

PENGEMBANGAN MODEL HEWAN PERCOBAAN TIKUS DIABETES MELLITUS TIPE 2 KARENA RESISTENSI INSULIN YANG DIINDUKSI DENGAN *HUMAN INSULIN* JANGKA PANJANG

Yance Anas¹⁾, Ria Rositasati¹⁾, Meita Rafika Fitriani¹⁾, Suharjono²⁾

¹⁾ Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

²⁾ Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

INTISARI

Hiperinsulinemia sering mengawali terjadinya resistensi insulin pada pasien DM tipe 2. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan perlakuan human insulin jangka panjang dalam menginduksi terjadinya hiperglikemik dan resistensi insulin pada tikus jantan galur Wistar. Sebelum percobaan, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah 2 jam setelah pembebanan glukosa 2 g/KgBB. Human insulin (0,45 – 1,80) IU/KgBB/hari diberikan pada tikus secara subkutan setiap hari selama 14 hari. Selanjutnya, human insulin 1,8 IU/KgBB/hari juga diberikan dalam jangka waktu 7, 14 dan 21 hari. Pada akhir percobaan, kembali dilakukan pengukuran kadar glukosa darah 2 jam setelah pembebanan glukosa. Pengaruh perlakuan human insulin jangka panjang terhadap kadar glukosa darah post prandial ditentukan dengan membandingkan data kadar glukosa darah sebelum dan setelah perlakuan secara statistik. Resistensi insulin ditetapkan dengan membandingkan efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB dengan kelompok kontrol. Hasil penelitian menyimpulkan bahwa perlakuan human insulin dosis 1,80 IU/KgBB/hari selama 14 hari mampu meningkatkan kadar glukosa darah tikus jantan galur Wistar sampai pada 126,369 mg/dL ($p < 0,05$) dengan pola tidak tergantung lama waktu pemberian. Rata-rata % efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB pada tikus yang mendapatkan perlakuan dengan human insulin 1,80 IU/KgBB/hari adalah sebesar 18,31%, lebih kecil bila dibandingkan kontrol (62,20%) ($p < 0,05$).

Kata Kunci : *Human insulin*, resistensi insulin, model hewan percobaan DM tipe 2

ABSTRACT

Hyperinsulinemia may precede insulin resistance in patients with Type 2 diabetes. In this study, we tried to reveal an influence of long-term treatment of human insulin to hyperglycemic and insulin resistance in male Wistar rats. Before the experiment, blood-glucose levels measured two hours after 2 g/Kg glucose imposition. Rats receive human insulin (0.45-1.80) IU/KgBW/day subcutaneously every day for 14 days. Furthermore, human insulin 1.8 IU/KgBW/day also provide a period of 7, 14 and 21 days. At the end of the experiment, we made measurements of blood-glucose level two hours after the imposition glucose. There are, the influence of long-term treatment of human insulin determined by comparing the blood-glucose levels before and after insulin treatment. Insulin resistance is determined by comparing the hypoglycemic effect of glibenclamide 10 mg/Kg BW to the control group. The results concluded that the human insulin 1.80 IU/KgBW/day treatment for 14 days can improve blood-glucose level's Wistar male rats up to 126.369 mg/dL ($p < 0.05$) with patterns does not depend on the length of time of administration. The average of % hypoglycemic effect of glibenclamide 10 mg/kg BW in rats who received treatment with human insulin 1.80 IU/kg BW/day were at 18,31%, smaller than controls (62.20%) ($p < 0.05$). Decrease in hypoglycemic effects of glibenclamide 10 mg/kg BW caused by mice has insulin resistance might be due to a result of long-term insulin administration.

Keywords : *Human insulin*, insulin resistance, Type 2 diabetes animal models

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit yang menjadi penyebab kematian nomor empat di dunia (Akinchi *et al.*, 2008).

Kongres Federasi Diabetes Internasional (IDF) di Paris menyebutkan bahwa pada tahun 2003 terdapat sekitar 194 juta orang di dunia yang telah mengidap DM. Angka kejadian DM pada

orang dewasa pada tahun 2010 adalah sebanyak 285 juta orang. Angka kejadian ini diperkirakan akan terus melonjak. Pada tahun 2030, diperkirakan angka kejadian DM pada orang dewasa (usia 20 -79 tahun) mencapai 439 juta. Persentase peningkatan ini mencapai 69% pada masyarakat di negara berkembang dan 20 % di negara maju (Shaw *et al.*, 2010). Di Indonesia, penyakit ini telah diderita oleh lebih dari 2,5 juta orang, dan angka kejadiannya diperkirakan akan terus bertambah.

Sebagian besar jenis DM yang diderita oleh orang di seluruh dunia adalah DM tipe 2. Penyebab utama dari DM tipe 2 adalah gangguan metabolik yang ditandai dengan terjadinya resistensi reseptor insulin dan berkurangnya kemampuan sel β -pankreas dalam mensekresikan insulin. Patofisiologi DM tipe 2 ditandai dengan terjadinya resistensi insulin pada jaringan tubuh dan atau adanya gangguan / abnormalitas sekresi insulin dari sel β pulau langerhans pankreas (Thevenod, 2008). Berbagai laporan penelitian menyimpulkan bahwa resistensi insulin mengawali perkembangan keadaan hiperglikemik pada orang-orang yang mengalami DM tipe 2 (Abdul-Ghani dan DeFronzo, 2010; Choi dan Kim, 2010).

Tingginya kadar glukosa darah pada penderita DM tipe 2 lebih sering disebabkan karena terjadinya resistensi insulin pada jaringan perifer, sehingga kebanyakan glukosa gagal dibawa masuk ke dalam sel (Thevenod, 2008). Metodologi penelitian aktivitas antidiabetes yang berhubungan dengan resistensi insulin relatif masih sedikit. Pesatnya perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang biologi molekuler telah memungkinkan dikembangkan berbagai metodologi uji aktivitas antidiabetes berdasarkan patofisiologi resistensi insulin, diantaranya menggunakan hewan percobaan khusus yang telah dimanipulasi secara genetik. Metode tersebut diantaranya adalah menggunakan metode *spontaneous diabetic rats* dengan menggunakan tikus *biobreding* (BB), *WBN/KOB rats*, *Goto-Kakizaki rats* yang merupakan tikus non-obesitas yang mengalami resistensi insulin (Srinivasan dan Ramarao, 2007). Akan tetapi, metode ini belum dapat diterapkan di seluruh dunia, terutama di Indonesia yang dikarenakan ketersediaan hewan uji ini masih jarang dan memiliki metode yang sulit untuk dikembangkan.

Metode uji aktivitas antidiabetes tipe 2 berdasarkan resistensi insulin yang lebih sederhana adalah dengan menggunakan model tikus *Wistar Fatty Rats* (WFR). Tikus WFR dikembangkan dengan cara pemberian asupan glukosa/sukrosa dan pakan tinggi kalori dalam waktu jangka panjang. Asupan glukosa jangka panjang akan meningkatkan respon tubuh dalam mensekresikan insulin sehingga terjadi kondisi hiperinsulinemia dalam jangka waktu yang relatif lama. Pada keadaan ini, kadar glukosa darah cenderung berada dalam rentang normal, sementara itu jumlah reseptor insulin dan sensitifitas jaringan terhadap insulin relatif berkurang, sehingga akan terjadi resistensi insulin yang semakin memburuk dan tingginya kadar glukosa darah yang memicu DM (Abdul-Ghani dan DeFronzo, 2010). Berdasarkan patofisiologi dan metode Tikus WFR, muncul suatu pertanyaan mengenai hubungan penggunaan insulin jangka panjang dengan terjadinya resistensi insulin yang mengakibatkan terjadinya DM secara *in vivo*. Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan untuk pengembangan metode baru dalam membuat model hewan percobaan diabetes mellitus tipe 2 yang mengalami resistensi insulin karena pemberian insulin eksogen jangka panjang. Secara khusus, penelitian ini mencoba membuktikan kemampuan insulin yang diberikan dalam jangka panjang untuk menginduksi terjadinya peningkatan kadar glukosa darah dan resistensi insulin pada tikus jantan galur Wistar. Jika memenuhi berbagai persyaratan sebagai model, metode tikus diabetes yang mengalami resistensi insulin karena pemberian insulin jangka panjang ini diprediksi akan lebih banyak digunakan dalam penelitian pengujian calon obat baru untuk antidiabetes tipe 2. Prediksi ini menjadi logis disebabkan karena kemampuan model ini yang lebih cepat dalam menginduksi terjadinya resistensi insulin dari metode hewan percobaan diabetes mellitus tipe 2 lainnya.

METODE PENELITIAN

Rancangan dan variabel Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan *randomized matched two group pretest-posttest design* (rancangan eksperimental ulang). Kelompok perlakuan terdiri dari kelompok tikus yang diberikan perlakuan *human insulin*

dengan variasi dosis dan lama perlakuan serta kelompok kontrol. Untuk mengukur terjadinya peningkatan kadar glukosa darah, pengambilan sampel dan pemeriksaan kadar glukosa darah pada masing-masing tikus dilakukan sebelum dan setelah perlakuan *human insulin* dengan variasi dosis dan lama perlakuan. Terjadinya resistensi insulin diukur berdasarkan lebih rendahnya % efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB pada kelompok perlakuan *human insulin* dibandingkan dengan kelompok kontrol pada akhir percobaan. Penelitian dilaksanakan di laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Universitas Wahid Hasyim Semarang pada bulan Agustus – November 2011.

Bahan dan Alat Penelitian

Hewan uji yang digunakan adalah tikus jantan galur wistar (diperoleh dari Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang) usia 2-3 bulan, dengan berat badan 200 – 250 g. Tikus dipelihara dalam kondisi laboratorium dengan pemberian pakan standar BR2 dan minum akuades *ad libitum* dengan pengaturan cahaya terang-gelap (12:12) jam.

Human insulin yang digunakan adalah insulin kerja panjang (Lantus®/*Insulin glargine*) yang dibeli dari Apotek Kimia Farma di kota Semarang. Bahan kimia lain yang digunakan adalah glukosa anhidrat (*Pharmaceutical grade* PT. Brataco Chemical, Semarang), reagen GOD-PAP dari *Diagnostic Systems International* (Diasys), yang terdiri dari : (1) Monoreagen (dapar fosfat (pH 7,5) 250 mmol/L; fenol 5 mmol/L; 4-aminoantipirin 0,5 mmol/L; glukose oksidase >10 mmol/L; peroksidase >1 mmol/L) dan (2) larutan glukosa standar 100 mg/dL atau 5,55 mmol/L (Diasys). Berbagai peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat gelas, timbangan tikus (Acyss), spuit injeksi oral, tabung *eppendroph*, scalpel, vial, pipet volume (Pyrex), pipet mikro berbagai ukuran dan spektrofotometer UV-Vis (Genesys).

Jalannya Penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap. Penelitian tahap pertama dilakukan untuk mengamati pengaruh perlakuan *human insulin* dosis (0,45; 0,90 dan 1,80) IU/KgBB/hari selama 14 hari terhadap peningkatan kadar glukosa darah 2 jam setelah pemberian glukosa 2 g/KgBB pada tikus jantan

galur wistar. Dua puluh empat ekor tikus jantan dipilih secara acak, kemudian dibagi dalam tiga kelompok dosis *human insulin* (tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus) dan satu kelompok kontrol (6 ekor tikus). Sebelum perlakuan *human insulin*, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah 2 jam setelah pemberian asupan glukosa dosis 2 g/KgBB per oral pada masing-masing tikus kelompok perlakuan dan kelompok kontrol. Selanjutnya tiga peringkat dosis *human insulin* (0,45; 0,90 dan 1,8 IU/KgBB/hari) diinjeksikan pada tikus secara subkutan selama 14 hari, sedangkan kelompok kontrol diinjeksikan dengan akuabides 0,25 mL/200 g/hari secara subkutan selama 14 hari dengan tetap diberikan makanan dan minuman. Selanjutnya, tikus dibiarkan selama 3 hari. Pada hari ke-18 dilakukan pengukuran kadar glukosa darah 2 jam setelah pemberian asupan glukosa dosis 2 g/KgBB.

Penelitian tahap kedua dilakukan untuk mengamati pengaruh lama perlakuan *human insulin* terhadap peningkatan kadar glukosa darah 2 jam setelah pembebanan glukosa 2 g/KgBB pada tikus jantan galur Wistar. Selain itu, pada akhir penelitian ini dilakukan uji efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB untuk melihat terjadinya resistensi insulin. Sebanyak 36 ekor tikus dipilih secara acak dan dibagi kedalam tiga kelompok lama perlakuan (tiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus) dan tiga kelompok kontrol (tikus diperlakukan dengan pemberian akuabides dosis 0,25 mL/200 g secara subkutan). Dosis *human insulin* yang digunakan adalah 1,80 IU/KgBB/hari. Sebelum penelitian dimulai, dilakukan pengukuran kadar glukosa darah 2 jam setelah pemberian asupan glukosa dosis 2 g/KgBB per oral pada masing-masing tikus setiap kelompok lama perlakuan dan kontrol. *Human insulin* diinjeksikan pada masing-masing tikus secara subkutan selama 7, 14 dan 21 hari pada tiga kelompok lama perlakuan dengan tetap diberikan makanan dan minuman. Setelah perlakuan insulin selesai dilakukan, tikus dibiarkan selama 3 hari dan kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah 2 jam setelah pemberian asupan glukosa dosis 2 g/KgBB per oral. Hari ke-4 setelah perlakuan insulin jangka panjang dilakukan penetapan keadaan resistensi insulin. Parameter resistensi insulin adalah efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB kelompok perlakuan human

insulin lebih kecil dari pada kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Data penelitian

Data primer dalam penelitian ini adalah kadar glukosadarah (mg/dL) 2 jam setelah pemberian asupan glukosa dosis 2 g/KgBB tikus yang diukur sebelum dan setelah perlakuan *human insulin* jangka panjang, baik pada kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol. Selain itu, kadar glukosa darah pada penetapan efek hipoglikemik glibenklamid dosis 10 mg/KgBB juga merupakan data utama dalam penelitian ini. Kadar glukosa darah ditetapkan secara enzimatik dengan menggunakan metode GOD-PAP. Prinsip penetapan kadar glukosa dengan metode ini adalah terjadinya reaksi antara glukosa dengan reagen GOD-PAP yang menghasilkan senyawa kompleks berwarna kuinonimin yang dapat diukur dengan alat spektrofotometer visibel.

Sampel darah sebanyak 1,0 mL diambil dari vena lateralis ekor tikus dan ditampung dalam tabung *eppendroph* yang telah ditetesi dengan satu tetes larutan antikoagulan EDTA. Selanjutnya, sampel darah disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 3 menit. Serum diambil sebanyak 20,0 μ L dari sampel dan dicampur dengan 10 mL TCA. Campuran tersebut kemudian direaksikan secara enzimatik dengan 2,0 mL reagen GOD-PAP dan divortex selama ± 10 detik. Langkah selanjutnya adalah dilakukan inkubasi pada suhu 37 °C selama 105 menit dan serapan dibaca pada λ maksimal 505 nm.

Analisa Data

Data yang dikumpulkan untuk pengukuran kadar glukosa darah berupa data serapan yang terbaca pada spektrofotometri visibel. Kemudian nilai serapan ini diubah menjadi kadar glukosa darah (mg/dL) dengan menggunakan rumus: (Bhoja, 2009)

$$C = \frac{A}{A_{st}} \times 100 \text{ mg dL}$$

Keterangan :

- C = kadar glukosa darah (mg/dL)
 A_s = serapan larutan sampel darah
 A_{st} = serapan larutan glukosa standar

Data kadar glukosa darah yang ditampilkan merupakan rata-rata \pm SEM. Perhitungan % efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB dilakukan dengan membandingkan data kadar glukosa darah 2

jam setelah pembebanan glukosa 2 g/KgBB hari ke-3 setelah perlakuan insulin dengan kadar glukosa darah pada hari ke-4 (setelah pemberian glibenklamid).

$$\% \text{ Hipoglikemik Glibenklamid} = \left(\frac{P - Q}{P} \right) \times 100\%$$

Keterangan :

- P = kadar glukosa darah 2 jam setelah pembebanan glukosa 2 g/KgBB peroral pada hari ke-3 setelah perlakuan *human insulin*
 Q = kadar glukosa darah 2 jam setelah pembebanan glukosa 2 g/KgBB peroral pada uji hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB (hari ke-4 setelah perlakuan *human insulin*)

Analisa statistik yang digunakan untuk membandingkan kadar glukosa darah sebelum dan setelah perlakuan *human insulin* adalah uji t berpasangan dan uji Wilcoxon, dengan taraf kepercayaan 95%. Perbedaan efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB antara kelompok lama perlakuan *human insulin* dengan kelompok kontrol dianalisa dengan uji Kruskal-Wallis yang dilanjutkan dengan uji Mann-Whitney pada taraf kepercayaan 95%. Adanya perbedaan yang signifikan ditandai dengan nilai signifikansi ($p < 0,05$).

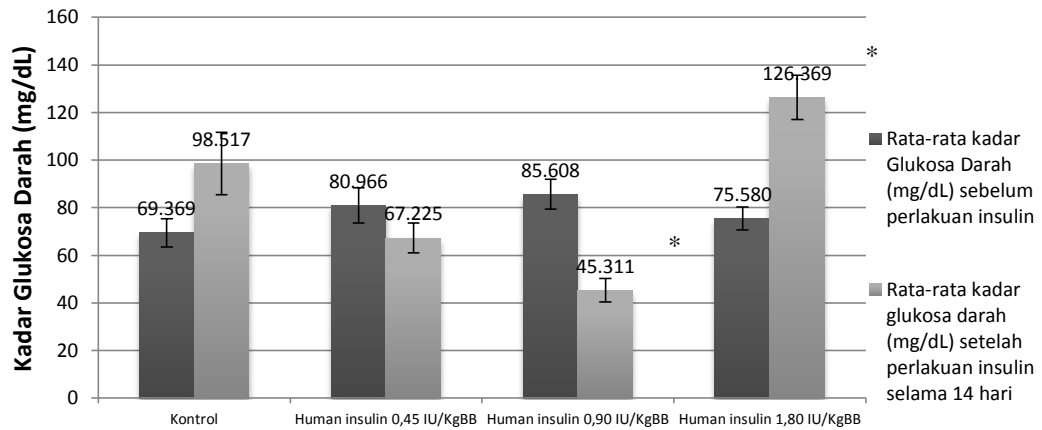
HASIL PENELITIAN

Pengaruh Perlakuan *Human Insulin* selama 14 Hari terhadap Kadar Glukosa Darah 2 Jam setelah Pembebanan Glukosa 2 g/Kg BB

Perbandingan rata-rata kadar glukosa darah sebelum dan setelah perlakuan dengan *human insulin* (0,45 – 1,80) IU/KgBB/hari selama 14 hari tersaji pada gambar 1. Penurunan rata-rata kadar glukosa darah kelompok perlakuan insulin 0,45 IU/KgBB tidak bermakna secara statistik ($p > 0,05$), sedangkan pada perlakuan *human insulin* 0,90 IU/KgBB/hari selama 14 hari menunjukkan penurunan rata-rata kadar glukosa darah yang signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan rata-rata kadar glukosa darah sebelum perlakuan.

Perlakuan *human insulin* 1,80 IU/KgBB/hari selama 14 hari secara signifikan meningkatkan rata-rata kadar glukosa darah 2 jam setelah pembebanan glukosa 2 g/KgBB. Rata-rata kadar glukosa darah setelah perlakuan insulin *human insulin* 1,80 IU/KgBB/hari adalah

sebesar $(126,369 \pm 9,250)$ mg/dL dan mengalami peningkatan sampai lebih dari 50,0 mg/dL.

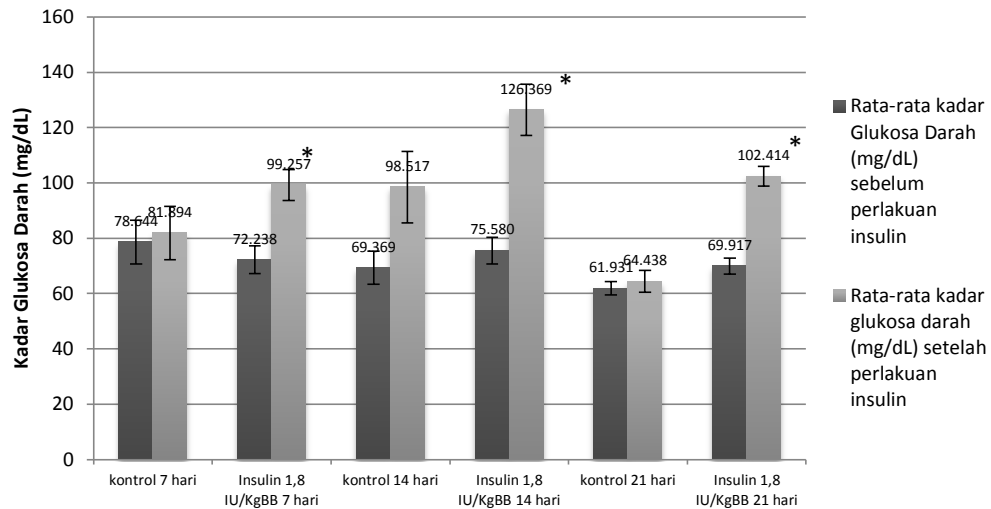


Gambar 1. Perbandingan kadar glukosa darah (mg/kgBB) 2 jam pembebanan glukosa 2 g/KgBB peroral pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan insulin dosis (0,45; 0,90 dan 1,80) IU/KgBB/hari selama 14 hari. Kadar glukosa merupakan nilai rata-rata \pm SEM (n=6). * Hasil uji t berpasangan menunjukkan adanya perbedaan yang bermkna dengan kadar glukosa darah sebelum perlakuan ($p < 0,05$).

Pengaruh Lama Perlakuan *Human Insulin* 1,80 IU/KgBB terhadap Kadar Glukosa Darah 2 jam setelah Pembebanan Glukosa 2 g/KgBB

Perlakuan *human insulin* 1,8 IU/KgBB/hari pada berbagai rentang waktu pemberian mampu menginduksi terjadinya peningkatan rata-rata kadar glukosa darah 2 jam setelah pembebanan glukosa 2 g/KgBB ($p < 0,05$) dengan pola tidak tergantung waktu

(gambar 2). Peningkatan kadar glukosa darah tertinggi adalah pada perlakuan *human insulin* selama 14 hari. Hal ini tidak terlihat pada kelompok kontrol, dimana rata-rata kadar glukosa darah setelah pembebanan glukosa pada akhir perlakuan tidak mengalami peningkatan yang signifikan ($p > 0,05$). Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa perlakuan *human insulin* mampu mengacaukan metabolisme glukosa tikus jantan galur Wistar.



Gambar 2. Perbandingan rata-rata kadar glukosa darah (mg/kgBB) 2 jam setelah pembebanan glukosa 2 g/KgBB peroral pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan insulin 1,80 IU/KgBB/hari selama 7, 14 dan 21 hari. Kadar glukosa merupakan nilai rata-rata \pm SEM (n=6). * Hasil uji Wilcoxon menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan rata-rata kadar glukosa darah sebelum perlakuan ($p < 0,05$).

Pengaruh Lama Perlakuan *Human Insulin* 1,80 IU/KgBB terhadap Efek Hipoglikemik Glibenklamid 10 mg/KgBB.

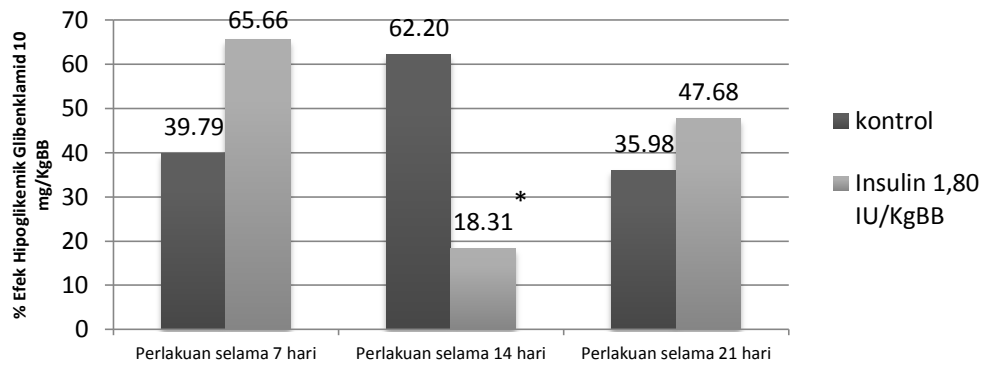
Rata-rata % efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB kelompok perlakuan *human insulin* 1,80 IU/KgBB/hari selama 7 dan 21 hari lebih tinggi dari kelompok kontrol (gambar 3). Meskipun demikian, perbedaan tersebut tidak bermakna secara statistik ($p > 0,05$). Sebaliknya, rata-rata % efek hipoglikemik glibenklamid kelompok perlakuan *human insulin* 1,80 IU/KgBB/hari selama 14 hari justru lebih rendah dari pada kelompok kontrol ($p < 0,05$). Efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB sangat rendah, yaitu sebesar 18,31%.

Diskusi dan Pembahasan

Salah satu metodologi uji khasiat farmakologi obat secara *in vivo* adalah dengan menggunakan hewan percobaan, termasuk untuk uji aktivitas antidiabetes. Berbagai metode penelitian dengan menggunakan hewan percobaan telah banyak dikembangkan, baik untuk DM tipe 1 dan DM tipe 2, diantaranya pankreatomi pada anjing, induksi berbagai senyawa diabetogenik (aloksan dan streptozotisin) yang memicu terjadinya kerusakan sel β -pankreas, sehingga akan mengurangi kemampuan pankreas

dalam mensekresikan insulin. Penggunaan hormon pertumbuhan seperti senyawa kortikosteroid, antibodi insulin dan bahkan menggunakan virus yang dapat menginduksi terjadinya pankreatitis pada berbagai hewan percobaan (Vogel, *et al.*, 2002; Ruzin, *et al.*, 2005). Semua metode tersebut lebih difokuskan pada patofisiologi DM yang berhubungan dengan gangguan sekresi insulin.

Penelitian ini mencoba untuk mengembangkan metode baru untuk menghasilkan tikus diabetes yang mengalami resistensi insulin, sehingga dapat digunakan dalam penelitian aktivitas antidiabetes tipe 2. Resistensi reseptor insulin pada jaringan perifer penderita DM tipe 2 didahului oleh keadaan hiperinsulinemia dan gangguan pada reseptor insulin di jaringan perifer (Mahler dan Adler, 1999). Hiperinsulinemia jangka panjang diinduksi dengan pemberian *human insulin* eksogen, sehingga diharapkan juga dapat menginduksi terjadinya resistensi insulin. Hasil penelitian ini menunjukkan pemberian *human insulin* dosis 1,80 IU/KgBB/hari selama 14 hari mampu meningkatkan kadar glukosa darah tikus jantan galur Wistar sampai pada 126,369 mg/dL (masuk dalam *range* diabetes) dengan pola tidak tergantung lama waktu pemberian.



Gambar 3. Perbandingan % efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB pada kelompok kontrol dan kelompok perlakuan insulin 1,80 IU/KgBB/hari selama 7, 14 dan 21 hari. * hasil uji Mann-Whitney menunjukkan perbedaan yang bermakna dengan kelompok kontrol ($p < 0,05$).

Perlakuan *human insulin* 1,80 IU/KgBB/hari pada tikus jantan galur Wistar mengakibatkan rata-rata % efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB yang lebih kecil (sebesar 18,31%) dibandingkan kontrol (62,20%) ($p < 0,05$). Rendahnya rata-rata % efek hipoglikemik glibenklamid tersebut bukan dikarenakan berkurangnya insulin dalam tubuh tikus jantan galur Wistar, melainkan disebabkan karena terjadinya resistensi insulin pada jaringan perifer, sehingga kadar glukosa tinggi di dalam darah (hiperglikemik). Hal ini disebabkan karena mekanisme kerja glibenklamid sebagai antidiabetes adalah menstimulasi sel β -pankreas untuk melepaskan insulin yang tersimpan (*stored insulin*), sehingga dapat meningkatkan sekresi insulin sebagai akibat rangsangan glukosa (Waspadji, 2007). Dalam keadaan ini, kadar insulin diprediksi cukup tinggi di dalam darah, sedangkan reseptor insulin banyak yang mengalami gangguan atau mengalami resistensi terhadap aksi insulin. Sebelumnya, hasil pengujian secara invitro menyimpulkan bahwa pemberian insulin dapat menginduksi terjadinya *down-regulation* reseptor insulin pada sel lemak pasien DM tipe 2 dengan obesitas, sel fibroblast 3T3 mencit, hepatosit tikus dan hepatosit ayam (Knutson *et al.*, 1982).

Kelemahan dari penelitian ini adalah peningkatan kadar glukosa darah 2 jam setelah pembebanan glukosa 2 g/KgBB tidak

bergantung lama pemberian. Persentase penurunan efek hipoglikemik 10 mg/KgBB dalam jangka waktu pemberian *human insulin* yang lebih lama (21 hari) justru lebih kecil dari pada pemberian *human insulin* selama 14 hari. Hal ini mungkin disebabkan karena penggunaan tikus jantan galur Wistar dengan usia yang relatif muda (usia 2 bulan). Keadaan ini mungkin akan berbeda jika penelitian menggunakan tikus dengan usia yang tua (6 bulan) dan mengalami obesitas, sehingga perlu penelitian lanjutan untuk mengoptimalkan hasil penelitian ini.

Resistensi reseptor insulin adalah suatu kondisi dimana terjadi penurunan sensitivitas jaringan terhadap kerja insulin sehingga terjadi peningkatan sekresi insulin sebagai bentuk kompensasi sel β -pankreas. Difungsi metabolik ini menimbulkan berbagai kelainan dengan konsekuensi klinik yang serius berupa penyakit kardiovaskuler dan diabetes melitus tipe 2, serta penyakit lainnya (Mahler dan Adler, 1999). Resistensi reseptor insulin merupakan faktor risiko utama pemicu DM tipe 2. Resistensi insulin berhubungan dengan obesitas dan sindrom metabolik. Disregulasi metabolisme asam lemak berperan penting dalam patogenesis resistensi insulin. Berbagai penelitian membuktikan bahwa peningkatan berat badan akan diikuti dengan peningkatan angka kejadian resistensi reseptor insulin pada otot rangka. Sebaliknya, penurunan berat badan pada pasien dengan obesitas akan

mengembalikan keadaan resistensi reseptor insulin pada otot rangka (Abdul-Ghani dan DeFronzo, 2010).

KESIMPULAN

1. Perlakuan *human insulin* dosis 1,80 IU/KgBB selama 14 hari mampu meningkatkan kadar glukosa darah tikus jantan galur Wistar sampai pada 126,369 mg/dL (masuk dalam *range* diabetes) dengan pola tidak tergantung lama waktu pemberian.
2. Perlakuan *human insulin* 1,80 IU/KgBB pada tikus jantan galur Wistar mampu menginduksi terjadinya resistensi insulin dan mengakibatkan rata-rata % efek hipoglikemik glibenklamid 10 mg/KgBB yang lebih kecil (sebesar 18, 31%) dibandingkan kontrol (62,20%).

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul-Ghani, M. and DeFronzo, R., 2010. Pathogenesis of insulin resistance in skeletal muscle. *J Biomed and Biotech.* 2010: 1-19.
- Akinchi, F., Yildirim, A., Gozu, H., Sargin, H., Orbay. E. and Sargin, M., 2008. Assessment of health-related quality of life (HRQoL) of patient with type 2 diabetes in turkey, *Diabetes Res Clin Pract.* 79: 117-23.
- Bhoja, Y.L., 2009. Efek hipoglikemik ekstrak etanolik daun lenggengan (*Leucas lavandulaefolia* JE. Smith) terhadap tikus jantan galur Wistar yang diberi glukosa berlebih. *Skripsi.* Fakultas Farmasi. Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Choi, K. and Kim, Y., 2010. Molecular mechanism of insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Korean J Intern Med.* 25(2): 119-129.
- Knutson, V.P., Ronnett, G.V. and Lane, M.D., 1982. Control of insulin receptor level in 3T3 cells: effect of insulin-induced down-regulation and dexamethasone-induced up-regulation on rate of receptor inactivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 79(9): 2822-2826.
- Mahler, R. and Adler, M., 1999. Type 2 diabetes mellitus: update on diagnosis, pathophysiology, and treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 84(4): 1165-71.
- Ruzzin, J., Wagman, A.S. and Jensen, J., 2005. Glucocorticoid-induced insulin resistance in skeletal muscles: defects in insulin signalling and the effects of a selective glycogen synthase kinase-3 inhibitor. *Diabetologia.* 48(10): 2119-2130.
- Shaw, J.E., Sicree, R.A. and Zimmet, P.Z., 2010. Diabetes atlas : Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030, *diabetes research and clinical practice*, 87: 4-14.
- Srinivasan, K. and Ramarao, P., 2007. Animal models in type 2 diabetes research : An overview. *Indian J Med Res.* 125 : 451-472.
- Thevenod, F., 2008. Pathophysiology of diabetes mellitus type 2: roles of obesity, insulin resistance and β -cell dysfunction. *Diabetes* 19(1) : 1-18.
- Vogel, H.G., 2002. *Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays.* Second Edition. New York: Springer Berlin-Heidelberg.
- Waspadji, S., 2007. *Diabetes Mellitus: Mekanisme Dasar dan Pengelolaannya Yang Rasional,* Dalam Soegondo S. Soewondo P. dan Subekti, I. 2007, *Penatalaksanaan Diabetes Mellitus Terpadu,* Cetakan ke-6,