 09/09/2022a].
- Lagerstedt, S. et al. Quantitative determination of plasma c8-c26 total fatty acids for the biochemical diagnosis of nutritional and metabolic disorders. *Elsevier*, [Online] Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096719201931701> [Accessed 09/09/2022b].
- Levine, B., investigation, J.Y.-T.J. of clinical and 2005, undefined Autophagy in cell death: an innocent convict? *Am Soc Clin Investig*, [Online] Available from: <https://www.jci.org/articles/view/26390> [Accessed 09/09/2022].
- Lightfoot, Y., ... J.C.-E. journal of clinical and 2012, undefined (2012) Immune-mediated β -cell death in type 1 diabetes: lessons from human β -cell lines. *Wiley Online Library*, 42(11), pp. 1244-1251.
- Lin Y, Sun Z. (2010). Current views on type 2 diabetes. *J Endocrinol*, 204(1):1-11.
- Lee, J.-H., Mellado-Gil, J. M., Bahn, Y. J., Pathy, S. M., Zhang, Y. E., & Rane, S. G. (2020). *Protection from β -cell apoptosis by inhibition of TGF- β /Smad3 signaling. Cell Death & Disease*, 11(3). doi:10.1038/s41419-020-2365-8
- Lee, L. et al. (2000) Inhibition of autoimmune diabetes by Fas ligand: the paradox is solved. *Am Assoc Immunol*, [Online] Available from: doi.org/10.4049/jimmunol.164.6.2931 [Accessed 09/09/2022].

- Le May, C., Chu, K., Hu, M., Ortega, C. S., Simpson, E. R., Korach, K. S., Mauvais-Jarvis, F. (2006). *Estrogens protect pancreatic beta-cells from apoptosis and prevent insulin-deficient diabetes mellitus in mice. Proceedings of the National Academy of Sciences, 103(24), 9232–9237.*doi:10.1073/pnas.0602956103
- Maulucci, G. et al. (2016) Fatty acid-related modulations of membrane fluidity in cells: detection and implications. *Taylor & Francis, 50*, pp. S40–S50.
- Mauricio, D., Diabetes, T.M.-P.- and 1998, undefined Apoptosis and the pathogenesis of IDDM: a question of life and death. *Am Diabetes Assoc*, [Online] Available from: doi.org/10.2337/diabetes.47.10.1537 [Accessed 08/09/2022].
- Mandrup-Poulsen, T. (2001) beta-cell apoptosis: stimuli and signaling. *Diabetes, 50(suppl_1)*, pp. S58-63.
- Nna, V. U., Abu Bakar, A. B., Ahmad, A., Eleazu, C. O., & Mohamed, M. (2019). Oxidative stress, NF- κ B-mediated inflammation and apoptosis in the testes of streptozotocin-induced diabetic rats: Combined protective effects of malaysian propolis and metformin. *Antioxidants, 8(10)*, 465.
- Nicoletti, F. et al. Prevention of spontaneous autoimmune diabetes in diabetes-prone BB rats by prophylactic treatment with antirat interferon- γ antibody. *academic.oup.com*, [Online] Available from: <https://academic.oup.com/endo/article-abstract/138/1/281/2987604> [Accessed 09/09/2022].
- O'Brien, B. et al. Apoptosis is the mode of β -cell death responsible for the development of IDDM in the nonobese diabetic (NOD) mouse. *Am Diabetes Assoc*, [Online] Available from:

- <https://diabetesjournals.org/diabetes/article-abstract/46/5/750/9841> [Accessed 09/09/2022].
- Oh YS, Bae GD, Baek DJ, Park EY, Jun HS. (2018). Fatty Acid-Induced Lipotoxicity in Pancreatic Beta-Cells During Development of Type 2 Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 16;9:384. doi: 10.3389/fendo.2018.00384. PMID: 30061862; PMCID: PMC6054968.
- Ola MS, Ahmed MM, Ahmad R, Abuohashish HM, Al-Rejaie SS, Alhomida AS. (2015). Neuroprotective Effects of Rutin in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Retina. *J Mol Neurosci*. 56(2):440-8. doi: 10.1007/s12031-015-0561-2. Epub 2015 May 1. PMID: 25929832.
- Oltval, Z.N., Milliman, C.L. and Korsmeyer, S.J. (1993) Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell*, 74(4), pp. 609–619.
- Perkeni. (2019). Pedoman Pemantauan Glukosa Darah Mandiri. Jakarta: PB Perkeni.
- Perkeni. (2021). Pedoman Pengelolaan Dan Pencegahan Diabetes Melitus Tipe 2 DI Indonesia. Jakarta: PB Perkeni.
- Pilon, M. (2016) Revisiting the membrane-centric view of diabetes. *Lipids in Health and Disease*, 15(1), [Online] Available from: doi.org/10.1186/S12944-016-0342-0 [Accessed 09/09/2022].
- Pirot, P. et al. (2008) Mediators and mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 diabetes. *SciELO Brasil*, 52(2), [Online] Available from: <https://www.scielo.br/j/abem/a/3yJDQ8KBFnyxX4rB94jqBTj/abstract/?lang=en> [Accessed 09/09/2022].

- Poitout, V., & Robertson, R. P. (2008). Glucolipototoxicity: Fuel Excess and β -Cell Dysfunction. *Endocrine Reviews*, 29(3), 351–366.doi:10.1210/er.2007-0023
- Qi, Y., Chemistry, P.X.-J. of B. and 2012, undefined Cellular inhibitor of apoptosis protein-1 (cIAP1) plays a critical role in β -cell survival under endoplasmic reticulum stress: promoting ubiquitination and. *ASBMB*, [Online] Available from: [https://www.jbc.org/article/S0021-9258\(20\)63026-5/abstract](https://www.jbc.org/article/S0021-9258(20)63026-5/abstract) [Accessed 09/09/2022].
- Ramezani, S., Peeri, M., Azarbayjani, M. A., & Dehghan, F. (2019). Administration of vitamin D and aerobic training: recovery of lung apoptosis markers in male rats exposed to hydrogen peroxide. *Sport Sciences for Health*, 15(3), 569-576.
- Rhodes, C.J. (2005) Type 2 diabetes - A matter of β -cell life and death? *Science*, 307(5708), pp. 380–384.
- Reichert, M., investigation, A.R.-T.J. of clinical and 2011, undefined Pancreatic ductal cells in development, regeneration, and neoplasia. *Am Soc Clin Investig*, [Online] Available from: <https://www.jci.org/articles/view/57131> [Accessed 09/09/2022].
- Rojas, J., Bermudez, V., Palmar, J., Martínez, M. S., Olivar, L. C., Nava, M., Tomey, D., Rojas, M., Salazar, J., Garicano, C., & Velasco, M. (2018). Pancreatic beta cell death: Novel potential mechanisms in diabetes therapy. *Journal of Diabetes Research*, 2018(Dm). <https://doi.org/10.1155/2018/9601801>
- Rojas, J. et al. (2018). Pancreatic beta cell death: novel potential mechanisms in diabetes therapy. *hindawi.com*, [Online] Available from:

- <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2018/9601801/> [Accessed 09/09/2022].
- Safa, M. et al. (2010) Inhibitory role of cAMP on doxorubicin-induced apoptosis in pre-B ALL cells through dephosphorylation of p53 serine residues. *Apoptosis*, 15(2), pp. 196–203.
- Sauter, N. et al. The antiinflammatory cytokine interleukin-1 receptor antagonist protects from high-fat diet-induced hyperglycemia. *academic.oup.com*, [Online] Available from: <https://academic.oup.com/endo/article-abstract/149/5/2208/2454910> [Accessed 09/09/2022].
- Sarnyai, F. et al. Cellular toxicity of dietary trans fatty acids and its correlation with ceramide and diglyceride accumulation. *Elsevier*, [Online] Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691518308950?casa_token=SmOCSi9btSYAAAAA:rTTfH8v4EQ34tzvG7swoY71R83pLv7VrtuOSsarpX5_rn-KrpobI8GN3erVxVIjYHsA2HTE_EYoM [Accessed 09/09/2022].
- Sarukhan, A., Lechner, O. and von Boehmer, H. Autoimmune insulinitis and diabetes in the absence of antigen-specific contact between T cells and islet I-cells. [Online] Available from: [doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4141\(199910\)29:10](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4141(199910)29:10) [Accessed 09/09/2022].
- Susanti, S., & Bistara, D. N. (2018). Hubungan Pola Makan Dengan Kadar Gula Darah Pada Penderita Diabetes Mellitus. *Jurnal Kesehatan Vokasional*, 3(1), 29. <https://doi.org/10.22146/jkesvo.34080>
- Shimabukuro, M. et al. (1998) Fatty acid-induced β cell apoptosis: A link between obesity and diabetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(5), pp. 2498–2502.

- Siahaan JM. (2017). Effect of Antihypoglycemic *Sechium edule* Jacq. Swartz. Ethanol Extract on Histopathologic Changes in Hyperglycemic *Mus musculus* L. *Indones J Med*.02(02):86-93.
- Siahaan JM. (2020). [IMPRESI EKSTRAK ETANOL BUAH LABU SIAM: Tinjauan Kritis Ekstrak Etanol Buah Labu Siam Stres Oksidatif Tikus Putih Model Diabetes Tipe 2](#). EDU PUBLISHER. Jawa Barat
- Siahaan JM, Harahap U, Loesnihari R. (2016a). Effect of Ethanol Extract of Chayote (*Sechium edule* Jacq. Swartz) on the Activity of Glutathione Peroxide (GPx) in House Mice (*Mus musculus* L) Strain DD Webster Hyperglycemia Induced by Streptozotocin (STZ). *Indones J Med*.01(01):44-9.
- Siahaan JM, Harahap U, Loesnihari R. (2016b). Effect Of Ethanol Extract Of Chayote On The Activity Of Glutathione Peroxide And Blood Sugar In Mice With Hyperglycemia. *International Conference on Public Health*, 135-135
- Siahaan JM, Illyas S, Lindarto D, Nainggolan M. (2019a). Effect of Ethanol Extract of Chayote (*Sechium Edule* Jacq. Swartz) on Insulin Resistance in Rat with Diabetes Mellitus Type 2 Induced by Streptozotocin-Nicotinamide-High Fat Diet. *6th International Conference on Public Health*. 340-340.
- Siahaan JM, Illyas S, Lindarto D, Nainggolan M. (2020). The Effect of Ethanol and Ethyl Acetate Fraction of Chayote fruit (*Sechium edule* Jacq. Swartz) on the Oxidative Stress and Insulin Resistance of Male White Rat Model Type 2 Diabetes Mellitus. *Open Access Maced J Med Sci* [Internet]. [cited 2022 Sep. 30];8(A):962-9. Available

from:

<https://oamjms.eu/index.php/mjms/article/view/4517>

- Siahaan, J. M., Illyas, S., Lindarto, D., & Nainggolan, M. (2021a). The effect of ethanol extract and ethyl acetic fraction of standardised chayote squash to reduce blood sugar level and the function of pancreatic β -cell of male albino rats induced by STZ-NA-HFD. *Rasayan Journal of Chemistry*, 14(1), 65–73. <https://doi.org/10.31788/RJC.2021.1415973>
- Siahaan JM, Julianto E, Silitonga HA. (2019b). The Effects of Ethanol Extract and Ethyl Acetate Fractionation of *Sechium Edule* Jacq. Swartz on Triglyceride Levels in Male Rats with Type 2 Diabetes Mellitus. *Indones J Med.* 4(4):371–5.
- Siahaan JM, Julianto E, Silitonga HA. (2021b) Effect of Antihypertriglyceremia *Sechium edule* Jacq. Swartz. Etanol Extract and Ethyl Acetate Fractionation in White Male Wistar Rats (*Rattus novvergus* sp.) Induced by STZ-NA-HFD. *SciTech Biomed-Cancer Sciences*. 2021
- Siahaan JM, Anto EJ, Fauzi TM (2021). The Effects of Ethanol Extract, Chayote (*Sechium Edule* (Jacq.) Swartz) Fraction and Juice on the High-density lipoprotein Level in Male White Mice. *Indones J Med.* 06(02): 145-151. <https://doi.org/10.26911/theijmed.2021.06.02.03>
- Soelistijo, S. A., Lindarto, D., Decroli, E., Permana, H., Sucipto, K. W., Kusnadi, Y., Budiman, & Ikhsan, R. (2019). Pedoman pengelolaan dan pencegahan diabetes melitus tipe 2 dewasa di Indonesia 2019. *Perkumpulan Endokrinologi Indonesia*, 1–117. <https://pbperkeni.or.id/wp->

content/uploads/2020/07/Pedoman-Pengelolaan-DM-Tipe-2-Dewasa-di-Indonesia-eBook-PDF-1.pdf

- Šrámek, J. et al. (2021) Molecular mechanisms of apoptosis induction and its regulation by fatty acids in pancreatic β -cells. *mdpi.com*, 22(8), [Online] Available from: doi.org/10.3390/ijms22084285 [Accessed 09/09/2022].
- Stassi, G. et al. Nitric oxide primes pancreatic β cells for Fas-mediated destruction in insulin-dependent diabetes mellitus. *rupress.org*, [Online] Available from: https://rupress.org/jem/article-abstract/186/8/1193/7318 [Accessed 09/09/2022a].
- Thomas, H. E., McKenzie, M. D., Angstetra, E., Campbell, P. D., & Kay, T. W. (2009). *Beta cell apoptosis in diabetes. Apoptosis*, 14(12), 1389–1404. doi:10.1007/s10495-009-0339-5
- Thörn, K., Hovsepian, M. and Bergsten, P. (2010) Reduced levels of SCD1 accentuate palmitate-induced stress in insulin-producing β -cells. *Lipids in Health and Disease*, 9, [Online] Available from: doi.org/10.1186/1476-511X-9-108 [Accessed 09/09/2022].
- Tomita, T. (2016). Apoptosis in pancreatic β -islet cells in Type 2 diabetes. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(3), 162–179. <https://doi.org/10.17305/BJBMS.2016.919>
- Tourrel, C. et al. Glucagon-like peptide-1 and exendin-4 stimulate β -cell neogenesis in streptozotocin-treated newborn rats resulting in persistently improved glucose homeostasis at. *Am Diabetes Assoc*, [Online] Available from: doi.org/10.2337/diabetes.50.7.1562 [Accessed 09/09/2022].

- Tuei, V. et al. Effects of human serum albumin complexed with free fatty acids on cell viability and insulin secretion in the hamster pancreatic β -cell line HIT-T15. *Elsevier*, [Online] Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320511001081> [Accessed 09/09/2022].
- Vinayagam, R., Xu, B. (2015). Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutr Metab (Lond)* **12**, 60 <https://doi.org/10.1186/s12986-015-0057-7>
- Wali, J. A., Masters, S. L., & Thomas, H. E. (2013). Linking metabolic abnormalities to apoptotic pathways in beta cells in type 2 diabetes. *Cells*, 2(2), 266–283. <https://doi.org/10.3390/cells2020266>
- Wang C, Guan Y, Yang J (2010). Cytokines in the Progression of Pancreatic β -Cell Dysfunction. *Int J Endocrinol.* 515136. doi: 10.1155/2010/515136. Epub 2010 Nov 14. PMID: 21113299; PMCID: PMC2989452.
- Wang, Y. et al. (1997) Glucagon-like peptide-1 can reverse the age-related decline in glucose tolerance in rats. *Am Soc Clin Investig*, 99, pp. 2883–2889.
- Wang, X., Pan, J., Liu, D., Zhang, M., Li, X., Tian, J., ... & An, F. (2019). Nicorandil alleviates apoptosis in diabetic cardiomyopathy through PI3K/Akt pathway. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 23(8), 5349-5359.
- Yang, L. et al. (2016). Puerarin protects pancreatic β -cells in obese diabetic mice via activation of GLP-1R signaling. *academic.oup.com*, [Online] Available from: <https://academic.oup.com/mend/article-abstract/30/3/361/2556481> [Accessed 09/09/2022].

- Yamada, K. et al. (1996) Mouse islet cell lysis mediated by interleukin-1-induced Fas. *Diabetologia*, 39(11), pp. 1306-1312.
- Zhang Y, Liu D. (2011). Flavonol kaempferol improves chronic hyperglycemia-impaired pancreatic beta-cell viability and insulin secretory function. *Eur J Pharmacol*.670(1):325-32. doi: 10.1016/j.ejphar.2011.08.011. Epub 2011 Sep 2. PMID: 21914439.
- Zhu, Y. et al. (2019) Perilipin5 protects against lipotoxicity and alleviates endoplasmic reticulum stress in pancreatic β -cells. *Nutrition and Metabolism*, 16(1), [Online] Available from: doi.org/10.1186/S12986-019-0375-2 [Accessed 09/09/2022].



MONOGRAF

Khasiat Labu Siam Mengobati Diabetes



Dr. dr. Jekson Martiar Siahaan, M.Biomed., AIFO-K, lahir di Marihat Ulu tahun 1985. Pada tahun 2010, menyelesaikan Pendidikan Dokter dari Universitas Methodist Indonesia, melanjutkan studi ke program Magister Ilmu Biomedik di Universitas Sumatera Utara di tahun 2012 dan selesai tahun 2015, kemudian melanjutkan studi Doktor Program Studi Ilmu kedokteran tahun 2016 di Universitas Sumatera Utara dengan predikat cum laude. Peran dalam dunia Pendidikan yakni menulis buku Exit exam, Fisiologi Kardiovaskuler, Pengantar Teknis Analisis Laboratorium Dasar, dan berbagai monograf juga publikasi artikel ilmiah di jurnal nasional maupun internasional bereputasi. Sebagai editor dan reviewer baik jurnal nasional maupun internasional bereputasi. Saat ini, penulis sedang menjabat ketua Prodi Magister Ilmu Biomedik, Sekretaris Unit Penelitian dan Publikasi Ilmiah (UPPI) Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia, Medan. Sebagai asesor beban kerja dosen. Pengalaman dalam bidang penelitian, sebagai pemenang hibah Direktorat Riset, Teknologi, dan Pengabdian Masyarakat (DRTPM) Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi, dari tahun 2019-2022 sebanyak 8 kali. Aktif dalam organisasi profesi sebagai pengurus maupun anggota IDI, IAIFI, PAIFORI, PBBMI dan PERDAWERI



Tengku Muhammad Fauzi, S.Si., M.Kes., AIFO, lahir di Medan tahun 1979. Pada tahun 2005, menyelesaikan Pendidikan S1 Biologi dari Universitas Sumatera Utara, melanjutkan studi ke program Magister Ilmu Biomedik di Universitas Sumatera Utara di tahun 2005 dan selesai tahun 2008. Pengalaman dalam menulis buku yakni menulis buku Pengantar Teknis Analisis Laboratorium Dasar, dan berbagai publikasi artikel ilmiah di jurnal nasional maupun internasional bereputasi. Saat ini, penulis sedang menjabat kepala laboratorium S2 Prodi Magister Ilmu Biomedik, Anggota Unit Penelitian dan Publikasi Ilmiah (UPPI) dan Dosen Tetap di Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia, Medan



Prof. Dr. dr. Hadyanto Lim, M.Kes., Sp.FK., FESC., FIBA, FAHA meraih gelar dokter tahun 1991 dari Fakultas Kedokteran Universitas Methodist Indonesia (FK UMI). Pada tahun 1999 mengikuti S2 Program Studi Biomedik Bidang Keahlian Farmakologi, Program Pascasarjana USU Medan dan lulus pada tahun 2001. Tahun 2003-2005 mengikuti Studi Doktor Ilmu Kedokteran dalam bidang Kedokteran Kardiovaskuler (Cardiovascular Medicine) pada Sekolah Pascasarjana USU Medan dengan mendapatkan predikat Cum Laude. Pada tahun 2006 memperoleh Fellow of the European Society of Cardiology (FESC) dari Asosiasi Jantung Eropa, dan tahun 2007 beliau memperoleh gelar Dokter Spesialis Farmakologi Klinik (SpFK) dari Perhimpunan Dokter Spesialis Farmakologi Klinik Indonesia (PERDAFKI). Tahun 2011, sebagai ilmuwan Internasional meraih Fellow of the American Heart Association (FAHA), USA. Tahun 2011, menyelesaikan pendidikan lanjutan Genetic Testing and Sequencing Technologies dari Harvard Medical School, Harvard University, Boston, USA, dengan predikat Cum Laude. Atas kiprahnya di bidang pendidikan, beliau dikukuhkan sebagai Guru Besar Universitas Methodist Indonesia. Beliau diamanahi untuk mengampu bidang Farmakologi Kardiovaskuler di Fakultas Kedokteran UMI. Pemimpin Redaksi Jurnal Kedokteran Methodist FK UMI (2003-sekarang). Ketua Unit Penelitian dan Publikasi Ilmiah, FK UMI (2011-sekarang). Sampai saat ini jumlah buku yang dihasilkan 16 buah, empat di antaranya tentang stem cell mendapat HAKI dan 52 artikel. Tulisannya disitasi para peneliti di seluruh dunia. Bidang peminatan penelitian beliau adalah stem cell dan epigenetic serta aplikasinya dalam berbagai penyakit. Saat ini beliau aktif memberikan ceramah di tingkat Nasional dan Internasional. Beliau mendapat berbagai penghargaan Internasional antara lain: Excellence Research, National University Singapore (2005), Outstanding Honour, Cambridge, UK (2007), Great Minds of the 21st Century, USA (2007). Beliau terpilih sebagai dosen berprestasi terbaik Sumatera Utara Nangroe Aceh Darussalam, Kopertis Wilayah I, Sumut-NAD, tahun 2009. Pinnacle of Achievement in Stem Cell Research Award, Cambridge, UK (2016). Distinguished Service to the Health Profession Award in Stem Cell Therapy and Regenerative Medicine, Cambridge, UK (2016). World Record for Outstanding Accomplishment Award in Stem Cell Science, Cambridge, UK (2017).



Penerbit
Yayasan Wiyata Bestari Samasta
Jl Sumadinata 22 Cirebon
Jawa Barat Indonesia 45151
email : wbsamasta@gmail.com

ISBN 978-623-88297-3-6



9 786238 829736