



UNIVERSITAS AIRLANGGA

Kampus C Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5914042, 5914043, 5912546, 5912564 Fax (031) 5981841
Website : <http://www.unair.ac.id> ; e-mail : rektor@unair.ac.id

SALINAN

**KEPUTUSAN
REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA
NOMOR 2613/H3/KR/2012**

TENTANG

**PELAKSANAAN DESENTRALISASI PROGRAM PENELITIAN UNIVERSITAS
AIRLANGGA : PENELITIAN FUNDAMENTAL (APID), HIBAH BERSAING (APHB),
HIBAH TIM PASCASARJANA (APHP), DAN PENELITIAN UNGGULAN
PERGURUAN TINGGI (AUPT)
TAHUN ANGGARAN 2012**

REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA

- Menimbang : a. bahwa dalam rangka pelaksanaan penelitian sebagai salah satu wujud Tri Dharma Perguruan Tinggi yaitu dalam bentuk Desentralisasi Program Penelitian, maka perlu menetapkan para peneliti dan judul penelitian;
b. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud pada huruf a, perlu menetapkan Keputusan Rektor tentang Pelaksanaan Desentralisasi Program Penelitian Universitas Airlangga : Penelitian Fundamental (APID), Hibah Bersaing (APHB), Hibah Tim Pascasarjana (APHP), dan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (AUPT) Tahun Anggaran 2012.
- Mengingat : 1. Undang - Undang Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional (Lembaran Negara Republik Indonesia tahun 2003 Nomor 78, Tambahan Lembaran Negara Nomor 4301);
2. Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954 tentang Pendirian Universitas Airlangga di Surabaya sebagaimana telah diubah dengan Peraturan Pemerintah Nomor 3 Tahun 1955 tentang Pengubahan Peraturan Pemerintah Nomor 57 Tahun 1954. (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1954 Nomor 99 Tambahan Lembaran Negara Nomor 695 juncto Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1955 Nomor 4 Tambahan Lembaran Negara Nomor 748);
3. Peraturan Pemerintah Nomor 30 Tahun 2006 tentang Penetapan Universitas Airlangga sebagai Badan Hukum Milik Negara (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 2006 Nomor 66);
4. Peraturan Majelis Wali Amanat Universitas Airlangga Nomor 12/P/MWA-UA/2008 tentang Anggaran Rumah Tangga Universitas Airlangga;
5. Keputusan Majelis Wali Amanat Universitas Airlangga Nomor 34/H3.MWA/K/2010 tentang Pengangkatan Rektor Universitas Airlangga Periode 2010-2015;
6. Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 26/H3/PR/2011 tentang Organisasi dan Tata Kerja Universitas Airlangga sebagaimana diubah dengan Peraturan Rektor Universitas Airlangga Nomor 1/H3/PR/2012.

Memperhatikan :

L
9

Memperhatikan : Surat Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Nomor 207/H3.13/PPd/2012 tanggal 27 Februari 2012.

MEMUTUSKAN :

- Menetapkan : **KEPUTUSAN REKTOR TENTANG PELAKSANAAN DESENTRALISASI PROGRAM PENELITIAN UNIVERSITAS AIRLANGGA : PENELITIAN FUNDAMENTAL (APID), HIBAH BERSAING (APHB), HIBAH TIM PASCASARJANA (APHP), DAN PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI (AUPT), TAHUN ANGGARAN 2012.**
- PERTAMA** : Pelaksanaan Desentralisasi Program Penelitian Universitas Airlangga sebanyak 121 (Seratus Dua Puluh Satu) judul dengan rincian :
- a. Penelitian Fundamental (APID) 5 judul;
 - b. Hibah Bersaing (APHB) 11 judul;
 - c. Hibah Tim Pascasarjana (APHP) 6 judul; dan
 - d. Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (AUPT) 99 judul, Tahun Anggaran 2012 sebagaimana tercantum dalam daftar lampiran Keputusan ini.
- KEDUA** : Biaya untuk Pelaksanaan Desentralisasi Program Penelitian Universitas Airlangga sebagaimana dimaksud diktum PERTAMA adalah sebesar Rp 4.789.000.000,00 (Empat Milyar Tujuh Ratus Delapan Puluh Sembilan Juta Rupiah) yang dibebankan pada Daftar Isian Pelaksanaan Anggaran (DIPA) Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2012.
- KETIGA** : Jangka waktu pelaksanaan penelitian tersebut pada diktum PERTAMA selama 8 (Delapan) bulan terhitung mulai tanggal 29 Februari 2012 sampai dengan tanggal 31 Oktober 2012.
- KEEMPAT** : Dalam melaksanakan tugas, kegiatan penelitian sebagaimana dimaksud pada diktum PERTAMA, berpedoman pada peraturan dan ketentuan-ketentuan yang berlaku serta bertanggungjawab kepada Rektor melalui Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat.
- KELIMA** : Keputusan ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Salinan disampaikan Yth :
 1. Pimpinan Unit Kerja di Lingkungan Unair
 2. Yang bersangkutan


Ditetapkan di Surabaya
 Padatanggal 9 Maret 2012

REKTOR,

ttd

FASICH
 NIP. 19461231 197412 1 001

Salinan sesuai dengan aslinya
 Sekretaris Universitas,


Dr. M. Hadi Shubhan, S.H., M.H., CN.
 NIP. 19730406 200312 1 002

BIDHUK

No. urut	Skim	Nama Peneliti	Judul Penelitian	Fak / Lembaga	Luaran (output)	Dana Rp
24	Unggulan Perguruan Tinggi	Achmad Radjaram, Dr.,Apt. Achmad Fuad Hafid, Dr.,MS.,Apt Dwi Setyawan, S.Si.,M.Si	Peningkatan Kelarutan dan Bioavailabilitas Kurkumin (<i>Curcuma Xanthorrhiza Linn</i>) Dengan Membentuk Senyawa Inklusi Kurkumin - Hidroksipropil- β -Siklodeketerin.	FF	Publikasi pada jurnal ilmiah nasional terakreditasi	35,000,000
25	Unggulan Perguruan Tinggi	Agung Sujatmiko, Dr.,SH.,MH Bambang Sugeng Ariadi S., SH.,MH	Monopoli Pada Lisensi Merek Terkenal dan Kaitannya dengan Persaingan Usaha	FH	Publikasi pada jurnal ilmiah nasional terakreditasi atau jurnal bereputasi internasional	20,000,000
26	Unggulan Perguruan Tinggi	Agus Abdul Gani, Drs.,M.Si	Fabrikasi Sensor Kimia dan Biosensor Optik untuk Deteksi Formalin pada Sample Makanan	Pasca	Publikasi pada jurnal ilmiah nasional terakreditasi atau jurnal bereputasi internasional	34,500,000
27	Unggulan Perguruan Tinggi	Aktieva Tri Tjitrawati, Dr.,S.H.,M.Hum. Junaedi Khoib, S.Si.,M.Kes.,Ph.D.,Apt Anggraini Dwi Sensusiaty, dr.,Sp,R	Distribusi Obat yang Berkeadilan dalam Perspektif Negara Kesejahteraan	FH	Publikasi pada jurnal ilmiah nasional terakreditasi	20,000,000
28	Unggulan Perguruan Tinggi	Romziah Sidik, Prof.,Ph.D.,dth Anwar Mar'uf, Dr.,M.Kes.,dth Kuncoro Pugh S, M.Kes.,dth	Protein Signal Transducers and Activators Transcription (STAT) 5a dan 5b Sebagai Kandidat Pemacu Pertumbuhan Ayam Pedaging	FKH	Publikasi pada jurnal ilmiah nasional terakreditasi atau jurnal bereputasi Internasional	60,000,000
29	Unggulan Perguruan Tinggi	Arimbi, M.Kes.,dth Emy Koestanti Sabboningrum, M.Si.,dth Yuni Priyandani, S.Si.,Apt.,Sp,FRRS Ajik Azmjah, SU.,dth	Potensi Ekstrak Samblioto sebagai Sumber Antimikroba untuk Pemberantasan Penyakit Aeromonas pada Ikan Gurame	FKH	Publikasi pada jurnal ilmiah nasional terakreditasi	35,000,000
30	Unggulan Perguruan Tinggi	Bambang Purwanto, dr.,M.Kes I Ketut Sudiana, Dr.,Drs.,M.Si Lilik Herawati, dr.,M.Kes	Analisis Seri Waktu Terhadap Ekspresi <i>Glucose Transporter1</i> (Glut-1) Sebagai Penanda Biologis Klasifikasi Diabetes	FK	1.Metode 2.Publikasi pada jurnal ilmiah nasional terakreditasi atau jurnal bereputasi Internasional	60,000,000
31	Unggulan Perguruan Tinggi	Bambang Widjaja, Drs.,M.Si,Apt Juniar Moechtar, Dra.,MS.,Apt Dwi Setyawan, S.Si.,M.Si	Pengembangan Sediaan <i>Orally Disintegrating Tablet</i> (ODT) Piroksikam Dengan Metode <i>Freeze Drying</i>	FF	Publikasi pada jurnal ilmiah nasional terakreditasi	35,000,000

LAPORAN AKHIR
PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI
TAHUN ANGGARAN 2013



ANALISIS SERI WAKTU TERHADAP EKSPRESI *GLUCOSE TRANSPORTER1*
(GLUT1) SEBAGAI PENANDA BIOLOGIS KLASIFIKASI DIABETES

Bambang Purwanto, dr., M.Kes	NIDN 0028088001
Dr. I Ketut Sudiana, Drs., M.Si	NIDN 0005075505
Lilik Herawati, dr., M.Kes	NIDN 0014037509

Dibiayai ole DIPA Universitas Airlangga Tahun Anggaran 2013, sesuai dengan Surat
Keputusan Rektor Tentang Kegiatan Penelitian Unggulan Perguruan Tinggi
Nomor : 7673/UN3/KR/2013 Tanggal 2 Mei 2013

Universitas Airlangga
Oktober, 2013

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : ANALISIS SERI WAKTU TERHADAP EKSPRESI *GLUCOSE TRANSPORTER1* (GLUT1) SEBAGAI PENANDA BIOLOGIS KLASIFIKASI DIABETES

Peneliti / Pelaksana :
Nama : Bambang Purwanto, dr., M.Kes
NIDN : 0028088001
Jabatan Fungsional : Lektor
Program Studi : Pendidikan Dokter Universitas Airlangga
Nomer HP : 081330535445
Alamat email : bpaifo@gmail.com

Anggota (1)
Nama : Dr. I Ketut Sudiana, Drs., M.Si
NIDN : 0005075505
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Anggota (2)
Nama : Lilik Herawati, dr., M.Kes
NIDN : 0014037509
Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga

Tahun Pelaksanaan : tahun ke 2 dari rencana 2 tahun
Biaya tahun berjalan : Rp. 60.000.000,-
Biaya Keseluruhan : Rp. 120.000.000,-

Surabaya, 1 November 2013

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran



Prof. Dr. Agung Pranoto, dr. Mkes. SpPD-KEMD FINASIM,
NIP. 195601041983121001

Ketua Peneliti,

Bambang Purwanto, dr., M.Kes
NIP. 198008282006041002

Menyetujui,
Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga



Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt., M.Si
NIP. 195908051987011001

RINGKASAN

Hasil penelitian tahun pertama telah membuktikan keberadaan molekul *Glucose transporter-1* yang terekspresi di membran sel otot tikus model diabetes. Ekspresi Glut-1 semakin meningkat seiring dengan perjalanan penyakit diabetes. Ekspresi Glut-1 menandai perubahan dari fase reversibel menuju ke fase ireversibel dari perjalanan penyakit diabetes. Pada tahun kedua, penelitian ditujukan untuk mengevaluasi ekspresi Glut-1 pada model tikus diabetes yang diterapi menggunakan insulin.

Dua kelompok tikus model diabetes, kelompok yang tidak diterapi sebagai kontrol dan kelompok yang diterapi insulin. Kadar glukosa darah tikus kelompok kontrol dan kelompok insulin konsisten meningkat sejak 48 jam post induksi STZ sampai akhir pengamatan. Kadar glukosa darah tikus post insulinasi selalu lebih rendah dengan perbedaan yang bermakna dengan kontrol. Beda kadar glukosa darah kontrol dengan tikus insulinasi antara 50 – 100 mg/dl. Ekspresi Glut-1 kelompok tikus insulinasi selalu lebih rendah dari kontrol. Perubahan ekspresi Glut-1 kelompok tikus insulinasi tidak berbeda setelah 48 jam induksi stz.

Terapi insulin pada model diabetes menghambat progresivitas perjalanan penyakit diabetes dengan menekan peningkatan ekspresi Glut-1 pada membran sel otot tikus model diabetes. Hasil penelitian membuktikan insulin tidak memperbaiki ekspresi Glut-1, karena stimulasi insulin mengembalikan fungsi dan ekspresi Glut-4 dalam membantu ambilan glukosa otot. Kadar glukosa darah kelompok tikus insulinasi selalu lebih rendah dibandingkan dengan kontrol. Sayangnya, ekspresi Glut-4 tidak diperiksa pada penelitian ini, sehingga ke depan perlu dipertimbangkan untuk diamati rasio perubahan ekspresi Glut1 dan Glut4.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Glut-1 terekspresi pada otot tikus model diabetes. Ekspresi Glut-1 semakin meningkat seiring dengan progresivitas penyakit diabetes. Pemberian insulin sebagai terapi standar pada diabetes diharapkan dapat memperbaiki kuantitas ekspresi Glut1 pada otot rangka, meskipun sampai saat ini pengaruh pemberian insulin terhadap ekspresi Glut1 pada otot tikus model diabetes belum diketahui..

Hasil penelitian tahun pertama menunjukkan ekspresi Glut1 mengalami peningkatan seiring dengan periode induksi diabetes. Otot menjadi sangat bergantung kepada Glut1 dalam membantu ambilan glukosa. Otot tidak memiliki pilihan lain karena Glut4 tidak mampu dieskpresikan menuju membran. Efektifitas ambilan glukosa melalui Glut1 tidak sebaik Glut4, sehingga dibutuhkan kuantitas ekspresi Glut1 yang selalu meningkat dari hari ke hari (Ciaraldi, 2005). Perubahan ekspresi Glut1 otot merupakan salah satu penanda biologis yang terlibat dalam patofisiologi diabetes, namun sampai saat ini ekspresi Glut1 belum menjadi rujukan dalam klasifikasi diabetes.

Terapi insulin memperbaiki sinyal transduksi protein kinase B (akt) yang berperan dalam ambilan glukosa melalui Glut4, translasi protein dan metabolisme glukosa. Salah satu protein yang diharapkan terdampak pada terapi insulin adalah Glut1. Bila translasi protein Glut1 meningkat, maka diharapkan kuantitas ekspresi Glut1 pada membran otot diabetes juga mengalami peningkatan. Dengan demikian, progresivitas diabetes dapat dihambat dan kualitas hidup penderita meningkat. .

1.2. Rumusan Masalah

Beberapa masalah yang ingin dijawab dari penelitian ini antara lain :

1. Apakah ada perbaikan kadar glukosa basal model tikus pada setiap tahapan diabetes setelah memperoleh terapi insulin
2. Apakah ada perbedaan ekspresi Glut1 otot model tikus pada setiap tahapan diabetes setelah memperoleh terapi insulin
3. Apakah terapi insulin cukup efektif pada setiap tahapan perkembangan diabetes

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Definisi diabetes

Definisi diabetes menurut WHO, (1999) adalah suatu kelainan metabolik dengan banyak etiologi yang ditandai dengan hiperglikemia kronis disertai gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein sebagai akibat dari defek sekresi dan atau respon stimulasi insulin. Diabetes Mellitus tipe 2 (DMT2) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan penurunan respon jaringan terhadap stimulasi insulin, atau sering diistilahkan dengan resistensi insulin. Resistensi insulin ditemukan pada jaringan otot, hati dan adiposa. Jaringan tersebut menyumbang ambilan glukosa terbesar tubuh. Gangguan ambilan glukosa otot, hati dan adiposa menyebabkan "sindroma kelaparan semu" dan peningkatan kadar glukosa darah (hiperglikemia).

Kadar glukosa darah merupakan acuan diagnosis dan terapi diabetes. Prosedur pengukuran kadar glukosa darah dibedakan menjadi pengukuran kadar glukosa darah sewaktu dan pengukuran kadar glukosa darah berurutan waktu (*time series*). Kadar glukosa darah sewaktu, ditentukan dari pemeriksaan sampel yang diambil sewaktu. Contoh pengukuran kadar glukosa darah sewaktu adalah kadar glukosa darah puasa dan kadar glukosa darah acak. Kadar glukosa darah berurutan waktu diukur dari pemeriksaan sampel yang diambil pada beberapa kurun waktu, misalnya: kadar glukosa darah sebelum makan dan kadar glukosa darah 2 jam setelah makan (WHO, 1999).

Makna hasil pengukuran sewaktu berbeda dengan makna hasil pengukuran berurutan waktu. Kadar glukosa yang diukur sewaktu bertujuan untuk mengevaluasi ambilan glukosa pada kondisi basal. Ambilan glukosa basal adalah ambilan glukosa pada saat tubuh tidak mendapatkan beban glukosa, stimulasi insulin dan atau otot melakukan kontraksi. Pemeriksaan ambilan glukosa basal paling ideal dilakukan dari sampel darah yang diambil setelah puasa \pm 8 jam (Yamazaki, 2009). Ambilan glukosa basal difasilitasi oleh Glut1 yang terekspresi hampir di seluruh jaringan tubuh. Fasilitasi Glut1 tidak dipengaruhi oleh stimulasi insulin. Penurunan ekspresi Glut1 ditemukan pada otot penderita diabetes yang mengalami hiperglikemia basal (Ciaraldi, 2005).

Kadar glukosa darah yang diukur berurutan waktu bertujuan untuk mengevaluasi intoleransi glukosa (IGT) pada saat tubuh mendapat masukan beban glukosa (2 jam setelah makan). Pemeriksaan berurutan waktu yang ideal dilakukan melalui prosedur tes toleransi glukosa (TTG). Metode yang dikembangkan untuk TTG beragam, glukosa ada yang dimasukan lewat oral, injeksi intravena atau intra peritoneal. Pada manusia, masukan glukosa TTG diberikan melalui oral, sehingga dibutuhkan waktu 2 jam untuk mengevaluasi efek dari masukan glukosa tersebut. Waktu 2 jam adalah waktu rerata yang diasumsikan sebagai waktu absorpsi glukosa ditambah waktu yang dibutuhkan insulin untuk meregulasi ambilan glukosa melalui fasilitasi Glut4. Peningkatan kadar glukosa dari kondisi basal sampai dengan 2 jam setelah pembebanan glukosa menunjukkan tubuh mengalami intoleransi glukosa akibat resistensi insulin (WHO, 1999; Yamazaki, 2009).

Resistensi insulin pada percobaan dapat diamati melalui prosedur “*euglycaemic insulin clamping* dan *hyperglycaemic insulin clamping*”. Prinsip dari prosedur ini adalah mengevaluasi efek stimulasi injeksi insulin pada pembebanan glukosa yang dimasukan ke dalam tubuh. Resistensi ditunjukkan bila penurunan kadar glukosa terjadi pada stimulasi insulin dalam jumlah yang lebih besar. Penentuan resistensi insulin pada praktek klinis ditentukan secara tidak langsung menggunakan bantuan persamaan yang ditemukan melalui penelitian korelasional. Salah satu persamaan yang sering digunakan adalah persamaan HOMA yang membutuhkan pengukuran variabel kadar glukosa puasa dan insulin puasa (WHO, 1999; Yamazaki, 2009)

2.2 Patofisiologi diabetes

Resistensi insulin pada penderita diabetes tipe 2 disebabkan oleh banyak faktor, yang dapat dibagi menjadi 3 bagian: faktor pra reseptor insulin, reseptor insulin dan faktor post reseptor insulin. Kelainan atau defek pada insulin yang dihasilkan oleh beta pankreas menyebabkan insulin gagal menstimulasi reseptornya pada membran sel. Salah satu gangguan pada reseptor insulin terjadi pada fenomena *caping* dari HLA kelas II yang menghambat stimulasi insulin pada reseptornya di membran sel (WHO, 1999; Yamazaki, 2009).

Gangguan aktifitas protein yang terlibat dalam sinyal transduksi insulin merupakan penyebab utama faktor post reseptor insulin. *Insulin resceptor substrat1* (IRS-

1) dan Akt sering ditemukan inaktif pada penderita diabetes. IRS-1 dan Akt yang inaktif dapat disebabkan oleh fosforilasi residu serine atau defosforilasi residu tyrosine. Fosforilasi residu serine ditemukan pada aktifitas protein *c-Jun- N- terminal kinase* (JNK), sedangkan defosforilasi residu tyrosine sering dijumpai pada aktifitas kelompok fosfatase (PP2A dan PTP1B). Model resistensi insulin post reseptor dapat dievaluasi melalui tikus yang diinjeksi streptozotocin (13 mg/100g berat badan yang dilarutkan pada 0,4 ml larutan NaCL 0,9% ditambah 50 mM asam sitrat hingga mencapai pH 4,5) melalui intravena (Odedra, 1982)

Stimulasi insulin pada sel otot, lipid dan hati dibutuhkan untuk kebutuhan ambilan glukosa *post absorptive*, penyediaan dan cadangan energi, sintesis protein dan respon akut terhadap stress retikulum endoplasmik (ER). Resistensi insulin di awal perjalanan DMT2 hanya mengganggu ambilan glukosa dan mengurangi ketersediaan energi intrasel. Kebutuhan glukosa dan energi intrasel dikompensasi dengan hipertrofi beta pankreas dan sekresi insulin yang tinggi. Progresifitas diabetes ditandai dengan gangguan inisiasi translasi protein akibat kurangnya GTP dan faktor inisiasi translasi (eIF2 dan eIF4) yang tidak aktif. Pada fase ini beta pankreas mulai mengalami dekompensasi sehingga sekresi insulin secara bertahap menurun (Wang, 2002).

Fase akhir dari DMT2 ditandai dengan gangguan translasi protein global yang disebut dengan stres ER. Respon akut terhadap stres ER adalah mengaktifkan jalur translasi darurat yang diinisiasi oleh *activating transcription factor 4* (ATF4). Sayangnya aktifitas ATF4 sangat bergantung pada stimulasi insulin dan di sisi lain sekresi insulin sudah mulai menurun. Bila stimulasi insulin tidak ditambah, maka aktifitas ATF4 dalam menginisiasi sintesis protein darurat tidak akan berhasil. Resistensi insulin akan membunuh sel diabetes satu per satu secara bertahap (Adams, 2007; Seo, 2009).

2.3 Klasifikasi diabetes

Klasifikasi diabetes dibuat untuk menunjukkan perjalanan alami penyakit diabetes, upaya diagnosis, terapi dan prognosis penderita. Klasifikasi dibuat berdasarkan patofisiologi diabetes. Sejak tahun 1999, klasifikasi diabetes terus disempurnakan dengan menambah penanda biologis penting dan pendekatan baru diagnosis dan terapi.

Klasifikasi diabetes pertama dipublikasikan oleh WHO tahun 1999 melalui forum konsultasi para ahli diabetes dari seluruh dunia di Genewa, Swiss. Forum tersebut menyepakati 2 keputusan penting, yaitu: (1) hiperglikemia basal sebagai penanda klinis fase diabetes, (2) membagi tahapan diabetes menjadi 3, antara lain (a) tahapan tanpa terapi insulin (b) tahapan butuh insulin untuk regulasi glukosa darah (c) tahapan butuh insulin untuk bertahan hidup.

Publikasi tentang klasifikasi diabetes juga diperoleh dari hasil diskusi komite *Japan Diabetes Society* (JDS) tahun 2002. Komite JDS merumuskan klasifikasi diabetes menjadi dua tahapan, yaitu: tahapan bebas terapi insulin dan tahapan butuh terapi insulin. Pemberian insulin pada tahapan bebas terapi insulin dapat meregulasi kadar glukosa darah dengan cepat. *American Diabetes Association* (ADA) meralat keputusan WHO dan JDS dengan mengeluarkan rekomendasi klasifikasi baru diabetes mellitus. Terapi DM2 adalah bebas dari insulin karena pemberian insulin tidak akan memperbaiki kondisi penderita, justru menurunkan kualitas hidup penderita (Koopmanschap, 2002).

Studi tentang klasifikasi diabetes juga dilakukan pada mencit transgenik diabetes mellitus tipe 2 yang berumur 5 minggu. Analisis seri waktu terhadap kadar insulin basal, HbA1c dan gambaran histopatologi dari beta pankreas menunjukkan kecocokan dengan patofisiologi diabetes manusia. Kadar insulin basal ditemukan tinggi pada 6 hari pertama pengamatan dan selanjutnya mengalami penurunan hingga terjadi defisiensi pada hari ke-22 pengamatan. Kontradiksi ditemukan pada hasil pengukuran HbA1c, dimana terjadi peningkatan sejak hari pertama pengamatan. Beta pankreas menunjukkan tiga gambaran berbeda, meliputi: 6-9 hari pengamatan terjadi pembesaran dengan bentuk sirkuler, 9-12 hari pengamatan terjadi pembesaran dengan bentuk sirkuler dan ireguler dan 12-22 hari pengamatan terjadi pengecilan dengan bentuk ireguler (Yamazaki, 2009).

2.4 Terapi diabetes

Terapi diabetes saat ini bertumpu pada 4 pilar modalitas, meliputi: insulin, oral anti diabetes (oad), diet dan olahraga. Efektifitas dari tiap modalitas terapi dan kombinasi diantaranya belum dapat menunjukkan hasil diatas 57%. Terapi insulin justru menurunkan kualitas hidup penderita di beberapa negara (Koopmanschap, 2002). Diet dan olahraga membutuhkan kemauan yang kuat dari penderita untuk mulai dan menjaganya. Resiko

hipoglikemia dan peningkatan radikal bebas saat berolahraga yang tidak terkendali berpotensi memperburuk kondisi penderita.

Pendekatan terapi diabetes yang digunakan saat ini merujuk pada klasifikasi diabetes WHO tahun 1999 dan ADA tahun 2004. Pada prinsipnya, terapi diabetes menggunakan pendekatan insulin sebagai stimulator ambilan glukosa. Implikasi dari pendekatan tersebut adalah praktek pemberian insulin secara dini dan pengembangan oad berbasis insulin. Sebagian besar farmakodinamik oad adalah meningkatkan respon jaringan terhadap insulin dengan tujuan perbaikan ekspresi *glucose transporter 4* (Glut4), meskipun ekspresi Glut4 pada diabetes tidak mengalami perubahan. Glut4 tidak memfasilitasi ambilan glukosa basal sehingga tidak mampu memperbaiki hiperglikemia basal yang menjadi penanda klinis fase diabetes.

2.5 *Glucose transporter-1* (Glut1)

Glucose transporter-1 merupakan protein transport yang terekspresi pada membran sel untuk memfasilitasi ambilan (transport) glukosa. Glut1 ditemukan hampir di seluruh sel, terutama pada fase perkembangan. Perbedaan mendasar antara Glut1 dan Glut4 adalah ekspresi Glut1 tidak dipengaruhi oleh stimulasi insulin. Glut1 hanya memfasilitasi ambilan glukosa pada kondisi basal (Koivisto, 1991).

Fasilitasi ambilan glukosa Glut1 bergantung pada ketersediaan ATP intraseluler. ATP merupakan regulator negatif yang menghambat fasilitasi Glut1. ATP mampu mengikat *cytosolic site* Glut1 yang menyebabkan perubahan konformasi protein. ATP menghambat masuknya glukosa ke dalam sel. Hal ini menjelaskan peran fasilitasi Glut1 hanya terjadi pada kondisi basal (Blodgett, 2007)..

Aktifitas Glut1 membutuhkan fosforilasi dari protein 38 *mitogen activated protein kinase* (p38 MAPK). Ekspresi p38 MAPK ditemukan tinggi pada fase perkembangan embrional. Stimulasi faktor pertumbuhan, seperti hormon dapat meningkatkan ekspresi p38 MAPK. Ekspresi p38 MAPK juga dapat dipicu oleh stres oksidatif intraseluler. Paparan ultraviolet, radiasi dan mediator inflamasi merupakan pemicu dari ekspresi p38 MAPK (Barros, 1997).

Glut1 ditemukan juga pada jaringan otot rangka, selain Glut4 yang lebih dahulu dikenal. Glut1 terekspresi baik pada sel otot imatur (*myoblast*) maupun sel otot yang

matur (*myocyte*). Ekspresi Glut1 pada membran sel otot ditemukan meningkat pada perkembangan dan perbaikan otot setelah kerusakan, seperti pada terapi polio. Ekspresi Glut1 juga ditemukan meningkat pada otot atlet, setelah melakukan latihan endurans dan peregangan otot (Marshall, 1999; Heled, 2005; Chambers, 2009).

Penurunan Glut1 pada otot diabetes

Ekspresi Glut1 pada otot diabetes mengalami penurunan. Penurunan ekspresi Glut1 mengganggu fasilitasi ambilan glukosa basal otot, diduga menjadi penyebab hiperglikemia basal pada penderita diabetes. Penurunan ekspresi Glut1 juga diikuti dengan penurunan jumlah (*content*) protein Glut1, namun tidak diikuti oleh Glut1mRNA. Penurunan ekspresi Glut1 juga terjadi pada Glut4, namun jumlah (*content*) Glut4 tidak mengalami penurunan (Ciaraldi, 2005).

Penurunan ekspresi Glut1 bukan hanya disebabkan oleh gangguan fosforilasi p38 MAPK, namun diduga juga disebabkan oleh gangguan translasi protein. Glut1mRNA yang tidak mengalami perubahan merupakan dasar dari dugaan tersebut. Ketersediaan GTP yang rendah dan faktor inisiasi yang tidak aktif menyebabkan protein Glut1 gagal ditranslasi. Jumlah (*content*) protein Glut1 berkurang sehingga ekspresinya pada membran juga mengalami penurunan (Ciaraldi, 2005)

Glut1 dalam klasifikasi diabetes

Penurunan ekspresi Glut1 pada membran sel otot tidak hanya menandai awal terjadinya hiperglikemia basal, namun juga menandai awal terjadinya gangguan translasi protein dan stress ER. Pencegahan terhadap penurunan ekspresi Glut1 diduga dapat memperbaiki prognosis penderita ke arah yang reversibel. Terapi yang terlambat dan tidak efektif berpotensi menyebabkan progresifitas diabetes menjadi ireversibel.

Fenomena penurunan ekspresi Glut1 perlu dieksplorasi lebih lanjut dalam perjalanan alami penyakit diabetes. Posisi waktu terjadinya penurunan ekspresi Glut1 harus ditentukan dengan jelas pada tahapan bebas terapi insulin, butuh terapi insulin untuk regulasi kadar glukosa darah atau butuh terapi insulin untuk bertahan hidup. Bila penurunan ekspresi Glut1 terjadi lebih awal, maka prognosis penderita diabetes menjadi lebih buruk dan terapi harus dilakukan lebih dini.

BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menjelaskan perubahan ekspresi Glut1 pada setiap tahapan klasifikasi diabetes yang memperoleh terapi insulin. Secara khusus, tahapan yang ingin dicapai dalam penelitian ini meliputi tujuan untuk

1. mengamati perubahan kadar glukosa basal model tikus pada setiap tahapan diabetes setelah memperoleh terapi insulin
2. mengamati perubahan morfologi beta pankreas model tikus pada setiap tahapan diabetes setelah memperoleh terapi insulin
3. mengamati perubahan ekspresi Glut1 otot model tikus pada setiap tahapan diabetes setelah memperoleh terapi insulin
4. mengevaluasi efektifitas terapi insulin pada setiap tahapan perkembangan diabetes

3.2 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat melengkapi klasifikasi diabetes yang telah ada dengan ekspresi Glut1 sebagai pendekatan baru. Klasifikasi diabetes berbasis perubahan ekspresi Glut1 diharapkan dapat

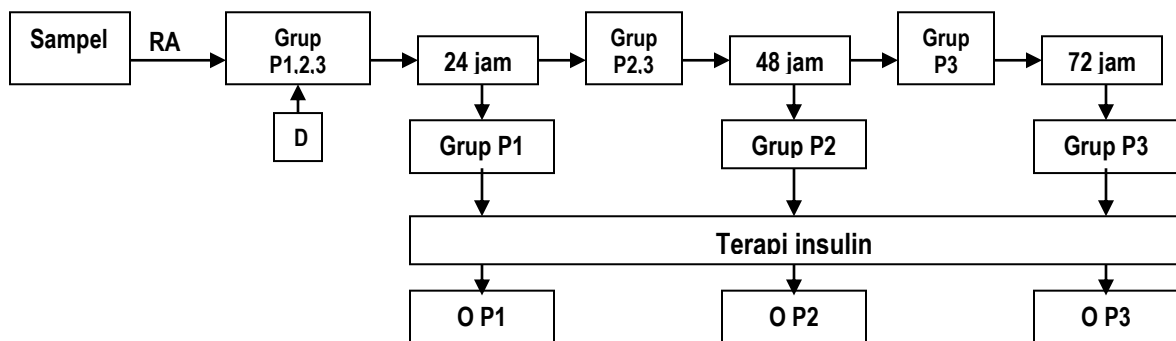
1. menjadi rujukan terapi dan prognosis yang lebih baik bagi penatalaksanaan diabetes di masa yang akan datang.
2. mencegah progresifitas diabetes yang ireversibel dan membalikkan proses tersebut ke arah fisiobiologis (reversibel)

BAB 4 METODE PENELITIAN

Jenis dan rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris karena pengaruh yang diharapkan terjadi merupakan akibat dari perlakuan yang dilakukan di laboratorium. Rancangan yang digunakan adalah *the separate design* dengan observasi seri waktu yang dilakukan setiap 24 jam. Subjek dalam sampel penelitian dibagi menjadi 4 kelompok dengan randomisasi menggunakan dadu. Randomisasi menjamin varian subjek terdistribusi sama pada setiap kelompok sehingga diperoleh homogenitas pra perlakuan. Setiap kelompok akan dilabel dengan rentang waktu perlakuan yang berbeda, yaitu kelompok kontrol, kelompok perlakuan 24 jam, perlakuan 48 jam dan perlakuan 72 jam. Perlakuan pada setiap subjek dalam sampel adalah sama yaitu injeksi intravena streptozotocin (13mg/100g berat badan yang dilarutkan pada 0,4ml larutan NaCL 0,9% ditambah 50mM asam sitrat hingga mencapai pH 4,5). Bagan rancangan penelitian dapat dilihat pada gambar berikut ini

Tahun kedua:



Keterangan :

D : induksi diabetes dengan STZ

O_K : observasi grup kontrol

T → O : terminasi dilanjutkan dengan observasi

O_{P1-3}: observasi grup Perlakuan 1,2,3

Populasi dan sampel penelitian

Penelitian ini menggunakan subjek tikus sebagai model penderita diabetes mellitus tipe 2. Tikus dipilih sebagai model karena observasi yang dilakukan berulang secara seri waktu dengan mengorbankan tikus untuk dilakukan observasi terhadap darah, jaringan otot dan pankreasnya. Populasi pada penelitian ini adalah tikus jantan (*rattus norvegicus*) galur wistar. Populasi target yang ditetapkan adalah tikus jantan (*rattus norvegicus*) galur wistar yang terdapat di kandang hewan coba Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Populasi terjangkau adalah tikus jantan (*rattus norvegicus*) galur wistar dengan umur 3 bulan dan berat 150-200 gram yang terdapat di kandang hewan coba Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Sampel penelitian ditentukan secara acak dari populasi terjangkau dengan besar sampel yang ditentukan berdasarkan rumus:

$$(k-1)(r-1) \geq 15$$

Keterangan :

k : jumlah kelompok perlakuan = 4

r : jumlah replikasi dalam tiap kelompok atau besar sampel, ditentukan

$$(4-1)(r-1) \geq 15, \text{ maka } r \geq 6, \text{ atau bermakna besar sampel minimal adalah 6 ekor.}$$

Setiap kelompok terdiri dari 6 ekor tikus, sehingga dibutuhkan $6 \times 4 = 24$ ekor tikus

Variabel penelitian

Independent variable adalah lama perlakuan (tahun pertama), lama insulinasi (tahun kedua)

Dependent variable adalah ekspresi Glut1 pada membran sel otot tikus diabetes, kadar glukosa basal dan gambaran histopatologi beta pankreas

Confounding Variable adalah distribusi tipe/ jenis serat otot

Control Variable adalah pakan, pengandangan, induksi diabetes, sampling darah, waktu dan metode observasi

Definisi operasional

Lama perlakuan adalah rentang waktu (periode) paparan streptozotocin sejak pertama kali diberikan secara intravena sampai dengan terminasi. Lama perlakuan diukur dalam

satuan jam, dengan durasi 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Akhir perlakuan adalah rentang waktu (periode) terpanjang paparan streptozotocin yang ditentukan 72 jam setelah injeksi intravena.

Lama insulinasi adalah rentang waktu (periode) terapi injeksi insulin secara intravena sampai dengan terminasi. Terapi insulin dilakukan dengan cara injeksi intravena dengan dosis 2U/ 100 g berat tikus, selama 7 hari.

Ekspresi Glut1 adalah ekspresi protein Glut1 yang aktif memfasilitasi ambilan glukosa pada membran sel otot rangka. Ekspresi Glut1 diobservasi menggunakan antibodi terhadap Glut1 tikus dengan metode immunohistokimia pada jaringan otot rangka tikus diabetes. Ukuran ekspresi Glut1 ditentukan secara kualitatif dengan mengamati kontras pewarnaan dan jumlah sel otot yang aktif mengekspresikan Glut1 pada membran. Pemeriksaan ekspresi Glut1 dilakukan oleh 2 orang ahli patologi anatomi menggunakan mikroskop binokuler dengan perbesaran sampai dengan 100x.

Kadar glukosa basal adalah kadar glukosa darah yang diukur setelah tikus dipuasakan 6-8 jam terlebih dahulu. Pengukuran kadar glukosa basal dilakukan dengan mengambil sebagian darah dari jantung tikus saat terminasi. Pengukuran kadar glukosa basal dilakukan dengan metode GOD-PEROXIDASE dalam satuan mg/dl.

Gambaran histopatologi pankreas adalah morfologi beta pankreas dalam pulau langerhans dengan menggunakan anti rat insulin primer melalui metode imunohistokimia. Sel beta pankreas dikenali dengan sitoplasma berwarna coklat dengan inti yang tercat biru. Beta pankreas diukur massanya dan diameter terluasnya menggunakan mikrometer dan mikroskop cahaya pembesaran 100 x oleh seorang ahli histopatologi

Induksi diabetes adalah injeksi injeksi intravena streptozotocin (13mg/100g berat badan yang dilarutkan pada 0,4ml larutan NaCl 0,9% ditambah 50mM asam sitrat hingga mencapai pH 4,5). Vena yang dipilih sebagai jalur injeksi streptozotocin adalah vena caudalis tikus.

Bahan dan alat penelitian

Bahan (materi) yang diobservasi dari tikus adalah darah, otot gastrocnemius dan organ pankreas. Bahan (materi) perlakuan pada tahap 1 adalah streptozotocin dan pada tahap 2

adalah insulin. Pembawa dalam injeksi streptozotocin antara lain: 0,4 ml larutan NaCl 0,9% ditambah 50mM asam sitrat hingga mencapai pH 4,5.

Bahan dan reagen yang dipakai dalam observasi penelitian tahap I adalah bubuk NaF untuk antikoagulant pada botol penampung darah dan buffer formalin sebagai *fixator* sementara sebelum pemrosesan jaringan. Pemrosesan jaringan otot immunohistokimia membutuhkan mikrotom, parafin blok, alkohol 100% dan 70%, anti Glut1 tikus (catalog # E13180, Springbioscience), anti IgG insulin (catalog # sc-57046, SantaCruz Biotech) dan antibodi sekunder tikus, pewarnaan biotin dan hematoxylin eosin, buffer sitrat, larutan PBS. Pengukuran kadar glukosa basal membutuhkan tes kit GOD PEROXIDASE. Sedangkan peralatan yang digunakan adalah microplate, vacuum pump, vortex, gunting, pipet eppendorf, pipet Pasteur, millipore, plastik tip, gunting, kantong selofan, sentrifus, tabung reaksi, *refrigerated centrifuge*, freezer, autoclaf, labu takar 10 mL, 100 mL, 250 mL, 1000 mL, pipet volume 10 mL, gelas ukur 100 mL, beaker gelas 10 mL, 250 mL, 1000 mL, pipet tetes, pengaduk gelas, gelas arloji, pengaduk magnetic, digital pH meter, neraca analitik (sartorius basic P-160), tabung sentrifugasi, alat sentrifugasi (Denley tipe BR 401), incubator (memmert), vortex (Guo-Huq), spektrofotometer UV, mini 2D elektroforesis protein II (Biorad), *autoclave*, stirer, corong gelas, bola hisap, botol semprot, eppendof dan lemari pendingin. Bahan dan reagen yang digunakan pada penelitian tahap II sama dengan tahap I.

Prosedur penelitian tahap pertama

1. Penentuan subjek tikus yang masuk dalam populasi dan sampel penelitian
2. Randomisasi subjek dari sampel ke dalam 6 kelompok menggunakan dadu
3. Aklimastisasi dengan pakan secukupnya dan pengandangan setiap 3 ekor tikus dalam satu kandang selama 7 hari
4. Random alokasi untuk menentukan pengelompokan ke dalam Grup Kontrol, Perlakuan 1,2, dan 3.
5. Grup kontrol dipuaskan 8 jam
6. Grup kontrol dikorbankan dengan anasthesi ketamin. Darah tikus dikumpulkan dari jantung, ditampung dan pada botol yang sebelumnya telah diberi bubuk NaF.

- Otot gastrocnemius dan pankreas tikus diambil dan ditampung pada 2 pot film berbeda yang sebelumnya telah diisi dengan buffer formalin, kemudian diabel.
7. induksi model tikus diabetes dengan injeksi streptozotocin 150mg/kgBB yang dilarutkan pada 0,4ml larutan NaCl 0,9% ditambah 50mM asam sitrat hingga mencapai pH 4,5). Vena yang dipilih sebagai jalur injeksi streptozotocin adalah vena caudalis tikus.
 8. Seluruh model tikus diabetes memperoleh terapi insulin selama 7 hari, setelah kondisi diabetes tercapai pada setiap kelompok perlakuan (selang 1 hari)
 9. Pada akhir masa terapi insulin, model tikus diabetes dipuaskan 8 jam
 10. 8 jam kemudian (24 jam post induksi STZ), model tikus diabetes dikorbankan dengan anasthesi ketamin. Darah tikus dikumpulkan dari jantung, ditampung dan pada botol yang sebelumnya telah diberi bubuk NaF. Otot gastrocnemius dan pankreas tikus diambil dan ditampung pada 2 pot film berbeda yang sebelumnya telah diisi dengan buffer formalin, kemudian diabel.
 11. Setiap kelompok perlakuan (1,2 dan 3) mengikuti protokol yang sama sebelum dikorbankan. .
 12. Otot dan pankreas diproses dengan metode immunohistokimia untuk diamati ekspresi Glut1 otot dan morfologi beta pankreas
 13. darah tikus diproses untuk mengukur kadar glukosa basal dengan metode spektrofotometri

BAB 5

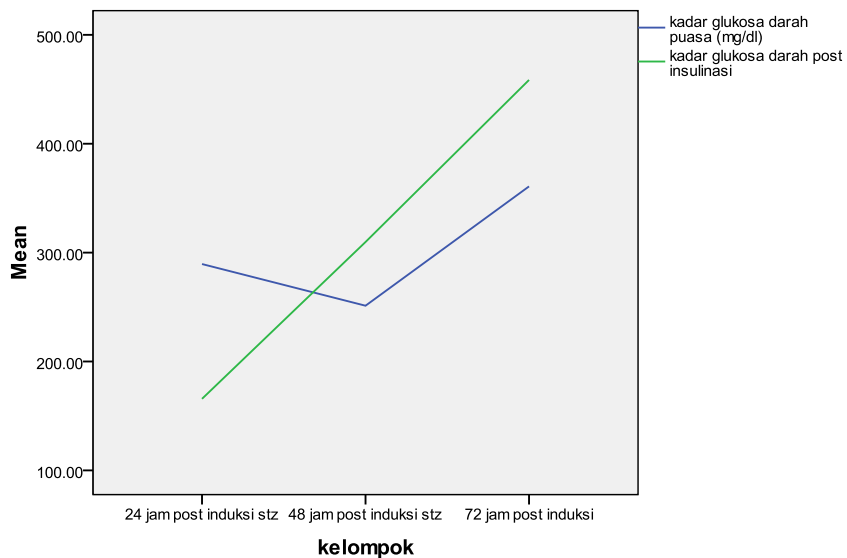
HASIL dan PEMBAHASAN

Berikut ini adalah hasil dari pengamatan kadar glukosa darah secara seri waktu terhadap kelompok tikus model diabetes dan kelompok tikus model diabetes yang memperoleh insulinasi.

Tabel 5.1. Deskripsi dari kadar glukosa darah puasa pada dua kelompok (mg/ dl)

		N	Mean	Std. Deviation
kadar glukosa darah puasa insulinasi (mg/ dl)	24 jam post induksi stz	6	165.7197	38.74019
	48 jam post induksi stz	6	309.7567	37.54792
	72 jam post induksi	6	458.5717	88.16605
	Total	18	311.3493	135.19686
kadar glukosa darah puasa kontrol (mg/dl)	24 jam post induksi stz	6	289.5000	78.07624
	48 jam post induksi stz	6	251.2417	28.42447
	72 jam post induksi	6	360.8150	42.99299
	Total	18	300.5189	68.97268

perubahan kadar glukosa darah model diabetes



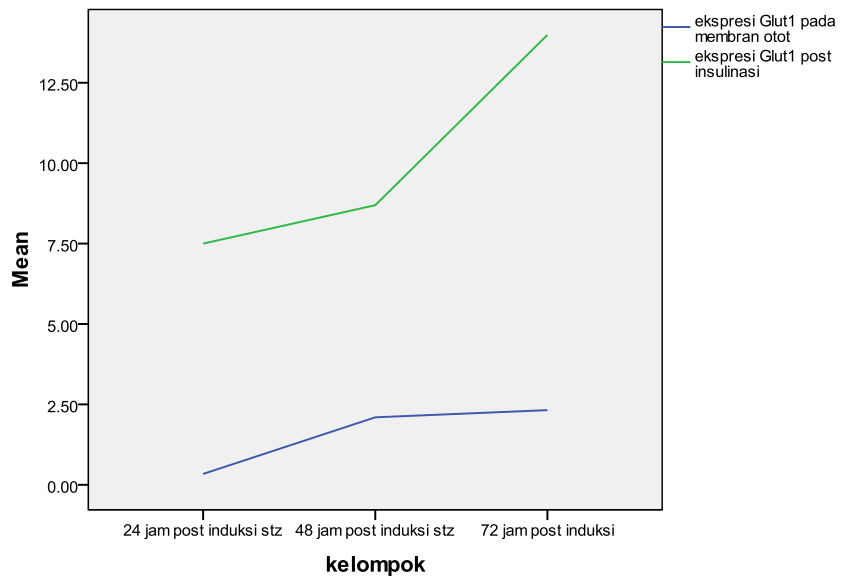
Gambar 5.1 Grafik perubahan kadar glukosa darah puasa (mg/ dl)

Insulinasi tidak memperbaiki kadar glukosa darah puasa. Kadar glukosa terus mengalami peningkatan sejak induksi STZ. Insulinasi menghilangkan batas antara fase reversible dan ireversibel pada perjalanan penyakit diabetes. Insulin hanya memperbaiki kadar glukosa darah puasa sebelum 48 jam induksi STZ atau saat model berada pada fase reversible.

Tabel 5.2 Deskripsi ekspresi Glut1 otot model tikus diabetes (% sel positif Glut-1)

		N	Mean	Std. Deviation
ekspresi Glut1 kontrol	24 jam post induksi stz	6	.3383	.30036
	48 jam post induksi stz	6	2.0983	1.07082
	72 jam post induksi	6	2.3217	1.83372
	Total	18	1.5861	1.47846
ekspresi Glut1 insulinasi	24 jam post induksi stz	6	7.4983	.78454
	48 jam post induksi stz	6	8.6933	2.14706
	72 jam post induksi	6	13.9883	.92595
	Total	18	10.0600	3.19544

perubahan ekspresi Glut1 model diabetes



Gambar 5.2 Grafik perubahan ekspresi Glut1 otot model tikus diabetes (% sel positif Glut-1)

Ekspresi Glut 1 pada kelompok insulinasi justru lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok model diabetes kontrol. Kecenderungan berbeda ditemukan pada pola ekspresi Glut 1 model diabetes setelah 48 jam induksi STZ, yaitu ekspresi Glut1 model diabetes kontrol mengalami plateau namun ekspresi Glut 1 model diabetes yang memperoleh insulinasi cenderung naik secara bermakna. Insulinasi meningkatkan *survival rate* model diabetes dengan memperbaiki ekspresi Glut-1.

Tests of Normality				
	kelompok pengamatan hari ke	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
kadar glukosa darah puasa (mg/dl)	hari ke-0	.830	6	.107
	hari ke-1	.864	6	.204
	hari ke-2	.955	6	.783
	hari ke-3	.958	6	.802
ekspresi Glut1	hari ke-0	.881	6	.274
	hari ke-1	.889	6	.313
	hari ke-2	.882	6	.278
	hari ke-3	.812	6	.075

Distribusi data normal bila $p > 0,05$

Uji normalitas data menunjukkan seluruh data kadar glukosa darah dan ekspresi Glut 1 berdistribusi tidak berbeda dengan pola distribusi data normal ($p > 0,05$), sehingga uji hipotesis dapat dilanjutkan menggunakan metode statistik parametrik.

Hasil uji *Levene* diperoleh data kadar glukosa darah memiliki variansi yang tidak homogen ($p < 0,05$), sehingga uji beda dilanjutkan dengan *Brown Forsythe test* dan *Games Howell test*. Hasil uji beda kadar glukosa darah dapat dilihat pada tabel 5.3

Tabel 5.3 Perbandingan perubahan kadar glukosa puasa antar 2 kelompok model tikus diabetes

Games-Howell

Dependent Variable	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
kadar glukosa darah insulinasi (mg/ dl)	24 jam post induksi stz	48 jam post induksi stz	-144.03702*	22.02517	.000
		72 jam post induksi	-292.85202*	39.31508	.000
	48 jam post induksi stz	24 jam post induksi stz	144.03702*	22.02517	.000
		72 jam post induksi	-148.81500*	39.12182	.017
	72 jam post induksi	24 jam post induksi stz	292.85202*	39.31508	.000
		48 jam post induksi stz	148.81500*	39.12182	.017
kadar glukosa darah puasa kontrol (mg/dl)	24 jam post induksi stz	48 jam post induksi stz	38.25833	33.92111	.532
		72 jam post induksi	-71.31500	36.38749	.186
	48 jam post induksi stz	24 jam post induksi stz	-38.25833	33.92111	.532
		72 jam post induksi	-109.57333*	21.04102	.002
	72 jam post induksi	24 jam post induksi stz	71.31500	36.38749	.186
		48 jam post induksi stz	109.57333*	21.04102	.002

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Hasil uji *Levene* diperoleh data ekspresi Glut-1 kelompok kontrol memiliki variansi yang tidak homogen ($p < 0,05$), sehingga uji beda dilanjutkan dengan *Brown Forsythe test* dan *Games Howell test*. Hasil uji *Levene* diperoleh data ekspresi Glut-1 kelompok insulinasi memiliki variansi yang homogen ($p > 0,05$), sehingga uji beda dilanjutkan dengan ANOVA dan LSD. Hasil uji beda kadar glukosa darah dapat dilihat pada tabel 5.4

Tabel 5.4 Perbandingan perubahan ekspresi Glut1 antar 2 kelompok model tikus diabetes

Dependent Variable	(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.
ekspresi Glut1 kontrol	Games-Howell 24 jam post induksi stz	48 jam post induksi stz	-1.76000*	.45403	.021
		72 jam post induksi	-1.98333	.75859	.098
	48 jam post induksi stz	24 jam post induksi stz	1.76000*	.45403	.021

			72 jam post induksi		-0.22333	.86691	.964
		72 jam post induksi	24 jam post induksi stz		1.98333	.75859	.098
			48 jam post induksi stz		.22333	.86691	.964
ekspresi	LSD	24 jam post induksi stz	48 jam post induksi stz		-1.19500	.82211	.167
Glut1			72 jam post induksi		-6.49000*	.82211	.000
insulinasi		48 jam post induksi stz	24 jam post induksi stz		1.19500	.82211	.167
			72 jam post induksi		-5.29500*	.82211	.000
		72 jam post induksi	24 jam post induksi stz		6.49000*	.82211	.000
			48 jam post induksi stz		5.29500*	.82211	.000

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

BAB 6

KESIMPULAN dan SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Model tikus diabetes memberikan respon baik terhadap insulinasi hanya sampai dengan 48 jam setelah induksi STZ, setelah itu kadar glukosa darah puasa dan ekspresi Glut- 1 meningkat bermakna
2. Insulinasi meningkatkan ekspresi Glut-1 yang berpengaruh terhadap *survival rate* model tikus diabetes
3. Insulinasi mengaburkan batas antara fase reversibel dan ireversibel pada model tikus diabetes yang diinduksi STZ

6.2 Saran

1. melakukan penelitian lanjutan untuk menjelaskan mekanisme insulinasi dalam memperbaiki ekspresi Glut 1 dan mempengaruhi survival rate model tikus diabetes
2. melakukan penelitian lanjutan untuk mengidentifikasi ekspresi Glut-1 pada sel darah merah dan neuron model tikus diabetes sebagai penanda biologis dari komplikasi diabetes

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, 2007. Role of the transcription factor atf4 in the anabolic action of insulin & the anti-anabolic action of glucocorticoid. *Biological Chemistry* 292:2
- ADA, 2004. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 27: Supplement S5-S10
- Barros LP, Young MT, Saklatvala J and Baldwin SA, 1997. Evidence of two mechanisms for the activation of the glucose transporter GLUT1 by anisomycin: p38(MAP kinase) activation and protein synthesis inhibition in mammalian cells. *Journal of Physiology* 504.3, pp.517-525
- Blodgett *et al.*, 2007. Structural Basis of Glut1 inhibition by cytoplasmic ATP. *J Gen Physiol.* 130: 2
- Brown, Gagliardini, and Ramaiya, 2009. Studies on the economic and social impact of diabetes in low and middle income countries. IDF Congress. Canada.
- Ciaraldi *et. al*, 2005. Skeletal muscle Glut1 transporter protein expression and basal leg glucose uptake are reduced in type 2 diabetes. *JCEM* 90:352-358
- Chambers *et. al*, 2009. Stretch stimulated glucose uptake in skeletal muscle is mediated by ros & p38 MAPK. *J.Physiol* 587:13
- Heled *et. al* 2005. Physical exercise increases the expression of TNF α and GLUT 1 in muscle tissue of diabetes prone *Psammomys obesus*. *Life Sciences* Volume 77, Issue 23. Pages 2977-2985
- IDF. 2006. Cost Effective Approaches to Diabetes Care and Prevention
- Koivisto *et. al*, 1991. Differential regulation of the glut1 and glut4 glucose transport by glucose and insulin in 16 muscle cells in culture. *J of Biological Chemistry.* 266:4.pp 2615-2621.
- Koopmanschap, 2002. Coping with Type II diabetes: the patient's perspective. *Diabetologia.* 45:S18–S22
- Kuzuya T *et al.*, Committee of the Japan diabetes society on the diagnosis criteria of diabetes mellitus. Report of the committee on the classification and diagnosis criteria of diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 55: 65-85
- Marshall *et. al*, 1999. Glut1 or Glut4 transgenes in obese mice improve glucose tolerance but do not prevent insulin resistant. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 276 E390-400
- Oedra *et. al.*, 1982. Muscle protein synthesis in streptozotocin-diabetic rat. *Biochem J.* 202: 363-368.
- Seo *et. al*, 2009 atf4 regulates obesity, glucose homeostasis, & energy expenditure. *Diabetes* 58: 2565_2573
- Wang *et al*, 2002 Evidence that the dephosphorylation of ser 535 in the ϵ -sub unit of eukaryotic initiation factor (eIF) 2B is insufficient for the activation of eIF2B by insulin. *Biochem J* 367: 475-481

WHO, 1999. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complication. Part1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of WHO consultation. Dept of noncommunicable disease surveillance. Geneva.

Wild S *et al.*, 2004. Global Prevalence of diabetes; estimates for 2000 and projection for 2030. Diabetes Care 27 : 1047-1053