

Pengaruh Aktivitas Eksentrik terhadap Kadar *Glucose Transporter* Tipe 4 pada Otot Gastrocnemius Mencit Diabetes Melitus yang Diinduksi Streptozotocin

The Effect of Eccentric Activity on Glucose Transporter Type 4 in Gastrocnemius Muscle of Streptozotocin-induced Diabetes Mellitus Mice

Handoko Adelia¹, Purwanto Bambang², Mustika Arifa³

¹ Laboratorium Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Jalan Kalimantan No. 37, Jember, Indonesia, 68121

² Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

³ Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Jalan Mayjen Prof. Dr. Moestopo No. 47, Surabaya, Indonesia, 60132

e-mail korespondensi: adelia.fk@unej.ac.id

Abstrak

Diabetes melitus adalah penyakit metabolik dengan angka mortalitas yang terus meningkat. Pada penderita diabetes mellitus didapatkan penurunan kadar GLUT-4 sehingga berdampak pada peningkatan glukosa darah *postprandial*. Tatalaksana penyakit diabetes terus berkembang sampai saat ini, salah satunya dengan olah raga. Olah raga yang sedang berkembang saat ini adalah olahraga berbasis kontraksi eksentrik yang berpotensi dapat meningkatkan kadar GLUT-4 otot. Tujuan dari penelitian ini yaitu mengetahui pengaruh aktivitas eksentrik terhadap kadar GLUT-4 otot gastrocnemius mencit diabetes melitus. Pada penelitian ini mencit model diabetes dibagi menjadi 2 kelompok secara acak, kelompok perlakuan diberikan perlakuan tunggal lari diatas *treadmill* dengan sudut deklinasi 10° dan kelompok kontrol diberikan perlakuan lari diatas *treadmill* dengan sudut 0°. Kedua kelompok dikorbkan untuk diperiksa kadar GLUT-4 otot. Data dianalisis menggunakan *independent t-test*. Hasil penelitian berdasarkan *independent t-test*, kadar GLUT-4 otot memiliki perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Kesimpulan dari penelitian ini adalah aktivitas eksentrik sesaat lari *downhill* sudut deklinasi 10° meningkatkan kadar GLUT-4 otot.

Kata kunci: *Glucose Transporter Type 4*, eksentrik, Diabetes Melitus, Otot

Abstract

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder with increasing mortality rate. Decrease in GLUT-4 levels was found in diabetics resulting in an increase in postprandial blood glucose levels. Various innovative treatment have been developed, one of them is exercise. Exercise is growing fast today, especially eccentric contraction based exercise that potentially increase GLUT-4 muscle's level. The aim of the present study was to investigate the effect of eccentric activity on glucose transporter type 4 in gastrocnemius muscle of streptozotocin-induced diabetes mellitus mice. Diabetic mice were grouped randomly into 2 groups. One group was given single bout of eccentric exercise by downhill running on 10° degree decline treadmill and the other group was given eccentric activity by downhill running on 0° degree. The GLUT-4 muscle's level were measured after treadmill. Data obtained from each group were then analyzed using independent t-test, significant results were found ($p < 0.05$). The conclusion of this study is single bout eccentric downhill running activity with 10° angle increases the levels of GLUT-4 muscles.

Key words: *Glucose Transporter Type 4*, eccentric, Diabetes Mellitus, Muscle

Pendahuluan

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang mortalitasnya semakin meningkat. Diabetes melitus digolongkan menjadi DM tipe 1, DM 2, diabetes gestasional dan diabetes tipe lain. Diabetes Melitus tipe 2 diderita oleh 90% dari seluruh penderita DM. Gangguan ambilan glukosa ditemukan pada penderita DM, protein yang berperan utama dalam ambilan glukosa adalah *glucose transporter-4* (GLUT-4). Penurunan GLUT-4 yang ditemukan pada penderita DM menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah postprandial (Ciaraldi *et al.*, 2005; Suyono, 2006).

Berbagai pendekatan inovatif telah dilakukan untuk mencegah dan mengatasi DM. Penelitian tentang peran olah raga sebagai terapi DM mengalami banyak perkembangan. *American Diabetes Association* (ADA) dan Persatuan Diabetes Indonesia (PERSADIA) merekomendasikan olah raga aerobik bagi para penderita DM. Penelitian oleh Marcus (2008) menyebutkan bahwa kombinasi latihan aerobik berbasis kontraksi eksentrik memberikan manfaat yang baik. Kontraksi eksentrik terjadi saat gaya beban lebih besar dari pada gaya otot dan ditandai dengan pemanjangan otot. Contoh umum dari latihan eksentrik adalah lari *downhill*. Konsep latihan eksentrik lari downhill dapat dilakukan dengan pemberian sudut deklinasi pada *treadmill*. Latihan aerobik berbasis kontraksi eksentrik dengan intensitas ringan-sedang dapat meningkatkan ambilan glukosa perifer (Colberg *et al.*, 2010) Penelitian lain oleh Pora (2014) menyebutkan bahwa terjadi peningkatan kadar GLUT-4 disertai dengan penurunan kadar glukosa darah pada mencit normal setelah diberikan latihan eksentrik, namun penelitian mengenai pengaruh aktivitas eksentrik terhadap kadar GLUT-4 otot mencit DM belum diketahui.

Metode Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *posttest only control group design*. Unit eksperimen penelitian ini adalah mencit dewasa yang diinduksi streptozotocin dengan jenis kelamin jantan usia 8-12 minggu dengan berat badan antara 20-30 gram. Pada penelitian ini dipilih mencit sebagai hewan coba karena mencit merupakan hewan dengan kemampuan lari yang baik baik *volunteer* maupun

involunteer (Kregel *et al.*, 2006). Aktivitas eksentrik dilakukan dengan memberikan sudut deklinasi pada *treadmill*. Kelompok penelitian dibagi menjadi 2 kelompok secara acak. Kelompok kontrol (kelompok mencit model DM dengan aktivitas *treadmill* sudut 0°), kelompok perlakuan (kelompok mencit model DM dengan aktivitas *treadmill* sudut deklinasi 10°). Semua protokol dan perlakuan telah melalui uji etik di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Kedua kelompok diinduksi streptozotocin dengan dosis 40 mg/kgBB sebanyak 5 kali (5 hari) intraperitoneal. Pada hari ke-12 semua mencit memiliki kadar gula darah puasa > 180 mg/dL. Keesokan harinya, kelompok kontrol diberikan perlakuan aktivitas *treadmill* sudut 0° dengan kecepatan 20 cm/dt selama 12 menit (durasi ditentukan melalui uji pendahuluan). Kelompok perlakuan diberikan perlakuan aktivitas *treadmill* sudut deklinasi 10° dengan kecepatan 20 cm/dt selama 12 menit. Dua puluh empat jam setelah perlakuan selesai, mencit kelompok kontrol dan perlakuan dikorbankan diambil sampel jaringan otot gastroknemius kaki belakang kanan dan kiri untuk diperiksa kadar GLUT-4 otot. Kadar GLUT-4 otot diukur menggunakan ELISA (ng/mL) dan *nanodrops* (ng/mg) sehingga didapatkan satuan ng/mg. Analisis data menggunakan *Saphiro Wilk Test* untuk uji normalitas dan *Lavene test* untuk uji homogenitas, apabila data berdistribusi normal dilanjutkan uji beda dengan *independent t test*.



Gambar 1. *Modified Columbus Standard Treadmill* dengan sudut deklinasi 10°

Hasil Penelitian

Pemeliharaan dan perawatan hewan coba dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran

Universitas Airlangga. Pemeriksaan kadar GLUT-4 otot dan protein otot di lakukan di Laboratorium Lembaga Penyakit Tropis Universitas Airlangga. Uji pendahuluan dilakukan bulan Februari 2017 dan uji perlakuan dilaksanakan pada bulan Maret hingga Mei 2017.



Gambar 2. Mencit lari diatas treadmill dengan sudut deklinasi 10°

Penelitian pendahuluan digunakan untuk menentukan durasi lari mencit DM diatas *Modified Columbus Standard Treadmill* dengan sudut deklinasi 10°, ditunjukkan pada Gambar 1 dan Gambar 2. Durasi lari ditentukan dari 60% Kapasitas Kerja Maksimal (KKM), KKM ditentukan dari kemampuan berlari maksimal dari mencit dan didapatkan durasi 12 menit. Sudut deklinasi dipilih 10° karena sudut deklinasi diatas 10° dapat menyebabkan kerusakan otot.

Tabel 1. Rata-rata Kadar GLUT-4 Otot (ng/mg)

Kelompok	Mean ± SD
Kontrol	4,13 ± 0,52
Perlakuan	5,24 ± 1,05

Kadar GLUT-4 otot ditunjukkan pada Tabel 1. Data hasil penelitian dilakukan uji normalitas dan homogenitas data. Uji normalitas *Saphiro-Wilk* didapatkan nilai signifikansi $p > 0,05$, yang bermakna sampel berasal dari populasi yang berdistribusi normal. Sedangkan uji homogenitas *Lavene* didapatkan signifikansi $p > 0,05$, yang bermakna varian setiap sampel sama atau homogen. Pada

independent t-test didapatkan nilai p (sig) = 0,028 ($p < 0,05$), terdapat perbedaan yang bermakna antara kadar kadar GLUT-4 otot kelompok kontrol dan perlakuan.

Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh aktivitas eksentrik terhadap kadar GLUT-4 otot mencit DM yang diinduksi streptozotocin. Aktivitas eksentrik dilakukan dengan pemberian sudut deklinasi 10° pada treadmill. Regangan otot saat aktivitas eksentrik menyebabkan terjadinya *ischemic reperfusion stress*. *Ischemic reperfusion stress* mengakibatkan terjadinya turbulensi udara akibat pelebaran dan penyempitan pembuluh darah yang terjadi berulang dan menyebabkan terjadinya hipoksia lokal. Hipoksia lokal jaringan otot dapat menginduksi *Hypoxia Inducible Factor-1α* (HIF-1α) (Buller, 2010; Miguelez *et al.*, 2015). Akumulasi HIF-1α dan HIF-1β membentuk kompleks HIF-1 yang dapat mengenali lokasi *Hypoxia Responsive Elements* (HRE) nukleus sel target dan memicu transkripsi gen target. Hipoksia dapat mempengaruhi metabolisme glukosa salah satunya dengan meningkatkan mRNA dan protein GLUT-4, namun protein perantaranya belum diketahui (Lundby *et al.*, 2009). Pada kelompok kontrol dengan treadmill sudut 0° tidak cukup untuk menginduksi hipoksia sehingga kadar GLUT-4 otot ditemukan rendah.

Latihan dengan intensitas moderate dapat meningkatkan ekspresi gen GLUT-4 sesaat. Peningkatan protein GLUT-4 dapat terjadi setelah 1,5 jam hingga 24 jam setelah latihan akut. Peningkatan protein GLUT-4 diperantarai oleh *myocyte enhancer factor-2* (MEF-2) (Kraniou *et al.*, 2006). Penelitian lain oleh Richter *et al.* (2013) menyebutkan bahwa aktivitas sesaat dapat meningkatkan mRNA GLUT-4 secara cepat sesaat setelah aktivitas dan bertahan hingga 24 jam hal ini berkaitan dengan MEF-2 yang mengaktivasi *promoter* GLUT-4 dan meningkatkan protein GLUT-4, namun efek peningkatan kadar protein GLUT-4 ini hanya sesaat jika dibandingkan dengan latihan rutin (*training*).

Kontraksi eksentrik lebih efisien dalam menggunakan energi di dalam sel, dengan *metabolic cost* yang sama kontraksi eksentrik menghasilkan kekuatan otot yang lebih besar dibandingkan dengan kontraksi konsentrik (Hessel *et al.*, 2001). Bentuk energi dalam sel otot salah satunya adalah

Adenosine Triphosphate (ATP). Sintesis dan translokasi GLUT-4 melewati berbagai kaskade fosforilasi yang membutuhkan banyak ATP. Glukosa intrasel merupakan sumber ATP yang digunakan untuk kaskade fosforilasi jalur transduksi sinyal GLUT-4 serta meningkatkan sintesis GLUT-4 (Murray *et al.*, 2009; Ghani & Defronzo, 2010).

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa aktivitas eksentrik sesaat dapat meningkatkan kadar GLUT-4 otot. Namun, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui perubahan kadar GLUT-4 otot secara serial, pengaruh aktivitas eksentrik sesaat terhadap HOMA-IR (sensitivitas insulin) dan HOMA- β (fungsi sel β pankreas) serta pemeriksaan HIF-1 α untuk mengetahui tingkatan hipoksia yang terjadi. Inisiasi pengembangan model aktivitas fisik terukur berbasis kontraksi otot eksentrik juga harus dilakukan dalam upaya membantu penderita DM untuk memperbaiki ambilan glukosa otot dan menurunkan kadar glukosa darah.

Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih kepada Dr. Bambang Purwanto, dr., M.Kes., Dr. Arifa Mustika, dr., M.Si., Prof. Dr. Paulus Liben, dr., MS., Prof. Dr. Suhartati, dr., M.S., serta Dr. Sulistiawati, dr., M.Kes., atas bimbingan yang diberikan hingga terselesaikannya penelitian ini.

Daftar Pustaka

- American Diabetes Association. 2016. *Standards of Medical Care in Diabetes*. *Diabetes Care*. 39 (Suppl. 1): S13–S22
- Buller C. 2010. *Role of GLUT1 in The Mammalian Target of Rapamycin Pathway: Mechanism of Regulation*. [Dissertation]. The Universitas of Michigan.
- Ciaraldi TP, *et al.* 2007. *Skeletal Muscle GLUT-1 Transporter Protein Expression and Basal Leg Glucose Uptake are reduced in Type 2*

Diabetes. *Journal Of Clinical Endocrinology And Metabolism*. 90: 352-358

- Colberg SR, *et al.* 2010. *Exercise and Type 2 Diabetes*. *The American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement executive summary*. *Diabetes Care*. 33
- Ghani MA and Defronzo RA. *Pathogenesis of Insulin Resistance in Skletal Muscle*. *Journal of Biomedicine of Biotechnology*. 2010: 1-19
- Hessel AL, *et al.* 2017. *Physiological Mechanism of Eccentric Contraction and Its Applications: A role for the Giant Titin Protein*. *Front Physiol*. 8: 1-14
- Kraniou N, *et al.* 2006. *Acute Exercise and GLUT4 Expression in Human Skeletal Muscle: Influence of Exercise Intensity*. *J Appl Physiol*. 101: 934–937
- Kregel. 2006. *Resource Book for the Design of Animal Exercise Protocol*. American Physiology Society
- Lundby C, *et al.* 2009. *The Response of Human Skeletal Muscle Tissue to Hypoxia*. *Cell. Mol. Life Sci*. 66: 3615–3623
- Marcus RL, *et al.* 2008. *Comparison of Combined Aerobic and High Force Eccentric Resistance Exercise with Aerobic Exercise only for People With Type 2 Diabetes Melitus*. *Journal of the American Physical Therapy Association*. 88(11): 1345-1354
- Migueluez PR, *et al.* 2015. *Hypoxia-Inducible Factor-1 Modulates The Expression of Vascular Endothelial Growth Factor and Endothelial Nitric Oxide Synthase Induced by Eccentric Exercise*. *J Appl Physiol*. 118: 1075–1083
- Murray RK, *et al.* 2009. *Biokimia Harper edisi 27*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Paulsen G, *et al.* 2007. *Maximal Eccentric Exercise Induces a Rapid Accumulation of Small Heat Shock Protein on Myofibrils and a Delayed HSP70 Response in Human*. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 293: 844-853
- Persatuan Diabetes Indonesia (PERSADIA). *About Diabetes – Prevention*. Diunduh 21 Februari 2017, jam 20.00 wib,
<<http://www.idf.org/membership/wp/indonesia/persatuan-diabetes-indonesia>>

Pora YD. 2014. *Pengaruh Latihan Eksentrik Sesaat (Lari Downhill) pada Sudut Deklinasi -5^o, -10^o dan -15^o terhadap Penurunan Kadar GLUT-4 pada Otot Gastroknemius Mencit (Mus Musculus)*. [Thesis]. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

Richter E, et al. 2013. *Excercise, Glut4 and Skletal Muscle Glucose Uptake*. *Physiol Rev*. 93: 993-1017

Suyono S. 2006. *Diabetes Melitus di Indonesia*. Dalam Sudoyo, Setiyohadi, Alwi, Simadibrata, Setiati (Editor). *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid III Edisi IV*. Jakarta: Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia