

# BAB 1 PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Diabetes mellitus merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemia yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya (American Diabetes Association, 2020). Hiperglikemia adalah suatu kondisi medik berupa peningkatan kadar glukosa dalam darah melebihi batas normal. Hiperglikemia merupakan salah satu tanda khas penyakit diabetes mellitus (DM), walaupun juga mungkin didapatkan pada beberapa keadaan yang lain (PERKENI, 2021). Hiperglikemia kronik pada diabetes mellitus berhubungan dengan kerusakan jangka panjang dan disfungsi beberapa organ tubuh, terutama mata, ginjal, saraf, jantung dan pembuluh darah yang akan menimbulkan berbagai macam komplikasi seperti aterosklerosis, neuropati, nefropati, dan retinopati (American Diabetes Association, 2017).

Menurut American Diabetes Association (ADA), ada empat jenis diabetes mellitus yaitu diabetes mellitus tipe 1, diabetes mellitus tipe 2, diabetes gestasional, dan diabetes tipe lain (American Diabetes Association, 2021). Diabetes mellitus tipe 2 memiliki prevalensi yang lebih besar dibanding tipe diabetes lainnya. Penelitian epidimiologi juga menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan angka insidensi dan prevalensi DM tipe 2 di berbagai penjuru dunia (American Diabetes Association, 2020).

Badan Kesehatan Dunia (WHO) memprediksi adanya peningkatan jumlah penyandang DM yang menjadi salah satu ancaman kesehatan global. WHO memprediksi kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia dari 8,4 juta pada

tahun 2000 menjadi sekitar 21,3 juta pada tahun 2030 (PERKENI, 2021). International Diabetes Federation (IDF) juga memprediksi adanya kenaikan jumlah penyandang DM di Indonesia (usia 20-79 tahun) dari 19,5 juta pada tahun 2021 menjadi 28,6 juta pada tahun 2045 (International Diabetes Federation, 2021). Data RISKESDAS 2018 menunjukkan prevalensi DM di Indonesia sebesar 8,5% atau sekitar 20,4 juta orang Indonesia terdiagnosis DM (PERKENI, 2021).

Data-data di atas menunjukkan bahwa jumlah penyandang DM di Indonesia sangat besar. Peningkatan jumlah penyandang DM di masa mendatang akan menjadi beban yang sangat berat untuk dapat ditangani sendiri oleh dokter spesialis/ subspecialis atau bahkan oleh semua tenaga kesehatan yang ada. Penyakit DM sangat berpengaruh terhadap kualitas sumber daya manusia dan berdampak pada peningkatan biaya kesehatan yang cukup besar. Oleh karena itu, semua pihak, baik masyarakat maupun pemerintah harus ikut serta secara aktif dalam usaha penanggulangan DM (PERKENI, 2015).

Saat ini, dunia memiliki masalah terkait manajemen penyakit yang berhubungan dengan resistensi obat, penggunaan obat yang sama dan biaya pengobatan. Para ahli terus bekerja menemukan ketersediaan obat yang relatif lebih murah dan menemukan obat baru dengan biaya seminimal mungkin (PERKENI, 2015). Pengobatan dan manajemen DM saat ini juga banyak diarahkan pada studi penemuan obat berupa identifikasi dan uji klinis bahan alam serta analognya (Tiwari, 2015).

Indonesia sebagai salah satu dari 10 negara dengan penderita diabetes yang paling banyak juga harus turut serta dalam menemukan ketersediaan obat yang dapat menangani permasalahan terkait manajemen penyakit DM ini. Indonesia

merupakan negara kepulauan terbesar di dunia dengan dua pertiga wilayahnya adalah lautan dan merupakan bagian dari perairan Indopasifik. Wilayah Indopasifik merupakan pusat keanekaragaman biota laut terbesar di dunia. Sumber daya biota laut tersebut merupakan aset potensial yang dapat digunakan produk obat-obatan (D'Orazio et al., 2012; Ezzat et al., 2018).

Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa organisme laut memiliki potensi yang sangat besar dalam menghasilkan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai bahan baku obat. Dalam 15 tahun terakhir, beberapa makroorganisme laut diskriming untuk dijadikan kandidat obat diabetes. Salah satunya adalah spon laut (Anjum et al., 2016; Lauritano & Ianora, 2016). Spon laut adalah invertebrata dari *Phylum Porifera*, yang memiliki sistem internal yang unik dari saluran aferen dan eferen, yang berfungsi sebagai *filter feeder* (Varijakzhan et al., 2021).

Penelitian tentang spon laut telah banyak dilakukan dan hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa spon laut memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Handayani & Aminah, 2017); antikanker (Krisyanella et al., 2011; Elkhayat & Goda, 2017), antifungi (Hassan et al., 2004), antimalaria (Rao et al., 2004; Murthihapsari et al., 2013), dan alzheimer (Rao et al., 2006). Aktivitas farmakologi tersebut berhubungan dengan adanya kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada spon laut (Cita et al., 2017; Liang et al., 2014).

Salah satu spon laut yang mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai obat yaitu *Xestopongia testudinaria*. Spon laut *X.testudinaria* atau disebut juga dengan raksasa barel spon merupakan spon lembut yang merupakan komunitas terumbu karang yang besar dan biasanya berada pada kedalaman lebih dari 10

meter di bawah permukaan laut. Spon genus ini menghasilkan metabolit sekunder seperti alkaloid, quinon, sterol, terpenoid dan asam lemak (Zhou et al., 2010). Penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa *X.testudinaria* memiliki aktivitas antikanker (El-Gamal et al., 2016; Swantara et al., 2018), antibakteri (Cita et al., 2017), antiinflamasi dan antioksidan (El-Shitany et al., 2015), serta antiobesitas (Liang et al., 2014).

Kemampuan spon dalam menghasilkan senyawa bioaktif dikarenakan adanya hubungan simbiotik antara spon laut dengan mikroorganisme simbion seperti jamur simbion (Lee et al., 2001; Rajamanikyam et al., 2017). Jamur simbion pada spon laut merupakan mikroba yang hidup pada jaringan spon dengan hubungan simbiosis mutualisme (Bright dan Bulgheresi, 2010). Adanya simbiosis antara mikroba dengan spon dapat mempertahankan ketersediaan nutrisi bagi spon, menstabilkan skeleton spon, dan memproduksi metabolit sekunder yang dapat melawan mikroba patogen (Henstchel et al., 2002).

Eksplorasi terhadap mikroba simbion menjadi perhatian pada saat ini, karena mikroba simbion tersebut dapat menghasilkan metabolit sekunder yang dapat digunakan dalam terapi beberapa penyakit (Vasanthabharathi & Jayalakshmi, 2012). Eksplorasi terhadap mikroba simbion dari spon ini juga dapat mengurangi eksploitasi spon dalam skala besar dan menjaga ekosistem spon itu sendiri. Penggunaan mikroba simbion juga lebih baik karena dapat dikultur dan dimurnikan di laboratorium dan dapat direproduksi dalam waktu cepat.

Di antara beberapa mikroorganisme simbion, jamur simbion pada spon merupakan penghasil senyawa bioaktif yang paling menarik. Jamur simbion dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, steroid, terpenoid,

flavonoid, kuinon, dan fenol (Liu et al., 2017). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa jamur simbiosis memiliki aktivitas biologi sebagai antimikroba, antikanker, antimalaria, antijamur, antiinflamasi, antiviral, antiprotozoa, immunosupresif, sitotoksitas dan sebagai antioksidan (Handayani & Aminah, 2017; Lee et al., 2013; Sandrawati et al., 2020).

Spon laut *X.testudinaria* bersimbiosis dengan salah satu jamur simbiosis dari genus *Penicillium* yaitu *Penicillium citrinum*. Penelitian yang telah dilakukan tentang ekstrak etil asetat *P.citrinum* XT6 dari *X.testudinaria* menunjukkan aktivitas antimikroba dan sitotoksik (Bakhtra et al., 2019). *P.citrinum* juga memiliki aktivitas antioksidan (Samanthi et al., 2015), inhibisi aktivitas enzim  $\alpha$ -glukosidase dan urease (Ali et al., 2017), serta menurunkan kadar kolesterol (Manzoni & Rollini, 2002).

Berdasarkan penelitian Ali et al., ekstrak etil asetat *P.citrinum* yang bersimbiosis dengan *Boswellia sacra* memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim  $\alpha$ -glukosidase (Ali et al., 2017). Siklo (dehiroala-L-Leu) yang diperoleh dari jamur *Penicillium* sp. mampu secara signifikan menghambat kerja enzim  $\alpha$ -glukosidase (Kwon et al., 2000). Jamur *Penicillium* sp. yang bersimbiosis pada *Tabebuia argentea* juga menunjukkan aktivitas antidiabetes yang signifikan baik secara *in vitro* dan *in silico* (inhibisi enzim  $\alpha$ -glukosidase,  $\alpha$ -amilase, dan dipeptidil peptidase IV) (Murugan et al., 2017).

Penelitian lainnya menunjukkan bahwa ekstrak metiletilketon jamur *Penicillium* sp. JF-55 dengan isolatnya penstyrylpyrone menghambat secara kompetitif protein tirosin fosfatase 1B (PTP1B) yang berperan dalam regulasi pensinyalan insulin (Lee et al., 2013). Berdasarkan beberapa hasil penelitian

tersebut di atas dapat diasumsikan bahwa jamur *Penicillium* sp. memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen dalam terapi diabetes mellitus.

Uji skrining aktivitas antidiabetes secara *in vitro* dan *in vivo* juga telah dilakukan untuk mengetahui aktivitas antidiabetes dari *P.citrinum* XT6 yang bersimbiosis pada *X.testudinaria*. Skrining *in vitro* dilakukan untuk menelusuri aktivitas inhibisi enzim  $\alpha$ -glukosidase dari *P.citrinum* XT6. Hasil pengujian diperoleh nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etil asetat jamur *P.citrinum* XT6 yaitu 2,913 mg/mL, sedangkan nilai IC<sub>50</sub> acarbose sebagai pembanding yaitu 5,014 mg/mL. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat *P.citrinum* XT6 memiliki aktivitas inhibisi enzim  $\alpha$ -glukosidase yang lebih baik dibandingkan acarbose (Fauziah et al, 2022). Demikian juga dengan hasil pengujian ekstrak etil asetat jamur *P.citrinum* XT6 menunjukkan *insulin mimicking effect* pada sel line 3T3-L1 adiposit (Fauziah et al., 2023)

Pengujian secara *in vivo* juga dilakukan dengan menggunakan hewan uji. Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat jamur *P.citrinum* XT6 dapat menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki/ menurunkan resistensi insulin secara signifikan (Fauziah et al, 2020). Dari hasil pengujian tersebut diperkirakan bahwa jamur *P.citrinum* XT6 memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai agen dalam terapi diabetes terutama diabetes mellitus tipe II. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut dilakukan untuk menelusuri aktivitas antidiabetes dari jamur *P.citrinum* XT6.

Penelitian ini merupakan bagian dari studi lanjut tentang aktivitas antidiabetes yang diarahkan kepada kajian molekuler aktivitas antidiabetes secara *in vitro* dengan menggunakan fraksi dan senyawa hasil isolasi dari *P.citrinum*

XT6. Model *in vitro* ini dipilih berdasarkan proses spesifik, dimana aktivitas enzim pada reaksi metabolisme atau ikatan reseptor dengan tipe sel yang akan digunakan dapat diamati. Pengujian secara *in vitro* dapat mengidentifikasi mekanisme kerja senyawa dan lebih ekonomis.

Salah satu metodenya adalah dengan menggunakan sel line yang dapat memfasilitasi pengujian secara fisiologis dan patofisiologis tanpa menggunakan hewan model. Salah satu tipe sel yang dapat digunakan untuk pengujian aktivitas antidiabetes adalah sel 3T3-L1 yang merupakan sel line preadiposit yang dapat berdiferensiasi menjadi adiposit (Dsouza & Lakshmidivi, 2015). Sel ini dapat digunakan untuk mengamati gambaran homeostasis glukosa dan penyimpanan energi, seperti pengujian aktifitas adipogenesis dan uptake glukosa (Azahari *et al.*, 2015).

Adipogenesis merupakan proses konversi preadiposit menjadi adiposit. Adiposit berperan dalam mempertahankan keseimbangan energi dan homeostasis lipid dengan melepaskan asam lemak bebas dan menyimpan trigliserida sebagai respon untuk perubahan kebutuhan energi (Weizenstein *et al.*, 2016). Beberapa gen diketahui berperan pada adipogenesis, salah satunya yaitu PPAR $\gamma$  yang merupakan bagian dari isotipe PPAR. Isotipe lain dari PPAR yaitu PPAR $\alpha$  dan PPAR $\delta$  (Ahmadian, *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014).

PPAR $\alpha$  mengatur metabolisme lipid dan homeostasis glukosa dengan mengatur ekspresi protein yang mempengaruhi transpor dan oksidasi- $\beta$  asam lemak bebas. PPAR $\alpha$  diekspresikan dominan, dan sedikit di jantung, otot rangka, dan ginjal. PPAR $\delta$  juga merupakan isotipe PPAR yang terdistribusi luas di jaringan dan berperan dalam adipogenesis, metabolisme lipid, homeostasis energi,

dan aktivitas antiinflamasi (Tontonoz & Spiegelman, 2008). Peran tersebut juga ditunjukkan oleh PPAR $\gamma$ . Akan tetapi, mekanisme dan kekuatannya berbeda dengan PPAR $\delta$ . PPAR $\delta$  diekspresikan secara luas di banyak jaringan, seperti otot, hati, usus, dan jaringan lainnya, berbeda halnya dengan PPAR $\gamma$  yang dominan diekspresikan di jaringan adiposa. Hal ini memberikan PPAR $\gamma$  kelebihan dalam mengatur metabolisme lemak dan glukosa di jaringan adiposa (Giacoman-Martinez et al., 2019; Teixeira et al., 2022).

Banyak penelitian memfokuskan PPAR $\gamma$  karena perannya yang penting dalam regulasi metabolisme lipid dan glukosa pada sel adiposit. PPAR $\gamma$  berperan dalam differensiasi sel adiposit dan regulasi metabolisme lipid dengan mengatur ekspresi gen yang terlibat dalam metabolisme lipid, termasuk penyimpanan lemak dalam jaringan adiposa (Richardson *et al.*, 2013; Saponaro *et al.*, 2015). PPAR $\gamma$  dapat menghambat ekspresi sitokin proinflamasi dan berperan dalam regulasi sistem imun. PPAR $\gamma$  juga berperan dalam regulasi sensitifitas insulin dan homeostasis glukosa (Martin, 2010; Janani&Kumari, 2014).

PPAR $\gamma$  mengontrol ekspresi sejumlah faktor yang disekresikan dari jaringan adiposit yang akan meningkatkan sensitivitas insulin positif (adiponektin, leptin) dan negatif (resistin, TNF- $\alpha$ , dan IL-6). PPAR $\gamma$  juga secara langsung mengatur ekspresi gen yang mempengaruhi homeostasis glukosa seperti upregulasi ekspresi transporter glukosa 4 (GLUT4) (Ahmadian *et al.*, 2013).

GLUT4 berperan sebagai mediator utama dalam uptake glukosa pada jaringan adiposa. Translokasi GLUT4 dari vesikel intraseluler ke membrane sel adiposit distimulasi oleh insulin, sehingga glukosa akan masuk ke dalam sel. Uptake glukosa di jaringan adiposa ini sangat penting dalam penyimpanan lemak



dalam bentuk trigliserida. GLUT4 juga berperan pada regulasi lipogenesis di jaringan adiposa. Melalui uptake glukosa, GLUT4 menjaga homeostasis glukosa sehingga hal ini dapat membantu dalam pengontrolan kadar glukosa darah dan mencegah hiperglikemia. Dengan demikian, GLUT4 di jaringan adiposa berperan penting dalam regulasi penyerapan glukosa, lipogenesis, dan homeostasis glukosa (Sayem *et al.*, 2018).

Regulasi terhadap aktifitas adipogenesis, PPAR $\gamma$  dan GLUT4 merupakan target pengobatan diabetes. Tiazolidindion merupakan golongan obat antidiabetes agonis total PPAR $\gamma$ . Aktivasi PPAR $\gamma$  oleh tiazolidindion ini dapat memicu redistribusi lemak dari visceral ke jaringan adiposit, meningkatkan penyimpanan asam lemak di jaringan adiposit, dan mempengaruhi sekresi hormon dari jaringan adiposit, sehingga dapat meningkatkan sensitivitas insulin (Krishnaswami, 2010). Aktivasi PPAR $\gamma$  oleh tiazolidindion juga dapat menstimulasi GLUT4 sehingga dapat meningkatkan uptake glukosa ke dalam sel (Guru *et al.*, 2022). Akan tetapi, pemberian tiazolidindion berhubungan dengan beberapa efek samping seperti edema, peningkatan berat badan, gagal jantung, dan meningkatkan risiko fraktur tulang (Nissen *et al.*, 2007; Xu *et al.*, 2017).

Oleh karena itu, penelitian akhir-akhir ini mengarah kepada pencarian senyawa agonis parsial terhadap PPAR $\gamma$  yang tidak menunjukkan efek samping yang signifikan seperti yang ditunjukkan oleh agonis total PPAR $\gamma$ . Walaupun memiliki aktivitas yang rendah terhadap reseptor PPAR $\gamma$ , tetapi diharapkan masih mampu menginduksi gen PPAR $\gamma$  yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antihiperglikemia dan sensitivitas insulin, tetapi minim dari efek samping (Agrawal *et al.*, 2012; Bhalla *et al.*, 2011; Álvarez-Almazán *et al.*, 2017).

Berdasarkan hal di atas, pada penelitian ini akan dilakukan pengujian fraksi dan senyawa hasil isolasi dari jamur *P.citrinum* XT6 terhadap aktifitas adipogenesis, ekspresi PPAR $\gamma$  dan GLUT4 dengan menggunakan model sel 3T3-L1.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian dalam latar belakang, maka dapat dirumuskan masalah dalam penelitian sebagai berikut :

1. Apakah fraksi jamur *P.citrinum* XT6 mempengaruhi aktifitas adipogenesis pada sel 3T3-L1?
2. Apakah senyawa hasil isolasi jamur *P.citrinum* XT6 mempengaruhi aktifitas adipogenesis pada sel 3T3-L1?
3. Apakah senyawa hasil isolasi jamur *P.citrinum* XT6 mempengaruhi ekspresi PPAR $\gamma$  pada sel 3T3-L1?
4. Apakah senyawa hasil isolasi jamur *P.citrinum* XT6 mempengaruhi ekspresi GLUT4 pada sel 3T3-L1?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk menganalisis pengaruh fraksi dan senyawa hasil isolasi jamur *P.citrinum* XT6 terhadap aktivitas adipogenesis, ekspresi PPAR $\gamma$  dan GLUT4 pada sel 3T3-L1.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus penelitian ini adalah :

1. Untuk menganalisis pengaruh fraksi jamur *P.citrinum* XT6 terhadap aktifitas adipogenesis pada sel 3T3-L1.

2. Untuk menganalisis pengaruh senyawa hasil isolasi jamur *P.citrinum* XT6 terhadap aktifitas adipogenesis pada sel 3T3-L1.
3. Untuk menganalisis pengaruh senyawa hasil isolasi jamur *P.citrinum* XT6 terhadap ekspresi PPAR $\gamma$  pada sel 3T3-L1.
4. Untuk menganalisis pengaruh senyawa hasil isolasi jamur *P.citrinum* XT6 terhadap ekspresi GLUT4 pada sel 3T3-L1.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Pengembangan Ilmu Pengetahuan**

Hasil dari penelitian ini yaitu memperoleh fraksi dan senyawa hasil isolasi jamur *P.citrinum* XT6 yang memiliki potensi sebagai antidiabetes. Hasil studi juga diharapkan mampu menjelaskan mekanisme molekuler fraksi dan senyawa hasil isolasi jamur *P.citrinum* XT6 terhadap aktivitas adipogenesis, serta ekspresi PPAR $\gamma$  dan GLUT4 dengan menggunakan model sel 3T3-L1.

### **1.4.2 Kepentingan Masyarakat**

Hasil penelitian ini dapat menjadi sumber informasi bagi masyarakat tentang adanya senyawa yang memiliki aktivitas antidiabetes yang berasal dari jamur *P.citrinum* XT6 yang bersimbiosis dengan spon laut *X.testudinaria*. Hal ini bermanfaat dalam pengembangan obat baru atau sebagai *lead compound* untuk terapi diabetes mellitus terutama diabetes mellitus tipe 2.