

Vol. 21, No. 1 November 2014

ISSN 0854-4263

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.)	Vol. 21	No. 1	Hal. 1-110	Surabaya November 2014	ISSN 0854-4263
---	---------	-------	------------	---------------------------	-------------------

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 66b/DIKTI/KEP/2011, Tanggal 9 September 2011

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

Kadar IL-6 Plasma Pasien Diabetes Melitus dengan dan Tanpa Pengidap Retinopati Diabetika (<i>The Level of Interleukin-6 Plasma in Diabetes Mellitus Patients with and Without Diabetic Retinopathy</i>) I Wayan Putu Sutirta Yasa, I Nyoman Wande, Ni Ketut Niti Susila, Putu Budhiastra, Cokorda Istri Dewiyani Pemayun, Sianny Herawati	1-4
Kenasaban Fibrinogen Plasma dengan Penebalan Arteri Intima-Media Karotis Komunis di Diabetes Melitus (<i>Correlation Plasma Fibrinogen with Intima-Media THickness of Carotid Artery in Diabetes Mellitus</i>) Dwi Aryani, Budi Mulyono, Osman Sianipar	5-10
Matriks Metaloproteinase-2 di Metastasis Karsinoma Payudara (<i>Matrix Metalloproteinase-2 in Breast Cancer Metastasis</i>) Besse Rosmiati, Uleng Bahrn, Ruland DN Pakasi	11-15
Kalium di <i>Multidrug Resistance</i> Tuberkulosis dengan Pengobatan Kanamisin (<i>Potassium in Multidrug Resistance Tuberculosis with Kanamycin</i>) J.B. Suparyatmo, B. Rina AS, Harsini, Sukma	16-19
Darah Aman dan Pendonor Darah Sukarela (<i>Safe Blood and Voluntary Non-Remunerated Blood Donors</i>) Teguh Triyono, Veronica Fridawati, Usi Sukorini, Budi Mulyono	20-23
Rerata Volume Trombosit di Diabetes Melitus (<i>Mean Platelet Volume in Diabetes Mellitus</i>) Maria Enrica, Nina Tristina, Anna Tjandrawati	24-27
Angka Banding Kadar Asam Urat Air Kemih terhadap Serum di Diabetes Melitus Tipe 2 (<i>Ratio of Urinary Uric Acid Levels and Serum Uric Acid in Type 2 Diabetes Mellitus</i>) Amarensi Milka Betaubun, Fitriani Mangarengi, Ruland DN Pakasi	28-31
Kadar Hemoglobin Retikulosit di Anemia dan Nonanemia Akibat Defisiensi Besi Absolut di Gagal Ginjal Terminal Terkait Hemodialisis (<i>Reticulocyte Hemoglobin Level of Absolute Iron Deficiency Anemia and Nonabsolute Iron Deficiency Anemia in End State Renal Disease Undergoing Maintenance Hemodialysis</i>) Amelia Rachmiwati, Noormartany, Rubin Surachno Gondodiputro, Delita Prihatni	32-39
<i>Immature Platelet Fraction</i> di Demam Dengue dan Demam Berdarah Dengue (<i>Immature Platelet Fraction in Dengue Fever and Dengue Hemorrhagic Fever</i>) Izzuki Muhashonah, Juli Soemarsono, Puspa Wardhani, Aryati	40-44
Pemeriksaan <i>Cryptococcal</i> Antigen antara Metode Sistem Aglutinasi Lateks Antigen Kriptokokus dan <i>Lateral Flow Assay</i> di Pasien AIDS (<i>Cryptococcal Antigen of Acquired Immune Deficiency Syndrome with Lateral Flow Assay and Cryptococcus Antigen Latex Agglutination System</i>) Artiti Aditya, Indrati AR, Ganiem AR	45-49
T-Cd4 ⁺ dan Profil Lipid di HIV (<i>T-Cd4⁺ and Lipid Profile in HIV</i>) Yulia Hayatul Aini, Coriejati Rita, Agnes Rengga Indrati, Rudi Wisaksana	50-56

Tolak Ukur Fungsi Hati Berdasarkan Derajat Fibrosis Penyakit Hati Kronis (<i>Liver Function Parameters Based on Degree of Liver Fibrosis in Chronic Liver Disease</i>) Rahmafitria, Mutmainnah, Ibrahim Abdul Samad	57-60
Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) Pascacedera Kepala Berat sebagai Faktor Peramalan Perjalanan Penyakit {(<i>Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) as A Prognostic Factor in severe Head Injury</i>)} Ridha Dharmajaya	61-66
Genotipe HPV dan Pola Infeksinya Terkait Jenis Histopatologi Kanker Leher Rahim (<i>HPV Genotype and HPV Infection Pattern Related to the Histopathological Type of Cervical Cancer</i>) Roudhotul Ismaillya Noor, Aryati, Pudjo Hartono	67-74
Glut 4 di Jaringan Adiposa (<i>Glut 4 in Adipose Tissue</i>) Dewi Ratna Sari, Rimbun, Tri Hartini Yulawati, Joni Susanto, Ari Gunawan, Harjanto JM	75-81
Nilai Diagnostik Anti Dengue IgA dan Ns1, serta IgM/IgG di Infeksi Virus Dengue (<i>The Diagnostic Value of Anti Dengue IgA and Anti Dengue IgM/IgG in Dengue Virus Infection</i>) Resna, Aryati, Puspa Wardhani, Erwin Triyono	82-89
TELAAH PUSTAKA	
Defisiensi Vitamin D Terhadap Penyakit (<i>Vitamin D Deficiency and Diseases</i>) Pusparini	90-95
LAPORAN KASUS	
<i>Lineage Switch</i> Leukemia Limfoblastik Akut Menjadi Leukemia Mielomonositik Akut pada Perempuan Usia 26 Tahun (<i>Lineage Switch from Acute Lymphoblastic Leukemia to Acute Myelomonocytic Leukemia at A 26 Years Old Woman</i>) Burhanuddin Said, Maimun ZA, Budiman	96-101
MANAGEMENT LABORATORIUM	
Peran Dokter Spesialis Patologi Klinik dalam Akreditasi Rumah Sakit (<i>The Role for Clinical Pathologist In Hospital Accreditation</i>) Anak Agung Wiradewi Lestari	102-108
INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU	109-110

Ucapan terimakasih kepada penyunting Vol 21 No. 1 November 2014

Budi Mulyono, Mansyur Arif, Sudewa Djelantik, Purwanto, Edi Widjajanto, Sidarti Soehita,
Yolanda Probahoosodo

GLUT 4 DI JARINGAN ADIPOSA

(GLUT 4 in Adipose Tissue)

Dewi Ratna Sari¹, Rimbun¹, Tri Hartini Yuliawati¹, Joni Susanto¹, Ari Gunawan¹, Harjanto JM²

ABSTRACT

The decreasing of glucose transporter 4 (GLUT 4) in adipose tissue of diabetic and obesity patients are associated with hyperinsulinaemia and insulin resistance. The adipose tissue can be used as therapeutic targets in the treatment of Diabetes Mellitus (DM). Visceral adipose tissue has different morphology and functional with subcutaneous adipose tissue and Vitamin D has been known to have contributed in DM. The aim of this study is to know the role of cholecalciferol on the expression of GLUT 4 in subcutaneous and visceral adiposity of diabetic rats by elucidated in those tissues. The subjects of the study consisted of nineteen male diabetic rats of Wistar strain, which were divided into control group (K) and three (3) treatment groups (X₁, X₂ and X₃). In order to induce the condition of DM, the animals were fed with high fat diet for three (3) weeks and administered a single intraperitoneal injection of streptozotocin (35 mg/kgBW) at the end of the second week. Cholecalciferol were administered with doses of 6.25 µg/kgBW in X₁, 12.5 µg/kgBW in X₂ and 25 µg/kgBW in X₃ per oral everyday within 14 days. The subcutaneous and visceral adipose tissues of the subjects were processed into histological slides with immunohistochemistry staining. The data were analyzed by one way ANOVA test and paired t-test ($\alpha = 0.05$, significance $p < 0.05$). In this study was found the significance of GLUT 4 expression in subcutaneous adiposity ($p = 0.035$) is different between the groups, the differences were found between group K and groups X₁, X₂ and X₃. Also there were found the significance different of GLUT 4 expression in subcutaneous adiposities compared with visceral adiposities in all treatment groups ($p > 0.05$). Based on this study it can be concluded that cholecalciferol could increase the expression of GLUT 4 in the subcutaneous adiposity, but not in visceral adiposity of the diabetic rats.

Key words: GLUT 4, adipose tissue, vitamin D

ABSTRAK

Penurunan GLUT 4 di jaringan adiposa di pasien diabetes dan kegemukan berkaitan dengan hiperinsulinemia dan resisten insulin. Jaringan adiposa dapat menjadi sasaran pengobatan pada penanganan Diabetes Melitus (DM). Jaringan adiposa visceral memiliki morfologi dan fungsi yang berbeda dengan yang di jaringan (adiposa) di subkutan. Vitamin D telah diketahui berperan dalam DM. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui peran *cholecalciferol* terhadap ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan dan adiposit terkait visceral tikus pengidap DM berdasarkan bukti yang dapat menjelaskan. Sembilan belas tikus jantan galur Wistar dibagi menjadi kelompok pembanding (P) dan tiga (3) perlakuan (X₁, X₂ dan X₃). Hewan coba diberi diet tinggi lemak selama tiga (3) minggu dan suntikan streptozotocin (35 mg/kgBB) pada akhir minggu kedua untuk mengimbas DM. *Cholecalciferol* diberikan dengan dosis 6,25 µg/kgBB di kelompok X₁, 12,5 µg/kgBB, untuk X₂ dan 25 µg/kgBB bagi X₃ lewat mulut setiap hari selama 14 hari. Jaringan adiposa subkutan dan visceral diproses menjadi sediaan histologik dengan pewarnaan imunohistokimia. Data dianalisis dengan uji ANOVA satu arah dan uji T berpasangan ($\alpha = 0,05$, berkemaknaan $p < 0,05$). Dalam kajian ini didapatkan perbedaan yang bermakna ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan ($p = 0,035$) antara kelompok P dan yang X₁, X₂, serta X₃. Di samping itu di semua kelompok perlakuan ($p > 0,05$) terdapat perbedaan yang bermakna terhadap ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan dibandingkan dengan yang adiposit visceral. Dengan demikian dapat disimpulkan, bahwa *cholecalciferol* dapat meningkatkan ekspresi GLUT 4, yang hal tersebut tidak terdapat di adiposit visceral tikus pengidap DM.

Kata kunci: GLUT 4, jaringan adiposa, vitamin D

PENDAHULUAN

Diabetes Melitus (DM) merupakan himpunan sejumlah kelainan yang menunjukkan gambaran umum kenaikan kadar glukosa darah.¹ Hiperglikemia di DM terjadi akibat cacat pada sekresi insulin, fungsi, atau, pada umumnya, di keduanya. Hiperglikemia kronik dan gangguan metabolisme yang ditimbulkan dapat menyebabkan kerusakan sekunder di berbagai

sistem organ, terutama ginjal, mata, saraf dan pembuluh darah.²

Menurut *World Health Organization* (WHO), DM termasuk penyebab kematian kesembilan (9) di dunia dan di negara dengan tingkat pendapatan menengah, sedangkan di negara dengan tingkat pendapatan tinggi menjadi penyebab kematian kedelapan (8).³ Jumlah keseluruhan pasien DM di seluruh dunia diperkirakan akan meningkat dari 366 juta pada tahun 2011 menjadi

¹ Departemen Anatomi dan Histologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga. E-mail: dr.dewirs@gmail.com

² Departemen Ilmu Faal, fakultas Kedokteran, Universitas Airlangga

552 juta pada tahun 2030. Indonesia merupakan negara ke-10 dengan jumlah pasien DM terbesar yang berusia antara 20–79 tahun pada tahun 2010 dan diperkirakan akan menjadi negara kesembilan (9) terbesar pada tahun 2030.⁴

Penggolongan DM menurut WHO dan *American Diabetes Association* (ADA) menggabungkan derajat kelebihan gula darah dan jenis penyebab penyakit. Dua subtipe utama dari DM adalah tipe 1, yang disebabkan baik karena autoimun atau idiopatik, sedangkan yang tipe 2, disebabkan karena resistensi insulin dan sel β yang bermanifestasi gangguan fungsi kurang memadai sekresi insulin dalam menghadapi resistensi insulin dan hiperglikemia, atau di keduanya.^{1,2} Kedua tipe tersebut didahului oleh tahapan homeostasis yang terkait glukosa terhenti, menjadi abnormal sebagai kemajuan proses penyakit.⁵ Sekitar antara 80–90% dari semua kasus DM adalah yang tipe 2. Diabetes melitus tipe 2 merupakan kelainan yang heterogen dan poligenik, yang merupakan akibat interaksi di antara gen yang rentan dan faktor gaya hidup/atau lingkungan.² Gangguan kerja insulin (resistensi insulin) merupakan cacat terkait metabolik yang khas di sebagian besar pasien DM tipe 2. Resistensi insulin dapat diamati di jaringan perifer di antaranya otot lurik, jaringan adiposa dan hati.¹ Peningkatan jaringan adiposa viseral berkaitan dengan resisten insulin di hati dan jaringan perifer baik di laki-laki maupun perempuan, sedangkan peningkatan jaringan subkutan perut berkaitan dengan resisten insulin di hati dan jaringan perifer hanya terdapat di laki-laki.⁶ Jaringan adiposa viseral memiliki kaitan morfologik dan fungsional yang berbeda dengan jaringan adiposa subkutan.⁷

Insulin memacu metabolisme glukosa di jaringan sasaran melalui pemindahan pengangkut dari intrasel menuju membran plasma.⁸ Pengangkut glukosa GLUT 4 merupakan perantara utama pemindahan glukosa dari peredaran darah dan merupakan kunci pengatur homeostasis yang terkait glukosa terhenti di seluruh tubuh.⁹ Gangguan pengaturan tersebut didapatkan dalam kondisi resistensi insulin, termasuk kegemukan dan DM tipe 2.¹⁰ Penurunan ekspresi GLUT 4 di jaringan adiposa di pasien DM tipe 2 dan kegemukan berkaitan dengan hiperinsulinemia dan resistensi insulin.¹¹ Perkembangan kejadian dan jumlah penyakit DM menyoroti keperluan pendekatan inovatif untuk penanganan dan pencegahan penyakit.¹² Baru-baru ini, banyak bukti baik lewat kajian di hewan maupun manusia yang menunjukkan bahwa vitamin D mungkin berperan dalam memodifikasi bahaya DM.¹³ Vitamin D berperan dalam memperbaiki fungsi sel β pankreas, kerja insulin dan inflamasi sistemik di DM tipe 2, selain fungsi utamanya dalam mengatur kalsium dan metabolisme fosfat homeostasis

terhenti.^{12,14} Calle, *et al* berdasarkan telitiannya mendapatkan bahwa pemberian vitamin D dapat menormalkan jumlah reseptor insulin di adiposit di tikus DM tanpa mengubah afinitas reseptor, tetapi dengan peningkatan respons insulin dalam hal pengangkutan glukosa.¹⁵ Kajian terbaru oleh Anwar, *et al*¹⁶ menyatakan bahwa pemberian *cholecalciferol* dapat menurunkan kadar glukosa darah dan meningkatkan kadar insulin darah di model tikus DM tipe 2.¹⁶

Namun, mekanisme dan dosis yang tepat vitamin D yang dapat meningkatkan kepekaan insulin di jaringan sasaran perifer masih belum jelas dan memerlukan penyelidikan lebih lanjut, sehingga dapat mendukung pengetahuan peran vitamin D pada pencegahan DM.^{17,18} Kajian yang telah ada menunjukkan peran vitamin D dalam mengendalikan glukosa darah, tetapi belum ada penelitian yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh vitamin D terhadap histopatologik jaringan adiposa khususnya yang terkait ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan maupun viseral. Diharapkan dengan penelitian ini dapat diketahui penjelasan hal mencegah kemajuan penyakit dan menurunkan kegawatdaruratan yang ditimbulkan oleh komplikasi yang ditimbulkan DM.

METODE

Bahan penelitian meliputi vitamin D (*Cholecalciferol*, *Sigma C9756*), *Streptozotosin* (*Sigma*), diet tinggi lemak (lemak 22,8%), antibodi GLUT 4 R271 (*Bioworld*, *BS3680*), ketamin HCl dengan dosis 44–60 mg/kgBB, dapar bebas formalin, bahan untuk pembuatan sediaan histologis adiposa dengan metode *paraffin*, perangkat imunohistokimia (*Dako LSAB2 System-HRP*), pelarut antibodi (*Dako S3022*), *Haematoxylin Meyer*. Waktu penelitian adalah antara bulan April–November 2013. Tempat penelitian di Unit Hewan Coba Laboratorium Biokimia dan Laboratorium Departemen Anatomi dan Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, serta Lembaga Penyakit Tropik Kampus C Universitas Airlangga. Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post-test only control group design*. Populasi penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang seluruhnya galur Wistar, diperoleh dari Unit Hewan Coba Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, sedangkan sampel penelitian adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur Wistar dengan patokan kesertaan, yaitu: berjenis kelamin jantan, berusia antara 8–10 minggu dengan berat badan 150–200 gram, sehat dan memiliki kadar glukosa darah puasa normal. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan metode *simple random sampling*. Variabel bebas adalah vitamin D yang diberikan dalam pelarut propilen glikol, dengan

volume pemberian mulai hari ke 21 sebanyak 1 mL/100 gram BB, lewat mulut setiap hari selama 14 hari. Variabel bergantung adalah Glukosa Darah Puasa (GDP) dan ekspresi GLUT 4. Glukosa darah puasa diukur pada akhir penelitian setelah hewan coba dipuasakan selama 12 jam. Ekspresi GLUT 4 adalah rerata jumlah adiposit subkutan dan viseral yang mengekspresikan GLUT 4, dihitung di 10 lapangan pandang menggunakan gratikulae dengan mikroskop cahaya perbesaran 400 kali.

Dua puluh delapan tikus putih jantan dewasa (*Rattus norvegicus*) galur Wistar diaklimatisasi selama tujuh (7) hari. Pengimbasan DM menggunakan metode gabungan antara pemberian diet tinggi lemak (lemak 22,8%) selama percobaan dan suntikan streptozotisin 35 mg/kgBB secara intraperitoneal pada hari ke 14. Tujuh hari setelah penyuntikan streptozotisin (STZ) semua tikus diperiksa GDP dengan mengambil darah tikus pengidap DM dari ekornya, bila GDP > 135 mg/Dl.^{19,20}

Tikus pengidap DM dibagi menjadi empat (4) kelompok, yaitu satu kelompok pembanding dan tiga yang diberi perlakuan. Kelompok pembanding yaitu tikus pengidap DM yang diberi propilen glikol dengan volume pemberian satu (1) mL/100 gram BB. Kelompok perlakuan adalah tikus pengidap DM yang diberi vitamin D, yaitu kelompok X₁ diberi dosis 6,25 µg/kgBB dengan kepekatan 0,625 µg/mL, X₂ dosis 12,5 µg/kgBB dengan kepekatan 1,25 µg/mL dan yang X₃ dosis 25 µg/kgBB berkepekatan 2,5 µg/mL. Vitamin D diberikan dalam pelarut propilen glikol, dengan volume pemberian 1 mL/100 gram BB, lewat mulut mulai hari ke 21 setiap hari selama 14 hari. Dua puluh empat jam setelah perlakuan terakhir hewan coba dipuasakan selama 12 jam kemudian diukur GDP dengan mengambil darah ekornya. Tikus dianestesi menggunakan ketamin HCl dengan dosis 44-60 mg/kgBB i.m. dan dikorbkan dengan cara dekapitasi.²¹ Jaringan adiposa subkutan diambil dari irisan dinding perut dengan ukuran 1x1 cm hingga lapisan subkutan dan jaringan adiposa viseral diambil dari lemak epididimis. Jaringan kemudian difiksasi

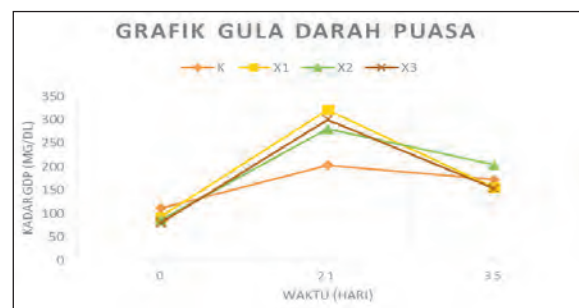
dengan larutan dapar bebas formalin, untuk diproses menjadi sediaan histologis dengan pewarnaan imunohistokimia. Data ekspresi GLUT 4 yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA satu arah dan uji T berpasangan ($\alpha = 0,05$ dan dianggap bermakna bila $p < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rerata dan hasil uji ANOVA satu arah GDP, ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan dan viseral dapat dilihat di Tabel 1.

Hasil uji ANOVA satu arah variabel GDP awal, saat DM dan akhir penelitian antar kelompok menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna meski semuanya mengalami penurunan bila dibandingkan sebelum dan sesudah perlakuan (Tabel 1, Gambar 1). Hasil uji ANOVA satu arah variabel ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok ($p < 0,05$) yaitu antara pembanding (P) dengan yang diberi perlakuan (X₁, X₂ dan X₃). Sedangkan ekspresi GLUT 4 di adiposit viseral tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$) (Tabel 1).

Hasil uji beda ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan dan yang di adiposit viseral masing-masing kelompok dengan menggunakan uji T berpasangan menunjukkan



Gambar 1. Grafik glukosa darah puasa awal penelitian, saat DM dan akhir penelitian

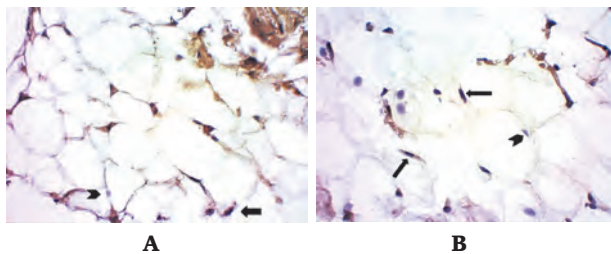
Tabel 1. Rerata dan hasil uji ANOVA satu arah GDP dan ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan dan viseral

Variabel	P	X ₁	X ₂	X ₃	P
GDP awal	112,00 ± 10,99	92,80 ± 23,45	85,20 ± 21,43	80,60 ± 13,28	0,105
GDP saat DM	203,25 ± 109,53	321,00 ± 154,34	279,80 ± 123,55	300,40 ± 183,77	0,675
GDP akhir	172,00 ± 6,38	155,40 ± 35,97	203,60 ± 58,96	153,40 ± 31,03	0,199
Ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan	7,45 ± 1,18	10,98 ± 2,14	12,12 ± 2,75	12,50 ± 3,08	0,035*
Ekspresi GLUT 4 di adiposit viseral	7,10 ± 0,55	8,36 ± 1,66	8,86 ± 1,48	8,62 ± 1,47	0,300

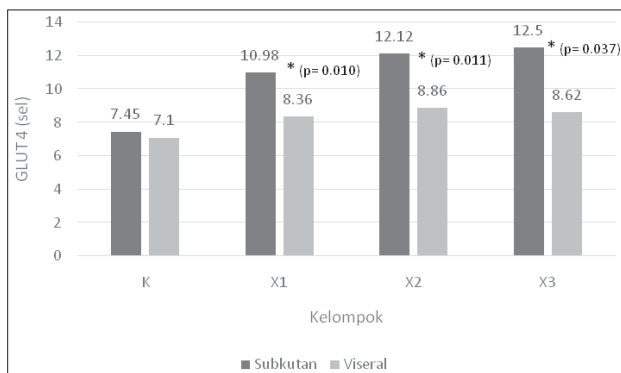
*bermakna bila $p < 0,05$.

perbedaan yang bermakna antara ekspresi GLUT 4 –nya untuk semua kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan lebih banyak dibandingkan dengan yang di adiposit visceral (lihat Gambar 2, Gambar 3).

Pengimbasan diabetes di hewan coba dengan menggunakan gabungan diet tinggi lemak dan suntikan STZ dosis rendah menyerupai dengan perkembangan penyakit DM tipe 2, yaitu berawal dengan resisten insulin kemudian diikuti dengan gangguan fungsi sel β *pancreas*. Diet tinggi lemak digunakan untuk memicu resisten insulin terjadi, yaitu hal yang merupakan salah satu gambaran khas DM tipe 2. Sedangkan STZ berdosisi rendah telah diketahui untuk mengimbas kerusakan ringan sekresi insulin yang serupa dengan gambaran DM tipe 2 tahapan lanjut.^{24,25} Streptozotisin menyebabkan fragmentasi DNA dan kerusakan terkait DNA lainnya melalui alkilasi DNA, pembentukan oksida nitrat dan *Reactive Oxygen Species* (ROS).²⁶ Diet tinggi lemak menyebabkan penurunan respons insulin dalam pengangkutan glukosa ke adiposit secara *in vitro* dan menghambat siklus reseptor insulin jaringan terkait adiposit di tikus.^{27,28} Diet tinggi lemak menyebabkan



Gambar 3. Gambaran histologik jaringan adiposa, imunohistokimia, perbesaran 400X A. Jaringan adiposa subkutan, B. Jaringan adiposa visceral. Tanda panah: adiposit yang mengekspresikan GLUT 4 dan tanda anak panah menampakkan yang tidak



Gambar 2. Grafik perbandingan ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan dan visceral

resistensi insulin di adiposit akibat deplesi angkutan glukosa intrasel.⁸

Glukosa darah puasa pada awal penelitian dan saat DM tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna. Hasil uji statistik di atas menunjukkan bahwa kondisi semua hewan coba sebelum perlakuan adalah sama, sehingga memenuhi persyaratan penelitian percobaan. Glukosa darah puasa awal penelitian menunjukkan bahwa semua hewan coba tidak dalam kondisi hiperglikemi. Sedangkan GDP pada saat DM yang tinggi menunjukkan bahwa imbasan DM yang dilakukan sudah tepat.

Glukosa darah puasa akhir penelitian tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna meskipun GDP akhir penelitian yang paling rendah didapatkan di kelompok perlakuan dengan dosis paling tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian *cholecalciferol* tidak dapat mengimbangi keparahan penyakit. Hasil tersebut sesuai dengan telitian sebelumnya, bahwa pemberian vitamin D tidak berpengaruh terhadap homeostasis glukosa terhenti di pasien DM yang tidak terawasi.²⁹ Breslavsky, *et al*³⁰ melaporkan bahwa pemberian *cholecalciferol* berdosisi tinggi bagi pasien DM tipe 2 tidak berkaitan dengan perbaikan homeostasis terkait glukosa terhenti, tetapi berkaitan dengan kadar adiponektin plasma.³⁰ Di samping itu, keberadaan perbedaan lintas jalur pemberian vitamin D dapat mempengaruhi vitamin D di dalam memperbaiki kadar glukosa darah. Hal ini didukung oleh Calle *et al*¹⁵ yang melaporkan bahwa dengan pemberian 1,25 dihydroxyvitamin D3 3,75 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$ secara intraperitoneal selama 15 hari belum dapat memperbaiki hiperglikemi, hipoinsulinemia, glikosuria di tikus pengidap DM yang diimbas dengan STZ.¹⁵ Sedangkan telitian lain oleh Anwar, *et al*¹⁶ menunjukkan bahwa pemberian *cholecalciferol* 10 ng/100g (0,1 $\mu\text{g}/\text{kgBB}$) lewat subkutan selama enam (6) hari dapat menurunkan GDP sebesar 26,31% di tikus pengidap DM.¹⁶ Pemberian *cholecalciferol* pada penelitian ini dilakukan lewat mulut, karena disesuaikan dengan penerapannya di pasien nantinya. Penggunaan lewat mulut, merupakan cara yang paling umum digunakan dalam pemberian obat. *Cholecalciferol* yang diberikan lewat mulut, akan mengalami penyerapan dan metabolisme di hati dan ginjal terlebih dahulu sebelum disebarkan ke seluruh tubuh. Sedangkan pada pemberian lewat subkutan, *cholecalciferol* dapat secara langsung mencapai peredaran darah dan diaktifkan di jaringan tersebut, dalam hal ini jaringan adiposa juga mengekspresikan 1α hidrosilase.^{31,32}

Pemberian *cholecalciferol* dapat meningkatkan ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan, yang terdapat kecenderungan peningkatannya sesuai dengan kenaikan dosis meskipun antar dosis tidak berbeda

secara bermakna. Hal ini sesuai dengan Manna & Jain³³ dalam telitiannya, yang menemukan bahwa vitamin D dapat meningkatkan translokasi GLUT 4 dan penggunaan glukosa di adiposit di *in vitro* melalui aktivasi *cystathionine-γ-lyase* (CSE) dan pembentukan H₂S.³³ Vitamin D secara langsung dapat meningkatkan ekspresi reseptor insulin di jaringan sasaran perifer, sehingga meningkatkan respons insulin terhadap pengangkutan glukosa.³⁴ Vitamin D bekerja secara tidak langsung dalam pengaturan kalsium ekstrasel dan menjaga banyak masuknya kalsium yang normal melewati membran plasma. Kalsium intrasel dengan rentang yang sangat sempit diperlukan untuk proses terkait intraseluler yang diperantarai oleh insulin di jaringan sasaran insulin seperti otot lurik dan jaringan adiposa. Perubahan kalsium intrasel di jaringan sasaran insulin dapat menyebabkan gangguan isyarat transduksi insulin, sehingga menurunkan aktivitas GLUT4.¹³

Peningkatan ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan tikus pengidap diabetes setelah pemberian *cholecalciferol* tidak diikuti dengan penurunan GDP. Hal ini diduga karena respons GLUT 4 terhadap insulin di jaringan adiposa lebih besar bila dibandingkan dengan di jaringan otot.³⁵ Di samping itu, jaringan adiposa hanya mengambil fraksi kecil dari jumlah keseluruhan ambilan glukosa tubuh. Namun, hal itu meningkat sesuai kenaikan kadar insulin, begitu juga dalam peranannya sebagai tempat utama penyimpanan cadangan tenaga berupa trigliserida bukan glukosa, yang sebagian besar disimpan di dalam otot.^{36,37}

Telitian terbaru membuktikan bahwa *cholecalciferol* dapat memperbaiki gangguan metabolisme hati tikus pengidap penyakit diabetes yang diimbas dengan STZ melalui pengaturan pengambilan, penyimpanan dan metabolisme glukosa. *Cholecalciferol* mengatur reseptor vitamin D, sehingga meningkatkan transduksi isyarat dan mengendalikan radikal bebas di tikus pengidap penyakit diabetes.³⁸ Telitian lain menunjukkan bahwa *calcitriol* dapat berperan dalam pengobatan dan pencegahan toksisitas di hati, pankreas dan ginjal tikus pengidap diabetes yang diimbas dengan *alloxan*.³⁹ Namun, belum ada kajian yang membuktikan pengaruh *cholecalciferol* dalam memperbaiki gangguan metabolisme di hati tikus pengidap DM yang diimbas dengan gabungan diet tinggi lemak dan STZ. Tannenbaum, *et al*⁴⁰ melaporkan bahwa diet tinggi lemak dapat menurunkan ambilan glukosa di otot lurik dan jaringan adiposa, menurunkan jumlah reseptor insulin di hati, otot lurik dan jaringan adiposa, menurunkan glikolisis dan pembuatan glikogen di hati.⁴⁰ Diet tinggi lemak mengubah aktivitas *hypothalamus*-hipofisis-adrenal di tikus, sehingga meningkatkan hasil glukokortikoid adrenal. Peningkatan glukokortikoid adrenal berpengaruh

berlawanan terhadap insulin, mengakibatkan ketidakpekaan insulin dan penurunan ambilan glukosa di jaringan.⁴⁰ Oleh karena itu, dalam penelitian ini, ditemukan bahwa *cholecalciferol* tidak dapat menurunkan kadar GDP secara bermakna meskipun ekspresi GLUT 4 di adiposit meningkat. *Cholecalciferol* diduga tidak dapat menghambat hasil glukosa dan meningkatkan pembuatan glikogen di dalam hati, hal yang diperparah dengan keberadaan pengaruh berlawanan glukokortikoid terhadap insulin. Namun sayang kadar insulin plasma pada penelitian ini, tidak diukur.

Pemberian *cholecalciferol* tidak dapat meningkatkan ekspresi GLUT 4 di adiposit viseral diduga karena ada peningkatan glukokortikoid akibat diet tinggi lemak yang menyebabkan gangguan transduksi isyarat insulin dan pengangkutan glukosa. Hal ini didukung oleh telitian oleh Buren, *et al*⁴¹ yang mendapatkan bahwa glukokortikoid dapat menghambat pengambilan glukosa basal maupun yang dipicu oleh insulin di adiposit viseral secara *in vitro*. Glukokortikoid berpeluang kuat menghambat ambilan glukosa di satu atau lebih tingkat di jalur transduksi pengangkutan glukosa yang dipicu insulin. Glukokortikoid dapat menurunkan reseptor substrat-1 (IRS-1) insulin, protein kinase B (PKB) dan *phosphatidil inositol 3 kinase* (PI3K).⁴¹ Penurunan ketiga zat tersebut akan menghambat kerja insulin di dalam pengangkutan: glukosa, glikogen sintase dan translokasi glukosa.^{41,42} Oleh karena itu, *cholecalciferol* tidak dapat meningkatkan ekspresi GLUT 4 di adiposit viseral.

Ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan dan viseral di kelompok pembanding tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna, meskipun ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan lebih tinggi dibandingkan di adiposit viseral. Hal ini menunjukkan bahwa imbasan DM yang digunakan memiliki pengaruh yang sama terhadap ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan dan viseral.

Ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan dan visceral di semua kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna, yaitu ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan lebih banyak dibandingkan dengan di adiposit viseral. Hal ini diduga karena ada hambatan transduksi isyarat insulin di adiposit viseral lebih besar dibandingkan dengan yang adiposit subkutan. Hambatan transduksi isyarat insulin tersebut karena terdapat peningkatan glukokortikoid sebagai akibat diet tinggi lemak. Hasil tersebut didukung oleh telitian sebelumnya, yaitu adiposit viseral lebih peka terhadap pengaruh glukokortikoid dalam menghambat ambilan glukosa basal dan yang dipicu oleh insulin berkaitan dengan penurunan ekspresi IRS-1 dan PKB.²³ Di samping itu, ekspresi enzim yang mengaktifkan glukokortikoid lebih tinggi daripada di jaringan adiposa viseral dibandingkan dengan yang subkutan.⁴² Oleh

karena itu, *cholecalciferol* tidak dapat meningkatkan ekspresi GLUT 4 di adiposit visceral.

SIMPULAN DAN SARAN

Didasari hasil meneliti ini dapat disimpulkan, bahwa pemberian *cholecalciferol* hanya dapat meningkatkan ekspresi GLUT 4 di adiposit subkutan, tetapi tidak di yang visceral di tikus pengidap DM. Para peneliti ini berpendapat bahwa hal tersebut perlu diteliti lebih lanjut dengan menggunakan sampel yang lebih besar mengenai mekanisme vitamin D dalam meningkatkan aktivitas GLUT 4 di jaringan sasaran insulin di kondisi DM, dengan menggunakan dosis vitamin D yang lebih besar, lama waktu dan cara pemberian yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

1. Laakso M. Epidemiology of Type 2 Diabetes di dalam Type 2 Diabetes: Principles and Practice. 2nd Ed., Editor: Barry J. Goldstein, Dirk Müller-Wieland. New York, Informa Healthcare USA, Inc. 2008; 1–13.
2. Maitra A. & Abbas A.K. Robbins & Cotran Dasar Patologis Penyakit. Ed 7., Alih bahasa: dr. Brahm U. Pendit. Editor: dr. Luqman Yanuar Rachman, dr. Frans Dany, dr. Leo Rendy, Jakarta, EGC, 2010; 1214–1216.
3. World Health Organization (WHO), The 10 leading causes of death by broad income group (2008), 2011, www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/index.html (Diunduh pada 22 Februari 2013).
4. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*, 2011; 94:311–321.
5. Powers AC. Harrison's principles internal medicine. 18th Ed., Vol. 2, Editor: Dan L. Longo, Dennis L. Kasper, J. Larry Jameson, Anthony S. Fauci, Stephen L. Hauser, Joseph Loscalzo, United States of America, The Mc Graw Hill Companies, Inc. 2012; 2968–75.
6. Miyazaki Y, Glass L, Triplitt C, Wajsborg E, Mandarino LJ, & De Fronzo R. Abdominal fat distribution and peripheral and hepatic insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab.*, 2002; 283: E1135–E1143.
7. Frayn KN. Visceral fat and insulin resistance – causative or correlative? *British Journal of Nutrition*, 2000; 83 (1): S71–S77
8. Karnieli E, Hissin PJ, Simpson IA, Salans LB, & Chusman SM. A possible mechanism of insulin resistance in the rat adipose cell in streptozotocin-induced. *The journal of clinical investigation*, 1981; 68 (3): 811–814.
9. Huang S, & Czech MP The GLUT 4 glucose transporter. *Journal of cell metabolism*, 2007; 5 (4): 237–252.
10. Thorens B, & Mueckler M. Glucose transporter in the 21st century. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010; 298: E141–E145.
11. Giacchetti G, Faloia E, Taccaliti A, Morosini PP, Arnaldi G, Soletti F, Mantero F, Accili D, De Pirro R. Decreased expression of insulin-sensitive glucose transporter mRNA (GLUT-4) in adipose tissue of non-insulin-dependent diabetic and obese patients: evaluation by a simplified quantitative PCR assay. *J Endocrinol Invest.*, 1994; 17 (9): 709–15.
12. Pittas AG, & Hughes BD. Vitamin D and Diabetes. *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*, 2010; 121 (1-2): 425–429
13. Pittas AG, Lau J, Hu FB and Hughes BD. The Role of Vitamin D and Calcium in Type 2 Diabetes. A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007; 92 (6): 2017–2029.
14. Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. Harper's Illustrated Biochemistry, 28th Ed., China, The McGraw-Hill Companies, Inc, 2009; 935–938.
15. Calle C, Maestro B, & Arencibia MG. Genomic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on insulin receptor gene expression, insulin receptor number and insulin activity in the kidney, liver and adipose tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Molecular Biology*, 2008; 9: 65.
16. Anwar MK, Hussain MH, Khan MA, Ahmad T. Effect of cholecalciferol and levo carnitine on plasma glucose, plasma insulin and insulin resistance in type 2 diabetic rats. *J Pak Med Assoc*, 2013; 63 (3): 374–9.
17. Danescu LG, Levy S, & Levy J. Vitamin D and diabetes mellitus. *Endocr*, 2009; 35: 11–17.
18. Seshadri KG, Tamilselvan B, & Rajendran A. Role of vitamin D in Diabetes. *J Endocrinol Metab*, 2011; 1 (2): 47–56.
19. Etuk EU. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric. Biol. J. N. Am*, 2010; 1 (2): 130–134.
20. Jiu WSY. Estimation of the normal range of blood glucose in rats, 2010, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20459020> (Diunduh pada 10 April 2013).
21. Smith JB, & Mankowidjojo S. Pemeliharaan, pembiakan dan penggunaan hewan percobaan di daerah tropis, Jakarta, UI Press, 1988; 37–57.
22. Santos RD, & Vianna LM. Effect of cholecalciferol supplementation on blood glucose in an experimental model of type 2 diabetes mellitus in spontaneously hypertensive rats and Wistar rats. *Clinica Chimica Acta*, 2005; 358 (1–2): 146–150.
23. Lundgren M, Buren J, Ruge T, Myrnas T, & Eriksson J.W. Glucocorticoids down-regulate glucose uptake capacity and insulin-signaling proteins in omental but not subcutaneous human adipocytes. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2004; 89 (6): 2989–2997.
24. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high fat diet and low dose streptozotocin treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. *Pharmacological research*. 2005; 52: 313–320.
25. Zhang M, Yan Lv X, Li J, Gang Xu Z, Chen L. The characterization of high-fat diet and multiple low-dose streptozotocin induced type 2 diabetes rat model. *Experimental Diabetes Research*, 2008; 2008: 1–9.
26. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol. Res.*, 2001; 50: 536–546.
27. Begum N, Teppermen HM, Teppermen J. Insulin-induced internalization and replacement of insulin receptor in adipocytes of rats adapted to fat feeding. *Diabetes*, 1985; 34: 1272–1277.
28. Hunnicutt JW, Hardy RW, Williford J, McDonald JM. Saturated fatty acid-induced insulin resistance in rat adipocytes. *Diabetes*, 1994; 43: 540–545.
29. Orwoll E, Riddle M, Pince M. Effects of vitamin D on insulin and glucagon secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 1994; 59 (5): 1083–7.
30. Breslavsky A, Frand J, Matas Z, Boaz M, Barnea Z, Shargorodsky M. Effect of high doses of vitamin D on arterial properties, adiponectin, leptin and glucose homeostasis in type 2 diabetic patients. *Clinical Nutrition*, 2013; 32: 970–975.
31. Bland R, Markovic D, Hills CE, Hughes SV, Chan SL, Squires PE, Hewison M. Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1-hydroxylase in pancreatic islets. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2004; 89-90 (1-5): 121–125.

32. Li J, Byrne ME, Chang E, Jiang Y, Donkin SS, Buhman KK, Burgess JR, Teegarden D. 1α , 25-dihydroxyvitamin D Hydroxylase in Adipocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2008; 112 (1-3): 122–126.
33. Manna P & Jain SK. Vitamin D upregulates glucose transporter 4 (GLUT 4) translocation and glucose utilization mediated by cystathionine- γ -lyase (CSE) activation and H₂S formation in 3T3L1 adipocytes. *J Biol Chem*, 2012; 287 (50): 42324–32.
34. Sung CC, Liao MT, Lu KC, Wu CC. Role of Vitamin D in Insulin Resistance. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012; 2012: 1–11.
35. Gould GW, & Holman GD. The glucose transporter family: structure, function and tissue-specific expression. *Biochem. J*, 1993; 295 (Pt2): 329–341.
36. James DE, Burleigh KM, Kraegen EW. Time dependence of insulin action in muscle and adipose tissue in the rat in vivo an increasing response in adipose tissue with time. *Diabetes*, 1985; 34 (10): 1049–54.
37. George N, Kumar TP, Antony S, Jayanarayanan S, Paulose CS. Effect of vitamin D3 in reducing metabolic and oxidative stress in the liver of streptozotocin-induced diabetic rats. *British Journal of Nutrition*, 2012; 108 (8): 1410–18.
38. Hamden K, Carreau S, Jamoussi K, Miladi S, Lajmi S, Aloulou D, Ayadi F, Alfeki A. 1α , 25 dyhydroxvitamin D3: Therapeutic and preventif effects against oxidative stress, hepatic, pancreatic, and renal injury in alloxan induced diabetes in rats. *J Nutr Sci Vitaminol.*, 2009; 55 (3): 215–222.
39. Tannenbaum BM, Brindley DN, Tannenbaum GS, Dallman MF, McArthurMD, Meaney MJ. High fat feeding alters both basal and stress induced hypothalamic pituitary adrenal activity in the rat. *Am J Physiol.*, 1997; 273 (6 Pt 1): E1168–E1177.
40. Buren J, Liu HX, Jensen J, Eriksson WJ. Dexamethason impairs insulin signaling and glucose transport by depletion of insulin receptor substrate-1, phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B in primary cultured rat adipocytes. *European Journal of Endocrinology*, 2002; 146 (3): 419–429.
41. Smith U, Carvalho E, Mosialou E, Beguinot F, Formisano P, Rondinone C. PKB inhibition prevents the stimulatory effect of insulin in glucose transport and protein translocation but not the antilipolytic effect in rat adipocyte. *Biochemical and biophysical research communication*, 2000; 268 (2): 315–320.
42. Perrini S, Leonardini A, Laviola L, Giorgino, F Biological specificity of visceral adipose tissue and therapeutic intervention. *Archives of Physiology and Biochemistry*, 2008; 114 (4): 277–286.